ANTONIO CARLOS DA SILVA

Estudo da Atividade de Coleta de Água
em *Atta sexdens rubropilosa*

Study of activity of water collection in
Atta sexdens rubropilosa

São Paulo

2010

ANTONIO CARLOS DA SILVA

Estudo da Atividade de Coleta de Água
em *Atta sexdens rubropilosa*

Study of activity of water collection in
Atta sexdens rubropilosa

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo, para
a obtenção de Título de Mestre
em Fisiologia, na Área de
Fisiologia Geral.

Orientador: Carlos A. Navas

São Paulo

2010

Da - Silva, Antonio Carlos

Estudo da atividade de
coleta de água em *Atta sexdens*
rubropilosa

83 páginas

Dissertação (Mestrado) -
Instituto de Biociências da Universidade
de São Paulo. Departamento de
Fisiologia.

1. *Atta sexdens rubropilosa*
2. Estresse hídrico 3. Divisão de tarefas
(I. Universidade de São Paulo. Instituto
de Biociências. Departamento de
Fisiologia.

Comissão Julgadora:

Prof.(a). Dr.(a).

Prof.(a). Dr.(a).

Orientador: Prof. Dr. Carlos Arturo Navas

A Jubio e Rosa, meus pais

“Fincar-se numa só linha de pensamento ou corrente filosófica pode parecer a maneira mais segura de viver, contudo é a mais infantil delas”.

(Hammed, *As dores da Alma*)

Agradecimentos

Ao meu orientador Dr. Carlos A. Navas, pela oportunidade, paciência e orientação segura que me proporcionaram tranquilidade nos momentos difíceis.

Ao Dr. Pedro Leite Ribeiro, que com disposição, paciência e trabalho dinâmico me proporcionou conhecer um pouco do mundo das saúvas.

Aos meus Pais, Jubio e Rosa pelo apoio que sempre me deram em todos os momentos dessa trajetória.

A minha Irmã Mirela, pelos momentos compartilhados nessa jornada.

A Suene, que esteve presente nos momentos decisivos pelo carinho e compreensão.

Ao Dr. José Guilherme, Dr. José Eduardo Carvalho, Dr. André Frazão, Rodrigo Pavão, Marcelo, Julian (Bá), Cirinéia Maffei, Renata Brandt, Isabel, Monique Simon e Gustavo Kaneto pelas idéias criativas e críticas positivas.

A todos os amigos de laboratório, pela convivência agradável e enriquecedora.

As secretárias do departamento de Fisiologia Gisele e Roseli.

A Deus, e aos benfeitores espirituais Vó Cândida, Bezerra, Renoir, Monet e Van Gough pelo apoio e carinho.

A CAPES, pela bolsa de mestrado concedida.

Sumário

Capítulo 1 - Introdução	10
1.1 Formigas cortadeiras.....	10
1.2 História natural de <i>Atta sexdens</i>	12
1.3 Divisão de trabalho.....	14
1.4 Percepção de Alteração do meio (Homeostase Social)	16
1.5 A Homeostase Social no contexto do balanço hídrico.....	18
Capítulo 2 – A Trofalaxia em colônias em estresse hídrico de formigas cortadeiras <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	20
2.1 Introdução	22
2.2 Material e Métodos	25
2.3 Resultados	27
2.4 Discussão.....	29
Capítulo 3 – Atividade de coleta de água em colônias de formigas cortadeiras <i>Atta sexdens rubropilosa</i> em condição de estresse hídrico.....	32
3.1 Introdução	34
3.2 Material e Métodos.....	41
3.3 Resultados	47
3.4 Discussão.....	52
Capítulo 4 – Sistema de pontes com fenda e seu uso em formigas <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	55
4.1 Introdução	57
4.2 Objetivos	59
4.3 Material e Métodos	60
4.4 Resultados	65
Capítulo 5 - Discussão Final.....	70
RESUMO.....	74

ABSTRACT	76
6 Referências Bibliográficas	78

Capítulo 1 - Introdução

1.1 Formigas cortadeiras

A organização social em insetos é um assunto muito explorado por estudiosos de comportamento animal. Os insetos podem ser classificados em relação ao comportamento social em: a) Solitário: O indivíduo não exhibe comportamentos relacionados a agregação social, cooperação com outros indivíduos no cuidado da prole, divisão em castas estéreis e reprodutivas entre outras; b) Sub-social: Os adultos cuidam de suas próprias ninfas ou larvas por algum período de tempo; c) Comunal: Os membros da mesma geração vivem em colônias sem cooperarem com os cuidados da prole; d) “Quasisocial”: Os membros da mesma geração usam a mesma estrutura da colônia e cooperam com os cuidados da prole; e) Semisocial: São semelhantes ao grupo “Quasisocial”, mas também apresentam divisão reprodutiva do trabalho, a casta das operárias cuida dos jovens da casta reprodutiva; e) Eusocial: São parecidos com a semisocial, mas também apresentam sobreposição de gerações com assistência à prole dos pais (WILSON, 1971). Desta forma, uma colônia de insetos eusociais é um grupo de indivíduos que vivem juntos e reproduzem uma unidade. A colônia representa um nível de organização acima do organismo individual, com suas próprias características morfológicas, comportamentais, organização interna e padrão de história de vida (BESHERS e FEWELL, 2001). Assim, segundo WILSON (1971) a grande questão a ser

encarada na sociologia de insetos é a reconstrução do comportamento de massa¹ a partir do conhecimento do comportamento individual.

Entre os insetos sociais, as formigas destacam-se pelo seu grau de organização. As formigas pertencem à família Formicidae, e compõe a ordem Hymenoptera (hymen=membrana; ptera=asas), que inclui vespas e abelhas. Diversas espécies de formigas diferem no grau de socialidade, que é particularmente alto entre as chamadas formigas cortadeiras. Estas formigas estão classificadas dentro da tribo *Attini*, composta por 12 gêneros - (*Cyphomyrmex*, *Mycetophylax*, *Mycocepurus*, *Myrmicocrypta*, *Apterostigma*, *Sericomyrmex*, *Mycetosoritis*, *Myceratotes*, *Trachymyrmex*, *Pseudoatta* (= *Acromyrmex*), *Acromyrmex* e *Atta*) (HOLLOBLER e WILSON, 1990). Esses gêneros estão distribuídos nas regiões tropicais e sub-tropicais da América, do Texas à Argentina, com exceção para gênero *Atta* que não está presente no Chile e em algumas ilhas das Antilhas e no Canadá (MARICONI 1970; DELLA LUCIA 1993). Os gêneros acima citados têm em comum serem cultivadores e consumidores de fungos que são cultivados a partir de diversos materiais, sendo comum nos dois últimos gêneros (*Atta* e *Acromyrmex*) o uso de material vegetal fresco (AUTUORI, 1941; HOLLOBLER e WILSON, 1990).

As formigas cortadeiras são popularmente conhecidas como saúvas (*Atta. sp*) e quenquéns (*Acromyrmex. sp*), um grupo de animais formidáveis por sua força de trabalho e pelo poder de transformação do meio em que vivem. Por tal razão, pela marcada eusocialidade e pelo impacto que elas têm sobre a

¹ Aqui se refere a conceito abordado por Wilson (1971) a respeito dos princípios de ação em massa que emergem da vida social. Os padrões comportamentais do indivíduo se mesclam junto aos de outros indivíduos da colônia. O princípio de ação em massa em colônias de insetos traduz as numerosas ações comportamentais dos indivíduos atuando em seus membros em vários níveis e ordens de efeito.

agricultura, este tipo de formigas vem há décadas despertando o interesse e a curiosidade do ser humano. Em relatos de um pesquisador francês que viajou pelo Brasil no século XIX, Saint-Hilaire que cunhou a frase: "*ou o Brasil acaba com as saúvas ou as saúvas acabam com o Brasil*", podemos observar o destaque que já era dado à época para as saúvas. Uma vez que é considerada por muitos pesquisadores e pessoas voltadas ao agronegócio como uma praga, muitos estudos nas últimas décadas foram desenvolvidos em busca de uma forma de combater sua proliferação (GONÇALVES, 1944; TAKAHASHI e HEBLING-BERALDO, 1986; CHERRETT, 1986; PACHECO, 1987; HEBLING-BERALDO *et.al.* 1991; ZANUNCIO *et.al.* 1999) e de melhor conhecer sua biologia (AUTUORI, 1942b; MARICONI, 1970).

Dentre as formigas cortadeiras, a espécie aqui estudada, *Atta sexdens rubropilosa*, conhecida no Brasil como saúva - limão pelo odor característico que exala ao ser esmagada, é encontrada nos Estados de Goiás, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro e São Paulo (MARICONI, 1970, DELLA LUCIA, 1993). O estudo desse gênero recebeu importantes colaborações com os trabalhos pioneiros de AUTUORI (1941; 1942a; 1942b) que desenvolveu observações a respeito da fundação da colônia, composição de indivíduos, crescimento e outras questões relacionadas ao comportamento.

1.2 História natural de *Atta sexdens*

Atta sexdens, assim como outras espécies no gênero *Atta* são caracterizadas por apresentar um grande polimorfismo. Algumas

características morfológicas de *Atta sexdens* são: cabeça grande bi - lobada; três pares de espinhos entre o dorso e a cápsula encefálica que servem para defesa; peças bucais adequadas ao cultivo do fungo e à limpeza; cavidade infra - bucal localizada atrás da boca que serve para o armazenamento de substâncias (pedaços do fungo, dejetos de lavas e pupas); e pente de cerdas presente nas patas (WHEELER, 1965; WEBER, 1956, 1966; MARICONI, 1970).

Com relação ao desenvolvimento e reprodução, as saúvas possuem quatro estágios: ovo, larva, pupa e adulto como insetos holometábolos que o são. A rainha e as operárias são diplóides (ovos fertilizados) em relação a seu material gênico, enquanto os machos são haplóides (ovos não fertilizados), estando presentes na colônia em épocas de reprodução (MARICONI, 1970; HOLLOBLER e WILSON, 1990). De acordo com OSTER e WILSON (1978), o ciclo de vida de um saúveiro pode ser dividido em três fases: a fundação, a ergonômica e a reprodutiva. A fundação de uma nova colônia ocorre com a revoada, ou voo nupcial, na qual as fêmeas aladas se encontram com machos também alados para realizarem o acasalamento. A nova “rainha”, já em solo, arranca suas asas e inicia a escavação do ninho com a construção de uma câmara que servirá para o cultivo do pedaço de fungo que ela traz consigo da colônia progenitora, armazenado em sua boca (AUTUORI, 1942b; RIBEIRO, 1972).

Na fase mais inicial, o ninho é superficial e localizado aproximadamente a 15 cm de profundidade. Durante os primeiros 90 dias a rainha realiza todas as funções da colônia usando ovos não fecundados para alimentação do fungo e das novas operárias que irão nascer. Com o fungo já desenvolvido, e as

primeiras operárias auxiliando nas tarefas de cuidado do mesmo, de limpeza da colônia e de alimentação dos ovos e pupas, saem da colônia os primeiros indivíduos em busca de material vegetal fresco (folhas, flores) para implantação no fungo (MARICONI, 1970; HOLLOBLER e WILSON, 1990).

Se o entorno for apropriado, com o tempo e a continuada atividade das operárias, a população de formigas cresce, e a colônia entra numa nova fase, a ergonômica, voltada para o crescimento. Ao atingir a maturidade, a colônia entra na fase reprodutiva, em que novas “rainhas” e machos estão presentes para dar início a uma nova colônia. O saúveiro pode ser considerado adulto quando tem por volta de 1,5 a 2 milhões de indivíduos como relatado em *Atta columbica* (HOLLOBLER e WILSON, 1990).

1.3 Divisão de trabalho

A divisão de trabalho pode ser considerada uma diferenciação dos papéis na sociedade, através da especialização dos indivíduos, que garante a mistura otimizada de especialistas que desempenham mais eficientemente o trabalho, do que grupos iguais constituídos de generalistas (WILSON 1968). Como exemplo, citamos em formigas cortadeiras as operárias maiores que são especializadas na defesa da colônia, operárias médias forrageiam material vegetal e as operárias menores especializadas para trabalharem no jardim de fungo (WILSON 1980a). Já a divisão de tarefas é um item da divisão de trabalho (ANDERSON e JADIN, 2001). A divisão de trabalho entre os membros de uma colônia é chamada de polietismo. Pode ser distinguida entre polietismo de casta, no qual em alguns grupos há castas morfológicas

distintas especializadas para diferentes funções, e polietismo de idade, em que o mesmo indivíduo passa por diferentes formas de especialização na medida em que envelhece (WILSON, 1971). Neste aspecto, em certas espécies de formigas, a especialização está relacionada com o aparecimento de uma surpreendente diferença no tamanho entre indivíduos da mesma colônia, geralmente associadas a tarefas diferentes (BONABEU, 1997). O polimorfismo morfológico de operárias ocorre em vários gêneros de formigas (WILSON, 1953; OSTER e WILSON, 1978). Estas castas são classes de operárias distinguidas por seus tamanhos. Em formigas, a diferenciação morfológica acontece quando elas emergem em formas adultas (BOURKE e FRANKS, 1995), sendo encontradas quatro castas em *Atta sexdens* (jardineiras - enfermeiras, generalistas, forrageadoras e defensoras) (WILSON, 1980a).

