UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA

Estudo do comportamento de *Atta sexdens* quanto ao gerenciamento de detritos

Lia Matos Viegas

São Paulo
2018

LIA MATOS VIEGAS

Estudo do comportamento de *Atta sexdens* quanto ao gerenciamento de detritos
(Versão Corrigida)

Tese apresentada ao Instituto de
Psicologia da Universidade de São
Paulo para a obtenção do título de
Doutora.

Área de Concentração: Psicologia
Experimental.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Emma Otta.

São Paulo

2018

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO,
PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação
Biblioteca Dante Moreira Leite
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo
Dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Viegas, Lia Matos

Estudo do comportamento de *Atta sexdens* quanto ao gerenciamento de detritos /
Lia Matos Viegas; orientador Emma Otta. -- São Paulo, 2018.
287 f.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Psicologia Experimental) --
Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, 2018.

1. *Atta sexdens*. 2. Lixo. 3. Tomada de decisões. 4. Orientação espacial. I. Otta,
Emma, orient. II. Título.

Nome: Viegas, Lia Matos

Título: Estudo do comportamento de *Atta sexdens* quanto ao gerenciamento de detritos

Tese apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutora em Psicologia.

Aprovada em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Dedico este trabalho a todos que me perguntaram por que uma psicóloga estudaria formigas. Espero que agora eles entendam.

Também dedico aos meus pais, Sonia e Carlos, pois se sou o que sou hoje, é graças a eles e a todo o esforço que fizeram por anos.

AGRADECIMENTOS

Para começar, e como não poderia deixar de ser, quero agradecer à Prof.^a Dr.^a Emma Otta por novamente ter aceitado o desafio de me orientar, agora no doutorado, agora com formigas. Espero que não haja arrependimentos.

Também gostaria de agradecer ao Dr. Pedro Ribeiro, que acompanhou de perto o começo deste projeto, dando valiosas sugestões para que ele nascesse e, depois (na qualificação), se desenvolvesse até o que é hoje.

E já que estou falando da qualificação, gostaria de agradecer também à Prof.^a Dr.^a Vera Bussab, também pelas contribuições. E por tudo que me ensinou em suas deliciosas aulas.

E como não se faz pesquisa sem sujeito experimental, gostaria de agradecer ao Prof. Dr. Odair Bueno por, lá em 2013, ter-nos doado as nossas primeiras seis colônias. Foram elas que começaram tudo, e por elas tenho um carinho especial.

No começo, eu não sabia nada de formigas. E devo uma parte do que aprendi ao fato de o Prof. Dr. André Frazão Helene ter me recebido em seu laboratório de braços abertos quando eu nem aluna de doutorado era. Agradeço a ele e seus alunos, particularmente (embora não exclusivamente) a Daniele Victoratti, por terem me recebido e me ajudado.

Também quero agradecer de forma especial ao Prof. Dr. Fernando Ribeiro. Ele foi mais que um professor, foi um mestre. Ensinou-me mais que apenas fazer pesquisa ou sobre etologia: ensinou-me como fazer isso com prazer.

Conhecimento não se faz sozinho, então preciso agradecer a todos os professores da área de Etologia com quem tive aula: ao eterno Cesar Ades (*in memoriam*), à Patrícia Izar, ao Eduardo Ottoni, à Briseida Resende e à Michele Verderani. Se me perguntarem, eu não sou psicóloga: sou etóloga, e isso tudo graças a vocês.

Eu precisei de mãos para a coleta de dados. Andrea Alves e Daniel Barcellos (os Terríveis), foram meus braços direito e esquerdo. Não haveria tese se não fossem vocês. Eu amo vocês, de verdade!!!!!!!!!!!!!!

A USP possui funcionários sensacionais, e alguns deles estavam no meu caminho. Agradeço em especial à Édila Aparecida e ao Jacó (*in memoriam*), por cuidarem tão bem de nossas formigas. Aos seguranças todos, em especial a: Fernando, Orsino, Francisco, João, José, Carlos Robério, Carlos Roberto, Cláudio, Edilson e Roberto, por cuidarem de tudo e me fazerem saber que eu não era a única no prédio aos finais de semana. E, é claro, ao Vinicius, por suas colaborações com o projeto, e a Tânia e Fátima, por cuidarem de mim.

Não vou esquecer das pessoas que com quem me encontrei. Jani Pereira, Larissa Troitino: foi um prazer trabalhar com vocês. Tê-las ao meu lado nas noites de coleta, nas disciplinas que fizemos juntas, nas discussões sobre tudo, nas alegrias e nas tristezas. Vocês foram as irmãs por parte de orientadora que todo aluno mais velho gostaria de ter. Também temos a Gabriela Brito e sua curiosidade alegre e contagiante, o Victor Tayon, a Susana Luchesi, a Karen Bonsangue, a Gisele Polito, o Victor Paiola... Vocês são meus eternos caçulas, mesmo os que não continuam mais no laboratório.

Aos amigos que acompanharam o dia a dia deste doutorado do ponto de vista de fora da academia: Fábria, Yumi, Graça, Rose, vocês viram este filho quando ele começou a andar. Gleyce, Marcio, Katia, Gigi, Rafael, vocês o viram crescer. Isabella, Aline, Adriana, Priscilla, Prisco, Denise (esposa do Prisco), Denise (do RJ), Mari, Adriana (de MG), AnaCarol, Bruno, Proveisso, Paulinha, Rodrigo, Amanda, Rafael (de RC), vocês são os padrinhos e as madrinhas desta criança. Agradeço muito!!!!!!!!!!!!!!

À mushi, que estive ao meu lado durante todo esse processo. Que teve paciência comigo. Que me levou para tomar ar quando precisei. Que disse “morde” quando eu queria matar um. Que compartilhou das minhas felicidades acadêmicas, mesmo não as compreendendo.

Aos meus pais, Sonia e Carlos, porque sempre acreditaram em mim – apesar de terem me oferecido formicida para acabar com tudo (rsrs).

Aos meus irmãos, Carla e Erich, porque souberam estar presentes e souberam entender minhas ausências.

Ao Eibl (*in memoriam*), por ter sido companheiro no curto espaço de vida que compartilhamos juntos. A Hidra e Jheanie, por serem simplesmente as melhores cachorras que um ser humano poderia ter. Aos demais mascotes do nosso *lab* (Darwina (*in memoriam*), Einstein, Chuck, Jani-ele e Lia Hamster), pois com todos esses bichos na roda de conversa, nunca faltou assunto!

Às formigas do laboratório Walter Hugo Cunha, por sua rebeldia que fez a pesquisa ser muito mais divertida.

A todos de quem eu esqueci, mas que sabem do fundo do coração que são muito amados.

A todos que pesquisaram o tema que estudei, por terem me dado suporte teórico para tudo que fiz.

E, é claro, à CAPES pela bolsa.

“Pouca saúde e muita saúva, os males do Brasil são.”

Mario de Andrade, em *Macunaíma*

“Entrada só para loucos”

Herman Hesse, em *O lobo da estepe*

RESUMO

Viegas, L. M. (2018) *Estudo do comportamento de Atta sexdens quanto ao gerenciamento de detritos*. Tese de Doutorado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo

O processo de tomada de decisão tem sido estudado em várias espécies de formigas e em diversos contextos, especialmente durante o forrageamento e a escolha do local do ninho. Nesses estudos, os cientistas tentam entender quais são os mecanismos envolvidos na seleção de um determinado local para o ninho ou de rota de forrageamento. Há poucas pesquisas sobre tomada de decisão em relação ao descarte de lixo. O lixo pode ser uma fonte de patógenos. Seu manejo é importante para insetos eusociais, como as formigas cortadeiras, pois a proximidade genética entre os indivíduos do ninho facilita a disseminação de doenças. O projeto visa estudar o comportamento da *Atta sexdens* frente ao lixo, dando especial atenção ao processo de tomada de decisão, às estratégias para descarte de lixo, à orientação no transporte de lixo e à forma como as operárias lidam com ele. Para isso, realizamos uma série de procedimentos experimentais, cuja metodologia incluiu o uso de labirintos e pontes em diferentes formatos e a observação do comportamento das operárias. Em geral, observamos que as formigas, assim como visto na literatura, preferem isolar o lixo do resto da colônia. Com a *Atta sexdens*, isso costuma ocorrer em câmaras sob a terra, unidas ao formigueiro, mas longe de fungos. O ambiente laboratorial não permite que isso ocorra, o que faz com que elas busquem meios alternativos para isolar o lixo. Esse isolamento pode ocorrer usando potes dentro da bandeja de ninho, mas parece haver preferência em colocar o lixo fora dela, em outra bandeja, por exemplo, interligada àquela em que ficam os potes com fungos. Sempre que há esse espaço externo para o depósito de detritos, as formigas transportam o lixo para ele. Esse local não precisa ser o mais distante possível, ao contrário do que esperávamos. Para orientação, as lixeiras levam em consideração as diferentes pistas que possuem (químicas, visuais e outras, intrínsecas). Finalmente, temos evidências de que as formigas adaptam suas estratégias de forrageamento ao ambiente em que estão, evitando, por exemplo, a contaminação das folhas. Não encontramos evidências, no entanto, de agressividade contra as formigas contaminadas pelo lixo. Houve, porém, mais agressividade contra lixeiras que contra forrageadoras. Esses resultados vão parcialmente na direção esperada.

Palavras-chave: *Atta sexdens*; lixo; tomada de decisão, orientação espacial.

ABSTRACT

Viegas, L. M. (2018) *Estudo do comportamento de Atta sexdens quanto ao gerenciamento de detritos*. Tese de Doutorado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo

The decision-making process has been studied in several species of ants and in different contexts, especially during the planning and selection of the nest site. In these studies, scientists try to understand which are the mechanisms involved in selecting a particular nest site or foraging route. There are a few studies on decision-making regarding waste disposal. Waste can be a source of pathogens. Its management is important for eusocial insects, such as leaf-cutting ants, since there is a genetic proximity between individuals, facilitating the spread of diseases. This project aims to study the behavior of *Atta sexdens* and how they manage their waste, focusing in the decision-making process, strategy for waste disposal, guidance on the transportation of waste and how workers deal with waste. For this, we performed a series of experimental procedures, whose methodology included the use of labyrinths and bridges in different formats and the observation of the behavior of the workers. In general, we observed that the ants, as seen in the literature, prefer to isolate the waste from the rest of the colony. In *Atta sexdens*, this usually occurs in chambers below ground, attached to the nest, but away from the fungus. The laboratory environment does not allow this to occur, which causes them to seek alternative means to isolate the waste. This isolation can occur using pots inside the nest tray, but it seems preferable to put the waste outside of it, for example in another tray, interconnected with that in which the pots with fungus are placed. Whenever there is this external space for debris deposit, the ants carry the waste for it. This place does not have to be as distant as possible, contrary to what we expected. For guidance, dumps take into account the different clues they have (chemical, visual, other intrinsic tracks). Finally, we have evidence that the ants adapt their foraging strategies to the environment they are in, for example to avoid contamination of the leaves. We found no evidence, however, of aggressiveness against ants contaminated with waste. There was, however, more aggressiveness against dumps than against foragers. These results are partly in the expected direction.

Keywords: *Atta sexdens*; waste; decision making, spatial orientation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
1.1	Formigas cortadeiras e fungo simbiote	25
1.2	Eusocialidade	27
1.3	Grupos sociais	29
1.4	Imunidade social	30
1.5	Depósito de detritos	33
1.6	Divisão de trabalhos e tarefas	35
1.7	Cadáveres	38
1.8	Orientação	40
1.9	Reconhecimento de parceiras	43
1.10	Auto-organização	45
1.11	Sobre a presente pesquisa	46
2	OBJETIVOS E HIPÓTESES GERAIS	47
3	METODOLOGIA GERAL	50
3.1	Descrição geral do laboratório	50
3.2	Colônias	51
3.3	Aparelhos de filmagem	52
4	EXPERIMENTO 1 – INFLUÊNCIA DA EXPOSIÇÃO AO LIXO NO COMPORTAMENTO DAS COMPANHEIRAS DE NINHO (EXPOSIÇÃO AO LIXO)	53
4.1	Pressupostos teóricos e objetivo	53
4.2	Hipóteses	54
4.3	Metodologia	55
4.3.1	Colônias	55
4.3.2	Procedimento	55
4.3.3	Análise	57
4.4	Resultados	59
4.4.1	Aspectos qualitativos	59
4.4.2	Agressividade inicial	61
4.4.3	Agressividade em 3 minutos	64
4.4.4	Carregamento	68

4.4.5	Média de formigas ao redor da focal.....	70
4.5	Discussão.....	71
5	EXPERIMENTO 2 – REAÇÃO DAS FORMIGAS FORRAGEADORAS A UM CAMINHO CONTAMINADO (OBSTÁCULO).....	75
5.1	Pressupostos teóricos e objetivo.....	75
5.2	Hipóteses.....	76
5.3	Metodologia.....	77
5.3.1	Aparato experimental.....	77
5.3.2	Procedimento.....	78
5.3.3	Análise.....	79
5.4	Resultados.....	80
5.4.1	O primeiro transporte de folhas.....	80
5.4.2	Frequência de eventos.....	82
5.4.3	Ação sobre obstáculos.....	84
5.4.4	Comparação do fluxo e transporte de folhas nos braços do Y.....	84
5.5	Discussão.....	99
6	EXPERIMENTO 3 – ISOLAMENTO DO LIXO A DIFERENTES DISTÂNCIAS (PONTES).....	102
6.1	Pressupostos teóricos e objetivo	102
6.2	Hipóteses	102
6.3	Metodologia	103
6.3.1	Colônias	103
6.3.2	Procedimento experimental e análise.....	104
6.4	Resultados.....	105
6.4.1	Dados extras da colônia C1.....	108
6.5	Discussão	110
7	EXPERIMENTO 4 – ESCOLHA ENTRE CAMINHOS DE TAMANHOS DIFERENTES (PONTES DE TAMANHOS DIFERENTES).....	113
7.1	Pressupostos teóricos.....	113
7.2	Hipóteses.....	113
7.3	Metodologia	113
7.3.1	Procedimento.....	114

7.3.2	Análise.....	114
7.4	Resultados.....	115
7.5	Discussão	121
8	EXPERIMENTO 5 – CONFIRMAÇÃO DA EXISTÊNCIA DE TRILHAS QUÍMICAS PARA DESCARTE DE LIXO (PONTES INVERTIDAS)	124
8.1	Pressupostos teóricos e objetivos.....	124
8.2	Hipóteses.....	124
8.3	Metodologia	125
8.3.1	Procedimento	125
8.3.2	Análise	126
8.4	Resultados	127
8.5	Discussão	138
9	EXPERIMENTO 6 – ISOLAMENTO DE LIXO USANDO ESTRATÉGIAS EFICAZES OU INEFICAZES (T EXTERNO E T INTERNO)	141
9.1	Pressupostos teóricos e objetivo	141
9.2	Hipóteses.....	142
9.3	Metodologia.....	143
9.3.1	Procedimento – T externo.....	143
9.3.2	Procedimento – T interno.....	144
9.3.3	Análise.....	145
9.4	Resultados.....	147
9.5	Discussão.....	166
10	EXPERIMENTO 7 – TESTE DE ORIENTAÇÃO PARA DESCARTE DO LIXO (INVERSÃO E LUZES)	170
10.1	Pressupostos teóricos e objetivo.....	170
10.2	Hipóteses.....	171
10.3	Metodologia.....	172
10.3.1	Procedimento e análise – Inversão.....	172
10.3.2	Procedimento e análise – Luzes.....	174
10.4	Resultados.....	178
10.4.1	Resultados – Inversão – Teste de pista química.....	178

10.4.2	Resultados – Luzes – Teste 1 – Luz parada, T muda de lugar.....	188
10.4.2.1	Resultados – Luzes – Teste 2 – Luz parada, T gira 180º.....	194
10.4.2.2	Resultados – Luzes – Teste 3 – Luz muda de lugar, T gira 180º...	199
10.4.2.3	Resultados – Luzes – Teste 4 – Luz e T muda de lugar.....	205
10.5	Discussão.....	212
11	EXPERIMENTO 8 – AVALIAÇÃO DA ESTRATÉGIA DE ISOLAMENTO DE LIXO MAIS USADA (FUGA CONTROLADA).....	216
11.1	Pressupostos teóricos e objetivo.....	216
11.2	Hipóteses.....	216
11.3	Metodologia.....	217
11.3.1	Procedimento.....	217
11.3.2	Análise.....	218
11.4	Resultados.....	219
11.5	Discussão.....	234
12	CONCLUSÕES GERAIS.....	238
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	241
	ANEXO I: DADOS SOBRE AS COLÔNIAS.....	250
	ANEXO II: CRONOGRAMA FINAL.....	252
	ANEXO III: DADOS EXTRAS DO EXPERIMENTO 1 (EXPOSIÇÃO AO LIXO).....	256
	ANEXO IV: ESTUDO-PILOTO – ESCOLHA ENTRE CAMINHOS DE TAMANHOS DIFERENTES E AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DAS TRILHAS DE LIXO (CANOS)...	261
	ANEXO V: RESULTADO DAS COLÔNIAS DESCARTADAS NO T EXTERNO E NO T INTERNO.....	267
	ANEXO VI: DADOS DO EXPERIMENTO 8 (FUGA) DESCARTADOS.....	275
	ANEXO VII: RESUMOS EM CONGRESSOS.....	279

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Representação de um ninho de formiga com lixo interno.....	344
Figura 2 – Objetivos e experimentos em que serão avaliados.....	499
Figura 3 – Foto de uma de nossas colônias no laboratório.....	51
Figura 4 – Representação esquemática do procedimento do experimento 1 (exposição ao lixo).....	566
Figura 5 – Frequência do tipo da primeira interação por categoria experimental	62
Figura 6 – Box-plot dos índices de agressividade nos primeiros 10 segundos por função da formiga.....	64
Figura 7 – Índice de agressividade por função da operária	68
Figura 8 – Distribuição de forrageadoras e lixeiras carregadas (acima) e local para onde foram carregadas (abaixo).....	69
Figura 9 – Representação esquemática do labirinto usado no Experimento 2 (Obstáculo).....	788
Figura 10 – Latência para o primeiro transporte efetivo de folha sobre o obstáculo (esquerda) e número de tentativas de transporte antes do primeiro transporte efetivo de folha (direita)	81
Figura 11 – Comportamentos de formigas com fragmentos de folhas frente ao obstáculo.....	83
Figura 12 – Local onde a folha foi abandonada.....	83
Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes aos obstáculos	866-96
Figura 14 – Box-plot do fluxo de formigas por braço do Y para parte do experimento e por tipo de obstáculo adicionado	97
Figura 15 – Box-plot do número de folhas transportadas por braço do Y para parte do experimento e por tipo de obstáculo adicionado.....	98
Figura 16 – Representação esquemática da ponte usada para o Experimento 2 (Pontes)	104
Figura 17 – Gráficos de frequência apresentando a bandeja de lixo mais usada (acima, à esquerda), se as colônias removeram o lixo da bandeja de	

colônia (acima, à direita) e se a bandeja de colônia foi totalmente limpa, por tamanho da colônia (abaixo)	107
Figura 18 – Distribuição do lixo (acima) e corpos (abaixo) nas diferentes bandejas de descarte ao final do experimento	108
Figura 19 – Distribuição do lixo (acima) e corpos (abaixo) detalhada por área de descarte; a quantidade de lixo atrás da bandeja de distância média é desprezível	109
Figura 20 – Esquema da montagem do experimento 4	114
Figura 21 – Número de transporte de lixos (em 10 minutos) e fluxo (em um minuto) por tamanho da ponte.....	116-118
Figura 22 – Dados sobre transportes em direção ao ninho	121
Figura 23 – Esquema da montagem do experimento 5	126
Figura 24 – Número de transporte de lixo (em 10 minutos) e fluxo de formigas (em um minuto) por braço da ponte – Colônias que usaram o braço curto.....	128-134
Figura 25 – Dados sobre transportes em direção ao ninho	137
Figura 26 – Representação esquemática do experimento 6 (T externo).....	144
Figura 27 – Representação esquemática do experimento 6 (T interno).....	145
Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta	152-165
Figura 29 – Foto do experimento 7 (Luzes).	176
Figura 30 – Esquema do experimento 7 (Luzes).....	177
Figura 31 – Distribuição dos arremessos no T externo por dia de coleta após a inversão	179-185
Figura 32 – Frequência de preferência dos lados do T após a inversão.....	186
Figura 33 – Resultado do experimento 7 - Luzes - Teste Luz parada, T muda de lugar	189-191
Figura 34 – Frequência de extremidade mais usada na última semana da fase de controle e na primeira semana da fase experimental – Luzes – Teste Luz parada, T muda de lugar	192
Figura 35 – Box-plot do número de arremessos do teste Luzes – Luz parada, T muda de lugar.....	193
Figura 36 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Teste Luz parada, T gira 180º	195-197

Figura 37 – Frequência de extremidade mais usada na última semana da fase de controle e na primeira semana da fase experimental – Luzes – Teste Luz parada, T muda de lugar	198
Figura 38 – Box-plot do número de arremessos do teste Luzes – Luz parada, T muda de lugar	199
Figura 39 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Luz muda de lugar, T gira 180°	201-203
Figura 40 – Frequência de extremidade mais usada na última semana da fase de controle e na primeira semana da fase experimental – Luzes – Luz muda de lugar, T gira 180°	204
Figura 41 – Box-plot do número de arremessos do teste Luzes – Luz muda de lugar, T gira 180°	205
Figura 42 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Teste Luz parada, T muda de lugar	207-209
Figura 43 – Frequência de extremidade mais usada na última semana da fase de controle e na primeira semana da fase experimental – Luzes – Luz e T Mudam de lugar	211
Figura 44 – Box-plot do número de arremessos do teste Luzes – Luz e T mudam de lugar	212
Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos	220-22030
Figura 46 – Box-plot do número de dias para o início do uso da fuga para transporte de lixo	231
Figura 47 – Distribuição das colônias que pararam ou não de usar o T de acordo com o tipo de experimento original	232
Figura 48 – Box-plot do número de arremessos usando o T e o número de formigas do T na semana de controle e na última semana da fase experimental – T externo	233

