Universidade de São Paulo
Instituto de Biociências

Marcelo Arruda Fiuza de Toledo

Aspectos temporais da organização coletiva do forrageamento em formigas saúvas (*Atta sexdens rubropilosa)*

São Paulo
Janeiro, 2013

Marcelo Arruda Fiuza de Toledo

Aspectos temporais da organização coletiva do forrageamento em formigas saúvas (*Atta sexdens rubropilosa).*

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

Orientador: André Frazão Helene

FICHA CATALOGRÁFICA

Toledo, Marcelo Arruda Fiuza

Aspectos temporais da organização coletiva do forrageamento em formigas saúvas (Atta sexdens rubropilosa).

69 p.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Fisiologia Geral. 2013.

1. Atta sexdens 2.comportamento coletivo 3. trilhas de forrageamento 4. distribuições temporais 5.video tracking 6. formigas

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a): _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a): _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

RESUMO

Ao observarmos uma trilha de forrageamento de formigas saúvas parece bastante claro que ela consiste no tráfego de muitos indivíduos que buscam alimento numa mesma fonte e o trazem para a colônia. No entanto, a organização presente numa trilha vai muito além do fato de que formigas operárias transportam folhas para o ninho. Desde os mecanismos de formação e manutenção de trilhas baseados no recrutamento e em retroalimentação positiva da marcação feromonal, até a forma com que formigas de tamanhos diferentes se dividem entre as tarefas de corte, transporte e patrulhamento, as trilhas de forrageamento exibem uma organização muito sofisticada, que reflete a complexidade característica dos de organismos eussociais. Neste cenário, é particularmente desafiador identificar a relação entre os comportamentos individuais, característicos de formigas de um dado morfotipo, e os padrões globais coletivos observados na colônia, como por exemplo, o padrão temporal da atividade de forrageamento. No caso de formigas *Atta sexdens*, apesar de ser reconhecida a importância do polimorfismo na divisão de tarefas, não foi investigado o seu papel na determinação do padrão temporal com que as tarefas são realizadas. Esta questão é especialmente interessante no caso das trilhas, sob a perspectiva de que soldados, que são formigas maiores, desempenham uma tarefa cuja demanda temporal é constante, e que formigas de tamanhos intermediários são responsáveis pelo forrageamento, realizado em horários preferenciais. Para avaliar se formigas de tamanhos diferentes diferem quanto a suas respectivas distribuições temporais de atividade nas trilhas, o presente trabalho gravou em vídeo por alguns dias uma trilha de forrageamento de uma colônia mantida em laboratório em condições controladas de fotoperíodo. Através da análise computacional dos vídeos, foi possível contar os indivíduos e medir o tamanho de cada uma das formigas gravadas. Os seguintes resultados foram observados: (i) a atividade é mais intensa durante a fase fase escura do que durante a clara; (ii) a intensidade da atividade não é temporalmente uniforme dentro das fases, apresentando transientes relacionados à antecipação da transições entre fases, apesar da ausência de crepúsculo; (iii) formigas de tamanhos diferentes distinguem-se quanto as suas distribuições temporais de atividade, ainda que não forma esperada expressa anteriormente; (iv) uma consequência global deste fato pode ser observada na variação do tamanho médio de formigas ao longo do experimento. As diferenças observadas no padrão temporal de atividade de formigas de tamanhos diferentes podem ser decorrentes de mecanismos endógenos de ritmicidade, e ou de mecanismos comportamentais de divisão de tarefas baseado em diferenças entre limiares para respostas.

ABSTRACT

When we look at a leaf-cutting ant foraging trail it seems quite clear that it consists on the traffic of many individuals collecting food from a same source and bringing it to the colonies nest. However, the foraging trail organization goes much beyond the fact that worker ants transport leaves to the nest. From the trail formation and maintenance mechanisms, based in recruitment and in pheromone marking positive feedback, to how workers of different size divide themselves among cutting, transporting and patrolling, the foraging trail presents a sophisticated organization, reflecting the typical complexity of eusocial organisms. In this condition, it's particularly challenging to identify the relationship between individual behaviours, particular of ants of a given morphotype, and the global, collective patterns, observed in the colony, for example, the foraging temporal pattern. In the case of *Atta sexdens*, despite the widely known importance of polymorphism in division of labour, its role in determining the temporal activity patterns has not been investigated. It's a matter of major interest in foraging trails, considered the perspective that soldiers, which are big ants patrolling trails, perform a task whose demand is time constant, at least in non adverse conditions, while medias are largely responsible for foraging, which has preferential time for performance. In order to access if different size worker ants distinguish among their respective temporal activity patterns in trails, in this work we recorded a laboratory captive colony foraging trail, under a set photoperiod, and controlled temperature. By computational video analysis, we could count the ants and measure each of them. The following results may be highlighted : (I) trail activity is more intense during darkness than during light; (ii) activity intensity within each phase is not uniform in time, showing phase anticipation related transients, despite the absence of twilight; (iii) ants of different size distinguish among their temporal activity distributions, although not as the previously stated expectations; (iv) a global consequence of this may be seen in the mean ant size variation observed throughout the experiment. The differences of temporal activity patterns among ants of different size may result from endogenous rhythm mechanisms, and or from behavioural mechanisms of division of labour based in differential response thresholds.

Aos meus pais,

incondicionalmente dedicados a minha educação e formação.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. André Frazão Helene, o seu empenho na minha orientação, superou em muito a mera expectativa dada pela razão de sua função. Em todos os aspectos intelectuais, científicos e pessoais a sua orientação foi essencial para o meu desenvolvimento ao longo do mestrado.

Ao Dr. Pedro Leite Ribeiro a sua participação próxima em todas as etapas da minha formação científica. Devo a ele, com gratidão, grande parte dos meus méritos e formação científica. Aproveito para agradecer também ao colega Antônio Carlos Silva, do Laboratório de Ecofisiologia Evolutiva.

Aos colegas alunos do Laboratório de Ciências da Cognição Daniele Victoratti, Priscilla Shiota Fedichina, Vitor Paiola, Ruth Becker, Beatriz e Bruna; aos ex-alunos Lilian Negrão, Marina Faveri e Dr. Rodrigo Pavão; e a técnica Ana Marina. O bom ambiente de trabalho proporcionado pelos colegas através da ajuda e discussões são muito proveitosas na produção de um bom trabalho.

A todos os outros membros das comissões organizadoras das VIII e IX edições do Curso de Inverno Tópicos em Fisiologia Comparativa a oportunidade de agregar a extensão acadêmica à minha formação, e a oportunidade de contribuir positivamente com a formação oferecida pelo programa de pós-graduação em Fisiologia.

Gostaria também de agradecer a minha família, meus pais, minha irmã e meus avós pelo apoio, suporte e compreensão. Embora o valor dessas contribuições tenda à ficar em segundo plano em produções como essa, são de importância primária na viabilização de um bom trabalho e na formação de um bom cientista.

Aproveito a oportunidade para agradecer em especial à minha namorada e companheira Janaína Meyer a sua ubíqua participação, ajuda, compreensão e paciência. Contar com sua inteligência e carinho é um privilégio e uma motivação para a superação e produção de um bom trabalho.

Aos colaboradores Prof. Yossi Zana e Antônio Henrique Silva, da Universidade Federal do ABC, a colaboração fundamental para a realização do trabalho.

Por fim, à Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e ao programa de pós-graduação em Fisiologia do Instituto de Biociências da USP, pela concessão da bolsa de auxílio financeiro.

PREFÁCIO

O presente trabalho contou desde sua concepção às etapas de conclusão com a participação e contribuição do Dr. Pedro Leite Ribeiro, do Laboratório de Ecofisiologia Evolutiva do Departamento de Fisiologia, do Instituto de Biociências da USP. Sua participação foi igualmente importante no trabalho submetido para publicação que segue em anexo (Toledo, M. A. F., Helene, A. F., Ribeiro P. L., Task partitioning of foraging activity involving leaf dropping among leaf-cutter ants), também produzido ao longo do meu mestrado.

O trabalho apresentado contou com a colaboração do Professor Yossi Zana, da Universidade Federal do ABC, do Centro de Matemática, Computação e Cognição (UFABC – CMCC) e de seu aluno Antônio Henrique Fonseca. O desenvolvimento de métodos de análise computacional dos vídeos de trilhas de formigas utilizado nestes trabalho foi desenvolvido em seu laboratório, com a nossa participação e colaboração. A primeira etapa do trabalho foi trabalho foi publicada (Fonseca, A. H., Toledo, M. A. F., Helene, A. F, Zana, Y. Rastreamento simultâneo de dezenas de múltiplos objetos . Anais do Workshop de Visão Computacional, 2012), e segue como anexo.

A utilização dos materiais e dados que contaram com a participação dos colaboradores conta com os seus respectivos consentimentos.

LISTA DE FIGURAS

Montagem experimental....23
Método de contagem manual....27
Histograma horário e distribuição temporal....29
Filtragem de dados por distância de Mahalanobis....32
Filtragem de dados por distância total percorrida....33
Seleção de videos para contagem manual....34
Comparação inicial entre contagem manual e automática....34
Projeção horizontal da distância até a borda lateral mais próxima....35
Histogramas de posição horizontal final de trajetória....35
Comparação final entre contagem manual e automática....36
Histograma geral de atividade....37
Série de médias de tamanho ao longo do experimento....38
Médias de tamanho e intervalos interquartis em 24h....39
Distribuições temporais por tamanhos....40
Matriz de distâncias entre as distribuições temporais....41
clusterização das distribuições temporais dos tamanhos....42
grupos obtidos de tamanhos (maiores e menores)....42
Distribuição do valor de K obtida por simulação de agrupamentos....44
Histograma de atividade do grupo das menores....45
Histograma de atividade do grupo das maiores....46
Regressão linear múltipla com variáveis experimentais e contagem....47
Regressão linear múltipla com distribuições dos grupos....48
Correlação temporal entre a atividade dos grupos....49
Distribuições horárias de contagens de cada fase....50

SUMÁRIO

1 Introdução.....11
2 Objetivos.....24
3 Materiais e métodos.....25
4 Resultados.....34
5 Discussão.....54
6 Conclusão.....60
7 Bibliografia.....61
8 Anexos.....65

1 INTRODUÇÃO

Ao observar uma trilha de formigas saúvas carregando folhas é fácil pensarmos que todas ali são apenas formigas carregadoras, cumprindo seu papel obstinado de levar alimento para a colônia. No entanto, na trilha inúmeros processos envolvidos na regulação de fluxo de operárias, determinação dos padrões de corte de folhas, proteção, entre outros, estão presentes. Entender como estes processos se dão e de que forma podemos entender seus mecanismos de regulação e controle são um dos grandes desafios para o entendimento do comportamento animal.

1.1 Eussocialidade e divisão do trabalho

Um aspecto central para entender como se dá a organização das formigas é a eussocialidade. Como definida por Wilson (WILSON, 1971), a eussocialidade se caracteriza pela presença de três aspectos: (i) a divisão do trabalho reprodutivo, de forma que haja tanto indivíduos capazes quanto incapazes de reproduzirem-se, (ii) a sobreposição de gerações convivendo conjuntamente na mesma colônia, e (iii) o cuidado cooperativo com a prole alheia, ou seja, os indivíduos que não se reproduzem cuidam da prole dos que se reproduziram.

Segundo a definição de Wilson, uma das características necessárias da eussocialidade é que indivíduos que não se reproduzem cuidam da prole dos que se reproduzem, em detrimento da produção de uma prole própria. Dessa forma, estes organismos apresentam um comportamento que poderia ser descrito como altruísta. Esse aspecto, por muito tempo trouxe consigo a dúvida sobre como uma característica altruística poderia ser evolutivamente estável, se aqueles que se reproduzem não apresentam a característica comportamental. Posto de outra forma, como a condição 'egoísta' de produção de prole própria não seria vantajosa sobre a condição 'altruísta', de forma que fossem selecionados os primeiros em detrimento dos segundos? Este questionamento se baseia na dificuldade de compreender de que forma se daria a seleção do comportamento altruísta, uma vez que o altruísmo se caracterizaria, exatamente, por ser um comportamento que aumenta a chance de sobrevivência de outro organismo em detrimento daquele que o realiza. Dessa forma, a essência da concepção darwiniana acerca da seleção natural pareceria não se cumprir.

Para tratar dessa aparente incongruência, Hamilton (1964a, 1964b) propôs o seguinte raciocínio: um alelo responsável pelo comportamento altruísta só pode se manter presente na população ao longo das gerações em função do parentesco entre os envolvidos. Isso ocorreria, uma vez que a semelhança genética dada pelo grau de parentesco proporcionaria a chance de que o alelo passasse para a próxima geração mesmo que a prole não fosse do indivíduo que desempenha o comportamento altruísta. Essa concepção pode ser expressa pela conhecida regra de Hamilton: $rB > C$, onde r é o coeficiente de parentesco, B é o benefício para o altruísta, e C o custo do comportamento (HAMILTON, 1964a, 1964b). Ou seja, se o sucesso reprodutivo obtido em função da prole alheia por conta do grau de parentesco (*fitness* inclusivo) superar o custo decorrente da abdicação de prole própria, o comportamento altruísta é favorecido pela seleção natural.

Em formigas (e alguns outros insetos), a determinação sexual é haplodiplóide: os machos são produzidos por ovos não fecundados e possuem uma cópia de cada par de cromossomos (haplóides), enquanto as fêmeas apresentam duas (diplóides). Consequentemente, enquanto a semelhança entre uma fêmea e sua prole feminina é de ½ (uma cópia de cada par cromossômico), a semelhança entre duas irmãs é de ¾ (a mesma cópia do pai, mais a semelhança esperada para a cópia da mãe). Dessa forma, as formigas operárias tem um ganho em termos de sucesso reprodutivo maior ao cuidar de suas irmãs do que de produzir a própria prole. Sendo assim, o sistema de determinação sexual haplodiplóide é tido como um facilitador da seleção do comportamento altruísta, contribuindo para o entendimento da evolução do comportamento altruísta por seleção natural.

Apesar da sua celebração, o modelo de Hamilton (1964) não é aceito por todos os pesquisadores, e recentemente o tema sobre de como se deu a seleção do comportamento altruísta e da eussocialidade voltou a ser foco de debate. Nowak e Wilson (NOWAK *et al.*, 2010), propuseram que a eussocialidade seria selecionada conforme a seleção natural "padrão" em estruturas populacionais específicas, sem a necessidade de que a explicação necessite da ideia de *fitness* inclusivo, e consequentemente da regra de Hamilton. Segundo os autores, a regra de Hamilton requer condições muito particulares, e mesmo com as condições satisfeitas esse modelo não seria útil uma vez que a própria seleção natural "padrão" seria uma explicação mais razoável. Este trabalho recebeu várias respostas bastante críticas (ABBOT *et al.*, 2011) apontando o fato de que a regra de Hamilton não requer as condições apontadas por Nowak, e que a explicação oferecida por este último meramente confirmaria, de forma menos geral, a ideia original de Hamilton de que se o ganho for o suficiente, o altruísmo entre indivíduos aparentados pode ser selecionado.

A eussocialidade surgiu independentemente pelo menos treze vezes (SMITH *et al.*, 2008), sendo que em formigas é um caráter ancestral, ou seja, todas as formigas são originalmente eussociais. Outros grupos dentro de Hymenoptera também são eussociais, como as abelhas e algumas vespas. Há exemplos de eussocialidade também em outros grupos de artrópodes como em Isoptera (cupins), em crustáceos (alguns camarões pistola), e em mamíferos (toupeira rato).

Dentro do contexto de eussocialidade, a divisão do trabalho não se restringe à separação entre indivíduos reprodutivos e não reprodutivos na colônia. Outra caraterística importante, envolve a divisão do trabalho não reprodutivo, que se dá em função dos mesmos princípios da divisão do trabalho reprodutivo.

Quanto ao aspecto adaptativo, a ideia geral é que a divisão do trabalho não reprodutivo seja mais vantajosa do ponto de vista da maximização da chance de sobrevivência e de produção de prole do que a condição em que todos os indivíduos executam indistintamente todas as tarefas não reprodutivas, de manutenção da colônia. Dessa forma, a divisão do trabalho não reprodutivo produz um ganho quantitativo suficiente, de forma que o altruísmo e a eussocialidade possa ter evoluído por seleção de parentesco. Isso ocorre de forma a fazer com que a razão entre ganho e custo da cooperação seja elevada, de forma que regra de Hamilton seja satisfeita (BOURKE; FRANKS, 1995). Nesse sentido a divisão do trabalho não reprodutivo atende à maximização da produção de prole em termos quantitativos para a colônia, e para o indivíduo em termos de *fitness* inclusivo.

Em termos operacionais, a divisão do trabalho não reprodutivo pode ser compreendida como um padrão estável, embora sujeito a variações, segundo o qual formigas de uma colônia se distribuem na execução das tarefas de manutenção e forrageamento (OSTER; WILSON, 1979).

Indivíduos desempenham mais frequentemente um subconjunto de tarefas dentro do conjunto total de tarefas realizadas pela colônia, e esse subconjunto varia entre indivíduos diferentes. Dessa forma, alguns grupos de indivíduos se dedicam mais a determinadas tarefas enquanto outros grupos a outras.

Na literatura, o termo divisão do trabalho em geral dispensa a distinção entre trabalho reprodutivo e não reprodutivo, e tirante os trabalhos focados em aspectos evolutivos da divisão do trabalho e da eussocialidade, geralmente é utilizado indiscriminadamente para tratar do trabalho não reprodutivo. O mesmo será adotado ao longo deste trabalho.

Como exposto, com objetivo de melhor compreender os mecanismos de

funcionamento e as consequências da divisão de trabalho, foram propostos diversos modelos teóricos. De forma geral, ao longo do tempo o foco da compreensão da divisão do trabalho se modificou (BESHERS; FEWELL, 2001), passando dos aspectos mais amplos como a idade dos indivíduos (polietismo), e a distribuição espacial e demanda das tarefas no caso do modelo de forrageamento por trabalho (TOFTS; FRANKS, 1992), para aspectos mais individuais de decisão e resposta, como por exemplo no modelo de respostas individuais baseadas em limiares fixos e variáveis (BONABEAU, 1996; THERAULAZ *et al.*, 1998)

1.2 Comportamento coletivo e auto-organização

Em uma colônia, as formigas operárias se dividem em diferentes tarefas, como forrageamento, cuidado com as formas imaturas, busca por água, manutenção do fungo, retirada do lixo, escavação e manutenção das câmaras, entre outras. No entanto, a atribuição de tarefas às operárias não ocorre segundo um padrão fixo, nem é dado por uma regra simples. Na verdade, os indivíduos podem transitar entre a execução de diferentes tarefas, de forma que a composição dos grupos de formigas que executam uma dada tarefa possa ser dinâmica. Enquanto algumas tarefas são mais restritas a grupos de formigas específicos, outras são amplamente variáveis segundo, por exemplo, a demanda pela execução. Além disso, a forma segundo a qual os indivíduos transitam entre tarefas diferentes é descentralizada, pois não há uma organização central responsável por determinar individualmente o engajamento das operárias (GORDON, 1996). Sendo assim, o processo responsável por levar a colônia a um arranjo específico de operárias executando tarefas específicas num dado momento é uma consequência da interação espacial e temporal entre indivíduos decidindo pela execução de uma ou outra tarefa num contexto específico (GORDON, 2002).

Uma proposta para explicar como se dá o aparecimento deste comportamento coletivo sofisticado é tratado na concepção descrita como auto-organizativa. A ideia de auto-organização surgiu como uma proposta de modelo explicativo de como padrões complexos de comportamento coletivo poderiam emergir a partir de interações entre indivíduos que exibem comportamento mais simples (BONABEAU *et al.*, 1997). Apesar do sucesso das ideias de auto-organização, o fato de que alguns comportamentos individuais também são particularmente complexos (ROCES, 2002) sugere que as explicações para os comportamentos observados numa colônia possam envolver tanto aspectos de auto-organização quanto aspectos individuais (DENEUBOURG *et al.*, 1999). Nesse sentido, olhar simultaneamente para a forma como as formigas coletivamente se organizam e como cada

formiga toma decisões em contextos diferentes parece ser a chave para a compreensão de seu comportamento. No entanto, isso esbarra em um desafio metodológico importante.

1.3 Trilhas de forrageamento

O comportamento mais notável de uma colônia de formigas cortadeiras (genero *Atta)* é a trilha de forrageamento. Além da enorme quantidade formigas envolvidas e de atingir dezenas de metros de comprimento, as trilhas apresentam uma forma organizada de trânsito e de transporte de alimento entre uma fonte e a colônia. Embora a ideia de organização pressuponha um grau mais elevado de complexidade, fundamentalmente as trilhas de forrageamento consistem no retorno 'em linha reta' à colônia, um comportamento observado mesmo nas espécies que não apresentam de trilhas de forrageamento.

A ideia de que as formigas depositariam no substrato substâncias cujo odor pudesse ser utilizado para a orientação na formação das trilhas é bastante antiga. Segundo a revisão apresentada por MacGregor e Thorpe (1948), o primeiro trabalho baseado em observação a tratar dessa hipótese dentro dos conformes científicos da época teria sido realizado entre 1779 e 1783 (BONNET, 1779). A observação do uso de feromônios para marcação de trilhas foi simples, o autor descreveu de maneira elegante o que ocorre ao se passar o dedo sobre a trilha. Com isso, ele teria observado que as formigas levavam algum tempo para restabelecer o trânsito no local, evidenciando que havia algo fisicamente presente no caminho: uma marcação da trilha. A hipótese foi explorada a fundo no século seguinte, em que foi proposto o sentido de 'olfação por contato' como responsável pela orientação, e as antenas como órgão sensor (FOREL, 1904).

Em 1959, Wilson (WILSON, 1959) identificou a glândula responsável pela produção do feromônio de marcação das trilhas, que cumpriria tanto com o papel de estímulo ao engajamento de formigas à tarefa quanto com o papel de orientação espacial da atividade. Posteriormente, a formação de trilha de forrageamento foi descrita como um processo baseado em retroalimentação positiva para o forrageamento em massa (WILSON, 1962), em que uma formiga, ao encontrar uma fonte de alimento, retorna à colônia marcando a trilha com feromônio, e recruta mais formigas ao chegar ao ninho. Essas formigas recrutadas seguiriam a trilha de feromônios deixada pela recrutadora até a fonte de alimento e, ao retornarem, também marcariam a trilha. Dessa forma, quanto mais formigas são recrutadas, mais intensa a marcação feromonal e, consequentemente, maior o estímulo para que novas formigas passem a seguir a trilha. Complementando o mecanismo, a intensidade da marcação decairia segundo a volatilização do feromônio, regulando negativamente a

retroalimentação.

Uma vez descrito o mecanismo de retroalimentação do recrutamento em massa, a trilha de forrageamento passou a ser vista não mais como um conjunto de indivíduos se deslocando 'em linha reta' entre a fonte de alimento e o ninho, mas como um mecanismo responsável pela coordenação da atividade de vários indivíduos na tarefa de obtenção de alimento. Essa foi uma mudança de perspectiva importante e que posteriormente levou à busca de formas de organização mais sofisticadas dentro da colônia, mesmo levando-se em consideração que vários outros mecanismos não baseados em feromônios tenham sido observados nas trilhas.

Dentre essas formas mais sofisticadas de organização podemos distinguir, em linhas gerais e de forma não exclusiva, entre três grupos de mecanismos. Primeiramente os baseados na interações entre indivíduos, por exemplo regras de prioridade de passagem entre formigas em sentidos diferentes (DUSSUTOUR *et al.*, 2009). Em segundo lugar os mecanismos baseados nas capacidades individuais, por exemplo a participação da memória individual na solução de conflitos entre memória e marcação feromonal (CZACZKES *et al.*, 2011; GRÜTER *et al.*, 2011). Por fim, aqueles mecanismos de orientação não feromonais, por exemplo a dependência da visão, e consequentemente da luz, para a formação de trilhas unidirecionais (RIBEIRO, *et al.*, 2009), além de outros de modalidades variadas. Ainda outras sofisticações da organização das trilhas de feromônios foram observadas, no entanto, os mecanismos comportamentais responsáveis ainda não foram identificados ou descritos, por exemplo, a seleção de trilhas por formigas de tamanhos diferentes em função do alimento disponível em cada trilha (CLARK, 2006; WALLER, 1989).

1.4 Divisão de trabalho e polimorfismo

Sob a perspectiva de que diferentes formigas possam executar diferentes tarefas com diferentes eficiências, o polimorfismo, conforme suposto pela teoria ergonômica de castas (OSTER; WILSON, 1979), pode ser uma consequência evolutiva do aumento global do *fitness* promovido pela especialização morfológica de indivíduos à tarefas específicas.

Consequentemente, apesar de corresponder a uma etapa posterior à divisão do trabalho, o polimorfismo assume um papel muito determinante sobre a atribuição de tarefas aos indivíduos. Entretanto, se por um lado a especialização morfológica com vistas à execução de tarefas poderia garantir uma maior eficiência global, a flexibilidade na alocação de tarefas poderia, ao longo da evolução, ter favorecido colônias, especialmente em ambientes muito propícios à mudanças de condições, por garantir maior resiliência. Vale

mencionar que a evolução do polimorfismo pode ter sido restringida, entre outros fatores, pelo comprometimento com a flexibilidade comportamental (OSTER; WILSON, 1979). De uma forma geral é possível assumir que o polimorfismo apresenta implicações diretas sobre a alocação de tarefas. Assim, parece possível, e até mesmo provável, que algum ponto dentro do gradiente entre especialização e flexibilidade, que represente um balanço entre estes dois aspectos, seja espécie específico, e que seu entendimento dependa da descrição do contexto ecológico da espécie.