A divisão de trabalho é fundamental para a organização dos insetos sociais e pode ser um dos principais fatores de seu sucesso ecológico (WILSON, 1985b; 1987). Segundo ANDERSON *et.al.* (2001), um dos fatores que contribui para o sucesso dos insetos sociais é justamente a habilidade dos indivíduos para trabalharem juntos e cooperarem no desempenho de uma tarefa. Nestes insetos podem estar presentes dois importantes fatores da divisão de trabalho: a) diferentes atividades podem ser desenvolvidas simultaneamente; b) e há um grupo de indivíduos especializados, assume-se que estes devam ter melhor desempenho neste trabalho do que um grupo de indivíduos não especializados (HOLLOBLER e WILSON 1990).

Todavia o grande tema a ser considerado, ao se falar da divisão de trabalho em insetos sociais, é como a força de trabalho é dividida em diferentes tarefas. Uma tarefa é dita particionada caso ela seja dividida em duas ou mais

etapas sequenciais e passada de uma operária para outra, por exemplo, um indivíduo coleta um material de uma fonte e o passa para outro indivíduo que o transporta para o ninho (HART *et.al.*, 2002). Em formigas tecelãs *Oecophylla onginalis*, a divisão de tarefas ocorre, por exemplo, entre as pequenas operárias, que recolhem o melado de cochonilhas e o regurgitam, e as operárias maiores responsáveis por transportar o material regurgitado para o ninho (HOLLOBLER 1984). Outro exemplo, em *Atta colombica* ANDERSON e JADIN (2001) relatam a transferência direta de pedaços de folhas entre operárias companheiras de ninho ao longo da trilha.

1.4 Percepção de Alteração do meio (Homeostase Social)

Um dos conceitos muito propagados em biologia é o de que “todos os mecanismos, por mais variados que sejam, têm sempre uma só finalidade – a de procurar o equilíbrio dinâmico das condições de vida do meio interno” (CLAUDE BERNARD, 1857 *in* GUYTON e HALL, 2006). O conceito de homeostase introduzido por BERNARD (1857) da modulação do meio interno é uma das maiores conquistas para o entendimento da fisiologia do organismo. Em um organismo devidamente afinado, os valores de pH, nutrientes dissolvidos, organelas ativas, entre outros processos envolvidos deverão estar próximos a valores ótimos que permitam a sobrevivência e a reprodução (RANDALL *et. al.* 1997). Nos processos biológicos, a homeostase fisiológica é autorregulada por diversos processos de “*feedback*” interno que modulam os valores de importantes variáveis quando estes se afastam de certos níveis críticos (GUYTON, 2006). Um exemplo é o equilíbrio ácido básico do pH que

atua na atividade de grupo de enzimas e outras moléculas biológicas dentro da célula. Desvios de pH de uma unidade ou mais, geralmente interrompem a bioquímica do organismo. Consequentemente, o pH intra e extra celular deverão trabalhar em estreitos limites nos quais os sistemas enzimáticos evoluíram e que permitem estes realizarem sua função (RANDALL *et.al.* 1997).

Mesmo admitindo-se que o controle fisiológico dos organismos individuais e das colônias de insetos são fundamentalmente diferentes, há algumas analogias que motivaram EMERSON (1956) a cunhar o termo *homeostase social*. As colônias de insetos eusociais exibem homeostase social tanto na regulação do número de indivíduos no ninho, quanto no controle das condições internas do mesmo. Segundo WILSON (1971) o controle da regulação do meio interno do ninho pode ser atingido usando um de dois modos gerais através: 1) por meio da estruturação do ninho para conseguir o controle a longo prazo sobre uma ampla variedade de mudanças ambientais, ou; 2) de respostas comportamentais a curto prazo de membros individuais da colônia a perturbações ambientais particulares. Um exemplo a respeito da capacidade de mudar as condições do ninho em relação às alterações do meio ambiente pode ser visualizado em ninhos de formigas e cupins. Estes animais são capazes de elaboradas construções de ninhos, com galerias interligadas e sistema de ventilação que permitem a regulação de temperatura e umidade (AUTUORI, 1942a, KORB e LINSEMAIR, 2000).

A homeostase social tem sido estudada também com relação à regulação da temperatura e da umidade (ver seguinte seção). Em *Apis mellífera* OHASHI *et. al.* (2008) descrevem um exemplo do controle do ambiente da colméia. Foram realizadas medidas das mudanças temporais de temperatura,

umidade e concentração de CO₂ em colméias cheias (com todas as abelhas) e vazias (sem abelhas) para determinar a ação destas sobre a colméia. Os resultados apontam que colméias vazias têm micro clima parecido com as condições do ambiente. Já a colméia com abelhas tem micro clima diferente do ambiente (temperatura mais elevada) devido à atividade das abelhas em seu interior. Foi observado também que a umidade no interior da colônia (mesmo vazia) era maior que a do ambiente mesmo quando ocorriam alterações no exterior. Os autores sugerem que esta alteração da umidade seja diretamente relacionada a estrutura do ninho.

1.5 A Homeostase Social no contexto do balanço hídrico

O balanço hídrico em saúvas tem como pré-requisito a percepção da umidade. Esta percepção tem sido demonstrada em diversos experimentos sobre escolha de micro clima. Em formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa* experimentos sugerem modulação do comportamento para a manutenção do balanço hídrico. ROCES e KLEINEIDAM (2000), verificaram a higro preferência das formigas em relação a locais para cultivo do fungo, pois locais mais úmidos foram selecionados por estas para o cultivo. Em um trabalho similar RIBEIRO e NAVAS (2007) constaram que *A. sexdens rubropilosa* preferem locais mais secos para a deposição do lixo. Já em um trabalho mais diretamente relacionado ao balanço hídrico RIBEIRO e NAVAS (2008) investigaram que em colônias de *A. sexdens rubropilosa* submetidas a estresse hídrico ocorre coleta de água e que esta atividade é realizada por um grupo específico. Assim estes trabalhos dão evidência da capacidade destas

formigas para responder comportamentalmente ao perceberem, alterações da umidade do interior do ninho.

Visto que no contexto de percepção das alterações da condição ambiental exterior ao ninho, as formigas cortadeiras são capazes de alterar seu comportamento regulando as condições internas do mesmo, este trabalho buscou verificar algumas questões relacionadas a atividade de coleta de água em *Atta sexdens rubropilosa* em condição de estresse hídrico. Essas perguntas são tratadas em três capítulos separados e são: a) Há transferência de líquidos (trofalaxia) entre companheiras de ninho de *Atta sexdens rubropilosa*? b) Há uma casta especializada na coleta de água? c) Se há uma casta especializada, essa casta independe da distância da fonte de água? O capítulo 4 faz uma contribuição metodológica e apresenta um sistema de pontes com fenda que permite a separação física de tamanhos de formigas.

Capítulo 2 – A Trofalaxia em colônias em estresse hídrico de formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa*.

RESUMO

Trofalaxia é a transferência de líquidos por regurgitação oral ou deposição anal, que ocorre em muitos grupos de insetos, incluindo formigas. A primeira indicação de que a trofalaxia poderia ocorrer em formigas cortadeiras (*Atta sexdens rubropilosa*) foi feita por AUTUORI em 1942a. Ele relatou a captação e o compartilhamento de água por esta espécie de formiga, e destacou o que naqueles dias era um comportamento não descrito para a espécie. Em 2005, DA-SILVA e RIBEIRO apresentaram os resultados preliminares que confirmavam a existência de trofalaxia de *A. sexdens rubropilosa*. Aqui nós relatamos um teste mais completo da hipótese de trofalaxia nessa espécie em quatro colônias com algum grau de estresse hídrico. Para tanto testamos pares de formigas, que vieram de uma colônia que foi previamente desidratada pela oferta de milho seco triturado como alimento, em que apenas um indivíduo (Grupo I) tinha acesso à água, tingida de azul, e o outro indivíduo (Grupo II), companheiro de ninho, não tinha acesso à água. Os resultados obtidos para trofalaxia foram positivos nas quatro colônias de formigas e ocorreram entre 33% e 46% de todos os testes em que as formigas do Grupo I beberam a água marcada. Estes resultados indicam que a trofalaxia pode ocorrer nesta espécie.

Palavras chaves: *Atta sexdens rubropilosa*; Attini; trofalaxia; transferência de água, estresse hídrico

ABSTRACT

Trophallaxis is the liquid transfer among individuals by regurgitation anal or oral deposition, which occurs in many groups of insects, including ants. The first indication that the Trophallaxis could occur in leaf cutting ants (*Atta sexdens rubropilosa*) was made by AUTUORI in 1942a. He reported the capture of water by this species of ant, and noted that in those days was a behavior not described for this species. In 2005, DA-SILVA and RIBEIRO presented preliminary results that suggest the existence of trophallaxis in *Atta sexdens rubropilosa*. Here we report on a formal test of the hypothesis the trophallaxis this species in four colonies with some degree of water stress. Our approach was to test pairs of ants in which only one individual (Group I) had access to water dyed blue and the other guy (Group II), nest-mate, came from a colony by offering dried corn dry milled for fungal growth, without access to primary water. The results obtained for trophallaxis were positive in four colonies of ants and occurred between 33% - 46% of all trials in which ants in Group I drank the water marked. These results indicate that trophallaxis occurs in this species.

Key words: *Atta sexdens rubropilosa*; Attini; Trophallaxis; Water transfer, Hydric stress

2.1 Introdução

O balanço de água de uma colônia de saúvas requer a hidratação do ninho e dos indivíduos, dado que em determinadas situações de estresse hídrico a coleta de água é feita por uma casta específica de formigas (RIBEIRO e NAVAS, 2008) acredita-se que possa existir a transferência de líquidos e alimentos entre indivíduos. Este comportamento conhecido como trofalaxia (WHEELER, 1918) é presente em algumas abelhas, cupins, formigas e vespas (WHEELER, 1918; WILSON, 1971; HOLLOBLER e WILSON, 1990; SUAREZ e THORNE, 2000 e SLEIGH, 2002). A transferência pode ocorrer via regurgitação oral ou deposição anal (HOLLOBLER e WILSON, 1990). Em formigas, alguns trabalhos descrevem o comportamento de trofalaxia. Entre eles os realizados por HOLLOBLER (1970; 1973), que estuda a relação doador - receptor e mimercofilia em formigas do gênero *Formica* e *Myrmica* e realiza uma filmagem do comportamento de trofalaxia em *Formica sanguinea*. Outra função que se acredita que a trofalaxia possa ter é o de transferência feromônios em cupins *Kaloterms sp.* e *Zootermopsis sp.* descrito por LUSCHER (1972). Nesse trabalho é relatada a distribuição via trofalaxia de dois tipos de feromônios às formas imaturas que atuam no hormônio juvenil e induzem a diferenciação de operárias em pré-soldados ou inter - castas.

A respeito do comportamento de compartilhamento de alimentos líquidos via regurgitação (trofalaxia), WALLIS (1961) realizou estudo com *Formica sanguinea* e *Formica fuscus*, no qual ele descreve aspectos importantes das condições em que este compartilhamento pode ocorrer. Entre eles vale ressaltar: a) A situação prévia da potencial doadora (“estados motivacionais”) estar ou não alimentada, por exemplo, são importantes para a finalização do

comportamento de compartilhamento de alimento; b) estímulos visuais não são uma pista importante, e formigas que tiveram os ocelos cobertos com papel escuro, “cegueira”, não diminuem a quantidade de alimento a ser doado; c) em formigas que perderam uma antena durante a vida não impede a partilha de alimentos, mas a remoção de ambas deprime a quantidade de alimento apresentado, tornando a formiga mais agressiva menos bem sucedida na tarefa de se alimentar, ou seja, não consegue iniciar a comunicação para o compartilhamento com as demais; d) e, finalmente, existem estímulos que facilitam a partilha de alimentos entre doador- receptor, como por exemplo, palpação, odor da colônia, antenação, entre outros. Todavia, LENOIR (1982) estudando a antenação de que precede a trofalaxia em formigas *Myrmica rubra* observou que este comportamento contribui em menos de 20 % com a trofalaxia no momento do compartilhamento alimento. Desta forma outros comportamentos como a estridulação podem atuar neste sistema de comunicação que modifica a atividade da formiga em relação a trofalaxia.