Figura 49 – Box-plot do número de arremessos usando o T e o número de formigas do T na semana de controle e na última semana da fase experimental – T interno	234
Figura 50 – Representação esquemática do experimento 8 (canos)	262
Figura 51 – Número de transporte de lixos (em 10 minutos) e fluxo (em um minuto) por tamanho original de cano	264-265
Figura 52 – Resultados de arremessos no experimento 6 (T externo e T interno) por dia de coleta – Colônias descartadas	269-273
Figura 53 – Gráfico da fuga – Resultados descartados. O primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T	275-277

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição das colônias participantes.....	555
Tabela 2 – Resultado do teste Mann-Whitney aplicado para o índice de agressividade nos primeiros 10 segundos, de acordo com a função da formiga focal.....	63
Tabela 3 – Resultado do teste Kruskal-Wallis aplicado para os índices de agressividade no período de 3 minutos, de acordo com a função da formiga focal, o tratamento experimental pelo qual passou e o tempo de tratamento	655
Tabela 4 – Resultado do teste Kruskal-Wallis aplicado para os diferentes índices de agressividade para 3 minutos, de acordo com a função da formiga focal e o tratamento experimental pelo qual passou	677
Tabela 5 – Resultado do teste Mann-Whitney aplicado para os diferentes índices de agressividade, de acordo com a função da formiga focal	677
Tabela 6 – Resultado da correlação de Spearman entre o número de operárias em torno da focal e os diferentes índices de agressividade	70
Tabela 7 – Resultado dos testes Wilcoxon pareados aplicados para o fluxo de formigas por braço do Y e por momento do experimento	97
Tabela 8 – Resultado dos testes Wilcoxon pareados aplicados para o número de folhas forrageadas por braço do Y e por momento do experimento	98
Tabela 9 – Informações sobre o tamanho das colônias	103
Tabela 10 – Dados sobre o início do uso da ponte para transporte de lixo e número de bandejas de lixo usadas – Experimento 3 (pontes)	105
Tabela 11 – Resultado dos testes estatísticos do experimento 4 (pontes de tamanhos diferentes).....	119
Tabela 12 – Resultado dos testes estatísticos do experimento 5 (pontes invertidas)	136
Tabela 13 – Número de dias para o início do uso do T externo para transporte e isolamento do lixo, e escolha preferencial	148
Tabela 14 – Número de dias para o início do uso do T interno para transporte e isolamento do lixo, e escolha preferencial	149
Tabela 15 – Resultado dos testes estatísticos do experimento 6 (T externo e T interno).....	150

Tabela 16 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado entre as colônias que fizeram a inversão imediata	187
Tabela 17 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado entre as colônias que não fizeram a inversão imediata	187
Tabela 18 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado entre as colônias participantes do teste Luz parada – T muda de lugar	193
Tabela 19 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado entre as colônias que participaram do teste Luz parada – T gira 180°.....	199
Tabela 20 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado entre as colônias que participaram do teste 3 – Luz muda de lugar, T gira 180°	205
Tabela 21 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado no teste 4 – Luz e T mudam de lugar	211
Tabela 22 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado para o número de dias de início do uso da Fuga para transporte de lixo	231
Tabela 23 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado para o número de arremessos usando o T e o número de formigas do T na semana de controle e na última semana da fase experimental – T externo	233
Tabela 24 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado para o número de arremessos usando o T e o número de formigas do T na semana de controle e na última semana da fase experimental – T interno	233
Tabela 25 – Resultado do teste Qui-quadrado aplicado nos dados de frequência para se a primeira interação foi agressiva ou não, por tempo de tratamento	256
Tabela 26 – Resultado do teste Qui-quadrado aplicado nos dados de frequência para se a primeira interação foi agressiva ou não, por tipo de tratamento	257
Tabela 27 – Resultado do teste Qui-quadrado aplicado nos dados de frequência para se a primeira interação foi agressiva ou não, por função da formiga	257
Tabela 28 – Índice de agressividade nos primeiros 10 segundos de experimento, de acordo com a função da formiga focal, o tratamento experimental e o tempo de exposição	258

Tabela 29 – Índice de agressividade nos primeiros 10 segundos, de acordo com a função da formiga focal e o tratamento experimental	258
Tabela 30 – Índices de agressividade para 3 minutos para cada uma das categorias experimentais.....	259
Tabela 31 – Número de dias levados para o início do uso do T externo para transporte e isolamento do lixo, e escolha preferencial (colônias descartadas).....	268
Tabela 32 – Número de dias levados para o início do uso do T interno para transporte e isolamento do lixo, e escolha preferencial (colônias descartadas).....	268

1 INTRODUÇÃO

Formigas são insetos da ordem *Hymenoptera*, da família *Formicidae* (Hölldobler & Wilson, 1990; Wilson, 1971). Existem mais de 13.000 espécies de formigas catalogadas, mas estima-se que esse número seja duas ou três vezes maior (Ward, 2014). São consideradas eusociais (Plowes, 2010), sendo consideradas, também, um dos exemplos mais bem-sucedidos desse tipo de estrutura social (Ward, 2014). Pesquisas mais recentes estimam que as primeiras formigas surgiram no Período Cretáceo, e, com o surgimento das angiospermas, e consequente ampliação de seu habitat e fonte de alimento, conseguiram dominar o mundo, passando a representar parte expressiva da biomassa de ecossistemas naturais, tornando-se as mais numerosas entre os insetos (Hölldobler & Wilson, 1990; Moreau, Bell, Vila, Archibald & Pierce, 2006; Ward, 2014).

Existem 21 subfamílias de formigas, sendo que quatro delas comportam mais de 87% das espécies descritas: *Myrmicinae*, *Formicinae*, *Ponerinae* e *Dolichoderinae* (Benoit, 2013). A espécie que estudamos, *Atta sexdens*, pertence à subfamília *Myrmicinae*, a mais diversa entre elas, com mais de 6000 espécies descritas. Essa subfamília abarca espécies de diferentes tipos, incluindo as cortadeiras, como a espécie que estudamos.

1.1 Formigas cortadeiras e fungo simbiote

Hölldobler e Wilson (1990) nos contam que as formigas do Novo Mundo (tribo *Attini*) são cortadeiras de folhas, sendo consideradas as maiores consumidoras de folhas do mundo: estima-se, por exemplo, que 17% do consumo de folhas seja feito por elas.

Por muitos anos, questionou-se qual seria a utilidade das folhas cortadas. Acreditava-se que poderiam servir de alimento para o ninho ou como uma forma de mantê-lo aquecido. Belt (1874) foi o primeiro a deduzir que as folhas levadas ao ninho não seriam comidas pelas formigas, e sim usadas para cultivar fungos. Pesquisas posteriores revelaram que esses fungos (o *Leucoagaricus gongylophorus*, no caso da *Atta sexdens*) eram os verdadeiros alimentos das formigas (Wilson, 1971), e com os quais elas mantinham uma relação mutualística. Essa característica também faz com que esse grupo de formigas seja conhecido como “cultivadoras de fungos” (Benoit,

2013). De acordo com Hölldobler & Wilson (1990), para que as folhas se tornem alimento do fungo, elas são, primeiramente, cortadas em pequenos pedaços e, então, mastigadas pelas formigas até que fiquem molhadas e moles. Só então são colocadas no substrato onde está o fungo. Esse procedimento seria necessário porque as formigas não possuem as enzimas necessárias para digerir folhas, dependendo de seus simbiossiontes (o fungo) para conseguirem se alimentar. Evidências posteriores, porém, indicam que o fungo alimenta principalmente as imaturas e a rainha, enquanto as demais operárias complementarizam sua alimentação com a seiva das folhas (Quinlan & Cherrett, 1979). Mas como isso seria possível, particularmente entre espécies que não possuem acesso a folhas frescas o ano inteiro, e considerando que elas não são capazes de digerir certas partes da folha? Para tentar esclarecer esse ponto, Silva et. al. (2003) investigaram a integração metabólica entre o fungo simbiote e as formigas da espécie *Atta sexdens*. Para isso, avaliaram a taxa de sobrevivência das operárias a diferentes tipos de dietas, concluindo que, embora seja possível que as formigas tirem parte de seu sustento das folhas, ele não seria o suficiente para mantê-las vivas. Elas não vão se alimentar do fungo, porém: vão se alimentar da glicose produzida durante o seu crescimento. Assim sendo, a participação do fungo na digestão das folhas pelas formigas é fundamental (A. Silva et al., 2003).

Justamente pela importância que os fungos têm para a sobrevivência das formigas cortadeiras, elas não poupam esforços para manter o jardim de fungos em boas condições para seu bom desenvolvimento, saudável e limpo. As estratégias para isso incluem tanto a especialização nas diferentes tarefas dentro do ninho ou de profilaxia para evitar a ação de parasitas nocivos ao fungo, quanto a escolha de local e alimentação adequados ao seu cultivo e bem-estar. Roces e Kleineidam (2000), por exemplo, colocaram formigas da espécie *Atta sexdens* e uma pequena quantidade de fungo em uma estrutura com quatro câmaras, com níveis diferentes de umidade e interconectadas. Os pesquisadores observaram que as operárias, capazes de identificar discretas diferenças de umidade, tendiam a transportar o fungo para a câmara mais propícia a ele.

Souza, Peres Filho, Caldeira, Dorval e Sousa (2012), por sua vez, apontam-nos que a decisão pelas folhas ou partes das folhas a serem cortadas levam em conta a preferência do fungo e a idade da planta. Esse grupo avaliou, em laboratório, quais plantas mais favoreceriam, entre 20 testadas, o crescimento do fungo *Leucoagaricus*

gongylophorus, concluindo que extratos de jenipapo (*Genipa americana*), seringueira (*Hevea brasiliensis*), ingá (*Inga edulis*) e cambará (*Vochysia divergens*) eram os que melhor cumpriam esse papel. Em linha semelhante encontra-se o trabalho de Lacerda, Della Lucia, Pereira, Peternelli e Tótola (2010), que avaliou a influência de três tipos diferentes de folha (*Acalypha wilkesiana*, *Ligustrum japonicum* e *Eucalyptus urophylla*) no desenvolvimento do fungo, concluindo que a *Acalypha wilkesiana* foi a que se relacionou com o fungo de melhor qualidade, enquanto a *Eucalyptus urophylla* foi considerada prejudicial a ele e a que produzia um lixo mais perigoso. A pesquisa também apontou que tais espécies de planta estavam relacionadas, respectivamente, a um lixo mais asséptico e a um mais perigoso.

É importante ressaltar que as formigas também conseguem distinguir quais os tipos de folhas forrageadas são ruins para o fungo ao notar que ele reagiu mal à planta que lhe foi incorporada, mesmo que para elas não causasse mal algum (Arenas & Roces, 2016a). Isso faz com que as operárias parem de forragear essas plantas, sendo um processo que envolve não apenas as forrageadoras (responsáveis pela coleta de alimento) mas também as operárias jardineiras (responsáveis pelos cuidados do fungo) e lixeiras (que removem os detritos do ninho, como o fungo morto).

1.2 Eusocialidade

A eusocialidade é considerada o maior nível de organização social existente (Wilson & Hölldobler, 2005). Boa parte dos animais eusociais são encontrados no filo dos artrópodes e dos cordatas, sendo esse comportamento bem documentado em insetos, embora também seja encontrado em crustáceos e mamíferos (Plowes, 2010; Wilson & Hölldobler, 2005).

De acordo com a literatura (Plowes, 2010; Wilson & Hölldobler, 2005), três características são consideradas fundamentais ao se considerar uma espécie como eusocial:

- Seus indivíduos adultos vivem em grupos, cuidando de forma coletiva dos juvenis (sendo que esses indivíduos quase nunca são sua prole direta);
- Divisão do trabalho reprodutivo em castas (apenas alguns indivíduos são férteis);
- Há sobreposição de duas ou mais gerações (ou seja, temos indivíduos velhos e jovens vivendo juntos).

Em *A Origem das Espécies*, de Darwin (1859), o criador da teoria da seleção natural discute que a eusocialidade representa um grande desafio para a Seleção Natural, uma vez que, nas espécies em que ela ocorre, a maior parte dos indivíduos pertence a castas inférteis. Isso levaria à questão: como esse traço teria sido selecionado? Uma possível explicação veio com Hamilton (1964), que nos apresentou aos conceitos de seleção de parentesco e aptidão inclusiva. De acordo com sua teoria, a Seleção Natural favoreceria a cooperação (como seria o caso de abrir mão da própria reprodução para cuidar dos irmãos) se o grau de relação entre os envolvidos fosse maior que os custos dessa cooperação. Esse mecanismo deu suporte ao surgimento do 'alocuidado', em que os pais recebem apoio de outros indivíduos de seu grupo social (relacionados ou não) para cuidar dos filhotes (Burkart, Hrdy & Schaik, 2009). Um grupo eusocial é, por definição, um grupo que depende do alocuidado, já que os indivíduos férteis irão apenas se reproduzir, e os cuidados dos imaturos ficará a encargo dos indivíduos das castas inférteis. Para os insetos sociais, em geral haplodiploides, a vantagem em deixar de cuidar dos próprios filhos para cuidar dos irmãos é clara: nessas espécies, machos são haploides e fêmeas são diploides. Uma fêmea compartilharia, portanto, $3/4$ de genes com suas irmãs por parte de pai e mãe, enquanto compartilharia apenas metade dos genes com suas filhas – logo, ela é mais relacionada geneticamente com seus irmãos que com sua mãe.

Por muitos anos, concluiu-se que a seleção de parentesco era a grande explicação para o surgimento da eusocialidade. Alguns elementos, porém, enfraqueceram essa hipótese (Nowak, Tarnita & Wilson, 2010), como, por exemplo, a descoberta de espécies eusociais diploides (ex.: o ratão do serrado), o fato de muitas espécies haploides não serem eusociais, ou, em muitas espécies eusociais, a fêmea acasalar com mais de um macho (o que faria com que nem todas as suas filhas tivessem o mesmo pai, diminuindo a vantagem potencial em investir nos irmãos). Os autores sugeriram que uma teoria completa da evolução do comportamento eusocial deveria incluir uma série de estágios, entre eles:

- a. Formação de grupos;
- b. Ocorrência de uma combinação mínima e necessária de traços pré-adaptativos, levando os grupos a serem firmemente formados;
- c. O surgimento de mutações que prescrevessem a persistência do grupo;
- d. Os traços emergentes causados pela interação dos membros do grupo serem moldados pela seleção natural das forças do ambiente;

- e. Seleção em diferentes níveis, mudando o ciclo de vida da colônia e sua estrutura social, muitas vezes para elaborar externos.

Outra linha de estudos seguiu por um conceito que, de alguma forma, complementa as ideias de Hamilton: o altruísmo forçado (Ratnieks & Wenseleers, 2008; Wenseleers & Ratnieks, 2006). Esse seria um nível de altruísmo que teria sido selecionado em grupos sociais por meio da coerção, que iria da destruição de ovos que não tivessem sido postos pela rainha à não alimentação das larvas, para que novas rainhas surgissem (Ratnieks & Wenseleers, 2008). A pressão social faria com que fosse, portanto, mais vantajoso se submeter e ser altruísta, oferecendo alocuidado, que tentar investir na própria reprodução. Obviamente, poderia haver tentativas de reprodução, particularmente quando houvesse sinais de que não existe rainha no ninho, o que diminuiria a patrulha contra as operárias que colocam ovos (Chapuisat, 2009).

1.3 Grupos sociais

Independentemente da forma como a eusocialidade é selecionada, ela compartilha vantagens e desvantagens da vida em sociedade, justamente por ser um grau avançado de grupo social.

A aptidão de um indivíduo está relacionada à sua capacidade de se reproduzir, de forragear e de se proteger ou defender (Alcock, 2005). A vida em grupos sociais favorece todos esses aspectos: os indivíduos colaboram mutuamente com os cuidados da prole, o que aumenta a taxa reprodutiva do grupo; eles se ajudam a forragear, aumentando a quantidade de alimento encontrada, bem como compartilham dele; finalmente, em grupo, a proteção dos indivíduos depende da ação conjunta de todos (Alcock, 2005; Whitehouse & Lubin, 2005). Como cada grupo vai se formar e em que grau cada um desses três aspectos será valorizado dentro do grupo vai depender de diferentes circunstâncias, incluindo questões pontuais, como a oferta de comida em determinado momento do ano (Whitehouse & Lubin, 2005). O grau com que o grupo interage também poderá depender de outros elementos, como a capacidade de se comunicar ou reconhecer outros indivíduos (Breed, 2014; Chapuisat, 2009; Whitehouse & Lubin, 2005).

Apesar de a vida em grupo estar associada a vantagens que contribuem para a maior taxa de sobrevivência de seus indivíduos, sabe-se que também está associada com maiores custos de aptidão, sendo o principal deles relacionado à questão do risco aumentado de transmissão de doenças e à maior taxa de parasitismo (Cremer, Pull & Fürst, 2018; Masri & Cremer, 2014; Meunier, 2015). Diversos fatores contribuem para isso, como a proximidade e a interação entre os indivíduos. Características específicas das espécies também podem aumentar esse risco, como o seu habitat, sua estrutura de ninho, entre outros (Cremer et al., 2018; Farji-Brener, Elizalde, Fernández-Marín & Amador-Vargas, 2016; Masri & Cremer, 2014). Nesse sentido, não podemos deixar de destacar uma característica dos grupos eusociais que contribui para a transmissão de doenças: a baixa variabilidade genética dos indivíduos. Conforme já explicamos, em um grupo em que apenas uma fêmea se reproduz, os diferentes membros têm um alto grau de parentesco entre si (todos irmãos da mesma mãe). Sabe-se que essa proximidade pode auxiliar na disseminação de doenças por deixar os indivíduos mais susceptíveis aos mesmos tipos de patógenos (Cremer, Armitage & Schmid-Hempel, 2007; Schmid-Hempel, 2017; Ugelvig, Kronauer, Schrempf, Heinze & Cremer, 2010). Uma solução evolutiva para esse problema seria acasalar com mais de um macho, o que aumentaria a diversidade genética dentro do grupo, levando tanto à diminuição da susceptibilidade interna às doenças quanto ao aumento de comportamentos profiláticos (Ugelvig et al., 2010). Ela, porém, só resolveria uma pequena parte do problema. Para outros problemas existentes, existiriam as estratégias de imunidade social.

1.4 Imunidade social

De acordo com a literatura (Armitage & Boomsma, 2010; Cremer et al., 2007, 2018; Meunier, 2015), os insetos sociais desenvolveram defesas de imunidade coletiva contra parasitas: os sistemas de imunidade social. Essas estratégias variam de acordo com o tipo de risco que se pretende evitar, com o estilo de vida do grupo, com o número de indivíduos infectados e com quem são esses indivíduos. De forma geral, porém, podemos dizer que elas atuam em três frentes:

- Evitar que o parasita entre no ninho;
- Se o parasita conseguir entrar, fazer com que ele saia rapidamente;

- Não sendo possível retirá-lo, que fique isolado dentro de uma determinada área, evitando contaminar rainha(s) (principal alvo da defesa, já que é(são) a(s) responsável(is) pela reprodução e, conseqüentemente, pela reposição de operárias dentro da colônia e sua posterior sobrevivência), fungos, larvas e imaturos. (Cremer et al., 2007)

As estratégias de imunidade social são especialmente importantes em colônias de formigas cortadeiras, já que sua relação simbiótica e altamente dependente com o fungo as torna susceptíveis não apenas aos patógenos que atuam contra elas, mas também àqueles que são antagonistas ao *Leucoagaricus gongylophorus* (Lacerda et al., 2014).

Alguns autores (ver Cremer et al., 2018) comparam a Imunidade Social com o sistema imunológico existente nos seres vivos multicelulares complexos em geral. Explicam que as colônias de insetos sociais são similares a corpos multicelulares, com as rainhas e os machos sendo semelhantes às estruturas reprodutivas, as operárias estéreis sendo semelhantes às demais células do corpo, e ambas (reprodutivas e demais células do corpo) dependendo uma da outra para a própria sobrevivência e para sobrevivência do “indivíduo” colônia. Se a colônia pode ser considerada um indivíduo, seria natural, por consequência, que sua defesa imunológica (no caso, a Imunidade Social) seja equivalente ao sistema imunológico dos corpos multicelulares. É importante ressaltar que o conceito foi criado especificamente para colônias de insetos sociais (Cremer et al., 2007), embora alguns comportamentos, para evitar a contaminação dos indivíduos por patógenos, possam ser observados em espécies sociais diversas.

Entre as estratégias apontadas por Cremer, Armitage e Schmidt-Hempel (2007), podemos destacar:

- Barreiras físicas: isolamento das áreas contaminadas dentro do ninho, de forma que indivíduos não contaminados deixem de circular por elas, diminuindo a chance de transmissão do patógeno dentro do ninho. Essas áreas, se houver a possibilidade, ficarão na periferia do ninho;
- Operárias auxiliares: indivíduos que são especializados em barrar as entradas do ninho, evitando a entrada de algo contaminado (inclusive, se necessário, matando companheiros);

- Substâncias antimicrobianas: as formigas desenvolveram a glândula metapleurale, que secreta um componente ácido que é efetivo contra bactérias e fungos. Essa substância pode ser colocada na comida dos imaturos ou em suas células, para evitar propagação dos patógenos;
- Divisão de trabalho: fazer com que apenas algumas castas ou indivíduos de certa idade exerçam determinados tipos de atividade, sem grandes mudanças nessa divisão, impedindo que uma operária responsável pelo cuidado do fungo também trabalhe em um ambiente contaminado;
- Auto e *alogrooming*: limpar um companheiro infectado, tirando dele o patógeno existente, se for possível;
- Isolamento do companheiro de ninho infectado: caso o companheiro de ninho já tenha morrido, seu corpo é retirado o quanto antes do ninho e colocado em um lugar isolado, que, de preferência, impeça a reinfestação por aquele indivíduo. Para indivíduos vivos, o isolamento pode se dar tanto isolando uma área do ninho, onde ele ficará confinado, quanto pela exclusão social: o indivíduo será agredido se tentar entrar em áreas do ninho que seriam proibidas para ele;
- Aumento da diversidade genética: uma mesma rainha acasalar com mais de um macho, ampliando, ainda que pouco, a diversidade genética dentro do ninho e dificultando a proliferação dos patógenos, uma vez que haja contaminação;
- Abandono do ninho: quando não é possível controlar a contaminação, pode-se optar por abandonar a região do ninho, levando a rainha saudável, larvas e formas juvenis junto.