A sofisticação dos aspectos que podem envolver a relação entre morfologia e função é evidente. Por exemplo, a maioria das espécies do gênero *Pheidole* apresenta dimorfismo completo, com duas subcastas operárias morfológica e funcionalmente muito distintas (MERTL; TRANIELLO, 2009). A subcasta composta de formigas menores tipicamente se dedica a tarefas como o cuidado com a prole, manutenção do ninho e forrageamento, enquanto a subcasta de formigas maiores se ocupa da defesa, moagem de sementes e estocagem de alimento. Raramente uma formiga maior se ocupa do cuidado com a prole. Entretanto, mesmo nesse caso, quando uma colônia é experimentalmente desprovida de formigas menores, as formigas maiores assumem a tarefa, entretanto com uma eficácia muito baixa. A taxa de mortalidade da prole antes da maturação é muito maior nessas condições experimentais. O grau de especialização morfológica, apesar de não ter comprometido totalmente a capacidade de uma formiga grande assumir uma tarefa que geralmente não lhe diz respeito, parece ter comprometido a capacidade de realização da tarefa em si.

No caso de formigas *Atta,* o polimorfismo é gradual entre as subcastas (WEBER, 1972; WILSON, 1980), apresentando-se sobre a forma de uma variação contínua e isométrica de tamanho. Isso cria um desafio para estabelecer quais seriam as subcastas. Nesse caso, tanto o tamanho quanto a própria tarefa realizada são esquematicamente utilizados na distinção das subcastas. Por outro lado, a flexibilidade do comportamento de *Atta* na execução de tarefas é muito ampla, o que comprometeria a relação direta entre tarefa e subcasta. Ainda assim, alguns padrões ainda são bastante claros. Por exemplo, é comum que em *A. sexdens*, assuma-se que as formigas médias (1,8mm a 2,8mm de largura da capsula cefálica) são responsáveis pelo forrageamento (WILSON, 1980). No caso de remoção de formigas desse intervalo de tamanho do ninho, formigas de outros tamanhos que já estavam presentes na trilha, entretanto sem transportar alimento, passam a transportar. (WILSON, 1983). Mesmo em condições menos extremas, por exemplo na restrição experimental do tamanho de folhas que são carregadas para o ninho, formigas que em condições normais não carregam folhas, passam a carregar, de forma que a flexibilidade

comportamental garante a manutenção da quantidade de material forrageado (DUSSUTOUR et al., 2009). Já para o caso de coleta e transporte de água para a colônia, independentemente da distância entre a fonte de água e a colônia, são as formigas menores que realizam a tarefa (DA-SILVA *et al.*, 2012), mesmo que em geral essas formigas não costumem se afastar do ninho em condições normais.

No entanto, a relação de comprometimento entre especialização morfológica e flexibilidade comportamental na alocação de tarefas definitivamente não é o único aspecto determinante na evolução do polimorfismo. A eficiência no desempenho do forrageamento não é o único aspecto ecológico relevante na seleção de polimorfimo, e outras tarefas que também são importantes para a sobrevivência da colônia podem endossar a seleção de formas especializadas. Por exemplo, ao comparar *Atta colombica* a *Atta cephalotes,* foi sugerido que a maior diversidade de materiais forrageados por uma colônia de *A. colombica* é consequência da maior diversidade de tamanhos de formigas que se encarregam de cortar e transportar folhas (WETTERER, 1995) nesta espécie. No entanto, a uma vez que amplitude da diversidade de tamanhos de formigas na colônia inteira, sem se restringir àquelas que forrageiam, é maior em *A. cephalotes,* e a sugestão anterior se restringia à diversidade de tamanhos de formiga que forrageiam, a diversidade polimórfica extra forrageamento em *A. cephalotes* carece de uma explicação complementar. Posteriormente foi apontado que o polimorfismo mais amplo em *A. cephalotes* poderia decorrer do fato de que o tamanho das forrageadoras maiores seria resultante de um processo de especialização morfológica para a tarefa de defesa, uma vez que o tamanho da cabeça dessas formigas está relacionada com o tamanho do buraco de saída do ninho, pois um indivíduo grande fecharia e protegeria a saída com sua cabeça (POWELL, 2008). Ou seja, o polimorfismo decorrente de outro aspecto ecológico, no caso a defesa, teria suplantado o polimorfismo dado exclusivamente pela eficiência no desempenho do forrageamento.

Apesar de ser compreensível que o polimorfismo seja uma sofisticação da divisão de trabalho, no sentido de maximizar os ganhos da cooperação num sistema eussocial, os vários aspectos que poderiam ter influenciado nos padrões evolutivos dessa característica ainda não são bem esclarecidos. Além dos aspectos ecológicos e comportamentais mencionados, a diversidade morfológica das operárias também está relacionada a aspectos da diversidade genética da colônia. A diversidade é maior em espécie de colônias com múltiplas linhagens, e menor em espécies monogínicas (FJERDINGSTAD; CROZIER, 2006). A diversidade genética dentro de uma colônia resultante de características como a poliandria, e a influência genética da linhagem paternal na determinação do tamanho resultam numa maior diversidade de tamanhos em uma colônia de *Atta cephalotes*

(EVISON; HUGHES, 2011). Entretanto, esse resultado pode não ser válido para outras espécies (SCHWANDER *et al.*, 2005)

Embora o conhecimento das relações evolutivas entre polimorfismo e divisão do trabalho ainda não seja claro e nem se disponha atualmente de uma abordagem capaz de unificar as diferentes vertentes de investigação, a recente aplicação das técnicas de biologia molecular avançadas, já amplamente aplicadas em outras áreas, tem lançado uma nova luz sobre o tema (LEBOEUF *et al.*, 2012; SMITH *et al.*, 2008). Vale lembrar que a questão do polimorfismo em colônias de formigas era apontada por Darwin como uma das grandes dificuldades para a sua teoria. Os seus questionamentos sobre como as formigas operárias estéreis propagariam o seu tipo mereceram destaque em sua obra, num capítulo especial sobre objeções à teoria de seleção natural (DARWIN, 1872).

> *I will not here enter on these several cases, but will confine myself to one special difficulty, which at first appeared to me insuperable, and actually fatal to the whole theory. I allude to the neuters or sterile females in insect communities: for these neuters often differ widely in instinct and in structure from both the males and fertile females, and yet, from being sterile, they cannot propagate their kind.*
>
> *[…] for it can be shown that some insects and other articulate animals in a state of nature occasionally become sterile; and if such insects had been social, and it had been profitable to the community that a number should have been annually born capable of work, but incapable of procreation, I can see no especial difficulty in this having been effected through natural selection. But I must pass over this preliminary difficulty. The great difficulty lies in the working ants differing widely from both the males and the fertile females in structure, as in the shape of the thorax, and in being destitute of wings and sometimes of eyes, and in instinct.*

Se posto em perspectiva que uma das contribuições de Darwin foi a proposição de que os traços complexos eram resultantes do sucessivo acúmulo de formas menos complexas, ligeiramente mais proveitosas do ponto de vista das chances de sobrevivência e reprodução, a presença de formigas tão distintas das parentais , e estéreis, representava um problema para a propagação do tipo morfológico para as gerações posteriores.

> *[…] but with the working ant we have an insect differing greatly from its parents, yet absolutely sterile; so that it could never have transmitted successively acquired modifications of structure or instinct to its progeny.*

1.5 Aspectos temporais das atividades e o comportamento coletivo

Em vários insetos eussociais a divisão de tarefas pode apresentar polietismo. De acordo com o polietismo, indivíduos mais novos tendem a exercer tarefas internas ao ninho, enquanto mais velhos tendem a assumir tarefas externas (WILSON, 1980). Em abelhas *Apis*, a saída de dentro da colmeia está relacionada ao surgimento do ritmo circadiano de atividade das operárias (MOORE, DARRELL *et al.*, 1998). Num primeiro momento, uma abelha operária desempenha atividades de cuidado parental da prole da rainha dentro da colmeia. A atividade é realizada de forma uniformemente distribuída ao longo do tempo. Conforme uma operária envelhece, ela deixa o interior da colmeia, e passa a desempenhar atividades externas, de coleta de pólen ou néctar. O forrageamento passa a ser desempenhado principalmente durante o dia, e as abelhas tem na posição do sol uma referência na localização das fontes de alimento. Como o sol muda de posição no céu ao longo do dia, as abelhas se valem dos seus relógios para correção da mudança de posição do sol na localização da fonte de alimento. Dessa forma, a abelha operária passa a desempenhar sua nova atividade segundo um ritmo circadiano, ou seja, a transição entre as tarefas é acompanhada pelo surgimento de um ritmo de atividade. Essa transição para a condição rítmica se dá associada à expressão rítmica do gene *period* no cérebro (TOMA *et al.*, 2000).

O papel da expressão do gene *period* foi observado através da quantificação da expressão de mRNA no cérebro de abelhas ainda na colméia e abelhas forrageadoras. A remoção das forrageadoras de uma colmeia levou à antecipação da transição de tarefas das abelhas presentes (BLOCH; ROBINSON, 2001), que da mesma forma, também aumentaram a expressão rítmica de *period.* Alternativamente, a remoção das abelhas internas à colmeia produziu a reversão da transição, e abelhas forrageadoras retornaram a desempenhar a atividade internas, de forma acíclica, e a expressar *period* sem um padrão rítmico. Mais recentemente foi observado que todas essas alterações comportamentais e de expressão do gene *period* estão atreladas ao padrão de metilação do DNA, fornecendo evidências de que alterações epigenéticas reversíveis aparentemente estão associadas à mudanças comportamento (HERB *et al.*, 2012).

No caso das formigas, a relação entre divisão de trabalho e polietismo não é tão precisa a cerca dos mecanismos subjacentes. O polietismo poderia ser uma consequência, e não uma causa da parcela de divisão de trabalho entre tarefas internas e externas, em função das formigas se desenvolverem dentro do ninho e mudarem de tarefa conforme cada tarefa se satura em número de operárias (TOFTS; FRANKS, 1992). De forma semelhante,

ainda outros mecanismos que sejam dirigidos alternativamente pelas condições internas ou externas também poderiam levar ao polietismo (GORDON, 1996) como consequência.

A questão do polietismo é importante dentro do aspecto de determinação de quais operárias – de qual idade, no caso – desempenham quais tarefas. No entanto, sob o ponto de vista de quais tarefas são realizadas em quais momentos, o foco é a dinâmica temporal segundo a qual a tarefa é desempenhada. No exemplo anterior, as tarefas dentro do ninho são desempenhadas de forma mais ou menos homogênea ao longo das horas do dia, enquanto o forrageamento tem picos - diurnos no caso das abelhas - de atividade.

Em formigas, ocorre algo semelhante sob a perspectiva da execução das tarefas. Algumas tarefas da colônia são coletivamente desempenhadas mais intensamente em horários específicos (GORDON, 1983). As tarefas que ocorrem dentro do ninho, o cuidado com os indivíduos imaturos e a manutenção do fungo, não tem a sua atividade determinada pela fase do dia. Já tarefas que ocorrem fora do ninho, como o forrageamento, estão mais sujeitas às condições dadas pela fase do dia, e são desempenhadas em momentos preferenciais.

Consequentemente, assim como o padrão temporal de execução de uma tarefa pode estar relacionado ao fato desta tarefa ser realizada interna ou externamente ao ninho, as tarefas externas podem apresentar padrões de atividade relacionados às variações da condição externa ao longo do dia. Além disso, vale lembrar que a variação entre as fases clara e escura do dia vai além apenas da presença de luz, trazendo a reboque variações em outros fatores fisiologicamente relevantes, como temperatura e umidade, que agem sobre as formigas de acordo com os seus tamanhos. Por exemplo, a temperatura crítica máxima tolerada por formigas saúvas apresenta uma correlação positiva com o tamanhos dos indivíduos (Ribeiro, P).Ou seja, a forma com que uma colônia executa uma tarefa pode ser influenciada pelas condições ambientais características das fases clara e escura do dia tanto no que se refere a existência de um horário mais propício, quanto pela possibilidade de se favoreça a atividade de um ou outro tamanho de formiga.

Dessa forma, seria razoável esperar uma separação temporal da atividade de formigas de tamanhos diferentes numa condição em que tarefas por elas desempenhadas fossem mais propícias em em fases alternadas do dia. Entretanto, a variação das condições ambientais ao longo do dia não é o único fator determinante da hora em que uma tarefa é desempenhada. No caso do patrulhamento, por exemplo, a demanda contínua pela segurança da colônia é evidentemente um fator relevante na distribuição temporal da sua execução, uma vez que esta tarefa é desempenhada de forma temporalmente uniforme,

mesmo durante momentos mais quentes (GORDON, 1983). A existência de horários preferenciais na disponibilidade de alimento, independentemente da condição ambiental, também parece ser um fator importante na regulação da demanda por forrageamento (GORDON, 1983). Além disso, ao manipular a quantidade de indivíduos realizando cada tarefa numa colônia, foi observado que formigas realizando outras tarefas podem responder às alterações – no curto prazo - mudando de tarefa, o que evidencia a relação de interdependência entre tarefas em termos dos indivíduos que as executam (GORDON, 1986), e enfatiza o papel da flexibilidade comportamental na manutenção da homeostase da colônia. Vale lembrar também, que nos modelos de divisão de tarefas baseados em limiares de resposta, respectivos por exemplo à subcastas, os estímulos genéricos utilizados são as demandas pela execução de cada tarefa. Nesse sentido, a demanda pela execução é um fator importante na composição dos padrões temporais com que as atividades são desempenhadas e deve interagir com esses.

Nesse momento é importante que se distingua o padrão com que uma tarefa é executada e o ritmo de atividade das formigas operárias. O padrão temporal com que uma atividade é coletivamente realizada na colônia não corresponde necessariamente ao ritmo de cada indivíduo que realiza aquela tarefa. A possibilidade de alternância entre os indivíduos que se executam uma tarefa seria suficiente para tornar o padrão temporal segundo o qual a colônia coletivamente executa uma tarefa diferente do ritmo de atividade individual das operárias. Por outro lado, apesar da possibilidade dos ritmos circadianos individuais não serem os determinantes dos padrões coletivos de atividade da colônia, parece bastante razoável que de alguma forma eles devam estar relacionados, se manifestando dentro daquilo que é observado globalmente. Dessa forma, deve ser reconhecido que os ritmos circadianos possam cumprir um papel dentro do padrão temporal de execução de uma tarefa, apesar de não haver necessidade de que exista uma correspondência total entre esses dois.

De forma geral, é esperado que no padrão temporal de execução de uma tarefa estejam expressos aspectos importantes da organização subjacente. No caso específico do forrageamento, que envolve um número muito grande de indivíduos, de tamanhos muito diferentes, atuando segundo mecanismos de retroalimentação entre recrutamento e marcação feromonal, envolvendo ainda estratégias de subdivisão das operárias entre corte e transporte de folhas, é esperado que o seu respectivo padrão temporal de execução reflita mecanismos operacionais da divisão de tarefas relacionada ao polimorfismo. Dessa forma, cabe propor a investigação da relação entre o padrão temporal de forrageamento e o polimorfismo através da identificação dos padrões temporais de atividade de formigas de

tamanhos diversos e suas consequências no funcionamento da trilha.

1.6 Conclusão

A existência de organismos eussociais está relacionada à diferentes aspectos da divisão de tarefas na colônia. Assim, entender como se dá o comportamento coletivamente e como se dão as regras de organização do trabalho na colônia é etapa das mais fundamentais para o próprio entendimento da eussocialidade, dos organismos eussociais e das dinâmicas que permitem a manutenção das condições necessárias para a sua sobrevivência. No entanto, cumprir com tal objetivo esbarra nos desafios tanto metodológico quanto teórico de tratar da sofisticação das interações dos organismos e destes com o ambiente, especialmente com vistas à forma como se dá a organização do trabalho. Essa dificuldade é evidente ao se observar aquele que é um dos mais importantes aspectos para manutenção da sobrevivência da colônia, a atividade de forrageamento. A formação de trilhas longas, com o fluxo de milhares de formigas ao longo do dia expõe a existência de uma separação morfológica das funções, assim como a existência de uma marcada flexibilidade morfofuncional. Mais ainda, parece haver, também, uma importante determinação das relações morfofuncionais dada por características ambientais, como os ritmos de claro e escuro. De maneira global, todas estas evidências mostram que o entendimento do comportamento coletivo e de como suas especificidades se dão depende do esforço de gerar uma metodologia capaz de avaliar de maneira global o comportamento coletivo, analisando o comportamento de dezenas ou centenas de milhares de indivíduos para que se possa entender de que maneira um sistema coletivo é capaz de solucionar desafios em larga escala.

A proposta do presente trabalho trata exatamente desse ponto. Assim, o que se propõe aqui é desenvolver uma metodologia e escopo teórico para avaliar como os aspectos morfofuncionais se apresentam em uma trilha forrageamento dada a sua distribuição temporal de atividade, na presença das variações contínuas da condição ambiental.

2 OBJETIVOS

2.1 Gerais

Por observação, tanto na natureza quanto em laboratório, é conhecido o fato de que as formigas saúvas são mais ativas durante a noite no que diz respeito ao forrageamento. No entanto, não há uma descrição detalhada sobre como a atividade se distribui ao longo da fase clara ou escura.

Durante o dia não se observa um número de formigas forrageando tão grande quanto durante a noite. A maior parte das formigas que forrageiam folhas tendem a ser de tamanhos intermediários, com distribuição tendendo aos tamanhos menores. Dessa forma, se esperava encontrar um número grande de formigas médias e pequenas durante a noite. Já as formigas maiores, apesar de participarem ocasionalmente do forrageamento, cumprem um papel de defesa e patrulha da colônia, tarefas que não estão necessariamente associadas ao forrageamento, e cuja necessidade de manutenção é constante. Sendo assim, a hipótese era de que as formigas maiores apresentassem uma distribuição uniforme de atividade ao longo do dia.

Por não se ter um conhecimento detalhado acerca das relações entre padrão de atividade ao longo do dia e polimorfismo das formigas saúvas, não há descrição de consequências ou proposição de mecanismos de manutenção de trilhas de forrageamento baseados nos padrões de atividade. Entretanto, é possível produzir hipóteses testáveis, coerentes com as expectativas de padrões de atividade para formigas de tamanhos diferentes citadas, e que apesar de, em princípio, não requererem qualquer relação funcional com o forrageamento em si, possam explicar alguns fatos observados. Por exemplo, um maior tamanho médio de formigas durante o dia, e um menor durante a noite.

2.2 Objetivos específicos

O experimento realizado tinha por objetivos i) caracterizar a variação na quantidade de formigas em atividade na trilha de forrageamento ao longo do dia, levando-se em consideração as fases clara e escura do dia; ii) Verificar se formigas de tamanhos diferentes apresentam padrões temporais diferentes de atividade ao longo do dia; iii) Avaliar aspectos da trilha decorrentes da presença ou ausência de diferenças nos padrões temporais de atividade de formigas de tamanhos diferentes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do experimento, foi utilizada uma colônia de formigas *Atta sexdens rubropilosa*, mantida no laboratório. A colônia foi mantida dentro de uma caixa de plástico (figura 1), com acesso constante à uma canaleta de acrílico que serviu como local de formação da trilha. Sobre o terço final desta canaleta, foi fixada uma placa de alumínio com uma tira de LEDs de luz de comprimento de onda na faixa do vermelho visível. Junto com a iluminação vermelha foi fixada uma câmera (webcam Microsoft Lifecam Cinema) para a realização das gravações. Ao final da canaleta havia um acesso a uma bandeja, onde eram disponibilizadas folhas de *Acalipha sp.*

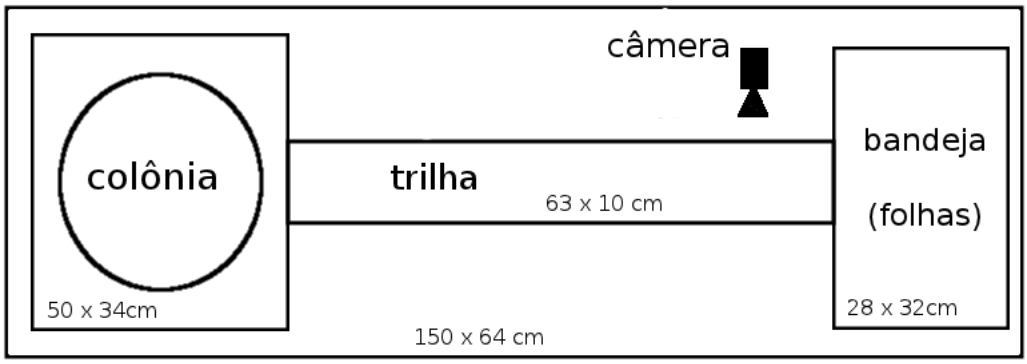

Figura 1. Representação da montagem experimental (representação fora de escala, as medidas estão indicadas).

A iluminação vermelha foi constante ao longo do experimento, e permitiu as gravações durante a fase escura. As formigas não são sensíveis à luz desse comprimento de onda (MARTINOYA *et al.*, 1975). A iluminação branca da sala foi controlada por um temporizador, ajustado para acender todos os dias às 06:00 e apagar às 19:20. O acendimento e o apagar das luzes era imediato, não apresentando um transiente entre as duas condições em nenhuma das mudanças entre as duas fases. A colônia foi exposta à configuração experimental durante aproximadamente uma semana antes do início do experimento. No dia do início do experimento o acesso à trilha (e à bandeja de forrageamento) foi fechado para limpeza da trilha, uma vez que o acúmulo de sujeira na área de gravação pode prejudicar a análise dos vídeos. Com o mesmo fim, durante o experimento, por algumas vezes foi necessário retirar o material acumulado próximo à área

de gravação.

A câmera estava conectada à um computador ('notebook'), numa mesa ao lado do experimento. Foi desenvolvido um programa em C++, utilizando a biblioteca OpenCV (BRADSKI, 2000), para controlar as gravações. Os vídeos foram gravados em resolução de 640:480 pixels, à uma taxa de 15 quadros por segundo, em formato AVI, utilizando compressão MPEG4.3.

O experimento teve início às 16:00, e se encerrou após seis dias. Ao longo desse período foram gravados sequencialmente 800 vídeos de 2 minutos de duração cada, com 8 minutos de intervalo entre vídeos subsequentes. Dessa forma, foi amostrado 20% do tempo total decorrido de experimento.

Para minimizar o efeito da disponibilização de alimento sobre a atividade observada na trilha de forrageamento, as folhas frescas eram colocadas três vezes ao dia, de forma que em momento algum houvesse carência de folhas na badeja de forrageamento. Para a definição dos horários de disponibilização de alimento, definiu-se às 08:00, 16:00 e 24:00 como horários base, e sorteou-se um desvio de até uma hora, para mais ou para menos, para cada evento.

3.1 Informações preliminares

Todos os vídeos foram analisados por computador, no laboratório do Prof. Yossi Zana, no Centro de Matemática, Computação e Cognição (CMCC) da Universidade Federal do ABC (UFABC), através de um software de detecção e rastreamento de formigas desenvolvido em parceria e colaboração com o nosso laboratório.

A análise de cada um dos 788 vídeos (2 não puderam ser analisados) produziu um arquivo com as seguintes informações sobre cada trajetória rastreada: comprimento e largura da formiga, posição e momento de entrada e saída, direção da trajetória, velocidade mínima, média e máxima. Nesse arquivo, cada linha corresponde a uma trajetória rastreada, e os valores das colunas correspondem às informações obtidas sobre aquela trajetória. Uma vez obtidos todos esses 788 arquivos, eles foram todos concatenados numa única base de dados totalizando 638515 trajetórias rastreadas. Além disso, tem-se também com informações referentes à: i) data e hora da gravação correspondente (dia de experimento, hora do dia, minutos, segundos); ii) número do vídeo correspondente (numeração do arquivo de vídeo e resultado, e numeração ordinal do vídeo na sequência de vídeos analisados); iii) nome do arquivo com os resultados correspondentes, de forma que para cada trajetória pode-se obter qualquer uma dessas informações.

Em posse de todos esses dados foi possível realizar as análises descritas em sequência. Todos os dados referentes à tamanhos (de objetos, de distâncias percorridas, tamanho da área de gravação) estão em unidades de pixel. Para que se pudesse fazer a conversão para milímetros foi gravada uma escala, no entanto, em função das capacidades atuais da análise computacional ainda não foi possível chegar à função para conversão para milímetros. Portanto, os dados estão apresentados em unidades arbitrárias.

3.2 Filtragem dos dados

A fim de se eliminar os dados espúrios presentes adotou-se as seguintes medidas: i) filtragem por medidas de tamanho; e ii) filtragem por comprimento total de trajetória.