Alguns trabalhos como o de BOULAY *et. al.* (1999) buscaram abordar a trofalaxia no contexto do efeito do isolamento social. Neste experimento, realizado com a espécie *Camponotus fellah*, foram analisadas as mudanças no comportamento entre as formigas após um período de isolamento social da colônia. Um dos testes realizados foi coletar indivíduos de uma mesma colônia de *Camponotus fellah* e isolá-los da colônia por períodos de 24, 72, 120, 240 e 480 horas, em grupos com e sem privação alimentar. Cada teste comportamental consistiu no encontro de um par de companheiras de ninho após o período de isolamento, sendo registrado o tempo de trofalaxia. Este parâmetro depende do tempo de isolamento social da colônia e do seu

histórico alimentar. A trofalaxia aumenta em grupos que sofreram isolamento social da colônia materna por pelo menos 72 horas. Como a trofalaxia foi observada também em grupos sem privação alimentar durante o período de isolamento social, outros fatores podem estar envolvidos além da transferência de alimentos. Uma possibilidade é a transmissão de componentes ativos que atuam como pistas de reconhecimento de colônia. Por exemplo, SOROKER e colaboradores (1995) sugerem que, em *Cataglyphis niger*, a trofalaxia poderia transferir hidrocarbonetos presentes na cutícula e na glândula pós-faríngeal de uma formiga para outra, de forma a ajudar no reconhecimento das companheiras de ninho. Noutro trabalho realizado por LAHAV *et. al.* (1999) na mesma espécie foi confirmada a importância dos hidrocarbonetos no papel de reconhecimento das companheiras de ninho e a trofalaxia como meio de transferência destes compostos.

Em formigas *Atta sexdens rubropilosa*, o primeiro relato a respeito da transferência de líquidos entre operárias de um mesmo ninho foi feito por AUTUORI (1942a). Depois das conclusões de AUTUORI, o estudo da trofalaxia em *Atta* sofreu um recesso até 2005, quando testes preliminares utilizando água colorida artificialmente, em uma colônia com algum grau de estresse hídrico, demonstraram preliminarmente que a saúva-limão (*Atta sexdens rubropilosa*) exibem trofalaxia (DA-SILVA e RIBEIRO 2005). Atualmente, a identificação de trofalaxia ocorreu com o uso de uma solução de mel a 10 % e azul Evans a 1% em sete espécies de formigas cortadeiras da tribo *Attini* entre elas *Atta laevigata*, *Acromyrmex balzani*, *Acromyrmex rugosus*, *Acromyrmex sp.*, *Mycetophylax sp.*, *Mycocepurus sp.* (MOREIRA *et. al.* 2006, 2007), mas não em *A. sexdens rubropilosa*. Assim propomos neste trabalho verificar se há

trofalaxia em condição de estresse hídrico entre companheiras de ninho de formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa*.

2.2 Material e Métodos

Neste estudo foram usadas quatro colônias de formigas *Atta sexdens rubropilosa* estabelecidas em laboratório com rainhas provenientes de coleta realizada em dezembro de 2002 na cidade de Águas de São Pedro, São Paulo. Estas colônias, compostas aproximadamente por 10.000 indivíduos e uma rainha, armazenadas em um recipiente cilíndrico de acrílico de 4900 ml com fungo, estão em uma bandeja de plástico branco de 34cm de comprimento, 27cm de largura e 7,5cm de altura, a parte superior das bandejas é pintada com uma mistura de álcool e talco inodoro para evitar fuga de formigas. Em cada colônia, registradores de dados de umidade e temperatura (HOBO) foram implantados no interior da câmara do fungo. A desidratação das colônias foi feita pela substituição da alimentação de folhas de *Acalypha* sp. por quirera de milho. Assim, por causa do alimento seco (quirera de milho) as colônias sofreram um processo gradativo de desidratação. A coleta de água por parte das formigas serviu de indicativo de que as colônias estavam desidratadas como sugerido por RIBEIRO e NAVAS (2008). Uma vez que teve início a coleta de água os testes de trofalaxia começaram.

Testes

Após a desidratação das colônias os testes aconteceram em cinco etapas distintas:

1. A água foi retirada das colônias 24h antes da coleta de 34 formigas de cada uma das colônias A, C e D e 37 formigas da colônia B. As formigas coletadas foram mantidas em potes separados, um para cada colônia. Este grupo de formigas coletadas foi denominado de grupo A.
2. Após a coleta de formigas que formaram o grupo A, um pires de 10cm de raio com 15ml de água marcada com anilina azul com concentração de 5g de anilina para 1ml de água foi ofertado para cada colônia.
3. Nesta etapa as formigas que foram até o pires de água foram observadas atentamente. Aquelas que colocaram as mandíbulas em contato com a água foram acompanhadas e assim que iniciavam a marcha de retorno ao ninho foram capturadas e mantidas em potes separados, um para cada formiga. Estas formigas formaram o grupo B.
4. Nesta etapa as formigas do grupo A foram colocadas em contato com as formigas do grupo B. Para tanto, o par de formigas foi capturado com uma pinça e colocado numa placa de Petri nova. Tomou-se cuidado para que os pares sempre fossem formados por formigas irmãs, provenientes da mesma colônia.
5. Finalmente, após cinco horas, os pares de formigas em contato nas placas de Petri, foram retirados e sacrificados. Ambas as formigas tiveram o gáster esmagado num papel branco e absorvente. Após o fim

da quinta etapa, os papéis sobre os quais as formigas foram esmagadas foram observados com lupa (NIKON SMZ800). A presença de coloração azul nas marcas deixadas pelos dois indivíduos sinalizava um evento de trofalaxia (Fig.1).

Vale lembrar que os testes em que nenhuma das formigas esmagadas apresentava a existência de corante, o dado era desconsiderado como um evento possível de detecção de trofalaxia. No contexto desses experimentos a ausência de corante nas formigas do grupo B indica que estas formigas não beberam água marcada e, caso acontecesse trofalaxia, esta não seria detectável.

Para minimizar possíveis efeitos de subjetividade dos pesquisadores ao observarem os papeis marcados, as amostras passaram por um processo de checagem dupla. Dois pesquisadores verificaram os papéis, sem que ocorresse a troca de informações entre eles antes da checagem. Apenas nas situações em que houvesse concordância com relação ao resultado o dado era considerado.

2.3 Resultados

Foi verificada a trofalaxia nas 4 colônias testadas, e este comportamento foi caracterizado em 33% ou mais dos testes realizados (Tab.1). Na Figura 1 é possível verificar o teste padrão que foi realizado para identificar a ingestão e a transferência de água entre companheiras de ninho.

Tabela 1. Informações descritivas de eventos de trofalaxia para pares de formigas das quatro colônias.

Colônia	Número de eventos possíveis	Número de eventos de trofalaxia	Frequência de eventos de trofalaxia (%)	Média de umidade relativa no interior da colônia (%)
A	30	14	46	84.4
B	35	15	43	65
C	33	11	33	68
D	27	9	33	64

Figura1. Em A teste positivo para trofalaxia. Em B teste negativo para a trofalaxia.

2.4 Discussão

Os resultados aqui observados mostram, sem ambigüidade, que a trofalaxia pode acontecer em *Atta sexdens rubropilosa* em condição de desidratação. Como discutido na Introdução, a trofalaxia ocorre em muitas espécies de insetos sociais e pode ter papéis diferentes, entre eles facilitar o fluxo de água e alimento entre os indivíduos de uma colônia. Esse parece ser o caso em abelhas *Megalopta genalis* e *M. ecuadoria*, nas quais as mais novas forrageadoras doam alimento líquido espontaneamente para fêmeas mais velhas, e estas, por sua vez, redistribuem esse alimento entre jovens fêmeas e machos (WCISLO e GONZALEZ, 2006). No caso das formigas, a trofalaxia pode possuir essa mesma função, mas também parece relevante no contexto de reconhecimento (LAHAV, 1999). Para as formigas cortadeiras existe uma controvérsia sobre o seu papel nutricional de adultos já que existe uma simbiose entre o fungo cultivado e as formigas, de forma que o alimento estaria sempre disponível para todos os membros da colônia, sem haver necessidade de compartilhamento de alimento por trofalaxia (SILVA *et. al.*, 2003). Assim, para este gênero, a trofalaxia pode desempenhar um papel menos importante no fluxo de alimentos entre os indivíduos adultos de uma colônia, mas pode ser importante como parte de um conjunto de comportamentos como antenação, allgrooming, entre outros, relacionados com a transferência de água entre os trabalhadores.

Neste trabalho foram usadas colônias com algum grau de estresse hídrico, uma vez que estudos anteriores mostraram que a captação de água só ocorre em colônias desidratadas (RIBEIRO e NAVAS, 2008). Os autores mostraram que a captação de água nas colônias desta espécie desidratadas é

feita principalmente por uma casta específica de formigas. No entanto, MOREIRA *et. al.* (2007), utilizando colônias hidratadas de *A. sexdens rubropilosa*, não detectaram trofalaxia de alimentos líquidos. Globalmente, estes resultados sugerem que trofalaxia ocorre em *Atta sexdens rubropilosa* apenas ou principalmente quando a colônia está sofrendo de algum grau de estresse hídrico. Vale ressaltar que nosso experimento testou a passagem de água marcada com corante neutro, sem valor nutricional e atóxico, ao contrário do experimento de MOREIRA *et. al.* (2006; 2007) que usou uma mistura alimentar de mel e azul Evans.

A questão da trofalaxia nos sugere a reflexão nos papéis fisiológicos que ela exerce sobre a colônia no papel da homeostasia social. Neste aspecto seria interessante verificar se a detecção começa pela percepção individual, com início do comportamento de busca por água; ou ocorreria em um nível global onde todos os indivíduos, ao perceber alterações, iniciam coletivamente o comportamento de coleta de água.

Nossos dados sugerem que a condição de estresse hídrico é um fator importante para que a trofalaxia seja observada. Desta forma, mais testes para verificar qual a força tarefa dedicada à coleta de água e qual o papel de diferentes castas no contexto de homeostasia social e balanço hídrico. Um exemplo pode ser um experimento que busque quantificar a capacidade de água que pode ser coletada pelos diferentes tamanhos de formigas da colônia bem como seu compartilhamento por trofalaxia com as companheiras de ninho e sua deposição no jardim de fungo. Usando colônias desidratadas em que seja conhecido o volume, a umidade relativa e a massa aproximada do jardim do fungo previamente, pode se tentar verificar quanto cada grupo de formigas

contribui para a hidratação do fungo e quanto é compartilhado com as irmãs de ninho. Para isso, ainda pode se oferecer água marcada com diferentes cores a vários grupos e observar em quais regiões do fungo esta foi depositada, e de qual grupo a água tem origem.

Capítulo 3 – Atividade de coleta de água em colônias de formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa* em condição de estresse hídrico.

RESUMO

Formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa* apresentam elaborada organização social com divisão em castas. O desempenho de atividades realizado por grupos especializados contribui para o sucesso e sobrevivência da colônia. É sabido que formigas cortadeiras são capazes de detectar variações da umidade no interior dos ninhos. Neste trabalho investigamos a atividade de coleta de água em 3 colônias de *Atta sexdens rubropilosa* em condição de estresse hídrico. Foi testada a coleta de água por um período de 120 minutos a distâncias de 0 metro, 1 metro e 10 metros. Para cada colônia individualmente, foram medidas o tamanho das formigas coletoras de água. Foi observada a relação entre o tamanho da coletora de água e o momento em que coletou água. Os dados indicam que a coleta de água é realizada por formigas de menor porte e que existe uma diminuição no tamanho médio das formigas que coletam água ao longo do tempo de experimento. Todavia o efeito de tempo variou de acordo com a distância (0 metro, 1 metro e 10 metros).