Essa lista de estratégias, obviamente, não é exaustiva, podendo haver outras estratégias a serem usadas. Há, também, interação entre elas, para um resultado mais efetivo no controle de patógenos. Um exemplo interessante é o efeito da diversidade genética no comportamento antisséptico, com associação entre a baixa diversidade genética e uma diminuição da apresentação de comportamentos antissépticos, ou o seu início mais tardio (Ugelvig et al., 2010). A combinação de algumas dessas estratégias é usada pelas formigas cortadeiras para lidar com o lixo, como veremos mais adiante. Mas, afinal, quais são os problemas do lixo dentro de uma colônia de formigas?

1.5 Depósito de detritos

Um ninho de formigas produz lixo constantemente. Comida em decomposição, fungo morto ou cadáveres de companheiras de ninho são alguns dos materiais que o compõem (Hart & Ratnieks, 2002; Lacerda et al., 2010; Waddington & Hughes, 2010). Como ocorre com outras espécies, esse é um problema que precisa ser contornado pelas formigas, uma vez que esse material é fonte e/ou facilitador da transmissão de patógenos que podem fazer com que a colônia fique doente ou até mesmo morra. O problema torna-se ainda mais relevante quando consideramos o ambiente em que a maioria das formigas cortadeiras vive (ninhos fechados e isolados, com alta densidade de indivíduos, levando a contato constante com outros membros do grupo) e a baixa variabilidade genética, elementos que colaboram com a disseminação de patógenos (Farji-Brener et al., 2016). Diferentes tipos de patógeno podem atacar as formigas e o fungo. Destacamos a presença do *Escovopsis*, um fungo que parasita o fungo simbiótico (Bot, Currie, Hart & Boomsma, 2001); mas que não é o único, havendo também: *Trichoderma sp*, que inibe o crescimento do fungo simbiote, e *Aspergillus flavu* e *Fusarium sp*, entomopatógenos oportunistas (Lacerda et al., 2010). Um ponto importante é que a periculosidade do lixo poderá ser maior ou menor dependendo do tipo de alimento que deu origem a ele. Nesse sentido, destacamos a pesquisa de Lacerda et al. (2010), cujos resultados indicaram que, apesar das formigas expostas ao lixo viverem menos, lixos originados de fungos alimentados com certos tipos de planta, como o eucalipto, são mais nocivos para a colônia.

Cada espécie lida de forma diferente com os detritos que produz e essa forma é adaptada ao ambiente em que vive, à história de desenvolvimento da espécie e até mesmo às condições climáticas momentâneas. Há dois lugares onde se poderia depositar o lixo produzido por uma colônia: fora do ninho, sobre o solo, ou dentro do ninho, em painéis subterrâneos. De acordo com Farji-Brener et al. (2016), cada um desses meios possui vantagens e desvantagens. Depositar fora teria a vantagem de não precisar construir um local para o depósito, mas haveria a exposição das operárias lixeiras a predadores, bem como a possibilidade de o lixo, se depositado em lugar inadequado ou muito próximo às entradas do ninho, entrar novamente. Por outro lado, depositar nas painéis internas seria vantajoso para armazenar grandes quantidades de lixo, porém existiria o custo de cavar as painéis onde ficaria o lixo.

Essas panelas, conforme podemos ver na Figura 1, ficam nas extremidades do ninho, o que aumenta um pouco a dificuldade do trabalho de construí-las.

Figura 1 – Representação de um ninho de formiga com lixo interno

Fonte: Della Lucia (1993)

De acordo com Farji-Brener et al. (2016), existe um forte sinal filogenético para a prática de depositar lixo em panelas subterrâneas, já que boa parte das cortadeiras do gênero *Atta* depositam seu lixo em panelas dentro do ninho, enquanto poucas do gênero *Acromyrmex* o fazem, sendo que algumas espécies desse gênero depositam tanto dentro quanto fora. Haveria ligação entre a umidade do habitat das espécies e essa decisão, tendo aquelas de lugares mais úmidos tendência a colocar o lixo nas panelas subterrâneas, enquanto as de lugares secos e quentes optando por fazer esse depósito em locais externos (Farji-Brener et al., 2016; Verza et al., 2017). Ao mesmo tempo, há indícios de que uma mesma colônia poderia variar de estratégia, dependendo das condições climáticas (temperaturas mais frias estariam relacionadas a depósito do lixo nas panelas internas) ou da profundidade do ninho (ninhos mais profundos teriam maior probabilidade de ter panelas com lixo subterrâneas) (Verza et al., 2017).

Embora o lixo possa ser depositado dentro ou fora do ninho, de acordo com a espécie, outros fatores interferem na escolha do local onde isso ocorrerá. Em uma pesquisa com *Atta colombica* em ambiente natural, por exemplo, foi verificado que a

distância média entre a entrada do ninho e o monte de lixo era de 3,81 m, podendo ser maior ou menor dependendo do tamanho do formigueiro (Hart & Ratnieks, 2002). A mesma pesquisa também indicou a preferência por locais que ficassem abaixo da entrada do ninho, possivelmente para evitar que a chuva levasse o lixo de volta para o formigueiro. Nesse sentido, quanto mais inclinado fosse o terreno, mais perto o monte poderia estar. Já uma pesquisa realizada com *Acromyrmex lobicornis*, outra espécie cujo depósito de lixo é realizado fora do formigueiro, encontrou também a influência do vento na escolha do local de descarte de detritos: a direção predominante das rajadas de vento no local era tal, que afastava o material descartado da entrada do ninho (Ballari, Farji-Brener & Tadey, 2007). Todas essas pesquisas, realizadas com formigas cujo descarte de lixo é realizado fora do formigueiro, têm em comum o local escolhido para o descarte de lixo, que está a uma distância adequada do ninho (longe o bastante para ser seguro, perto o suficiente para o transporte não ser custoso) e com características ambientais que facilitem que o lixo se afaste. Também se observou, em *Atta sexdens*, que as colônias preferem depositar seu lixo em locais mais secos, medida que dificulta o surgimento de patógenos (Ribeiro & Navas, 2007). Também foi observada a construção de túneis em lixo úmido, em uma aparente tentativa de diminuir a sua umidade (Leite & Cunha, 1985).

Nas espécies de formigas cortadeiras, uma casta específica tem um papel muito importante no gerenciamento de detritos, já que é especializada nesse tipo de tarefa: as “lixadeiras”. Para entendermos melhor quem são esses indivíduos e qual o seu papel dentro da colônia, precisamos elucidar primeiro uma questão importante no surgimento dessa casta: a divisão de trabalho.

1.6 Divisão de trabalhos e tarefas

A divisão de trabalho é muito comum entre as diferentes espécies de insetos eusociais e, de acordo com Beshers e Fewell (2001), é considerada por alguns pesquisadores como o centro da organização social desses seres. Caracteriza-se pela especialização de um indivíduo da colônia em fazer algum tipo de atividade, sendo que outros indivíduos se especializarão em outras (Beshers & Fewell, 2001). Até o momento, foram descritos na literatura três tipos de mecanismo que podem ser usados para classificar a divisão de tarefa: *i*) o polietismo temporal – quando a idade do indivíduo determina o tipo de tarefa que ele irá exercer (sendo que, em geral, os

mais jovens realizam tarefas dentro do ninho e os mais velhos, fora); *ii*) o polietismo morfológico – quando as características físicas externas do indivíduo estão relacionadas com a atividade (por exemplo, as soldados, responsáveis pela defesa, são operárias maiores); e *iii*) o fisiológico – quando estruturas internas são responsáveis pela diferenciação (por exemplo, a existência de uma glândula metapleural mais desenvolvida nas generalistas, que serão as operárias com maior chance de sair do ninho ou ser expostas a patógenos do lixo) (Beshers & Fewell, 2001; Hölldobler & Wilson, 1990; Lacerda, 2008; Robinson, 2009; Traniello & Rosengaus, 1997).

Observa-se, nas formigas cortadeiras, a divisão de trabalho morfológica, embora essa divisão não seja tão clara quanto é observado em outras espécies (como nas abelhas) e haja flexibilidade nas atividades a serem desempenhadas (Carvalho, 1995). De qualquer forma, há divisão de indivíduos em castas e, dentro delas, uma série de tarefas que poderiam ser executadas. Vale destacar que as castas não se limitam a estéreis e não estéreis, mas incluem outras, dependendo do tamanho da cápsula cefálica. Wilson (1980) explica-nos que as castas são: rainha, larva e outras quatro castas físicas: jardineiras (com cápsula encefálica entre 0,6 a 1,2 mm), generalistas (com caixa encefálica entre 1,3 e 1,6 mm), forrageadoras e escavadoras (com caixa encefálica entre 1,7 e 2,4 mm) e soldados (caixa encefálica maior que 3,0 mm). Dessas, segundo o autor, as três primeiras podem ser divididas também de acordo com a sua idade (em mais jovens e mais velhas). Entre as principais tarefas, encontram-se o cultivo do jardim de fungos, os cuidados com imaturos e larvas, a defesa do ninho, o forrageamento e os trabalhos no lixo (Carvalho, 1995; Hölldobler & Wilson, 1990).

Existe uma série de modelos que tentam explicar como se dá a divisão de trabalhos nos insetos eusociais (Beshers & Fewell, 2001). São eles: limiar de resposta; transferência da informação; autorreforço; inibição social; forrageamento para o trabalho; e rede de alocação de tarefas. Pesquisas têm explorado esses modelos (por exemplo: Theraulaz, Bonabeau & Deneubourg, 1998, para limiar de resposta).

No que diz respeito às tarefas relacionadas ao lixo em formigas, foi observado na literatura (Ballari et al., 2007; Hart & Ratnieks, 2002; Waddington & Hughes, 2010) que as tarefas relacionadas aos detritos eram executadas por certos tipos de operárias, que são, em geral, menores que as companheiras de ninho, embora Hart e Ratnieks (2002) tenham também observado que as operárias do monte de lixo eram

maiores que as forrageadoras. Estima-se que cerca de 10% das operárias exerçam trabalhos relacionados com o lixo, embora esse número possa variar de acordo com o tamanho do formigueiro (Hart & Ratnieks, 2002).

Embora haja nas cortadeiras algum tipo de flexibilidade nas tarefas desempenhadas por uma operária, não há um consenso tão claro quando se trata da variabilidade comportamental de operárias que trabalham no lixo. Algumas pesquisas com formigas cortadeiras (Ballari et al., 2007; Hart & Ratnieks, 2002; Waddington & Hughes, 2010) apontam que, uma vez que a operária tenha funções relacionadas com o lixo, ela continuará exercendo tal tarefa indefinidamente. Se houver mudança de tarefa, ela se dará de operárias do ninho ou forrageadora para operária do lixo, ou de operária de lixo para operária do monte de detritos. Em contrapartida, um trabalho mais recente (Lacerda, Della Lucia, Desouza, De Souza & De Souza, 2013), realizado com formigas da espécie *Atta sexdens*, encontrou resultados divergentes: em um experimento em que montaram colônias apenas com lixeiras, observou-se que, após alguns dias, havia novas divisões de trabalho, com lixeiras assumindo todas as tarefas existentes, do forrageamento ao cuidado com o fungo. Parece-nos, porém, precipitado usar esse artigo como prova categórica de que as lixeiras não são fiéis: frente a situações extremas, em que ninguém assumir a tarefa levaria à morte de toda a colônia, as lixeiras passariam a assumir outras tarefas, pelo bem do coletivo. Essa ideia está de acordo com a hipótese do limiar de resposta, que indica que cada indivíduo possui diferentes necessidades de estímulo para executar determinadas tarefas. A nosso ver, as lixeiras não seriam fiéis por não serem capazes de executar outras tarefas no ninho, mas porque o limiar de resposta delas para essas outras tarefas é tão alto, que raramente são vistas exercendo outra função. Como os exemplos que atestam a fidelidade foram em situações normais, ou seja, com pouca manipulação da colônia, diferente dos dados de Lacerda et al (2013), os resultados não parecem totalmente comparáveis. Temos de destacar, porém, que em sua tese de doutorado, Lacerda (2008) encontrou indícios de não fidelidade em situação de baixa manipulação das operárias. Com isso, podemos afirmar que há, sim, indícios de que as *Atta sexdens* não são tão fiéis ao trabalho no lixo como outras espécies estudadas. Acreditamos, porém, que o estudo poderia ter sido sistematizado para que ganhasse maior força.

Algumas pesquisas (Ballari et al., 2007; Waddington & Hughes, 2010) têm encontrado agressividade em relação às operárias que trabalhavam no monte de

detritos e que tentaram se aproximar de outros setores do formigueiro. Vale dar um especial destaque para a pesquisa realizada por Waddington e Hughes (2010), que avaliou, na espécie *Acromyrmex echinator*, a reação das demais operárias diante de uma formiga não lixeira que foi exposta a lixo em faixas de tempo variáveis (de 10 segundos a 30 minutos). Observou-se que a reação das operárias frente a essa formiga variou conforme o tempo de exposição (formigas expostas por pouco tempo ao lixo foram apenas limpas, enquanto as que foram expostas por mais tempo foram agredidas) e a idade do indivíduo (formigas mais velhas foram mais agredidas que as mais novas). Não são, porém, todas as pesquisas que encontram esse resultado. Lacerda et al. (2014), por exemplo, apresentam-nos resultados que vão na direção contrária. Nesse estudo, os pesquisadores contaminaram o lixo de algumas colônias com esporos de *Escovopsis*. Depois, os pesquisadores pegaram operárias do lixo e forrageadoras da espécie *Atta sexdens* e as colocaram sobre o jardim de fungo, observando o tipo de comportamento das jardineiras em relação a elas. Como resultado, os pesquisadores não identificaram comportamento agressivo contra as operárias contaminadas, embora tenham observado um número maior de comportamentos de limpeza direcionados a elas, se comparado aos recebidos pelas forrageadoras. Embora não abordando exatamente a questão da contaminação pelo lixo, Leclerc e Detrain (2016) também adicionaram novos dados à literatura sobre profilaxia social, investigando a habilidade de operárias de *Myrmica rubra* na detecção e discriminação de uma companheira de ninho saudável contra uma acometida pelo patógeno *Metarhizium anisopliae*, um tipo de fungo. Durante encontros pareados em local neutro, as operárias foram mais agressivas com companheiras de ninho doentes a partir do 3º dia de isolamento pós-infecção. No entanto, essa discriminação não aconteceu quando o contexto social se dava dentro do ninho ou próximo à entrada. Esse estudo revelou que operárias podem detectar algumas pistas relacionadas à saúde, e que o “nível de aceitação” de companheiras doentes depende do contexto social.

1.7 Cadáveres

Como já foi dito anteriormente, cadáveres estão entre os elementos que compõem o lixo. A literatura, porém, mostra que eles recebem tratamento diferenciado.

Cunha (2004), por exemplo, observou que a presença de formigas esmagadas em uma trilha eliciava reações de pânico nas demais formigas, particularmente se os corpos fossem de coespecíficas da colônia experimental.

Aversão à presença de corpos também foi observada por Franks, Hooper, Webb e Dornhaus (2005). Esses pesquisadores observaram que as formigas da espécie *Temnothorax albipennis* não instalam seus ninhos em uma área onde haja corpos de outras formigas, mesmo que sejam companheiras de ninho.

Também existem estudos mostrando que formigas doentes se isolam de suas companheiras ao perceberem que estão a ponto de morrer, buscando afastar-se de seu ninho (Cremer et al., 2007; Heinze & Walter, 2010; Ugelvig et al., 2010). Um aspecto interessante desse isolamento é que ele é espontâneo e, se as formigas forem devolvidas ao ninho (mesmo que experimentalmente), elas tornarão a sair se ainda tiverem forças para isso (Heinze & Walter, 2010). Embora seja uma medida profilática, ela não impede que operárias morram dentro do ninho ou em suas proximidades. Quando isso ocorre, observamos a necroforesia, que é o comportamento de uma operária carregar o corpo de outra para longe do ninho, podendo ser para um “cemitério de formigas” (ou seja, um local especialmente reservado para o descarte de cadáveres), para o monte de lixo ou para outro lugar que responda bem à demanda de isolar o corpo, o suficiente para proteger o ninho sem andar tanto e que não seja custoso para a operária transportadora (Diez, Lejeune & Detrain, 2014; Diez, Deneubourg & Detrain, 2012; Diez, Deneubourg, Hoebeke & Detrain, 2011). Caso essa remoção não seja possível por algum motivo, a expectativa de vida das formigas dessa colônia irá diminuir (Diez et al., 2014).

Um ponto interessante sobre a necroforesia está relacionado com a divisão de tarefas. Diferentemente do que poderia ser esperado, não existe especialização para a tarefa de transporte de cadáveres, ou seja, uma operária que estava exercendo outra função (muitas vezes, forrageamento) pode ser a responsável por carregar o corpo para longe do ninho, mesmo que não seja sua tarefa principal (Diez, Le Borgne, Lejeune & Detrain, 2013). Isso pode ocorrer porque a demanda por esse tipo de atividade é, em geral, pequena, o que tornaria desnecessário ter um grande número de formigas dedicadas a isso. Por outro lado, uma formiga que tenha exercido a atividade de transporte de cadáveres tenderá a se isolar das demais, ou evitando entrar no ninho, ou, se for uma operária do ninho, ficando em suas áreas periféricas

(por exemplo, sua entrada), muitas vezes por meio de comportamentos agressivos vindos de outras operárias.

1.8 Orientação

Para as formigas, bem como para outros animais, deslocar-se de maneira apropriada pelo ambiente pode ser imprescindível, pelos mais diferentes motivos, inclusive para o descarte apropriado de detritos. Para que esse deslocamento seja bem-sucedido, uma boa habilidade de navegação é de vital importância, independentemente de a distância a ser percorrida ser grande ou pequena (Pearce, 2008).

Embora se discuta se é possível falarmos de cognição espacial ou da existência de mapas cognitivos em insetos (Bennett, 1996; Dornhaus & Franks, 2008; Wystrach & Graham, 2012), é incontestável que algum tipo de representação do ambiente exista.

A literatura em geral (por exemplo, Dornhaus & Franks, 2008; Pearce, 2008; Ribeiro, Helene, Xavier, Navas & Ribeiro, 2009), descreve três formas principais de orientação espacial em formigas. São elas:

- Criando uma trilha de feromônios que será usada para indicar o caminho que deverá ser seguido para ir de um local a outro;
- Usando pistas do próprio ambiente (marcos espaciais), que permitam a orientação visual;
- Usando a integração de rotas, ou seja, um recurso em que os indivíduos calculam a distância percorrida e a direção seguida para determinar o caminho de retorno.

A orientação por feromônios geralmente é a mais usada por formigas para indicar as direções a serem seguidas para chegar ao seu destino, como, por exemplo, às fontes de alimento (Goss, Aron, Deneubourg & Pasteels, 1989). O uso dessa estratégia está diretamente relacionado à fidelização de uma trilha (caminho percorrido por uma série de indivíduos para chegar ao mesmo ponto) pelas operárias, uma vez que cada formiga que passa por lá reforça a marcação da rota que está sendo usada. Isso irá, conseqüentemente, aumentar o interesse por se seguir esse percurso – mesmo que, depois de algum tempo, ele deixe de ser o melhor. Os

feromônios são tão importantes na comunicação espacial que, inclusive, já tiveram sua composição química determinada para várias espécies. Dentro da tribo *Attini*, o componente principal é o 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (Riley et al, 1974; Cross et al, 1982). Para *Atta sexdens*, o mesmo componente foi identificado, mas diferentemente da maioria das espécies da tribo *Attini*, ele não é o componente principal, e sim o 3-etil-2,5-dimetilpirazina, conforme descrito no trabalho de Cross et al. (1979).

Não são, porém, todas as formigas que usam feromônios para se orientar: algumas espécies usam informações adquiridas durante a execução da tarefa (Grüter & Leadbeater, 2014). Uma dessas espécies é apresentada por Silva (2017): a *Pachycondyla striata*. Nela, observamos que uma operária que já esteja familiarizada com o caminho para a fonte de alimento poderá usar recrutamento por *tandem running* para ensiná-lo às suas companheiras de ninho. Os dados apresentados pela pesquisadora indicam que essa locomoção será mais lenta que a que ocorreria caso a operária experiente quanto ao caminho estivesse voltando para a fonte de alimento sozinha, mas seu custo (maior tempo no deslocamento) é revertido no benefício de se ensinar como chegar à fonte de alimento e conseguir transportar uma maior quantidade de alimento para o ninho. Outras espécies, como a *Cataglyphis*, são conhecidas por também se orientar usando a integração de rotas, uma vez que moram em regiões em que outros tipos de orientação não são totalmente possíveis (Andel & Wehner, 2004; Wehner, 1999). Em *Atta colombica* também há indícios de navegação por integração de rotas, usando, para tal, informações magnéticas; para isso, porém, é necessário que mantenham contato com o solo, de onde tiram as partículas magnéticas que poderão ser usadas como uma espécie de bússola (Riveros, Esquivel, Wajnberg & Srygley, 2014)

Tradicionalmente, observa-se que as rotas seguidas pelas formigas são as mesmas, tanto para sair do ninho e chegar ao seu destino (à fonte de alimentos, por exemplo) quanto para a volta, mas há indícios de que elas são capazes de adaptar as demais técnicas de orientação para fazerem o retorno por um trajeto diferente do original. Nesse sentido, Ribeiro, Helene, Xavier, Navas e Ribeiro (2009) elaboraram um experimento em que as formigas da espécie *Atta sexdens* foram impedidas de retornar ao ninho pelo caminho por onde saíram. Observaram que elas foram capazes de resolver o problema proposto (ou seja, retornar ao ninho por uma rota diferente da feita para sair), embora tenha sido observado que a eficácia para resolver o problema

havia sido atingida gradualmente, e um número considerável de operárias tenha se comportado como se estivessem perdidas no ambiente e não conseguiam resolver o problema se o ambiente experimental estivesse sem iluminação. Esse último resultado, particularmente, ressalta a importância das pistas visuais para a solução do problema proposto, importância essa também apontada em outras pesquisas (ver Wystrach & Graham, 2012). O resultado também indica que não há uma única forma de orientação, mas sim um processo que agrega informações vindas de diferentes fontes. Esse resultado é similar ao apresentado por Czaczkes, Grüter, Jones e Ratnieks (2011), que, em uma pesquisa com *Lasius niger*, identificaram que formigas, após fazerem algumas viagens até o destino, memorizavam o caminho a ser seguido, não dependendo mais exclusivamente das trilhas de feromônio para se orientar. Essa não deixa de ser uma fonte de informação, mas irá server como uma forma de confirmar o caminho a ser seguido :a falta da trilha de feromônio no caminho percorrido usando apenas a memória indicaria um desvio da rota.