Para a filtragem por medidas de tamanho, foram calculadas as médias das seguintes medidas: comprimento, largura, comprimento / largura, e velocidades média e máxima; e a matriz de covariância dessas medidas. Então, para cada um dos dados calculou-se a distância de Mahalanobis entre o dado observado e o centro da distribuição multivariada dessas medidas em questão. A distância de Mahalanobis pode ser calculada segundo a fórmula abaixo, em que *x* é o vetor com os valores da observação de um dado, *μ* é o vetor com as médias estimadas, e *S* é a matriz de covariância estimada.

$$D_M = \sqrt{(x-\mu)^T S^{-1} (x-\mu)}$$

Adotando o valor de α de 0,05 pode-se obter um valor crítico através da distribuição chi-quadrado correspondente à distância máxima admitida. A distribuição chi-quadrado em questão tem X graus de liberdade, correspondentes ao número de variáveis da utilizadas. Posteriormente, são eliminados os dados cuja distância em relação ao centro da distribuição conjunta for maior do que a crítica.

Já para a filtragem por comprimento total de trajetória, foi observada a distribuição desta variável isoladamente, e então, resolveu-se por ajustá-la à uma distribuição gama em função da assimetria das caudas, e do valor mínimo possível ser zero. A através da estimação dos parâmetros da distribuição gama obtida, pode-se definir os valores de limite inferior e superior (adotando-se previamente o alfa 0,05) para a eliminação dos dados cujos valores estiverem em uma das caudas da distribuição estimada. Ou seja, elimina-se os dados inferiores ao quantil 2,5% e superiores ao quantil 97,5% da distribuição gama estimada. Dessa forma, eliminaram-se tanto os dados referentes à objetos fixos (cauda inferior) quanto de trajetórias cuja identidade provavelmente passou de uma formiga que cruzou a área num sentido para outra que cruzou no sentido oposto (cauda superior).

3.3 Contagens

Para a obtenção das contagens de formigas em cada vídeo foi necessário selecionar os dados referentes às trajetórias que foram obtidos através da análise computacional dos vídeos. Devido ao alto grau de dificuldade de gerenciamento das identidades das trajetórias dos objetos rastreados nos vídeos, às vezes devido ao elevado número de formigas presentes, ou ainda por interação entre formigas ou mesmo a presença de detritos ou fragmentos de folhas, não há uma correspondência biunívoca entre uma trajetória rastreada e uma formiga. Na ocorrência de problemas no gerenciamento das identidades algumas trajetórias se encerram precocemente, ou seja, ainda na presença da formiga correspondente. Esse erro é ainda sucedido por outro, pois inicia-se uma nova identidade de trajetória para a mesma formiga. Dessa forma, são produzidos erros de contagem para além do número real de formigas que passaram em algum momento pela área de gravação. Como na ocorrência dos erros descritos as trajetórias se interrompem, as trajetórias obtidas pela análise correspondem, na verdade, a trechos das trajetórias reais realizadas pelas formigas que transitaram pela área de gravação.

Por outro lado, eventos que levariam a análise computacional a realizar uma sub estimativa do número de formigas foram aparentemente menos frequentes. Esses eventos seriam, por exemplo, ao menos duas formigas realizarem todo o percurso ao longo da área de gravação com seus corpos em contato, ou ainda, o não encerramento de uma trajetória de uma formiga que deixa a área de gravação ao cruzar a linha limítrofe por ocorrência de contato corporal com outra formiga que cruza a mesma linha, só que no sentido contrário, entrando na área de gravação, e indevidamente 'carregando' consigo a trajetória cuja identidade era a da formiga que deixou a área.

Para que se pudesse observar o efeito desses eventos nos dados obtidos computacionalmente, e então poder decidir por uma procedimento de correção, a contagem automática foi comparada à manual. Para realizar a comparação, foram selecionados de forma aleatória uniformemente distribuída 40 dos vídeos gravados (figura 6). O procedimento de contagem manual seguiu um mesmo padrão para todos os quarenta vídeos selecionados. Esse procedimento consistiu em dividir a área do vídeo em quatro quadrantes (figura 2), e a cada vez em que se assistia ao mesmo vídeo, utilizando-se um contador manual, contava-se o número de formigas que deixava a área de gravação pela linha limítrofe de um dos quadrantes. Depois de assistir a um mesmo vídeo quatro vezes – em que cada vez correspondeu a contagem em um quadrante – contava-se o número de formigas presentes na área de gravação no último quadro. Posteriormente, todas as

contagens referentes à um mesmo vídeo foram registradas numa tabela

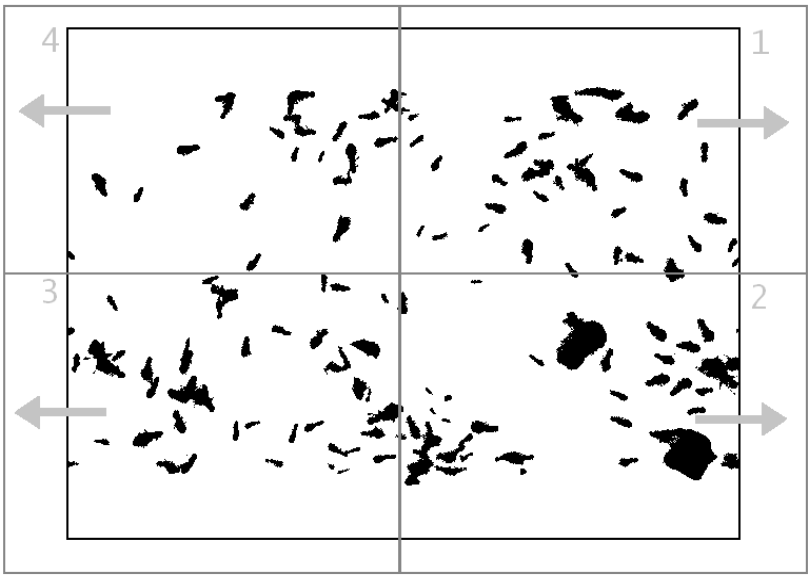

Figura 2. Imagem binaria de um quadro de um dos vídeos mostrando a área de gravação (retângulo preto), e a divisão em quadrantes (em cinza) segundo a ordem de contagem. A cada vez contava-se o número de formigas saindo por um quadrante, segundo as setas em cinza.

Vale lembrar que a contagem manual e a contagem automática procedem de forma diferente. Enquanto a primeira conta o número de formigas que deixa a área de gravação e as presentes no último quadro, a segunda busca gerar identidades e obter as trajetórias de cada formiga ao longo de todo o seu percurso pela área de gravação. Soma-se a isso o fato de que a contagem manual é por vezes bastante desafiadora em função do grande número de formigas, e não representa uma medida real, no sentido do termo 'ground truth' por vezes utilizado para tratar da validação de métodos computacionais. Ainda assim, para os fins deste trabalho, a contagem manual é uma medida perfeitamente razoável para a comparação entre os métodos. A partir desta comparação pode se supor o tipo de evento gerador de erros na contagem automática, e então chegar a meios de selecionar dentro dados obtidos aqueles mais verossímeis.

3.4 Distribuições temporais e tamanhos de formigas

Para tratar da questão específica de se formigas de tamanhos diferentes apresentam distribuições temporais diferentes das suas atividades na trilha de forrageamento, uma abordagem possível é a comparação entre a distribuição de tamanhos de formigas na fase clara e na fase escura. No entanto, apesar de não diferirem estatisticamente quanto à media, diferem quanto a variância (teste T: $t = 0{,}8133$, $p = 0{,}4160$, $\alpha = 0{,}05$, g.l = 7,1169e+4; teste F: $F = 1{,}0332$, $p = 1{,}0565e\text{-}5$, g.l. = 45772 e 171752).

Além disso, o que a comparação entre as distribuições acima permite inferir é se o tamanho das formigas numa dada fase difere do tamanho das formigas na outra fase. Essa análise poderia ser estendida para horas do dia, e a comparação entre as distribuições de tamanho a cada hora do dia permitiria inferir em quais horários o tamanho das formigas presentes difeririam de quais outros horários. A distribuição de tamanhos de formigas para um dado horário pode ser expressa como a distribuição empírica de probabilidades de se observar cada tamanho de formigas num dado horário, ou seja, uma probabilidade de observação de cada tamanho condicional à hora específica. Determinando o conjunto de horas do dia $H = \{0, 1, \ldots, 23\}$, e de tamanhos $T = \{ t0, t1, t2, \ldots, tmax\}$ (t0: tamanho mínimo observado, tmax: tamanho máximo observado), a distribuição de tamanhos de formigas para uma dada hora é dada por $P(T=t \mid H=h)$, em que h pertence à H e t pertence à T.

No entanto, talvez faça mais sentido do ponto de vista biológico da pergunta, se pudermos comparar para formigas de tamanhos diferentes a distribuição ao longo das horas do dia segundo qual cada tamanho foi observado na trilha de forrageamento. Ou seja, a distribuição empírica de probabilidades de se observar um tamanho específico de formigas a cada uma das horas do dia. Essa distribuição de horas do dia condicional a um tamanho específico foi chamado de distribuição temporal de um tamanho de formigas, dada por $P(H=h \mid T=t)$. A comparação das distribuições temporais de tamanhos diferentes é um dos objetivos do trabalho.

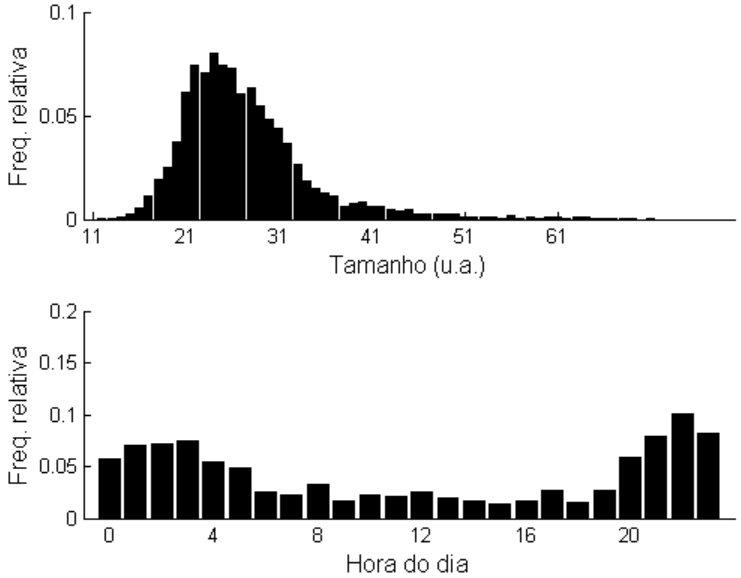

Figura 3. Comparação entre o histograma de tamanhos de formigas em uma dada hora (P(T=t|H=h)), e distribuição temporal de um tamanho em 24h (P(H=h|T=t)).

Há dois problemas relacionados a variável tamanho de formiga. O primeiro é que o tamanho das formigas é uma variável contínua, cuja função distribuição pode ser, por exemplo, uma normal. Já a distribuição temporal de um dado tamanho de formiga, pode ser bastante complicada, por exemplo, bimodal com as modas ocorrendo na fase escura, que é uma fase descontínua. Tomando isso em conjunto, é uma distribuição conjunta que descrevesse bem os dados seria bastante complicada. Sendo assim, optou-se representar as distribuições temporais observadas de forma discretizada, hora a hora, conforme na figura acima. Em consequência, como a distribuição temporal é condicional a um tamanho específico, optou-se por discretizar também o tamanho em classes. O segundo problema se refere à divisão do tamanho em classes cujas distribuições temporais sejam diferentes. Estas classes não necessariamente são as classes de tamanhos definidas anteriormente como forma de discretização da variável originalmente contínua. A primeira corresponde a uma discretização dos dados para análise, e a segunda a identificação de grupos diferentes de acordo com suas distribuições temporais.

Para tratar desses dois problemas, a abordagem adotada foi a de inicialmente definir um número arbitrariamente muito grande de classes de tamanho, mais precisamente 60, para a obtenção das distribuições temporais observadas de cada classe. As distribuições temporais das classes foram comparadas entre si utilizando-se a distância de

Bhattacharyya. Essa distância é uma métrica (num sentido menos rigoroso do termo, por não cumprir com todas as propriedades de uma métrica, mais especificamente a inequalidade triangular), que é bastante utilizada para a comparação entre distribuições de probabilidades. A distribuição temporal de uma classe consiste em 24 valores de probabilidade (um para cada hora do dia, e que somam um), que são comparados aos 24 valores de outra classe, produzindo um valor único de distância entre as duas distribuições. Todas as 60 classes foram comparadas duas a duas, gerando 3600 valores de distâncias (1800 pares).

A distância de Bhattacharyya para distribuições discretas é dada por:

$$D_B(p,q) = -\ln \sum_{x \in X} \sqrt{p(x) * j(x)}$$

Onde *p* e *q* são duas distribuições de probabilidade sobre um conjunto *X* (domínio, que no caso são as 24 horas do dia).

Essas classes foram reagrupadas em grupos hierarquicamente superiores, levando-se em consideração não mais o tamanho das formigas em si, mas a semelhança entre distribuições temporais das classes definidas inicialmente. A cada etapa, “existem *n* classes, que serão reduzidas a *n-1* classes mutuamente exclusivas, através do agrupamento de um par dentro dos *n(n-1)/2* possíveis”. Esse método é conhecido como 'clusterização hierárquica'. O critério utilizado para que numa dada etapa do processo se agrupem duas classes foi o 'Ward linkage criterion', (WARD; 1963). Não se trata exatamente do 'Ward's minimum variance method', porque a distância utilizada foi a de Bhattacharyya e não a Euclidiana ao quadrado. No entanto, o método ainda é válido dentro de uma concepção mais genérica em que se opta pelo agrupamento do par de valor ótimo (máximo ou mínimo) segundo alguma função, não necessariamente o a soma do quadrado dos erros.

Ou seja, nessa segunda etapa, as classes de tamanho são classificadas em grupos de distribuições temporais diferentes, buscando-se observar como esses grupos são compostos no que diz respeito às classes iniciais de tamanho que os compõem.

3.5 Distribuições temporais de atividade dos grupos ao longo do experimento

Obtidos os grupos de formigas de tamanhos diferentes, distintos através das suas respectivas distribuições temporais em 24h, cabe avaliar as consequências dessas diferenças de distribuição temporal de atividade ao longo do experimento, O objetivo é

avaliar o de que forma a identificação dos grupos possibilita a compreensão do comportamento global da trilha.

Para tal, foi obtida a média de tamanho das formigas presentes em cada vídeo. Essas médias constituem uma série correspondente a todo o experimento. A variação presente nessa série de médias pode ser modelada utilizando-se variáveis globais referentes ao desenho experimental (dia, hora do dia, fase clara ou escura) e a contagem total (contagem de cada vídeo, sem levar em consideração a existência dos grupos diferentes), Alternativamente, a série de médias pode ser modelada segundo a distribuição temporal de atividade dos grupos encontrados

A distribuição temporal de atividade de cada grupo ao longo do experimento é a probabilidade empírica de ser observada uma formiga de um dado grupo em cada vídeo. Dessa forma, nada mais é do que o número de formigas de um dado grupo a cada vídeo, divido pelo número de formigas desse mesmo grupo em todos os vídeos.

Os dois modelos são comparados através do critério de informação de Akaike (AIC, 'Akaike information criterion') para o caso de estimação por método de mínimos quadrados, dado pela fórmula abaixo:

$$AIC = n \ln\left(\hat{\sigma}^2_{MLE}\right) + 2\mathrm{K}$$

$$\hat{\sigma}^2_{MLE} = \frac{\sum \hat{\epsilon}_i^2}{n}$$

Onde, ϵ representa um desvio entre o valor observado e o predito pelo modelo de regressão, a variância (média da somatória dos quadrados dos resíduos) é estimada pelo estimador de máxima verossimilhança (difere do estimador de variância da amostra por não ser subtraído *1* do valor *n* no denominador). E *K* é o número de parâmetros do modelo (inclusive o erro e o intercepto).

4 RESULTADOS

4.1 Filtragem dos dados

Quanto à filtragem relativa às medidas de tamanho, foram eliminados todos os dados cuja distância em relação ao centro fossem maior do que a crítica. Antes da filtragem, os valores máximo e mínimo de comprimento eram, respectivamente, 792 u. a e 10 u. a.. Após a filtragem, passaram a ser de 74 u. a. e 11 u. a. . Este intervalo mostra a exclusão dos valores obtidos provavelmente decorrentes de erros.

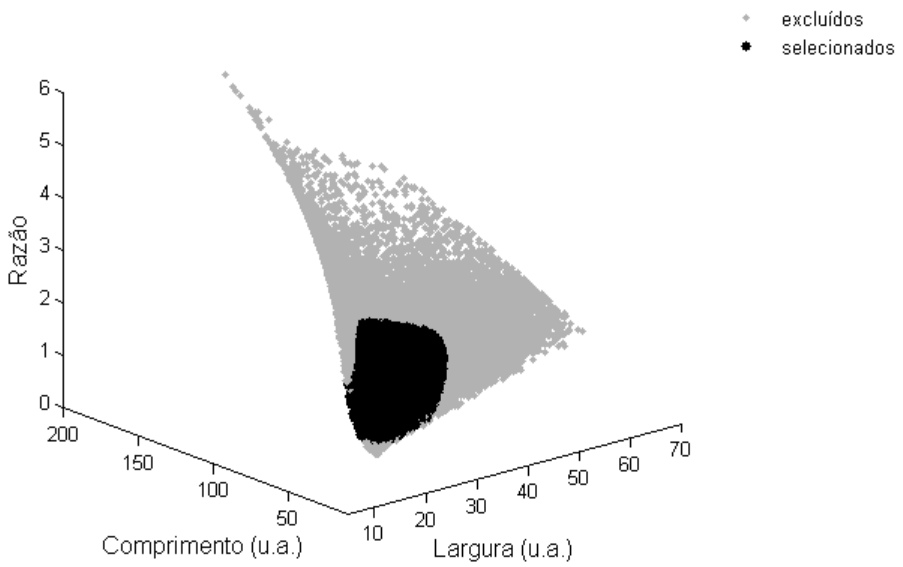

Figura 4. Seleção por distância de Mahalanobis em relação ao centro da distribuição multivariada. Os dados fora das escalas representadas no gráfico não são mostrados para que se possa ter uma melhor visualização do campo formado pelo intervalo de confiança.

Observando-se a distribuição dos dados resultantes da filtragem por comprimento total de trajetória pode-se esperar que dados provenientes de objetos fixos, como detritos e fragmentos de folhas não transportados, abandonados na área de gravação, tenham sido eliminados através do corte na cauda inferior. Alternativamente, dados provenientes de identidades que provavelmente passaram por mais de uma formiga, consequentemente apresentando trajetórias muito longas, foram eliminados através do corte na cauda superior

da distribuição.

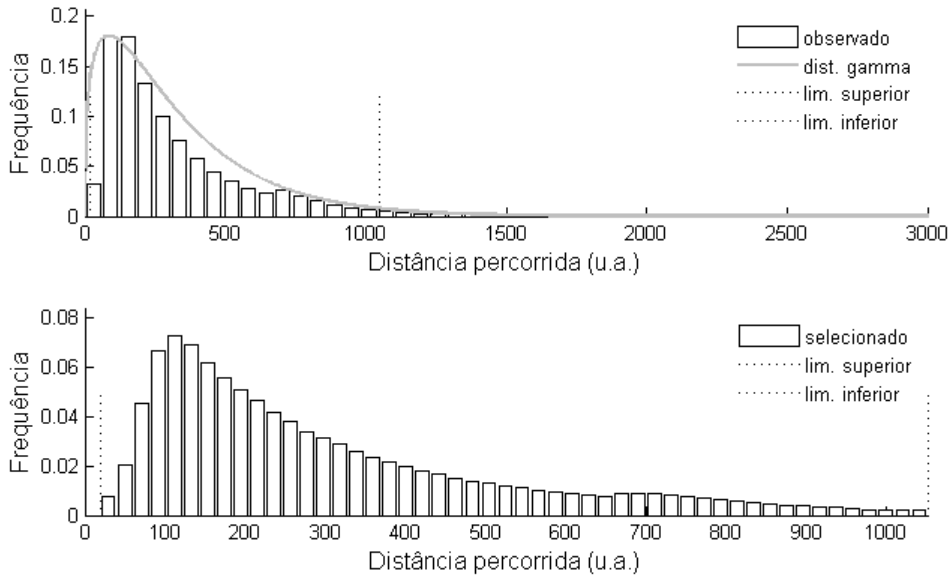

Figura 5. Seleção de dados por distância total de trajetória percorrida. O gráfico mais acima mostra a distribuição observada, a distribuição gama estimada (α: 1,3580, r: 238,5611), e os limites (inferior: 18,7525 superior: 1251,046). O gráfico mais abaixo mostra a distribuição de distância percorrida dos dados após a exclusão dos valores além dos limites.

Ao final dessa etapa, restaram ainda 587322 dados.

4.1.1 Contagens

Para a obtenção das contagens totais de formigas em cada vídeo foi necessário realizar manualmente algumas contagens para fins de comparação aos resultados obtidos pelo método computacional. Foram selecionados para a contagem manual 40 vídeos de forma aleatória uniformemente.

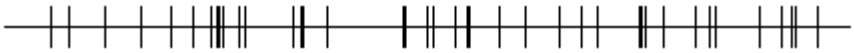

Figura 6. Seleção de forma aleatória uniformemente distribuída de vídeos para realização de contagem manual. A linha horizontal contínua representa a sequência de vídeos e as verticais aqueles selecionados para contagem manual.

Como se pode observar, a contagem automática resultou numa super estimativa com erro exponencial em relação à contagem manual.

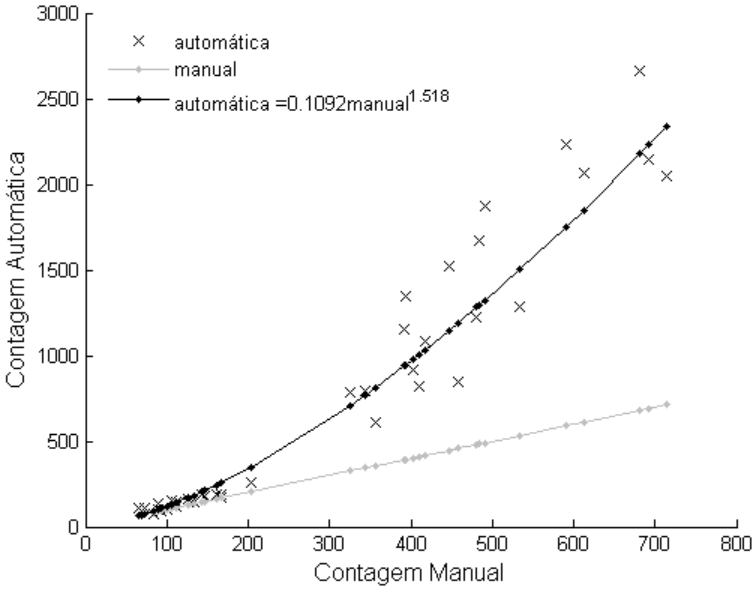

Figura 7. Comparação inicial entre contagem automática (preto) e manual (cinza). O erro da contagem automática cresce exponencialmente com o número de formigas.

Para tornar a contagem automática um pouco mais semelhante à contagem manual, a estratégia utilizada foi a de eliminar todos os dados cuja projeção horizontal da distância entre o ponto final da trajetória e o limite (direito ou esquerdo) da área de gravação mais próximo fosse 2,5 vezes maior do que o comprimento da formiga em questão. Exceto para as trajetórias encerradas no último quadro do vídeo. Estas corresponderiam na contagem manual às formigas contadas presentes no último quadro. Em função dessa exceção, mesmo após esta etapa de seleção por distância em relação à borda, ainda restaram

trajetórias que se encerram a grandes distâncias das bordas laterais (figura 9).

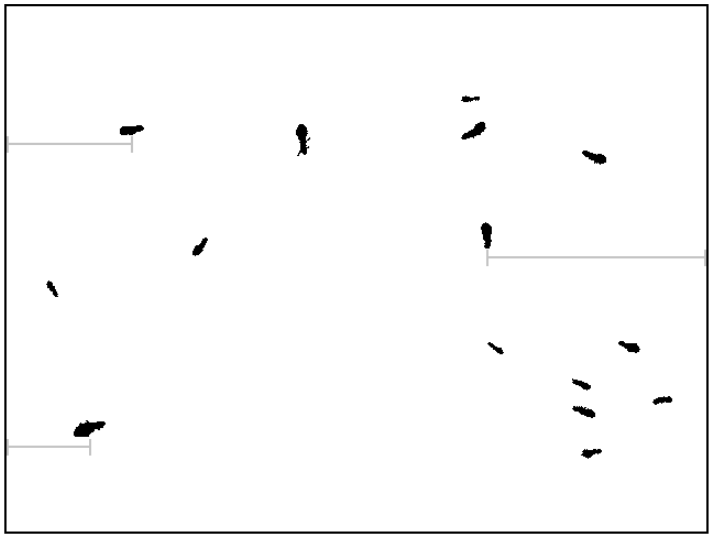

Figura 8. Imagem binária de um quadro, representando algumas formigas e suas respectivas distâncias horizontais até a borda lateral mais próxima.