Palavras chave: *Atta sexdens rubropilosa* — Estresse hídrico – Divisão de tarefas

ABSTRACT

Leaf Cutting Ants *Atta sexdens rubropilosa* have elaborate social organization with division into castes. Performance of activities carried out by specialized groups contributes to the success and survival of the colony. It is known that ants are able to detect variations in humidity inside the nest. So, we investigated the activity of collecting water in three colonies of *Atta sexdens rubropilosa* on condition of water stress. We tested the collection of water for a period of 120 minutes at distances of 0m, 1m and 10 meters. Each colony, individually, was collected and measured the size of workers they took water. We observed the relationship between the size of ants of water-collecting and time after the onset of collection. The data indicate that water collection is undertaken by smaller ants and there is a decrease in the average size of ants that collect water during the experimental period. However the effect of time varied with the distance (0 meter, 1 meter and 10metres).

Keywords: *Atta sexdens rubropilosa* –Water stress- Task division

3.1 Introdução

A organização social de uma colônia de insetos de modo cooperativo é fundamental na homeostase social e permite a capacidade de manutenção das condições internas adequadas para perpetuação da espécie. As bases dessa cooperação em sociedades maiores e geometricamente estruturadas têm contribuição da comunicação entre os indivíduos especializados em determinados papéis dentro de castas e na divisão de trabalho (WILSON, 1971; 1975; HOLLOBLER e WILSON, 1990). Um importante componente no estudo da divisão de trabalho em insetos sociais é o uso de feromônios muito estudados em formigas, como discutido por HOLLOBLER e WILSON (1990). Os feromônios têm relevância no contexto do forrageamento com a deflagração de sinais de alarme, com consequente fuga ou ataque das formigas (HOLLOBLER, 1978) em estudo de formigas *Novomessor sp.* WILSON (1962) também descreveu a formação de trilhas por substâncias químicas secretadas pela glândula de Dufour's em estudo com *Solenopsis saevissima* sobre forrageamento em massa.

Segundo WILSON (1971) o sistema de odores de trilha são os mais elaborados de todas as formas conhecidas de comunicação química. Este sistema de marcação da trilha pode ser definido como o campo de atividade na qual um inseto marca uma rota com uma essência ou traços de um odor tal que outros insetos da mesma comunidade sejam capazes de reconhecer e seguir essas marcas (SUDD, 1959). A formação de trilha geralmente começa com o processo de recrutamento onde uma batedora encontrando uma fonte alimentar faz uma comunicação que leva companheiras do ninho onde o

trabalho é requerido (WILSON, 1971). Quando o recurso está esgotado e as operárias retornam descarregadas ao ninho, não há uma reposição dos compostos químicos, e os odores evaporam (HOLLDOBLE e WILSON, 1990). Assim a trilha só existe enquanto está sendo ativamente usada e a sua natureza é bi-direcional (MORGAN, 2009). Todavia comportamentos coletivos que levem a formação da trilha quando um recurso é necessário devem ser considerados. BECKERS *et. al.* (1989), analisaram as estratégias de forrageio e o tamanho da colônia em 98 espécies de formigas. O resultado mostrou que a coordenação do forrageio pelo uso de comunicação química (feromônios) na marcação de trilha ocorre mais fortemente para colônias com maior número de indivíduos. Assim o comportamento de marcação de trilha com recrutamento influenciado por feromônios levou muitos pesquisadores a considerar esse mecanismo como o mais provável responsável pela formação de trilhas.

Por outro lado, RIBEIRO e colaboradores (2009) demonstraram a possibilidade de formigas cortadeiras (*Atta sexdens rubropilosa*), em condições experimentais, elaborarem uma trilha unidirecional entre a fonte alimentar e o ninho. Assim, os feromônios em determinadas situações podem ter um papel apenas secundário, e que trilhas atípicas, com fins específicos e temporais são possíveis, ou até essenciais em muitos contextos da divisão de trabalho entre os indivíduos da colônia.

3.1.1 A divisão de trabalho associada ao formato e tamanho em *Atta*

A divisão de trabalho engloba a presença de castas de operárias que, em algumas espécies de insetos sociais, é composta por indivíduos

aparentemente especializados dada a notável variação no tamanho e na morfologia (WILSON, 1971; HOLLOBLER e WILSON, 1990). Indivíduos especializados desempenham mais frequentemente tarefas específicas que contribuem na homeostase social da colônia. Por exemplo, em *Solenopsis geminata*, que recolhem as sementes como parte de sua dieta, os trabalhadores têm grandes mandíbulas em formato específico para moagem de sementes (WILSON, 1978).

Em algumas espécies de formigas há polimorfismo associado a tamanho com aparente especialização nas tarefas desenvolvidas, situação chamada aloestismo (OSTER e WILSON, 1978; WILSON, 1980a; 1980b; 1983; HOLLOBLER e WILSON, 1990). Este é o caso em formigueiros do gênero *Atta*, pois o diâmetro das cápsulas encefálicas podem ir de 0,8mm a mais de 3,0mm, e cada tamanho se relaciona, em princípio, a diferentes tarefas. As tarefas podem ser divididas em quatro categorias principais: 1) cuidado das hifas de fungo e formas imaturas das formigas, que é exercida pelas jardineiras ou “babás”, as menores formigas da colônia; 2) manutenção geral, principalmente a cargo de formigas com cápsula encefálica de aproximadamente 1,4 mm e responsáveis por descarte de lixo, preparação de vegetais antes de serem incorporados às esponjas de fungo e a reconstrução das esponjas; 3) forrageio, que é realizado por formigas com cápsula encefálica de aproximadamente 2,2 mm, responsáveis por explorar o ambiente externo à colônia em busca de material vegetal; 4) defesa, que fica a cargo de soldados, com cápsula encefálica de aproximadamente 3,0 mm, responsáveis por repelir ações adversas contra o ninho, principalmente de outras formigas (WILSON,

1971; 1980a; 1980b; 1983; CARVALHO, 1972; ROCES e HOLLDOBLE, 1994; ADAM e RATNIEKS, 2001; ANDRADE *et. al.* 2002).

Um exemplo específico de aloetismo em formigas cortadeiras é visto em *Atta texana*. WALLER (1989) verificou como as forrageadoras escolhem o pedaço apropriado do recurso para seu tamanho, no caso entre pedaços de milho de granulação maior e menor e dois tipos de folhas com densidades diferentes. Ele testou a relação do peso da formiga com o peso do alimento e relatou que num período de 24 horas o tamanho médio das formigas diminuiu nas trilhas com pedaços de milho menores, sugerindo que as formigas são capazes de ajustar o tamanho das forrageadoras ao tamanho do recurso utilizado.

3.1.2 Manutenção do Equilíbrio hídrico

Um aspecto crucial na manutenção de todas as atividades de uma colônia de insetos e sua sobrevivência é a capacidade de: 1) perceber as alterações que ocorrem no ambiente dentro e fora da colônia e 2) produzir comportamentos coletivos que levem à diminuição do impacto dessa alteração. Comportamentos coletivos em resposta a variações na temperatura e umidade do ambiente são conhecidos para várias espécies. *Formica ulkei* constrói em campo pequenos montículos na entrada do ninho que visam a manutenção de uma maior umidade no interior do ninho, e larvas e pupas preferem umidades maiores (SCHEBA, 1959). Além disso, pode haver respostas comportamentais à perda de água, como foi reportado em *Pachycondyla villosa*, citado por WILSON (1985a). Ele relata que durante a

estação seca, muitas operárias fazem repetidas viagens a locais em que há acúmulo de orvalho ou água disponível, retornando ao ninho com uma gota presa na mandíbula e depositando no chão ou sendo compartilhada com outros indivíduos.

No caso de formigas cortadeiras (*Atta sp.*) um refinado controle da umidade dentro do ninho é essencial para um bom desenvolvimento do fungo, seu recurso alimentar. Este fungo se desenvolve a umidade relativas elevada, acima de 90%, como reportado por STAHEL e GEIJSKES (1940), que encontram umidade relativa entre 91 e 97 % no jardim de fungo subterrâneo. Outros mecanismos de controle umidade são a coleta de água por membros da colônia (AUTUORI, 1942a; RIBEIRO e NAVAS 2008), e seu compartilhamento (trofalaxia) em saúva-limão (*Atta sexdens rubropilosa*) (AUTUORI, 1942a, DA-SILVA *et. al.*, 2009), bem como a transferência do ninho de lugar (AUTUORI, 1941). Estas observações de algum modo deram base para testes a respeito da capacidade fisiológica de detectar a variação da umidade relativa e seus gradientes. A esse respeito ROCES e KLEINEDAM (2000) testaram em laboratório a umidade preferencial para cultivo de fungo em saúvas-limão (*Atta sexdens rubropilosa*) usando um gradiente de umidade relativa. Foram oferecidas às operárias que cuidam do jardim de fungo câmaras com 4 umidades relativas: 33%, 75%, 84% e 98%. As formigas foram colocadas em uma câmara com um pequeno pedaço de fungo disponível, conectado às outras câmaras, podendo se mover livremente para uma das opções de escolha. Os resultados mostraram que as operárias preferem umidades relativas mais elevadas para depositar o pedaço de fungo ofertado. Da mesma forma um experimento espelho, realizado com *Atta sexdens rubropilosa* por

RIBEIRO e NAVAS (2007) procurou avaliar a umidade relativa preferencial para a deposição do lixo da colônia, chegando a conclusão de que as formigas preferem umidades menores (25%RH) para depositarem o lixo. Os resultados para os experimentos de preferência de umidade para o cultivo do fungo e deposição do lixo, indicam que as formigas são capazes de perceber mudanças na umidade relativa no interior da colônia e alteraram o comportamento em resposta a tais mudanças. Contudo, faltava uma melhor compreensão de como isso era feito em nível de colônia, se existia uma casta específica responsável pelas tarefas de manutenção da umidade. Desta maneira, RIBEIRO e NAVAS (2008) investigaram quais os tamanhos associados à coleta de água em *Atta sexdens rubropilosa* em condições de desidratação, observando que esta é realizada por formigas de menor tamanho e com o acúmulo de pequenos fragmentos de folhas na entrada dos ninhos.

Nas condições de desidratação da colônia a homeostase social pode ter como um dos seus mecanismos a transferência de líquido entre indivíduos. DA-SILVA e colaboradores (2009) demonstraram a trofalaxia entre companheiras de ninho de *Atta sexdens rubropilosa*, determinando que esta ocorra em situação de estresse hídrico por parte da colônia. Uma vez que há necessidade de controle da umidade relativa em colônias em condições de estresse hídrico de *Atta sexdens rubropilosa*, estas nos oferecem um interessante sistema para tentar melhor compreender o processo de coleta de água. Neste sistema é possível buscar verificar a transmissão de informação que ocorre entre as operárias da colônia desde o momento em que é “percebida” a necessidade de efetuar a busca de água para manutenção hídrica. Assim, o presente trabalho buscou investigar em um contexto de estresse hídrico em colônias de *Atta*

sexdens rubropilosa se existe especialização no tamanho das formigas coletoras de água. Especificamente, visamos conferir se há especialização na coleta de água independente da casta de formigas que primeiro tem contato com a fonte de água oferecida, ou seja, se paulatinamente uma casta específica passa a coletar água. Também perguntamos se tal especialização independe da distância da fonte de água. Esta pergunta é relevante, pois considerações energéticas relativas à eficiência do transporte de água poderiam ser importantes neste contexto.

3.2 Material e Métodos

O procedimento experimental foi dividido em três estágios, cada um dos quais é detalhado nas três seções que seguem:

3.2.1 Montagem das colônias experimentais

Para este teste foram usadas colônias de formigas saúva-limão, *Atta sexdens rubropilosa* (FOREL, 1803), mantidas em laboratório no Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Os experimentos foram realizados com indivíduos provenientes de três colônias com dois anos e meio de idade. Cada colônia era composta aproximadamente por 10.000 indivíduos e uma rainha, alimentadas diariamente nos finais de tarde com folhas de *Acalypha sp. ad libidum* e mantidas a uma temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade ambiente de $70\% \pm 20$ e luminosidade natural. Estas colônias foram estabelecidas em laboratório com rainhas provenientes da cidade de São Pedro, no interior do estado de São Paulo. Cada formigueiro é composto por uma panela de fungo armazenada em um recipiente cilíndrico de acrílico com 4900 ml. A panela de fungo fica numa bandeja plástica de 80 cm de largura, 45 cm de comprimento e 20 cm de altura, pincelado nas bordas com uma mistura de álcool e talco para evitar fugas (Fig.1).

Figura 1. Colônia de *Atta sexdens rubropilosa*, foto ilustrativa da estrutura (ou da composição) da colônia.

