UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

NATHALIA SENA POLYDORO ESTRELLA

**Influência da umidade relativa no desempenho da tarefa de busca de água
em formigas-cortadeiras da espécie *Atta sexdens rubropilosa* (Forel,
1908).**

**Influence of relative humidity on the task of water collection in the leaf-
cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908).**

São Paulo
2018

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

NATHALIA SENA POLYDORO ESTRELLA

Influência da umidade relativa no desempenho da tarefa de busca de água em formigas-cortadeiras da espécie *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908).

Influence of relative humidity on the task of water collection in the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908).

Dissertação apresentada ao Instituto de biociências da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências, na área de Fisiologia Geral.

Orientador: André Frazão Helene

São Paulo
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Sena Polydoro Estrella, Nathalia.

Influência da umidade relativa no desempenho da tarefa de busca de água em formigas-cortadeiras da espécie *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908) / Nathalia Sena Polydoro Estrella; orientador: André Frazão Helene. – São Paulo, 2018.

77 f.

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

1. Umidade ambiental; 2. *Atta sexdens rubropilosa*; 3. Escolha de trilhas; 4. Tamanho do corpo. I. Frazão Helene, André, orient. II. Título.

Comissão Julgadora

Orientador: Prof. Dr.: _____	Prof. Dr.: _____
Assinatura: _____	Assinatura: _____
Julgamento: _____	Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____	Prof. Dr.: _____
Assinatura: _____	Assinatura: _____
Julgamento: _____	Julgamento: _____

Se procurar bem você acaba encontrando.

Não a explicação (duvidosa) da vida,

Mas a poesia (inexplicável) da vida.

(Carlos Drummond de Andrade)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de começar agradecendo a Deus por me guiar em cada passo e me fortalecer a cada dificuldade.

Não poderia deixar de agradecer e prestar a minha homenagem ao professor André Frazão, que excedeu (e muito) quaisquer significados que as palavras “orientador” e “professor” podem conter, sendo um verdadeiro mestre e amigo. Obrigada pela paciência, pela compreensão, por ser uma fonte (quase) inesgotável de conhecimento, por abrandar minhas frustrações e compartilhar café e divertidas conversas quando eu dormia no meio do trabalho. Faltam palavras para descrever o privilégio de ser aluna de tão grande orientador.

Agradeço também meu marido, Fernando, por nunca deixar de me apoiar e acreditar em mim, com amor e generosidade, e sem o qual este trabalho não passaria de um sonho não realizado. Também os meus pais, por serem meus primeiros educadores e me proporcionarem a oportunidade de desenvolver minhas habilidades e sempre me superar. Por fim, agradeço todos os meus amigos e familiares, em especial minha sogra, que me apoiaram, torceram por mim e me ajudaram de maneiras diversas e maravilhosas.

Não poderia deixar de agradecer meus companheiros de trabalho, que tanto me ajudaram e com quem aprendi muito: ao dr. Pedro Leite Ribeiro, por me inspirar as primeiras ideias e esboços deste trabalho e me ensinar tanto sobre as formigas; ao professor Carlos Navas, por ter me acolhido primeiramente em seu laboratório e por todo auxílio prestado em cada etapa deste; ao Toninho, por todas as dúvidas de corredor respondidas e dicas valiosas; aos amigos Pedro Brisola, Daniele Victoratti, Marcelo Arruda, Wataru Sumi, Vitor Paiola, e todos os colegas do Laboratório de Cognição, pelo companheirismo no laboratório e fora dele, fazendo da nossa salinha e do biotério lugares agradáveis tanto para trabalhar quanto para passar o tempo conversando sobre tudo e sobre nada.

Meus agradecimentos também ao Departamento de Fisiologia, que me deu grande respaldo para a realização deste trabalho, e pela oportunidade enriquecedora de participar do Curso de Inverno. Um agradecimento especial a todos os professores com quem convivi durante o Mestrado, dentro e fora do departamento, por tudo o que me ensinaram, proporcionando-me a chance de crescer como profissional.

Agradeço também à CAPES, pelo apoio financeiro a este projeto.

Por fim, dedico esta dissertação à minha filha Rafaela, que mesmo não me deixando dormir (ou estudar), foi o maior impulso para que este trabalho fosse concluído, e também ao(s) meu(s) futuro(s) filho(s), que sempre serão minha maior paixão, acima de qualquer Ciência.

RESUMO

Fatores ambientais abióticos, como o clima, possuem um efeito profundo sobre a biologia dos organismos e sua distribuição em diferentes habitats. Os insetos, sendo o grupo animal mais abundante do planeta, tem papel importante no entendimento de como as variações climáticas afetam a vida na Terra. Neste estudo, utilizamos as formigas-cortadeiras, da espécie *Atta sexdens rubropilosa*, para tratar da importância da umidade na escolha de trilhas de forrageio. As colônias utilizadas foram separadas em dois grupos: um grupo controle, mantido em condições normais de alimentação, e um grupo experimental, alimentado com substrato seco, provocando desidratação da colônia. Os dois grupos foram submetidos a um teste de escolha de trilhas para coleta de água: uma das trilhas foi mantida úmida e a outra mantida seca. As formigas que passaram pelas trilhas, por 24 horas, foram contadas e medidas (estas últimas selecionadas aleatoriamente nas trilhas). Após análise de vídeos, os resultados mostraram que, para o fluxo, houve diferença significativa, tanto entre os grupos quanto entre as trilhas. O fluxo foi sempre maior no grupo experimental, em relação ao controle, e maior na trilha úmida que na trilha seca – sendo assimetricamente maior no grupo experimental. Este resultado demonstra que o estado fisiológico da colônia e das operárias influencia fortemente a saída de forrageadoras e a coleta de água. Além disso, mostra que a escolha da trilha foi influenciada pelo ambiente, com grande preferência das formigas pela trilha úmida. Com relação aos tamanhos, a diferença foi significativa para dois fatores: as formigas nas trilhas do grupo experimental eram, em média, menores do que as formigas do grupo controle. Há relatos de que formigas menores são especializadas em coletar água, o que explica este resultado: no grupo experimental, a dessecação impulsiona as formigas a coletar água de maneira sistemática para reidratação. No grupo experimental, as formigas eram menores na trilha seca do que as da trilha úmida, o que vai contra o esperado se levar em consideração as relações alométricas de perda evaporativa de água. É provável que esse fator esteja ligado ao engajamento na tarefa de coleta de água pelas formigas menores, que é constante nas duas trilhas, dada a necessidade da colônia. Mais estudos, no entanto, são necessários para aprimorar e aprofundar estas questões, especialmente levando em conta a dicotomia entre o comportamento individual e o coletivo.

Palavras-chave: *Atta sexdens*; umidade ambiental; escolha de trilhas; tamanho de corpo; alometria; coleta de água.

ABSTRACT

Environmental abiotic factors, such as weather, have a profound impact over the biology of organisms and their distribution on different habitats. Insects, being the most abundant animal group on the planet, play an important role to understand how climatic changes affect life on Earth. In this study, we use leafcutter ants of the species *Atta sexdens rubropilosa* in order to approach the importance of humidity in the choice of foraging trails. The colonies used were separated in two groups: a control group, kept under normal feeding conditions and an experimental group, fed with dry substrate, which provoked dehydration on the colony. Both groups were submitted to a test of trail choice for water collection: one of the trails was kept humid, while the other was kept dry. Ants that travelled through the trails over 24 hours were counted and measured (in the last case, randomly chosen on the trails). After video analysis, the results show that, regarding to flow, there was a significant difference between groups and between trails. Ants flow were always higher on the experimental group than on the control group, and higher on the humid trail than on the dry trail – being asymmetrically higher on the experimental group. These results show that the physiological state of the colony and the workers strongly influences the exit of foragers and the collection of water. Besides, it shows that trail choice was influenced by the environment, with ants preferring the humid trail. Regarding body size, the difference was significant for two factors: ants on the trails of the experimental group were, on average, smaller than ants from the control group. There are reports that smaller ants are specialized on water collection, which explains that difference: on the experimental group, dehydration pushes ants to collect water systematically for rehydrating. On the experimental group, ants were smaller on the dry trail than the ones on the humid trail, which goes against expected when we consider allometric relations for evaporative water loss. It is likely that this factor is connected to the smaller ant's engagement to the water collection task, which is constant on both trails due the needs of the colony for water. More studies, however, are necessary to improve and deepen those questions, specially taking into account the dichotomy between individual and collective behavior.

Key-words: *Atta sexdens*; environmental humidity; trail choice; body size; allometry; water collection.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
1. Ambiente e homeostase	1
1.1 Efeitos de temperatura e umidade	4
1.1.1 Relações alométricas	4
1.1.2. Seleção de habitat e orientação no ambiente	7
1.1.3. Atividade e forrageio em formigas	10
1.2. Percepção de umidade e temperatura em insetos	12
2. A sociedade das formigas cortadeiras	14
2.1. Eussocialidade	14
2.2. Divisão de tarefas	16
2.3. Comportamento coletivo e auto-organização	17
2.4. Caracterização do grupo	19
3. Manutenção da homeostase da colônia	21
3.1. Manutenção hídrica da colônia	22
4. Orientação no ambiente	25
4.1. A influência do microclima sobre a atividade de forrageio	26
OBJETIVOS	28
1. Objetivos gerais	28
2. Objetivos específicos	29
MATERIAL E MÉTODOS	29
1. Montagem experimental	29
1.1. Colônia	29
1.2. Desidratação das colônias	30
1.3. Aclimação das colônias ao experimento	30
1.4. Montagem experimental	31
2. Experimento	31
2.1. Testes – fluxo	31
2.1.1. Análise dos vídeos	32
2.2. Análise de tamanho	32
2.2.1. Medições de tamanho	33
3. Análises estatísticas	34

3.1. Fluxo	34
3.2. Tamanho	34
RESULTADOS	35
1. Fluxo	35
1.1. Caracterização do fluxo ao longo do tempo	35
1.2. Efeitos de grupo e trilha	35
1.3. Análises de fluxo	36
2. Tamanho	37
2.1. Caracterização dos tamanhos ao longo do tempo	38
2.2. Análises de tamanho	39
DISCUSSÃO	41
1. Fluxo	41
1.1. Grupo controle vs. experimental	41
1.2. Trilha seca vs. trilha úmida	41
1.3. 4 condições	44
2. Tamanho	45
2.1. Controle vs. experimental	45
2.2. 4 condições	46
2.3. Tamanho e fotoperíodo	49
3. Efeitos ambientais e mudanças climáticas	50
CONCLUSÕES	51
1. Fluxo e umidade relativa	51
2. Tamanho e umidade relativa	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Gráfico de relações alométricas	5
Figura 2. Forrageio em diferentes unidades	6
Figura 3. Sensila de <i>Drosophila</i>	13
Figura 4 (A e B). Rainha e machos alados de <i>Atta sexdens</i>	20
Figura 5. Operárias de <i>Atta sexdens</i>	21
Figura 6. Montagem experimental	31
Figura 7: Medida de tamanho	33
Figura 8. Caracterização geral do fluxo	35
Figura 9 (A, B e C). Média de fluxos	37
Figura 10. Caracterização geral dos tamanhos	38
Figura 11. Relação de tamanhos	39
Figura 12. Médias dos tamanhos	39
Figura 13. Interação entre trilha e período (dia e noite)	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise descritiva de fluxo	36
Tabela 2. Análise descritiva de tamanhos	38

INTRODUÇÃO

1. Ambiente e homeostase: superando desafios ambientais

De eventos de extinção em massa a mortes pontuais por ondas de frio ou calor, de grandes migrações a mudanças de ninho após uma inundação, o clima tem papel preponderante na vida de todos os organismos. Não há como imaginar o conceito de *milieu intérieur*, expressado por Claude Bernard no século XIX para definir o meio interno de um organismo, se não pensarmos que há também um meio externo, o ambiente, no qual este organismo e seu meio interno estão inseridos (GUYTON e HALL, 2002). De fato, o conceito da homeostase e o funcionamento dos sistemas biológicos para mantê-la dependem de como o organismo, que precisa manter seu meio interno “estável”, lida com as mudanças constantes do meio externo. Assim, o estudo da fisiologia e do comportamento, associados ao estudo do meio, se fazem essenciais para uma compreensão mais global de padrões de distribuição nos ambientes e taxas de mortalidade de populações, por exemplo; além disso, estudos integrados ajudam a gerar previsões, ainda que inexatas, sobre o futuro da biosfera neste painel de mudanças climáticas.

O clima de um ambiente tem imensa importância na seleção dos organismos que nele sobreviverão e se estabelecerão, gerando padrões de distribuição de espécies de acordo com o clima (PERRY ET AL, 2005; SHI-BO E XIN-SHI, 2014; GOTELLI E STANTON-GEDDES, 2015; HUMAN ET AL., 1998). Darwin, em seu célebre “Origem das Espécies”, fala sobre os efeitos do clima na seleção natural.

O clima goza de um papel importante quanto à determinação da média de uma espécie, e a volta periódica dos frios ou das secas extremas parece ser o mais eficaz de todos os obstáculos. Tenho calculado, baseando-me em alguns ninhos construídos na Primavera, que o Inverno de 1854 a 1885 destruiu os quatro quintos das aves da minha propriedade; foi uma destruição terrível, quando se compara com os 10% que para o homem constituem uma mortalidade extraordinária em caso de epidemia. À primeira vista, parece que a ação do clima é absolutamente independente da luta pela existência; mas é necessário lembrar que as variações climatéricas atuam diretamente sobre a quantidade de nutrição, e produzem assim a mais viva luta entre os indivíduos,

quer da mesma espécie, quer de espécies distintas, que se nutrissem do mesmo gênero de alimentos. Quando atua diretamente, o frio extremo, por exemplo, são os indivíduos menos vigorosos, ou os que têm à sua disposição menor nutrição durante o Inverno, que sofrem mais. Quando vamos do sul para o norte, ou passamos de uma região úmida para uma região seca, notamos sempre que certas espécies se tornam cada vez mais raras, e acabam por desaparecer; a alteração de clima, ferindo os nossos sentidos, dispõe-nos a atribuir este desaparecimento à sua ação direta. Ora, isto não é exato; esquecemos que cada espécie, nos mesmos pontos onde é mais abundante, sofre constantemente grandes perdas em certos momentos da sua existência, perdas que lhe infligem inimigos ou concorrentes ao mesmo habitat e para a mesma nutrição; ora, se estes inimigos ou estes concorrentes são favorecidos, por pouco que seja, por uma leve variação do clima, o seu número cresce consideravelmente, e, como cada distrito contém já tantos habitantes quantos pode nutrir, as outras espécies devem diminuir. Quando nos dirigimos para o sul e vemos uma espécie diminuir em número, podemos estar certos que esta diminuição atinge tanto uma outra espécie que é favorecida como a primeira que sofreu um prejuízo. Dá-se o mesmo, ainda que em menor grau, quando vamos para o norte, porque o número de espécies de todas as qualidades, e, por consequência, dos concorrentes, diminui nos países setentrionais. Também encontramos muitas vezes, dirigindo-nos para o norte, ou fazendo a ascensão de uma montanha, o que nos não sucede seguindo uma direção oposta, formas definidas, devidas diretamente à ação nociva do clima. Quando atingimos as regiões árticas, ou os píncaros cobertos de neves eternas, ou os desertos absolutos, a luta pela existência existe apenas com os elementos (p. 83-84).

Vemos, neste trecho, que Darwin destaca a influência indireta do clima, ao favorecer uma espécie em detrimento de outra – um argumento comum utilizado ao tratar de espécies invasoras e doenças emergentes, por exemplo – ou modificar a disponibilidade de alimento. A ação direta do clima, para Darwin, ocorre apenas quando o clima pode ser nocivo aos organismos, como em desertos ou montanhas nevadas. Embora estas suposições sejam, em sua maioria, intrinsecamente corretas e corroboradas por inúmeros estudos, não é possível desprezar a ação direta do clima – mesmo quando ele não é tão “extremo” – sobre a distribuição, a sobrevivência e o comportamento dos organismos, visto que atualmente muitos estudos mostram importantes correlações entre alterações menos severas do clima, a distribuição e a fisiologia dos organismos (ALBOUY et al., 2014; PUTNAM, 2015; WOODIN et al., 2013).

Especialmente nos últimos 50 anos, estudos focados nos efeitos do clima e das alterações climáticas têm crescido muito e ganhado imenso destaque no meio científico. Isto se deve à aceleração das mudanças climáticas resultante da ação antrópica e aos impactos diretos destas mudanças sobre a distribuição e abundância de diversas espécies, com prejuízos ainda difíceis de estimar com precisão (IPCC, 2012). As modificações causadas pelas mudanças climáticas têm preocupado muitos pesquisadores com relação à distribuição das espécies nos seus ambientes. Isto é especialmente relevante para espécies invasoras (HUMAN et al., 1998), de habitat restrito (DIRNBÖCK et al., 2011), vetores de doenças (GITHEKO et al., 2000) e pragas (THOMSON et al., 2010). O efeito destas mudanças é global, e atinge praticamente todos os ecossistemas da Terra (NOWROUZI et al., 2016; IPCC, 2012).

Em biomas tropicais, nos quais o clima é relativamente estável, as espécies tendem a ser mais especializadas na sua distribuição, e podem ser mais sensíveis a sutis mudanças climáticas do que espécies que habitam ecossistemas com maiores flutuações de temperatura e umidade (GRAHAM et al., 2010; McCANN, 2000; NOWROUZI et al., 2016). Esta especialização é consequência da íntima relação entre o clima de um determinado habitat – especialmente temperatura e umidade – e a anatomia e fisiologia dos organismos que nele vivem (SOMERO, 2010; HILL et al., 2012; WILLIAMS e TIELEMAN, 2005).