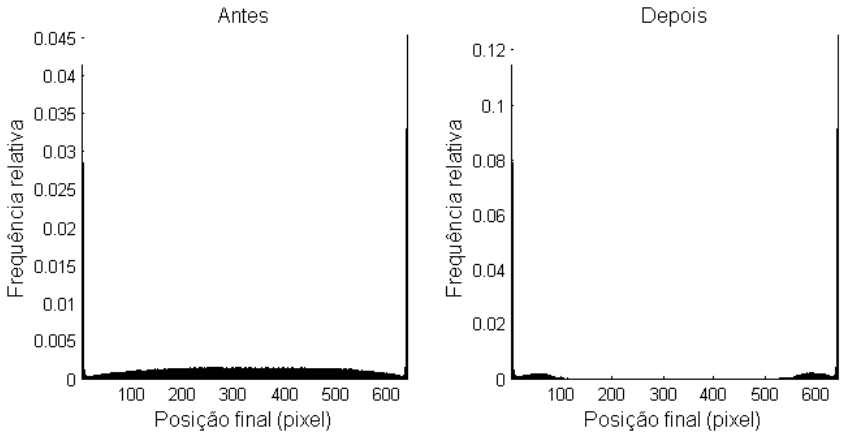

Figura 9. Histogramas de posição horizontal dos pontos finais das trajetórias selecionadas antes e depois da seleção. Vale notar que mesmo depois da seleção ainda há trajetórias que se encerram em posições bastante médias da área de gravação, que tem horizontalmente 640 pixels. Estas remanescentes são referentes às trajetórias que se encerram no último quadro de seus respectivos vídeos.

Após essa etapa de eliminação de dados, os 217526 dados de contagem automática passam a ficar mais semelhantes aos dados de contagem manual, e consequentemente mais verossímeis. Diante dos resultados observados é razoável imaginar que as interações entre formigas parecem ter sido principal fonte de erros de contagem uma vez que o número de interações aumenta de forma não linear com o aumento no número de formigas, assim como o erro de contagem observado.

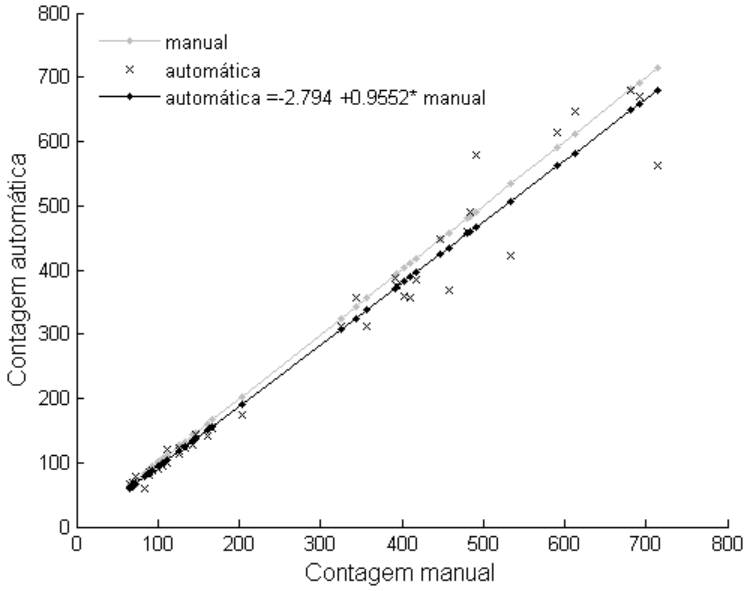

Figura 10. Comparação final entre contagens automática (preto) e manual (cinza). Apesar da leve tendência de sub estimativa conforme o aumento no número de formigas, os erros não crescem de forma exponencial.

Ainda após essas etapas a contagem automática difere levemente da manual, no entanto, tendendo a apresentar uma leve sub estimativa e um pequeno aumento do erro conforme o aumento do número de formigas. No entanto, essa imprecisão é comparativamente muito menor que a observada anteriormente. Os dados resultantes são suficientemente acurados. Como se poderá observar ao longo do trabalho, os vídeos foram analisados todos sequencialmente, e as variações nas contagens entre vídeos adjacentes é de magnitude razoável e suave. Além disso, ainda quanto a discrepância entre os métodos, não foi observado se a contagem manual apresenta alguma tendência consistente de sobre ou sub estimar a contagem conforme o aumento no número de formigas, portanto não se pode conhecer precisamente se as diferenças entre os métodos são em função da sub

estimativa de um método ou da super estimativa de outro. Em conclusão, para os devidos fins deste trabalho, que não são propriamente de validação, a semelhança obtida entre os resultados dos dois métodos, após as etapas descritas, é suficiente para justificar a utilização do método de contagem pela análise computacional dos vídeos.

4.2 Caracterização geral dos padrões

Com os dados resultantes das etapas anteriores foi possível construir um histograma com as contagens de cada vídeo ao longo dos dias, para cada dia de experimento (figura 11). Pode-se observar um padrão bastante marcado do aumento do número de formigas contadas durante a fase escura em relação a fase clara do dia (binomial, proporção estimada de formigas contadas na fase escura foi 0,7896, intervalo de confiança: 0,7867 à 0,7924, α = 0,01). A fase escura tinha início às 19:20 e terminava às 06:00 do dia seguinte, logo, a fase clara durava das 06:00 às 19:20 de um mesmo dia. Aparentemente há uma certa variação diária, mais notável pelo baixo número de formigas contadas na segunda noite em relação às demais noites de experimento.

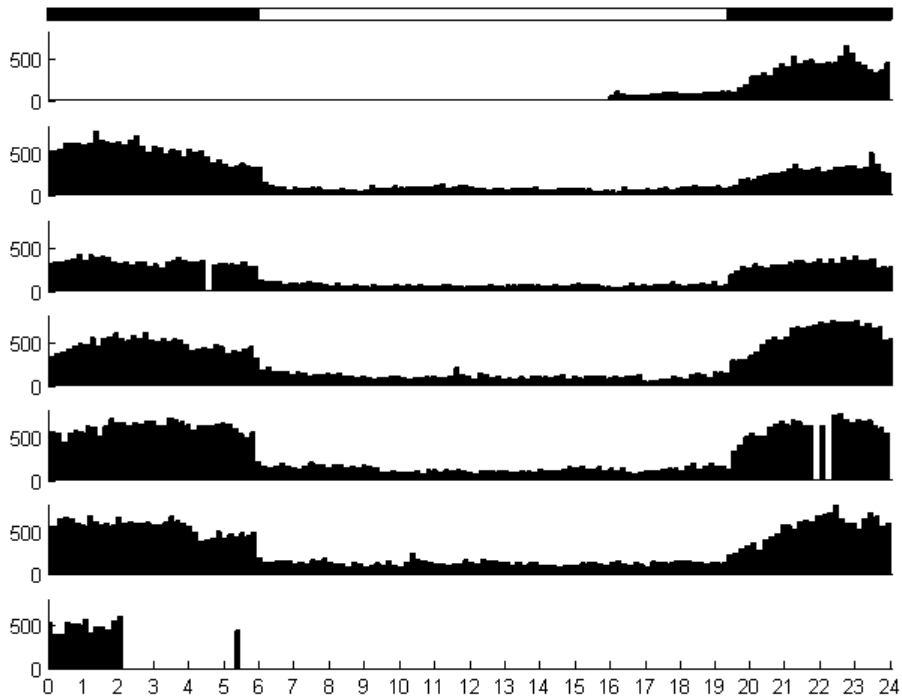

Figura 11. Histogramas de contagens de formigas para cada dia. Cada barra representa um vídeo e a sua altura o número de formigas contadas. As barras estão posicionadas segundo o momento em que a gravação do respectivo vídeo foi realizada.

É possível observar também a variação do tamanho médio das formigas observadas em cada vídeo (figura 12). Pode-se notar uma maior variação do tamanho médio durante as fases claras, especialmente nos primeiros dias de experimento, e que praticamente deixa de existir com o avançar dos dias.

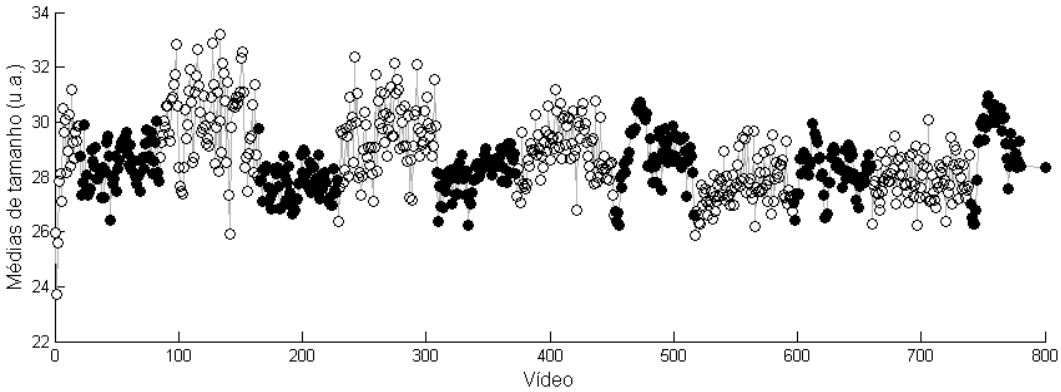

Figura 12. Série de médias de tamanho das formigas a cada vídeo. Os círculos brancos representam os vídeos gravados durante a fase clara, e os pretos durante a fase escura.

A variação média de tamanho ao longo de um dia também pode ser observada. Na figura abaixo se observa que a amplitude dos intervalos interquartis das distribuições de tamanhos observados durante as horas da fase clara também é maior do que durante a fase escura. Este efeito é semelhante àquele presente na figura anterior, em que a variação do tamanho médio é maior durante a fase clara. Em suma, parece haver alguns efeitos importantes, que merecem melhor investigação: a relação entre a fase (clara ou escura) em termos de número e tamanho das formigas observadas, e a variação do tamanho médio das formigas ao longo do experimento.

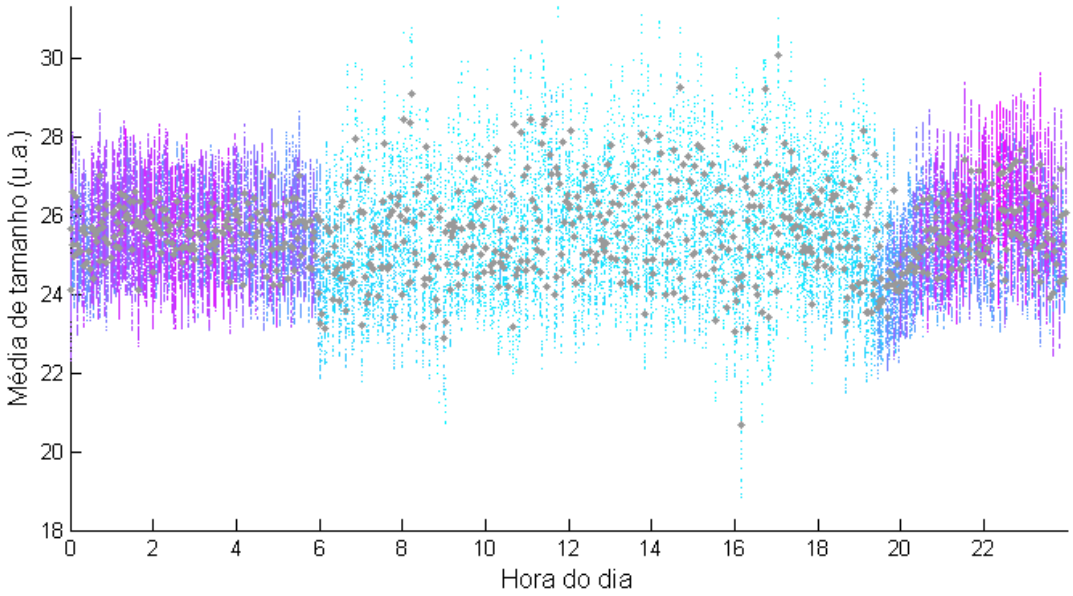

Figura 13. Médias (pontos cinzas) e observações dentro dos intervalos interquartis de cada vídeo e hora do dia em que os vídeos foram gravados. A escala de cor representa a contagem do número de formigas, e vai do azul claro (valores mais baixos) ao rosa intenso (valores altos). As médias variam mais e os intervalos interquartis são maiores nos momentos de baixo número de formigas, durante a fase clara.

4.2.1 Distribuições temporais e tamanho

Conforme descrito na seção de materiais e métodos, para que se pudesse identificar se há classes de tamanhos de formiga que apresentem distribuições temporais diferentes, a abordagem adotada foi a de dividir as formigas em 60 classes de tamanho, obter as distribuições temporais de cada classe, compará-las, e agrupá-las segundo suas semelhanças.

As distribuições temporais das 60 classes de tamanho podem ser observadas abaixo (figura 14). As classes não fazem nenhum sentido do ponto de vista biológico, e servem ao propósito de se obter e comparar as suas distribuições temporais. A distribuição temporal de uma dada classe de tamanho consiste da frequência com que aquele tamanho de formiga foi coletado a cada hora do dia. Ao invés de ser representada utilizando-se 24 barras, foram representadas utilizando-se 24 posições numa linha, com intensidades de cor num gradiente do azul claro ao rosa.

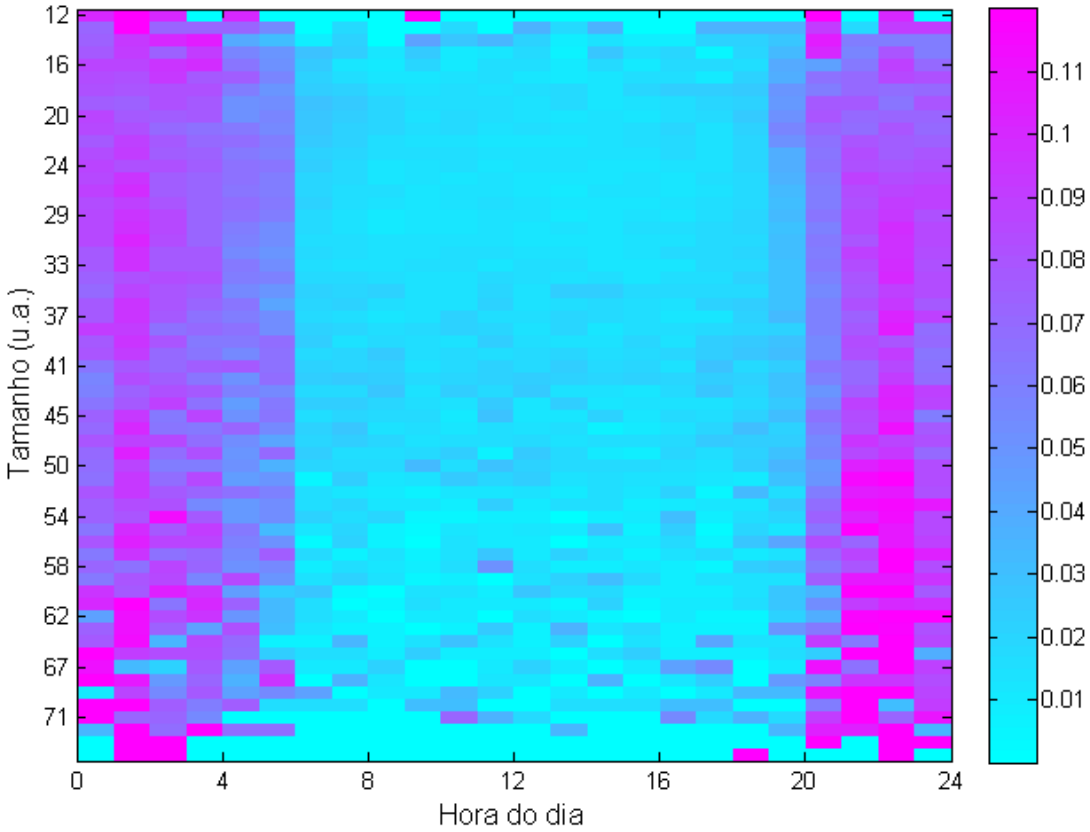

Figura 14. Distribuições temporais das 60 classes de tamanho. Cada linha (ordenada) apresenta uma série horizontal de valores relativos à frequência com que formigas daquela classe de tamanho foram observadas a cada hora do dia (colunas). Os valores são representados num gradiente de cor que vai do azul claro ao rosa intenso. As frequências observadas se referem à todos os dias de experimento.

Comparando-se as 60 classes, duas a duas, obteve-se a matriz simétrica de distância de Bhattacharyya entre as classes. Observando-se a matriz pode-se notar a presença de dois padrões, divididos pela classe de tamanho de valor 50.

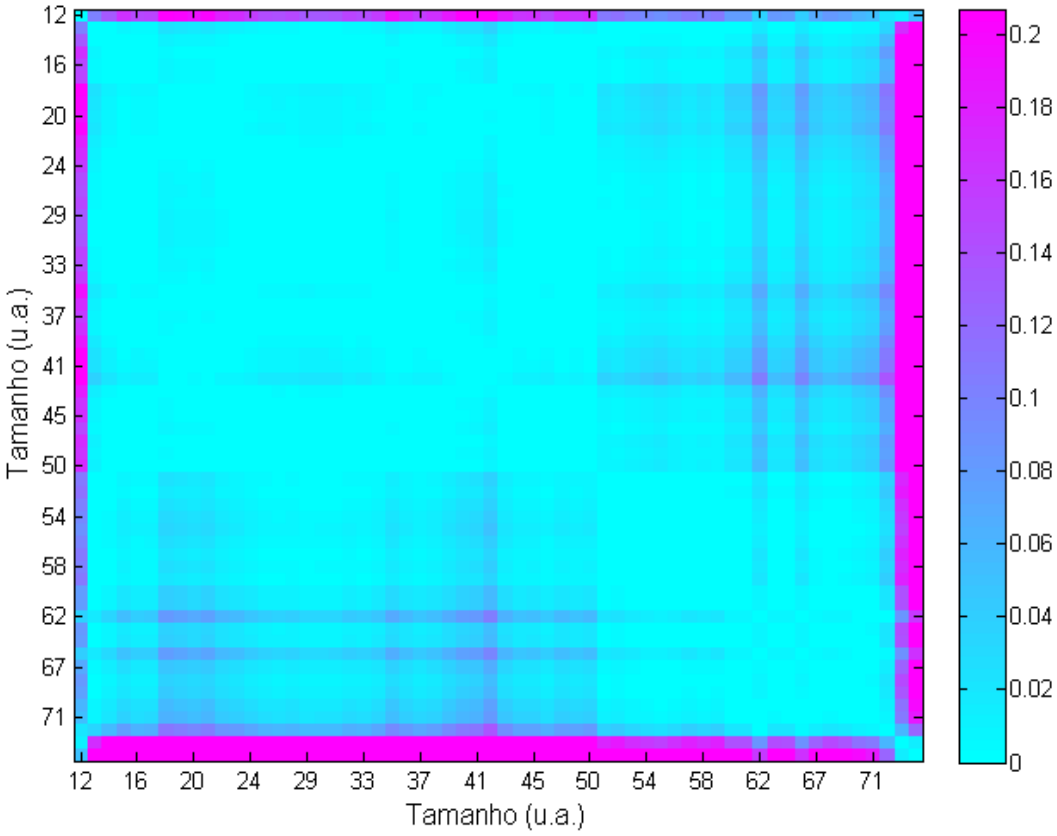

Figura 15. Mapa de cores representando os valores de distância entre as distribuições temporais de cada par de classes de tamanho. Como as distâncias são as mesmas contanto que os elementos do par sejam os mesmos, não importando a ordem , a matriz é simétrica, e possui diagonal com valor zero.

A partir das distâncias, é possível gerar um dendrograma que progressivamente reagrupe todas as classes, de forma que classes mais próximas entre si estejam agrupadas em nós mais terminais, enquanto classes mais distantes entre si são agrupadas por nós mais basais. Ao final da construção do dendrograma, cortou-se o mesmo num dado ponto em que o número de grupos distintos ('clusters') era 3. Dessa forma as 60 classes de tamanho foram reagrupadas em 3 grupos de acordo com o tipo de distribuição temporal, não se levando em consideração o tamanho das formigas *per se*. E o que se obteve foram grupos de distribuições temporais distintas que remontam classes de tamanho de formiga. Originalmente, o objetivo era obter 2 grupos de distribuições temporais, no entanto, as classes de formigas muito grandes ou muito pequenas (representadas em preto na figura 17) possuem distribuições temporais muito discrepantes de todo o resto, e por serem dados dos extremos de tamanho, talvez possam representar erros de medição que ocorrem sem

um padrão temporal. Sendo assim, resolveu-se pela obtenção de três grupos, dos quais dois são considerados relevantes (representados em branco e cinza).

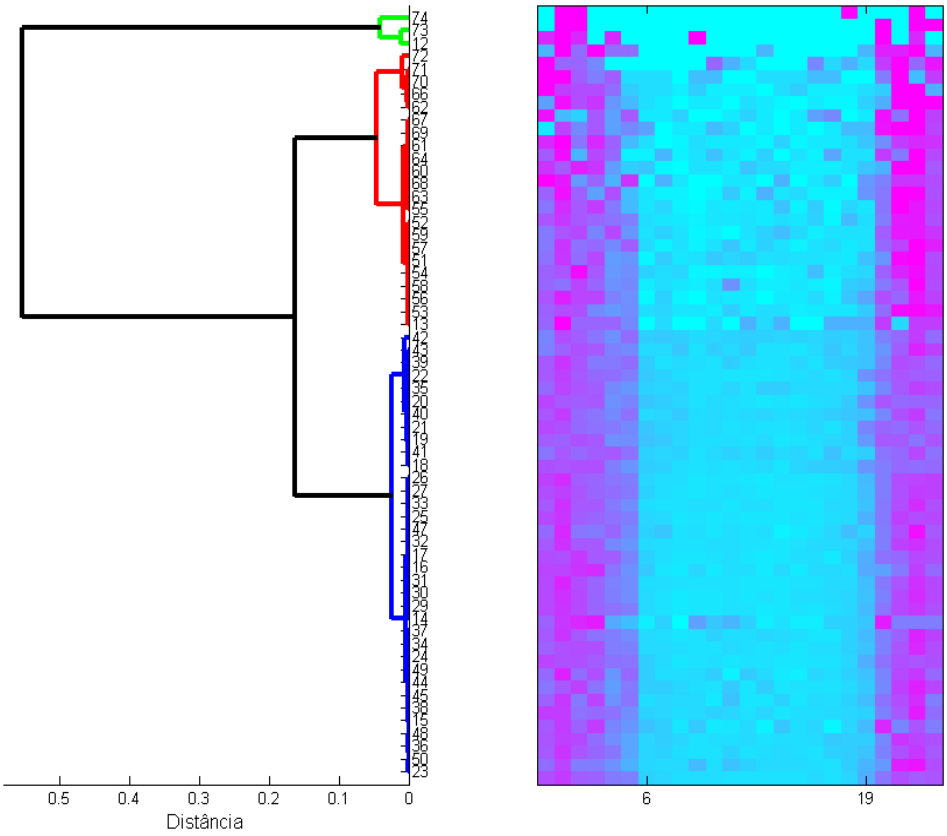

Figura 16. Dendrograma e mapa de cores reordenado por semelhança entre as distribuições temporais dos tamanhos correspondentes. O dendrograma completo mostra a identificação dos três 'clusters', e o mapa de cores reordenado mostra o agrupamento dos dados conforme obtido pela clusterização hierárquica, facilitando a visualização dos padrões.

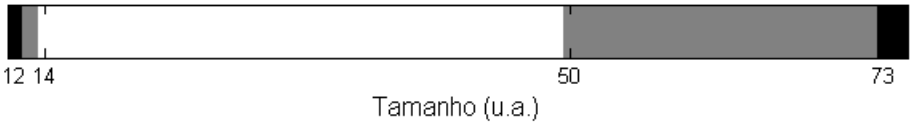

Figura 17.Os 'clusters' resultantes são praticamente contínuos quanto ao tamanho das formigas que os compõem. As classes pertencentes ao grupo de formigas menores estão representadas em branco. As classes de formigas pertencentes ao grupo das maiores estão representadas em cinza.

Ao final dessas etapas, obtiveram-se dois grupos de distribuições temporais. As distribuições temporais desses dois são significativamente diferentes (Kolmogorov-Smirnov, K = 0,0606, p = 7,4365e-17). Ambas são diferentes da distribuição temporal uniforme (Kolmogorov-Smirnov, menores: K = 0,9583, p < 1e-17; maiores: K = 0,9583, p < 1e-17). Além disso, são grupos compostos por formigas de tamanhos absolutamente diferentes (não há sobreposição). Em conclusão, foi possível achar duas classes de formigas de tamanhos diferentes única e exclusivamente em função delas apresentarem distribuições temporais diferentes.

O grupo de formigas maiores é muito menos numeroso do que o grupo de formigas menores. E uma vez que um grupo é muito menos provável de se observar que outro grupo, cabe a pergunta de quanto das diferenças nas distribuições temporais ocorrem exclusivamente como consequência do fato de que o grupo menos frequente aparece menos vezes. No entanto, simulando-se para os dados do experimento a divisão em três grupos aleatórios com as mesmas proporções dos grupos obtidos pela 'clusterização', e calculando-se o valor do teste de Kolmogorov-Smirnov para a comparação entre os dois grupos mais frequentes a cada simulação, foi possível observar uma distribuição para os valores do teste e constatar que os grupos obtidos pela análise de 'cluster' são de fato muito particulares em relação a diferença entre suas distribuições temporais. Para se obter a distribuição observada abaixo, a divisão dos dados em grupos foi simulada 10000 vezes. O procedimento descrito não resolve o problema de um grupo ser muito menos numeroso que o outro, no entanto, avalia se exclusivamente a diferença numérica entre dois grupos seria suficiente para obter resultados como os obtidos pelo experimento.