Embora haja uma série de estudos sobre orientação em formigas, poucos deles abordam essa orientação durante o descarte de lixo. Um único trabalho, de que tenhamos conhecimento, abordou de forma mais específica o assunto (Luchesi, De Brito Chaves, Otta & David, 2017). Nesse estudo, realizado com a espécie *Atta sexdens*, os pesquisadores forneceram uma ponte curvada para que as formigas descartassem o lixo que produziam. Após estabelecida a trilha para o descarte, usando esse braço, outro foi colocado, em posição contrária a ele. Os dois braços ficaram montados por 24-48 horas, quando foram removidos e colocados em uma subcolônia, irmã da que foi usada originalmente. Observou-se o uso diferenciado dos braços da ponte para descarte de lixo, com preferência clara para o primeiro braço colocado. Os resultados indicam que as formigas seguem pistas químicas para transporte de lixo. Ele não descarta, porém, a possibilidade de que haja outros tipos de orientação sendo usados, já que a estrutura experimental não permitiu que fossem avaliados diferentes fatores, como a memória, por exemplo.

Os demais estudos encontrados abordam o assunto de forma mais qualitativa e superficial. Observou-se, por exemplo, que em *Atta colombica* (uma espécie que deposita seu lixo fora do ninho), as trilhas de descarte de lixo são diferentes das usadas para forrageamento e que, para saírem com o lixo do ninho, as operárias usariam entradas diferentes das usadas pelas forrageadoras (Hart & Ratnieks, 2002). Nesse sentido, o estudo do descarte de cadáveres, ou seja, o estudo da necroforese,

foi um pouco mais longe, observando-se que havia pouca influência de pistas químicas para o caminho a ser seguido para transporte de cadáveres e uma influência maior da memória da operária que os transportava, desde que o intervalo entre os transportes fosse inferior a 7 minutos (Diez et al., 2011).

No entanto, como seria possível diferenciar uma companheira de ninho viva de um cadáver?

1.9 Reconhecimento de parceiras

A capacidade de reconhecimento é importante em grupos sociais, de uma forma geral, e em insetos sociais, em particular, sendo um aspecto importante para a manutenção do grupo (Châline, Ferreira, Yagound, Silva & Chameron, 2015; Hölldobler & Wilson, 1990; Liang & Silverman, 2000).

De acordo com Châline, Ferreira, Yagound, Silva e Chameron (2015), três componentes essenciais estão envolvidos no processo de reconhecimento:

- Expressão: indícios emitidos pelo indivíduo para ser reconhecido. A forma como essa expressão vai se dar irá variar dependendo da origem do indivíduo (como a sua espécie, por exemplo), do ambiente em que vive e de sua fisiologia;
- Percepção: engloba a forma como um indivíduo se percebe, como percebe seus parceiros sociais e, finalmente, como percebe, processa e compara os indícios recebidos com os modelos que tem;
- Ação: normas de decisão que darão origem a um comportamento.

Um elemento importante usado para o reconhecimento de parceiros nos insetos sociais são as pistas químicas, particularmente os hidrocarbonetos cuticulares (Châline et al., 2015; Liang & Silverman, 2000). A composição desses hidrocarbonetos sofre interferência de aspectos ambientais. Liang e Silverman (2000), por exemplo, demonstraram que, com a formiga argentina (*Linepithema humile*), uma companheira deixa de reconhecer a outra como tal e passa a tratá-la como uma competidora se forem separadas de ninho e receberem alimentação diferenciada. Os autores também demonstraram que a alimentação dessa espécie afeta o padrão químico de seu hidrocarboneto cuticular, o que explicaria o resultado encontrado. Resultado semelhante foi encontrado por Jutsum, Sauders e Cherrett (1979). Nesse estudo, realizado com *Acromyrmex octospinosus*, observou-se que, em ambiente natural, a

distância entre duas colônias interferia na agressividade entre elas: se operárias de duas colônias diferentes, mas relativamente próximas, se encontrassem, esse encontro era pouco agressivo; se as operárias fossem de colônias distantes, a agressividade seria maior, incluindo ataques fatais. Já em laboratório, só foi registrada agressividade quando as operárias de diferentes colônias eram alimentadas com tipos diferentes de folha. Também se observou agressividade ao se reagrupar uma colônia que anteriormente foi dividida em duas subcolônias, sendo cada uma alimentada por um tipo diferente de comida. Essa agressividade depende de algumas semanas de alimentação constante para se estabelecer. Um aspecto importante a se ressaltar nesse estudo é que a agressividade observada em laboratório nunca foi tão alta quanto a registrada em ambiente natural.

Não basta, porém, apenas ter um cheiro específico para ser reconhecido: é preciso ter uma estrutura que seja capaz de reconhecer esse cheiro. As antenas das formigas têm grande importância em sua identificação: acredita-se que, por meio delas, dá-se o primeiro nível de reconhecimento das companheiras de ninho. (Blomquist & Bagnères, 2010). Uma vez que uma formiga tenha sido identificada, será decidido se é aceita (por não representar perigo) ou rejeitada.

Esse reconhecimento poderá sofrer influência da idade da operária. Larsen, Nehring, d'Ettorre e Bos (2016) citam que forrageadoras, que são operárias mais velhas e desempenham a maior parte das tarefas fora do ninho, apresentam níveis mais elevados de agressão contra intrusas que as enfermeiras. As forrageadoras parecem ser mais eficientes no reconhecimento de formigas que não fazem parte da colônia e, portanto, apresentam maior grau de motivação para atacar. Isso sugere que as operárias apresentam mudanças em sua sensibilidade olfativa durante sua vida. Essa plasticidade pode ser adaptativa, já que operárias mais jovens, que tipicamente ficam dentro do ninho, geralmente não têm contato com intrusos, enquanto operárias mais velhas têm mais experiência fora do ninho. Os autores concluem, portanto, que um sistema de reconhecimento sensível a companheiras de ninho seria um custo inicial desnecessário nos primeiros estágios da vida.

O reconhecimento não serviria apenas para identificar um indivíduo como sendo coespecífico ou não: também poderia ser usado para identificar a função desse parceiro dentro do ninho. Alguns estudos sugerem, por exemplo, que o status reprodutivo dos diferentes indivíduos dentro da colônia seria dado por informações nos hidrocarbonetos cuticulares, e que a assinatura química de uma rainha, por

exemplo, seria diferente da das demais operárias (Blomquist & Bagnères, 2010; Chapuisat, 2009). Um aspecto interessante mostrado nos diferentes estudos é que em espécies em que as operárias podem por ovos, a assinatura química tem características intermediárias às de outras operárias que não botam ovos e às das rainhas da mesma espécie, e provavelmente é um dos sinais usados para detectar a existência dessas operárias. Podemos supor que o reconhecimento das diferentes castas também possa ser possível usando os hidrocarbonetos, embora não seja claro ainda o seu papel no reconhecimento das lixeiras (Lacerda et al., 2014). Devemos reforçar, também, que as informações nos hidrocarbonetos cuticulares de operárias doentes podem sofrer alterações, o que possivelmente explica como elas são diferenciadas das saudáveis (Cremer et al., 2018)

1.10 Auto-organização

Um último aspecto que precisa ser abordado é a auto-organização. Embora o desenvolvimento desse conceito não tenha se dado originalmente no contexto do comportamento, atualmente é muito usada para mostrar como comportamentos complexos poderiam surgir da interação de indivíduos que estão executando comportamentos simples (Bonabeau, Theraulaz, Deneubourg, Aron & Camazine, 1997). É um conceito muito usado particularmente, embora não exclusivamente, para insetos sociais. Por meio da auto-organização, a tomada de decisão é dividida entre diferentes indivíduos, e não centralizada em um (Aron, Deneubourg, Goss & Pasteels, 1990). Nenhum dos indivíduos está ciente de todas as opções de ação existentes, mas o conjunto de todos eles permite que uma decisão adequada para a situação proposta seja tomada coletivamente, mesmo que os mecanismos por trás disso não estejam totalmente claros para nós.

A auto-organização tem sido apresentada como uma das formas de solucionar os problemas apresentados. Parte desses estudos aponta que o deslocamento da formiga argentina, *Iridomyrmex humilis*, é regulado pela auto-organização (Aron et al., 1990; Goss et al., 1989). Há também indícios de que a auto-organização seria o mecanismo que explicaria os comportamentos relacionados à imunidade social, mesmo que não se saiba exatamente como isso ocorre (Cremer et al., 2018).

1.11 Sobre a presente pesquisa

Acima, apresentamos, de forma geral, a literatura relacionada ao manejo do lixo entre as formigas. Vimos que o lixo é perigoso por ser uma fonte potencial de patógenos e que as formigas possuem estratégias para lidar com ele. As pesquisas sobre o assunto, porém, ainda são poucas, se comparadas com as que abordam temas como o forrageamento, por exemplo. Tentaremos, no presente estudo, aprofundar alguns dos aspectos relacionados ao manejo de lixo, para podermos compreender melhor como as formigas da espécie *Atta sexdens* realizam tal tarefa.

Muitos estudos na área da tecnologia usam modelos matemáticos baseados no comportamento das formigas para resolver problemas, como o deslocamento urbano (Aron et al., 1990), o transporte de lixo (Bautista, Fernández & Pereira, 2008), entre outros. Há, também, estudos que abordam a importância do lixo para as formigas e para o meio-ambiente, como forma de devolver ao solo os elementos não consumidos por elas. Entender o comportamento das formigas diante do seu lixo pode ajudar a pensar em modelos adequados para lidar com o nosso próprio lixo. Também poderá auxiliar na manutenção das formigas, colaborando para o controle delas.

2 OBJETIVOS E HIPÓTESES GERAIS

O presente estudo teve como objetivo investigar como formigas *Atta sexdens* lidam com o lixo que produzem. Os aspectos avaliados neste estudo foram:

- Observação do comportamento das formigas em relação às operárias que trabalham no lixo (lixeiras);
- Observação do comportamento das formigas em relação às operárias não lixeiras infectadas com lixo;
- Avaliação de estratégias usadas para isolamento do lixo, tais como a distância em que ele será depositado e o uso de elementos que possam auxiliar nisso (pontes tradicionais, pontes em formato de T, bandejas);
- Observação do comportamento de formigas forrageadoras diante de trilhas de transporte de folhas contaminadas com lixo;
- Investigação de quais elementos (visual, químico, memória) são usados pelas operárias para orientá-las até o local de descarte de lixo.

As hipóteses levantadas foram:

- Serão usadas estratégias para o isolamento de lixo, e elas se adequarão às dificuldades ambientais presentes:
 - As lixeiras serão isoladas do fungo e, se tentarem entrar em contato com ele, serão agredidas;
 - Operárias não lixeiras contaminadas com lixo também serão agredidas, evitando que contaminem o fungo, mas essa agressividade será menor que a exibida em relação às lixeiras.
 - Sempre que forem oferecidos elementos facilitadores para retirar o lixo da colônia (no nosso caso, Ts, pontes, bandejas), esses elementos serão usados;
 - A estratégia de isolamento de lixo usada levará em conta a razão custo x benefício, considerando como fatores o tamanho da colônia, a quantidade de lixo produzida e as opções de isolamento de lixo disponíveis.
- A trilha de forrageamento evitará zonas contaminadas com lixo;

- A integração dos sistemas visual e químico será usada pelas formigas como orientação para o transporte de lixo, sendo mais usadas as pistas químicas.

Para cumprir os objetivos deste estudo, bem como testar as hipóteses acima levantadas, elaboramos grandes estudos¹, a saber:

1. Influência da exposição ao lixo no comportamento das companheiras de ninho (Exposição ao lixo): testará como as operárias reagem quando uma companheira de ninho (lixeira e não lixeira) é colocada próximo à entrada dos potes de fungo;
2. Reação das formigas forrageadoras a um caminho contaminado (Obstáculo): irá avaliar como as formigas reagirão quando a trilha de forrageamento delas for contaminado por lixo;
3. Isolamento do lixo a diferentes distâncias (Pontes): testará qual a distância preferencial escolhida para o isolamento do lixo;
4. Escolha entre caminhos de tamanho diferentes (Pontes de tamanhos diferentes): avaliará a influência do custo x benefício na tomada de decisão das formigas no descarte de lixo, avaliando se elas usarão um caminho mais longo ou mais curto para chegar ao mesmo lugar para depositar seu lixo;
5. Avaliação da composição das trilhas de lixo (Pontes invertidas): avaliará os mecanismos usados pelas formigas para a sua orientação no descarte de lixo;
6. Isolamento de lixo usando estratégias eficazes ou ineficazes (T externo e T interno): testará se as formigas, diante de um elemento que pode ou não auxiliar a isolar o lixo, irá usá-lo; também testará se elas conseguirão adaptar a estratégia de forrageamento, caso ela deixe de ser eficaz;
7. Teste de orientação para descarte do lixo (Inversão e Luzes): testarão o método (visual, químico ou memória) de orientação usado pelas formigas para o descarte de lixo;
8. Avaliação da estratégia de isolamento de mais usada (Fuga controlada): irá avaliar a capacidade de adaptação das formigas frente a novas possibilidades de isolamento de lixo, mesmo quando a estratégia original se mantém disponível e ativa.

¹ Os nomes dos experimentos serão seguidos de um nome entre parênteses. Esse nome, para fins de simplificação, será como iremos nos referir ao experimento durante o decorrer desta tese.

A Figura 2 apresenta um esquema que indica os nossos principais objetivos e os experimentos que os compõem e que serão estudados.

Figura 2 – Objetivos e experimentos em que serão avaliados

Fonte: a autora

Nos próximos capítulos, iremos apresentar cada um dos experimentos de forma detalhada, apresentando hipóteses específicas, metodologia, resultados e conclusões.

3 METODOLOGIA GERAL

Apresentaremos, a seguir, elementos comuns a todos os experimentos realizados. Aspectos específicos de cada um deles serão apresentados em capítulo correspondente.

3.1 Descrição geral do laboratório

Todos os experimentos desta tese usaram colônias de formigas *Atta sexdens*, do Laboratório de Formigas Walter Hugo Cunha, do Departamento de Psicologia Experimental do Instituto de Psicologia da USP. Foi também nesse laboratório que todos os experimentos foram realizados, com exceção do 7 (Luzes).

O laboratório fica em uma sala de 7x4,3 m, com uma janela ampla que ocupa boa parte de uma das paredes laterais. A porta se encontra na parede oposta. Durante o período de coleta de dados (de julho de 2014 a novembro de 2017), a janela possuía cortinas que não bloqueavam a entrada de luz para dentro da sala, o que fazia com que as colônias fossem expostas a um ciclo natural de claro/escuro (12x12 h). Já a climatização era manipulada para que ficasse com a temperatura na faixa de $24^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade de $70\%\pm 10\%$.

A estrutura do laboratório incluía:

- Duas mesas: uma menor, usada apenas para experimento, e uma maior, central, com prateleiras na parte inferior. A parte superior dessa mesa maior era usada tanto para abrigar colônias quanto para experimentos e as prateleiras da parte inferior apenas abrigavam as colônias;
- uma bancada na parede oposta à da janela, com uma pia e armários abaixo dela; essa bancada era tanto usada para abrigar colônias quanto para experimentos.
- duas prateleiras na parede da janela, sendo que a superior era usada apenas para guardar material do laboratório (devido à possibilidade de receber luz em quantidade insalubre para as nossas colônias), e a inferior era usada para abrigar colônias;
- Prateleiras e armários usados para armazenar materiais do próprio laboratório.

A disposição da sala durante o período de coleta se manteve estável, embora a posição das colônias, quando não estavam em experimento, pudesse eventualmente mudar.

3.2 Colônias

Todas as colônias usadas nos experimentos que vamos apresentar são originárias do interior do estado de São Paulo, sendo que seis delas foram coletadas pela equipe do Centro de Estudos de Insetos Sociais, coordenado pelo Prof. Dr. Odair Correa Bueno (da UNESP de Rio Claro – SP), na região de Corumbataí, e doze foram coletadas pelo Dr. Pedro Ribeiro na região de Itirapina, SP.

Essas colônias eram normalmente mantidas em bandejas de plástico de tamanho variável (adequado ao tamanho da colônia). Para evitar fugas, dois materiais diferentes eram passados nas bordas dessas bandejas: fluon e/ou uma solução de álcool com de talco neutro sem perfume. A Figura 3 apresenta uma foto de uma de nossas colônias:

Figura 3 – Foto de uma de nossas colônias no laboratório

Fonte: a autora

As colônias eram alimentadas uma vez ao dia com folhas de *Acalypha wilkesiana* (popularmente conhecida apenas como *Acalifa*). Eventualmente, também eram dadas folhas de hibisco, couve, mangueira e amoreira. A alimentação era complementada com frutas (maçã e laranja), farelo de milho, quirela e aveia. Essa alimentação complementar não era dada às colônias que estavam em experimento. Água era oferecida *ad libitum*. Vale ressaltar que todas as colônias recebiam o mesmo tipo de alimento. O lixo era retirado semanalmente, quando as colônias não estavam participando de experimento. Quando elas estavam sendo testadas, o procedimento com o lixo dependia do protocolo experimental específico. A posição das bandejas no laboratório era mudada de tempos em tempos, de forma aleatória.

Para participar dos experimentos, as colônias precisavam estar com a sua rainha viva e com sinais claros de que o fungo estava saudável. Quando se observava que a rainha havia morrido e/ou o fungo parecia doente, a réplica que estava sendo realizada era interrompida e descartada. Os casos em que isso ocorria serão apresentados nos capítulos referentes a cada um dos experimentos.

No anexo I, *Dados sobre as colônias*, encontra-se uma descrição mais pormenorizada das colônias participantes. Já o anexo II, *Cronograma final*, apresentará o cronograma de uso das colônias nos diferentes experimentos.

3.3 Aparelhos de filmagem

Alguns de nossos procedimentos foram filmados. Os equipamentos usados para isso foram:

- Filmadora Sony HDR CX500
- Filmadora Sony HDR XR160
- Filmadora Sony DCR-SR87

4 EXPERIMENTO 1 – INFLUÊNCIA DA EXPOSIÇÃO AO LIXO NO COMPORTAMENTO DAS COMPANHEIRAS DE NINHO (EXPOSIÇÃO AO LIXO)

4.1 Pressupostos teóricos e objetivo

As estratégias de imunidade social são bem descritas na literatura (Cremer et al., 2018). Em formigas cortadeiras, duas dessas estratégias são a divisão de tarefas, com um grupo de operárias específico para o cuidado do lixo, e a agressividade contra indivíduos contaminados com lixo (quer por serem lixeiras, quer por estarem artificialmente contaminados em situação de laboratório) que tentem entrar no jardim de fungos (Ballari et al., 2007; Hart & Ratnieks, 2002; Waddington & Hughes, 2010).

Para que uma formiga lixeira seja agredida pela função que exerce, é necessário que sua companheira de ninho saiba reconhecê-la como tal, usando diferentes recursos, como, por exemplo, os hidrocarbonetos cuticulares (Blomquist & Bagnères, 2010; Valadares, Nascimento & Nascimento, 2015; 2016). Esses recursos também são usados para identificar se uma operária é uma companheira de ninho ou não. Caso haja indícios de que ela não pertença à colônia, poderá ser agredida ou até mesmo morta (Jutsum et al., 1979; Valadares et al., 2015). Além disso, operárias com odores diferentes serão mais agredidas que operárias cujo odor seja semelhante ao da colônia (Jutsum et al., 1979).

O primeiro procedimento a ser apresentado nesta tese foi baseado em um dos experimentos realizados por Waddington e Hughes (2010). Os pesquisadores expuseram jardineiras (tamanho médio) de *Acromyrmex echinator* ao lixo por diferentes períodos e, em seguida, as colocaram adormecidas perto da entrada do pote de fungo, avaliando se elas seriam agredidas ou não por suas companheiras. No experimento original, observou-se que as operárias expostas ao lixo foram agredidas, porém essa agressão estava relacionada com o tempo de exposição: operárias cuja exposição ao lixo durou apenas alguns segundos foram “limpas” pelas companheiras, enquanto aquelas que foram expostas por 30 minutos foram atacadas.

Em nosso experimento, avaliamos a agressividade dirigida a forrageadoras e lixeiras após exposição ao tratamento experimental quando colocadas próximo à entrada do pote de fungo. Com isso, pudemos responder às seguintes perguntas:

- A agressividade direcionada às formigas lixeiras, vista em outras espécies de cortadeiras, também é observada na *Atta sexdens*?