Sendo o grupo animal mais abundante existente, os insetos ocupam praticamente todos os ambientes terrestres, à exceção dos polos. Como consequência, é inquestionável sua relevância nos ecossistemas terrestres, e estudos sobre o grupo nos levam a uma melhor compreensão dos ecossistemas terrestres e da interação entre os seres vivos (RUPPERT e BARNES, 1996; HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Diversos estudos mostram que os insetos tem grande impacto sobre os ecossistemas, seja na ciclagem de matéria orgânica, estrutura e qualidade de solo, como polinizadores, vetores de doenças, pragas agrícolas, entre outros (GITHEKO et al., 2000; WEISSER e SIEMANN, 2008). Além disso, são também excelentes indicadores ambientais, graças à sua abundância, ao seu tamanho pequeno, ciclos de vida curtos e alta sensibilidade a alterações de temperatura e umidade. Esta última característica

é facilmente observável, com estudos demonstrando alterações nos padrões de distribuição e atividade como consequência de mudanças climáticas (PRATHER et al., 2013; NOWROUZI et al., 2016; BALE et al., 2002). Vários estudos demonstram, por exemplo, que em ecossistemas tropicais, mudanças na umidade têm grande impacto na atividade e abundância de artrópodes terrestres (LEVINGS e WINDSOR 1984; WOLDA 1988; KASPARI e WEISER, 2000).

Entre os insetos, formigas são consideradas ótimos objetos de estudo para distribuição de fauna, sendo os insetos dominantes em número de indivíduos nas florestas tropicais, com grande relevância ambiental como predadores e/ou herbívoros, além de mostrarem-se sensíveis a mudanças em fatores bióticos e/ou abióticos do ambiente (WEISSER e SIEMANN, 2008; NOWROUZI et al., 2016; TIEDE et al., 2017;). Estudos com formigas demonstram que estas mostraram respostas significativas a mudanças ambientais – em torno de um quarto a metade das espécies de formigas, considerando apenas as espécies abundantes o suficiente para análise estatística (HOFFMANN, 2010; FISHER et al., 2014; TIEDE et al., 2017).

1.1 Efeitos de temperatura e umidade

1.1.1. Relações alométricas

As taxas de ganho/perda de calor, bem como as taxas de perda evaporativa de água, são intrinsecamente dependentes do tamanho de animais filogeneticamente relacionados. Estas relações alométricas ocorrem porque a cada aumento em unidade de massa de um animal, menor a superfície corporal proporcional para trocas apresentada – razão superfície-volume. Assim, animais menores tendem a ter maiores taxas de perda de água evaporativa e ganho/perda de energia térmica. Esse efeito também depende de outros aspectos relevantes, tanto pela maior superfície de trocas em relação ao volume corporal quanto ao considerarmos que animais menores geralmente têm maiores taxas metabólicas por unidade de peso que animais maiores do mesmo grupo, o que leva a maior perda de água respiratória (HILL et al., 2012)^a.

a. Estas relações são bem estudadas em vertebrados endotérmicos, mas são descritas em estudos com diversos outros grupos, como artrópodes, podendo estas mesmas regras ser aplicadas, com algumas ressalvas.

Figura 1. Gráfico mostrando as relações alométricas de perda evaporativa de água em razão do peso corporal e habitat de diversos animais. Observa-se que a taxa de perda evaporativa de água varia muito entre diferentes tipos de artrópodes e vertebrados, principalmente em função de habitat e tamanho corporal. Figura de Hill e Wyse, 1989, retirada de Hill e Wyse, 2012.

Assim, a resistência à dessecação tende a aumentar com o tamanho de maneira exponencial (HOOD e TSCHINKEL, 1990), embora também dependa da permeabilidade cuticular de cada indivíduo, que pode variar de acordo com o táxon, especialmente em insetos (KASPARI, 1993; GIBBS, 1998), e habitat (MENZEL et al., 2017). Entretanto, há alguns dados conflitantes, especialmente para insetos, se há realmente uma forte correlação entre o tamanho do corpo do animal e a taxa de desidratação que este sofre (vide figura 1 e WALTER et al., 1975).

As relações de perda e ganho de energia térmica seguem padrões bem semelhantes, com animais maiores ganhando e perdendo esta energia por condução mais lentamente que animais menores (HILL et al., 2012). Assim, animais pequenos perdem energia térmica mais rápido. Mais ainda, estes animais têm altas taxas de perda evaporativa de água. Assim, a dessecação é um fator limitante para pequenos artrópodes (AYTON et al., 2016), tanto pelos aspectos envolvendo o calor quanto evaporação.

Considerando a importância do tamanho para a perda evaporativa de água, vários estudos têm sido conduzidos nesta linha. Kaspari, em 1993, sugeriu que formigas pequenas tendem sempre a localizar-se e forragear em locais mais úmidos, enquanto formigas maiores tendem a ser mais generalistas em relação

à umidade. Isso porque formigas maiores teriam maior tolerância à perda evaporativa de água, e formigas menores seriam mais vulneráveis à perda de água. Kaspari e Weiser (2000) sugerem que formigas menores seriam mais ativas e propensas a forragear em ambientes mais úmidos, devido ao menor risco de dessecação. Entretanto, o contrário não é necessariamente verdadeiro: seus resultados mostram que não há aumento significativo no tamanho das formigas em locais mais secos. Assim, o risco de dessecação imposto pela relação superfície-volume é apenas um de vários fatores que determinam a atividade de forrageio em diferentes gradientes de umidade (KASPARI e WEISER, 2000).

Por fim, estudos conduzidos por Lighton e Bartholomew (1988) indicaram uma tendência de aumento da atividade motora em situação de estresse hídrico. Segundo os autores, o aumento de atividade pode sugerir uma reação de fuga do ambiente dessecante, uma vez que, em condições naturais, quando submetidas a um ambiente estressante, as formigas têm a opção de voltar para o ninho ou procurar abrigo. Outros estudos indicam, por sua vez, que a atividade de forrageio é mais intensa sempre em maior umidade, como mostra a figura 2 (LEWIS et al., 1974).

Figura 2. Frequência de forrageio a diferentes umidades relativas. Gráfico de Lewis et al, 1974.

1.1.2. Seleção de habitat e orientação no ambiente

Fatores abióticos como temperatura e umidade podem flutuar muito em ambientes naturais. Assim, os animais, em primeiro lugar, precisam ser sensíveis às nuances e mudanças de microclima em um ambiente e, em segundo lugar, ter a capacidade de responder a estas condições, seja pela alteração do comportamento, escolhendo o lugar mais adequado às suas condições fisiológicas para viver e se alimentar, por exemplo, seja por mudanças fisiológicas (WEST-EBERHARD et al., 1989, STUCKI et al., 2017). Sendo assim, os animais precisam adotar diferentes estratégias para lidar com mudanças microclimáticas, uma vez que cada espécie opera dentro de certa faixa ideal de temperatura e umidade. Em animais sociais – especialmente em formigas que formam grandes ninhos –, estas relações são ainda mais complexas, pois a tolerância de cada indivíduo é bem mais restrita que a da colônia como um todo, especialmente quando consideramos que a colônia pode controlar as condições microambientais do ninho (POTTS et al., 1984; JARAU e HRNCIR, 2009).

Tanto temperatura quanto umidade mostram-se importantes para a escolha de habitat e/ou área de forrageio de insetos, especialmente os eussociais. Entretanto, os dados da literatura diferem quanto à relevância de cada uma destas condições. Alguns trabalhos, como os de Arnan e Blüthgen (2015) e Stucki et al. (2017), bem como outros estudos clássicos, tendem a considerar que a temperatura é mais relevante que a umidade para escolha de ninhos. Por outro lado, outros estudos, especialmente conduzidos com espécies tropicais, consideram que a umidade é tão relevante quanto (ou até mais do que) a temperatura, chegando a mostrar *trade-off* entre temperatura e umidade (BOLLAZZI e ROCES, 2010; PARKASH e RANGA, 2014; AYTON et al., 2016).

Mas, talvez, a pergunta a ser feita não seja “qual é mais importante: umidade ou temperatura?”, mas sim como temperatura e umidade, isoladamente ou em conjunto, interagem para modificar os padrões fisiológicos e comportamentais de uma espécie, bem como os padrões de distribuição de populações nos ecossistemas.

Diversos estudos mostram a sensibilidade e preferência dos insetos por ambientes mais úmidos. Formigas em laboratório, por exemplo, sempre parecem escolher o gradiente com maior umidade, e permanecem por mais tempo no ambiente úmido, podendo mesmo ter maiores taxas de sobrevivência no local mais úmido (WALTERS e MACKAY, 2003; JEANSON et al., 2004). Quando submetidas a fluxos de ar seco, as formigas podem modificar seus padrões comportamentais, modificando a estrutura dos ninhos para manter a umidade interna (BOLLAZZI E ROCES, 2010) ou apresentando aumento de atividade motora (LIGHTON e BARTHOLOMEW, 1988), por exemplo. Através destes e de outros estudos, podemos perceber que insetos, em particular formigas, percebem gradientes de umidade e reagem buscando um ambiente sempre úmido.

Um estudo com a espécie invasora *Linepithema humile*, conhecida como formiga argentina, mostra uma preferência por ambientes mais úmidos, com temperaturas amenas, para construir seus ninhos, demonstrando pouca tolerância à dessecação. Estudos como esse, que mostram a distribuição de espécies exóticas nos ecossistemas invadidos, podem ajudar a compreender melhor como espécies invasoras competem com espécies nativas – neste caso, provavelmente espécies que habitam climas mais úmidos e amenos são mais prejudicadas pela competição com a formiga argentina (HOLWAY et al., 2002), quando ocorre a dessecação do ambiente.

Todos os ecossistemas terrestres estão, em maior ou menor escala, sujeitos a variações climáticas durante as estações do ano. A resposta fisiológica dos animais a variações ambientais pode ser de aclimação a condições crônicas em curtos períodos de tempo (dias ou semanas) e/ou aclimatização a mudanças sazonais em ciclos anuais (meses e anos) (KIM e WANG, 2016). O estudo de Stroeymeyt et al. (2014) demonstra que formigas *Temnothorax albipennis* escolhem locais para construir seus ninhos temporários de acordo com as estações do ano. Outro estudo, com *Acromyrmex heyeri*, formigas que formam ninhos grandes e duradouros, observou que as formigas demonstram preferência por locais mais úmidos para construir seus ninhos, procurando ativamente materiais para a construção ao encontrar o ambiente apropriado. Além disso, as operárias também modificam a estrutura dos ninhos, mantendo

as condições ideais de temperatura e umidade em face das alterações no ambiente (FROUZ, 2000; BOLLAZZI E ROCES, 2010).

Não somente as variações sazonais são importantes para o animal adulto, como condições diferentes de temperatura e umidade durante o período de desenvolvimento podem levar a mudanças no padrão fenotípico exibido pelo adulto. Em diversos táxons de insetos, a aclimação durante o desenvolvimento influencia na resistência à dessecação, por exemplo (HOFFMAN e HARSHMAN, 1999). Geralmente, insetos aclimatados em temperaturas mais altas e/ou menores umidades apresentam maior resistência à dessecação durante o desenvolvimento, até a fase adulta, do que insetos aclimatados em situações de menor estresse hídrico (PARKASH e RANGA, 2014; HOFFMANN et al., 2005).

O estresse causado por condições climáticas adversas pode levar a diversas modificações fisiológicas, comportamentais e até genéticas. Em insetos, genes *heat-shock* (geralmente associados a estresse) sofrem alteração na expressão quando há mudanças ambientais, especialmente de temperatura e umidade. Outros genes também podem ter expressões alteradas, como genes que controlam metabolismo e vias imunológicas, levando a maior susceptibilidade a doenças em animais sujeitos a estresse climático (STUCKI et al., 2017). Um exemplo de aplicação prática destes princípios é o uso destas informações para controle de pragas: a aplicação de um agrotóxico pode ser mais eficaz quando o clima é desfavorável (temperaturas altas e baixa umidade relativa do ar, p.e.), reduzindo a quantidade do produto necessária e amplificando seu efeito sobre os alvos (NAYAK e COLLINS, 2008). O estudo de Ofuya e Reichmuth (2002) com o besouro gránívoro *Callosobruchus maculatus*, considerado uma importante praga agrícola, demonstra os efeitos da umidade sobre a letalidade da atmosfera modificada – um método considerado mais seguro para o controle de pragas em ambientes de estocagem de grãos. O estudo mostra que quanto menor a umidade relativa, mais eficiente o efeito letal da atmosfera modificada, já que os besouros ficam mais vulneráveis à perda de água através dos espiráculos, que se mantêm abertos graças à hipóxia causada pela atmosfera modificada.

Desta forma, podemos concluir que o clima possui papel essencial na escolha de habitat dos insetos, sejam eles solitários ou sociais, já que o clima é determinante para a sua sobrevivência no ambiente, seja de maneira direta, por modificações fisiológicas e ontogênicas, por exemplo, seja de maneira indireta, determinando a disponibilidade de alimento, os competidores que vivem naquele habitat em particular, entre outros fatores. Assim, compreendendo melhor como este fascinante e abundante grupo evoluiu e interage com seu ambiente, além de reagir a mudanças neste, podemos melhorar nossa própria interação com os insetos, seja no controle de pragas e doenças ou na conservação de espécies, por exemplo.

1.1.3. Atividade e forrageio em formigas

O clima afeta, também, os padrões de atividade de diversos animais. Desde grandes migrações de gnus nas planícies africanas até a reprodução das cigarras, quase todos os animais podem modificar seu comportamento e seus padrões de atividade em resposta a variações climáticas, especialmente sazonais (HOLDO et al., 2009; WILLIAMS e SIMON, 1995).

É muito comum a queixa que no verão há um aumento significativo na quantidade e diversidade de insetos no ambiente. Qualquer pessoa pode notar o aumento de pernilongos (VEZZANI et al., 2004), baratas (THOMS e ROBINSON, 1986) e formigas (CALDATO et al., 2016) na estação quente e úmida. Em outras palavras, o clima quente e úmido dos trópicos parece favorecer os insetos, aumentando sua abundância e atividade no ambiente.

Já discutimos que insetos demonstram grande preferência por ambientes úmidos, e que parecem ter maiores taxas de sobrevivência quando a umidade é alta. Em outras palavras, embora a preferência por faixas de temperatura variem muito em insetos, especialmente em relação ao seu ambiente natural, (HAMADA et al., 2008; CORSER et al., 2015; PORTER e TSCHINKEL, 1993), a preferência por umidade relativa alta parece quase unânime, especialmente em espécies tropicais. É importante considerar, também, que a influência da temperatura e da umidade relativa sobre os padrões de atividade são intimamente dependentes entre si (AZCÁRATE et al., 2007). Assim, embora muitos trabalhos foquem mais em um fator ou em outro, é necessário que os

estudos, tanto em campo quanto em laboratório, saibam integrar de maneira harmoniosa as duas variáveis, para evitar vieses.

De fato, variações diárias e sazonais de umidade e temperatura podem limitar e regular a duração e intensidade das atividades realizadas pelas formigas, especialmente nas atividades externas à colônia, como o forrageio (AZCÁRATE et al., 2007). Há evidências de que o microclima do ambiente que cerca a colônia, bem como as entradas do ninho e até das trilhas pode afetar os ritmos de forrageio, tanto quanto fatores bióticos, como competição e predadores, ainda que nem sempre seja claro como os mecanismos que levam a estes ritmos são influenciados pelo clima (JARAU e HRNCIR, 2009; LEWIS et al., 1974; CALDATO et al., 2016; HOLLDOLBLER E WILSON, 2010).

Há diversas hipóteses que tentam explicar porque o aumento da umidade leva ao aumento de ritmo de atividades em formigas e outros insetos (TALBOT, 1943). Foi sugerido por Kaspari e Weiser (2000) que as colônias de formigas buscam, em suas atividades de forrageio, reduzidos riscos de dessecação, aumento na disponibilidade de alimento, ou uma combinação dos dois fatores (JARAU e HRNCIR, 2009). Há diversos estudos com resultados robustos corroborando estas teorias, como o de Potts et al. (1984): formigas de ambientes xéricos, méxicos e úmidos mostram de maneira consistente início/aumento de atividade em ambientes com maior umidade relativa, tanto em laboratório quanto em campo (DAVIDSON, 1977; AZCÁRATE et al., 2007), o que demonstra o valor adaptativo da percepção e resposta a diferentes gradientes de umidade para espécies de diferentes ambientes. Foi também sugerido que a busca por trilhas mais úmidas ocorra pelo uso da umidade como pista informativa: um ambiente úmido pode ter maior disponibilidade de recursos (DUROU et al., 2001; WALTERS e MACKAY, 2003), e, desta forma, a umidade seria um fator de orientação no ambiente.

Embora muitos trabalhos demonstrem os efeitos de umidade sobre a sobrevivência das formigas e seus níveis de atividades, especialmente para o forrageio, poucos tentam demonstrar a umidade relativa como um fator de orientação na escolha de trilhas (JEANSON et al., 2004). Há alguns poucos trabalhos que indicam esta possibilidade, especialmente quando as formigas

estão engajadas em alguma tarefa ou são treinadas para seguir os gradientes de umidade (POTTS et al., 1984). Se considerarmos a temperatura como fator orientador, há mais dados na literatura: o trabalho Kleineidam et al. (2007) mostrou a capacidade de formigas-cortadeiras em utilizar a temperatura como pista para encontrar o alimento, desde que treinadas para isso. Apesar de ser considerada uma pista indireta, que exige treino, foi sugerido que esta capacidade seja adaptativa, especialmente dentro do ninho: a radiação térmica (proveniente do fungo, por exemplo) pode servir para orientar as operárias através dos túneis.