3.2.2 Montagem dos testes

3.2.2.1 Teste da especialização de tamanhos na coleta de água ao longo do tempo.

a) Desidratação das colônias

A desidratação das colônias foi feita através da substituição da alimentação de folhas de *Acalypha sp.* por quirela de milho. As colônias foram acompanhadas durante 10 dias de tratamento a gradual desidratação. Assim, devido ao alimento seco (quirela de milho) as colônias sofreram um processo gradativo de desidratação. Em um pires de porcelana foram ofertados 15 ml de

água. O início da coleta de água foi usado como indicativo para início do teste como sugerido por RIBEIRO e NAVAS (2008).

b) Teste do efeito do tempo

Aqui chamamos de “*efeito do tempo*” a possível relação entre o tempo transcorrido a partir da oferta de água e o tamanho médio das formigas que passam a ser coletoras deste líquido. Os passos do procedimento experimental foram:

1) Iniciamos o teste com a oferta de 15 ml de água num pires de porcelana colocado ao lado da panela de fungo (Fig.2); 2) Outro pires com 15 ml de água foi colocado ao lado da colônia como controle de perda de água por evaporação. No final do experimento a diferença entre os volumes de água dos dois pires foi calculada; 3) a oferta de água ocorreu sempre num intervalo de tempo de 120 minutos (7200 segundos), no final da tarde, sendo retirada a fonte de água logo em seguida; 4) marcações com caneta permanente, no pires de porcelana com água, delimitaram o espaço onde seria coletada apenas uma única formiga por vez (Fig.2); 5) A coleta foi realizada da seguinte maneira: a) as formigas que coletavam água e chegaram às marcações do pires foram coletadas com uma pinça curva; b) a coleta foi feita no sentido horário das marcações, ou seja, a primeira formiga coletada estava próxima ou em cima da marcação 1, a segunda da marcação 2, e assim por diante;c) Concomitantemente a coleta de formigas eram medidas as cápsulas encefálicas de todas as formigas coletadas, com auxílio de um paquímetro digital Caliper (0.05mm). Importante ressaltar que ao coletar as formigas foi anotado o tempo total transcorrido desde o início da oferta de água. Deste

modo, as formigas coletadas nos primeiros vinte minutos foram agrupadas e tiveram o tamanho de suas cabeças medidas. Assim foi possível saber o tamanho médio das formigas que coletaram água nos primeiros 20 minutos, bem como nos 40 min, 60 min, 80 min, 100 min e 120 min após a oferta de água; 6) As formigas coletadas foram mantidas em um recipiente cilíndrico separado da colônia até o final do experimento. O recipiente continha uma mistura de talco e álcool na borda para evitar as fugas; 7) as formigas foram devolvidas à colônia.

Figura 2. Foto ilustrativa mostrando a fonte de água controle (A) e fonte de água em teste (B).

3.2.2.2 Efeito da distância da fonte de água no tamanho das formigas coletoras de água.

Aqui se buscou verificar a hipótese da influência da distância da fonte de água no tamanho das formigas que coletam água. As colônias foram submetidas a estresse hídrico como descrito anteriormente. Para a distância de 0 m a fonte de água foi colocada na bandeja onde se encontra o pote de fungo. Para a distância de um e dez metros as colônias seguiram o modelo ilustrado (Fig.3). A bandeja da colônia foi conectada por pequenos tubos plásticos transparentes de uma polegada de diâmetro a bandejas plásticas de 32 cm comprimento, 22cm de largura e 7,5 cm de altura polvilhadas com uma mistura de álcool e talco para evitar fugas, completando a distância de um e de dez metros em linha reta. O teste seguiu os passos descritos anteriormente para o teste do efeito do tempo. Vale ressaltar que o teste só tinha início com o sistema de trilha de coleta em pleno funcionamento, ou seja, com fluxo de formigas da colônia para a fonte de água e da fonte de água para a colônia. Cada colônia foi testada três vezes para as distâncias 0m, 1m e 10 metros após 10 dias de estresse hídrico.

Figura 3. Ilustração do modelo experimental formado pela colônia interligada por bandejas (1m) a fonte de água.

Análise dos dados

Os comportamentos aqui observados para a atividade de coleta de água em *Atta sexdens rubropilosa* em condição de estresse hídrico foram registrados e posteriormente avaliados com o uso de uma ferramenta estatística. A análise estatística ocorreu com o uso do programa STATISCA 7 para os dados descritivos e análise de variância (ANOVA). O teste na distância de 10 metros da colônia B não foi realizado pois apesar de várias tentativas a colônia não manifestou o comportamento de coleta de água para essa distância. Já com relação a colônia C na terceira repetição a 10 metros tivemos um problema de dispersão da trilha de coleta de água após uma hora. Assim, não foi possível a repetição do teste com a mesma colônia, pois tal iniciativa colocaria em risco a sobrevivência da mesma. Por tal razão é considerado o tempo de 60 minutos em que foi possível a coleta de dados.

3.3 Resultados:

3.3.1 Codificação usada nos testes realizados.

As três colônias usadas nos experimentos foram denominadas de A, B e C. O primeiro número depois da letra corresponde à distância em que o teste foi realizado e o segundo número ao número da repetição, assim por exemplo A101, corresponde a colônia A, distância de 10 metros, repetição 1; B01, colônia B, distância de 0 metros, repetição 1, e assim por diante.

3.3.2 Efeito do tempo no tamanho médio das coletoras de água a distâncias de 0m, 1m e 10 metros.

Para o teste do efeito de tempo, ou seja, para a variação da média de tamanhos das formigas coletoras de água ao longo do tempo, o resultado global para todas as colônias nas três distâncias (0m, 1m e 10 metros) pode ser observado na Figura 4. Nela está exposta a média dos tamanhos das cápsulas encefálicas das formigas com o respectivo desvio padrão correspondente a cada intervalo de tempo de 20 minutos até o final da atividade de coleta de água para todas as distâncias testadas. Existe efeito de tempo no tamanho das formigas coletoras de água (ANOVA: $F_{(5, 90)} = 93,946$, $p < 0,001$), ou seja, a média de tamanho das operárias engajadas na coleta de água diminui ao longo do tempo.

Figura 4. Relação entre o tamanho da cápsula encefálica (mm) e os intervalos de tempo de coleta da água durante duas horas. O período total foi dividido em 6 blocos de 20 minutos cada. O resultado inclui os dados de todas as distâncias.

3.3.3 Análise individual da variância de cada colônia as distâncias de 0m, 1m e 10 metros

O comportamento de coleta de água foi observado nas distâncias de 0m e 1m nas colônias A, B e C e a 10 metros nas colônias A e C. Para avaliar o processo de especialização por tamanho na coleta de água foi comparada a variância no tamanho dos indivíduos coletores entre os seis intervalos de tempo de 20 minutos que caracterizaram o experimento. A comparação visual das variâncias (Fig. 5 e 6) indica que o padrão mais repetido é a diminuição na dispersão ao redor da média no tamanho (mm) das formigas ao longo do tempo.

Figura 5. Relação entre os intervalos de tempo de coleta da água durante duas horas (aqui representados em blocos com 20 minutos) e a variância.

Figura 6. (Continuação). Relação entre os intervalos de tempo de coleta da água durante duas horas (aqui representados em blocos com 20 minutos) e a variância

3.3.4 Relação entre as distâncias de 0m, 1m e 10 metros e o efeito do tempo.

Há efeito do tempo (Fig.7), contudo a dinâmica desta especialização variou com a distância a qual a fonte de água foi localizada (GLM, $F_{10,90}=1,9693$, $p=0,045$).

Figura 7. Comparação entre o efeito de tempo para as três colônias as distâncias de 0m, 1m e 10 metros.

3.4 Discussão

Em nosso trabalho foi observado um efeito de tempo no tamanho médio das formigas que coletam água (Fig.4). Esta diminuição no tamanho médio das coletoras leva a sugerir que nos momentos iniciais, que envolvem principalmente a detecção de água, há uma predominância de formigas maiores. Após um tempo, a coleta de água fica associada a formigas de pequeno porte. Desta forma, ao analisarmos a dinâmica da coleta de água por colônia individualmente (Fig. 5 e 6), é possível verificar um decaimento da variância com o decorrer do tempo de atividade que independe da distância à qual está localizada a fonte de água. Este resultado indica tendência à homogeneidade dos tamanhos médios de formigas que realizam a coleta de água. Portanto, os resultados corroboram a hipótese de especialização para coleta de água por formigas de pequeno porte, tal como sugerido por RIBEIRO e NAVAS (2008). Note-se que o decaimento na variância acontece independentemente da distância à qual está localizada a fonte de água, contudo, o tempo necessário para atingir tal especialização depende da distância à qual a fonte de água está localizada. Contudo, esta variação poderia ser explicável em termos da influencia geral da distância na dinâmica da formação de uma trilha especializada.

Ao observar todos os resultados que mostram o efeito de tempo no tamanho médio das formigas que coletam água até 10 metros de distância, surgem algumas perguntas: Qual o possível papel das formigas de maior tamanho presentes no início da tarefa de coleta de água? Uma vez que formigas de maior porte conseguem coletar água, em que momento esta tarefa é passada para as de menor porte, como, e por quê? Embora não seja possível

obter aqui uma resposta formal para estas questões, elas merecem alguns comentários. Uma colônia de insetos sociais opera sem um controle central. Assim, especulamos que operárias individuais, usando informação local, podem produzir o comportamento coletivo que observamos. Segundo alguns autores todo o comportamento da colônia resulta da alocação de tarefas (WILSON, 1978; GORDON, 1996; 2003). A visão mais simplificada desconsidera as capacidades individuais de percepção, aprendizado da experiência prévia, idade, estado motivacional entre outros. Contudo, esses fatores podem atuar positivamente no comportamento frente ao estímulo do ambiente (CUNHA, 1980; ANDERSON e McSHEA, 2001; CAMAZINE, 2003;).

As causas funcionais da especialização de castas na coleta de água merecem discussão. Em um primeiro momento podemos pensar que as formigas maiores são mais eficientes em transportar água para a colônia. A limitação morfológica para a coleta de água não foi evidente, uma vez que todos os tamanhos foram observados presentes a atividade. O possível papel de formigas de maior porte presentes em um momento inicial e logo após sua substituição por um tamanho específico, liga este trabalho a outros aqui já citados que demonstraram a plasticidade comportamental de formigas em contexto de forrageio. Assim em um cenário de otimização, formigas menores podem ser mais eficientes tanto em termos de custo energético do transporte de água ou na capacidade de distribuição de água através de trofalaxia para outras castas de formigas ou para o jardim de fungo. Além disso, as capacidades individuais para percepção de estresse hídrico da colônia, podem, operando de maneira integrada, mobilizar um grupo de formigas mais generalistas para que assumam tarefas especializadas em condições

possivelmente menos comuns na colônia, como estresse hídrico. Assim, uma alternativa ao cenário de otimização do transporte de água seria o de minimização do impacto sobre outras tarefas. Segundo esta interpretação, o grupo de formigas que poderia auxiliar na manutenção hídrica da colônia seria aquele que traria menor prejuízo ao suspender outras atividades da colônia.

Os dois modelos citados no parágrafo acima requerem transmissão da informação, que ocorreria nos instantes iniciais com o uso de feromônios marcando a trilha, ou com outros recursos como a antenação ou trofalaxia da água coletada. Sugerimos experimentação em colônias desidratadas limitando o acesso de água por tamanho de formiga nas distâncias aqui testadas. A confirmação de que formigas de menor porte encontram a fonte de água e formam trilha para a coleta de água daria um indicativo que o papel das formigas de maior porte não é fundamental para a execução desta atividade e que formigas menores conseguem transmitir a informação da água disponível. Outros estudos acrescentando o controle do nível de hidratação do fungo cultivado pelas formigas bem como a contribuição dos vários tamanhos poderia sugerir relações de “custo/benefício” de cada tamanho para a manutenção do equilíbrio hídrico da colônia.

Capítulo 4 – Sistema de pontes com fenda e seu uso em formigas *Atta sexdens rubropilosa*.

RESUMO

A capacidade de divisão de tarefas dos insetos sociais tem recebido grande destaque entre os etólogos. A existência de polimorfismo e divisão de tarefas faz de formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa* um interessante sistema-modelo para se testar a transmissão de informação. Neste trabalho apresentamos um sistema de pontes com fenda de 1,5 cm entre as partes do sistema. Neste sistema, conseguimos a separação entre formigas de trilhas com formigas de menor e maior tamanho. Foi testada conjuntamente a hipótese da transmissão de informação por meio de sinais químicos como possível alerta da falha na ponte a outras companheiras de ninho. Nossos dados sugerem o aprendizado da detecção da fenda e os resultados também sugerem que outros fatores que não químicos fazem o alerta.