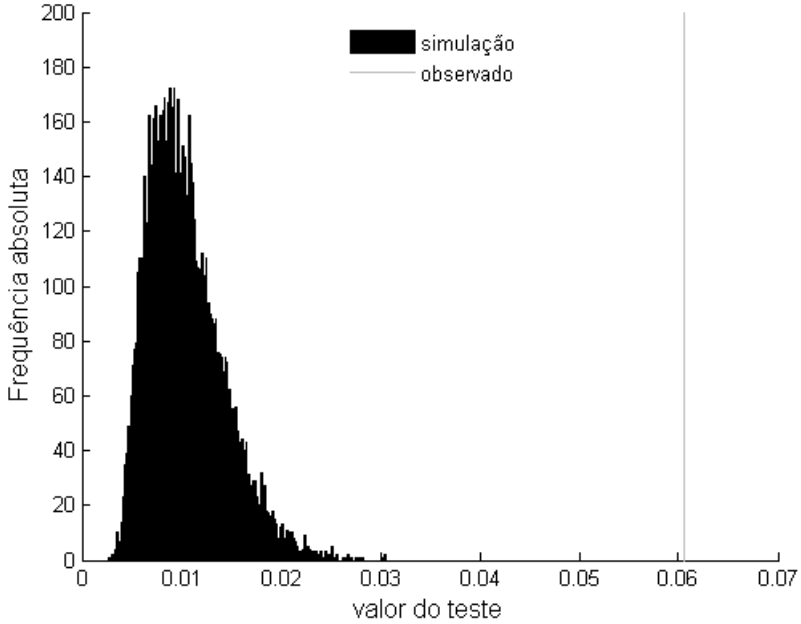

Figura 18. Contraste entre a diferença observada empiricamente e distribuição de diferenças obtida pela simulação da divisão dos dados obtidos no experimento em grupos numericamente semelhantes aos observados.

4.2.2 Distribuições temporais de atividade dos grupos ao longo do experimento

Uma forma de se observar a diferença entre os dois grupos (menores e maiores) ao longo da série de vídeos do experimento é através dos histogramas de cada grupo (figuras 18 e19). Pode-se notar que a diferença no padrão de atividade entre os dois grupos parece ser diferente ao longo dos dias, sendo mais pronunciada no início e menos evidente ao final. A isso está diretamente relacionado o fato das distribuições temporais em 24h observadas anteriormente serem bastante próximas, uma vez que foram obtidas utilizando-se dados de todos os dias juntos. A distinção entre os grupos parece ter sido possível apesar do fato das diferenças nas distribuições temporais serem menos evidente ao longo dos dias.

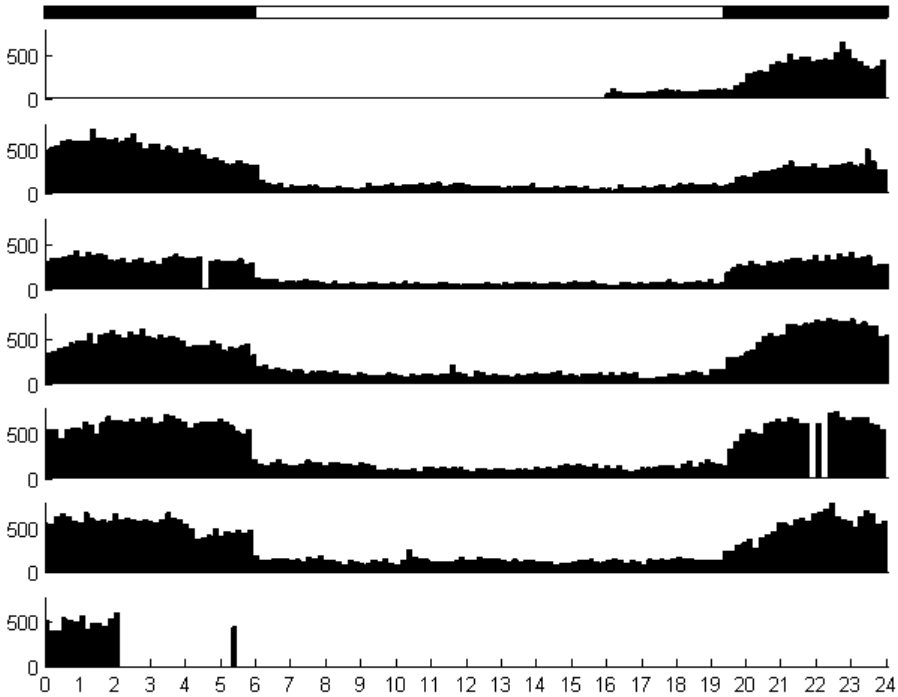

Figura 19. Histogramas de cada dia de experimento com as contagens do número de formigas do grupo de formigas menores, a cada vídeo do experimento, sequencialmente.

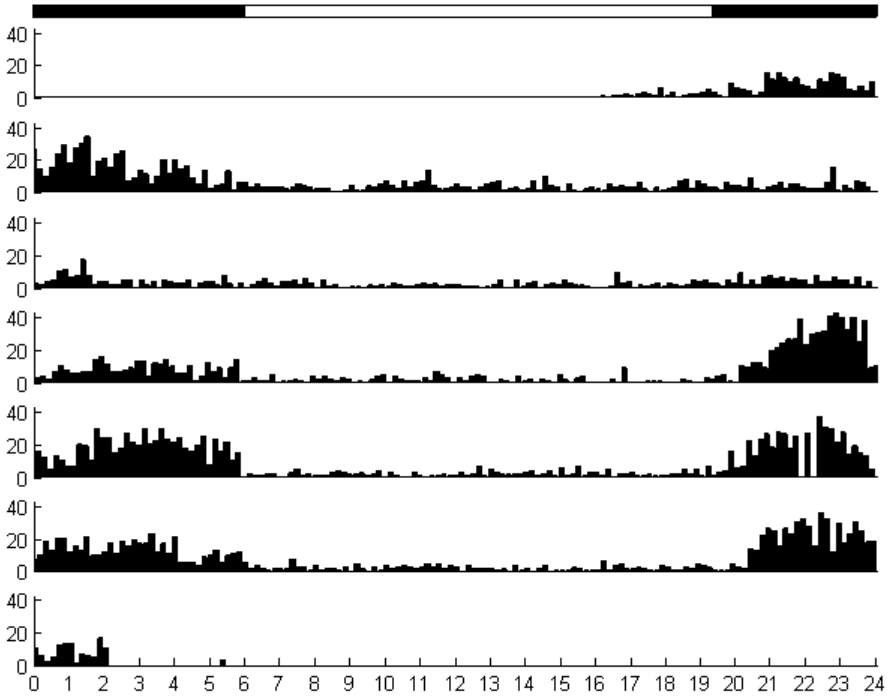

Figura 20. Histogramas de cada dia de experimento com as contagens do número de formigas do grupo de formigas maiores. Nota-se que os valores de contagens obtidos para esse grupo são muito inferiores aos obtidos para o grupo anterior. É importante notar que o padrão relativo a fase do dia nem sempre é tão intenso quanto no outro grupo.

Como a classe de formigas menores é muito mais numerosa em termos de observações do que a classe de formigas maiores, o seu histograma é muito parecido com o histograma global (figura 11). Sendo assim, do ponto de vista das contagens do número de formigas, o valor total é muito próximo do número de formigas menores. Ou seja, a contagem total é em grande parte dada em função da contagem da classe de formigas menores. Portanto, o número total de formigas não é a melhor característica global da trilha para se observar de que forma a distinção entre os grupos caracteriza a trilha de forrageamento.

Já a série de médias de tamanho das formigas nos vídeos mostra uma característica da trilha de forrageamento que é mais sensível ao comportamento distinto dos dois grupos. As diferenças entre os histogramas das duas classes tem uma relação com a variação das médias. Observa-se que as médias de tamanho também variam mais no início do experimento, e passam a variar menos com o passar do tempo.

No entanto, antes de se levar em conta a existência dos grupos de formigas de tamanhos e distribuições temporais diferentes, é necessário entender como os fatores experimentais – dia, hora do dia, fase – e a contagem global se relacionam com a série de médias. Afinal, esses fatores são biologicamente relevantes. A fase é muito relevante sobre a atividade, o dia de experimento é uma medida temporal da exposição ao regime experimental, a hora do dia representa uma medida temporal da fase, e contagem global é uma medida de atividade.

Até a metade do experimento, as fases claras apresentam médias de tamanho aparentemente maiores do que as da fase escura. Como ao longo dos dias esse efeito parece ser atenuado, tanto por uma tendência de aumento do tamanho médio na fase escura quanto por uma tendência contrária na fase clara, cabe propor a existência de interação entre fase e dia. Além disso, como a variação das médias é, de forma geral, razoavelmente suave, e a sucessão das horas do dia leva à sucessão de fases, a hora do dia também é um efeito a ser levado em consideração. Todos esses fatores citados acima apresentam, em algum grau, uma relação com a variação das médias de tamanho, no entanto, essas relações são complementares e apresentam interações. Sendo assim, para avaliar essas relações foi realizada uma regressão linear múltipla.

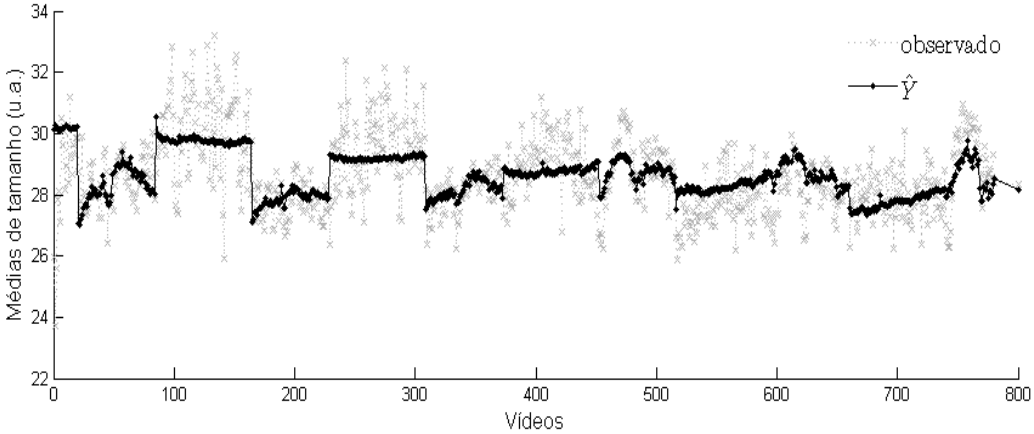

Figura 21. Modelo de regressão linear múltipla com variáveis preditoras experimentais e contagens observadas (R^2 = 0,3037, F = 47,9794, $p < 0,05$).

$$y_i = \beta_1 x_{i1} + \beta_2 x_{i2} + \beta_3 x_{i3} + \beta_1 \beta_2 x_{i4} + \beta_1 \beta_3 x_{i5} + \beta_2 \beta_3 x_{i6} + \beta_1 \beta_2 \beta_3 x_{i7} + \beta_4 x_{i8}$$

modelo 1. regressão linear múltipla. Parâmetros beta em ordem: intercepto, dia, hora, fase, e contagem, (valores seguindo a ordem da fórmula com as interações: 27.2131, -0.1070, 3.1453, -0.0249, -0.6492, 0.0103, 0.0070, 0.0030).

No entanto, sob a interpretação de que há dois grupos de tamanhos de formigas com distribuições temporais diferentes, pode-se também avaliar como o padrão temporal de atividade desses grupos representa a variação das médias ao longo do experimento. Com esse fim, utilizaram-se os histogramas com as contagens de cada grupo a cada vídeo como variáveis preditoras numa regressão múltipla da média de tamanho.

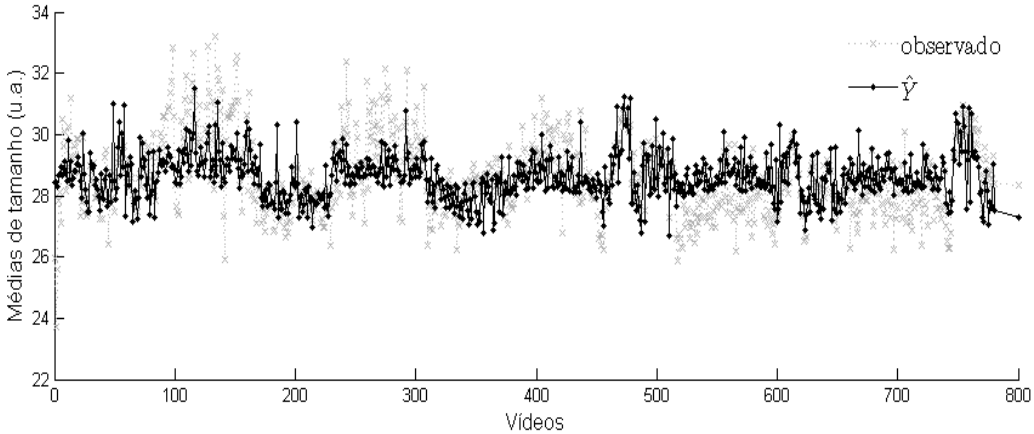

Figura 22. Modelo de regressão linear múltipla utilizando as distribuições dos grupos como variáveis preditoras das médias de tamanho observadas (R^2 = 0,3562, F = 142,7369, $p < 0,05$).

$$y_i = \beta_1 x_{i1} + \beta_2 x_{i2} + \beta_1 \beta_2 x_{i3}$$

modelo 2: regressão linear usando os histogramas dos grupos. Parâmetros beta em ordem: intercepto, frequência relativa das menores, frequência relativa das maiores, (valores seguindo a ordem da fórmula com as interações: 28.6886, -1010.1530, 1478.0469, -235603.852548).

Os dois modelos foram comparados segundo o método de seleção de modelos dado pelo critério de informação de Akaike (modelo 1: AIC = 102.9927; modelo 2: AIC = 34.0277), o modelo cujas variáveis preditoras são as contagens dos grupos de tamanho é selecionado

(valor mínimo de *AIC*) em detrimento do modelo com variáveis experimentais como preditoras. Ou seja, o comportamento das classes é muito informativo e fornece uma explicação bastante razoável para o comportamento observado na trilha de forrageamento.

O objetivo não é chegar ao melhor modelo descritivo da variação da série de médias de tamanho observada, mas tentar compreender de que forma a presença de grupos compostos por formigas de tamanhos diferentes, e que apresentam padrões temporais diferentes de atividade influem nas características globais da trilha de forrageamento. Uma vez que os grupos foram identificados, a forma proposta de como compreender a o efeito da diferença de atividade dos grupos no comportamento global trilha é através da variação do tamanho médio das formigas presentes na trilha.

Uma forma de sintetizar a diferença entre o padrão temporal de atividade das duas classes é através da correlação temporal entre as os histogramas de contagem dos dois grupos. Para tal, foi estabelecida uma janela temporal móvel de um dia (144 vídeos em sequência), que a cada movimento excluí o dado mais antigo e incorpora o próximo, e calcula um novo valor de correlação de Pearson. Ao final, obteve-se 644 valores sequenciais de correlação (788 vídeo no total, menos 144 da janela, pois quando ela incorpora o último vídeo ela para de se movimentar).

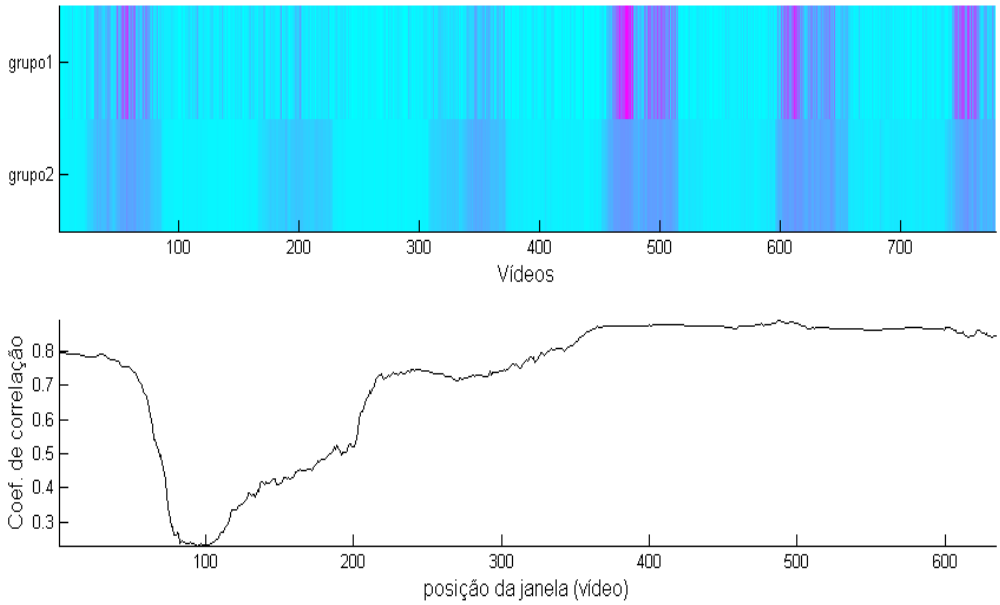

Figura 23. A primeira figura apresenta as distribuições de contagens dos dois grupos, para toda a sequência de vídeos. O mapa de cores utilizado mostra os valores baixos de frequência em azul claro, e os altos em rosa intenso. A segunda figura apresenta a correlação temporal das distribuições dos dois grupos. A série mostra a sequência de coeficientes de correlação das distribuições dos dois grupos a cada posição inicial da janela de 144 vídeos (o que corresponde a um dia).

A série de correlação temporal fornece uma medida de quão semelhante ao longo do tempo é a atividade dos dois grupos. Inicialmente, talvez num período de resposta ao início do experimento, há uma grande atividade para os dois grupos, e depois os padrões passam a diferir muito de forma muito rápida. Após esse momento de baixa correlação, ela passa a aumentar progressivamente, até fixar-se em um patamar bastante elevado. Este patamar é atingido no exato momento em que as médias passam a variar muito pouco (figura 12), e de forma mais homogênea ao longo do tempo restante de experimento. Quando, na primeira metade do experimento, as médias apresentam uma amplitude maior de variação, a correlação temporal da atividade é bastante baixa. A variação das médias das distribuições de tamanho a cada vídeo é bastante sensível à correlação temporal de atividade dos grupos.

4.3 Dinâmica de atividade durante as fases clara e escura

Conforme anteriormente observado foi possível observar um padrão bastante nítido

de maior atividade durante a noite. No entanto, ao longo de cada fase, o nível de atividade não se mantém constante (Kolmogorov Smirnov, clara: K = 0,0714, p = 6,5530e-278, escura: K = 0,1269, p < 10e-17). Pôde ser observada uma variação interna dentro de cada fase. Durante a fase clara os níveis de atividade tendem a ser maiores quando nas proximidades da fase escura. Inversamente, durante a fase escura os níveis de atividade parecem ser menos elevados quanto mais próximos à fase clara. Dessa forma, apesar do padrão relativo às fases ser muito notável, a transição entre uma fase e outra é suavizada por um padrão antecipatório.

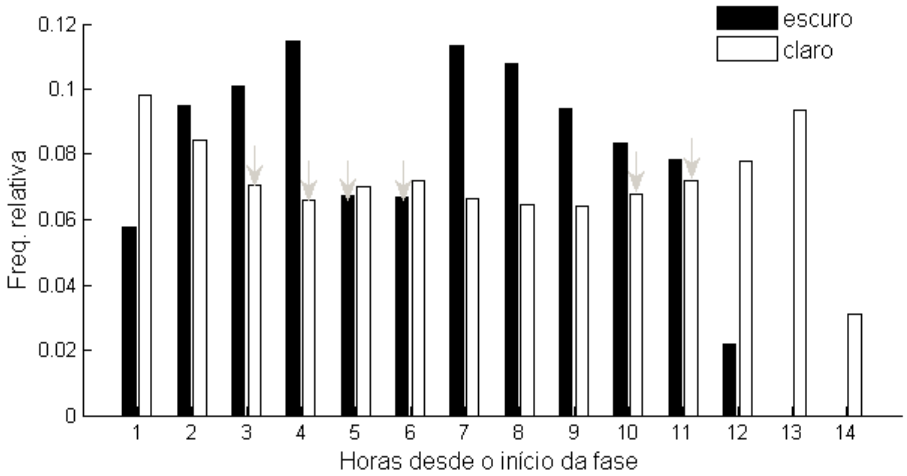

Figura 24. Distribuições de contagens a partir do início de cada fase. As setas cinzas indicam os horários em que ocorreram eventos de colocação de folhas frescas na bandeja de forrageamento.

É possível observar também uma variação, em ambas as fases, relacionada aos eventos de disponibilização de alimento. Enquanto na fase clara ela está relacionada a um aumento da atividade na trilha, na fase escura está atrelada a uma diminuição. Isso ocorre porque provavelmente há duas consequências da disponibilização de folhas frescas. Primeiramente deve ocorrer um recrutamento mais intenso, e posteriormente, um maior tempo de permanência das formigas na área de forrageamento. Durante a fase clara, como a atividade é pouco intensa, pode-se observar um aumento atrelado ao recrutamento, posterior à colocação. Já na fase escura, o nível de atividade já é muito alto, de forma que o número de formigas adicionais em função do recrutamento exclusivamente em função das folhas frescas seja menos influente sobre a atividade na trilha do que a segunda

consequência. Como as formigas ficam tendem a ficar mais tempo na bandeja de forrageamento após a colocação das folhas, e isso se dá em decorrência da atividade de corte, um número muito grande de formigas forrageadoras passa a ficar mais tempo na bandeja, de forma que o número de formigas na trilha seja reduzido.

5 DISCUSSÃO

Através dos ajustes para o método de contagem utilizando as gravações em vídeo foi possível caracterizar de forma bastante acurada a atividade de forrageamento da colônia ao longo dos dias de experimento. A atividade na trilha de forrageamento foi notavelmente mais intensa na fase escura dos dias do que na fase clara. Além disso, em cada uma dessas fases a atividade não é temporalmente uniforme, apresentado níveis de atividades intermediários nas proximidades das transições entre as fases, permitindo a sugestão de que haja uma antecipação da transição das condições de iluminação. Foi observado que formigas de tamanhos diferentes podem apresentar padrões diferentes de atividade ao longo do dia. Através do método de agrupamento hierárquico aplicado, foi possível distinguir dois grupos de formigas de tamanhos categoricamente diferentes – sem sobreposição- com base exclusivamente no perfil de distribuição temporal da atividade diária das formigas na trilha. Além disso, observou-se que a diferença temporal entre a atividade dos grupos leva, consistentemente, às consequências globais de variação do tamanho médio das formigas presentes nas trilha de forrageamento.

Em relação à atividade das formigas na trilha, o fator predominante foi a luminosidade (figura 11), enquanto a colocação de folhas frescas na fase clara ou na fase escura não alterou o padrão de atividade (figura 24), dado marcadamente pela fase (clara ou escura). Observações de colônias de *Atta cephalotes* realizadas na natureza nem sempre concordaram quanto a determinação de um horário de pico de forrageamento. Enquanto observações mais antigas relataram atividade predominantemente diurna - por exemplo, (HODGSON, 1955)observações mais recentes e mais cuidadosas apontaram atividade de forrageamento predominantemente noturna - por exemplo, (CHERRETT, 1968) - ou ainda, a transição de um pico de atividade que num prazo longo de tempo (3 meses), muda de um horário noturno para um diurno (LEWIS *et al.*, 1974). Apesar do nosso experimento ter sido realizado com *Atta sexdens*, que não dispõe de observações de padrões temporais de atividade, os nossos resultados apontam para a ocorrência do pico de atividade na fase escura, se aproximando do perfil encontrado por Cherrett (1968), também em *Atta sexdens.*

A atividade em cada uma das fases não é temporalmente uniforme. Conforme foi observado nos resultados (figura 24), a distribuição da atividade ao longo das horas da fase escura é convexa - diminui nas proximidades das transições da fase - enquanto a distribuição da fase clara é côncava – aumenta nas proximidades das transições de fase. Isso sugere dois aspectos do comportamento das formigas em função da condição de

iluminação. Primeiramente, sugere a antecipação da transição entre os níveis de atividade característicos de cada fase. Esse efeito de antecipação é interessante do ponto de vista biológico, pois, diferentemente da condição natural, no nosso experimento não houve crepúsculo. Dessa forma, o efeito antecipatório, que se caracteriza pela presença de um nível de atividade intermediário entre as duas fases, não é uma resposta à condição intermediária de luminosidade ambiental. Se pode especular que isso seja resultante do aprendizado de sutilezas presentes nas condições experimentais ou, talvez, que seja uma evidência de que haja alguma outra ritmicidade. Nesse sentido, considerando que também a temperatura e a umidade foram controladas, parece ser possível aventar que exista algum mecanismo como o apresentado em abelhas. No entanto, a existência de uma ritmicidade endógena não pode ser observada em um experimento como o realizado aqui, dependendo de estudos futuros sobre a questão. O segundo aspecto é que a presença ou ausência de luz desempenha um papel de sinalização do início ou fim de um processo e não simplesmente determine a atividade ou inatividade individual das operárias. Por exemplo, o início da fase escura do dia iniciaria um processo de recrutamento (e engajamento) mais intenso no início da noite. Ou seja, os indivíduos não necessariamente respondem prontamente ao estímulo luminoso *per se*, mas passam a integrar a trilha de forrageamento ou não em função de serem recrutados numa ou outra condição de iluminação. Assim, a presença ou ausência de luz seria o determinador de um contexto ambiental que modularia diferentemente o comportamento das formigas para um mesmo estímulo.