Por fim, até mesmo o início do forrageio pode estar ligado a fatores climáticos. Alguns trabalhos sugerem que a mudança de “inativa” para “ativa”, em operárias, depende muito da temperatura e umidade relativa (AZCÁRATE et al., 2007). Foi observado que antes do início do forrageio, formigas exploradoras caminham pelas entradas do ninho e de trilhas explorando sensorialmente o ambiente. Algumas destas voltam para a colônia e, aparentemente, recrutam as forrageadoras (LEWIS et al. 1974). Entretanto, é importante ressaltar que o risco de dessecação e a temperatura não são os únicos fatores que influenciam os padrões de atividade, pois estado nutricional, táxon, história evolutiva, disponibilidade de alimento, idade, etc. são todos fatores de grande importância na determinação da atividade de insetos em geral, e formigas em particular (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990; RAHBÉ et al., 2009). Assim, é importante uma visão global sobre o animal e seu ambiente, para evitar conclusões simplistas ou errôneas sobre o que determina o nível de atividade de um organismo ou colônia.

1.2. Percepção de umidade e temperatura em insetos

Em maior ou menor grau, todos os animais têm que lidar com múltiplas pistas sensoriais que lhes dão informações sobre as variações, a consistência e a confiabilidade das informações provenientes do ambiente. Detectar umidade pode ser questão de vida ou morte para animais pequenos como os insetos, mais suscetíveis à rápida desidratação (KIM e WANG, 2016). Vários estudos demonstram que os insetos são capazes de perceber a umidade relativa do ambiente e modular seu comportamento de acordo com os gradientes de

umidade. Estes estudos podem avaliar esta capacidade de maneira direta, através da observação de receptores de umidade nas antenas, ou indireta, através da observação de mudanças comportamentais induzidas por mudanças no ambiente (SILVA et al., 2011).

No caso de estudos diretos, há descrições de sensilas nas antenas de *Drosophila* (KIM e WANG, 2016), baratas (YOKOHARI e TATEDA, 1976), abelhas (YOKOHARI, 1983), entre outros insetos. Em *Drosophila*, por exemplo, cada sensila possui três receptores: um que responde ao ar seco, um que responde ao ar úmido e um que responde ao frio (mas possivelmente não ao calor), como podemos ver na figura 3.

Figura 3. Sensila de *Drosophila*, com destaque para as funções das 3 células nela contidas e a forma do lobo antenal onde ocorrem as sensilas. Imagem de Susy M. Kim e Jing W. Wang.

Em baratas e abelhas, cada sensila também contém 3 células: uma que responde ao ar seco, outra que responde ao ar úmido e outra que responde a variações de temperatura (YOKOHARI e TATEDA, 1976; YOKOHARI, 1983). Importante notar que temperatura e umidade, em todos os casos, são processadas por células diferentes, não havendo, possivelmente, a influência de um estímulo sobre a percepção do outro (ENJIN et al., 2016). Todos os estes receptores parecem ser ativados através de canais iônicos receptores de potencial transitório (TRP), mas há poucos estudos conclusivos na área (KIM e WANG, 2016; CLAPHAM, 2003).

Em formigas, embora alguns estudos cite a presença de sensilas sensíveis a temperatura (KLEINEIDAM E TAUTZ, 1996; RUCHTY ET AL., 2009), nenhum estudo foi encontrado sobre higrorreceptores no grupo até o momento, embora

muitos trabalhos indiquem a capacidade de formigas de perceber e reagir a variações de umidade relativa, como veremos em seguida.

Estudos que relacionam a percepção de umidade ao comportamento são bem mais comuns para insetos em geral. Estes estudos sugerem, inclusive, que insetos parecem ser sensíveis não somente à presença de água no ar, mas à “quantidade” de água no ar, e podem se orientar por diferenças na umidade relativa dos ambientes pelos quais transitam (KIM e WANG, 2016).

Assim, para os insetos, a seleção do ambiente no qual viver e forragear pode significar sobreviver ou não. Dentre tantos fatores bióticos a considerar – como predadores, disponibilidade de alimento, entre outros – cabe aos insetos eussociais analisar também as condições abióticas de seu habitat, dada sua sensibilidade a fatores como temperatura e umidade relativa, para levar ao máximo as chances de sobrevivência da colônia.

2. A sociedade das formigas cortadeiras

2.1. Eussocialidade

Desde a Antiguidade, humanos tem sido fascinados pela observação da imensa capacidade de organização das formigas, sua presença em quase todos os ambientes e a capacidade de autossacrifício de cada formiga pela sua colônia (KELLER E GORDON, 2009). E um dos grandes segredos do sucesso destes animais é a socialidade.

Entre os assuntos estudados sobre os insetos, destaca-se particularmente o estudo da organização social de alguns grupos, especialmente de espécies de Hymenoptera e Isoptera (OSTER E WILSON, 1978). Há muitos debates em torno da evolução da socialidade, considerando sua abrangência entre diferentes grupos animais e o sucesso de animais sociais na ocupação de ambientes muito diversos (WILSON, 1975), além da grande abundância de indivíduos: a biomassa apenas de formigas supera a biomassa de todos os vertebrados não-humanos combinados, e responde por mais de metade de toda a biomassa de insetos do mundo (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Portanto, a socialidade não é um fenômeno de importância marginal ou fruto do

acaso, mas parece ser altamente favorável na escala evolutiva (NOWAK et al., 2010).

Os animais sociais são divididos em categorias, de acordo com o grau de socialidade, sendo a eussocialidade o mais alto grau de sofisticação de tal tipo de organização. Os animais eussociais possuem três características básicas: (1) cooperação para o cuidado da prole; (2) sobreposição de pelo menos duas gerações que contribuem para o trabalho da colônia; e (3) divisão reprodutiva do trabalho, com operárias totalmente, ou em sua maioria, estéreis (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Neste grupo estão inclusas todas as espécies de formigas, cupins, muitas espécies de abelhas, algumas vespas e ratos-toupeira pelados (WILSON, 1975).

Uma das principais vantagens da socialidade é a divisão de tarefas: a capacidade de realizar múltiplas tarefas paralelas, de maneira sistematizada e relativamente independente da qualidade de um único indivíduo – mesmo que ele falhe, outro poderá ter sucesso e garantir a continuidade da tarefa (OSTER e WILSON, 1978; HÖLLDOBLER e WILSON, 1990; HART e RATNIEKS, 2001). Esta grande organização dos insetos eussociais levou alguns autores, como Hölldobler e Wilson (2009) a considerarem colônias como superorganismos.

Colônias foram consideradas organismos pela primeira vez em 1911, por W. M. Wheeler (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Muitos pesquisadores defendem esta ideia, como Hölldobler, Wilson (1990, 2009), Detrain e Deneubourg (2006), Tautz (2008), Seeler (1989), entre outros, embora a teoria também tenha ferrenhos críticos, incluindo o célebre evolucionista Richard Dawkins (2008). Os principais argumentos utilizados para classificar as colônias como superorganismos são que cada colônia:

- Se comporta como uma unidade;
- Demonstra idiosincrasias em comportamento, tamanho e estrutura em relação à espécie.
- Tem um ciclo adaptativo de crescimento e reprodução.
- Dividido em “porção vegetativa” ou “soma” (operárias) e porção reprodutiva (rainhas e machos).

- A seleção natural age sobre as colônias como um todo, visto que cada colônia se comporta como um “organismo” reprodutivo (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990; GORDON et al., 2013).

Embora não haja consenso sobre a hipótese do “superorganismo”, nem mesmo sobre como evoluiu a eussocialidade (NEWARK et al., 2010) há um grande número de estudos sobre insetos eussociais, dos pontos de vista ecológico, econômico e fisiológico, graças a seu grande sucesso evolutivo, sua relevância para o equilíbrio (ou desequilíbrio) de ecossistemas terrestres e sua alta capacidade de organização, entre outras características importantes que serão discutidas brevemente a seguir.

2.2. Divisão de tarefas

Uma das principais características dos insetos eussociais é a divisão de tarefas entre castas especializadas. Castas podem ser definidas como grupos de indivíduos responsáveis por um conjunto de tarefas necessárias para a manutenção da colônia. Esta divisão pode se basear em características morfológicas – polietismo morfológico, encontrado em cupins e algumas espécies de formigas – e/ou idade – polietismo temporal, encontrado na maioria das formigas e abelhas (BESHERS e FEWEL, 2001; HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Formigas da espécie *Atta sexdens*, por exemplo, podem apresentar os dois tipos de divisão: tanto diferenças de tamanho quanto de idade podem ajudar a definir qual tarefa será desempenhada pelas operárias (OSTER e WILSON, 1978; WILSON, 1980). Estas tarefas incluem forrageio, formação e manutenção de trilhas, cuidado às larvas, defesa da colônia, disposição do lixo, escavação, entre outras (WILSON, 1980; HÖLLDOBLER E WILSON, 1990; HART E HATNIEKS, 2001). A divisão de tarefas pode ser considerada a chave do sucesso de animais (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990; ROBINSON et al., 2009).

Em ambientes estáveis, cada tarefa poderia ser desempenhada por apenas uma casta altamente especializada. Entretanto, como os ambientes são dinâmicos e imprevisíveis, é necessária certa flexibilidade na distribuição de tarefas (ROBINSON et al., 2009). Apesar de tamanho e idade serem bons

preditores de qual tarefa uma formiga pode realizar, as operárias apresentam uma grande flexibilidade, sendo capazes de realizar quaisquer tarefas não reprodutivas, em determinadas circunstâncias (GORDON, 1989; BESHES e FEWEL, 2001).

Tal flexibilidade envolve a possibilidade que uma mesma formiga se adeque de forma diferente em condições ou momentos diferentes. Vários modelos tentam explicar como as formigas tomam a decisão de realizar ou não uma determinada tarefa. Entre estes, podemos citar: 1) o modelo de limiares de resposta – cada formiga possui um limiar interno para a realização de uma tarefa – quanto menor seu limiar, mais provável é que ela realize a tarefa; 2) o modelo de auto-reforço – a realização bem-sucedida de uma tarefa aumenta a probabilidade de realizar esta tarefa novamente; 3) o modelo de forrageio-por-trabalho – baseia-se na localização espacial da tarefa e na sua necessidade; 4) modelos de inibição social – interação entre fatores internos de desenvolvimento (idade) e inibição química por outras operárias para uma determinada tarefa; 5) modelos de rede de comunicação social – transferência de informação entre operárias sobre o número de formigas em uma tarefa levará uma operária a se engajar ou não em uma dada tarefa (BESHES e FEWEL, 2001). Independente do modelo, todos podem ser adotados de maneira válida, em menor ou maior grau, para explicar o comportamento coletivo das formigas.

2.3. Comportamento coletivo e auto-organização

Uma fascinante característica associada às colônias de formigas envolve a capacidade de organizar o trabalho. De fato, é tema atual o debate sobre como uma colônia inteira de formigas, que pode conter milhões de indivíduos, é capaz de se organizar para realizar todas as tarefas necessárias à manutenção da homeostase da colônia. Há muito se sabe que não há um controle central por trás da incrível capacidade de organização de insetos sociais ((HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Em vez disso, temos um sofisticado sistema de auto-organização.

Auto-organização é a formação de padrões em um sistema, sem que haja uma organização central. Os padrões emergem de comportamentos simples e das

interações entre os elementos internos do sistema, que tem acesso apenas a informações locais, mas não a informações gerais do sistema. Por exemplo, em um grupo de formigas seguindo uma trilha de feromônio, cada formiga se orienta pela concentração de feromônio local na trilha, mas não tem acesso ao padrão geral de atividade desta trilha (CAMAZINE et al., 2001). Assim, mesmo que o repertório de comportamentos de uma operária seja relativamente simples e limitado (p.e. perceber a concentração de feromônios), a interação entre todos os indivíduos da colônia, através da comunicação, neste caso, leva à formação de trilhas de forrageio que podem ser intrincadas, longas e altamente eficientes para a manutenção da colônia (CALDATO et al., 2016). Portanto, padrões globais complexos podem ser originados de comportamentos individuais relativamente simples (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990; JEANSON et al., 2003). Em formigas, p.e., decisões coletivas podem ser tão acuradas e eficazes quanto decisões individuais de certos vertebrados (KREBS e DAVIES, 1984), mesmo considerando que a capacidade individual de processamento de informações de um vertebrado excede em muito o de uma formiga individualmente (CAMAZINE et al., 2001; STROYEMEYT et al., 2014). É o que muitas vezes é descrito como “inteligência coletiva”.

A auto-organização da colônia é produzida e mantida pelas interações entre os indivíduos (CAMAZINE et al., 2001; GORDON, 2010). A tomada de uma decisão por um indivíduo provoca mudanças no sistema, à medida que este indivíduo interage com outros membros da colônia: como uma pequena perturbação na água gera ondas cada vez mais amplas, o comportamento individual é amplificado até o nível coletivo. Isto porque estas interações são reforçadas pela transmissão de informações locais, pela amplificação de sinais (*feedback* positivo) e pela cooperação entre os membros do sistema, que geram respostas em grupo (DENEUBOURG e GOSS, 1989; SUMPTER, 2010). Todos estes fatores, somados, levam à formação de padrões globais, mesmo que cada membro da colônia ignore estes padrões. O fenômeno da amplificação, do individual ao coletivo, é bastante abrangente, presente desde em partículas até imensos grupos sociais (CAMAZINE et al., 2001). De fato, é impressionante observar colônias gigantescas, como as de formigas-cortadeiras, que podem conter milhões de indivíduos e altíssimos níveis de

socialização, manter unidade e coesão nos comportamentos coletivos por decisões consensuais, utilizando a sinalização entre os indivíduos como o principal trunfo para a geração de padrões. Na verdade, quanto maior o nível de socialização, mais sofisticada a sinalização e o recrutamento, já que há maior necessidade de decisões consensuais dos indivíduos para manter a unidade da colônia (CAMAZINE et al., 2001). Assim, a complexidade cognitiva coletiva “substitui” a complexidade cognitiva individual (COUZIN, 2008).

Há um esforço em mostrar, através de modelos matemáticos e experimentos, como os padrões individuais de comportamento levam a decisões coletivas, gerando um bem organizado sistema de divisão de tarefas. (GORDON et al., 2013; JEANSON et al., 2003) Um exemplo concreto de como decisões individuais são moldadas por decisões coletivas, e vice-versa: se um indivíduo chega a uma opção nova, em que não haja nenhum outro de seu grupo ou colônia, seu grau de comprometimento com aquela escolha é muito mais baixo do que se, naquele local, já houver outros indivíduos do grupo que tenham feito esta escolha, sendo que, quanto maior o número de indivíduos nesta opção, maior o grau de comprometimento de cada um com ela (CAMAZINE et al., 2001).

2.4. Caracterização do grupo: formigas cortadeiras.

As formigas da tribo *Attini*, que inclui 12 gêneros – sendo mais estudados os gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, como principais representantes –, são os herbívoros dominantes na região neotropical, consumindo mais vegetação que qualquer outro grupo animal (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Conhecidas como formigas-cortadeiras, ocupam diversos habitats na região neotropical, e são reconhecidas como pragas econômicas, posto que atacam boa parte da vegetação, causando grandes danos à agricultura, desde as primeiras monoculturas do Brasil colonial (MARICONI, 1970; AUTUORI, 1941 *apud* DA-SILVA, 2009).

As formigas cortadeiras estão entre os mais complexos e avançados grupos de insetos sociais. Suas colônias podem chegar a abrigar milhões de indivíduos, que vivem em ninhos gigantescos, moldando a paisagem onde se encontram (MOREIRA et al., 2004). Nestes ninhos, as formigas cultivam um fungo

simbionte, sendo os gêneros *Leucoagaricus* e *Leucocoprinus* os mais comuns de se encontrar (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990; Schultz & Brady, 2008).

Em saúvas (*Atta* sp.) e quenquéns (*Acromyrmex* sp), o fungo é cultivado pelo depósito de folhas frescas, que são usadas como substrato para o crescimento do fungo. O primeiro pesquisador a intuir que as folhas cortadas eram utilizadas para cultivar um fungo simbionte foi Belt, em 1874. A observação do fato se deu em 1893, por Möller (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Por muito tempo se acreditou que tanto as formigas adultas quanto as larvas se alimentavam primariamente do fungo. Entretanto, Quinlan e Cherret, em 1979, descreveram minuciosamente a dieta de operárias, rainhas e formas imaturas, demonstrando que, enquanto o fungo é o principal alimento das larvas, corresponde a apenas 15% da dieta das adultas, que podem se alimentar de diversas outras fontes (folhas frescas, frutas, grãos, sacarose, etc.). Dentre as espécies da tribo *Attini*, damos particular destaque à espécie *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908, conhecida popularmente como saúva-limão, que é o modelo experimental deste estudo. Esta espécie forma colônias grandes, que podem chegar a mais de 7 milhões de indivíduos, e cultivam o fungo da espécie *Leucoagaricus gongylophora* (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Apresentam grande polimorfismo entre as castas reprodutiva (rainha e macho, figura 4) e estéril (operárias, figura 5), e entre as operárias, que podem variar de menos de 3mm a 1,5cm (RIBEIRO, 2009).

Figura 4. A. Rainha alada de *Atta sexdens*. B. Machos alados de *Atta sexdens*. Barra: 1cm. Fotos de Bueno et al., 2002.

Figura 5. Operárias de *Atta sexdens rubropilosa*. Foto de Pedro Ribeiro.