- A simples exposição de uma forrageadora ao lixo provoca essa agressividade?
- Além da agressividade, será observado o isolamento, ou seja, o transporte das formigas lixeiras ou expostas ao lixo para longe do pote de fungo?
- A exposição das formigas a um elemento não nocivo, mas com odor não familiar para as operárias avaliadas, provocará agressividade e isolamento dessas formigas?
- Lixeiras vindas de outra colônia serão mais agredidas que as forrageadoras dessa outra colônia?

O tratamento experimental envolve a exposição das formigas ao Lixo, Hortelã e Controle (*eppendorf* vazio), bem como Lixeiras e Forrageadoras de um ninho diferente dos testados.

4.2 Hipóteses

Tendo como base a literatura, nossas hipóteses foram:

- a) Operárias (forrageadoras ou lixeiras) expostas ao Lixo seriam mais agredidas que as operárias expostas a Hortelã ou do grupo Controle;
- b) Operárias (forrageadoras ou lixeiras) expostas à Hortelã seriam mais agredidas que as operárias do grupo Controle, uma vez que o odor da hortelã iria interferir na identificação da operária;
- c) Operárias (forrageadoras ou lixeiras) de outra colônia seriam mais agredidas que as operárias da mesma colônia, mesmo não tendo sido expostas à hortelã ou ao lixo;
- d) Em todos os casos, exceto no Controle, o maior tempo de exposição levaria a uma agressividade maior;
- e) Em todos os procedimentos experimentais, as lixeiras seriam mais agredidas que as forrageadoras;
- f) Lixeiras seriam mais isoladas (carregadas para longe do pote de fungo) que as forrageadoras;
- g) As forrageadoras que eventualmente fossem isoladas teriam sido expostas à hortelã (odor aversivo) ou ao lixo.

4.3 Metodologia

4.3.1 Colônias

Participaram deste experimento três colônias completas. A tabela 1 apresenta os dados dessas colônias. Mais detalhes sobre elas poderão ser encontrados nos anexos I, *Dados sobre as colônias*, e II, *Cronograma final*.

Tabela 1 – Descrição das colônias participantes

Colônia	Potes de fungo	Litros de fungo (total)
Colônia 1	4	3,5
Colônia 4	4	3,5
Colônia 10	3	4

Fonte: a autora

4.3.2 Procedimento

Um dia antes do início do procedimento, as colônias foram recondicionadas em três ou quatro (dependendo do número de potes de fungo) bandejas de plástico (30x40x10 cm), sendo que cada pote de fungo foi deixado em uma bandeja diferente. Pontes de madeira uniam as bandejas nos períodos em que as colônias não estavam em sessão experimental, e eram retiradas quando as sessões começavam, de forma que não houvesse contato entre as bandejas durante a coleta. Essa divisão em subcolônias permitiu que houvesse um intervalo de 10 a 15 minutos entre duas exposições de subcolônia a uma formiga focal (ver abaixo).

Após 24 horas, período dado para que as colônias se habituassem às novas bandejas e fizessem marcação territorial, dávamos início ao procedimento. A Figura 4 apresenta um resumo do procedimento usado:

Figura 4 – Representação esquemática do procedimento do experimento 1 (exposição ao lixo)

Fonte: a autora

Foram quatro tipos diferentes de exposição:

- 1) Controle vazio: a colônia experimental foi exposta a operárias (lixadeiras ou forrageadoras) colocadas em tubos *ependorfs* de 2,0 ml vazios, por um período de 10 segundos, 10 minutos ou 30 minutos;
- 2) Lixo: a colônia experimental foi exposta a operárias (lixadeiras ou forrageadoras) colocadas em tubos *ependorfs* de 2,0 ml preenchidos até a metade com lixo (apenas fungo, sem folhas secas ou corpos) da própria colônia, por um período de 10 segundos, 10 minutos ou 30 minutos;
- 3) Hortelã: a colônia experimental foi exposta a operárias (lixadeiras ou forrageadoras) colocadas em tubos *Eppendorfs* de 2,0 ml preenchidos até a metade com folhas de hortelã frescas, por um período de 10 segundos, 10 minutos ou 30 minutos;
- 4) Heterocolonial: a colônia experimental foi exposta a operárias (lixadeiras ou forrageadoras) de uma quarta colônia.

Para cada exposição, foram usadas cinco operárias do lixo e cinco forrageadoras, totalizando 100 operárias por colônia, e 300 no total. Procurou-se usar apenas formigas de tamanho médio. Todas foram marcadas com tinta acrílica ao menos 30 minutos antes de serem reintroduzidas, sendo usadas as cores vermelha

(lixadeiras) e verde (forrageadoras) para diferenciá-las mais facilmente após serem devolvidas à colônia. Observamos, em testes prévios, que a marcação feita não pareceu afetar ou mudar o comportamento que suas companheiras direcionavam a elas.

Uma vez que o período de exposição ao tratamento experimental (se houvesse) fosse encerrado, as formigas eram adormecidas. Para isso, colocamos as formigas em uma câmara de gás carbônico até que adormecessem. Posteriormente, elas foram colocadas, uma a uma, na bandeja de uma das subcolônias de sua colônia experimental, há aproximadamente 5 cm da frente da entrada do pote de fungo. Essa parte do procedimento foi filmada por 5 minutos, para ser analisada posteriormente por avaliadores cegos. As exposições foram divididas por sessões, ou seja, uma formiga por tipo de tratamento x tempo, totalizando 20 formigas por sessão. A ordem de reintrodução das operárias na colônia, dentro da sessão, foi feita de forma aleatória, baseada em sorteio prévio. Foi dado um intervalo de uma hora entre as sessões sempre que ocorreu mais de uma sessão no mesmo período.

4.3.3 Análise

Todos os vídeos foram analisados por dois avaliadores cegos. O som das filmagens também foi cortado, para que não influenciassem na avaliação feita. Após a análise de todos os vídeos, foi feita uma comparação entre os resultados encontrados e, quando houve divergência, o trecho em que ela ocorreu foi revisto por ambos os avaliadores, para que chegassem a um consenso.

A análise dos vídeos foi dividida em três partes. Em todas elas, avaliamos o comportamento de agressividade segundo a seguinte descrição:

- Abertura de mandíbula: uma das formigas se vira com a mandíbula aberta para a formiga focal (formiga que passou pelo tratamento experimental).
- Mordida: a formiga focal é mordida por alguma das outras formigas ao seu redor.
- Carregamento: a formiga focal é transportada do local onde está por um período maior que 5 segundos por uma única formiga. Nos poucos casos em que duas formigas tentaram carregar a focal simultaneamente, a segunda formiga foi categorizada como “mordendo a focal”, uma vez que em nenhum caso as formigas tentavam carregar a focal para a mesma direção.

A primeira parte da análise fez a réplica da análise de agressividade feita no artigo original (Waddington & Hughes, 2010), ou seja, avaliou apenas se o comportamento da primeira operária ao encontrar a focal foi agressivo ou não (independentemente da agressão sofrida). Adicionalmente, fizemos uma análise dos primeiros 10 segundos após o início da sessão experimental, já que a primeira interação pode ter incluído mais de um comportamento agressivo no período, ou pode, ela em si, não ter sido agressiva, mas ter sido imediatamente seguida por outras que foram. Para essa análise, criamos um índice de agressividade dos primeiros 10 segundos, que poderia variar de 0 a 3, em que: 0 significa que a formiga focal não sofreu nenhum tipo de agressão; 1 significa que ela sofreu um tipo de agressão (independentemente de ser abertura de mandíbula, mordida ou carregamento); 2 significa que ela sofreu dois tipos diferentes de agressão; e 3 significa que ela sofreu os três tipos de agressão. Cada categoria de agressividade foi contada apenas uma vez. Para essa análise não foram incluídas as formigas vindas de outra colônia, pois elas não foram submetidas a diferentes tipos de tratamento.

Para a segunda série de análises, consideramos os comportamentos de agressividade direcionados às formigas focais nos primeiros três minutos. Para isso, avaliamos os vídeos observando se as categorias de comportamento ocorreram ou não em intervalos de 10 segundos, conforme a técnica de amostragem 0-1, descrita por Altmann (1974). Dessa forma, cada categoria avaliada tinha um índice agregado que variou de 0 (em nenhum dos períodos de dez segundos o comportamento ocorreu) a 18 (o comportamento ocorreu ao menos uma vez em todos os períodos de 10 segundos). Também foi criado um Índice de Agressividade Total, que era a soma simples dos índices anteriores. Em resumo, os grupos avaliados e a variação dos pontos foi:

- Índice de agressividade por abertura de mandíbula (variou de 0 a 18);
- Índice de agressividade por mordida (variou de 0 a 18);
- Índice de agressividade por carregamento (variou de 0 a 18);
- Índice de agressividade total (variou de 0 a 54).

Também fizemos uma contagem de quantas formigas havia ao redor da focal a cada 10 segundos, e fizemos uma média desse número.

Na terceira e última série de análises, consideramos o tempo total do vídeo (5 minutos), avaliando apenas se as focais foram carregadas ou não, e para onde foram

levadas (para perto do monte de lixo, para perto da entrada do pote de fungo ou para longe dos dois).

Avaliamos se a função da formiga (forrageadora ou lixeira) e/ou o tratamento a que foi exposta (controle, lixo, hortelã ou heterocolonial) afetou a agressividade sofrida por ela (seja na primeira interação, nos primeiros 10 segundos ou em 3 minutos). Para a frequência de carregamento e para onde ela foi levada, usamos apenas a variável função da formiga, sendo que, neste caso, foram excluídas as formigas vindas de outra colônia. Finalmente, também foram feitas análises para avaliar se a função da formiga focal (incluindo as vindas de outras colônias) afetou o número de operárias que a inspecionaram.

Para as medidas de frequência, aplicamos testes Qui-quadrado com tabelas de dupla entrada. Já para avaliar a diferença entre os índices de agressividade criados, usamos os testes não paramétricos Kruskal-Wallis (para as variáveis tempo de exposição ao lixo e tipo de tratamento) e Mann-Whitney (quando a variável avaliada foi a função da formiga). Também foi calculada uma correlação de Spearman entre os Índices de Agressividade para 3 minutos e o número de formigas ao redor da focal.

4.4 Resultados

4.4.1 Aspectos qualitativos

Um aspecto comum a todos os vídeos foi o comportamento que as formigas tinham diante do indivíduo recém-colocado na área de ninho, como podemos ver pelo número crescente de formigas que se juntaram ao redor da formiga focal em todas as réplicas, e pelo fato de todos os indivíduos terem sido manipulados de alguma forma pelas demais operárias (particularmente, embora não exclusivamente, por meio de antenação). Entre as operárias atraídas, eram vistos indivíduos de diferentes classes, incluindo soldados. Vale comentar que, embora isso não tenha sido contabilizado, muitas vezes a operária que abriu a mandíbula para a focal não era uma das que estava em contato direto com ela, mas uma operária que se aproximou do grupo que a inspecionava.

Não foi raro, também, os momentos em que uma das patas da formiga focal grudava no corpo de alguma das operárias que a estava inspecionando. Tomamos o cuidado de evitar que esse evento fosse caracterizado como "carregamento" (pois,

quando a operária que estava inspecionando andava, levava a focal para longe de forma “passiva”) ou mordida (quando a pata grudava próximo a mandíbula da formiga focal).

Observou-se que a exploração da focal se restringia ao momento em que ela estava próxima ao fungo. Os indivíduos transportados e afastados do jardim de fungo, independente de para onde foram levados, passaram a receber menos atenção.

Observamos que as mordidas muitas vezes eram antecipadas por uma série de aberturas de mandíbula. Além disso, tivemos casos de lixeiras que quase não foram agredidas e de forrageadoras que foram muito agredidas, independentemente do procedimento pelo qual passaram.

Muitas das formigas avaliadas deram sinais de que poderiam acordar durante a filmagem, embora, em geral, elas não tenham acordado de fato. Esses sinais eram compostos de movimentos aparentemente involuntários de partes do corpo (em geral, porém não exclusivamente, das patas), e muitas vezes foram seguidos pelo aumento da interação das formigas próximo à focal. Embora isso não tenha sido quantificado, não era raro que essas interações fossem mais agressivas que as recebidas anteriormente, particularmente se a focal efetivamente acordasse. Houve um caso, inclusive, em que a formiga focal, tendo acordado, tentou morder as operárias ao seu redor, em um comportamento aparentemente de defesa. As poucas formigas que efetivamente acordaram no período de experimento afastaram-se do local onde haviam sido colocadas. Nenhuma foi observada indo para o pote de fungo ou para o lixo.

Um aspecto observado durante as filmagens foi a integração das formigas marcadas (e que, portanto, participaram da pesquisa em sessões anteriores). Em diversos vídeos foi possível encontrá-las andando pela bandeja, trabalhando (particularmente no lixo) e interagindo com outras formigas ou mesmo com a formiga focal. Vale destacar que, em uma das observações, foi possível ver uma formiga vermelha (marcação usada para as formigas lixeiras) sendo carregada para fora do pote de fungo.

4.4.2. Agressividade inicial

Primeiramente, foram avaliados os índices de agressividade iniciais, ou seja: se o primeiro contato com a formiga focal foi agressivo ou não, e se ela foi agredida nos primeiros 10 segundos da análise.

Iniciamos as análises verificando se haveria diferença estatística na distribuição do primeiro contato, em ser agressivo ou não, para cada um dos grupos de formigas focais. A Figura 5 apresenta as frequências observadas nessa análise:

Figura 5 – Frequência do tipo da primeira interação por categoria experimental

Fonte: a autora

O teste Qui-quadrado aplicado para calcular e avaliar a distribuição da agressividade, grupo a grupo, não indicou diferença significativa entre eles ($p=0,73$, $\chi^2=14,89$). Testes mais detalhados também não apontaram diferença significativa (ver anexo III, *Dados extras do experimento 1 (Exposição ao lixo)*).

Considerando que a formiga poderia sofrer múltiplas agressões no primeiro contato, e não apenas ser ou não agredida, também fizemos uma análise dos 10 primeiros segundos, com um índice que variaria de 0 a 3. Para esse teste não foram incluídas as formigas vindas de outra colônia, pois elas não foram submetidas a diferentes tipos de tratamento. As análises feitas compararam o índice de agressividade nos primeiros 10 segundos do experimento com a função da formiga, usando o teste Mann-Whitney. A Tabela 2 apresenta o resultado dessa análise:

Tabela 2 – Resultado do teste Mann-Whitney aplicado para o índice de agressividade nos primeiros 10 segundos, de acordo com a função da formiga focal

Função da formiga		
p	Forrageadora	Lixeira
0,09	1,44±0,63	1,30±0,66

Fonte: a autora

O resultado dessa análise mostrou uma diferença marginalmente significativa entre forrageadoras e lixeiras, com os índices de agressividade dirigidos às forrageadoras sendo maiores que às lixeiras ($U=8135$; $p=0,09$; média forrageadora: 1,44±0,63; média lixeira: 1,30±0,66). A Figura 6 ilustra os dados:

Figura 6 – Box-plot dos índices de agressividade nos primeiros 10 segundos por função da formiga

Fonte: a autora

Também avaliamos se esse índice de agressividade variaria de acordo com o tempo (10 segundos, 10 minutos ou 30 minutos) de cada tratamento (Lixo, Hortelã ou Tubo Vazio). A análise aplicada foi o teste de Kruskal-Wallis (para o tratamento experimental por tempo de exposição ou para o tratamento experimental apenas, sem o tempo de exposição). Os resultados dessas duas análises não apresentaram diferença significativa. As tabelas com esses dados encontram-se no anexo III, *Dados extras do experimento 1 (Exposição ao lixo)*.

4.4.3 Agressividade em 3 minutos

A segunda série de testes avaliou o Índice de agressividade nos 3 minutos de teste. Primeiramente, foram feitas análises comparando os índices de agressividade para o período de 3 minutos de acordo com o tempo de exposição ao tratamento experimental. A análise foi feita dividindo as formigas pelo tipo de exposição e pela sua função. O teste aplicado foi o Kruskal-Wallis. A tabela 3 mostra o resultado desse teste estatístico:

Tabela 3 – Resultado do teste Kruskal-Wallis aplicado para os índices de agressividade no período de 3 minutos, de acordo com a função da formiga focal, o tratamento experimental pelo qual passou e o tempo de tratamento

	Tipo de contato	p	Forrageadora			p	Lixeira		
			10 s	10 min	30 min		10 s	10 min	30 min
Lixo	Abertura mandíbula	0,96	9,67±3,02	10,21±3,87	9,87±4,19	0,21	10,13±2,97	11,53±2,13	10,27±2,28
	Mordida	0,24	8,13±4,88	10,79±4,59	8,6±4,87	0,48	9,13±3,81	10,33±4,64	9,47±3,68
	Carregamento	0,93	1±2,2	0,86±1,7	1,2±2,68	0,08	1,33±3,5	3,2±3,21	4,67±5,46
	Total	0,45	28,93±13,02	34,36±11,74	30,67±13,19	0,10	32,4±14,13	41,8±12,72	43,2±19,44
	Tipo de contato	p	Forrageadora			p	Lixeira		
			10 s	10 min	30 min		10 s	10 min	30 min
Hortelã	Abertura mandíbula	0,46	11,06±3,26	10,27±4,18	11,67±4,58	0,81	10±3,36	11,27±3,95	10,53±3,81
	Mordida	0,06	7±3,97	7,47±5,34	10,53±4,45	0,40	8,67±5,19	10,67±4,55	9,6±5,15
	Carregamento	0,32	0,63±1,15	0,27±0,7	1,67±3,24	0,38	2±3,05	1,07±2,37	3,33±5,04
	Total	0,04	26,94±10,16	26±13,33	37,73±14,8	0,71	33,33±13,9	35,8±14,55	39,73±20,58
	Tipo de contato	p	Forrageadora			p	Lixeira		
			10 s	10 min	30 min		10 s	10 min	30 min
Tubo Vazio	Abertura mandíbula	0,90	11±2,73	10,33±4,2	11,13±4,22	0,81	10±2,1	12,53±4,32	10,07±4,15
	Mordida	0,95	8,33±5,55	8,53±4,88	8,93±6,26	0,40	7,8±3,82	10,53±5,07	9,47±5,93
	Carregamento	0,51	0,33±0,9	1,07±1,91	0,6±1,68	0,38	1,93±3,65	2,4±4,24	1,67±3,35
	Total	0,91	28,67±14,07	30,6±14,09	30,8±18,3	0,71	31,4±17,26	40,8±18,76	34±15,4

Fonte: a autora

Observamos, no presente teste, a diferença significativa no índice de Agressividade total para as forrageadoras expostas à hortelã, com o valor para o tempo de exposição de 30 minutos sendo maior que os com tempo de exposição menor ($U=6,31$, $p=0,04$, média para 10 segundos: $26,94\pm10,16$; média para 10

minutos: $26 \pm 13,33$; média para 30 minutos: $37,73 \pm 14,8$). Também houve uma diferença marginalmente significativa entre as forrageadoras expostas a hortelã no índice de mordidas ($U=1,54$, $p=0,06$, média para 10 segundos: $7 \pm 3,97$; média para 10 minutos: $7,47 \pm 5,34$; média para 30 minutos: $10,53 \pm 4,45$), novamente com as forrageadoras que foram expostas por mais tempo à hortelã sendo mais agredidas. Já entre as lixeiras, encontramos diferença marginalmente significativa na exposição ao lixo nos índices de carregamento ($U=5,06$; $p=0,08$, média para 10 segundos: $1,33 \pm 3,50$, média para 10 minutos: $3,2 \pm 3,21$; média para 30 minutos: $4,67 \pm 5,46$) e mordida ($U=4,67$, $p=0,10$; média para 10 segundos: $32,4 \pm 14,13$; média para 10 minutos: $41,8 \pm 12,72$; média para 30 minutos: $43,2 \pm 19,44$). Em ambos os casos, as formigas focais expostas por menos tempo ao lixo tiveram menores índices registrados. Todas as diferenças encontradas estão na direção esperada.

A terceira análise avaliou se esse mesmo índice variou de acordo com o tratamento experimental da formiga focal (ou seja, se ela foi exposta a lixo, hortelã ou controle, ou se era operária de outra colônia) e pela função da formiga (forrageadora ou lixeira), mas independente do tempo de exposição. A tabela 4 apresenta o resultado do teste Kruskal-Wallis aplicado:

Tabela 4 – Resultado do teste Kruskal-Wallis aplicado para os diferentes índices de agressividade para 3 minutos, de acordo com a função da formiga focal e o tratamento experimental pelo qual passou

		Tratamento				
		p	Lixo	Hortelã	Tubo vazio	Externa
Forrageadora	Abertura mandíbula	0,43	9,91±3,64	11±3,98	10,82±3,71	11,07±3,75
	Mordida	0,75	9,14±4,82	8,3±4,77	8,6±5,47	9,2±3,8
	Carregamento	0,66	1,02±2,19	0,85±2,05	0,67±1,55	0,33±0,9
	Total	0,92	31,25±12,6	30,15±13,65	30,02±15,28	30,47±11,37
Lixeira	Abertura mandíbula	0,73	10,64±2,52	10,6±3,67	10,87±3,78	11,67±3,2
	Mordida	0,92	9,64±4,01	9,64±4,93	9,27±5,03	9,07±3,92
	Carregamento	0,49	3,07±4,31	2,13±3,7	2±3,69	2,27±3,53
	Total	0,67	39,13±16,09	36,29±16,45	35,4±17,27	36,6±14,77

Fonte: a autora

Nessa análise, observamos que os dados de agressividade não variaram de acordo com o tipo de tratamento ao qual a formiga focal foi exposta.