Palavra chave: *Atta sexdens rubropilosa* – Sistema de pontes com fenda – transmissão de informação

ABSTRACT

The ability of division of labor among social insects has received great attention from ethologists. The existence of polymorphism and division of labor makes leaf cutting ants *Atta sexdens rubropilosa* an interesting model system to test the information transmission. We present a system of bridges with 1.5 cm gap between parts of the system. In this system, we have the separation between ants smaller and larger size. It was jointly tested the hypothesis of primary transmission of information via chemical signals such as warning of possible failure in the bridge to other nest mates. Our preliminary data suggest learning to detect the crack and the results also suggest that factors other than chemicals are alert.

Keywords: *Atta sexdens rubropilosa* – System of Bridge with gap – transmission of information

4.1 Introdução

O estudo dos insetos sociais tem dominado o campo de pesquisa de muitos etólogos. Devido ao elaborado nível de organização social, com a presença de castas e divisão de tarefas entre seus membros, torna os insetos sociais um interessante sistema-modelo para o estudo do comportamento dos indivíduos e da colônia como um todo (OSTER e WILSON, 1978, WILSON, 1987). Quando se trata da divisão de tarefas, um dos pontos abordados é a simplificação do comportamento individual. Essa possível simplificação surge no contexto da dicotomia entre complexidade individual e complexidade coletiva que é relevante nas pesquisas sobre comportamento de insetos sociais. Por exemplo, ANDERSON e MCSHEA (2001) propõem que muitas das tarefas realizadas por formigas, e a sua divisão entre os membros da colônia, estão intimamente ligadas a aspectos fisiológicos ou morfológicos que podem limitar ou restringir o desempenho individual. Entre esses aspectos, fatores individuais como a idade das operárias, se existem ou não diferenciação morfológica entre as operárias de um mesmo ninho, e fatores coletivos como tamanho da colônia, seriam importantes na capacidade de resposta e sobrevivência da colônia. Geralmente as sociedades de formigas mais complexas são caracterizadas por colônias de grande porte, polimorfismo das operárias, especialização comportamental e perda da totipotência das operárias, ou seja, baixa complexidade individual e controle descentralizado da colônia (ANDERSON e MCSHEA 2001).

Quando se trata de complexidade social da colônia podemos sugerir, por exemplo, que o desempenho de uma tarefa como uma trilha de forrageamento

dentro de uma colônia de formigas é permeada por uma sequência de interações entre o indivíduo, seus companheiros de ninho e o meio ambiente onde está inserido (HOLLDOBLE *et. al.* 1978, WALLER, 1989). Esta interação para a formação de uma trilha de forrageamento envolve a localização do recurso, o recrutamento, marcação da trilha com feromônio e transporte do recurso até o ninho. Neste processo estão envolvidos vários indivíduos pertencentes a diferentes castas com tarefas específicas (OSTER e WILSON, 1978; HOLLDOBLE e WILSON, 1990). Já em *Atta sexdens*, por exemplo, há sobreposição de atividades entre os membros da colônia, com certa plasticidade comportamental entre as atividades desenvolvidas, de defesa, forrageio, cuidado das irmãs de ninho entre outras. Esta divisão de castas está intimamente ligada a todas as atividades desenvolvidas pela colônia.

Então, o desempenho de uma atividade como a formação de trilha e a transmissão de informação entre os seus companheiros de ninho é uma atividade complexa (OSTER e WILSON, 1978; CAMAZINE, 2003). As regras que delineiam este comportamento podem ser influenciadas por diferentes mecanismos de orientação e de exploração de recursos. Entre eles o uso de pistas visuais, orientação magnética, contagem de passos entre outros (RIVEROS, 2008; WITTLINGER *et.al.*,2006). Uma das questões no processo de formação de trilhas é a escolha do caminho mais curto entre o recurso e a colônia. Ao se considerar o diminuto tamanho de um indivíduo comparado com os obstáculos que encontra no caminho (pedras, galhos de árvores), e as escolhas de um caminho eficiente para o recurso que está distante, são questões que podem ser demasiadamente complicadas para serem resolvidas

por um único indivíduo. Em uma situação típica de forrageio de formigas de jardim, cada forrageadora sai em busca do alimento e realiza um caminho próprio até chegar a colônia resultando em várias rotas para casa. Apesar disso, após uma ou duas horas de atividade, os caminhos longos serão abandonados em preferência dos mais curtos (CAMAZINE *et. al.*, 2003). Esta escolha por caminhos eficientes até a colônia, necessariamente, envolve a transmissão de informação entre os membros da atividade de forrageio. Em nosso trabalho procuramos dar continuidade na linha de estudos da relação dos tamanhos de formigas associados à divisão de tarefas em um determinado contexto, seja a coleta de água, seja a exploração de novos ambientes como aqui proposto.

4.2 Objetivos

Nossos objetivos neste trabalho foram:

- 1) Verificar se o sistema de pontes com fenda de 1,5 cm é capaz de separar as formigas maiores das formigas menores que atravessam a ponte;
- 2) Investigar possíveis alterações no padrão de uso das pontes com fenda ao longo do tempo.

4.3 Material e Métodos

4.3.1 Arranjo Experimental

Os experimentos foram realizados com indivíduos de duas colônias de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1803) de três anos de idade, mantidas no laboratório do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Brasil. Estas colônias, compostas aproximadamente por 10.000 indivíduos e uma rainha, foram estabelecidas em laboratório com rainhas provenientes da cidade de São Pedro, interior do estado de São Paulo. Cada formigueiro é composto por uma panela de fungo armazenada em um recipiente cilíndrico de acrílico de 4900 ml, e este, está em uma bandeja plástica com 80 cm de largura, 45 de comprimento e 20 de altura, com as bordas pinceladas com uma mistura de álcool e talco para evitar fugas. As formigas foram alimentadas com folhas de *Acalypha sp ad libidum* e foram mantidas à temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade de $70\% \pm 20$ e luminosidade natural.

4.3.2 Testes

4.3.2.1 O sistema de pontes com fendas

O arranjo experimental foi construído usando ripas de madeira com 5 cm de largura, 2 cm de altura e 50 cm de comprimento, denominadas “pontes”. As pontes permitiam o tráfego das formigas de uma extremidade à outra. Estas pontes obedeceram a duas construções básicas: uma com uma fenda de 1,5

cm comprimento (vão entre as extremidades da ponte) e outra sem fenda.
Ambas podem ser vistas na Figura 1.

Figura 1 – Esquema de pontes com e sem fenda.

4.3.2.2 Verificação se formigas menores não passam pela fenda (Teste de Validação)

Ao propor a comunicação da colônia com outras bandejas usando o sistema de “pontes com fenda”, se tornou necessário averiguar qual a relação entre o tamanho da fenda e o tamanho de formiga que consegue transpor a fenda e chegar à bandeja extra. Nessa etapa, foram adicionadas 2 bandejas extras ao lado da colônia (1 e 2) (Fig.1), em um dos lados (bandeja 1) usou-se o sistema de ponte sem fenda de modo a permitir que todos os tamanhos de formigas presentes na colônia obtivessem acesso a nova bandeja, configurando-se o grupo controle.

Do outro lado (bandeja 2) foi usado o sistema de ponte com fenda, no qual a distância entre as extremidades da ponte foi alterada. Uma bandeja extra, de contenção também pintada com álcool e talco, foi usada embaixo da fenda para evitar fuga das formigas que porventura caíssem da ponte. Com o sistema funcionando, ou seja, com fluxo de formigas pelas duas pontes, após 24 horas foram realizadas medidas do tamanho da cápsula encefálica das formigas presentes nas bandejas 1 e 2. Todas as formigas foram coletadas e medidas com um paquímetro digital (DIGITAL CALIPER 0 – 150 mm), e foi comparado o tamanho médio das formigas em cada uma das bandejas. O tamanho inicial da fenda foi de 0,5 mm e após vários testes foi estabelecida uma fenda com 1,5 cm, a que melhor atendia ao objetivo de permitir que somente formigas maiores acessassem a bandeja 2 (Fig. 1).

Resultados do teste de validação

Os resultados do teste T (DF=94, $p=0,001$) mostraram que para a distância de 1,5 cm houve uma diferença dos tamanhos de formigas encontradas entre a bandeja controle (1) e a bandeja teste (2) como observado na Tabela 1.

Tabela 1. Dados descritivos (mm) do teste de validação do modelo da ponte com fenda de 1,5 cm.

Descritivo	Média (mm)	Mediana (mm)	Mínimo (mm)	Máximo (mm)	Variância	Desvio Padrão	Erro Padrão
Controle	1,288125	1,22	0,75	2,65	0,164271	0,405303	0,058501
Teste	2,17625	2,24	1,19	3,20	0,146632	0,382926	0,055271

4.3.2.3 Teste de aprendizado

No teste, usamos a premissa de se houve ou não aprendizado a partir da contagem do número de formigas que caíam na bandeja de contenção ao longo dos dias de experimento. O teste foi realizado da seguinte forma:

- 1) Quantificação do número de formigas que caíam na bandeja de contenção no período de 24 horas continuamente durante 7 dias.
- 2) Medidas do fluxo de formigas em direção às bandejas 1 e 2, realizadas concomitantemente por 10 minutos em intervalos de 6 horas ao longo de 24h, totalizando 40 minutos de contagem por dia.
- 3) Substituição da bandeja de contenção a cada 24 horas, com contagem e medida da cápsula encefálica das formigas que caíram no sistema de

ponte com fenda. No mesmo momento, foram coletadas amostras de 25 formigas das bandejas 1 e 2 e medidas.

- 4) Todas as formigas foram devolvidas à colônia após as contagens. Os testes foram realizados durante sete dias consecutivos.

4.3.2.4 Teste após a inexistência da fenda

O objetivo deste teste foi verificar os tamanhos médios das formigas presentes nas bandejas 1 e 2 (Fig.1) ligadas a colônia pelo sistema de pontes com e sem fenda imediatamente após a junção das extremidades da ponte com fenda de 1,5cm.

Métodos

Este teste consistiu na união das partes da ponte com fenda 24 horas após o término do experimento de aprendizado. As pontes foram retiradas cuidadosamente com auxílio de outro investigador e as formigas manualmente retiradas das bandejas 1 e 2 (Fig.1) e outras partes das pontes, não sendo devolvidas a colônia. Logo em seguida as pontes foram recolocadas na mesma posição em que se encontravam anteriormente, porém agora a fenda da ponte com fenda não mais existia, dando início ao novo teste. Durante 20 minutos foram coletadas todas as formigas que chegaram às bandejas 1 e 2. Após coletadas, foram quantificadas e medidas.

4.4 Resultados

4.4.1 Teste de aprendizado

O teste para verificar um possível aprendizado envolveu um coeficiente de queda² (Fig. 2). Neste gráfico é possível observar a relação entre o menor número de quedas (relativas) ao longo dos dias. A análise estatística (GLM= efeito de dia= $F_{4,657}$; $p=0,037$) demonstrou que houve diferença entre os dias.

Figura 2. Quedas ao longo dos 7 dias de experimento. Nesta figuram são representados o número de quedas (relativo) das formigas ao longo dos dias de experimento. As quedas relativas são calculadas pelo coeficiente de quedas, uma relação entre o número de formigas que cai em um dia e o fluxo total de formigas na ponte com fenda referente ao mesmo dia.

² Coeficiente de Queda: é a relação entre o número de formigas que caíram em um dia dividido pelo fluxo total de formigas em direção à ponte com fenda no mesmo

4.4.2 Teste após a inexistência da fenda

O teste foi realizado para verificar se o padrão de uso das pontes permanecia após a ausência de fenda de 1,5cm. (Fig.3).

Figura 3 Demonstração entre os tamanhos médios das formigas do controle e a ponte com falha após a eliminação da fenda (1,5cm).

Na Figura 3, do teste após a inexistência da fenda, estão representados os valores da média com seu respectivo desvio padrão (Controle1= $M=1,60$ $SD=0,601$; Experimental 1= $M=1,72$ $SD=0,578$; Controle2= $M=1,26$ $SD=0,37$; Experimental 2 $M=1,29$ $SD=0,509$). Nela é possível verificar os tamanhos encontrados nas bandejas 1 e 2 (Fig.1) para verificar se o padrão de uso das trilhas permanecia após a junção da ponte com fenda. Seria considerado como

positivo a diferença entre os tamanhos das formigas que explorassem a bandeja 1 (ponte controle) e a bandeja 2, (ponte experimental, sem fenda) após a união da mesma.