3. Manutenção da homeostase da colônia

Quando enfrenta mudanças ambientais, um organismo, seja ele social ou não, pode apresentar uma resposta estereotipada, ou seja, uma resposta sempre igual e previsível, que independe do ambiente, ou respostas adaptativas, que incluem mudanças complexas e flexíveis de comportamento ou desenvolvimento de acordo com as condições do ambiente. Em animais sociais, esta gama de comportamentos e mudanças fisiológicas individuais e/ou coletivas leva a uma autorregulação da colônia, gerando o que alguns chamam de homeostase social (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Esta regulação das condições vai desde a quantidade de alimento disponível para as larvas até as condições ambientais dentro do ninho. Em formigas que cultivam fungo, por exemplo, as operárias escolhem o material de substrato para o fungo com base na resposta de crescimento deste. Componentes químicos que podem ser tóxicos para o fungo, quando misturados a alimentos com taxas normalmente altas de aceitação, fazem com que estes mesmos alimentos passem a ser rejeitados após uma semana. A rejeição pode durar várias semanas, sugerindo um aprendizado associado (RIDLEY et al., 1996).

Sob a perspectiva ambiental, a manutenção da homeostase pode ser muito desafiadora para uma colônia: o ninho pode ser afetado por enxurradas, secas prolongadas e ondas de calor que podem levar a colônia à morte, especialmente se considerarmos as rainhas e formas imaturas, que costumam ter baixa ou nenhuma mobilidade (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Assim, cabe às operárias manter o ninho em condições estáveis de temperatura, umidade, níveis de CO₂, etc., para a sobrevivência da colônia como um todo. Em espécies tropicais, a temperatura ideal do ninho está entre 20 e 30°C (POWEL e STRADLING, 1986; MEZGER e PFEIFFER, 2010). Para regular a

temperatura do ninho, as formigas empregam diversas técnicas na construção dos ninhos, desde a engenharia dos túneis até a escolha de materiais utilizados, além da migração ou regulação do calor metabólico, aumento da temperatura por agrupamento e diminuição por dispersão. (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990; BOLLAZZI e ROCES, 2010; ROSENGREEN et al., 1987).

Como se poderia esperar frente a tal característica de dependência da temperatura e umidade, alterações climáticas levam, por exemplo, a alterações na estrutura dos ninhos. O experimento de Bollazzi e Rocés (2007), utilizando fluxos de ar seco em colônias de *Acromyrmex ambiguus*, mostrou que as formigas respondem a sutis mudanças de umidade: ocorreu acúmulo de fragmentos de folha nos túneis em que havia fluxo de ar seco, mas não quando foi feito um fluxo de ar úmido ou mantida uma perda passiva de umidade. Foi, assim, demonstrado que as condições ambientais modificaram a dinâmica de construção dos túneis para evitar dessecação do interior do ninho e, por consequência, do fungo que as formigas cultivam. Outro ponto interessante deste experimento foi que as formigas não fecharam completamente os túneis com fluxo de ar seco, provavelmente para evitar aumento de CO₂ dentro do ninho. Para formigas que cultivam fungo, é especialmente importante regular a umidade do ninho, pois estudos sugerem que estas colônias podem ser menos resistentes à dessecação (BUJAN et al., 2016).

3.1 Manutenção hídrica da colônia.

Geralmente, formigas de todos os habitats estão sujeitas a algum nível de estresse por dessecação. Até colônias de florestas tropicais podem modificar a estrutura e padrão de distribuição no ninho durante a estação seca, alocando o fungo cultivado para câmaras com maior umidade, por exemplo (ROCÉS e KLEINEIDAM, 2000). Sendo assim, as formigas empregam diversas técnicas para regular a umidade do ninho, algumas bastante peculiares. As formigas da espécie *Pachycondyla villosa*, por exemplo, enfrentam grandes perigos de dessecação durante o verão. Muitas operárias, neste período, saem em busca de fontes de água, coletam algumas gotas em suas mandíbulas e levam para a colônia, onde permanecem imóveis, permitindo que as outras formigas da colônia bebam da água em suas mandíbulas (HÖLLDOBLER e WILSON,

1990). Em formigas da tribo *Attini*, a dependência de altos níveis de umidade é levada ao extremo, já que o fungo cultivado tem seu ápice de crescimento quando a umidade relativa na câmara está acima de 90% (STAHEL e GEIJSKES, 1940 *apud* ROCES e KLEINEIDAM, 2000). Assim, em conjunto com temperatura e concentração de CO₂, a umidade é um poderoso fator limitante para cultivo do fungo (ROCES e KLEINEIDAM, 2000).

Formigas da espécie *Acromyrmex heyeri* foram estudadas por Bollazzi e Roces (2010) para verificar como as variações das condições climáticas externas influenciam o número de aberturas na câmara do fungo. Observou-se que quando a temperatura aumentava, as operárias aumentavam o número de aberturas, possivelmente para resfriar a câmara do fungo, que idealmente deve se manter em torno de 30°C nesta espécie. Por outro lado, quando a umidade relativa era baixa, as operárias diminuía o número de aberturas, provavelmente para evitar a dessecação do fungo. Foram realizadas várias combinações de temperatura e umidade e uma das combinações teve resultados interessantes: quando a umidade estava baixa e a temperatura alta, as formigas diminuía o número de aberturas, mostrando um *trade-off* entre temperatura e umidade – manter a umidade alta (através do fechamento dos orifícios) parece mais vantajoso do que resfriar o ninho (abrindo mais orifícios) para a sobrevivência do fungo.

Ao sairmos do ambiente “controlado” do ninho, percebemos que a forrageadora é mais afetada pela umidade ambiental, estando exposta a condições menos estáveis de temperatura e umidade. Além disso, sua tolerância individual é bem diferente da tolerância da colônia como um todo (FRANCKE e COKENDOLPHER, 1986). Esta é mais uma vantagem da socialidade: a capacidade de colonizar ambientes que seriam hostis a um indivíduo solitário, que precisa realizar todas as tarefas necessárias à sua sobrevivência, sem o “revezamento” e a proteção ambiental disponibilizados pela colônia e pelo ninho (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990).

Uma das maneiras de realizar tais processos de controle envolve a coleta constante de água, como observado em estudos com abelhas que podem, sob determinadas condições, coletar água (HUMAN et al., 2006; KÜHNHOLZ e

SEELEY, 1997). Em formigas, entretanto, este comportamento parece menos comum, e foi descrito poucas vezes na literatura (AUTUORI, 1941 *apud* RIBEIRO e NAVAS, 2008; DA-SILVA et al., 2012). Em formigas-saúva, por exemplo, sob condições normais, a umidade do ninho e das folhas frescas é suficiente para manter a umidade do fungo dentro do ideal. Entretanto, se a colônia sofre desidratação – pela falta de disponibilidade de alimentos ricos em água –, esta tarefa passa a ser realizada de maneira sistemática pela colônia (RIBEIRO E NAVAS, 2008). É provável que a busca e coleta de água ocorram por influência do fungo, que parece ser mais sensível à desidratação que as operárias. O estudo de Ribeiro e Navas (2008) mostra diferenças na coleta de água pelas operárias que não podem ser explicadas apenas pela sede individual de cada formiga. Este mesmo estudo sugere a possibilidade de formigas individualmente beberem água e/ou compartilharem água com as companheiras de ninho, mas não há dados, até o momento, que corroborem esta teoria.

O estudo de Da-Silva et al. (2012) sugere que, embora a coleta de água seja uma tarefa apenas ocasional e, portanto, não seja provável que haja uma casta especializada na coleta de água, apenas formigas pequenas são observadas coletando água para umidificação do fungo. É uma tarefa particionada: formigas maiores buscam as fontes de água e menores transportam água para a colônia. Assim, no começo do forrageio por água, temos formigas maiores. Ao longo da realização da tarefa, o tamanho médio diminui de maneira significativa. É sugerido que formigas pequenas talvez sejam melhores em transportar água diretamente para o fungo, posto que as jardineiras e enfermeiras são castas com formigas majoritariamente pequenas (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Assim, é possível que as próprias jardineiras estejam sendo realocadas para a coleta de água, levando-a diretamente para o fungo – estudos futuros seriam necessários para testar esta hipótese. Esta teoria ganha força se levarmos em conta que a transferência de líquidos entre formigas – trofalaxia – demora algumas horas para acontecer, dificultando o particionamento da atividade de coleta de água e umidificação do fungo (DA-SILVA, 2010).

4. Orientação no ambiente: onde e como forragear.

Animais podem se valer de inúmeras informações para navegação no ambiente. Podemos dividir estas informações em três grandes categorias: orientação inata, em que as respostas motoras são ligadas a informações externas; informações idiotéticas (ou auto-geradas), que funciona como um senso de direção (inclui contagem de passos, medidas de angulação da trilha e posição em relação ao Sol, por exemplo); e aprendizado, em que o animal se orienta através de um “mapa cognitivo” do ambiente, utilizando referências visuais, táteis e/ou químicas. Combinando todas estas informações, gera-se uma navegação multimodal, em que as diversas modalidades de informação somam-se para gerar uma navegação mais precisa pelo ambiente, além de levar à formação de memórias mais ricas e exatas deste (KNADEN e GRAHAM, 2016).

Formigas são animais com excepcional capacidade de navegação pelo ambiente, podendo se afastar dezenas de metros do ninho para forragear, muitas vezes em ambientes com poucas pistas visuais, como desertos (WEHNER et al., 2014; HUBER e KNADEN, 2015; GRAHAM e MANGAN, 2015). Há evidências que formigas socialmente mais complexas, como as da tribo *Attini*, utilizam e integram mais informações para navegação do que as espécies com colônias menores e mais primitivas, como *Trachymyrmex* e *Ectatomma* (JAFFÉ et al., 1990).

Nem todas as operárias tem a mesma tendência a sair do ninho. A saída do ninho depende da casta, da tarefa a realizar, de fatores bióticos (como predadores, p.e.) e de condições ambientais, entre outros fatores (HÖLLDOBLER, 1976; GORDON, 2001). A formiga recrutadora (ou exploradora), por exemplo, tem uma tendência maior a sair espontaneamente do ninho e explorar o ambiente que uma forrageadora comum (DENEUBOURG et al., 1990; CAMAZINE et al., 2001). Em formigas de colônias grandes, com recursos localmente estáveis, é muito comum o forrageio coletivo, em que uma ou mais formigas exploram o ambiente por recursos, e depois recrutam outras operárias. No estágio inicial da exploração de um recurso, a formiga que o encontra retorna ao ninho deixando uma marcação de feromônio atrás de si.

Esta marcação leva ao recrutamento de outras forrageadoras, sendo que cada formiga que explora a trilha deixa sua própria marcação, o que atrai mais formigas, e assim por diante, em um processo de *feedback* positivo (CAMAZINE et al., 2001; GOSS et al., 1990; HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). A informação sobre o recurso coletada pela formiga exploradora molda o tipo de recrutamento resultante – deixar ou não um trilha de feromônios, tipo e quantidade de marcação -, levando à maximização da exploração do recurso (JARAU e HRNCIR, 2009; GORDON et al., 2013).

4.1. A influência do microclima sobre a atividade de forrageio.

O forrageio de formigas pode ser afetado tanto por fatores bióticos (competição, predadores, etc.) quanto abióticos (temperatura, umidade, luminosidade, entre outros), e podem variar tanto diariamente quanto sazonalmente (JARAU e HRNCIR, 2009). Estudos sobre atividade e fatores ambientais podem ser valiosos para controle de pestes – considerando, por exemplo, que mais formigas são ativas em altas umidades e temperaturas amenas, bem como no início da noite, pode-se estimar as melhores condições para colocar iscas com veneno, por exemplo. Além disso, podem ser informações fundamentais para o controle de populações invasoras nesta época de mudanças climáticas (CALDATO et al, 2016).

Devido à sua importância tanto econômica quanto ecológica, há vários estudos sobre os padrões de forrageio de formigas cortadeiras (WILSON, 1973; LEWIS et al., 1974; BOUCHEBTI et al., 2015). Muitos destes estudos mostram que a maioria das espécies do grupo tem seus ritmos de atividade e forrageio muito influenciados pela temperatura e umidade relativa (HÖLLDOBLER e WILSON, 2011; LEWIS et al., 1974), embora os mecanismos que levam a estes padrões – e até mesmo a relevância do clima – não sejam muito claros. É importante que outras influências mais sutis, como luminosidade e necessidades nutricionais, sejam levadas em consideração quando falamos de forrageio. (CALDATO et al., 2016; GIESEL et al., 2013). De fato, há indícios claros que a disponibilidade de alimentos e outros fatores bióticos podem ser mais relevantes que a umidade, sob determinadas circunstâncias. Consideremos uma trilha de forrageio com boas condições climáticas: alta umidade,

temperaturas amenas, luminosidade adequada. Se houver pouco alimento, mesmo que as condições ambientais sejam favoráveis, a taxa de retorno das operárias, e, portanto, de recrutamento de novas operárias para a trilha, tende a cair, fazendo com que a saída de operárias e, assim, o fluxo na trilha, diminua (GORDON et al., 2013). Isto ocorre porque o processo de amplificação de sinal é essencial para a formação de trilhas em formigas cortadeiras: cada formiga recrutada deposita feromônio na trilha, aumentando o potencial de recrutamento para a trilha (JARAU e HRNCIR, 2009).

Considerando apenas o efeito da umidade na definição de fluxo em uma trilha, o estudo de Caldato et al. (2016) evidencia haver uma correlação entre a atividade de forrageio e a umidade relativa do ambiente. Neste estudo, as formigas tiveram maior atividade nas trilhas durante a estação úmida (entre 60 e 90%), enquanto que na estação seca (entre 40 e 80%) houve queda na atividade das trilhas. Também a eficiência do forrageio foi influenciada pela umidade relativa: durante a estação úmida, a eficiência foi significativamente mais alta, com maior coleta e folhas que na estação seca. É possível que isso ocorra porque a alta umidade estimula a formiga que retorna ao ninho a recrutar mais formigas para o forrageio. Também é possível que a umidade influencie a sensibilidade das formigas aos feromônios, já que outros estudos mostram que quanto maior a umidade, maior a taxa de saída de forrageadoras (GORDON et al., 2013; outro). Além disso, como já discutido, a umidade pode ser uma pista sobre a fonte de alimento, além de ser menos desafiante para as operárias forragear em ambientes mais úmidos.

A observação detalhada de alguns aspectos, como oferecido até aqui mostra a importância dos estudos de estratégias coletivas e individuais frente a demandas ambientais. Mais ainda, como tais aspectos se apresentarão frente a desafios concernentes a alterações de umidade. Assim parece importante definir: (1) qual o impacto real de variações de umidade nas estratégias coletivas de forrageio pela análise dos padrões coletivos, (2) como estratégias individuais se organizam no bojo dos padrões coletivos observados, e (3) como estas estratégias podem ser alteradas em condições de dessecação do fungo. Tal abordagem parece tanto poder tratar das estratégias e da organização das formigas individual e coletivamente, quanto poder oferecer alicerce para

debates sobre o impacto de alterações ambientais na sobrevivência destas colônias.

Considerando tudo o que foi exposto até o momento, fica clara a necessidade de estudos sobre a relação das formigas cortadeiras com seu ambiente, devido à sua sensibilidade a fatores abióticos do ambiente e a influência destes fatores sobre sua fisiologia e seu comportamento. Assim, o foco deste estudo é estabelecer a relação entre a fisiologia e comportamento destas formigas com a umidade relativa ambiental, através de experimento em laboratório, no qual podemos controlar melhor as demais variáveis (temperatura, luminosidade, etc.).

OBJETIVOS

1.1. Objetivos gerais

Neste trabalho, foi estudada a espécie *Atta sexdens rubropilosa*, muito comum no Brasil, que recebe especial atenção nas pesquisas há décadas por seu papel ecológico e econômico (AUTUORI, 1941; MARICONI, 1970). É uma espécie que forma colônias muito complexas (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990; BEGON et al, 2006), exigindo uma organização excepcional na divisão de tarefas para a manutenção da homeostase da colônia (DA-SILVA, 2010). Dentre estas tarefas, destacamos a manutenção da umidade da colônia.

Para todos os artrópodes, que tem tamanho reduzido e ocupam ambientes muito diversos, a umidade relativa desempenha um importante papel na sobrevivência, seleção de habitat, entre outros fatores. Para as formigas cortadeiras a umidade tem outro papel: para a manutenção do fungo do qual as formigas dependem, é essencial que a umidade do ninho seja muito alta. Sendo assim, a construção do ninho, a seleção de alimento e o estado do jardim do fungo devem ser cuidadosamente controlados pelas operárias para evitar a dessecação e enfraquecimento do fungo.

Mudanças de microclima podem alterar tanto o clima dentro do ninho quanto o estado fisiológico das colônias (DA-SILVA, 2010; BOLLAZZI e ROCES 2009). Sendo assim, formigas desidratadas podem buscar água e/ou alimentos mais úmidos para se hidratar, ou podem apresentar este comportamento para

aumentar a umidade do fungo e do ninho. Assim, o principal objetivo do presente estudo é determinar como a umidade relativa influencia o comportamento coletivo das formigas, especialmente no esforço de coleta de água para a colônia.

1.2. Objetivos específicos

Tendo tantas pesquisas que demonstram a capacidade de insetos em geral (YOKOHARI, 1983; KIM e WANG, 2016) e formigas em particular (POTTS e COKENDOLPHER, 1984) de detectar gradientes de umidade no ambiente, os principais objetivos dos experimentos realizados são verificar: a) a possibilidade de modulação ambiental do comportamento, através do oferecimento de diferentes condições de umidade relativa em trilhas, com possibilidade de escolha das formigas; b) a influência do estado fisiológico da colônia na escolha de trilhas e execução da tarefa de coleta de água; c) se há diferença morfológica no perfil das operárias e seu padrão de escolha em cada condição, considerando parâmetros fisiológicos e comportamentais envolvidos nas possíveis diferenças.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Montagem experimental

O presente estudo foi realizado com formigas da espécie *Atta sexdens rubropilosa*.