Em maior ou menor grau, algum efeito de antecipação do nível de atividade das fases clara ou escura é frequentemente encontrada nas observações de distribuição temporal das atividades observadas em formigas. Tanto nos casos de observação de ritmo de atividade em condições ambientais constantes de machos alados e forregeadoras em *Veromessor andrei* (MCCLUSKEY, ELWOOD, 1958), e em machos alados (embora em condições experimentais mais particulares), e forrageadoras em *Iridomyrmex humilis* (MCCLUSKEY, ES, 1963), a presença de ritmos endógenos é acompanhada por algum grau de antecipação. E também no caso das observações de forrageadoras em *Atta cephalotes* (LEWIS *et al.*, 1974), em que não foi determinado o ritmo endógeno das operárias. No caso da existência de um ritmo endógeno, é possível que haja alguma variação individual de parâmetros do ritmo de atividade e, portanto, que a antecipação seja reflexo da presença de vários indivíduos nas mesmas condições e não de um mecanismo cronobiológico em si. Contudo, independentemente desse efeito de antecipação ser ou não devido a mecanismos fisiológicos individuais, a presença de transientes entre os níveis de atividade de fases consecutivas e o fato do transiente ocorrer antes da transição das condições experimentais,

representa uma antecipação da intensidade com a qual a tarefa é realizada, atingida coletivamente pelas formigas da colônia que a executam, que não necessariamente corresponde à todos indivíduos anteciparem individualmente a transição da fase.

Apesar da grande discrepância entre a atividade diurna e noturna, com o presente experimento não se pode dizer que o padrão temporal de atividade que foi observado corresponda ao ritmo circadiano das operárias. O ritmo foi somente observado em uma condição experimental específica, enquanto para se caracterizar um ritmo circadiano seria necessário que se observasse a manutenção de um padrão rítmico de atividade em condição de livre curso (MOORE-EDE *et al.*, 1982). Isso poderia ser realizado, por exemplo, submetendo a colônia à condições ambientais constantes de luminosidade e temperatura. Nessas condições, o mecanismo responsável por gerar o padrão rítmico de atividade seria necessariamente endógeno. Como não é o caso, não se pode afirmar que o padrão observado neste experimento corresponda ao padrão circadiano endógeno das operárias. Ainda assim, pôde ser constatada a grande importância da fase do dia na determinação da atividade nas trilhas de forrageamento.

A partir do perfil de distribuição temporal da atividade diária das formigas na trilha foi possível reconhecer duas classes de perfis, que corresponderam às duas classes de tamanhos de formigas (figura 16). Dessa forma, conclui-se que formigas de tamanho diferente podem apresentar perfis diferentes de distribuição temporal da atividade na trilha. Contudo, embora a diferença entre as distribuições de atividade ao longo do dia entre os grupos de formigas maiores e menores seja grande o suficiente para ser distinguível, existem semelhanças muito nítidas. Assim como as formigas menores, as formigas maiores também tem o momento de maior atividade durante a fase escura (figura 20). Da mesma forma, a atividade dos dois grupos é menor durante a fase clara. Entretanto, é nítido o fato de que os picos de atividade das formigas maiores são muito mais estreitos (os valores de contagem mantém-se próximos ao seu valor máximo por menos tempo), enquanto a atividade das menores se mantém em níveis muito altos por bastante tempo (figura 19). Além disso, durante a fase clara, a distribuição do grupo das maiores apresenta variações proporcionalmente maiores, inclusive apresentando valores próximos ao da atividade na fase escura; já o grupo das menores parece ser mais uniforme durante a fase clara, apresentando valores de contagem muito mais baixos se comparados aos apresentados na fase escura.

Considerando que as formigas maiores estão envolvidas preferencialmente com as tarefas de patrulhamento, sendo comumente tratadas como soldados (WILSON, 1980), e

que o patrulhamento é uma tarefa cuja demanda temporal por execução é, em condições de laboratório em que não há conflitos, temporalmente uniforme (GORDON, 1983), se poderia esperar que a distribuição de forrageamento formigas maiores fosse uniformemente distribuída ao longo do dia. No entanto, não foi esse o padrão encontrado para as formigas maiores. Apesar de em alguns momentos elas não apresentarem pico de atividade na hora esperada, a distribuição temporal da atividade observada é bastante diferente da distribuição uniforme. Sendo assim, ou o patrulhamento não é temporalmente uniforme, como observado por Gordon (1983), ou as formigas maiores não desempenharam exclusivamente tarefa de patrulhamento das trilhas. Esta última possibilidade é bastante razoável, mesmo porque é possível observar a trilha e constatar a eventual presença de formigas aparentemente grandes participando do forrageamento. E vale notar que se for o caso da realização de ambas tarefas, existe ainda a possibilidade de que o pico de atividade das maiores corresponda exatamente ao momento em que elas forrageiam. E ainda, que na ausência desse pico, e de forrageamento por parte delas, elas desempenhem apenas o patrulhamento, de forma uniformemente distribuída ao longo do dia.

Para o grupo das menores, que são a grande maioria numérica das formigas observadas, o padrão temporal de atividade corresponde ao padrão geral encontrado de atividade muito intensa durante a fase escura e pouco intensa durante a fase clara (figuras 19 e 11, respectivamente). A variação dentro das fases deveu-se, nesse grupo, basicamente às antecipações das transições entre as fases, e do efeito de colocação de folhas frescas. A maior atividade durante a fase escura era esperada em função do forrageamento ser uma tarefa característica das formigas de tamanhos intermediários e um pouco menores (WILSON, 1983), e da observação cotidiana do forrageamento das colônias mantidas no laboratório, da observação durante vários outros experimentos realizados no laboratório e de observações de trilhas de saúvas na natureza.

Apesar das condições terem sido as mesmas ao longo de todo experimento, a diferença entre as distribuições temporais das duas classes variou ao longo do tempo (figura 23 superior). Ao se observar as distribuições de atividade ao longo de todo o experimento, se percebe que a diferença entre os dois grupos é mais evidente na primeira metade do experimento se tornando gradativamente menos evidente. A correlação temporal entre a atividade dos dois grupos reflete esse aspecto, e fornece uma medida quantitativa da variação da diferença ao longo do experimento, (figura 23 inferior). De forma complementar, a variação na série de médias de tamanho de formigas presentes nas trilhas ao longo do experimento também reflete a variação da diferença entre os dois grupos. Isso pode ser visto na análise de relação entre as distribuições de atividade dos grupos ao longo do

experimento e a série de médias de tamanho. Nessa análise, percebe-se que em momentos em que a correlação temporal entre os dois grupos é menor, a variação da média de tamanho é mais ampla (figura 23). Por exemplo, no segundo e terceiro dia, quando parece haver uma atividade global menor e o grupo das formigas maiores nem chega a apresentar um pico de atividade, mantendo-se quase inalterada, a correlação temporal é bastante baixa, e em contrapartida, a amplitude da variação das médias entre as fases de um mesmo dia é mais alta. Alternativamente, nos dois últimos dias, quando a correlação temporal entre a atividade dos grupos é alta, a variação das médias é menor, mesmo com ambos os grupos apresentando picos de atividade. Corroborando a relação entre esses dois aspectos, a análise segundo a presença de grupos de formigas com distribuições de atividade diferentes fornece um melhor modelo para a compreensão da variação das médias de tamanho na trilha de forrageamento do que as variáveis experimentais como dia, fase e hora. Uma clara consequência global da presença dos grupos de formigas com diferentes padrões temporais de atividade é a forma como ocorrem as variações de tamanho das formigas na trilha.

A presença dos grupos de formigas de tamanhos diferentes também possibilita a proposição de hipóteses de que mecanismos de divisão de tarefas possam ser responsáveis pelas diferenças temporais de atividade. No segundo e terceiro dia, quando parece haver uma atividade global menor (figura 11), o grupo das formigas maiores nem chega a apresentar um pico de atividade (figura 20). Além disso, o aumento da atividade das formigas maiores parece ser atrasado em comparação ao grupo das menores (figura 23). Mesmo na aproximação do final do experimento, quando a correlação temporal entre as atividades dos dois grupos se fixa em valores bastante elevados, o aumento da atividade das maiores ainda é temporalmente defasado em relação ao das menores. Isso é compatível com o efeito de pico de atividade mais estreito e talvez também corresponda à uma não antecipação da fase escura pelas formigas maiores. Seja como for, esses dois fatos sugerem que a atividade das maiores só aumenta após o aumento da atividade do grupo das formigas menores. Isso poderia corresponder a um valor mais elevado de limiar para o engajamento no forrageamento (BONABEAU 1996) das formigas maiores.

Diferentemente do que ocorria no terceiro dia, a partir do quarto dia, sempre há pico de atividade do grupo das formigas maiores durante a fase escura, assim como as formigas menores. Essa mudança entre o terceiro dia e o restante do experimento, em que passa a haver pico de atividade para ambos os grupos, pode refletir uma diminuição do limiar das maiores para o forrageamento (THERAULAZ *et al.*, 1998), mesmo porque segundo os autores, a realização de uma tarefa por um indivíduo levaria a uma diminuição do seu limiar, como uma forma de reforço positivo. Dessa forma, o aumento da correlação temporal entre

os dois grupos refletiria também o favorecimento do forrageamento em detrimento do patrulhamento pelas formigas maiores.

Quanto ao método computacional de contagem de formigas, pode-se constatar que apesar de ainda não ser capaz de gerenciar com máxima precisão as identidades dos objetos rastreados, é possível obter dados confiáveis de contagem e tamanho de formigas. Para tal, foi necessário a etapa de seleção dos dados, utilizando-se métodos que selecionem apenas aquelas trajetórias que apresentem as características utilizadas na contagem manual. Procedendo dessa forma, os dados obtidos por contagem automática foram bastante próximos dos dados obtidos por contagem manual. Além disso, a utilização de gravações e posterior análise de vídeo apresenta uma grande vantagem ao viabilizar desenhos experimentais e esforços amostrais impensáveis para a realização manual. Os equipamentos de qualidade suficiente já estão disponíveis como produtos comerciais, de utilização doméstica, e, portanto, de custo baixo. As tecnologias de análise ainda são limitantes para casos de elevado grau de dificuldade, como o de análise de trilhas de saúvas, mas brevemente atingirão um patamar de qualidade satisfatória, e provavelmente tendem a seguir a linha atual mais frequente de desenvolvimento de ferramentas de uso livre e código aberto.. O desenvolvimento e a aplicação destes modelos no controle de fluxo de formigas são importantes contribuições do presente trabalho, mesmo não sendo objetivo primordial da dissertação.

Não é o propósito do trabalho responder se o mecanismo responsável pelas diferenças entre as distribuições temporais das duas classes são ritmos endógenos de atividade entre as formigas de tamanhos diferentes ou se são mecanismos responsáveis pela divisão de trabalho, mas apontar os aspectos temporais da divisão de tarefas por formigas de tamanhos diferentes, e investigar as consequências globais dessas diferenças no funcionamento da trilha de forrageamento. Os conhecimentos acumulados no estudo de *Apis* certamente são inspiradores, mas a extensão da sobreposição destes dois modelos ainda está por ser descrita. Fica, assim, a expectativa de que mecanismos semelhantes, ou parecidos, sejam atuantes nos processos de divisão de tarefas em formigas.

6 CONCLUSÃO

O trabalho apresentado caracterizou de forma bastante precisa a distribuição temporal da atividade de forrageamento em formigas *Atta sexdens rubropilosa*, contribuindo significativamente com o conhecimento acerca do funcionamento das trilhas de forramento. Os dados foram obtidos em volume bastante grande com a utilização de uma metodologia inovadora e até então utilizada por poucos grupos de pesquisa de ponta na área. Através da caracterização temporal da atividade foi observado que a atividade de forrageamento é bastante mais intensa na fase escura do dia, particularmente ao escurecer. A intensidade da atividade não é constante ao longo de uma fase, apresentando transientes apesar da ausência de crepúsculo, que correspondem a antecipações de níveis de atividade da transição entre fases, se não necessariamente dos indivíduos, ao menos na atividade da colônia. Foi também observado que formigas operárias podem apresentar padrões temporais de atividade diferentes segundo os seus tamanhos. Nesse sentido, o presente trabalho contribui apontando o papel do polimorfismo na organização da trilha e no desempenho do forrageamento e de forma integrada, enfatizando o aspecto temporal da divisão de tarefas. Além disso, identificando as consequências globais das diferenças temporais de atividade entre os grupos de formigas de tamanhos distintos, estabelecendo uma relação entre a organização da colônia nos seus diferentes níveis. A interpretação dada sugere que mecanismos propostos na literatura referentes à divisão do trabalho, dada por respostas dependentes de estímulos que superem limiares específicos das subcastas polimórficas, apresentem consequências na organização temporal da atividade de forrageamento.

7 BIBLIOGRAFIA

ABBOT, P.; ABE, J.; ALCOCK, J. *et al.* Inclusive fitness theory and eusociality. **Nature**, v. 471, n. 7339, p. E1-4; author reply E9-10, 24 mar 2011.

AUDREY, D.; DENEUBOURG, J.-L.; BESHERS, SAMUEL; FOURCASSIÉ, VINCENT. Individual and collective problem-solving in a foraging context in the leaf-cutting ant Atta colombica. **Animal cognition**, v. 12, n. 1, p. 21-30, jan 2009.

BESHERS, S. N.; FEWELL, J. H. Models of division of labor in social insects. **Annual review of entomology**, v. 46, p. 413-40, jan 2001.

BLOCH, GUY; ROBINSON, GENE E. Chronobiology: Reversal of honeybee behavioural rhythms. **Nature**, v. 410, n. 6832, p. 1048-1048, set 2001.

BONABEAU, E.; THERAULAZ, G.; DEBEUBOURG, J. L.; ARON, S.; CAMAZINE, S. Self-organization in social insects. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 12, n. 5, p. 188-193, 1997.

BONABEAU, ERIC. Quantitative study of the fixed threshold model for the regulation of division of labour in insect societies. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 263, n. 1376, p. 1565-1569, 1996.

BONNET, C. Observations sur de petites Fourmis qui s' etoient établies dans la tête d'un chardon à bonnetier. **Oeuvres d'Histoire Naturelle et de Philosophie Neuchatel I**. [S.l: s.n.], 1779. p. 523.

BOURKE, A. F. G.; FRANKS, N. R. **Social evolution in ants**. [S.l.]: Princeton University Press, 1995.

BRADSKI, G. The OpenCV Library. **Dr Dobbs Journal of Software Tools**, v. 25, n. 11, p. 120-126, 2000.

CHERRETT, J. M. The foraging behaviour of atta cephalotes l . **Journal of Animal Ecology**, v. 37, n. 2, p. 387-403, 1968.

CLARK, E. Dynamic matching of forager size to resources in the continuously polymorphic leaf-cutter ant, Atta colombica (Hymenoptera, Formicidae). **Ecological Entomology**, v. 31, n. 6, p. 629-635, dez 2006.

CZACZKES, T. J.; GRÜTER, C.; JONES, S. M.; RATNIEKS, F. L W. Synergy between social and private information increases foraging efficiency in ants. **Biology letters**, v. 7, n. 4, p. 521-4, 23 ago 2011.

DA-SILVA, A. C.; NAVAS, C. A.; RIBEIRO, P. L. Dealing with water deficit in Atta ant colonies: large ants scout for water while small ants transport it. **Biology Open**, v. 1, n. 9, p. 827-830, 13 jul 2012.

DARWIN, C. Objections To The Theory Of Natural Selection As Applied To Instincts: Neuter And Sterile Insects. **The Origin of Species by means of Natural Selection, 6th Edition by Charles Darwin**.

6th. ed. 1872.

DENEUBOURG, J. L.; CAMAZINE, S.; DETRAIN, C. Self-organization or individual complexity: a false dilemma or a true complementarity. **Information processing in social insects**. [S.l.]: Birkhäuser Verlag, Basel, 1999. p. 401-407.

DUSSUTOUR, A.; BESHERS, S; DENEUBOURG, J. L.; FOURCASSIÉ, V. Priority rules govern the organization of traffic on foraging trails under crowding conditions in the leaf-cutting ant Atta colombica. **The Journal of experimental biology**, v. 212, n. 4, p. 499-505, fev 2009.

EVISON, S. E. F.; HUGHES, W. O. H. Genetic caste polymorphism and the evolution of polyandry in Atta leaf-cutting ants. **Die Naturwissenschaften**, v. 98, n. 8, p. 643-649, ago 2011.

FJERDINGSTAD, E.; CROZIER, R. The evolution of worker caste diversity in social insects. **The American Naturalist**, v. 167, n. 3, p. 390-400, 2006.

FOREL, A. Ants and Some Other Insects. **The Monist**, v. 14, n. 2, p. 177-193, 1904.

GORDON, D. Daily rhythms in social activities of the harvester ant. Pogonomyrmex badius. **Psyche**, v. 90, n. 4, p. 413-424, 1983.

GORDON, D. The dynamics of the daily round of the harvester ant colony (Pogonomyrmex barbatus). **Animal Behaviour**, v. 34, p. 1402-1419, 1986.

GORDON, D. The organization of work in social insect colonies. **Complexity**, v. 8, n. 1, p. 43-46, 2002.

GORDON, D. The organization of work in social insect colonies. **Nature**, v. 380, n. 6570, p. 121-124, set 1996.

GRÜTER, C.; CZACZKES, T. J.; RATNIEKS, F. L. W. Decision making in ant foragers (Lasius niger) facing conflicting private and social information. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 65, n. 2, p. 141-148, 20 jul 2011.

HAMILTON, W. D. The genetical evolution of social behaviour. I. **Journal of theoretical biology**, v. 7, n. 1, p. 1-16, jul 1964a.

HAMILTON, W. D. The genetical evolution of social behaviour. II. **Journal of theoretical biology**, v. 7, n. 1, p. 17-52, jul 1964b.

HERB, B. R.; WOLSCHIN, F.; HANSEN, K. D. *et al.* Reversible switching between epigenetic states in honeybee behavioral subcastes. **Nature Neuroscience**, v. 15, n. 10, p. 1371-1373, 16 set 2012.

HODGSON, E. S. An ecological study of the behavior of the leaf-cutting ant Atta cephalotes. **Ecology**, v. 36, n. 2, p. 293-304, 1955.

LEBOEUF, A. C.; BENTON, R.; KELLER, L. The molecular basis of social behavior: models, methods and advances. **Current opinion in neurobiology**, p. 1-8, 17 set 2012.

LEWIS, T.; POLLARD, G. V.; DIBLEY, G. C. Rhythmic Foraging In The Leaf-cutting Ant Atta cephalotes (L.) (Formicidae: Attini). **Journal of Animal Ecology**, v. 43, n. 1, p. 129-141, 1974.

MACGREGOR, E. G.; THORPE, W. H. Odour as a Basis for Orientated Movement in Ants. **Behaviour**, v. 1, n. 3, p. 267-296, 1948.

MARTINOYA, C.; BLOCH, S.; VENTURA, D. F.; PUGHA, N. M. Spectral efficiency as measured by ERG in the ant (Atta sexdens rubropilosa). **Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, v. 104, n. 2, p. 205-210, 1975.

MCCLUSKEY, E. S.. Daily Rhythms in Male Harvester and Argentine Ants. **Science**, v. 128, n. 3323, p. 536-537, 1958.

MCCLUSKEY, E. S. Rhythms and clocks in harvester and Argentine ants. **Physiological Zoology**, v. 36, n. 3, p. 273-292, 1963.

MERTL, A. L.; TRANIELLO, J. F. A. Behavioral evolution in the major worker subcaste of twig-nesting Pheidole (Hymenoptera: Formicidae): does morphological specialization influence task plasticity? **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 63, n. 10, p. 1411-1426, 12 jun 2009.

MOORE, D.; ANGEL, J. E.; CHEESEMAN, I. M.; FAHRBACH, S. E.; ROBINSON, GENE E. Timekeeping in the honey bee colony : integration of circadian rhythms and division of labor. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 43, n. 3, p. 147-160, 1998.

MOORE-EDE, M. C.; SULZMAN, F. M.; FULLER, C. A. **The clocks that time us: Physiology of the circadian timing system**. [S.l.]: Harvard University Press Cambridge, MA, 1982.

NOWAK, M. A.; TARNITA, C. E.; WILSON, E. O. The evolution of eusociality. **Nature**, v. 466, n. 7310, p. 1057-1062, ago 2010.

OSTER, G. F.; WILSON, E O. **Caste and Ecology in the Social Insects.(MPB-12)**. [S.l.]: Princeton University Press, 1979.

POWELL, S. Ecological specialization and the evolution of a specialized caste in Cephalotes ants. **Functional Ecology**, v. 22, n. 5, p. 902-911, out 2008.

RIBEIRO, P. L.; HELENE, A. F.; XAVIER, G.; NAVAS, C.; RIBEIRO, F. L. Ants can learn to forage on one-way trails. **PloS one**, v. 4, n. 4, p. e5024, jan 2009.

ROCES, F. Individual complexity and self-organization in foraging by leaf-cutting ants. **The Biological bulletin**, v. 202, n. 3, p. 306-13, jun 2002.

SCHWANDER, T.; ROSSET, H.; CHAPUISAT, M. Division of labour and worker size polymorphism in ant colonies: the impact of social and genetic factors. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 59, n. 2, p. 215-221, jul 2005.

SMITH, C. R.; TOTH, A. L.; SUAREZ, A. V; ROBINSON, GENE E. Genetic and genomic analyses of the division of labour in insect societies. **Nature reviews. Genetics**, v. 9, n. 10, p. 735-748, out 2008.

THERAULAZ, G.; BONABEAU, E.; DENUEBOURG, J.-N. Response threshold reinforcements and division of labour in insect societies. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 265, n. 1393, p. 327-332, 22 fev 1998.

TOFTS, C.; FRANKS, N. R. Doing the right thing: Ants, honeybees and naked mole-rats. **Trends in ecology & evolution**, v. 7, n. 10, p. 346-349, out 1992.

TOMA, D. P.; BLOCH, G.; MOORE, D.; ROBINSON, G.E. Changes in period mRNA levels in the brain and division of labor in honey bee colonies. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 12, p. 6914-6919, 2000.

WALLER, D. Size-Related Foraging in the Leaf-Cutting Ant Atta texana (Buckley) (Formicidae: Attini). **Functional Ecology**, v. 3, n. 4, p. 461 -468, 1989.

WARD, J.; H, J. Hierarchical grouping to optimize an objective function. **Journal of the American statistical association**, v. 58, n. 301, p. 236-244, 1963.

WEBER, N. A. The Fungus-Culturing Behavior of Ants. **American Zoologist**, v. 12, n. 3, p. 577-587, 1972.

WETTERER, J. Forager polymorphism and foraging ecology in the leaf-cutting ant, Atta colombica. **Psyche**, v. 102, n. 3-4, p. 131-145, 1995.

WILSON, E O. **The insect societies.** [S.l.]: Cambridge, Massachusetts, USA, Harvard University Press [Distributed by Oxford University Press, 1971.

WILSON, E.O. Source and Possible Nature of the Odor Trail of Fire Ants. **Science**, v. 129, n. 3349, p. 643, 1959.

WILSON, E.O. Chemical Communication Among Workers Of The Fire Ant Solenopsis saevissima (Fr . Smith) 1. The Organization of Mass-foraging. **Animal Behaviour**, v. 10, n. 1, p. 134-147, 1962.

WILSON, E. O. Caste and Division of Labor in Leaf-Cutter Ants (Hymenoptera: Formicidae: Atta) II. The Ergonomic Optimization of Leaf Cutting. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 7, n. 2, p. 157-165, 1980.

WILSON, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: Atta) I. The Overall Pattern in A. sexdens. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 7, n. 2, p. 143-156, jul 1980.

WILSON, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: Atta) III. Ergonomic resiliency in foraging by A. cephalotes. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 14, n. 1, p. 47-54, dez 1983.

8 ANEXOS

Segue abaixo a lista de valores referentes aos modelos de regressões múltiplas e suas respectivas análises de resíduos. Como algumas variáveis preditoras apresentavam correlação entre si, foram realizadas também, para os dois modelos, regressões utilizando as componentes principais da variáveis preditoras originais como variáveis preditoras. Como a regressão sobre as componentes não altera a seleção de modelos por AIC, foram utilizadas as regressões originais na seção de resultados.