A terceira série de análises feitas comparou o índice de agressividade nos 3 minutos de experimento com a função da formiga, usando o teste Mann-Whitney. A tabela 5 e a figura 7 apresentam o resultado dessas análises:

Tabela 5 – Resultado do teste Mann-Whitney aplicado para os diferentes índices de agressividade, de acordo com a função da formiga focal

Função da formiga			
	p	Forrageadora	Lixeira
Abertura mandíbula	0,83	10,59±3,78	10,7±3,35
Mordida	0,15	8,67±5	9,52±4,65
Carregamento	<0,01	0,84±1,94	2,4±3,91
Total	<0,01	30,47±13,8	36,94±16,56

Fonte: a autora

Fonte: a autora

O resultado da presente análise apresenta uma diferença significativa entre forrageadoras e lixeiras para os índices de carregamento ($Z=2,92$, $p<0,01$, média forrageadora: $0,84\pm1,94$; média lixeira: $2,4\pm3,91$) e agressividade total ($Z=3,04$, $p<0,01$, média forrageadora: $30,47\pm13,8$; média lixeira: $36,94\pm16,56$). Nos dois casos, os resultados dos índices para as lixeiras foram mais altos que para as forrageadoras.

Também foram feitas análises para verificar se haveria diferença estatística nos índices de agressividade para cada um dos grupos de formigas focais. As tabelas com esses dados encontram-se no anexo III, *Dados extras do experimento 1 (Exposição ao lixo)*.

4.4.4 Carregamento

Primeiramente, avaliamos se as formigas foram ou não carregadas no período de 5 minutos. Analisamos essa variável comparando com a variável “tarefa executada pela operária”, usando testes Qui-quadrado com tabelas de dupla entrada. A figura 8 apresenta o resultado dessa análise:

Figura 8 – Distribuição de forrageadoras e lixeiras carregadas (acima) e local para onde foram carregadas (abaixo)

Fonte: a autora

Conforme pode ser observado, a tarefa anterior esteve relacionada com o carregamento (lixeiras foram mais carregadas que forrageadoras – $p < 0,01$, $\chi^2 = 11,41$) e os locais para onde as operárias foram levadas (as lixeiras foram mais levadas ao

lixo que as forrageadoras; as forrageadoras foram mais levadas para perto do fungo que as lixeiras – $p < 0,01$, $\chi^2 = 21,71$).

4.4.5 Média de formigas ao redor da focal

A última série de análises feita avaliou o número médio de formigas ao redor da focal e os índices de agressividade por meio da correlação de Spearman. A Tabela 6 apresenta o resultado encontrado de acordo com a função da focal (forrageadora ou lixeira) e se ela é uma operária daquela colônia ou se é heterocolonial:

Tabela 6 – Resultado da correlação de Spearman entre o número de operárias em torno da focal e os diferentes índices de agressividade

	Abertura de mandíbula		Mordida		Carregamento		Agressividade total	
	R	P	R	P	R	P	R	P
Forrageadora do ninho	-0,24	0,01	-0,27	<0,01	-0,19	0,03	-0,34	<0,01
Lixeira do ninho	0,06	0,48	0,07	0,44	-0,29	<0,01	-0,18	0,04
Forrageadora heterocolonial	-0,18	0,51	-0,13	0,65	-0,41	0,13	-0,21	0,45
Lixeira heterocolonial	-0,08	0,78	0,55	0,03	0,18	0,53	0,40	0,14

Fonte: a autora

Conforme podemos observar, o número médio de operárias em torno da formiga focal esteve correlacionado com todos os índices de agressividade avaliados para as forrageadoras do ninho (Abertura de mandíbula: $r = -0,24$, $p = 0,01$; Mordida: $r = -0,27$, $p < 0,01$; Carregamento: $r = -0,19$, $p = 0,03$; Agressividade total: $r = -0,34$, $p < 0,01$), sendo em que em todos os casos o valor de r foi negativo. Para as lixeiras do mesmo ninho, o índice esteve correlacionado com Carregamento ($r = -0,29$, $p < 0,01$) e Agressividade total ($r = -0,18$, $p = 0,04$), sendo que, novamente, o r foi negativo para todas as correlações observadas. Para as lixeiras heterocoloniais, a única correlação foi com o índice de mordidas ($r = 0,55$, $p = 0,03$), sendo que o r foi positivo. Não houve correlação entre o número de operárias em torno da focal e os diferentes índices de agressividade para as forrageadoras heterocoloniais.

4.5 Discussão

No presente estudo, tivemos como objetivo replicar o experimento realizado por Waddington e Hughes (Hughes, 2010), que, pesquisando *Acromyrmex echinator*, verificou que jardineiras expostas ao lixo eram agredidas e impedidas de voltar ao jardim de fungo.

Um primeiro aspecto a ser discutido diz respeito a como, invariavelmente, a formiga focal foi tomada como ameaça de alguma forma pela colônia. Nossos resultados, tanto qualitativos quanto quantitativos, mostram que elas, ao serem colocadas na bandeja, foram agredidas. Um elemento adicionado à área de vida da colônia gera algum grau de exploração por parte das operárias que estão próximo a ele, que o inspecionam em uma aparente tentativa de identificar o que ele seria e seu grau de periculosidade. Esse comportamento foi observado também por outros autores, como, por exemplo, Jutsum, (1979), que também observou em um estudo com cortadeiras que, quanto mais perto do centro da entrada do ninho for colocado o indivíduo heterocolonial (como era o caso do local em que colocávamos as formigas focais, sempre perto da entrada do pote que continha o jardim de fungo), maior a chance de haver interações agressivas, incluindo agressões fatais. A atração de formigas de diferentes tipos, incluindo soldados, e o fato de algumas operárias, que ainda não estavam em contato direto com a focal, dirigirem a ela um comportamento agressivo indicaria um mecanismo preparado para se defender tão rápido quanto for necessário, caso o elemento desconhecido fosse perigoso.

Um ponto importante foi que essa taxa de agressividade teve pouca influência do tratamento experimental e do tempo de exposição a ele. Chama a atenção que não foi o lixo que provocou a maior reação, como Waddington e Hughes (2010) encontraram, mas sim a hortelã; e esse resultado aconteceu entre as forrageadoras, apenas, não entre as lixeiras, e somente entre as que ficaram em contato com a hortelã por 30 minutos. Esse resultado se assemelha ao encontrado por Jutsum et al. (1979), que, pesquisando *Acromyrmex octospinosus*, identificaram que forrageadoras que haviam cortado folhas diferentes das que a colônia estava coletando eram mais agredidas, possivelmente por serem identificadas como invasoras. Mas por que as forrageadoras expostas à hortelã seriam agredidas, mas as lixeiras não? Uma possível explicação estaria justamente no fato de elas serem lixeiras. Possivelmente, esse aspecto seja mais relevante do que se ela é ou não exposta ao lixo. Como nessa

espécie o lixo é armazenado em painéis subterrâneos (Farji-Brener et al., 2016), não deve ser comum as lixeiras saírem de seu ninho e, então, entrarem em território que não é delas. Além disso, essas operárias, ao lidarem com o lixo, acabam sendo expostas aos diferentes elementos que foram levados ao lixo, cada qual com um cheiro característico (Arenas & Roces, 2016b), que talvez passem a ser parte do cheiro característico das lixeiras; e essa mistura de informações olfativas poderia ter minimizado a influência do cheiro da hortelã para as lixeiras. Para isso, seria preciso que as operárias fossem capazes de identificar qual seria a função de cada uma de suas companheiras de ninho. Alguns estudos sugerem que isso é possível, uma vez que as formigas lixeiras são agredidas ao tentarem entrar no jardim de fungo, por representarem risco a ele (Ballari et al., 2007; Waddington & Hughes, 2010). Nossos resultados também sugerem isso, já que observamos que as lixeiras foram mais agredidas que as forrageadoras, assim como também foram mais transportadas para o lixo.

Essa identificação possivelmente está ligada a marcações nos hidrocarbonetos cuticulares. Muitas pesquisas indicam que esses hidrocarbonetos estão relacionados com a identificação das tarefas exercidas pelas operárias (Blomquist & Bagnères, 2010).

É importante discutir a questão de não termos encontrado diferença na agressividade quando as operárias eram expostas ao lixo, como encontrado em Waddington e Hughes (2010), que serviram de inspiração para o nosso estudo. Na pesquisa original, as operárias focais eram, todas elas, coletadas do jardim de fungos, enquanto a nossa usou forrageadoras e lixeiras. É possível que o nível de limpeza exigido para uma jardineira, justamente por estar tão próximo do jardim de fungos, seja maior que o exigido para operárias em outras funções. Nosso resultado, porém, se assemelha, em parte, ao encontrado por Lacerda et. al (2014), que, estudando *Atta sexdens*, também encontraram um comportamento mais violento (como *grooming*, inspeção e segurar as patas da focal) em relação às lixeiras que em relação às forrageadoras, mesmo quando as operárias focais foram contaminadas com patógenos. Os autores, porém, não identificaram comportamentos efetivamente agressivos (mordidas, por exemplo) contra indivíduos contaminados, independente da função exercida.

Outro ponto relevante dos nossos resultados está relacionado ao fato de não termos identificado agressividade maior em relação às operárias vindas de outra

colônia. Era esperado, de acordo com as pesquisas, que isso ocorresse (Jutsum, 1979; Jutsum et al., 1979), já que uma operária de outra colônia é uma ameaça potencial. De acordo com diversos estudos, a identificação da origem da operária está relacionada com os hidrocarbonetos cuticulares (Blomquist & Bagnères, 2010; Valadares et al., 2015), e há indícios de que diferentes elementos, incluindo a alimentação, afetam a composição desses hidrocarbonetos (Jutsum et al., 1979; Liang & Silverman, 2000). Conforme explicamos no capítulo 3, *Metodologia geral*, nossas colônias são todas alimentadas com o mesmo tipo de dieta. É bem provável que esse elemento tenha influenciado a agressividade dirigida às operárias vindas de outras colônias, já que a assinatura existente nos hidrocarbonetos cuticulares dessas formigas não seria tão diferente da encontrada nas operárias das colônias experimentais.

Outro ponto que merece ser ressaltado é o fato de as interações entre a formiga focal e as colegas de ninho sempre terem incluído a antenação. Sabemos que as antenas são, nas formigas, órgãos receptores, capazes de identificar diferentes elementos, incluindo os hidrocarbonetos cuticulares (Blomquist & Bagnères, 2010; Hölldobler & Wilson, 1990). A interação das operárias ter incluído antenação certamente teve como uma de suas funções a inspeção do elemento estranho.

Um aspecto interessante e que não pode ser deixado de lado é que o número de operárias esteve, em geral, inversamente relacionado com os índices de agressividade avaliados – ou seja, quanto mais operárias havia em torno da focal, menor o índice de agressividade. É possível que isso esteja relacionado com os feromônios de alarme e sua dupla função: atrair operárias de defesa para atacar o elemento inimigo e repelir as demais operárias (Norman, Butterfield, Drijfhout, Tasman & Hughes, 2017). Quando a inspeção inicial da formiga focal a identificava como um perigo potencial maior, o sinal de alarme era enviado e as demais operárias se afastavam. No que diz respeito às lixeiras vindas de outras colônias, porém, essa correlação foi positiva: quanto mais formigas ao redor da focal, maior a agressividade recebida. Uma possível explicação está relacionada a quais eram essas operárias: pelo vídeo, não podemos identificar sua função, mas é possível que ela estivesse relacionada com a defesa do ninho, e que, portanto, seriam atraídas, e não repelidas pelos feromônios de alarme. Novamente, seria interessante que o número de réplicas com operárias vindas de outras colônias fosse maior.

Dentre os índices de agressividade avaliados, a abertura de mandíbula foi a que menos sofreu influência dos diferentes tratamentos realizados. Houve, inclusive, casos em que a formiga que abriu a mandíbula não estava em contato direto com a focal. Embora possamos considerar que a abertura de mandíbula, no contexto proposto pela pesquisa, é uma sinalização de ameaça contra a operária a quem está sendo dirigida, ela não é, por si só, um comportamento agressivo – Valadares, Nascimento e Nascimento (2015), por exemplo, não consideraram esse comportamento quando compuseram seu índice de agressividade. Já Waddington e Hughes (2010) usaram esse comportamento como uma interação agressiva. Como a presente pesquisa foi baseada no último trabalho, optamos por usar essa categoria, apesar do aspecto mencionado.

Há de se considerar um problema metodológico enfrentado durante as análises: todas as formigas da subcolônia na qual a formiga focal foi colocada podiam se aproximar dela. Isso fez com que diversas filmagens tivessem um grande número de interações potenciais, o que dificultou uma análise mais pormenorizada dos comportamentos observados. Restringir o acesso das formigas, porém, não pareceu uma opção: o resultado poderia ser alterado, particularmente porque isso implicaria em não deixá-la perto do pote onde se encontrava o jardim de fungo – e, portanto, ela poderia não representar o perigo potencial que pesquisávamos. Uma sugestão para futuras réplicas é que sejam usadas subcolônias menores.

Um ponto que não foi avaliado é se o tempo que uma operária passou longe da colônia pode ou não ter afetado a agressividade que recebeu. Esse é outro aspecto que precisaria ser avaliado em pesquisas futuras.

Mesmo que nosso resultado não tenha sido o esperado, conforme encontrado por Waddington e Hughes (2010), ele ainda aponta que o lixo, em si, é um elemento perigoso para o jardim de fungos e para as lixeiras que trabalham com ele constantemente e devem ser tratadas de forma diferenciada por isso. Isolar as lixeiras do jardim de fungo é um comportamento de imunidade social (Cremer et al., 2007, 2018) e ajuda na manutenção da saúde da colônia como um todo.

5 EXPERIMENTO 2 – REAÇÃO DAS FORMIGAS FORRAGEADORAS A UM CAMINHO CONTAMINADO (OBSTÁCULO)

5.1 Pressupostos teóricos e objetivo

Para se guiar no ambiente, as formigas cortadeiras seguem, particularmente, pistas químicas (Cross et al., 1979), embora também sejam capazes de usar pistas visuais, se for necesssário (Ribeiro et al., 2009). Essas pistas são usadas para diferentes atividades; entre elas, o forrageamento de folhas que serão usadas para alimentar o fungo simbiote, de quem dependem para sua sobrevivência e alimentação (Hölldobler & Wilson, 1990). Em uma pesquisa realizada em ambiente natural, com cortadeiras da espécie *Atta colombica*, observou-se que as trilhas de forrageamento não cruzam as trilhas de descarte de lixo, bem como as lixeiras e forrageadoras usam entradas diferentes para sair do formigueiro (Hart & Ratnieks, 2002). Essa medida diminui o risco de contaminação do alimento por patógenos que podem existir no lixo e garante a saúde do fungo e da colônia.

O objetivo do Experimento 2 - *Reação das formigas forrageadoras a um caminho contaminado (Obstáculo)* foi avaliar a reação de formigas cortadeiras da espécie *Atta sexdens* quando elementos de diferentes graus de periculosidade passam a obstruir uma das trilhas de forrageamento. Foram usados três tipos de elementos diferentes:

- Lixo da colônia: considerado elemento perigoso para as formigas, uma vez que é fonte de patógenos diversos, de acordo com a literatura (Lacerda et al., 2010);
- Milho (quirera): considerado elemento atrativo, já que faz parte da alimentação habitual delas (ver capítulo 3);
- Terra esterilizada: considerado por nós como um elemento neutro para as formigas, já que não representaria perigo para a formiga (uma vez que é esterilizada) nem é parte da alimentação da espécie.

Esperamos, com isso, avaliar o grau de perturbação provocado por cada um dos obstáculos, confirmando se elementos considerados perigosos irão provocar maior reação nas formigas que os elementos menos perigosos. Para isso, iremos usar um aparato experimental de acrílico em Y, com folhas em suas duas pontas. Em um

dos braços desse aparato experimental será colocado o obstáculo; no outro, nada será colocado.

5.2 Hipóteses

Embora esperemos que a inclusão de um obstáculo perturbe a atividade de forrageamento, uma vez que interrompe a continuidade da marcação química feita, o grau dessa perturbação estará ligado ao tipo de obstáculo adicionado. Para o braço em que o obstáculo for colocado, esperamos que:

- Esse distúrbio será mais forte quando o obstáculo for potencialmente perigoso (Lixo), fazendo com que as formigas hesitem mais em passar com uma folha sobre ele do que fariam sobre os estímulos neutros e atrativos;
- Caso haja abandono de folhas cortadas, esse se dará antes do estímulo perigoso, evitando contaminação, mas de forma aleatória para os outros dois obstáculos;
- Poderá haver manipulação do obstáculo adicionado, sendo que, no caso do obstáculo potencialmente perigoso, será removido de tal modo que as formigas voltem a ter uma trilha de forrageamento e, no caso do estímulo atrativo, esse será forrageado;
- A inclusão de um obstáculo potencialmente perigoso diminuirá a quantidade de folhas forrageadas por essa trilha, bem como o fluxo de formigas nela. A inclusão de obstáculos atrativos fará com que aumente o fluxo de formiga na trilha (uma vez que o obstáculo é uma nova fonte de forrageamento), mas não irá afetar a quantidade de folhas forrageadas. Já a inclusão de obstáculos neutros não afetará essas duas variáveis;
- Elementos do obstáculo perigoso não serão transportados para a colônia, enquanto elementos dos obstáculos neutros ou atrativos poderão ser (sendo que os elementos atrativos serão transportados para a colônia em maior quantidade).

Esperamos que a inclusão do obstáculo possa provocar algum tipo de mudança de comportamento no braço do Y em que nada foi colocado. Essa mudança irá depender do tipo de obstáculo adicionado. As nossas predições, neste caso, são:

- Caso o obstáculo adicionado ao outro braço seja potencialmente perigoso, o fluxo de formigas no braço sem obstáculo irá aumentar, bem como a quantidade de folhas forrageadas por meio dele;
- Obstáculos atrativos irão diminuir o fluxo de formigas no braço sem obstáculo, mas não irão afetar a quantidade de folhas forrageadas;
- Obstáculos neutros não irão afetar o fluxo de formigas ou a quantidade de folhas forrageadas no braço sem obstáculo.

5.3 Metodologia

O presente experimento foi realizado com 12 colônias do nosso laboratório. Dessas, sete participaram duas vezes do experimento em réplicas diferentes e três participaram apenas de uma das réplicas. Sempre que uma das colônias participou de duas réplicas, uma delas foi a “Obstáculo perigoso”. Os anexos I, *Dados sobre as colônias*, e II, *Cronograma final*, apresentam maiores detalhes dessas colônias.

A metodologia se inspirou em um dos experimentos realizados por Troitino (2015), em que a pesquisadora avaliou o comportamento de forrageamento de subcolônias em privação de alimento.

5.3.1 Aparato experimental

Foram usados dois aparatos experimentais de acrílico transparentes, fechados e idênticos. A Figura 9 mostra um desenho esquemático do aparato experimental:

Figura 9 – Representação esquemática do labirinto usado no Experimento 2 (Obstáculo)

Fonte: Troitino (2015, p. 18)

Os aparatos experimentais tinham um compartimento inicial onde era colocada a subcolônia testada, conectada a uma bifurcação em Y. Após a bifurcação, havia dois corredores retos de 115x15 cm que iam até uma extremidade fechada. Era possível abrir partes específicas do teto do aparato experimental, conforme necessidade, bem como deixá-lo totalmente fechado durante todo o procedimento. *Fluon* foi colocado para evitar que as formigas andassem pelas paredes do aparato experimental.

5.3.2 Procedimento

As subcolônias de teste, formadas por dois potes de 1 litro de fungo, foram colocadas no aparato experimental 24 horas antes do início do experimento. As formigas puderam explorar o aparato experimental livremente durante esse período, fazendo marcação territorial. A subcolônia ficou em privação de alimento. Foi colocado um recipiente pequeno com lixo perto daquele com o fungo, para estimular que as formigas o usassem para depósito de detritos.

Após o período de habituação, e imediatamente antes do início do procedimento experimental, fizemos uma filmagem de 5 minutos, para determinar o fluxo das formigas pelos dois lados do aparato experimental. Após esse período, colocamos folhas grandes de *Acalypha wilkesiana* nas duas extremidades do aparato experimental. As formigas puderam forragear essas folhas livremente por 30 minutos, período no qual continuamos a gravação, para observar se houve alteração do fluxo

antes ou depois de incluirmos alimento. Colocamos, então, um obstáculo no meio de um dos braços do aparato experimental (escolhido de forma aleatória). Os obstáculos poderiam ser:

- Lixo da colônia: 10 subcolônias;
- Milho (quirera): 6 subcolônias;
- Terra esterilizada: 6 subcolônias.

O obstáculo cobriu toda a largura do aparato experimental (7 cm) e tinha aproximadamente 3 cm de comprimento. A fase experimental durou 30 minutos e também foi filmada.

5.3.3 Análise

As análises feitas foram:

- Fluxo de formigas por minuto nos dois braços do Y durante as diferentes fases de observação;
- Quantidade de folhas carregadas em direção ao ninho em cada um dos braços do Y, antes e depois da inclusão do obstáculo;
- Latência para o primeiro transporte efetivo de folhas sobre o obstáculo: tempo (em segundos) para que fosse feito o transporte da primeira folha sobre o obstáculo na trilha;
- Número de tentativas de transporte antes do primeiro transporte efetivo de folhas sobre o obstáculo;
- Frequência de transportes efetivos: todo transporte em que a formiga passou com a folha pelo obstáculo e seguiu direto com ela para a subcolônia;
- Frequência de transportes parciais: todo transporte interrompido quando já sobre o obstáculo;
- Frequência de *U-turns*: quando uma formiga transportando um fragmento de folha em direção ao ninho dava meia-volta ao encontrar o obstáculo e passava a andar em direção à área de forrageamento;
- Frequência de folhas abandonadas: largar a folha transportada durante o percurso e antes de chegar à subcolônia. Para refinamento da análise, esse grupo foi subdividido em relação ao local onde a folha foi deixada: antes do

obstáculo, sobre e depois dele. Essa análise só foi feita após a inclusão do obstáculo;

- Recondicionamento do obstáculo: quantas subcolônias remanejaram o obstáculo.