1.1. Colônias

Foram utilizadas, no total, 12 subcolônias diferentes de *A. sexdens*, estabelecidas em laboratório no Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, todas com mais de 3 anos de idade, consideradas, assim, “maduras”. As colônias foram armazenadas em recipientes cilíndricos de acrílico transparente, com tampa, de 1.900 mL, contendo o fungo e, de acordo com estimativas prévias, cerca de 300 mil formigas (RIBEIRO e NAVAS, 2008). As subcolônias, cada uma composta por um pote de fungo + operárias, foram separadas da colônia original, sendo colocadas em uma bandeja de plástico,

cujas bordas superiores foram pintadas com uma mistura de álcool e talco inodoro, para impedir a fuga das formigas.

Todas as subcolônias foram retiradas de colônias-mãe diferentes, para evitar qualquer viés de aprendizagem. A exceção foram os testes com as colônias F1 e C (ver numeração adiante), que foram retiradas da mesma colônia. No entanto, os testes com estas foram feitos com potes diferentes e com cerca de 1 ano de diferença – é provável que forrageadoras não vivam muito mais que um ano (OSTER e WILSON, 1978), embora esta hipótese não parece ter sido testada até o momento.

1.2. Desidratação das colônias

Seis subcolônias foram submetidas a estresse hídrico. Conforme sugerido em estudos prévios de Ribeiro e Navas (2008) e Da-Silva (2012), para levar as formigas a coletar água é necessário provocar dessecação na colônia. Para tanto, a alimentação, usualmente de folhas frescas, foi substituída por quirera de milho e flocos de aveia, por cerca de 20-30 dias, tempo necessário para o início da coleta sistemática de água ser observada. Os testes com estas colônias foram realizados a partir do início da coleta da água. As outras seis colônias, por sua vez, foram mantidas nos níveis normais de hidratação, a caráter de controle, e testadas diretamente após o período de aclimação. Todas as 12 colônias foram submetidas às mesmas condições nos testes.

1.3. Aclimação das colônias ao experimento

A aclimação para todos os testes teve duração mínima de 48 horas, e consistia na colocação da subcolônia na bandeja de teste (figura 6), com as trilhas fechadas. A sala de testes foi mantida à temperatura de 25°C (+/- 1°C) e umidade relativa de 70% (+/-5%), sendo estas condições monitoradas através de um termohigrômetro Oregon. Um temporizador acoplado à luz branca da sala controlava o fotoperíodo (12h/12h), sendo a luz ligada sempre às 6h – o temporizador não foi alterado no horário de verão. Durante todo o período de testes, uma luz vermelha ficou ligada, para permitir a filmagem no fotoperíodo escuro – as formigas não são sensíveis à luz vermelha (MARTINOYA et. al,

1975). As trilhas eram abertas apenas no início do teste, e as formigas paravam de receber alimento fresco 24h antes dos testes.

1.4. Montagem experimental

Cada colônia foi conectada a duas bandejas por duas trilhas de acrílico, que foram mantidas fechadas durante os testes, conforme a figura 1. Uma das trilhas (trilha seca – TS) foi mantida a uma umidade relativa de cerca de 50%, através da colocação, na tampa, de sílica-gel e gesso seco. A outra trilha (trilha úmida – TU) foi mantida a cerca de 100% de umidade relativa, através da colocação de uma camada de gesso umidificado na tampa da caixa. Em cada trilha foi colocado um medidor HOBO U 10-003 (T/RH) data logger, da OnSet, para monitoramento das condições – as medidas eram feitas a cada 15 minutos. Das medidas tiradas durante os experimentos foi feita uma média, que gerou os valores citados anteriormente. As trilhas foram alternadas entre direita e esquerda nos experimentos, de maneira aleatória, para evitar qualquer viés de lateralidade.

Figura 6. Esquema da montagem experimental. A. Bandeja para depósito de lixo; B. Bandeja da colônia; C. Trilhas paralelas e idênticas, que conduzem às bandejas de água em D; I. Pote do fungo; II. Câmeras; III. Pires com água.

2. Experimento

2.1. Testes – fluxo

Os testes foram realizados com as 12 colônias separadamente, alternando testes com as colônias do grupo controle e as do grupo experimental. Os testes foram idênticos para os dois grupos, e consistiram em oferecer água nas duas bandejas em um vidro de relógio contendo 15mL de água e, por 24h, monitorar

e contabilizar as formigas nas trilhas, observando o fluxo de formigas em cada trilha. A alimentação das formigas foi suspensa 24h antes dos testes, e permaneceu assim durante os testes. As filmagens foram realizadas com câmeras Microsoft LifeCam cinema, posicionadas na saída da trilha para a bandeja com água. As câmeras foram ligadas a um computador e os vídeos gravados pelo software I Spy (versão 6.5.8.0), em resolução 640x360 pixels, a 5 fps, em formato MP4. A gravação foi contínua, e os vídeos foram separados em gravações de 15 minutos cada, totalizando 2.304 vídeos (24horasx4vídeosx2trilhasx12testes), com um total de 576 horas de filmagem. Todos os vídeos foram analisados através do player BS.Player versão 2.70, e a contagem foi feita manualmente.

2.1.1. Análise dos vídeos

Os dados resultantes da contagem foram tabulados de acordo com o quarto de hora (contagens realizadas a cada 15 minutos) – sendo estes dados, para análise e produção de gráficos, agrupados de hora em hora. Além disso, foram estabelecidos 4 fatores, de acordo com o tratamento e a trilha de cada contagem: trilha seca/grupo experimental (SE), trilha seca/grupo controle (SC), trilha úmida/grupo experimental (UE) e trilha úmida/grupo controle (UC). As contagens geraram um tabela com 2.305 linhas e 7 colunas, que foi usada para as análises estatísticas. As contagens representam o fluxo, ou seja, a atividade geral em cada condição. As 12 colônias utilizadas foram caracterizadas: A, B, C, D, E e F para as colônias do grupo experimental e A1, B1, C1, D1, E1 e F1 para as colônias do grupo controle.

2.2. Análise de tamanho

Utilizando a mesma montagem experimental e os mesmos vídeos colhidos para a análise de fluxo, foi recolhido o material para a análise de tamanho. Nesta análise, foram colhidos frames aleatórios para 8 colônias (4 experimentais e 4 controles, escolhidas aleatoriamente). Estes frames foram tirados através do mesmo software de vídeo, a cada 7 minutos, aproximadamente, durante as 24 horas de filmagem, para cada trilha. As imagens colhidas foram analisadas através do software ImageJ 1.51K, conforme exemplo da figura 7.

Figura 7: Frame utilizado para medida de tamanho. A reta amarela realiza a medição dos pixels – e, assim, do tamanho – da formiga, de acordo com a escala previamente determinada.

2.2.1. Medições de tamanho

A referência para a medida foi um quadrado de 1cmx1cm colocado na área de filmagem e fotografado antes do início de todos os experimentos, e após a calibragem das câmeras.

Este quadrado foi medido no programa ImageJ, gerando um determinado número de pixels. Este valor de pixels era, então, utilizando como escala, e o programa automaticamente gerava o tamanho de cada formiga, por simples regra de três: nº de pixels da formiga — tamanho em cm da formiga

nº de pixels da escala — 1cm

Assim, o tamanho de cada formiga foi obtido em cm. Para minimizar possíveis erros e vieses, as formigas escolhidas para medida, caso houvesse mais de 2 por frame, eram escolhidas de baixo para cima da imagem, e da esquerda para a direita. Apenas formigas com contornos nítidos (paradas) e com o corpo “reto” – sem escalar as paredes ou fazer autolimpeza, p.e. – foram utilizadas na contagem. Os frames foram analisados em conjunto com os vídeos e em sequência temporal, para evitar a medição de formigas mortas.

A cada hora foram tiradas as medidas do comprimento total do corpo de 10 formigas para cada trilha e cada colônia, por 24 horas, resultando em 3.840 medidas (2trilhasx8colôniasx10medidasx24horas). As medianas destas medidas foram usadas para análise estatística, totalizando 384 dados para análise (1mediana/trilha/colônia/hora). As medidas de tamanho geraram uma tabela com 6 colunas e 385 linhas para a análise de variância. Após a realização do teste de Tukey, os dados da mediana passaram por transformação logarítmica para adequação à normalidade, e os dados logarítmicos foram utilizados para a ANOVA.

As medianas e os dados em escala logarítmica (logmed, na tabela) foram classificados de acordo com o período (dia ou noite) e as quatro categorias de análise – trilha seca/grupo experimental (SE), trilha seca/grupo controle (SC), trilha úmida/grupo experimental (UE) e trilha úmida/grupo controle (UC).

3. Análises estatísticas

3.1. Fluxo

O software SPSS versão 23 e o software R 3.3.0 (pacote RCmdr) foram utilizados para as análises de fluxo e construção dos gráficos. Como os dados não passaram em um teste de normalidade (Shapiro-Wilk) mesmo após correção logarítmica, foram aplicados testes não paramétricos. Foi realizada uma análise de comparações múltiplas, utilizando o teste de Wilcoxon para amostras pareadas (utilizando as variáveis grupo e trilha separadamente), e o teste de Friedman, para verificar a interação entre todos os fatores (SE, UE, SC, UC, pareando com período – D/N).

3.2. Tamanho

Para a análise de tamanhos, foi realizada uma ANOVA multiway no software R 3.3.0 (pacote RCmdr), e teste de Tukey para análises de comparações múltiplas, no mesmo software, utilizando as mesmas variáveis (trilha, grupo e período). Para a análise de tamanhos ao longo do tempo, também foi utilizada uma ANOVA multiway, contrastando hora (1 a 24) e tamanho.

RESULTADOS

1. Fluxo

Os dados referentes aos fluxos foram analisados ao longo dos vários pontos de coleta, e organizados, para fins de análise, por hora. Por conta dos dados não passarem em uma análise de normalidade foram utilizadas estratégias de análise não paramétricas.

1.1. Caracterização do fluxo ao longo do tempo

A figura 8 mostra a caracterização geral do fluxo de formigas ao longo das 24h de experimento.

Figura 8. Caracterização geral do fluxo. A hora 1 refere-se à primeira hora do experimento (abertura das trilhas, em torno de 16h). A área demarcada representa as horas de escuro (noite).

1.2 Efeitos de grupo e trilha

O teste de Mann-Whitney U para amostras independentes mostrou uma diferença significativa entre o fluxo durante o dia e durante a noite ($p < 0,001$), independente da condição experimental, como já esperado de acordo com dados da literatura (ARRUDA, 2013; CHERRET, 1968). Há também um aumento bastante grande do fluxo de formigas na primeira hora, compatível com o esperado, se consideramos que na primeira hora há intensa atividade de

exploração das novas trilhas, que aumenta até a estabilização do fluxo, devido ao estabelecimento das trilhas e marcação de feromônios.

Os dados para análise de fluxo entre grupo (controle e desidratado) e trilha (seca e úmida) gerou os dados da tabela 1, em que estão apresentadas a média total de formigas que passaram pela trilha em cada condição, bem como outras análises descritivas. O n refere-se à quantidade de contagens para cada condição ao longo do tempo, totalizando 2.304 contagens. Vale notar que a variância é alta porque a média inclui os valores de todos os testes em todos os horários, e o período (claro e escuro) tem grande impacto no fluxo, como veremos a seguir.

Tabela 1. Análise descritiva do fluxo de formigas em cada condição.

Grupo	Trilha	Condições	N	Média	EP
Controle	Seca	SC	576	35,5	1,28
Controle	Úmida	UC	576	71,3	2,43
Dessecado	Seca	SE	576	98,2	3,48
Dessecado	Úmida	UE	576	148,5	3,16

1.3. Análises de fluxo

Uma análise de Wilcoxon, aplicada para averiguar diferenças isoladas entre cada um dos valores de fluxo nos grupos e trilhas, mostrou que há diferenças significativas entre cada uma das condições ($p < 0,001$). Isto significa que todas as condições diferem entre si, e a distribuição e média de fluxos entre cada uma delas é sempre diferente de todas as outras.

A figura 9 mostra a diferença geral entre as 4 condições testadas. A média de fluxo entre todas as condições é significativamente diferente (teste de Friedman: $p < 0,001$) (figura 9C). Quando os fatores trilha e grupo são isolados, também encontramos diferenças significativas tanto entre as trilhas (Mann-Whitney: $p < 0,001$) (figura 9A) quanto entre os grupos (Mann-Whitney: $p < 0,001$) (figura 9B).

Figura 9. Diferença da média de fluxos nas diferentes condições experimentais. A. Diferença entre médias de fluxo nas trilhas; B. Diferença entre médias de fluxo entre os grupos. C. Contraste entre todas as condições.

2.Tamanho

Os dados para análise das 4 condições gerou os dados da tabela 2, em que estão apresentadas a média total dos tamanhos das formigas que passaram pela trilha em cada condição, bem como outras análises descritivas. O n refere-se à quantidade de medidas (mediana de cada conjunto de observações utilizadas como amostra) para cada condição ao longo do tempo, totalizando 384 medidas.

Tabela 2. Análise descritiva das médias de tamanho das formigas em cada condição. A média refere-se às medianas dos tamanhos medidos.

Condições	N	Média (cm)	EP
SC	96	0,59	0,02
UC	96	0,55	0,01
SE	96	0,53	0,01
UE	96	0,56	0,01

2.1. Caracterização dos tamanhos ao longo do tempo

Para caracterização dos tamanhos ao longo do tempo, foi realizada uma análise de variância multifatorial (MANOVA). Não há variação no tamanho das formigas nas trilhas ao longo de tempo, independente do tratamento ($F_{23,16} = 0,967$; $p=0,51$). A figura 8 mostra o comportamento dos tamanhos nas 4 condições ao longo de 24h de experimento. A área sombreada de cinza corresponde às horas de escuro (“noite”) do experimento.

Figura 10. Caracterização geral dos tamanhos ao longo do tempo. A hora 0 refere-se à primeira hora do experimento (abertura das trilhas, em torno de 16h). A área demarcada representa as horas de escuro (noite).

2.2. Análises de tamanho.

A diferença de tamanho entre as 4 condições mostrou-se significativa ($p=0,001$ $F_{3,96}=5,567$); assim, quando consideramos a interação entre trilha e grupo, há diferença nas médias de medianas dos tamanhos de formigas presentes em cada condição, como podemos ver na figura 11.

Figura 11. Relação de tamanhos entre as 4 condições.

Ao isolarmos os fatores, o fator tratamento (experimental ou controle) também mostrou-se significativo ($p=0,027$ $F_{1,96}=4,931$ grupo). Como podemos ver na figura 12, as formigas do grupo experimental são, em média, significativamente menores que as do grupo controle.

Figura 12. Diferença entre médias dos tamanhos das formigas nos grupos (ou tratamentos) experimental e controle. As médias referem-se às medianas.

Se isolarmos somente as trilhas, no entanto, não há diferença significativa de tamanho ($p=0,815$ $F_{1,96}=0,055$). Assim, embora a condição fisiológica da colônia (desidratada ou não) seja importante para determinar a escolha de trilha pelas formigas, com base no tamanho, a condição ambiental somente, sem interagir com o tratamento, não possui efeito significativo sobre a escolha de trilha.

O período (dia ou noite) também não apresentou efeito significativo sobre os tamanhos das formigas, nem isoladamente ($p=0,164$, $F_{1,96}=1,948$), nem quando associado ao grupo ($p=0,8$, $F_{1,96}=0,064$). Entretanto, quando há interação entre o período e as trilhas, há uma tendência de mudança no padrão de tamanhos, especialmente na trilha úmida, embora a diferença não seja significativa ($p=0,053$ $F_{1,96}=3,77$). Embora não seja significativa, esta tendência merece menção e discussão, especialmente quando associamos este resultado a outros da literatura (ARRUDA, 2013; BRISOLA, 2017, no prelo).

Figura 13. Efeito de interação entre trilha e período (dia e noite – dn) sobre a média de tamanhos das formigas. A média corresponde à mediana dos tamanhos observados.

DISCUSSÃO

1. Fluxo

1.1. Grupo controle vs. experimental

Ao analisar os dois grupos, observou-se uma diferença significativa no fluxo entre os dois: o fluxo nas trilhas das colônias desidratadas (experimental) foi significativamente maior que o fluxo em colônias não desidratadas (controle). Assim, houve influência do estado fisiológico das formigas e da colônia em geral no comportamento – desequilíbrios fisiológicos, mesmo aparentemente pequenos, levaram a uma mudança de comportamento, algo que ocorre continuamente tanto em organismos solitários quanto em organismos sociais (SLOMAN et al, 2003; SEIBEL, 2015; SHANG et al, 2015). Esta mudança de comportamento – aumento no fluxo de formigas – é motivada pelo estresse a que estão submetidas as formigas e, por consequência, a colônia, e tende a elevar novamente a umidade do fungo (RIBEIRO e NAVAS, 2008) possivelmente reidratando as próprias operárias. Desta forma, o aumento de fluxo no grupo experimental parece indicar o aumento de busca por água ou alimentos ricos em água, em resposta à grande necessidade das colônias experimentais de aumentar a umidade do fungo e da colônia, bem como, indiretamente, reidratar as operárias que ali vivem.

1.2. Trilha seca vs. trilha úmida

Temos, também, um fluxo significativamente maior na trilha úmida do que na trilha seca, para os dois tratamentos. Isso mostra que o ambiente foi determinante na escolha das operárias por qual trilha seguir, demonstrando o impacto das condições ambientais para as formigas. Diversos estudos indicam a importância do ambiente sobre o comportamento e fisiologia dos animais (CHOWN et al., 2011; PUTNAM, 2015; NOWROUZI et al., 2016), sendo importante, em qualquer estudo, caracterizar bem as condições ambientais e alimentares nas quais o animal (ou colônia) vive ou está colocado, para evitar dados conflitantes, errôneos ou, até mesmo, difíceis de reproduzir em uma sequência de testes (REARDON, 2016). Assim, mesmo variações

aparentemente pequenas, sutis ou irrelevantes podem alterar significativamente o resultado de um estudo *in vivo* ou *in situ*.