Os resultados do teste de T para colônia 1 ($P = 0,151$) e para a colônia 2 ($p=0,691$) confirmaram que não existe diferença entre os tamanhos encontrados na ponte controle e a ponte experimental. Na tabela 2 é possível visualizar os dados descritivos para o teste após a eliminação da fenda para ambas as colônias, em que é possível verificar as médias de tamanhos presentes nas condições de controle e teste.

Tabela 2. Dados descritivos da bandeja 1 (ponte controle) e bandeja 2 (ponte experimental, sem fenda de 1,5cm).

	Média (mm)	Mediana (mm)	Mínimo (mm)	Máximo (mm)	Variância	Desvio Padrão	Erro Padrão
Controle 1	1,606640	1,490000	0,720000	3,980000	0,361511	0,601258	0,053778
Experimental 1	1,720098	1,585000	0,790000	3,630000	0,334112	0,578024	0,057233
Controle 2	1,268776	1,310000	0,610000	2,130000	0,138628	0,372327	0,053190
Experimental 2	1,299940	1,175000	0,580000	3,880000	0,260053	0,509954	0,039580

4.5 Discussão

Nossos dados do teste de validação mostram que o sistema de pontes com fenda de 1,5 cm permite a separação de formigas de maior tamanho (Tabela 1). Embora o sistema de ponte com fenda permita a separação física de tamanhos, aqui a busca por explorar uma bandeja vazia como uma nova possibilidade de existência de fonte alimentar ou até mesmo de fuga se torna algo fascinante para a primeira formiga a chegar ao local e faz com que as mesmas explorem o local, mesmo tendo que transpor a fenda.

A Figura 2 mostra o resultado do teste para o aprendizado onde é possível verificar as quedas relativas (coeficiente de queda) em relação aos dias. Os resultados sugerem um possível fenômeno de aprendizagem, embora acreditemos que mais repetições devam ser realizadas para melhor esclarecimento desta observação. Nossa hipótese inicial era de que com o decorrer dos dias ocorresse uma diminuição no número de quedas em um dos lados do sistema de pontes que tem uma fenda 1,5cm. Foi considerado aqui como aprendizado uma diminuição no número de formigas presentes na bandeja de contenção (Fig.1) que está abaixo da ponte com fenda. A diminuição do número de quedas de formigas poderia indicar uma redução do número de formigas menores a tentarem atravessar o sistema.

Os resultados após a inexistência da fenda (Fig.3) mostram que não houve diferença nos tamanhos médios das formigas após a junção da ponte com fenda em comparação com o controle. Desta forma nossa hipótese inicial da presença de um possível marcador específico (feromônio) na ponte sinalizando as outras companheiras de ninho para que não prossigam na trilha

não foi fortalecida. Assim, acreditamos que outras formas de transmissão dessa informação estejam presentes. Nossos dados são preliminares para tentar abarcar todas as relações que aqui estão presentes. O que este sistema-modelo de separação de tamanhos cria, é uma ferramenta que permite explorar a capacidade individual e coletiva de transmissão de informação. Com os resultados aqui apresentados sugerimos que o mesmo experimento seja replicado com mais colônias e acrescente um teste específico para a marcação das pontes com feromônio.

Capítulo 5 - Discussão Final

Os resultados encontrados neste trabalho, discutidos ao final dos capítulos anteriores recebem neste capítulo um comentário mais sucinto com o objetivo de integrá-los conjuntamente a esta dissertação. Com isso em mente, propomos um breve resumo dos resultados observados acrescidas de considerações sobre a contribuição ao entendimento de como as sociedades de insetos são organizadas no contexto de estresse hídrico e transmissão de informação.

Os resultados expostos nos capítulos 2 e 3, levantam à perspectiva de que as formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa* em condições de estresse hídrico são capazes de modificar o comportamento para a manutenção do equilíbrio hídrico da colônia. A confirmação da trofalaxia de água em condição de estresse hídrico entre operárias de uma mesma colônia (Capítulo 2) acrescenta informação à literatura de formigas cortadeiras a respeito do compartilhamento de recursos. Embora a trofalaxia seja associada à transferência de alimentos líquidos (SLEIGH, 2002; MOREIRA et. al. 2006;2007) observamos a passagem de água marcada e, por tanto, sugerimos que este comportamento é relevante na homeostase social associada ao balanço hídrico da colônia. De fato, a trofalaxia de água parece ter como requisito a desidratação da colônia, e o papel desta água pode estar envolvido na hidratação dos indivíduos e também no jardim de fungos, No capítulo três corroboramos os dados de RIBEIRO e NAVAS (2008) ao verificar que há especialização de tamanho associada ao que chamamos efeito do tempo (definido na página 43). Neste mesmo capítulo indicamos que a dinâmica de tal

especialização varia com a distância da fonte de água, e especulamos sobre a possível importância da transmissão de informação neste processo. O capítulo quatro salienta precisamente o tema da transmissão de informação, além de oferecer uma novidade metodológica com bastante potencial em experimentação. Neste capítulo foi testado o aprendizado e a presença de prováveis marcadores químicos (feromonios) na trilha como meio de transmissão de informação a companheiras de ninho. Os resultados indicam diminuição do número de quedas de formigas ao longo dos dias. A hipótese de aprendizado, mais do que demarcação, é favorecida ao se descartar experimentalmente o possível papel de informações mantidas na trilha. Testes posteriores podem conferir a capacidade de aprendizado em outros contextos, e discutir mais profundamente o assunto de complexidade individual versus complexidade coletiva.

ANDERSON e MACSHEA (2001), ao discutirem a complexidade individual versus a coletiva, propõem que esta está relacionada a dois importantes fatores que são: 1) Influência do tamanho da colônia; e 2) A relação entre a complexidade do indivíduo e a da colônia. Nossa análise comportamental é baseada em experimentos com operárias de colônias de laboratório. O fato de formigas de maior porte acharem a fonte de água e depois transmitirem às companheiras de ninho a informação sugerem que regras mais elaboradas atuam na divisão de tarefas para a manutenção do equilíbrio hídrico da colônia. Para alguns autores como JAFFE e HEBLING-BERALDO (1990) indivíduos de formigueiros com um maior nível de organização social possuem uma menor complexidade do que indivíduos de formigueiros socialmente simples. Neste ponto, ao analisamos colônias de *Atta*

que possuem um elaborado grau de organização, com colônias podendo chegar às centenas de milhares de indivíduos, poderíamos ser induzidos a afirmar que *Atta* tem uma menor complexidade individual em relação a formigas de sociedades mais simples, com menor número de indivíduos. Entretanto, o aprendizado, ou pelo menos algum grau de flexibilidade comportamental, parece a hipótese mais parcimoniosa para explicar os resultados do Capítulo 3. Isso contrasta com os modelos que propõem a simplificação do comportamento individual quanto mais complexa se torne a sociedade em que está inserido.

Conclusões Gerais:

1) Em condição de estresse hídrico formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa* são capazes de coletar e transferir água para companheiras de ninho por trofalaxia.

2) A condição de estresse hídrico é condição necessária para que este comportamento de trofalaxia seja eliciado em *Atta sexdens rubropilosa*.

3) Em *Atta sexdens rubropilosa* a detecção de água envolve formigas de diversos tamanhos.

4) Ao longo do tempo, a coleta de água termina sendo associada a uma casta de formigas de menor porte, sendo que a dinâmica de tal especialização é influenciada pela distância à fonte de água.

5) O uso de um sistema de pontes com fenda de 1,5 cm é capaz de separar formigas de maior tamanho de formigas menores durante a execução de uma tarefa. As quedas pela fenda diminuem ao longo do tempo aparentemente via aprendizado individual e não via demarcação química.

RESUMO

O estudo da divisão de tarefas e de sua participação na manutenção das condições adequadas à sobrevivência de insetos sociais têm recebido importantes contribuições ao longo dos anos. O elaborado grau de organização de muitos insetos sociais e a presença de polimorfismo em muitos grupos com formação de castas, tornam a investigação da divisão de tarefas ainda mais interessante. Essa dissertação apresenta os resultados de três experimentos com colônias de formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa*: 1) Foi verificado se há trofalaxia de água marcada entre companheiras de ninho de *A. sexdens rubropilosa* em colônias em condição de estresse hídrico. Os resultados encontrados mostraram que a trofalaxia é um evento que ocorre com freqüência em colônias em estresse hídrico. 2) Foi testado a divisão de tarefas associado a dinâmica dos tamanhos envolvidos na atividade de coleta de água as distâncias de 0 metro, 1 metro e 10 metros para colônias em condição de estresse hídrico. Encontramos que após um tempo a coleta de água foi associada a uma casta especializada, de menor porte, ou seja, no início da atividade com formigas de maior porte e com o tempo formigas menores passaram a realizar a tarefa, fato que aqui chamamos de “Efeito do Tempo”. Este efeito temporal de especialização variou de acordo com a distância a qual a fonte de água foi colocada. 3) Uso do sistema de pontes com fenda de 1,5 cm. Foi elaborado um sistema modelo de ponte com fenda e sem fenda e testado a separação física de tamanhos e a possibilidade de aprendizado da existência da fenda. Os resultados indicam que ocorre uma separação física das formigas maiores. Os dados preliminares sugerem o

aprendizado da existência da fenda. Assim este trabalho buscou oferecer uma contribuição as inúmeras conexões que envolvem a atividade de coleta de água em formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa*. O uso do modelo de pontes aqui proposto com fendas, poderá ser uma interessante ferramenta para exploração de transmissão de informação entre os membros de uma colônia

Palavra chave: *Atta sexdens rubropilosa* - Estresse hídrico - Divisão de tarefas.

ABSTRACT

The study of the division of tasks and participation in the maintenance of appropriate conditions the survival of social insects has received major contributions over the years. Allied to the degree of elaborate organization of many social insects and the presence of polymorphism in many groups with the formation of castes, division of labor makes it even more interesting to be investigated. This thesis presents the results of three experiments with colonies of leaf-cutting ants *Atta sexdens rubropilosa*: 1) it was checked if there are water marked trophallaxis between nest mates leaf-cutting ants *Atta sexdens rubropilosa* colonies in conditions of water stress. The results showed that the trophallaxis is an event that often occurs in colonies in water stress. 2) Was tested the division of tasks associated with the dynamics of the sizes involved in the activity of collecting water distances of 0 meter, 1 meter and 10 meters to the colonies in water stress condition. We found that after a time collecting water was associated with a variety specialized, smaller, or at the beginning of the activity of ants with larger and smaller with time ants began to perform the task, a fact that we call "Effect of Time." This temporal effect of specialization varied according to the distance which the water source was placed. 3) Use the system bridges gap of 1.5 cm. A model system was developed as a bridge with gap and crevice and tested without the physical separation of sizes and the possibility of learning of the existence of the gap. The results indicate that there is a greater physical separation of the ants. Preliminary data suggest the existence of the learning gap. Thus this study sought to provide a contribution to

the numerous connections that involve the activity of collecting water in leaf-cutting ants *Atta sexdens rubropilosa*. The use of the bridge model proposed here with cracks may be an interesting tool for exploration of information transmission between members of a colony.

Keyword: *Atta sexdens rubropilosa* – Water stress – Task division

6 Referências Bibliográficas

Adam, G.H. e Ratnieks F.L.W. (2001). Task partitioning, division of labor and compartmentalization collectively isolate hazardous waste in the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 49:387-392.

Anderson, C., Franks, N.R. e McShea, D.W. (2001). The complexity and hierarchical structure of tasks in insect societies. *Animal Behavior* 62:643-651.

Anderson, C. e Jadin, J.L. (2001). The adaptive benefit of leaf transfer in *Atta colombica*. *Insects Soc.* 48:404-405.

Anderson, C. e McShea, D.W. (2001). Individual versus social complexity, with particular reference to ant colonies. *Biological Reviews* 76(2): 211-237.

Andrade, A. P. P., Forti, L. C., Moreira, A. A., Boaretto, M. A. C., Ramos, V. M. e de Matos, C. A. O. (2002). Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. *Sociobiology*, v. 40, n. 2.

Autuori, M. (1941). Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta spp.*). I. Evolução do saueiro (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908). *Arquivos do Instituto Biológico São Paulo* 12:197-228.

Autuori, M. (1942a). Contribuição para o conhecimento da saúva. (*Atta spp.* – Hymenoptera – Formicidae) II- O saueiro inicial (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908). *Arq. do Inst. Biol.* 13:67-98.