Para as análises estatísticas, usamos o programa SPSS (IBM, V. 21.0). Avaliamos o tempo para o primeiro transporte e o número de tentativas feitas antes dele com o teste Kruskal-Wallis. Havendo diferença significativa, usamos o teste Mann-Whitney U para localizar em quais condições ela ocorreu. As análises de frequência foram feitas usando testes Qui-quadrado com tabelas de dupla entrada. Também foram realizados testes de Wilcoxon pareados para avaliar o fluxo médio entre os dois braços do Y e para comparar o fluxo na primeira e na segunda parte do procedimento experimental.

5.4 Resultados

5.4.1 O primeiro transporte de folhas

Começamos avaliando o primeiro transporte efetivo de folhas. A Figura 10 apresenta o resultado dessa análise:

Figura 10 – Latência para o primeiro transporte efetivo de folha sobre o obstáculo (esquerda) e número de tentativas de transporte antes do primeiro transporte efetivo de folha (direita)

Fonte: a autora

Os resultados do teste Kruskal-Wallis indicaram diferença significativa em relação à “Latência para o primeiro transporte” ($p=0,01$), sendo que o tempo para esse transporte, quando o obstáculo era Lixo, foi estatisticamente maior que o encontrado para os outros dois obstáculos: $363,9 \pm 263,3$ s para Lixo, contra $93,3 \pm 33,1$ s para Milho, e $118,9 \pm 48,2$ s para Terra; não houve diferença entre Milho e Terra. Também houve diferença significativa em relação ao “Número de tentativas antes do primeiro

transporte efetivo de folha” ($p=0,04$), sendo que o número de tentativas quando o obstáculo era Lixo também foi estatisticamente maior: $13,0 \pm 4,7$ s para Lixo, contra $6,2 \pm 4,9$ s para Milho, e $8,5 \pm 3,4$ s para Terra. Não houve diferença entre Milho e Terra.

5.4.2 Frequência de eventos

Em seguida, analisamos a frequência dos eventos. As figuras 11 e 12 apresentam os resultados dessa análise:

Figura 11 – Comportamentos de formigas com fragmentos de folhas frente ao obstáculo

Fonte: a autora

Figura 12 – Local onde a folha foi abandonada

Fonte: a autora

Houve diferença significativa na frequência de comportamentos das formigas carregadas com folha diante dos obstáculos ($\chi^2=92,4$, $gl=6$, $p<0,001$). A porcentagem de formigas que fizeram *U-turn* foi maior quando o obstáculo era Lixo em vez de Milho ou Terra. Além disso, menos formigas abandonaram a folha que carregavam, ou tentaram fazer transporte (efetivo ou não) frente ao lixo. Não houve diferença entre Milho e Terra para abandono de folha ou frequência de *U-turn*, mas houve com o tipo de transporte: o Milho teve o maior número de transportes parciais e a Terra teve o maior número de transportes efetivos.

Quando analisamos onde a folha foi abandonada, novamente encontramos diferença significativa na frequência ($\chi^2=13,46$, $gl=4$, $p=0,009$). A porcentagem de folhas deixadas antes do obstáculo foi maior quando ele era o lixo. Quando consideramos as folhas deixadas sobre o obstáculo, a frequência foi maior para milho e menor para lixo. Folhas que foram abandonadas ficaram lá até o final do experimento.

5.4.3 Ação sobre obstáculos

Embora tenhamos observado a manipulação do obstáculo em algum grau, em todas as colônias, esse ato foi mais acentuado quando a barreira era composta de lixo – 7 das 10 colônias claramente reorganizaram o obstáculo. Apenas uma das seis colônias com milho e duas das seis colônias com terra fizeram isso. Parte da manipulação do milho incluiu transporte para o pote de fungo em duas das subcolônias.

5.4.4 Comparação do fluxo e transporte de folhas nos braços do Y

Também foram realizadas análises sobre o fluxo no braço do Y. A Figura 13 apresenta os gráficos de fluxo por minuto. No eixo X desse gráfico, o momento C_0 representa o início da coleta-controle. O momento P_0 representa o começo da primeira parte experimental, quando colocamos as folhas, mas não havia obstáculo. Já o momento P2_0 representa o momento em que o obstáculo foi colocado. O período de teste em que o obstáculo esteve presente também foi destacado com um retângulo tracejado cinza. Os dados de duas subcolônias (B7 para obstáculo com lixo

e B4 para obstáculo com milho) não foram incluídos na análise pois, por problemas operacionais, as filmagens realizadas nesse ângulo precisaram ser descartadas.

Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes ao obstáculo Lixo

Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes ao obstáculo Lixo

Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes ao obstáculo Lixo

Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes ao obstáculo Lixo

Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes ao obstáculo Lixo

Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes ao obstáculo Lixo

Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes ao obstáculo Lixo

Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes ao obstáculo Lixo

Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes ao obstáculo Lixo

Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes ao obstáculo Lixo

Figura 13 – Fluxo por minuto durante o experimento para os braços, com e sem obstáculo do Y; dados referentes ao obstáculo Lixo

Fonte: a autora

Podemos observar que a inclusão do obstáculo Lixo causou maior perturbação que a inclusão dos obstáculos Milho ou Terra: em seis das nove colônias apresentadas, o padrão de fluxo na segunda parte do experimento (quando o obstáculo é adicionado) é diferente do observado na primeira fase. Já para Milho e Terra, o número de réplicas cujo padrão de fluxo na segunda parte do experimento foi diferente: duas e três, respectivamente.

A figura 14 apresenta o box-plot do fluxo na primeira e na segunda parte do experimento por tipo de obstáculo adicionado. Já a tabela 7 apresenta o resultado estatístico dos testes aplicados:

Figura 14 – Box-plot do fluxo de formigas por braço do Y para parte do experimento e por tipo de obstáculo adicionado

Fonte: a autora

Tabela 7 – Resultado dos testes Wilcoxon pareados aplicados para o fluxo de formigas por braço do Y e por momento do experimento

Experimento		Braço com obstáculo parte 1 x Braço com obstáculo parte 2	Braço sem obstáculo parte 1 x Braço sem obstáculo parte 2	Braço sem obstáculo parte 1 x Braço com obstáculo parte 1	Braço sem obstáculo parte 2 x Braço com obstáculo parte 2
Lixo	Z	-2,31	-1,48	-1,13	-1,24
	p	0,02	0,14	0,26	0,21
Milho	Z	-0,14	-1,21	-0,94	-0,94
	p	0,89	0,22	0,35	0,35
Terra	Z	-1,15	-1,57	-0,73	-1,99
	p	0,25	0,12	0,46	0,05

Fonte: a autora

De acordo com o teste Wilcoxon pareado aplicado, foram encontradas duas diferenças significativas entre os fluxos observados: a primeira para o obstáculo lixo, em que identificamos diferença significativa entre o fluxo do braço com obstáculo na primeira e na segunda parte do experimento ($z=-2,31$, $p=0,02$, primeira parte: $147,17\pm31,78$; segunda parte: $116,85\pm27,92$). Já a segunda foi para o obstáculo Terra, entre o fluxo do braço com e sem obstáculo na segunda parte do experimento ($z=-1,99$, $p=0,05$, braço com obstáculo: $121,04\pm43,75$, braço sem obstáculo: $100,52\pm50,87$).

A Figura 15 apresenta o box-plot do número de folhas transportadas na primeira e na segunda parte do experimento por tipo de obstáculo adicionado. Já a Tabela 8 apresenta o resultado estatístico dos testes aplicados:

Figura 15 – Box-plot do número de folhas transportadas por braço do Y para parte do experimento e por tipo de obstáculo adicionado

Fonte: a autora

Tabela 8 – Resultado dos testes Wilcoxon pareados aplicados para o número de folhas forrageadas por braço do Y e por momento do experimento

Experimento		Braço			
		Braço com obstáculo parte 1 x Braço com obstáculo parte 2	Braço sem obstáculo parte 1 x Braço sem obstáculo parte 2	Braço sem obstáculo parte 1 x Braço com obstáculo parte 1	Braço sem obstáculo parte 2 x Braço com obstáculo parte 2
Lixo	Z	-1,60	-2,38	-0,12	-2,55
	p	0,11	0,02	0,91	0,01
Milho	Z	-1,48	-1,21	-0,94	-1,21
	p	0,14	0,22	0,35	0,22
Terra	Z	-1,36	-0,94	-0,52	-0,11
	p	0,17	0,35	0,60	0,92

Fonte: a autora

Podemos observar, de acordo com os resultados encontrados, que apenas o obstáculo lixo afetou o número de folhas transportadas. Para o obstáculo lixo, de acordo com o teste Wilcoxon pareado aplicado, houve diferença significativa entre o número de folhas transportada na primeira e na segunda parte do experimento no braço sem obstáculo ($z=-2,38$, $p=0,02$, primeira parte: $43,80\pm57,70$; segunda parte: $76,11\pm48,29$) e entre o número de folhas transportadas no braço com e sem obstáculo na parte 2 do experimento ($z=-2,55$, $p=0,01$; braço com obstáculo: $46,33\pm35,99$; braço sem obstáculo: $76,11\pm48,29$).

5.5 Discussão

O forrageamento é uma tarefa fundamental para a sobrevivência de uma colônia de formigas cortadeiras. A boa prática de forrageamento exige não apenas que as formigas escolham folhas adequadas para a nutrição do fungo simbiote (Arenas & Roces, 2016b; Souza, Peres Filho, Caldeira, Dorval & Sousa, 2012), como também façam trilhas de forrageamento seguras e que garantam a integridade das folhas coletadas, preferencialmente evitando as trilhas de lixo, que poderiam contaminar o alimento (Hart & Ratnieks, 2002).

Conforme esperávamos, adicionar obstáculos à trilha de forrageamento causou distúrbio no transporte de folhas, e o tipo de obstáculo determinou o grau do distúrbio. Lixo, obstáculo perigoso devido à possibilidade potencial de transmissão de patógenos (Bot et al., 2001; Waddington & Hughes, 2010), fez com que as formigas hesitassem mais para passar com folhas sobre ele: diante do lixo, elas levaram mais tempo e tiveram um número maior de tentativas para fazer o primeiro transporte efetivo, e fizeram mais *U-turns*. O número de folhas abandonadas foi menor que diante dos demais controles, e quando houve abandono, esse ocorreu antes do obstáculo. Entre os obstáculos, Lixo foi o mais manipulado, possivelmente para abrir uma rota segura de forrageamento. Finalmente, observamos a diminuição do fluxo de formigas andando pelo lado do Y em que foi colocado o obstáculo, se comparado com o momento em que ele não estava lá, bem como um menor número de folhas transportadas no braço com o lixo, se comparado com o braço sem lixo no mesmo período do experimento. Em conjunto, esses resultados, que estão de acordo com as nossas previsões, indicam que as formigas parecem notar a periculosidade do lixo, tentando isolar a folha forrageada dele, evitando a contaminação da carga, o que

poderia colocar a colônia em risco. Essa pode ser considerada uma estratégia de Imunidade Social: isolar um perigo para a colônia, evitando potenciais danos (Cremer et al., 2007; 2018).

Milho e Terra, considerados obstáculos atrativo e neutro, respectivamente, causaram pouco distúrbio na trilha de forrageamento: foram observados *U-turns* e certa hesitação para passar com um fragmento de folha transportado sobre o obstáculo, mas com menor frequência, em relação ao lixo. Além disso, não houve variação no número de folhas forrageadas entre os braços do Y com ou sem o obstáculo, antes ou depois de sua colocação, indicando que, apesar do pequeno grau de distúrbio que o procedimento experimental possa ter causado, não afetou o forrageamento de uma forma geral.

Sabemos que pistas químicas são usadas para orientar o deslocamento das forrageadoras até a fonte de alimento nessa espécie (Cross et al., 1979; Hölldobler & Wilson, 1990). Adicionar um obstáculo sobre essa pista química possivelmente encobriu parte dela. Pistas visuais podem ter colaborado para que as formigas reencontrassem o caminho para continuar o forrageamento (Ribeiro et al., 2009). Chama a atenção que o fluxo de operárias entre os braços com e sem obstáculo na segunda parte do experimento tenha sido significativamente diferente quando o obstáculo adicionado foi Terra, o que vai contra nossa previsão original. Nossa hipótese é de que esse aumento tenha ocorrido devido ao recrutamento de operárias para remover o material adicionado. Como esse era um obstáculo potencialmente neutro, não seria preciso selecionar um grupo específico de operárias para essa função. Esperávamos, porém não encontramos, o mesmo efeito para o obstáculo Milho. Possivelmente, o aumento da oferta de alimento disponível naquele braço (uma vez que o obstáculo adicionado poderia ser forrageado) não fez com que um número maior de forrageadoras fosse recrutado.

Vale notar que se a hesitação encontrada para transporte de folha referente a Milho ou Terra foi de mesmo grau, observamos um maior número de transportes efetivos sobre a Terra e de transportes parciais sobre o Milho. Além disso, muitas folhas foram abandonadas sobre o Milho, que é parte da alimentação de nossas formigas. Possivelmente, essa barreira serviu como fonte de alimento ou depósito de comida, e não apenas como um obstáculo sobre a trilha. Essa conclusão é reforçada pela observação de que algumas colônias também forragearam o milho.

Na natureza, as trilhas de forrageamento podem ser interrompidas por obstáculos. Avaliar a periculosidade da barreira, e se é viável passar sobre ela, ou se é melhor encontrar outra fonte de alimentos é importante para manter a saúde da colônia.

6 EXPERIMENTO 3 – ISOLAMENTO DO LIXO A DIFERENTES DISTÂNCIAS (PONTES)

6.1 Pressupostos teóricos e objetivo

As formigas cortadeiras, como outros insetos eusociais, desenvolveram técnicas para isolamento do lixo que produzem, uma vez que sua característica social e seu meio de vida podem fazer com que o lixo seja potencialmente perigoso para o ninho (Ballari et al., 2007; Bot et al., 2001; Hart & Ratnieks, 2002). O local em que cada espécie ou colônia irá isolar seu lixo vai depender de diferentes fatores, entre eles a história de desenvolvimento da espécie, o local onde o ninho se encontra e o seu tamanho (Farji-Brener et al., 2016; Hart & Ratnieks, 2002).

A espécie *Atta sexdens* é conhecida por depositar seu lixo em panelas abaixo do solo. Sabe-se que essas panelas são as mais afastadas do centro do ninho (Della Lucia, 1993; Hölldobler & Wilson, 1990). Em laboratório, essa espécie acaba sendo obrigada a depositar seu lixo em ambiente externo, já que ela muitas vezes não possui a estrutura necessária para mimetizar o comportamento visto na natureza. Com isso, as colônias escolhem um local para depósito de lixo dentro da bandeja de colônia em que seus potes de fungo ficam, nos espaços entre eles ou em potes colocados para isso. Se não houver a limpeza humana do lixo, ele irá se acumular dentro da bandeja.

O objetivo desse estudo é avaliar se, apesar de haver um local prévio de armazenamento de lixo na colônia, as formigas irão transportar os detritos para outro local, mais isolado, embora também mais distante (e, portanto, com maior custo energético para chegar). Também testaremos, caso haja isolamento do lixo usando as bandejas fora da colônia, se o local escolhido para depósito de lixo será sempre o mais distante possível ou se isso variará dependendo do tamanho da colônia em questão.

6.2 Hipóteses

As hipóteses para o Experimento 3, *Isolamento do lixo a diferentes distâncias (Pontes)*, são:

- As pontes serão usadas para transportar o lixo para as bandejas vazias, mais isoladas do ninho;

- O tempo para início desse transporte vai variar de acordo com o tamanho da colônia, sendo que as colônias maiores iniciarão o transporte mais cedo;
- Quanto maior for a colônia, maior será sua tendência a escolher as bandejas mais distantes para o transporte do lixo;
- Colônias maiores também tenderão a fazer uma limpeza mais completa do ninho, removendo não apenas o lixo que foi produzido durante os dias de coleta de dados mas também o lixo acumulado no período anterior ao início da coleta.

6.3 Metodologia

6.3.1 Colônias

Esse experimento foi realizado com 15 colônias do nosso laboratório. Na Tabela 9, apresentamos o tamanho das colônias, em litros, bem como uma classificação delas de acordo com esse tamanho. Colônias com até 7,5 litros de fungo foram consideradas pequenas, e as com mais litros foram consideradas grandes.

Tabela 9 – Informações sobre o tamanho das colônias

Colônia	Número de potes	Litros de fungo (total)	Classificação colônia
B1	7	10,5	Grande
B2	7	8,5	Grande
B3	5	4,5	Pequeno
B4	5	6,5	Pequeno
B5	5	9	Grande
B7	5	9	Grande
B9	3	9	Grande
B10	8	9	Grande
B17	2	4	Pequeno
C1	3	2	Pequeno
C4	6	6,5	Pequeno
C5	6	6,5	Pequeno
C7	5	7,5	Pequeno
C8	4	6	Pequeno
C9	9	23	Grande

Fonte: a autora

6.3.2 Procedimento experimental e análise

Quinze dias antes do início da coleta de dados, o lixo das colônias participantes deixou de ser recolhido para que se acumulasse dentro da bandeja da colônia. Após esse período, foi colocada uma ponte na própria bandeja da colônia para conectá-la a três outras bandejas (bandejas de descarte), a distâncias entre 40, 80 e 120 centímetros, conforme pode ser visto na Figura 16. A ponte foi colocada próximo à extremidade da bandeja de forma a não favorecer especialmente o transporte do lixo.

Figura 16 – Representação esquemática da ponte usada para o Experimento 2 (Pontes)

Fonte: a autora

Uma vez que a ponte tivesse sido colocada, era deixada na colônia por 3 ou 4 semanas após o início do transporte de lixo. Caso não houvesse transporte de lixo após cinco semanas, o *set* experimental era desmontado. Foram avaliados:

- Se houve transporte de lixo (sim ou não);
- Quando o transporte de lixo teve início, medido em dias, tendo como dia zero aquele em que a ponte foi colocada na bandeja de ninho. Chamaremos de “bandeja de ninho” a bandeja onde os potes de fungo foram depositados;
- Quantas e quais bandejas de lixo foram usadas, e qual foi a mais usada;
- Se houve retirada do lixo que já havia sido depositado na bandeja da colônia (sim ou não) e se essa retirada, caso tenha havido, foi completa ou parcial (avaliado por meio de fotografias tiradas diariamente durante o período de coleta).

Avaliamos o tempo para o primeiro transporte e o número de bandejas usadas, por meio do teste de Mann-Whitney. As análises de frequência sobre ter ou não havido

o descarte do lixo da bandeja de ninho, se houve ou não limpeza completa desse lixo e qual a bandeja mais usada foram feitas usando o teste de contingência V, de Cramer. Os testes foram feitos usando o programa SPSS (IBM, V. 21.0).

Algumas análises extras foram feitas apenas para a colônia C1, nossa colônia-piloto. São análises qualitativas do experimento e uma análise quantitativa, que levou em consideração a quantidade de lixo em cada uma das bandejas e o número de corpos encontrados nelas.

6.4 Resultados

Primeiramente, apresentamos os dados sobre o início do transporte e o número de bandejas usadas para cada uma das colônias, na Tabela 10:

Tabela 10 – Dados sobre o início do uso da ponte para transporte de lixo e número de bandejas de lixo usadas – Experimento 3 (Pontes)

Colônia	Classificação colônia	Dias para início	Número de bandejas usadas
B1	Grande	1	3
B2	Grande	1	1
B3	Pequeno	13	1
B4	Pequeno	1	3
B5	Grande	1	3
B7	Grande	1	1
B9	Grande	12	3
B10*	Grande	4	2
B17	Pequeno	1	2
C1	Pequeno	1	3
C4	Pequeno	1	3
C5	Pequeno	1	3
C7	Pequeno	1	2
C8	Pequeno	1	3
C9	Grande	1	1

Fonte: a autora

Conforme podemos ver, todas as colônias usaram a ponte para transporte de lixo, sendo que a maioria delas (12 das 15) começaram a fazer isso já no primeiro dia em que a ponte estava disponível. Entre as duas colônias que não o fizeram (B3 e B9), destacamos a B3 que só começou a fazer isso depois de 13 dias, após um pequeno acidente na bandeja de ninho, em que um pote de água disponibilizado

vazou, encharcando o lixo. Esse acidente pode ter desencadeado o início do transporte de lixo.

O tamanho da colônia não afetou a quantidade de dias para início do transporte de lixo pela ponte ($p=0,56$) ou a quantidade de bandejas usadas para depósito ($p=0,40$). Um aspecto interessante foi observado na Colônia C1, cujo transporte de lixo começou poucas horas após a introdução da ponte na bandeja de ninho e iniciou-se pelo transporte de corpos. Não avaliamos esse aspecto específico para as demais colônias, porém foi observado que algumas delas formaram pequenos montes com corpos de formigas nas bandejas de lixo que não estavam sendo usadas ainda. Esses montes foram ou transportados posteriormente para outra bandeja, ou foram encobertos, após alguns dias, por lixo que foi depositado naquela bandeja.

A Figura 17 apresenta os dados de frequência para a bandeja mais usada, se as colônias removeram o lixo de sua bandeja de ninho e se a limpavam totalmente, por tamanho da colônia.

Figura 17 – Gráficos de frequência apresentando a bandeja de lixo mais usada (acima, à esquerda), se as colônias removeram o lixo da bandeja de colônia (acima, à direita) e se a bandeja de colônia foi totalmente limpa, por tamanho da colônia (abaixo)

Fonte: a autora

As análises estatísticas realizadas não mostram associação entre as variáveis comparadas (bandeja mais usada: V de Cramer=0,47, $p=0,19$; se retirou o lixo da bandeja: V de Cramer=0,26, $p=0,92$; se limpou toda a bandeja: V de Cramer=0,38, $p=0,14$). Um ponto a ser destacado, porém, é que a bandeja 1 (mais perto do ninho) foi mais usada do que as demais pelas colônias.

De forma geral, observamos que as operárias levaram o lixo para as bandejas vazias usando as pontes, embora tenhamos observado indícios de que a ponte possa ter sido usada para jogar o lixo para fora da bandeja. Nesse sentido, um ponto interessante observado na Colônia C1 foi que, nas primeiras horas após o início do experimento, as operárias jogavam o lixo quando estavam sobre a ponte, mas ainda

sobre a bandeja de ninho, o que fazia com que o lixo caísse dentro dessa bandeja. Com o tempo, tais comportamentos não foram mais observados.