A mudança comportamental aqui observada – o grande fluxo de formigas na trilha úmida, em contraste com a trilha seca – pode ter duas causas: a umidade da trilha pode ser um indicador – ou pista – que informa às operárias que este caminho conduz a uma fonte de água (algo como “onde há umidade, há água”), e/ou o ambiente úmido é menos estressante para as operárias, o que as atrai em maior número à trilha úmida – sendo esta atração inicial reforçada pelo depósito de feromônio na trilha úmida, o que atrai mais operárias e assim sucessivamente, em uma alça de *feedback* positivo.

Considerando a primeira causa – umidade com pista –, há alguns estudos dão suporte a esta hipótese: o trabalho de Kleineidam et al. (2007) mostra que formigas cortadeiras (*Atta vollenweideri*) podem ser condicionadas a encontrar alimento, escolhendo uma entre duas trilhas, usando como informação apenas a radiação térmica – o que demonstra a capacidade das formigas em discriminar estímulos ambientais e utilizá-los de modo a aumentar a eficiência de forrageio. Em outra linha, o trabalho de Jeanson et al. (2003), possivelmente o que mais se aproxima da abordagem utilizada no presente trabalho, permite a formigas da espécie *Messor barbarus* escolher sítios de agregação entre um tubo seco e um úmido. Como resultado, as formigas escolhiam de maneira consistente o tubo úmido. Os autores discutem, neste caso, que a escolha não se baseia, possivelmente, na comparação direta entre os tubos feitos pelas formigas, mas na maior propensão individual das formigas a ficar no tubo úmido, combinada ao maior recrutamento para este tubo. Assim, o estudo não é conclusivo sobre o uso da umidade como informação para a escolha, focando apenas em como esta escolha é feita.

Se considerarmos a segunda hipótese – ambiente menos estressante –, temos inúmeros estudos que demonstram que os insetos escolhem, geralmente, o ambiente úmido. O próprio trabalho de Jeanson et al., citado anteriormente, pode levar a esta conclusão: as formigas escolheriam o tubo úmido por ser um ambiente mais favorável, promovendo agregação. Outros trabalhos, em diferentes linhas, discutem esta preferência. O estudo de Ellis (2008), por

exemplo, explora que a importância da regulação da umidade, bem como a busca por maiores umidades como algo inato a sua sobrevivência, em *Apis mellifera*. Os trabalhos de Human et al. (1998) e Walters e Mackay (2003), por sua vez, exploram a preferência da formiga argentina, uma espécie invasora, por ambientes mais úmidos, apresentando, inclusive, maiores taxas de sobrevivência em ambientes com maior umidade relativa. Estes são alguns exemplos entre muitos demonstrando a preferência inata de insetos em geral – e formigas em particular – por ambientes mais úmidos. De fato, os nossos dados corroboram tal interpretação. Ao analisar apenas os dados referentes ao grupo controle, podemos ver que há uma preferência pelo caminho úmido, mesmo na ausência de desidratação. Isso, obviamente reforça o efeito de escolha, mas não exclui a possibilidade que haja um efeito adicional da dessecação, hipótese que parece parcimoniosa para explicar o aumento de fluxo na trilha úmida em detrimento da seca no grupo experimental.

Por fim, é possível argumentar que, em interação com os fatores anteriormente expostos, a evaporação dos feromônios na trilha seca seja mais rápida que na trilha úmida, o que diminuiria a intensidade de recrutamento para as trilhas secas. Um estudo raro, de Regnier e Goodwin (1977), com ácido fenilacético, um componente feromonal de gerbos mongolianos (também presente em secreções de *A. sexdens* (NASCIMENTO et al, 1996)), entretanto, demonstra que em maiores umidades relativas, há um aumento na taxa de evaporação deste ácido (por um aumento de afinidade com a água presente no ar), diminuindo, assim sua concentração na trilha. Não há, entretanto, estudos deste tipo com outros componentes químicos de feromônios de trilha em formigas. Contudo, mesmo se relevarmos a escassez de estudos sobre o efeito da umidade na evaporação de feromônios, há outros fatores que levam esta hipótese a provavelmente ter pouco efeito sobre os resultados observados, sendo, assim, pouco relevante: se considerarmos a interação entre as quatro condições – discutida a seguir; e a observação que o fluxo é bem diferente nas duas trilhas desde a primeira hora de experimento – em que o recrutamento ainda não chegou ao seu ápice (HÖLLDOBLER e WILSON, 2011).

1.3. 4 condições

Considerando a soma de trilha e tratamento, observamos que o fluxo segue um padrão crescente: $SC > UC > SE > UE$. É interessante observar que o fluxo do grupo experimental é sempre maior em relação ao controle, mesmo ao considerar a trilha úmida ou seca. Assim, o fluxo na trilha seca experimental é significativamente maior que na trilha úmida do grupo controle, o que demonstra a importância do estado fisiológico da colônia sobre o comportamento de exploração e forrageio, mesmo que as condições ambientais sejam adversas.

No presente estudo, é demonstrada a importância da necessidade da colônia no comportamento de forrageio: a coleta de água depende da necessidade da colônia para aquele recurso: quanto maior a necessidade – no caso, se a colônia está desidratada –, maior o esforço de recrutamento e, por consequência, a coleta (JARAU e HRNCIR, 2009).

Pudemos observar, assim, a relevância de dois fatores no forrageio: a condição fisiológica da colônia e a umidade ambiental. É importante frisar, também, que o recurso – água – estava disponível em todas as trilhas e condições. Assim, sempre era possível às forrageadoras e exploradoras retornar ao ninho reidratadas e/ou carregando água para a colônia. Considerando que um *feedback* positivo sobre a disponibilidade de um recurso, como água ou alimento, é dado pelo retorno de forrageadoras bem sucedidas, uma associação deste retorno às condições fisiológicas e ambientais já descritas permitem à colônia regular a intensidade do forrageio, balanceando os custos da atividade – como a desidratação individual em cada trilha – com os benefícios – a reidratação da colônia em cada condição (GORDON et al, 2013). Por isso pudemos observar diferença significativa nas 4 condições: o fluxo foi cuidadosamente controlado de acordo com as informações e restrições ambientais, bem como com o estado fisiológico da colônia como um todo.

Por fim, é importante ressaltar que há outros fatores muito importantes que também determinam o fluxo de forrageio, como luminosidade, temperatura e disponibilidade de alimento. No atual estudo, no entanto, alguns destes fatores são menos influentes, pois a luminosidade foi homogênea em todos os testes –

luz artificial –, a temperatura também foi controlada e mantida a mesma nas duas trilhas, e as formigas não forragearam por alimento, e sim água. Além disso, as condições alimentares das colônias foram mantidas com o máximo de similaridade – embora houvesse diferenças nas proporções de folhas frescas e alimentos secos entre os grupos experimental e controle, tudo foi oferecido *ad libitum* até o dia anterior ao experimento. Entretanto, não podemos descartar que estes fatores, bem como ritmos endógenos, possam ter influenciado os padrões de forrageio (CALDATO et al, 2016).

2. Tamanho

2.1. Controle vs. experimental

Chama a atenção que as formigas presentes nas trilhas – seca e úmida – no grupo experimental eram significativamente menores, em média, do que as formigas do grupo controle. Considerando a importância do estado fisiológico das operárias e da colônia no comportamento coletivo (COOK ET AL., 2010; FRIEDMAN E GORDON, 2016), era esperado que houvesse diferença no tamanho entre os tratamentos. Entretanto, considerando que formigas menores da mesma espécie geralmente tem maior perda evaporativa de água que formigas maiores (HILL e WYSE, 1989), pode parecer contra-intuitivo encontrar formigas menores, na condição de estresse hídrico (experimental), a forragear em trilhas que podem levar ao aumento deste estresse – há fluxo de formigas pequenas na trilha seca, como podemos ver na figura 12. Entretanto, é importante considerar, neste caso, a necessidade da colônia e o engajamento em uma tarefa: as formigas do grupo controle não estavam engajadas coletivamente na coleta de água para a colônia, posto que esta se encontrava normalmente hidratada pelas folhas frescas que foram dadas continuamente. Por outro lado, as formigas do grupo experimental precisavam coletar água para o fungo e companheiras de ninho. Como vimos em Da-Silva (2010) e Ribeiro e Navas (2008), preferencialmente formigas pequenas coletam água. Desta forma, no grupo experimental, com a execução da tarefa de coleta de água, houve grande expressividade de formigas pequenas nas trilhas, em oposto ao grupo controle, em que formigas menores mostram menor propensão a explorar as trilhas, especialmente a trilha seca – o que está de

acordo com o esperado. Assim, formigas pequenas, sob estresse, parecem mais propensas individualmente a se “sacrificar”, aumentando sua perda evaporativa de água, com o objetivo de aumentar a umidade e garantir a sobrevivência de sua colônia, em comparação com formigas cuja colônia não está imediatamente ameaçada pela desidratação. Discutiremos a seguir esta interessante dicotomia sobre escolha individual e comportamento coletivo.

Por fim, é interessante notar que a diferença entre as trilhas, somente, não é significativa. Assim, não é somente o ambiente que determina a escolha de formigas de diferentes tamanhos, mas, em menor grau, seu estado fisiológico (desidratada ou não) e, em maior grau, a tarefa em que estão engajadas (coleta de água ou exploração).

2.2. 4 condições

No grupo experimental, as formigas eram, em média, menores na trilha seca, o que vai contra o esperado quando consideramos que a taxa de perda evaporativa de água é maior em animais menores (HILL e WYSE, 1989). Esta diferença provavelmente está ligada à execução de tarefas em cada condição: como, quando desidratadas (experimental), somente formigas menores coletam água (DA-SILVA, 2010), elas exploram e são recrutadas para os dois ambientes – trilha seca e trilha úmida –, já que ambas as trilhas oferecem a oportunidade de levar água à colônia – embora, como discutido anteriormente, o número de formigas varie de acordo com a umidade. As formigas maiores, entretanto, não se encontram engajadas diretamente na coleta de água – apenas, possivelmente, como exploradoras (DA-SILVA, 2010). Sendo assim, estas formigas tendem a permanecer no ambiente menos desafiador em termos de desidratação. Vários trabalhos tentam demonstrar, em artrópodes, a correlação entre predileção por diferentes gradientes de umidade e tamanho. O trabalho de Hood e Tschinkel (1990), ao comparar formigas da mesma espécie que vivem no mesmo ambiente, demonstrou que o tamanho influencia a resistência à dessecação, com formigas maiores sendo progressivamente mais resistentes que as menores. O trabalho de Kaspari (1993), por sua vez, demonstra que, enquanto formigas menores sempre buscam forragear nos ambientes mais úmidos, as formigas maiores tendem a ser mais generalistas,

forrageando de maneira equivalente em ambientes mais diversificados, já que, considerando a relação entre superfície e volume corporal, formigas maiores são menos sujeitas a dessecação e, assim, conseguem explorar ambientes mais secos que formigas menores – no presente trabalho, no entanto, o engajamento ou não em uma tarefa parece modificar estes padrões. Por fim, podemos pensar não somente na umidade, mas na taxa evaporativa de cada organismo, o que tem especial relevância em artrópodes, que possuem diferentes composições de exoesqueleto, particularmente em relação aos lipídeos presentes na cutícula (GIBBS, 1998). Estas diferenças levam a variações na perda evaporativa de água entre indivíduos, mesmo em artrópodes que vivam em locais com climas semelhantes (SCHILMAN ET AL., 2015; JOHNSON, 2000) e/ou da mesma espécie (GIBBS ET AL., 1991; TOULSON, 1992). É importante, por fim, notar que, se isolarmos apenas o fator trilha, sem considerar o grupo, embora a diferença não seja significativa, parece haver uma tendência a formigas menores se concentrarem na trilha úmida. Entretanto, neste caso, a variável grupo parece ser determinante para que a diferença entre trilhas não seja significativa, posto que para os grupos a diferença é significativa e o comportamento do grupo controle seja inverso ao do experimental em relação ao tamanho das formigas que exploram cada trilha.

O grupo controle, por sua vez, tinha formigas menores na trilha úmida do que na trilha seca, o que segue o padrão esperado pelas relações alométricas para perda evaporativa de água. Novamente podemos ligar este resultado à execução de tarefas: formigas não-desidratadas não coletam água para levar à colônia (DA-SILVA et al., 2012; RIBEIRO e NAVAS, 2008) – embora possam beber água para hidratação própria, teoria que, até o presente momento, não possui estudos que a corroborem. Assim, não há uma especialização de casta para a execução de uma tarefa, já que esta tarefa só é realmente executada no grupo experimental. Em suma, no grupo controle, o efeito aversivo da trilha seca para formigas menores é mais intenso que no grupo experimental, o que faz com que formigas maiores transitem pelas duas trilhas, mas formigas menores concentrem-se preferencialmente na trilha úmida, conforme algumas referências na literatura. O trabalho de Bujan et al (2016), por exemplo, já mostrava esta tendência de formigas maiores em serem generalista para

umidade, e formigas menores evitarem ambientes secos. Além disso, é possível que formigas exploradoras – não engajadas em tarefas de coleta, transporte ou corte nas trilhas – sejam maiores que forrageadoras, embora não haja uma correlação forte em estudos que dê suporte a esta teoria (ver trabalho de DA-SILVA et al., 2012, válido para coleta de água). O presente trabalho mostra, no entanto, o que ocorre em uma condição experimental extrema. Nessa condição, parece haver o aparecimento de preferência de engajamento em tarefas. A análise dos dados de tamanho mostra que, no grupo experimental, formigas são menores na trilha seca. Isso coloca os animais em risco, não segue os padrões indicados pela condição controle, mas mostra uma preferência no engajamento que segue a necessidade coletiva de hidratação.

Nesse sentido, o presente estudo também levanta uma questão interessante do ponto de vista comportamental: a dicotomia entre decisão coletiva e individual em animais sociais. Isto porque a decisão individual, em organismos sociais, molda os padrões de comportamento coletivo, pela amplificação deste comportamento, indo do nível individual ao coletivo (CAMAZINE et al., 2001; DETRAIN e DENEBOURG, 2006). O altruísmo em animais sociais é muito discutido no nível reprodutivo (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990; NOWAK et al., 2010), mas o autossacrifício realizado por cada membro estéril vai além da reprodução. Ao sentirem o ninho ameaçado, as operárias empregam inúmeras estratégias de defesa, como atacar a fonte de ameaça ou fechar túneis da colônia, muitas vezes sendo sacrificadas no processo (TOFILSKI et al., 2012; SHORTER E RUPPEL, 2012). O forrageio também leva a sacrifícios: a formiga que sai para forragear deixa a proteção do ninho e fica exposta a predadores, parasitas e aos elementos ambientais. Mas para os animais sociais, o sacrifício é válido em prol da colônia como um todo. Assim, é interessante observar, neste estudo, o ímpeto de formigas pequenas do grupo experimental em percorrer uma trilha seca, estando já a própria operária provavelmente desidratada individualmente pela dieta. Mesmo nesta situação, as forrageadoras se dispõem a buscar água, sob uma condição de grande estresse, para restaurar o equilíbrio hídrico da colônia e do fungo. Este ímpeto leva à formação de um padrão coletivo, no grupo experimental, que vai contra o

esperado: formigas pequenas, mais suscetíveis à desidratação, não deixam de percorrer a trilha seca, por causa do engajamento à tarefa. Por outro lado, formigas maiores, não engajadas diretamente na busca de água, mostram preferência pelo ambiente úmido, menos desafiante. Desta forma, o engajamento ou não na tarefa, devido ao estado fisiológico da colônia, mostra-se crucial na escolha de cada grupo de formigas de forragear ou não, e onde forragear. Isto fica ainda mais claro ao observarmos que no grupo controle as relações de tamanho em cada trilha seguem um padrão esperado: formigas menores aparecem preferencialmente na trilha úmida. Portanto, estar ou não engajada na tarefa de forrageio, necessitar muito ou não do recurso, tem profundo impacto na decisão individual das formigas, e modifica os padrões coletivos observados em cada situação.

2.3. Tamanho e fotoperíodo

Estudos prévios demonstram que o tamanho médio das formigas à noite é menor que durante o dia (ARRUDA, 2013; BRISOLA, 2017, no prelo). Esta relação tende a se manter nas trilhas úmidas, tanto para o grupo experimental quanto para o grupo controle. Entretanto, nas trilhas secas, tanto no grupo experimental quanto no controle, as formigas não mostraram nenhuma tendência a ser menores durante a noite. Não se sabe exatamente porque as formigas nas trilhas são proporcionalmente menores durante a noite – é possível que esta diferença seja decorrente das diferenças de tarefa: em geral, durante a noite as tarefas de forrageio são proporcionalmente menos intensas, com menos formigas carregando alimento e mais formigas, aparentemente, engajadas em atividades de exploração (ARRUDA, 2013).