Autuori, M. (1942b). Contribuição para o conhecimento da Saúva (*Atta spp.* Hymenoptera – Formicidae). III. Escavação de um saueiro (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908). *Arq. Inst. Biol.* 13:137-148.

Beckers, R., Goss, S., Deneubourg J. L., e Pasteels, J. M. (1989) Colony size, communication and ant foraging strategy. *Psyche: A Journal of Entomology* 96. (3-4):239-256.

Beshers, S.N. e Fewell, J.H. (2001). Models of division of labor in insect societies. *Annual Rev. Entomol.* 46:413–430.

Bonabeau, E., Theraulaz, G., Deneubourg, J.L., Aron, S. e Camazine S. (1997). Self-organization in social insects. *Trends in Ecology and Evolution.* 12, (5):188-193.

Boulay, R., Quagebeur, M., Godzinska, E.J. e Lenoir, A. (1999). Social isolation in ants: Evidence of its impact on survivorship and behaviour in *Camponotus fellah*. *Sociobiology.* 33:111–124.

Bourke, A.F.G. e Franks, N.R. (1995). Social evolution in ants. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, xiii + 529.

Camazine, S., Deneubourg, J. L., Franks, N.R., Syneyd, J., Theraulaz, G. e Bonabeu, E. (2003). Self-Organization in Biological Systems, Princeton University Press.

Carvalho, A.M.A. (1972). Alguns dados sobre a divisão do trabalho entre operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, Forel, 1908 em colônias iniciais mantidas em laboratório. Tese de doutorado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Cherrett, J.M. (1986). Chemical Control and bait formulations for leaf-cutting ants. In: Lofgren, C.S. e Vander Meer, R.K. eds. Fire Ants and Leaf-cutting ants, biology and management. Boulder, CO, USA. Westview. p.357-368.

Cunha, W.H.A. (1980). Explorações do mundo psicológico das formigas. ed. Ática. São Paulo. 391.

Da - Silva, A.C. e Ribeiro, P. L. (2005). Existe transmissão de água em *Atta sexdens rubropilosa*? In: Anais da XV Semana de Biologia da UNIOESTE- Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Disponível em: http://www.unioeste.br/prg/download/anais_2005.pdf.

Da – Silva, A.C., NAVAS, C.A., e RIBEIRO, P.L. (2009). Trophallaxis in dehydrated leaf cutting colonies of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). Sociobiology 54, no. 1:109-114.

Della Lucia, T. M. C. (1993) As formigas cortadeiras. Viçosa, Sociedade de Investigações Florestais.

Emerson, A. E. (1956). Regenerative behavior and social homeostasis in termites. Ecology. 37:248-. 258.

Gonçalves, C.R. (1944). O gergelin no combate à saúva. Bolm Fitossanit. 1 (1):19-27.

Gordon, D. M. (1996). The organization of work in social insect colonies. Nature 380:121-124.

Gordon, D. M. (2003). The organization of work in social insect colonies. Complexity 8, (1):43-46.

Guyton, A.C. e Hall, J.E. (2006). Tratado de Fisiologia Médica. 11ªed. Campus – Elsevier, Rio de Janeiro.

Hart, A. G., Anderson, C. e Ratnicks, F.L. (2002). Task partitioning in leaf cutting ants. Acta ethologica. 5(1):1-11.

Hebling-Beraldo, M.J.A., Bueno, O.C., Almeida, R.E., Silva, O.A. e Pagnocca, F.C. (1991) Influência do tratamento com folhas de *Sesamum indicum* sobre o metabolismo respiratório de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymn., Form.). An. Soc. Ent. Brasil, 20(1):27-33.

Holldobler, B. (1970). Zur Physiologie der Gast-Wirt-Beziehungen Myrmecophilie bei Ameisen. II. Das Gastverhältnis der imaginalen *Atemeles pubicollis* Bris (Col. Staphylinidae) zu *Myrmica* und *Formica* (Hym. Formicidae). Z. Vergl. Physiol., 66:215-250.

Holldobler, B. (1973). *Formica sanguinea* (Formicidae): Futterbetteln. Encyclopaedia Cinematographica, E2013, Institut Wissenschaftlichen Film, 11.

Holldobler, B., Stanton, C. e Markl, H. (1978). Recruitment and food-retrieving behavior in *Novomessor* (Formicidae, Hymenoptera). Behavioral Ecology and Sociobiology 4, no. 2 (1978):163-181.

Holldobler, B. (1984) The wonderfully diverse ways of the ant. Natl Geogr Mag 165:778–813.

Holldobler, B. e Wilson E.O. (1990). The Ants. Harvard University Press, Cambridge, Mass. p746.

Korb, J. e Linsenmair, K.E. (2000). Thermoregulation of termite mounds: what role does ambient temperature and metabolism of the colony play? Insects Sociaux. 47:357-363.

Lahav, S., Soroker, V., Hefetz, A. e Meer, R.K.V. (1999). Direct behavioral evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. Naturwis. 86:246–249.

Lenoir, A. (1982). An informational analysis of antennal communication during trophallaxis in the ant *Myrmica Rubra* L. Behavioural Processes, v, 7 (1):27-35.

Lüscher, M. (1972). Environmental control of juvenile hormone (JH) secretion and caste differentiation in termites. General and Comparative Endocrinology. v 3, supplement 1, 509-514.

Mariconi, F.A.M. (1970). As Saúvas. Ed. Agronômica Ceres. 167.

Moreira, D.D., Erthal, J.R. M., Carrera, M.P., Silva., C.P. e Samuels, R.I. (2006). Oral trophallaxis in adult leaf-cutting ants *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE). Insect. Soc. 53 (2):345-348.

Moreira, D.D., Viana, A.M.M., Erthal Jr, M., Carreira, M. P. e Samuels, R. I. (2007). Trophallaxis oral em Sete espécies de *Attini*. In: Simpósio de Mirmecologia. Biol. 69:403-404.

Morgan, E.D. (2009). Trail pheromones of ants. *Physiological Entomology*. 34:1-17.

Ohashi, M., Ikeno, H., Kimura, T., Akamatsu, T., Okada, R., e Ito, E. (2008). Control of hive environment by honeybee (*Apis mellifera*) in Japan. *Proceedings of Measuring Behavior*. (Maastricht, The Netherlands, August 26-29, 2008) 26-29 p.243.

Oster, G. e Wilson, E.O. (1978). *Caste and Ecology in the Social Insects*. Princeton: Princeton University Press.

Pacheco, P. (1987). Formigas cortadeiras e o seu controle. Piracicaba: IPEF/GTFC. p.152.

Randall, D., Buggren, W. e French, K. (1997). *Eckert: Animal physiology: mechanisms and adaptations*. 4ª ed. W. H. Freeman and Company – New York.

Ribeiro, F. L. (1972). Um Estudo Sobre o Comportamento da fêmea durante a fundação da Colônia em *Atta sexdens rubropilosa* FOREL, 1908 (HYMENOPTERA – FORMICIDAE).

Ribeiro, P. L. e Navas, C. A. (2007). The leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*, FOREL, 1908 prefers drier chambers for garbage disposal. *Journal of Insect Behavior* 20(1):19-24.

Ribeiro, P.L. e Navas, C.A. (2008). Colony dehydration and water collection by specialized caste in the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Journal of Insect Behavior*. v, 21 (6):549-558.

Ribeiro, P. L., Helene, A. F., Xavier, G.F., Navas, C.A. e Ribeiro, J.F.. (2009). Ants Can Learn to Forage on One-Way Trails. *Plos One* 4(4).

Riveros, A. J. e R. B. Srygley (2008). Do leafcutter ants, *Atta colombica*, orient their path-integrated home vector with a magnetic compass? *Animal Behaviour*. 75:1273-1281.

Roces, F. e Holldobler, B. (1994). Leaf density and a trade-off between load-size selection and recruitment behavior in the ant *Atta cephalotes*. *Oecologia*. 97:1-8.

Roces, F. e C. Kleineidam (2000). Humidity preference for fungus culturing by workers of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Insectes Sociaux*. 47(4):348-350.

Scherba, G. (1959). Moisture regulation in mound nests of the ant. *Formica ulkei* Emery. *American Midland Naturalist*. 6:499–508.

Silva, A., Bacci, M., Siqueira, C. G., Bueno, O. C., Pagnocca, F. C. e Hebling, M. J. A. (2003). Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. J. Insect Physiology. 49:307-313.

Sleigh, C. (2002). Brave new worlds: trophallaxis and the origin of society in the early twentieth century. J. Hist. Beh. Sci. 38:133-156.

Soroker, V., Vienne, C. e Hefetz, A. (1995). Hydrocarbon dynamics within and between nest mates in *Cataglyphis niger* (Hymenoptera, Formicidae). J. Chem. Eco. 21:365– 378.

Stahel, G. e Geijskes, D.C.. (1940). Observations about temperature and moisture in *Atta*-nests. Rev. Entomol. 11:766–775.

Suárez, M.E., e Thorne, B.L. (2000). Rate, amount, and distribution pattern of alimentary fluid transfer via trophallaxis in three species of termites (Isoptera: Rhinotermitidae, Termopsidae). Ann. Ent. Soc. Am. 93:145–155.

Sudd, J.H. (1959). Interaction between ants on a scent trail. Nature, 183, 1588.

Takahashi, M. e Hebling-Beraldo, M.J.A. (1986). Efeitos respiratórios de inseticidas pirenoídes em operárias de *Atta sexdens rubropilosa* FOREL, 1908 e *Atta laevigatta* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae) An. Soc. Ent. Brasil. 15(2): 209-217.

Waller, D. (1989). Size-related foraging in the leaf-cutting ant *Atta texana* (Buckley) (Formicidae: Attini). Functional Ecology. 3, 4: 461.

Wallis, D.I. (1961). Food-sharing behaviour of the ants *Formica sanguinea* and *Formica fusca*. Behaviour. 17:17-47.

Wcislo, W.T. e Gonzalez, V.H. (2006). Social and ecological contexts of trophallaxis in facultatively social sweat bees. Insectes Sociaux. 53:220-225.

Weber, N.A. (1956). Fungus-growing ants and their fungi: *Trachymyrmex septentrionalis*. Ecology 37(1):150-161.

Weber, N.A. (1966). Fungus-growing ants. Science. 153:587-604.

Wheeler, W. M. (1918). A study of some ant larvae with a consideration of the origin and meaning of social habits among insects. Proc. Am. Phil. Soc. 57: 293-343.

Wheeler, W.M. (1965). Ants. Their structure, development and behavior. Columbia University Press. New York.

Wilson, E. O. (1953). The origin and evolution of polymorphism in ants. Q. Rev. Biol. 28:136–156.

Wilson, E. O. (1962). Behavior of *Daceton armigerum* (Latreille), with a classification of self-grooming movements in ants. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology of Harvard College 127:403-421.

Wilson, E. O. (1968). The ergonomics of caste in the social insects. American Naturalist 102:41-66.

Wilson, E.O. (1971). The insect societies. Cambridge, MA, Belknap Press of Harvard University Press.

Wilson, E. O. (1975). Sociobiology. The new synthesis. Cambridge, Harvard University Press, p.697.

Wilson, E.O. (1978). Division of labor in fire ants based on physical castes (Hymenoptera : Formicidae : *Solenopsis*). Journal of the Kansas Entomological Society. 51, (4):615-636.

Wilson E.O. (1980a). Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera, Formicidae, *Atta*). I. The overall pattern in *Atta sexdens*. Behav Ecol. Sociobiol. 7:143–156.

Wilson, E.O. (1980b). Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). II. The ergonomic optimization of leaf cutting. Behav. Ecol. Sociobiol. 7:157-65.

Wilson, E.O. (1983) Caste e division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*): IV. Colony ontogeny of *A. cephalotes*. Behavioral Ecology and Sociobiology. 14, (1):55-60.

Wilson, E.O. (1985a). Altruism and ants. Discover. 6:46–51.

Wilson, E.O. (1985b). The sociogenesis of insect colonies. Science 228:1489-95.

Wilson, E. O. (1987). Causes of Ecological Success: The case of the ants. Journal of Animal Ecology. 56, (1):1-9.

Wittlinger, M., Rüdiger W., e Harald Wolf. (2006) The ant odometer: stepping on stilts and stumps. Science (New York, N.Y.) 312, no. 5782:1965-7.

Zanuncio, J. C., Zanuncio, T.V., Pereira, J.M.M. e Oliveira, H.N. (1999). Controle de *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae) com a isca Landrin-F, em área anteriormente coberta com *Eucalyptus*. Cienc. Rural. 29(4):573-576.