Modelo 1

I.I Regressão original

```
            K: 8
         beta: [27.2131   -0.1070    3.1453   -0.0249   -0.6492    0.0103    0.0070    0.0030]
  beta_confint: [26.7115   -0.2103    2.7548   -0.0467   -0.7899    0.0036   -0.0019    0.0022
                 27.7146   -0.0037    3.5358   -0.0031   -0.5085    0.0170    0.0160    0.0039]
          VIF: [4.8641 6.7848 4.2793 11.6195 6.4116 8.1152 5.5531]
    MLEsigma: 1.1154
          AIC: 102.9927
         dAIC: 68.9651
           R2: 0.3037
            F: 47.9794
            p: 0
         RMSE: 1.1270
```

Análise dos resíduos:

```
    Shapiro Wilk h: 1
    Shapiro Wilk p: 1.1568e-008
  Shapiro Wilk stat: 0.9766
               beta: [0.000706 -0.000002]
       beta_confint: [-0.1483   -0.0003
                       0.1497    0.0003]
  Durbin Watson p: 5.4380e-037
Durbin Watson stat: 1.1095
                 R2: 1.4859e-007
                  F: 1.1531e-004
                  p: 0.9914
               RMSE: 1.1183
```

I.II Regressão sobre as componentes (PCR)

beta: [0.0224 -0.1698 0.1530 0.5338 1.5676 0.2711 1.2535 0]

beta_confint: [-1.0604 -1.6945 -1.6197 -4.1481 -4.6529 -6.9023 -7.5098 0
1.1052 1.3548 1.9256 5.2156 7.7882 7.4445 10.0168 0]

VIF: [1.0000 1.0000 1.0000 1 1.0000 1.0000 NaN]

MLEsigma: 820.2336

AIC: 5.2381e+003

dAIC: 8.0797

R2: -511.0179

F: 128.4015

p: 0

RMSE: 827.6806

Análise dos resíduos:

Shapiro Wilk h: 1

Shapiro Wilk p: 1.1568e-008

Shapiro Wilk stat: 0.9766

beta: [28.6209 -0.0000]

beta_confint: [28.4720 -0.0003
28.7699 0.0003]

Durbin Watson p: NaN

Durbin Watson stat: 0.0015

R2: 1.4859e-007

F: 1.1531e-004

p: 0.9914

RMSE: 1.1183

Modelo 2

II.I Regressão original

K: 4

beta: [28.688606 -1010.153001 1478.046953 -235603.852548]

beta_confint: [28.523807 -1142.720238 1245.016871 -313222.170793
28.85340 -877.585763 1711.077035 -157985.534302]

VIF: [3.2334 24.0336 26.3938]

MLEsigma: 1.0314

AIC: 34.0277

dAIC: 0

R2: 0.3562

F: 142.7369

```
            p: 0
         RMSE: 1.0367

Análise dos resíduos:
        Shapiro Wilk h: 1
        Shapiro Wilk p: 0.0043
    Shapiro Wilk stat: 0.9934
                 beta: [0.390774  -0.001003]
          beta_confint: [0.251077  -0.001314
                         0.530472  -0.000693]
     Durbin Watson p: 9.3954e-047
  Durbin Watson stat: 0.9868
                  R2: 0.0492
                   F: 40.1778
                   p: 3.9304e-010
               RMSE: 0.9831

II.II Regressão sobre as componentes (PCR)
            beta: [-0.1050   -1.3753    2.2988   0]
  beta_confint: [-1.3234   -5.5986  -11.8359   0
                  1.1134    2.8480   16.4334   0]
             VIF: [1 1.0000 NaN]
     MLEsigma: 820.1495
             AIC: 5.2300e+003
            dAIC: 0
              R2: -510.9654
               F: 387.2823
               p: 0
          RMSE: 823.3243

Análise dos resíduos:
        Shapiro Wilk h: 1
        Shapiro Wilk p: 0.0043
    Shapiro Wilk stat: 0.9934
                 beta: [29.0110   -0.0010]
          beta_confint: [28.8713   -0.0013
                         29.1507   -0.0007]
     Durbin Watson p: NaN
  Durbin Watson stat: 0.0012
                  R2: 0.0492
                   F: 40.1778
```

p: 3.9304e-010

RMSE: 0.9831

TITLE: TASK PARTITIONING OF FORAGING ACTIVITY INVOLVING LEAF DROPPING AMONG LEAFCUTTER ANTS.

Marcelo Arruda Fiuza de Toledo[1], Pedro Leite Ribeiro[1*], Ashley Nicole Hoffman[2], Daniella Klebaner[2], Halee Rachel Watel[2,], Carlos Arturo Navas[1], André Frazão Helene[1]

*Corresponding author: Pedro Leite Ribeiro - pedrolribeiro@gmail.com - +55 11 30919911

[1] Department of Physiology, Biosciences Institute, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

[2] Vanderbilt University Nashville, Tennessee, United States of America.

Keywords: task partitioning, Atta, ant behavior, foraging, leaf cutting

Running title: Task partitioning of foraging activity among *Atta sexdens rubropilosa*

Abstract

Task partitioning in eusocial animals is most likely an evolutionary adaptation that optimizes the efficiency of the colony to grow and reproduce. We have investigated indirect task partitioning of foraging activity among carrier/cutter and carrier leafcutter ants. In two separate experiments, we confirmed previous results pertaining to leaf caching activities among *Atta colombica* with task partitioning activities involving leaf dropping among *Atta sexdens rubropilosa*, in that there is a correlation between the size of the ant and leaf fragment carried. It was clear that this correlation exists only when the ant that cuts the fragment is the same one that carries it (CAC). When there is task partitioning involving an ant carrying a leaf fragment cut by another ant (CO), there is no correlation between ant size and leaf size. We also found that CAC ants are smaller than CO ants. Thus, we discuss the adaptive character of leaf dropping related to indirect task partitioning.

Introduction

Task division in eusocial animals likely results from adaptations enhancing survival and reproduction (Wilson 1971), through increased behavioral flexibility. Some species of social insects, especially some ants, are adapted to their respective tasks through morphological differentiation within the colony (castes), and the higher probability of a certain caste engaging in a certain task (Wilson 1980). Morphological differentiation may be a result of evolutionary optimization of colony performance, enhancing task efficiency and fitness (Oster and Wilson 1979; Helantera and Ratnieks 2008). However, morphology, behavior and task partitioning do not conform to a simple one-to-one relationship because behavioral flexibility among individuals is an important component of eusocial systems. This flexibility is particularly important in leafcutter ants, especially those of the genus *Atta,* which encompasses the most extreme examples of intra-colony phenotypic diversity in ants. A typical *Atta* colony includes individuals across a size continuum, from tiny ants that tend the fungus garden to large ants that are specialized in defense and are about one order of magnitude larger (Wilson 1971). In *Atta* ant colonies, the relationship between size and task division must be complex, particularly when considering the partitioning of a task into sub-tasks (Anderson and Ratnieks 1999; Burd and Howard 2008; Hart and Ratnieks 2001a; Ratnieks and Anderson 1999; Hart et al. 2002; Hart and Ratnieks 2001b).

In *Attini* ants, task partitioning is particularly evident in their foraging activities. Foraging is energy-demanding, and it involves a number of coordinated tasks within the colony, including finding, cutting and carrying leaves (**Fourcassié et al. 2010)**. These three tasks must be carried out as an integrated process, which requires complex interrelationships among individual ants (Burd and Aranwela 2003; Dussutour et al. 2009; Fourcassie et al. 2010). For example, *Acromyrmex* ants may transfer leaf

fragments from one ant to another in the middle of the trail, thus apparently enhancing foraging efficiency (Lopes et al. 2003). In addition, factors such as distance to food sources, properties of the terrain and quality of the resources may affect the demands imposed by those tasks and the need for interindividual interactions (Clark 2006; Lewis et al. 2008; Lopes et al. 2003; Moll et al. 2012; Röschard and Roces 2003a; Röschard and Roces 2003b; Roces 1990). Accordingly, task partitioning may be better interpreted as a flexible process that is influenced by context-specific nuances.

The idea of task partitioning was originally proposed by Jeanne (1986) and later refined by Ratnieks and Anderson (1999). According to Ratnieks and Anderson (1999) task partitioning can occur both directly and indirectly. The first case occurs when, for example, one individual directly transfers material to another one. Task partitioning would be indirect if such transfer of material occurs without direct interaction, for example when some workers cut leaves and deposit fragments on a given location and other workers take and carry them into the colony (Ratineiks and Anderson, 1999; Hart et al. 2002). However, indirect task partitioning can happen in two different ways. One involves the formation of leaf caches at different points along the trail, especially at the entrance to the nest. This example was extensively studied by Hart and Ratnieks (2001b), who found that the size of ants that cut pieces of leaves correlates positively with the size of the leaf that was cut. However, the size of ants that receive an already-cut piece of leaf from a leaf cache presented no correlation to the size of the piece of leaf itself. The other possibility of indirect task partitioning occurs in the context of leaf dropping, a process in which some individuals release fragments after cutting, so that other ants carry them (Hart and Ratnieks, 2001b). The same authors classify this type of indirect task partitioning as probably non-adaptive, and not important in understanding task partitioning in normal foraging behavior.

The purpose of this study is to carry out a detailed investigation of indirect task partitioning among ants with respect to behavior classified as accidental leaf dropping by Hart and Ratnieks (2001b). Thus, we believe we can contribute to the studies of task partitioning among ants with regards to foraging activities by providing more information for future discussion on the adaptability of leaf-dropping behavior.

Materials and methods:

Colonies:

We used a 3+ year-old natural, healthy and active colony of *Atta sexdens rubropilosa* located on the campus of the University of São Paulo and a similarly vigorous four-year-old colony raised in captivity, with approximately 40 thousand ants.

General approach:

Our testing of the hypotheses was based on two experiments; the first was aimed at establishing a correlation between ant size and the size of leaf fragments being carried. For 1 hour each day over 6 consecutive days (six hours total), always in the morning, we collected all ants returning to a specific nest entrance that exhibited intensive foraging activity. At this point, we did not know whether the fragments carried had been cut by the ants that collected them, or not. We collected 183 leaf-carrying ants, as follows: 32 ants on day 1; 39 on day 2; 30 on day 3; 27 on day 4; 26 on day 5; and 29 on day 6. We then measured head capsule size and respective fragment area (see below). This part of the study was undertaken with the natural colony.

In the second experiment, we investigated correlations between ant size and the size of leaf fragments being carried for ants known to have cut the fragments themselves

(CAC), and for those known to carry fragments that they had not cut themselves (CO), with the purpose of evaluating the role of task partitioning. We also focused on whether or not these activities had been performed by ants of similar sizes. This experiment was viable only in the colony maintained in the laboratory. We placed a 1m long bridge leading from the nest to the foraging tray, where *Acalypha ad libitum* leaves were placed 48 hours before the experiment began. Subsequently, we collected all the leaf-carrying ants going back to the nest for three hours on the first day, and then again for approximately three hours on next day (about six hours total), always in the afternoon. In this part of the experiment we obtained 39 ants. In conjunction, we collected all the CAC ants, and then we repeated this experiment until we formed another group of 39 CO ants.

Analysis:

We scanned leaf fragments and heads (without antennas) using a commercial scanner (1200 dpi) and then used a MATLAB routine designed to measure the areas of leaf fragments and head widths, to 0.2 mm precision. We applied a log transformation to improve homocedasticity, as proposed by Glejser (1969).

Results

In the natural colony, head size ranged between 1.0 mm and 5.1 mm (MEAN$^{\pm}$S.E. of 0,06 mm), and the larger ants carried larger fragments (correlation, rho = 0.5002 $p < 0.0001$ - Figure 1). In the laboratory colony, the size of head capsules ranged between 0.9 mm and 3.2 mm (MEAN$^{\pm}$S.E. of 1.9$^{\pm}$0.8) for the CAC group, and between 1.7 mm and 3.6 mm (MEAN$^{\pm}$S.E. of 2.4$^{\pm}$0.4) for the CO group (Figure 2).

Although these two samples partially overlap in size, CO ants were larger than CAC ants (t-test, $t_{(2),76}$=3,77, p<0.0001 - Figure 2). In the CAC group, the larger ants carried larger leaf fragments (correlation, rho = 0.8250, p < 0.0001). This pattern was absent in the CO group (correlation, rho = -0.0671, p = 0.6848 - Figure 3).

Discussion

Our results reinforce the idea that understanding task partitioning is necessary to understanding ant foraging as collective behavior. Because ants do not necessarily cut and carry the same leaf fragment, the positive correlation between ant size and leaf fragment size for the CAC group, but not for the CO group, confirms previous results obtained by Hart and Ratnieks (2001b) in studies involving *Atta colombica.* Our results also showed that the CO ants were, on average, larger than the CAC ants. This gives us new insights, particularly in the context of task partitioning during foraging activity (Bollazzi and Roces 2011; Burd 1995; Burd 2000; Evison and Ratnieks 2007; Hölldobler and Wilson 1990; Wilson 1980). When a three dimensional food source, such as a mango, is offered, the larger ants become responsible for cutting fragments while the smaller ants carry them (Evison and Ratnieks 2007). However, when a simple bi-dimensional item is offered, larger ants seem to be more devoted to carrying rather than cutting. This behavioral flexibility among individuals, which enables task partitioning, may result from adaptations that improve the efficiency of foraging activities in the colony as a whole (Burd 1995; Burd 1996; Burd 2000; Oster and Wilson 1978). This idea has been explored empirically (Helanterä and Ratnieks 2008) in several contexts; for example, the distance from the nest, the hardness and thickness of leaves and the shape of the fragments (Burd 2001; Moll et al. 2012; Roces 1990;

Röschard and Roces 2003a; Röschard and Roces 2003b). In all these contexts the dynamic process of trail formation is important and it is related to foraging efficiency. Indirect task partitioning in the foraging activities of leafcutter ants is likely to be adaptive in the context of leaf cache formation, but, according to Hart and Ratnieks (2001b), it is not necessary for leaf dropping. However our results suggest that task partitioning in foraging activities involving leaf dropping among *Atta* may also be adaptive. Since smaller ants are better at cutting and transporting leaves, larger ants only transport them, so the fact that different morphological groups of ants execute different tasks is a strong sign of adaptability (Holldobler and Wilson 1990). Furthermore, the fact that our observations revel that at least 30% of the cutting results in leaf dropping also suggests that this behavior is likely to be adaptive, because it is far too frequent to be anything else.

Because task partitioning is an intrinsic characteristic of the foraging behavior of ants, it must be considered from different perspectives. Rudolph and Loudon (1986) proved that ants tend to carry leaves that are smaller than expected from the exclusive standpoint of maximum efficiency. The lack of maximum efficiency can be a consequence of the fact that larger ants carry leaves cut by smaller ones; therefore carrying smaller leaves could be expected if they had cut them themselves (Wetterer 1991). The findings by Rudolph and Loudon may be partially accounted for by task partitioning. Task partitioning among CAC and CO ants could account for the lack of individual optimization as observed earlier (Rudolph and Loudon 1986). Furthermore, larger ants are faster, and the fact that they are usually involved in carrying tasks agrees with the ideas proposed by Bollazzi and Roces (2011). Other aspects may determine the relation between ant and leaf size, especially in the group of ants that cut and carry, as

suggested by the large standard error associated with the mean leaf size carried by larger ants.

Even though foraging only involves activities performed outside the nest, it is possible that this behavior is strongly affected by activities occurring inside the nest, for example leaf implantation (Burd and Howard 2008). Thus, the behavior of large ants during foraging can be influenced by factors well beyond transport. Large ants are less apt to implant leaf fragments in the fungus gardens (Hölldobler and Wilson 1990), so transferring fragments to smaller ants may be part of the colony's foraging tasks, considering that implantation is an essential component of foraging. If fragment size depends on ant size (Wetterer 1991), large fragments would increase implantation cost because supplementary cutting would be needed. Therefore, the cutting process and the correlation between ant size and leaf fragment size can only be understood from a wide-ranging analysis of foraging behavior that includes task partitioning, contextual elements and probably leaf implantation.

References

Anderson C, Ratnieks FL (1999) Task partitioning in insect societies. I. Effect of colony size on queueing delay and colony ergonomic efficiency. The American Naturalist 154: 521- 535

Burd M (1995) Variable load size-ant size matching in leaf-cutting ants, Atta colombica (Hymenoptera: Formicidae). Journal of insect behavior 8: 715- 722

Burd M (1996) Foraging performance by Atta colombica, a leaf-cutting ant. American Naturalist 148: 597- 612

Burd M (2000) Body size effects on locomotion and load carriage in the highly polymorphic leaf-cutting ants Atta colombica and Atta cephalotes. Behavioral Ecology 11: 125- 131

Burd M (2001) Leaf tissue transport as a function of loading ratio in the leaf‐cutting ant Atta cephalotes. Ecological Entomology 26: 551- 556

Burd M (2008) Optimality in a partitioned task performed by social insects. Biology Letters 4: 627- 629

Burd M, Aranwela N (2003) Head-on encounter rates and walking speed of foragers in leaf-cutting ant traffic. Insectes Sociaux 50: 3- 8

Burd M, Howard JJ (2008) Optimality in a partitioned task performed by social insects. Biology Letters 4: 627- 629

Clark E (2006) Dynamic matching of forager size to resources in the continuously polymorphic leaf‐cutter ant, Atta colombica (Hymenoptera, Formicidae). Ecological Entomology 31: 629- 635

Dussutour A, Deneubourg JL (2009) Individual and collective problem-solving in a foraging context in the leaf-cutting ant Atta colombica. Animal Cognition 12: 21-30

Evison SE, Ratnieks FL (2007) New role for majors in Atta leafcutter ants. Ecological Entomology 32: 451- 454

Fourcassié V, Dussutour A, Deneubourg JL (2010) Ant traffic rules. Journal of Experimental Biology 213: 2357- 2363

Glejser H (1969) A New Test for Heteroskedasticity. Journal of the American Statistical Association 64: 316- 323

Hart AG, Anderson C and Ratnieks FL (2002) Task partiotioning in leafcutting ants Acta ethol 5: 1-11.

Hart AG, Ratnieks FL (2001a) Task partitioning, division of labor and nest compartentalisation collectively isolated hazardous waste in the leafcutting and Atta cephalotes. Behav Ecol Sociobiol 49: 387-392.

Hart AG, Ratnieks FL (2001b) Leaf caching in the leafcutting ant Atta colombica: organizational shift, task partitioning and making the best of a bad job. Animal Behaviour 62: 227- 234

Helanterä H, Ratnieks FL (2008) Geometry explains the benefits of division of labour in a leafcutter ant. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 275: 1255- 1260

Hölldobler B, Wilson EO (1990) The ants. Belknap Press

Jeanne, R.L. (1986) The evolution of the organization of work in social insects. Mon. Zool. Ital. 20: 119–133.

Lewis OT, Martin M, Czaczkes TJ (2003) Effects of trail gradient on leaf tissue transport and load size selection in leaf-cutter ants. Behavioral Ecology 19: 805- 809

Lopes JF et al. (2003) The effect of trail length on task partitioning in three Acromyrmex species (Hymenoptera: Formicidae). Sociobiology 42: 87- 91

Moll K, Federle W, Roces F (2012) The energetics of running stability: costs of transport in grass-cutting ants depend on fragment shape. The Journal of experimental biology 215: 161- 168

Oster GF, Wilson EO (1979) Caste and ecology in the social insects. Princeton University Press, Princeton, New Jersey

Ratnieks FL and Anderson C (1999) Task partitioning in insect societies. Insectes Sociaux 46: 95-108.

Roces F (1990) Leaf-cutting ants cut fragment sizes in relation to the distance from the nest. Animal Behaviour 40: 1181- 1183

Röschard J, Roces F (2003a) Cutters, carriers and transport chains: Distance-dependent foraging strategies in the grass-cutting ant Atta vollenweideri. Insectes sociaux 50: 237- 244

Röschard J, Roces F (2003b) Fragment-size determination and size-matching in the grass-cutting ant Atta vollenweideri depend on the distance from the nest. Journal of tropical ecology 19: 647- 653

Rudolph SG, Loudon C (1986) Load size selection by foraging leaf - cutter ants (Atta cephalotes). Ecological entomology 11: 401- 410

Wetterer JK (1991) Allometry and the geometry of leaf-cutting in Atta cephalotes. Behavioral Ecology and Sociobiology 29: 347- 351

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

Wilson EO (1980) Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera, Formicidae, Atta).1. The overall pattern in Atta sexdens. Behavioral Ecology And Sociobiology 7: 143- 156

Figures

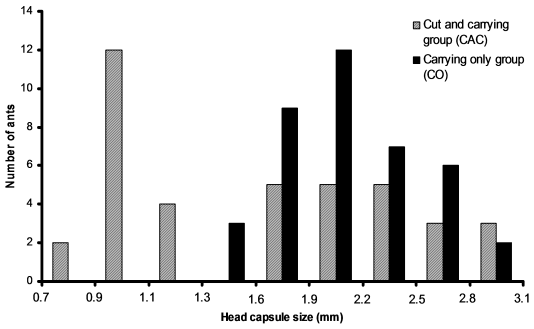

Fig.1 Correlation between leaf area and ant size

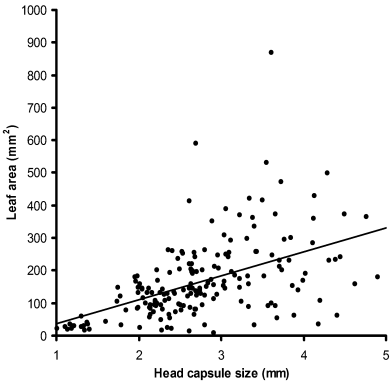

Fig.2 Size distribution of cut-and-carry (CAC) and carry only (CO) ants

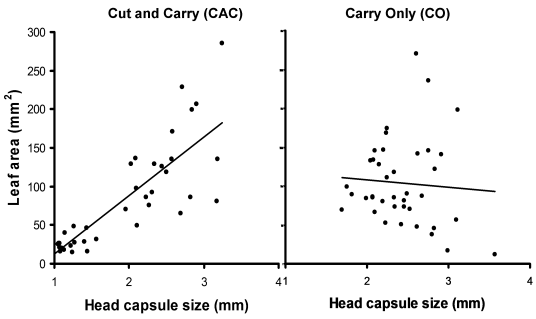

Fig.3 Correlation between leaf area and ant size in ants that cut and carry (rho = 0.8250, $p < 0.0001$) and ants that only carry (rho = -0.0671, $p = 0.6848$)

Rastreamento Simultâneo de Dezenas de Múltiplos Objetos

Antonio Henrique Fonseca[1], Marcelo Arruda Fiuza de Toledo[2], André Frazão Helena[2], Yossi Zana[1]
[1] *Centro de Matemática, Computação e Cognição, Universidade Federal do ABC*
[2] *Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo*

Abstract

Simultaneous tracking of many objects in movements is necessary in cases of living organisms as well as non-living objects. While for human observers it is virtually an impossible task, given the limited capacity of cognitive attentional resources, it is a challenging task for machines. The aim of this work was to develop a computational tool capable of tracking dozens of elements simultaneously with sufficient accuracy for use in biological experimental paradigms. The system should operate in real time. Our approach was exploring a novel combination of conventional techniques such as image subtractions, mathematical morphology and tracking using total distance minimization criteria. Using freely moving ants' video, the proposed system was capable of tracking up to 86 elements in real time (15 frames/sec). Further more, in preparation of a system capable of tracking hundreds of ants, we present a viability study of the algorithm implementation in parallel programming using multiply CPUs and/or GPUs.

1. Introdução

Em vários casos é necessário analisar o comportamento de deslocamento de objetos ao longo do tempo. Exemplo são estudos do comportamento de insetos, como formigas e abelhas. Por exemplo, há evidencias de que colônias de formigas empregam uma estratégia exploratória de novos espaços similar ao que resultaria se fosse empregado o método de Bayes [1]. Ao encontrarem um local com alimento, as formigas passam a se deslocar para este local por várias vias até que há uma convergência entre estes caminhos. Em outros casos também há interesse na evolução temporal da posição de objetos, como por exemplo processamento de imagens médicas [2], automatização de espaços de compras (análise do comportamento de clientes ao entrar na loja e possibilitar soluções de design do ambiente, de forma a favorecer acesso a determinados produtos), segurança e vigilância militar [3;4], entre outras.

A metodologia freqüentemente utilizada para estudar este tipo de comportamento é a visual, ou seja, a metodologia consiste em colocar observadores por horas, ou mesmo dias, tomando nota da forma que estas procediam na procura de alimento. Logo, demanda recursos para manter observadores em campo verificando tal comportamento. Como exemplo, [5] reporta em seu livro que dois observadores são necessários para acompanhar e registrar as atividades de uma formiga: um observa e relata o que a formiga está fazendo enquanto o outro registra os dados em um notebook. Ainda assim, um pequeno lapso de atenção pode resultar na perda de eventos potencialmente importantes.

Com os crescentes avanços na tecnologia, tem-se a disposição cada vez mais dispositivos de vídeo com mais qualidade e custos menores, abrindo assim um vasto leque de possibilidades de pesquisa que tenham como base o processamento de imagens obtidas via estes dispositivos, sendo que uma destas vertentes é o rastreamento visual de objetos. O rastreamento de objetos tornou-se uma importante tarefa que é abordada pela computação visual e que pode ser definida como um problema de estimativa da trajetória de um objeto que se move sobre uma superfície plana no decorrer do tempo. Desta forma, um rastreador atribui rótulos consistentes para os objetos monitorados em diferentes quadros do vídeo e, dependendo do domínio, retorna informações da trajetória dos objetos, assim como coordenadas do centro geométrico do objeto em relação ao quadro.

O objetivo deste trabalho foi o de desenvolver uma nova ferramenta computacional que apresente uma capacidade de rastrear dezenas de elementos simultaneamente com uma acurácia suficiente para uso em paradigmas experimentais. O sistema deve ainda operar em tempo real no sentido de processar os quadrantes na velocidade do fluxo do vídeo, ou seja, 15 quadrantes por segundo. Além do mais, objetivou-se oferecer uma análise cujos resultados serão utilizados para implementar o sistema em uma abordagem de programação paralela.