Consideremos que à noite aumente o número de exploradoras a sair do ninho – ou seja, formigas não-engajadas na coleta de água. Podemos presumir que as operárias que saem à noite escolham, preferencialmente, a trilha com melhores condições ambientais. Desta forma, a mudança de tamanho ocorreria somente na trilha úmida, porque as formigas menores “exploradoras” da noite se dirigem para esta trilha. Esta relação de tamanhos não se mantém, no entanto, na trilha seca. Isto provavelmente se deve a uma aversão ao ambiente seco da trilha, o que inibiria a entrada de exploradoras menores, fazendo com

que se dirijam para a trilha úmida. Na trilha seca experimental, por sua vez, seriam mantidas as mesmas castas antes já envolvidas na coleta de água, sem grandes alterações no tamanho – vide discussão sobre porque as formigas são menores na trilha seca –, posto que as formigas que não estivessem engajadas na busca de água para a colônia não seriam atraídas para a trilha seca, mantendo somente a casta que coleta água – e de tamanho homogêneo – na trilha seca. Por fim, na trilha seca do grupo controle também não há grande variação de tamanho, provavelmente devido ao seu efeito aversivo, que afastaria as formigas menores, que comumente seriam encontradas à noite, pelo maior risco de dessecação.

Podemos também considerar a possibilidade de que os tamanhos difiram de dia e de noite devido a diferenças nos ritmos endógenos entre formigas maiores e formigas menores (ARRUDA, 2013) – entretanto, este fator, sozinho, não explica a diferença entre trilha úmida e trilha seca.

3. Efeitos ambientais e mudanças climáticas

Os efeitos observados aqui chamam atenção para um aspecto importante. Frente a mudanças climáticas, as alterações não apenas de temperatura, mas também de umidade, podem ter importantes consequências para as formigas. Como pôde ser visto, ao impor uma condição de prolongada alteração da umidade do meio, com consequências para a umidade do fungo e das formigas, é esperado que surjam alterações na capacidade de sobrevivência da colônia. A estratégia de exposição de formigas pequenas à condição de desidratação pode ser vista como uma resposta flexível da organização coletiva, mas também expõe os limites desta flexibilidade. Sendo animais menores e, portanto, mais expostos às consequências da desidratação, seria esperado que um padrão de desidratação imposto por uma alteração ambiental inviabilize a ocupação daquele ambiente por estas formigas, modificando até mesmo a distribuição de espécies nos ecossistemas, a longo prazo.

CONCLUSÕES

1. Fluxo e umidade relativa

A) O fluxo mostrou-se significativamente maior no grupo experimental, em comparação ao grupo controle. Isto mostra a importância do estado fisiológico da colônia para controlar a resposta de forrageio pelo recurso.

B) Também foi maior o fluxo na trilha úmida, o que demonstra a possibilidade de que formigas usem a umidade relativa como fator orientador na busca por água, além de demonstrarem, como em outros estudos, uma preferência inata por ambientes mais úmidos.

C) Por fim, há um claro e significativo aumento assimétrico no fluxo, seguindo a relação $SC > UC > SE > UE$ no tratamento com desidratação. Assim, a interação entre o ambiente e o estado fisiológico da colônia determina de maneira consistente o fluxo de forrageadoras em cada trilha e cada condição, conforme esperado.

2. Tamanho e umidade relativa

A) Formigas do grupo experimental são significativamente menores do que as do grupo controle, devido a especializações de casta para coleta de água – somente formigas pequenas coletam água, e esta atividade é mais intensa (senão exclusiva) no tratamento com desidratação aplicado ao grupo experimental.

B) No grupo experimental, as formigas eram menores na trilha seca, em comparação à trilha úmida, o que vai contra o esperado de acordo com relações alométricas de perda evaporativa de água. Este padrão, entretanto, pode ser explicado pelo engajamento em tarefas: as castas menores continuam forrageando nas duas trilhas, mas as formigas exploradoras, teoricamente maiores, permanecem preferencialmente na trilha úmida, menos aversiva. Por outro lado também expõe os limites desta estratégia comportamental

C) Há uma tendência geral de termos formigas menores à noite nas trilhas úmidas – embora esta tendência não se aplique às trilhas secas, que são mais

aversivas e, assim, possivelmente não atraem tanto as formigas menores que costumam explorar à noite, restando apenas aquelas diretamente engajadas na coleta de água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A. G. GIBBS. Water-Proofing Properties of Cuticular Lipids. **American Zoologist**. Vol. 38, pp. 471–482. Jun./1998.

ALBOUY, C., VELEZ, L., COLL, M., COLLOCA, F., LE LOC'H, F., MOUILLOT, D. and GRAVEL, D. From projected species distribution to food-web structure under climate change. **Global Change Biology**. Vol. 20, pp. 730–741. Mar./2014.

ALLEN G. GIBBS. Water-Proofing Properties of Cuticular Lipids. **Integrative and Comparative Biology**. Vol. 38, pp. 471–482. Jun./1998.

ARNAN, X. AND BLÜTHGEN, N. Using ecophysiological traits to predict climatic and activity niches: lethal temperature and water loss in Mediterranean ants. **Global Ecology and Biogeography**. Vol. 24, pp. 1454–1464. Ago./2015.

ARRUDA, M. F. **Aspectos temporais da organização coletiva do forrageamento em formigas saúvas (*Atta sexdens rubropilosa*)**. Dissertação de Mestrado (Ciências - Fisiologia Geral) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 86. 2013.

AUTUORI, M. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp.). I. Evolução do saúveiro (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908). **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**. Vol. 12, pp. 197-228. 1941.

AYTON, S., TOMLINSON, S., PHILLIPS, R. D., DIXON, K. W., WITHERS, P. C. Phenophysiological variation of a bee that regulates hive humidity, but not hive temperature. **Journal of Experimental Biology**. Vol. 219, pp. 1552-1562. Mar./2016.

AZCÁRATE, F. M., KOVACS, E., PECO, B. Microclimatic Conditions Regulate Surface Activity in Harvester Ants *Messor barbarus*. **Journal of Insect Behavior**. Vol. 20, pp. 315-329. Mai./2007.

BALE, J. S., MASTERS, G. J., HODKINSON, I. D., AWMACK, C., BEZEMER, T. M., BROWN, V. K., BUTTERFIELD, J., BUSE, A., COULSON, J. C., FARRAR, J., GOOD, J. E. G., HARRINGTON, R., HARTLEY, S., JONES, T. H., LINDROTH, R. L., PRESS, M. C., SYMRNIODIS, I., WATT, A. D. AND WHITTAKER, J. B. Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. **Global Change Biology**, Vol. 8, pp. 1–16. Jan./2002.

BESHERS, S. N., FEWELL, J. H. Models of Division of Labor in Social Insects. **Annual Reviews on Entomology**. Vol. 46, pp. 413–40. Jul./2001.

BOLLAZZI, M., ROCES, F. Control of nest water losses through building behavior in leaf-cutting ants (*Acromyrmex heyeri*). **Insectes Sociaux**. Vol. 57, pp. 267–273. Mar./2010.

BOLLAZZI, M., ROCES, F. Leaf-cutting ant workers (*Acromyrmex heyeri*) trade off nest thermoregulation for humidity control. **Journal of Ethology**. Vol. 28, pp. 399–403. Fev./ 2010.

BOLLAZZI, M., ROCES, F. To build or not to build: circulating dry air organizes collective building for climate control in the leaf-cutting ant *Acromyrmex ambiguus*. **Animal Behaviour**. Vol. 74, pp. 1349-1355. Set./2007.

BOUCHEBTI, S., FERRERE, S., VITTORI, K., LATIL, G., DUSSUTOUR, A., FOURCASSIÉ, V. Contact rate modulates foraging efficiency in leaf cutting ants. **Scientific Reports**. Vol. 5, Article number: 18650. Dez./2015.

BUJAN, J., YANOVIK, S. P., KASPARI, M. Desiccation resistance in tropical insects: causes and mechanisms underlying variability in a Panama ant community. **Ecology and Evolution**. Vol. 6, pp. 6282–6291. Jul./2016.

CALDATO, N., FORTI, L. C., BOUCHEBTI, S., LOPES, J. F. S., FOURCASSIÉ, V. Foraging activity pattern and herbivory rates of the grass-cutting ant *Atta capiguara*. **Insectes Sociaux**. Vol. 63, pp. 421–428. Mar./2016.

CAMAZINE, S., DENEUBOURG, J. L., FRANKS, N., SNEYD, J., THERAULAZ, G., BONABEAU, E. **Self-Organization in Biological Systems**. Princeton University Press. Princeton, 2001.

CHERRET, J. M. The Foraging Behaviour of *Atta cephalotes* L. (Hymenoptera, Formicidae). **Journal of Animal Ecology**. Vol. 37, pp. 387-403. Jun./1968

CHOWN, S. L., SØRENSEN, J. G., TERBLANCHE, J. S. Water loss in insects: An environmental change perspective. **Journal of Insect Physiology**. Vol. 57, pp. 1070-1084. Ago./2011.

CLAPHAM, D. E. TRP channels as cellular sensors. **Nature**. Vol. 426, pp. 517-524. Dez./2003.

COOK, S. C., EUBANKS, M. D., GOLD, R. E., BEHMER, S. T. Colony-level macronutrient regulation in ants: mechanisms, hoarding and associated costs. **Animal Behaviour**. Vol. 79, pp. 429-437. Fev./2010.

CORSER, J. D., WHITE, E. L., SCHLESINGER, M. D. Adult activity and temperature preference drives region-wide damselfly (Zygoptera) distributions under a warming climate. **Biology Letters**. Vol. 11, Issue 4. Abr./2015.

DARWIN, C. **A Origem das Espécies**, no meio da seleção natural ou a luta pela existência na natureza. 1ª ed. Porto. Lello & Irmão, 2003.

DA-SILVA, A. C. Estudo da Atividade de Coleta de Água em *Atta sexdens rubropilosa* (2010). 83p. Dissertação (Mestrado em Ciências: Fisiologia Geral) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

DA-SILVA, A. C., NAVAS, C. A. Dealing with water deficit in *Atta* ant colonies: large ants scout for water while small ants transport it. **Biology Open**. Vol. 1, pp. 827–830. Mai./2012.

DAVIDSON, D. W. Foraging Ecology and Community Organization in Desert Seed-Eating Ants. **Ecology**. Vol. 58, pp. 725–737. Jul./1977.

DAWKINS R. The evolution of altruism— what matters is gene selection. **New Scientist**. Vol. 197, p.17. Jan./2008

DENEUBOURG, J. L., GOSS, S. Collective patterns and decision-making, **Ethology, Ecology & Evolution**. Vol. 1, pp. 295-311. Dez./1989.

DENEUBOURG, J-L., ARON, S., GOSS, S., PASTEELS, J. M., The self-organizing exploratory pattern of the argentine ant. **Journal of Insect Behavior**. Vol. 3, pp. 159–168. Mar./1990.

DETRAIN, C., DENEUBOURG, J. Self-organized structures in a superorganism: do ants “behave” like molecules? **Physics of Life Reviews**. Vol. 3, pp. 162-187. Set./2006.

DIRNBÖCK, T., ESSL, F. and RABITSCH, W. (2011). Disproportional risk for habitat loss of high-altitude endemic species under climate change. **Global Change Biology**. Vol. 17, pp. 990–996. Fev./2011.

DUROU, S., LAUGA, J., DEJEAN, A. Intensive Food Searching in Humid Patches: Adaptation of a Myrmicine Ant to Environmental Constraints. **Behaviour**. Vol. 138, pp. 251-259. Feb./2001

ENJIN, A., ZAHARIEVA, E. E., FRANK, D. D., MANSOURIAN, S., SUH, G. S. B., GALLIO, M., STENSMYR, M. C. Humidity Sensing in Drosophila. **Current Biology**. Vol. 26, pp. 1352–1358. Mai./2016.

FISHER, J., BEAMES, L., RANGERS, B. J., RANGERS, N. N., MAJER, J., HETERICK, B. Using ants to monitor changes within and surrounding the endangered Monsoon Vine Thickets of the tropical Dampier Peninsula, north Western Australia. **Forest Ecology and Management**. Vol. 318, pp. 78–90. Fev./2014.

FOWLER, H. G., ROBINSON, S. W. Foraging by *Atta sexdens* (Formicidae: Attini): seasonal patterns, caste and efficiency. **Ecological Entomology**. Vol. 4, pp. 239-247. Mai./1979.

FRANCKE, O. F., COKENDOLPHER, J. C., POTTS, L. R. Supercooling Studies on North American Fire Ants (Hymenoptera: Formicidae). **The Southwestern Naturalist**. Vol. 31, pp. 87-94. Mar./1986.

FRIEMAN, D. A., GORDON, D. M. Ant Genetics: Reproductive Physiology, Worker Morphology, and Behavior. **Annual Review of Neuroscience**. Vol. 39, pp. 41-56. Abr./2016.

FROUZ, J. The effect of nest moisture on daily temperature regime in the nests of *Formica polyctena* wood ants. **Insectes socieaux**. Vol. 47, pp. 229–235. Jan./2000.

GIBBS, A., MOUSSEAU, T. A., CROWE, J. H. Genetic and acclimatory variation in biophysical properties of insect cuticle lipids. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. Vol. 88, pp. 7257-7260. Ago./1991.

GIESEL, A., BOFF, M. I. C., BOFF, P. Seasonal Activity and Foraging Preferences of the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens piriventris* (Santschi) (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**. Vol. 42, pp. 552-557. Set./2013.

GITHEKO, A. K., LINDSAY, S. W., CONFALONIERI, U. E., PATZ, J. A. Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. **Bulletin of the World Health Organization**. Vol. 78, pp. 1136-1147. Jun./2000.

GORDON, D. M. Dynamics of task switching in harvester ants. **Animal Behaviour**. Vol. 38, pp. 194-204. Fev./1989.

GORDON, D. M. The Regulation of Foraging Activity in Red Harvester Ant Colonies. **The American Naturalist**. Vol. 159, pp., 509-518. Mai./2002.

GORDON, D. M., DEKTAR, K. N., PINTER-WOLLMAN, N. Harvester Ant Colony Variation in Foraging Activity and Response to Humidity. **PLoS ONE**. Vol. 8, Issue 5, Mai./2013.

GOSS S., BECKERS R., DENEUBOURG J.L., ARON S., PASTEELS J.M. How Trail Laying and Trail Following Can Solve Foraging Problems for Ant Colonies. Em: HUGHES R.N. **Behavioural Mechanisms of Food Selection**. NATO ASI Series (Series G: Ecological Sciences), vol 20. Springer, Berlin, 1990.

GOTELLI, N. J., STANTON-GEDDES, J. Climate change, genetic markers and species distribution modelling. **Journal of Biogeography**. Vol. 42, pp. 1577-1585. Set./2015.

GRAHAM C. H., VANDERWAL J., PHILLIPS S. J., MORITZ C., WILLIAMS S. E. Dynamic refugia and species persistence: tracking spatial shifts in habitat through time. **Ecography**. Vol. 33, pp. 1062–1069. Nov./2010.

GRAHAM, P., MANGAN, M. Insect navigation: do ants live in the now? **Journal of Experimental Biology**. Vol. 218, pp. 819-823. Mar./2015.

GUYTON, A.C., HALL, J.E. **Tratado De Fisiologia Médica**. 10^a ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2002.

HAMADA, F. N., ROSENZWEIG, M., KANG, K., PULVER, S. R., GHEZZI, A., JEGLA, T. J., GARRITY, P. A. An internal thermal sensor controlling temperature preference in *Drosophila*. **Nature**. Vol. 454, pp. 217–220. Jul./2008.

HART, A. G., RATNIEKS, F. L. W. Task partitioning, division of labour and nest compartmentalisation collectively isolate hazardous waste in the leafcutting ant *Atta cephalotes*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**. Abr./2001. Vol. 49, pp. 387–392.

HOFFMANN, A. A., HARSHMAN, L. G. Desiccation and starvation resistance in *Drosophila*: patterns of variation at the species, population and intrapopulation levels. **Heredity**. Vol. 83, pp. 637–643. Dez.1999.

HOFFMANN, A.A., SHIRRIFFS, J., SCOTT, M. Relative importance of plastic vs. genetic factors in adaptive differentiation: geographical variation for stress resistance in *Drosophila melanogaster* from eastern Australia. **Functional Ecology**. Vol. 19, pp. 222–227. Mai./2005

HOFFMANN, B. D. Using ants for rangeland monitoring: Global patterns in the responses of ant communities to grazing. **Ecological Indicators**. Vol. 10, pp. 105-111. Mar./2010.

HOLDO, R. M., HOLT, R. D., FRYXELL, J. M. Opposing Rainfall and Plant Nutritional Gradients Best Explain the Wildebeest Migration in the Serengeti. *The American Naturalist*. Vol. 173, pp. 431-445. Abr./2009.

HÖLLDOBLER, B. Recruitment behavior, home range orientation and territoriality in harvester ants, *Pogonomyrmex*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**. Vol. 1, pp. 3-44. Mar./1976.

HÖLLDOBLER, B., WILSON, E. O. **The Ants**. 1^a ed. Harvard University Press. Cambridge, 1990.

HÖLLDOBLER, B., WILSON, E. O. **The Leafcutter Ants**: Civilization by Instinct. 1^a ED. New York. Norton & Co., 2011.

HÖLLDOBLER, B., WILSON, E. O. **The Superorganism**: The Beauty, Elegance, and Strangeness of Insect Societies. W.W. Norton. New York, 2009.

HOLWAY, D. A., SUAREZ, A. V., CASE, T. J. Role of abiotic factors in governing susceptibility to invasion: a test with argentine ants. **Ecology**. Vol. 83, pp. 1610–1619. Jun./2002.

HOOD, W. G., TSCHINKEL, W. R. Desiccation resistance in arboreal and terrestrial ants. **Physiological Entomology**. Vol. 15, pp. 23-25. Jan./1990.

HUBER, R., KNADEN, M. Egocentric and geocentric navigation during extremely long foraging paths of desert ants. **Journal of Comparative Physiology A**. Vol. 201, pp. 609-616. Jun./2015.

HUMAN, H., NICOLSON, S. W., DIETEMANN, V. Do honeybees, *Apis mellifera scutellata*, regulate humidity in their nest? **Naturwissenschaften**. Vol. 93, pp. 397–401. Ago./2006.

HUMAN, K. G., WEISS, S., WEISS, A., SANDLER, B., GORDON, D. M. Effects of Abiotic Factors on the Distribution and Activity of the Invasive Argentine Ant (Hymenoptera: Formicidae). **Population Ecology**. Vol. 27, pp. 822-833. Ago./1998.

Intergovernmental Panel of Climate Change - IPCC. **Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation**. Cambridge University Press. 582 p. Jun./2012.

JAFFÉ, K., RAMOS, C., LAGALLA, C., PARRA, L. Orientation Cues Used by Ants. *Insectes Sociaux*. Vol. 37., pp. 101-115. Fev./1990.

JARAU, S., HRNCIR, M. **Food Exploitation By Social Insects: Ecological, Behavioral, and Theoretical Approaches**. 1^a ed. Boca Raton. Taylor e Francis, 2009.

JEANSON, R., DENEUBOURG, JL., GRIMAL, A., THERAULAZ, G. Modulation of individual behavior and collective decision-making during aggregation site selection by the ant *Messor barbarus*. **Behavioral ecology and sociobiology**. Vol. 55, pp. 388–394. Jan./2004.

JOHNSON, R. A. Water loss in desert ants: caste variation and the effect of cuticle abrasion. **Physiological Entomology**. Vol. 25, PP. 48-53. Mar./2000.

KASPARI, M., WEISER, M. D. Ant Activity along Moisture Gradients in a Neotropical Forest. **Biotropica**. Vol. 32, pp. 703-711. Jan./2000.

KASPARI, M.. Body size and microclimate use in Neotropical granivorous ants. **Oecologia**. Vol. 96, pp 500-507. Set./1993.

KIM, S. M., WANG, J. W. Hygrosensation: Feeling Wet and Cold. **Current Biology**. Vol. 26, pp. 408–431. Mai./2016.

KIM. S. M., WANG, J. W. Hygrosensation: Feeling Wet and Cold. **Current Biology**. Vol. 26, pp. 408–431. Mai./2016.

KLEINEIDAM, C. J., RUCHTYA, M., CASERO-MONTES, Z. A., ROCES, F. Thermal radiation as a learned orientation cue in leaf-cutting ants (*Atta vollenweideri*). **Journal of Insect Physiology**. Vol. 53 pp. 478–487 Jan./2007 .

KLEINEIDAM, C., TAUTZ, J. Perception of carbon dioxide and other “air-condition” parameters in the leaf cutting ant *Atta cephalotes*. **Naturwissenschaften**. Vol.83, pp. 566-568. Dez./1996.

KNADEN, M., GRAHAM, P. The Sensory Ecology of Ant Navigation: From Natural Environments to Neural Mechanisms. **Annual Reviews on Entomology**. Vol 61, pp. 63-76. Fev./2016.

KREBS, J. R., DAVIES, N. B. **Behavioural Ecology**: An Evolutionary Approach. Blackwell Scientific Publications. 3^a ed. Oxford, 1991.

KÜHNHOLZ, S., SEELEY, T. D. The control of water collection in honey bee colonies. **Behavioral Ecology and Sociobiology**. Vol. 41, pp. 407–422. Dez./1997.

LEWIS, T., POLLARD, G. V., DIBLEY, G. C. Micro-Environmental Factors Affecting Diel Patterns of Foraging in the Leaf-Cutting Ant *Atta cephalotes* (L.) (Formicidae: *Attini*). **Journal of Animal Ecology**. Vol. 43, pp. 143-153. Fev./1974.

LEWIS, T., POLLARD, G. V., DIBLEY, G. C. Micro-Environmental Factors Affecting Diel Patterns of Foraging in the Leaf-Cutting Ant *Atta cephalotes* (L.) (Formicidae: *Attini*). **Journal of Animal Ecology**. Vol. 43, pp. 143-153. Fev./1974.

LIGHTON J. R. B., BARTHOLOMEW, G. A. Standard energy metabolism of a desert harvester ant, *Pogonomyrmex rugosus*: Effects of temperature, body mass, group size, and humidity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. Vol. 85, pp. 4765-4769. Jul./1988.

MARTINOYA, C., BLOCH, S., VENTURA, D. F. Spectral efficiency as measured by ERG in the ant (*Atta sexdens rubropilosa*). **Journal of comparative physiology**. Vol. 104, pp. 205–210. Jun./1975.

McCANN, K. S. The diversity–stability debate. **Nature**. Vol. 405, pp. 228–233. Mai./2000.

MENZEL F, ZUMBUSCH M, FELDMEYER B. How ants acclimate: Impact of climatic conditions on the cuticular hydrocarbon profile. **Functional Ecology**. 00: pp.1–10. Nov./2017

MEZGER, D., PFEIFFER, M. Is nest temperature an important factor for niche partitioning by leaf-litter ants (Hymenoptera: Formicidae) in Bornean rain forests? **Journal of Tropical Ecology**. Vol. 26, pp. 445-455. Jul./2010.

MOREIRA, A. A., FORTI, L. C., BOARETTO, M. A. C., ANDRADE, A. P. P., LOPES, J. F. S., RAMOS, V. M. External and internal structure of *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae) nests. **Journal of Applied Entomology**. Vol. 128, pp. 204–211. Abr./2004.

N. STROEYMEYT, C. JORDAN, G. MAYER, S. HOVSEPIAN, M. GIURFA, N. R. FRANKS. Seasonality in communication and collective decision-making in ants. **Proceedings of the royal society B**. Vol. 281, pp. 1-8. Abr./ 2014.

NAYAK, M. K. AND COLLINS, P. J. Influence of concentration, temperature and humidity on the toxicity of phosphine to the strongly phosphine-resistant psocid *Liposcelis bostrychophila* Badonnel (Psocoptera: Liposcelididae). **Pest Management Science**. Vol. 64, pp. 971–976. Set./2008.

NOWAK, M. A., TARNITA, C. E., WILSON, E. O. The evolution of eusociality. **Nature**. Vol. 46, pp. 1057-1062. Ago./2010.

NOWROUZI S., ANDERSEN A. N., MACFADYEN S., STAUNTON K. M., VANDERWAL J., ROBSON S. K. A. Ant Diversity and Distribution along Elevation Gradients in the Australian Wet Tropics: The Importance of Seasonal Moisture Stability. **PLoS ONE**. Vol. 11. Abr./2016.

OFUYA, T. I., REICHMUTH, C. Effect of relative humidity on the susceptibility of *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: *Bruchidae*) to two modified atmospheres. **Journal of Stored Products Research**. Vol. 38, pp. 139–146. Fev./2002.

OSTER, G. F., WILSON, E. O. **Caste and ecology in the social insects**. Princeton University Press. 1^a ed. New Jersey, 1978.

PARKASH, R., RANGA, P. Seasonal changes in humidity impact drought resistance in tropical *Drosophila leontia*: Testing developmental effects of

thermal versus humidity changes. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol. 169, pp. 33–43 jan./2014.

PERRY, A.L., LOW, P.J., ELLIS, J. R., REYNOLDS, J.D. Climate change and distribution shifts in marine fishes. **Science**. Vol. 308, pp. 1912-1915. Jun./2005

PORTER, S.D. & TSCHINKEL, W.R. Fire ant thermal preferences: behavioral control of growth and metabolism. **Behaviour Ecology and Sociobiology**. Vol. 32, pp. 321-329. Mai./1993.

POTTS, L. R., FANCKE, O. F., CONCKENDOLPHER, J. C. Humidity preferences of four species of fire ants (Hymenoptera: Formicidae: Solenopsis). *Insectes Sociaux*, Vol. 31, pp. 335-339. Jun./1984.

POWELL, R. J., STRADLING, D. J. Factors Influencing the Growth of *Attamyces bromatificus*, a Symbiont of *Attine* Ants. **Transactions of the British Mycological Society**. Vol. 87, pp. 205-213. Mar./1986.

PRATHER C. M., PELINI S. L., LAWS A., RIVEST E., WOLTZ M., BLOCH C. P., et al. Invertebrates, ecosystem services and climate change. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**. Vol 88, pp. 327-348. Mai/2013.

PUTNAM, R. **Sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.) provenances differ with climate of origin in survival, growth, and traits along a climate gradient**: implications for the species' distribution under climate change. Dissertação. 151 p. Curso de Filosofia, Universidade de Minnesota, 2015.

QUINLAN, R. J. and CHERRETT, J. M. (1979), The role of fungus in the diet of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.). **Ecological Entomology**. Vol. 4, pp. 151–160. Mai./1979.

RAHBÉ, Y., FEBVAY, G., KERMARREC, A. Foraging activity of the attine ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera: Formicidae) on resistant and susceptible yam varieties. **Bulletin of Entomological Research**. Vol. 78, pp 329-337. Jun./1988.

REARDON, S. A mouse's house may ruin studies: environmental factors lie behind many irreproducible rodent experiments. **Nature**. Vol. 530 p. 264. Fev./2016.

REGNIER, F. E., GOODWIN, M. *On the chemical and environmental modulation of pheromone release from vertebrate scent marks*. Pages 115-133 em MILLER-SCHWARZE, D., MOZELL, M. M. (eds). **Chemical signals in vertebrates**. Vol. 1. Ed. Plenum, New York, 1977.

RIBEIRO, P. L. Trilhas de saúvas (*Atta sexdens rubropilosa*): um método que impede a formação de fluxo bidirecional e mostra que as forrageadoras resolvem o problema (2009). 245p. Tese (Doutorado em Ciências: Fisiologia Geral) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

RIBEIRO, P. L., NAVAS, C. A. Colony Dehydration and Water Collection by Specialized Caste in the Leaf-Cutting Ant *Atta Sexdens Rubropilosa*. **Journal of Insect Behaviour**. Vol. 21, pp. 549-558. Ago./2008.

RIDLEY, P., HOWSE, P. E., JACKSON, C. W. Control of the behaviour of leaf-cutting ants by their 'symbiotic' fungus. Birkhäuser Verlag. Vol. 52, pp. 631-635. Out./1996.

ROBINSON, E. J. H., FEINERMAN, O., FRANKS, N. R. Flexible task allocation and the organization of work in ants. **Proceedings of the Royal Society B**. DOI: [10.1098/rspb.2009.1244](https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1244). Set./2009.

ROCES, F., KLEINEIDAM, C. Humidity preference for fungus culturing by workers of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Insectes Sociaux**. Vol. 47, pp. 348–350. Jun./2000.

ROSENGREN, R., FORTELIUS, W., LINDSTRÖM, K., LUTHER, A. Phenology and causation of nest heating and thermoregulation in red wood ants of the *Formica rufa* group studied in coniferous forest habitats in southern Finland. **Annales Zoologici Fennici**. Vol. 24, pp. 147-155. Jun./1987.

RUCHTY, M., ROMANI, R., KUEBLER, L. S., RUSCHIONI, S., ROCES, ISIDORO, N., F., KLEINEIDAM, C. J. The thermo-sensitive sensilla coeloconica of leaf-cutting ants (*Atta vollenweideri*). **Arthropod Structure & Development**. Vol. 38, pp. 195-205. Mai./2009.

RUPPERT, E. & BARNES, R.D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6ª ed. Roca. São Paulo, 1996.

SCHILMAN, P. E., LIGHTON, R. B., HOLWAY, D. A. Respiratory and cuticular water loss in insects with continuous gas exchange: Comparison across five ant species. **Journal of Insect Physiology**. Vol. 51, pp. 1295-1305. Dez./2005.

SEELEY, T. D. The Honey Bee Colony as a Superorganism. **American Scientist**. Vol. 77, pp. 546-553. Dez./1989.

SEIBEL, B. A. Environmental Physiology of the Jumbo Squid, *Dosidicus gigas* (d'Orbigny, 1835) (Cephalopoda: Ommastrephidae): Implications for Changing Climate. **American Malacological Bulletin**. Vol. 33, pp. 161-173. Jun./2015.

SHI-BO, F., XIN-SHI, Z. Control of vegetation distribution: climate, geological substrate, and geomorphic factors. A case study of grassland in Ordos, Inner Mongolia, China. **Canadian Journal of Remote Sensing**. Vol. 39, pp. 167-174. Jun./2014.

SHORTER, J., R., RUEPPELL, O. A review on self-destructive defense behaviors in social insects. **Insectes Sociaux**. Vol. 59, pp. 1–10. Fev./2012.

SILVA, M. D., RAMALHO, M., ROSA, J. F. Por que *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae) forrageia sob alta umidade relativa do ar? **Iheringia, Série Zoologia**. Vol.101, pp.131-137. Jun./2011.

SLOMAN, K. A., BAKER, D. W., HO, C. G., McDONALD, D. G., WOOD, C. M. The effects of trace metal exposure on agonistic encounters in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquatic Toxicology**. Vol. 63, pp. 187-196. Abr./2003.

SOMERO, G. N. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine 'winners' and 'losers'. **Journal of Experimental Biology**. Vol. 213, pp. 912-920. Fev./2010.

STUCKI D., FREITAK D., SUNDSTRÖM, L. Survival and gene expression under diferente temperature and humidity regimes in ants. **PLoS ONE**. Vol. 12, Issue 7. Jul./2017.

TALBOT, M. Response of the Ant *Prenolepis imparis* Say to Temperature and Humidity. **Ecology: Ecological Society of America**. Vol. 24, pp. 345-352. Jul./1943.

TAUTZ, J. **The Buzz about Bees** - Biology of a Superorganism. 1ª ed. Springer-Verlag. Berlim, 2008.

THOMS., E. M., ROBINSON, W. H. Distribution, Seasonal Abundance, and Pest Status of the Oriental Cockroach (Orthoptera: Blattidae) and an Evaniid Wasp (Hymenoptera: Evaniidae) in Urban Apartments. **Journal of Economic Entomology**. Vol. 79, pp. 431–436. Abr./1986.

THOMSON, L. J., MACFADYEN, S., HOFFMANN, A. A. Predicting the effects of climate change on natural enemies of agricultural pests. **Biological Control**. Vol. 52, Issue 3, pp. 296-306. Mar./2010.

TIEDE, Y., SCHLAUTMANN, J., DONOSO, D. A., WALLIS, C. I. B., BENDIX, J., BRAND, R., FARWIG, N. Ants as indicators of environmental change and ecosystem processes. **Ecological Indicators**. Vol. 83, pp. 527–537. Fev./2017.

TOFILSKI, A., COUVILLON, M. J., EVISON, S. E. F., HELANTERÄ, H., ROBINSON, E. J. H., RATNIEKS, F. L. W. Preemptive Defensive Self-Sacrifice by Ant Workers. **The American Naturalist**. Vol. 172, pp. 239-243. Nov./2008.

TOOLSON, E. C. Effects of rearing temperature on cuticle permeability and epicuticular lipid composition in *Drosophila pseudoobscura*. **Integrative and Comparative Biology**. Vol. 222, pp. 249–253. Set./1982

VEZZANI, D., VELAZQUEZ, S. M., SCHWEIGMANN, N. Seasonal pattern of abundance of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Buenos Aires city, Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Vol. 99, p. 351-356. Jun./2004.

WALTER G. WHITFORD, CAROL ANN KAY, AND AILEEN M. SCHUMACHER, Water Loss in Chihuahuan Desert Ants. **Physiological Zoology**. Vol. 48, pp. 390-397. Oct., 1975.

WALTERS, A. C., MACKAY, D. A. An experimental study of the relative humidity preference and survival of the Argentine ant, *Linepithema humile* (Hymenoptera, Formicidae): comparisons with a native *Iridomyrmex* species in South Australia. **Insectes Sociaux**. Vol. 50, pp. 355–360. Jun./2003.

WEHNER, R., CHENG, K., CRUSE, H. “Visual navigation strategies in insects: lessons from desert ants”. Pp. 1153-1163 em: WERNER, J. S., CHALUPA, L. M. **The New Visual Neurosciences**. MIT Press. Cambridge, 2014.

WEISSER W.W., SIEMANN E. The Various Effects of Insects on Ecosystem Functioning. In: WEISSER W.W., SIEMANN E. **Insects and Ecosystem Function**. Ecological Studies (Analysis and Synthesis), vol 173. Springer, Berlin, Heidelberg. 2008.

WEST-EBERHARD, M. J. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. **Annual Review of Ecology and Systematics**. Vol. 20, pp. 249-278. Nov./1989.

WILLIAMS, J. B., TIELEMAN, I. Physiological Adaptation in Desert Birds. **BioScience**. Vol. 55, pp. 416–425. Mai./2005

WILLIAMS, K. S., SIMON, C. The Ecology, Behaviour And Evolution of Periodical Cicadas. **Annual Review of Entomology**. Vol. 40, pp. 269-295. Mai./1995.

WILSON, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**. Jul./1980, Vol. 7, pp. 143–156.

WILSON, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**. Vol. 14, pp. 47–54. Dez./1983.

WILSON, E. O. **Sociobiology**. 25th Anniversary ed. Cambridge, 1975 (2000).

WOODIN, S. A., HILBISH, T. J., HELMUTH, B., JONES, S. J., WETHEY, D. S. Climate change, species distribution models, and physiological performance metrics: predicting when biogeographic models are likely to fail. **Ecology and Evolution**. Vol. 3, pp. 3334–3346. Set./2013

YOKOHARI, F. The coelocapitular sensillum, an antennal hygro- and thermoreceptive sensillum of the honey bee, *Apis mellifera* L. **Cell and Tissue Research**. Vol. 233, pp. 355–365. Mai./1983

YOKOHARI, F., TATEDA, H. Moist and Dry Hygroreceptors for Relative Humidity of the Cockroach, *Periplaneta Americana* L. **Journal of Comparative Physiology**. Vol. 106, pp. 137–152. Fev./1976.