1.1. Trabalhos relacionados

O problema computacional de rastreamento simultâneo de múltiplos objetos foi abordado por vários grupos, sempre com soluções parciais. O procedimento genérico é o de segmentar os objetos de interesse, os registrá-los e determinar suas posições continuamente. Uma parte da dificuldade advém das primeiras duas partes; entretanto, aqui o foco será no próprio rastreamento. Os desafios da solução têm origem em aparecimento e desaparecimento de objetos, oclusões, interações entre os objetos e mudanças de velocidadecol e direção. Em se tratar de múltiplos objetos, há um obstáculo computacional, dado que o número de possibilidades de trajetórias que deve ser analisado aumenta exponencialmente com o número de objetos.

Os algoritmos de ponta diferem na abordagem, tipo de objetos que podem ser rastreados, o ambiente onde estes se encontram e no número de objetos presentes. O caso de rastreamento de várias pessoas foi analisado por [6]. Foram analisados 71 sequências de um minuto de algumas pessoas em movimento, sendo que algumas surgiram no meio da sequência e outras saíram. Os autores relataram uma precisão de 90% na determinação das trajetórias. A metodologia utilizada foi o mapeamento de todas as possíveis transições entre as imagens, ou seja, todas as possíveis trajetórias de um objeto entre cada duas imagens sequenciais. A determinação da trajetória correta é feita em base probabilística, utilizando os modelos ocultos de Markov (HMM), no qual cada objeto possui uma trajetória representada por uma sequência de estados e uma função de custo que restringe as possibilidades. O modelo prioriza a escolha de transições curtas e trajetórias fluidas. Ele pressupõe um mapeamento um-por-um entre as imagens e a não existência de sobreposição de trajetórias (trajetórias independentes). Entretanto, há consideração da possibilidade de surgimento e desaparecimento de pessoas. Por adotar uma abordagem global, o custo computacional cresce exponencialmente com o número de objetos a serem rastreados. Um modelo semelhante, uma combinação de Kanade–Lucas–Tomasi e Markov-Chain Monte-Carlo Data Association, foi utilizado por [7]. Foram rastreadas 16 pessoas simultaneamente com uma precisão de 73,8%.

[8,9] tentaram resolver o problema de rastreamento de formigas de várias formas. Inicialmente [10] se focou na solução da segmentação das formigas e utilizou-se um algoritmo baseado em cores. Para o rastreamento foi utilizado o mesmo método adotado por nós na fase dos testes pilotos, ou seja, varredura exaustiva de todas as possibilidades de pareamento de formigas entre duas imagens consecutivas e escolha da alternativa que minimiza a soma das trajetórias. Testado com vídeos com cerca de 10 formigas, a acurácia foi de 10%. O método era limitado pelo fato de não levar em consideração aparecimento e desaparecimento de formigas, oclusão, interação e casos de parada longa de movimento. Em estudos mais recentes [8,9], o rastreamento foi feito por meio de um modelo dinâmico baseado em campos aleatórios de Markov. Foram utilizados para teste vídeos com cerca de 20 formigas simultaneamente em um ambiente controlado. Como é o caso de outros métodos, este algoritmo sofre de aumento exponencial de complexidade de acordo com o número de alvos.

1.2. Programação Paralela

A abordagem de programação paralela não é nova na área de rastreamento de múltiplos objetos [11-13], mas a exploração do potencial de computação de GPUs é recente. Em seus testes, [14] descrevem duas implementações: uma usando rede de transputers (tipo de memória integrada que apresenta comunicação serial destinado a computação paralela) e outra usando múltiplas estações de trabalho da Sun (computadores com potência de cálculo) com linguagem Conic. Por conta da velocidade de comunicação entre transputers e a possibilidade de estabelecimento dessa comunicação enquanto executam os processos simultaneamente nos processadores, verificou-se um aumento da velocidade de acordo com o aumento do número de transputers. Quanto ao desempenho usando as estações de trabalho, verificou-se um consumo de tempo acima do esperado, levando à conclusão de que um algoritmo mais sofisticado é necessário para melhor uso das estações de trabalho.

[13] desenvolveram um sistema de rastreamento de múltiplos objetos em tempo real, propondo um algoritmo de uma associação de MCMC e filtro de partículas. O sistema conseguiu rastrear simultaneamente de 20 a 30 objetos. Os testes foram feitos com vídeos de vigilância de estradas. [15] desenvolveu uma biblioteca para processamento gráfico utilizando-se de três implementações: Matlab associado ao seu Toolbox de processamento de imagem; funções de processamento de imagem escritas em código C-MEX; e funções de processamento de imagem escritas para GPUs NVidia. Sua análise demonstra que o ganho com a programação paralela é altamente dependente da função executada, ou seja, não é apropriada para todas as operações do sistema, já que de acordo com a implementação feita o ganho de desempenho variava e em alguns casos, até houve perda de desempenho em relação ao uso de GPUs. [16] implementaram o algoritmo CAMShift em um sistema que busca eficiência de computação por meio de distribuição das tarefas entre CPU e GPUs e eles relatam um certo sucesso em rastrear até oito objetos em tempo real e de 10 a 30 objetos simultaneamente em vídeos com taxa de quadros entre 25 e 30.

3. Metodologia

3.1. Materiais

Foi utilizada uma estação de trabalho equipada com um CPU da marca Intel, modelo i7 975, de velocidade de quatro núcleos de 3,33 GHz e 8 GB de memória RAM. A placa gráfica era da marca NVidia, modelo GeForce GTX 260, equipada com 192 núcleos CUDA, 900 MB de memória e *Compute Capacity* de 1,3. O aparato de experimentos com formigas era constituído por uma bandeja com um pote onde a colônia cultivava o fungo simbionte, uma trilha aberta de acrílico de aproximadamente 60 cm e uma bandeja de plástico onde foram colocadas folhas de Acalypha sp. frescas diariamente. O comprimento total da montagem era de 120 cm. Uma webcam (Microsoft, modelo LifeCam) foi

posicionada sobre uma das regiões de movimento das formigas. A gravação das imagens foi feita no período da tarde do dia, cerca de 4 horas depois da colocação das folhas, com uma resolução de 960 x 544 pixels e 15 quadros por segundo. A base de dados contém algumas horas de gravação em diferentes dias. As formigas utilizadas eram da espécie *Atta sexdens rubropilosa*. A largura da cabeça das formigas era variável entre 0,5 e 4,5 mm. O número de formigas por quadro variava de 0 a aproximadamente 200. O software foi desenvolvido utilizando a linguagem de programação Matlab, versão 2011, no sistema operacional MS Windows 7 Ultimate.

3.2. Algoritmo

O algoritmo de rastreamento de múltiplos objetos é uma nova combinação de técnicas conhecidas em processamento de imagens e visão computacional e possui os seguintes passos:

- Aquisição de imagens de um arquivo pré-gravado.
- Conversão do espaço de cores de RGB a tons-de-cinza.
- Subtração de fundo.
- Ajuste de contraste
- Limiarização com um critério estático.
- Remoção de ruídos de alta freqüência espacial por meio de operações de morfologia matemática (abertura, erosão, abertura, dilatação e erosão).
- Registro de componentes conectados.
- Registro do centro de massa dos componentes conectados.
- Rastreamento da trajetória dos elementos.

O algoritmo completo conta ainda com etapas de determinação da imagem de fundo e divisão da imagem em ROIs (Region of Interest).

3.2.1. Aquisição de imagens, pré-processamento, segmentação e registro

A leitura dos quadros é realizada em pacotes de 1000 quadros, reduzindo a demando por memória RAM. Em se tratar de objetos essencialmente monocromáticos, o espaço de cor foi convertido de RGB a tons-de-cinza. Em seguida, foi subtraída a imagem de fundo de todas as imagens. Esta operação tem a finalidade de remover elementos estáticos não relevantes ao movimento das formigas. A imagem de fundo é obtida a partir da imagem inicial do vídeo, na qual não há formigas. Elementos de baixo contraste, como reflexos de formigas na paredes do aparto, foram reduzidas por meio de ajuste do contraste. O passo seguinte foi de limiarização a partir de um critério determinado empiricamente, resultando em uma imagem binária. A seguir foram aplicadas uma série de operações de morfologia matemática com o intuito de eliminar ruído espacial de alta frequencia e segmentar o corpo das formigas (sem as pernas e antenas), sendo estas abertura, erosão, abertura, dilatação e erosão. O próximo passo foi a atribuição de um número identificador único a cada formiga utilizando-se a técnica de componentes conexos e foram computadas as coordenadas do centróide de cada elemento.

O rastreamento correto das formigas é um problema não trivial. Dadas duas imagens no tempo *t1* e *t2* e dois centróides em cada um deles, é necessário associar cada um dois centróides na imagem *t1* com seu par na imagem *t2*. Sendo que as únicas informações sobre os elementos é sua posição no espaço e tempo, a solução necessariamente é baseada em suposições sobre o movimento dos elementos. No presente trabalho escolhemos um dos algoritmos mais simples computacionalmente, porém que resultou em excelente desempenho. Este algoritmo é fundamentado no princípio da menor distância percorrida, ou seja, considerando todas as associações possíveis, é escolhida a associação que minimiza a distância Euclidiana percorrida por todos os elementos entre dois quadros consecutivos.

O critério para a escolha da associação é dado por

$$\sum_{i=1}^{N} \left(dist\left(prev_i , cur_i \right) \right)^2$$

onde $(prev_i, cur_i)$ são os i-ésimos pares correspondentes. E a função $dist(x,y)$ representa a distância euclidiana. O conjunto de correspondências que minimiza o critério é selecionado e os IDs são atribuídos.

Este algoritmo possui algumas fragilidades e pontos fortes. O limiar para a binarização das imagens foi determinado empiricamente. Em condições relativamente constantes de meio e iluminação, como é o caso neste trabalho, não há maior prejuízo. Entretanto, para ser aplicado em outros casos, é necessário desenvolver um ajuste dinâmico do limiar. Observa-se ainda o caso apresentado na Figura 1. Se fosse usado o critério do elemento mais próximo de forma simplificado, seria cometido um erro, associando o elemento *a2* do quadro *t* com o elemento *a1* do quadro *t+1*. Entretanto, o critério da menor distância é global, considerando a soma de todas as distâncias entre os elementos nos dois quadros, favorecendo a associação correta. Por outro lado, com um número grande de elementos, o número de possíveis trajetórias é muito elevado, gerando um problema computacional. Nossa solução foi limitar a distância que um elemento pode se locomover entre dois quadros, reduzindo drasticamente o número de possíveis trajetórias. Esta solução é justificada no contexto específico, dado que a velocidade máxima das formigas é conhecida. Nos testes realizados, a distância máxima foi definida como de 30 pixels.

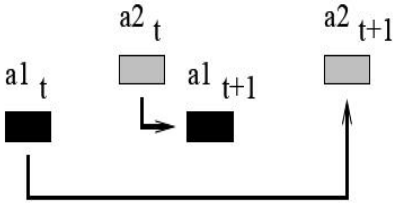

Figura 1. Imagem do fundo. Caso onde o algoritmo de associação falha. Duas formigas, *a1* e *a2*, são mostradas em *t* e *t+1*. As setas mostram a associação incorreta ocasionada pela identificação de mínima distância.

3.2.2. Processamento de ROIs

Uma avaliação do ganho potencial de uma implementação paralelizada do algoritmo requer operações sobre ROIS. Além de executar o programa sobre a imagem inteira, todas as medições foram feitas com processamento sobre múltiplas regiões das imagens. Especificamente, as imagens foram divididas em 4, 8, 20 e 40 ROIs com uma sobreposição de 30 pixels. Nos casos de processamento em ROIS, o algoritmo ganhou uma etapa adicional posterior a de rastreamento, na qual as trajetórias da mesma formiga presentes nos diferentes ROIS foram juntadas, ou seja, foi atribuído o mesmo ID à trajetórias da mesma formiga presentes em ROIs diferentes. Esta operação foi realizada por meio de registro de sobreposição espacial e temporal entre trajetórias nas regiões de sobreposição de ROIs.

3.3. Análise

A avaliação foi baseada em métodos qualitativos e quantitativos. Nas fases preliminares, o foco foi sobre a segmentação e rastreamento corretos, sendo a avaliação feita visualmente. Foram desenvolvidos alguns instrumentos de apresentação dos resultados da segmentação e rastreamento de forma interativa de forma a permitir ao usuário conferir a precisão do registro do movimento das formigas.

Na fase seguinte foi quantificado o tempo de processamento de cada uma das etapas de forma cruzada com o número médio de formigas e o número de pixels por ROI analisado. O propósito desta quantificação foi o de embasar uma futura ação de paralelizar pelo menos parte da implementação do algoritmo em CPUs e/ou GPUs.

4. Resultados e discussão

4.1. Análise visual qualitativa

A Figura 2 apresenta a imagem de fundo utilizada e uma imagem exemplo na qual se encontram 26 formigas. Nota-se a variedade no tamanho das formigas e contraste. Uma outra característica que dificulta uma segmentação correta é a existência de reflexo de formigas próximas nas bordas do aparato.

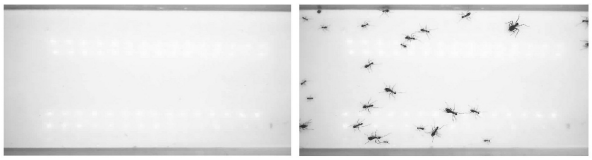

Figura 2. Imagem do fundo (a esquerda, sem formigas) e com algumas formigas (a direita).

Na Figura 3 são apresentados todos os passos da segmentação das formigas. Nota-se uma segmentação perfeita das formigas, sem erros, sendo que os elementos finais representam aproximadamente o corpo das formigas.

Na Figura 4 (esquerda) estão apresentadas todas as trajetórias registradas pelo sistema em um período de 22 minutos. Na Figura 4 (painel à direita) é apresentada somente uma destas trajetórias, inclusive com dados de sua análise, como distância percorrida e velocidade. A visualização de múltiplas trajetórias foi possível por meio de uma função de interpolação entre os centróides da trajetória de uma mesma formiga, sendo que cada trajetória é desenhada com uma cor única. O usuário pode verificar a precisão de cada rastreamento por meio de uma segunda janela, na qual é apresentado o trecho de vídeo original, com a formiga em movimento, e a trajetória registrada sobreposta na cor verde. Simultaneamente, auxiliando a compreensão do resultado, é apresentada uma análise numérica do movimento com dado sobre velocidade e distância percorrida e ainda é sinalizada a trajetória no painel a esquerda com todas as trajetórias.

Por meio desta ferramenta foram verificadas por um observador humano as trajetórias de todas as formigas durante os primeiros 266 segundos. Neste período, o sistema de segmentação de rastreamento não cometeu um único erro. Erros de segmentação foram encontrados principalmente quando o número de formigas ultrapassava 50 por quadro. A principal causa dos erros foi interações entre formigas que resultam em oclusão de formigas menores. Este tipo de erro requer um tratamento posterior à segmentação que inclui detecção de interação e consideração deste fato no mecanismo de rastreamento.

4.2. Análise quantitativa

A análise quantitativa foi feita calculando o consumo de tempo por tipo de fase do algoritmo, número de formigas e tamanho da área analisada (ou número de pixels do ROI).

A Figura 5 apresenta o tempo de processamento de 1000 quadros em cada fase do algoritmo em relação ao número médio de formigas, sendo que a análise foi feita sobre a imagem inteira. Observa-se inicialmente que

mesmo com quase 70 formigas por quadros, o algoritmo atinge um desempenho de tempo-real, ou seja, 15 quadrantes por segundo.

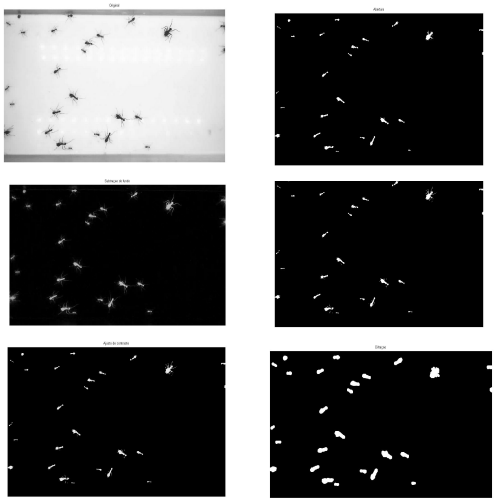

Figura 3. Pré-processamento e segmentação: Imagem inicial (a), subtração de fundo (b), ajuste de contraste (c), abertura (d), dilatação (e) e limiarização (f).

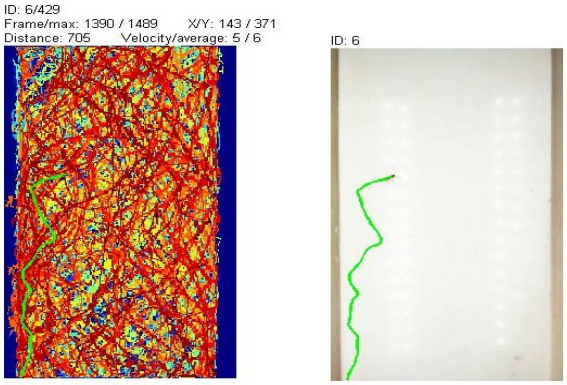

Figura 4. Representação em cores das trajetórias de centenas de formigas (esquerda). Representação da trajetória de uma única formiga em cor verde (a direita).

Observa-se ainda que as operações de rastreamento e de morfologia matemática consomem a maior parte do tempo. Entretanto, somente o consumo de tempo da operação de rastreamento aumenta consideravelmente com o número de formigas registradas. Este resultado sugere que para estes dois tipos de operações merecem um estudo mais profundo para melhorar a eficiência operacional. Especificamente, o rastreamento é preocupante, pois apesar praticamente dobrar a capacidade de tratamento de elementos encontrada em sistema anteriores, atingindo quase 70 formigas, ultrapassar os 100 elementos requer um tratamento do consumo crescente no tempo de rastreamento.

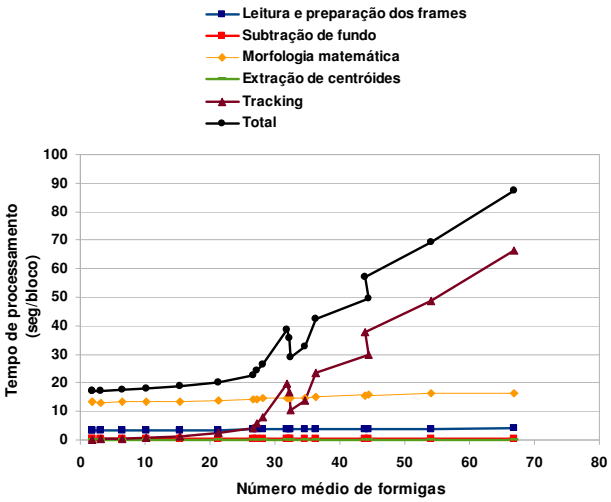

Figura 5. Tempo de processamento de diversas etapas do programa no caso de processamento da imagem inteira.

No sentido de estimar o efeito do número de regiões processados sobre o consumo de tempo, o último bloco de quadros, com o maior número de formigas, foi processado dividindo-se a imagem em múltiplas regiões processadas independente. A Figura 6 apresenta o tempo total de processamento por quadro (ou seja, o total de tempo consumido pelo processamento de todos os ROIs) em função do número de ROIs. Os resultados demonstram que, em geral, há um aumento no tempo de processamento a medida que o número de ROIs aumenta, principalmente nas operações mais "caras" computacionalmente. Entretanto, se levamos em consideração que cada ROI é processado por uma CPU independente dos outros, é esperado uma redução considerável no tempo de processamento. Por exemplo, no caso de 20 ROIs, a redução no tempo de processamento é de pelo menos uma ordem de grandeza. A redução esperada é um pouco menor no caso das operações morfológicas, porém a redução do tempo da operação de rastreamento é mais crítica, dado que esta aumenta exponencialmente com o número de formigas.

5. Conclusões

Foi desenvolvido um novo algoritmo de segmentação de formigas e rastreamento de objetos, obtendo baixas taxas de erro ao rastrear dezenas de formigas, obtendo assim um sistema com capacidades inéditas na literatura especializada. Além do mais, a operação do sistema é eficiente o suficiente para fornecer resultados em tempo real. O sistema foi avaliado por meio de comparação com medidas de um observador humano e por meio de medidas quantitativas de consumo de tempo.

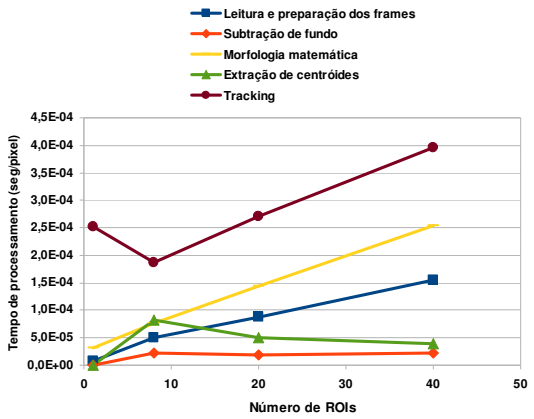

Figura 6. Tempo de processamento por pixel de algumas etapas do programa em relação ao número de ROIs.

5. Conclusões

Foi desenvolvido um novo algoritmo de segmentação de formigas e rastreamento de objetos, obtendo baixas taxas de erro ao rastrear dezenas de formigas, obtendo assim um sistema com capacidades inéditas na literatura especializada. Além do mais, a operação do sistema é eficiente o suficiente para fornecer resultados em tempo real. O sistema foi avaliado por meio de comparação com medidas de um observador humano e por meio de medidas quantitativas de consumo de tempo.

Foi realizada ainda uma análise do consumo de tempo de todas as etapas de processamento ao operando sobre múltiplas regiões, revelando um potencial considerável para uma implementação em programação paralela, possibilitando o rastreamento de centenas de elementos em tempo real. É necessário ainda avaliar o número otimal de processadores para este tipo de implementação, levando em consideração a necessidade de sincronização e comunicação entre os processos. Este tipo de sistema esta sendo desenvolvido em nosso laboratório e caso seja bem sucedida, será de grande auxílio a inúmeros campos de pesquisa e aplicação.

Agradecimentos

Os autores agradecem as sugestões dos revisores. Este trabalho teve o apoio financeiro da FAPESP e UFABC.

6. Referências

[1] P. Nonacs and J. Soriano. Patch sampling behavior and future foraging expectations in argentine ants, linepithema humile. *Animal Behavior*, 55:519-527,1998.

[2] P. Shi, G. Robinson, T. Constable, A. Sinusas, and J.S. Duncan. A model-based integrated approach to track myocardial deformation using displacement and velocity constraints. In *International Conference on Computer Vision*, pp. 687–692, 1995.

[3] D. Reid, An algorithm for tracking multiple targets, *IEEE Trans. Automatic Control*, vol. AC-24, pp. 843–854, 1979.

[4] H. Leung, Z.. Hu, M. Blanchette. Evaluation of multiple target track initiation techniques in real radar tracking environments. In *IEE Proc., Radar Sonar Navig*., Vol. 143: 246-254, 1996.

[5] Gordon, D. *Ants at Work*. The Free Press, New York, 1999.

[6] Pirsiavash, H., Ramanan, D. and Fowlkes, C.C. Globally-Optimal Greedy Algorithms for Tracking a Variable Number of Objects. In *IEEE conference on Computer Vision and Pattern Recognition* (CVPR). 2011.

[7] Benfold, B. and Reid, I.D. Stable Multi-Target Tracking in Real-Time Surveillance Video. In *Proc Computer Vision and Pattern Recognition* (CVPR). 2011

[8] Khan, Z., Balch, T. and Dellaert, F. Efficient Particle Filter-Based Tracking of Multiple Interacting Targets Using an MRF-based Motion Model. In *Int. Conf. on Intelligent Robot Systems*, pp. 254 – 259. 2003

[9] Khan, Z., Balch, T., and Dellaert, F. An MCMC-based particle filter for tracking multiple interacting targets. *Computer Vision ECCV*, pp. 279-290. 2004

[10] Balch, T., Khan, Z. and Veloso, M. Automatically Tracking and Analyzing the Behavior of Social Insect Colonies. In *Proceedings of the fifth international conference on Autonomous agents*, pp. 521–528. 2001.

[11] Atherton, D.P., Gui, E., Kountzeris, A. and Kharbouch, M.M.. Tracking Multiple Targets using Parallel Processing. In *IEE Proceedings, Part D - Control Theory and Applications*, vol. 137, pp. 225-231. 1990.

[12] Pattipati, K.R., Kurien, T., Lee, R.T. and Luh, P.B. On Mapping a Tracking Algorithm Onto Parallel Processors. In *IEEE Transactions on Aerospace and Electronic Systems*, vol. 26, pp. 774–791. 1990.

[13] Bardet, F., Chateau, T. and Ramadasan, D. Real-time multi-object tracking with few particles: A Parallel Extension of MCMC Algorithm. In *Proceedings of the Fourth International Conference on Computer Vision Theory and Applications*, pp. 456-463. 2009.

[14] Atherton, D. P.; Gul, E.; Kountzeris, A.; Kharbouch, M. M.; Tracking multiple targets using parallel processing. In *IEE Proceedings D: Control Theory and Applications*, vol. 137. 1990.

[15] Tanner, M.A.. Image Processing for Multiple-Target Tracking on a Graphics Processing Unit. Máster Thesis, Air Force Institute of Technology. Wright-Patterson Air Force Base. 2009.

[16] Exner, D., Bruns, E., Kurz, D., Grundhofer, A., and Bimber, O.. Fast and robust CAMShift tracking, In *IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition Workshops*, pp. 9-16. 2010.