6.4.1 Dados extras da colônia C1

Durante a execução do Experimento 3 com a colônia C1, foi notado um tratamento especial dado aos cadáveres, que foram os primeiros a serem transportados para as bandejas de lixo. Por esse motivo, foram executas também algumas análises extras para essa colônia, em que incluímos a contagem do número de corpos de formigas nos lixos encontrados nas diferentes bandejas.

A Figura 18 mostra a distribuição do lixo e dos corpos entre as bandejas ao final do experimento. Conforme pode ser visto, a bandeja mais próxima ao ninho foi a mais usada para o descarte, tanto de lixo quanto de corpos.

Figura 18 – Distribuição do lixo (acima) e corpos (abaixo) nas diferentes bandejas de descarte ao final do experimento

Fonte: a autora

É importante apontar um resultado acidental observado nessa colônia. A distância entre as bandejas de descarte possibilitou que o lixo fosse arremessado entre elas. Em um desses espaços, formou-se o que poderíamos chamar de “cemitério de formigas”, uma vez que para lá foram levados apenas cadáveres de formigas, e não lixo. Além disso, fez-se necessário colocar, dentro da bandeja mais próxima ao ninho, um pote de plástico pequeno virado com a boca para baixo. Logo observamos a preferência por armazenar lixo e corpos dentro desse pote – que foi o mais usado entre os espaços nas bandejas. A Figura 19 mostra a distribuição de lixo e corpos entre as diferentes áreas usadas para descarte pelas formigas.

Figura 19 – Distribuição do lixo (acima) e corpos (abaixo) detalhada por área de descarte; a quantidade de lixo atrás da bandeja de distância média é desprezível

Fonte: a autora

Notamos, por esse gráfico, não apenas que a primeira bandeja concentrou a maior quantidade de lixo e corpos, mas que eles ficaram concentrados dentro do pote colocado por acidente nessa bandeja. Vale destacar que nas demais colônias, embora

tal comportamento não tenha sido analisado, observamos com frequência montes de corpos nas bandejas ainda não usadas para o depósito de outros tipos de lixo (como fungo morto, por exemplo) ao longo dos dias de coleta. Alguns desses montes de corpos viraram montes de lixo após alguns dias, enquanto outros foram transferidos para outros montes de lixo estabelecidos em outras bandejas.

6.5 Discussão

De acordo com a literatura sobre imunidade social, é preciso isolar o lixo (uma fonte importante de patógenos) para que ele não represente perigo para a colônia (Cremer et al., 2018; Masri & Cremer, 2014). Estudos sobre manejo de lixo abordam esse isolamento, não apenas para formigas (Ballari et al., 2007; Farji-Brener et al., 2016; Hart & Ratnieks, 2002; Verza et al., 2017), mas para outros insetos, como as abelhas (Medina, Hart & Ratnieks, 2014). O presente trabalho abordou a questão do isolamento tentando avaliar se a distância é um fator que interfere na escolha desse local de descarte. A literatura (Hart & Ratnieks, 2002) indica-nos que colônias maiores preferem locais de descarte de lixo mais distantes do ninho, mas que, ao mesmo tempo, não representem um custo de deslocamento muito grande.

Em nossa pesquisa, observamos que o transporte do lixo para as bandejas começou poucas horas após colocarmos as pontes, em quase todas as colônias, independente do seu tamanho. O lixo transportado não foi, necessariamente, aquele que já havia sido previamente retirado dos potes de fungo e que havia se acumulado na bandeja de ninho, mas lixo recém-descartado. Embora as colônias optassem por isolar seus lixos em bandejas externas àquela em que estavam seus potes de fungo (onde já estavam habituadas a depositá-lo), a escolha por qual bandeja usar foi, de acordo com as análises estatísticas feitas, aleatória: as três bandejas oferecidas, a distâncias diferentes, foram usadas aleatoriamente. O tamanho das colônias não afetou essa decisão, havendo, inclusive, colônias consideradas pequenas que depositaram o lixo exclusivamente na bandeja mais distante. Levantamos três hipóteses para isso: a primeira diz respeito às distâncias oferecidas (entre 40 e 120 centímetros), que podem ter sido pequenas, considerando as distâncias de vários metros percorridas normalmente por operárias dessa espécie para forragear (Hölldobler & Wilson, 1990). Essa explicação só faria sentido, porém, se considerássemos que as diferentes colônias não foram capazes de identificar que as

bandejas apresentadas estavam a distâncias diferentes. A segunda hipótese diz respeito ao tamanho das nossas colônias: a espécie *Atta sexdens*, na natureza e com espaço pleno para crescer, costuma ter quase 400 painéis de fungo quando chega à idade próxima à das nossas colônias (entre três e cinco anos) no momento em que os experimentos ocorreram (Hölldobler & Wilson, 1990). Diante disso, mesmo nossas maiores colônias são muito pequenas (conforme pode ser deduzido pela quantidade de fungo que cada uma delas possui), e talvez a distância necessária para um descarte de lixo considerado seguro e com menor custo não precise ser a mais distante – bastaria estar isolado do jardim de fungo. Não devemos nos esquecer, também, da questão da periculosidade do lixo de formigas de laboratório, que pode ser menor que a encontrada em colônias no ambiente natural, inclusive se considerarmos a alimentação recebida – composta principalmente de folhas de *Acalypha wilkesiana*, que foi relacionada com a produção de um lixo menos perigoso para as formigas (Lacerda et al., 2010). Um lixo menos perigoso talvez não as induza a um comportamento de profilaxia (Lacerda, 2008), que exija isolamento do lixo em um local mais distante. A terceira explicação estaria relacionada ao número de colônias usadas: foram apenas 15 colônias, sendo 8 pequenas e 7 grandes. Sugerimos a replicação do experimento com uma amostra mais robusta, para que os dados acima sejam confirmados ou refutados.

Nesse sentido, é interessante abordarmos o resultado encontrado para a colônia B3, que foi a que mais demorou para iniciar o transporte de lixo para fora de sua bandeja de ninho. Essa colônia só iniciou o transporte quando ocorreu um acidente, que fez com que o lixo ficasse encharcado de água. Sabemos que as colônias gerenciam seu lixo de forma a mantê-lo seco, já que a umidade contribui para o aumento da produção de patógenos (Farji-Brener et al., 2016; Ribeiro & Navas, 2007). O fato de o lixo ficar encharcado talvez tenha aumentando sua periculosidade imediata, fazendo com que se tornasse urgente transportá-lo para fora da colônia. Nesse sentido, chama a atenção que a colônia usou uma única bandeja para isolar o lixo, e ela foi a mais distante. Essa foi a única colônia que usou exclusivamente essa bandeja. Seria interessante que pesquisas futuras comparassem a distância de descarte de lixo considerando a umidade do lixo (quer medindo a umidade do lixo no momento em que a coleta é feita, quer umidificando ou secando ele artificialmente), para avaliar melhor essa questão em particular.

Não podemos nos esquecer de dois aspectos qualitativos observados nas colônias. O primeiro diz respeito ao transporte de corpos, visto na colônia C1. Observamos que eles foram os primeiros a ser levados para a bandeja de lixo ou precederam o uso de bandejas nas demais colônias. Sabe-se que os corpos recebem tratamento diferente do fungo, já que eles podem carregar em si as doenças que provocaram suas mortes (Diez et al., 2011; Diez, Moquet & Detrain, 2013; Sun & Zhou, 2013). Alguns desses tratamentos incluem a remoção imediata dos corpos (Diez, Le Borgne et al., 2013), a criação de cemitérios de corpos (Czechowski, 2008) ou a evitação do uso de áreas em que os corpos tenham sido encontrados (Franks et al., 2005). Acreditamos que esse resultado secundário da nossa pesquisa possa estar relacionado justamente a esse perigo potencial dos corpos.

Outro aspecto relevante observado foi o uso das pontes para jogar lixo. Isso foi observado por Ballari et al. (2007) em colônias de *Acromyrmex lobicornis*, que depositavam lixo fora da terra. Tal comportamento foi interpretado como uma medida de redução de riscos, já que as formigas diminuiriam seu tempo de contato com o lixo ao jogá-lo para o monte de detrito em vez de levá-lo até lá. Isso não era necessariamente esperado por nós para a *Atta sexdens*, pois essa espécie deposita seu lixo em painéis de fungo sob a terra (Della Lucia, 1993; Hölldobler & Wilson, 1990). Para tentar explorar melhor o comportamento de arremesso das formigas, elaboramos o experimento apresentado no capítulo 9, *Experimento 6 – Isolamento de lixo usando estratégias eficazes e ineficazes (T externo e T interno)*.

7 EXPERIMENTO 4 – ESCOLHA ENTRE CAMINHOS DE TAMANHOS DIFERENTES (PONTES DE TAMANHOS DIFERENTES)

7.1 Pressupostos teóricos

Conforme já vimos, o isolamento do lixo é uma das estratégias de imunidade social usadas pelas colônias de *Atta sexdens*. Alguns estudos sugerem que há preferência por se depositar os detritos em locais distantes (Hart & Ratnieks, 2002), embora estudos nesta tese discordem dessa preferência (ver capítulo 6, *Experimento 3 – Isolamento do lixo a diferentes distâncias (Pontes)*).

Diante disso, perguntamo-nos se as colônias seguiriam uma rota mais curta ou mais longa para o descarte de lixo, mesmo que ambos os caminhos levassem a um mesmo local de descarte. A rota mais longa estaria relacionada também a uma impressão de que o local de descarte seria longe e, portanto, mais seguro para a colônia. A metodologia foi baseada no estudo-piloto que é apresentado no anexo IV, *Estudo-piloto – escolha entre caminhos de tamanhos diferentes e avaliação da composição das trilhas de lixo (Canos)*, e buscou problemas operacionais encontrados no estudo-piloto.

7.2 Hipóteses

Para esse experimento, nossas predições são:

- A escolha dos caminhos mais usados para descarte de lixo por cada colônia não será aleatória, mas ocorrerá pelo braço mais longo da ponte de descarte;
- O fluxo de formigas nos diferentes braços das pontes sempre será equivalente.

7.3 Metodologia

Participaram deste experimento 12 colônias do nosso laboratório. Os anexos I, *Dados sobre as colônias*, e II, *Cronograma final*, apresentam maiores detalhes dessas colônias.

7.3.1 Procedimento

Primeiramente, foram montadas subcolônias das colônias que participaram do experimento, cada uma delas com um pote de um litro de fungo. Esse pote foi colocado em uma bandeja de plástico quadrada de 20x20x8,5 cm (bandeja de ninho) que era conectada por meio de pontes feitas com madeira balsa a duas outras bandejas, de 20x30x5 cm. A ponte que unia a bandeja de ninho à bandeja que seria usada para colocar folhas (bandeja de forrageamento) era uma ponte tradicional (em formato de U invertido) com 12 cm de altura e 12 cm de comprimento. Já a ponte que unia a bandeja de ninho à de despejo de detritos era um tripé cujas pernas (de 12 cm de altura) eram unidas por um U com braços diferentes: um com 12 cm e outro com 24 cm. Os braços desse último U eram articulados, de forma a ser possível girá-la para a execução do experimento 5 (Pontes invertidas). A Figura 20 apresenta o esquema da montagem do experimento 4:

Figura 20 – Esquema da montagem do experimento 4

Fonte: Janiele Pereira da Silva

7.3.2 Análise

Foi feita uma observação de 10 minutos por dia (cinco a seis vezes por semana). Foram observados:

- Fluxo de formigas durante um minuto em cada um dos braços das diferentes pontes (independente da direção seguida por elas ou de elas estarem ou não carregadas);
- Número de transportes de lixo levados em direção ao ninho em cada um dos lados (apenas na ponte de descarte);

- Número de transportes de lixo levados em direção à bandeja de descarte em cada um dos lados (apenas na ponte de descarte).

Esses dados foram comparados, em relação ao tamanho do braço da ponte usado (curto ou longo).

Para o transporte de lixo, fizemos duas análises. Primeiramente, fizemos uma análise descritiva, avaliando, coleta a coleta, qual dos braços da ponte teve mais transporte de lixo, e verificando se houve lado mais usado ou não ao longo dos dias. Não foi aplicado teste de frequência a esses dados devido ao baixo número de observações por colônia. Para a segunda análise, usamos os dados brutos de transporte em cada coleta, e aplicamos o teste de Wilcoxon pareado para comparar o transporte entre os lados Longo e Curto. A mesma análise foi feita comparando o fluxo entre os braços da ponte.

Todas as análises foram feitas colônia a colônia, para evitarmos que oscilações das colônias sejam camufladas pelos resultados agrupados.

7.4 Resultados

Todas as colônias, com exceção da B7 e da B9, começaram a usar a bandeja sem folhas para depositar o lixo no dia seguinte ao início do experimento. As colônias B7 e B9 usaram, inicialmente, a bandeja de ninho para depósito de seu lixo. Para estimular o transporte de lixo para a bandeja apropriada, colocamos parte desse lixo na bandeja de lixo. Esse procedimento foi feito uma vez que nosso interesse não era sobre se as formigas iriam ou não isolar o lixo, mas qual caminho iriam fazer.

Na Figura 21, apresentamos os resultados desse estudo:

Figura 21 – Número de transporte de lixos (em 10 minutos) e fluxo (em um minuto) por tamanho da ponte

Figura 21 – Número de transporte de lixos (em 10 minutos) e fluxo (em um minuto) por tamanho da ponte

Figura 21 – Número de transporte de lixos (em 10 minutos) e fluxo (em um minuto) por tamanho da ponte

Fonte: a autora

Conforme podemos ver, entre as 12 colônias testadas, os resultados não são uniformes. Em cinco colônias (B4, B5, B9, B17 e C8), houve maior quantidade de transporte de lixo pelo lado curto da ponte, sendo que em duas (B4 e C8) houve uso exclusivo ou quase exclusivo desse lado para o descarte de lixo, enquanto nas outras houve uso também do lado longo da ponte. Quatro colônias (B7, B10, C5 e C7) usaram predominantemente o lado longo para transporte de lixo, sendo que ocorreu de forma mais acentuada nas colônias C5 e C7. Três colônias (B2, C4 e C9) usaram de forma semelhante os dois lados, sendo que a B2 tendeu a usar mais o lado longo e a C4, o lado curto, sendo registrada movimentação nesses lados em praticamente todas as coletas.

A Tabela 11 mostra o resultado dos testes estatísticos:

Tabela 11 – Resultado dos testes estatísticos do experimento 4 (pontes de tamanhos diferentes)

Colônia	Transportes de lixo			Fluxo de formigas		
	P	Média Curto	Média Longo	p	Média Curto	Média Longo
B2	0,79	4,60±6,31	5,80±5,02	0,89	14,60±12,62	11,80±10,87
B4	0,04	8,60±2,30	0,00±0,00	0,11	12,60±8,53	7,20±1,79
B5	0,35	4,40±1,82	2,80±4,66	0,34	45,60±20,71	39,60±22,41
B7	0,06	0,80±1,23	4,20±4,54	0,04	5,50±4,43	8,30±3,97
B9	0,08	8,60±13,21	4,20±6,36	0,89	11,40±8,34	11,90±10,65
B10	0,10	1,00±0,70	3,20±2,28	0,50	6,80±3,77	7,80±1,30
B17	0,04	10,20±2,39	5,80±2,39	0,23	12,60±4,22	15,80±6,80
C4	0,79	5,00±6,20	4,60±6,54	0,69	13,40±7,64	15,60±18,93
C5	0,04	0,20±0,45	10,40±12,16	0,50	14,80±4,38	17,60±7,77
C7	<0,01	0,10±0,32	2,80±2,39	<0,01	2,20±0,92	5,90±2,73
C8	0,04	12,80±9,95	0,80±0,84	0,04	17,00±6,89	6,00±4,18
C9	0,27	2,00±2,31	3,00±4,45	0,46	10,00±7,39	8,50±8,35

Fonte: a autora

Conforme podemos ver, os testes estatísticos confirmaram parcialmente os dados das frequências descritivas que apresentamos acima: houve diferença significativa no transporte de lixo para as colônias B4 (n=10, Z=-2,02, p=0,04; média braço curto: 8,60±2,30 transportes; média braço longo: 0,00±0,00 transportes), B17

($n=5$, $Z=-2,04$, $p=0,04$; média braço curto: $10,20 \pm 2,39$ transportes; média braço longo: $5,80 \pm 2,39$ transportes), C5 ($n=5$, $Z=-2,06$, $p=0,04$; média braço curto: $0,20 \pm 0,45$ transportes; média braço longo: $10,40 \pm 12,16$ transportes), C7 ($n=10$, $Z=-2,68$, $p<0,01$; média braço curto: $0,10 \pm 0,32$; média braço longo: $2,80 \pm 2,39$) e C8 ($n=5$, $Z=-2,02$, $p=0,04$; média braço curto: $12,80 \pm 9,95$ transportes; média braço longo: $0,80 \pm 0,84$ transportes), e marginalmente significativa para as colônias B7 ($n=10$, $Z=-1,86$, $p=0,06$; média braço curto: $0,80 \pm 1,23$ transportes; média braço longo: $4,20 \pm 4,54$ transportes), B9 ($n=10$, $Z=-1,76$, $p=0,08$; média braço curto: $8,60 \pm 13,21$ transportes; média braço longo: $4,20 \pm 6,36$ transportes) e B10 ($n=5$, $Z=-1,63$, $p=0,10$; média braço curto: $1,00 \pm 0,70$ transportes; média braço longo: $3,20 \pm 2,28$ transportes).

O fluxo entre as colônias oscilou de forma uniforme para todas as colônias, menos para as colônias B7 ($n=10$, $Z=-2,08$, $p=0,04$; média braço curto: $5,5 \pm 4,43$ formigas; média braço longo: $8,3 \pm 3,97$ formigas), C7 ($n=10$, $Z=-2,69$, $p<0,01$; média braço curto: $2,2 \pm 0,92$ formigas; média braço longo: $5,9 \pm 2,73$ formigas) e C8 ($n=5$, $Z=-2,02$, $p=0,04$; média braço curto: $17,0 \pm 6,89$ formigas; média braço longo: $6,0 \pm 4,18$ formigas). Nesses três casos, o braço da ponte usado com maior fluxo é também o que foi mais usado para transporte de lixo.

No total, houve poucos transportes de lixo em direção ao ninho, embora quase todas as colônias tenham feito esse tipo de transporte ao menos uma vez durante as observações. Em alguns casos, esse lixo era devolvido para a bandeja de lixo logo depois, enquanto em outros, a operária ficava andando com ele pela ponte ou voltava com ele para a bandeja de ninho. A Figura 22 apresenta os dados desse transporte:

Figura 22 – Dados sobre transportes em direção ao ninho

Fonte: a autora

Podemos ver que as colônias B17, C4 e C5 são as que se destacam pelo transporte de lixo em direção ao ninho, quase sempre usando o braço longo para isso.

7.5 Discussão

Em um primeiro momento, nossos resultados não parecem confirmar a hipótese de que as formigas prefeririam isolar o lixo em lugares mais distantes, o que as faria usar o braço mais longo da ponte justamente por ele dar a impressão de o lixo estar sendo depositado mais longe do ninho. O que observamos na análise descritiva foi que três colônias não usaram um dos braços da ponte mais que o outro, enquanto cinco usaram mais o curto, e quatro usaram mais o braço longo. Esse resultado vai contra o que esperávamos, de acordo com a literatura (Hart & Ratnieks, 2002), embora esteja de acordo com o resultado que encontramos em outros estudos da presente tese (ver capítulo 6, *Experimento 3 – Isolamento do lixo a diferentes distâncias (Pontes)*). Conforme discutimos anteriormente, os dados indicam que isolar o lixo é mais importante que a distância onde isso ocorrerá. Andar uma distância maior para isolar o lixo poderá representar um alto custo para as colônias. Além disso, temos de

considerar que a alimentação de nossas colônias é composta por folhas de *Acalypha wilkesiana*. Essa folha foi relacionada com a produção de um lixo menos perigoso para as formigas (Lacerda et al., 2010).

Um aspecto importante a ser apontado, nesse sentido, é que os dados apontam que, entre as colônias em que houve escolha por um dos lados, não houve um aumento crescente no transporte de lixo em um dos lados, ou seja, já na primeira coleta que fizemos, um lado já se destacava como o mais usado e o número de transportes feitos não aumentou (indicando que a escolha por esse lado estava sendo reforçada a cada dia), mas variou de forma aleatória. A definição rápida de um lado mais usado reforça que o descarte de lixo é feito por trilhas, de maneira similar ao transporte de folhas para o ninho. Esse dado também reforça a ideia de que há algum tipo de mecanismo relacionado ao estabelecimento dessa trilha, mas não nos esclarece como ela é formada. Por um lado, podemos supor que ela seria química, o que iria de acordo com a discreta preferência pelo lado mais curto para o descarte de lixo. Sabe-se que as formigas, nas trilhas de forrageio (que são reconhecidamente químicas), sempre estão reforçando o caminho que seguem com feromônio e que, com o tempo, o caminho mais seguido será também o mais marcado. Essa marcação funciona de forma retroalimentada: uma maior marcação leva a um maior uso do caminho, e vice-versa. Quando encontramos dois caminhos de tamanhos diferentes, com o tempo, o caminho mais curto será naturalmente o mais marcado, e isso fará com que ele seja o mais usado (Aron et al., 1990). É o que observamos em cinco das nove colônias que escolheram um dos braços da ponte de descarte de lixo. Devemos reforçar que em apenas uma dessas colônias o uso do lado mais curto foi exclusivo: nas outras quatro colônias houve uso, mesmo que pequeno, do lado longo. Se houvesse uma orientação usando apenas pistas química, esse uso deveria diminuir gradativamente (devido ao reforço da informação química do lado marcado), o que não ocorreu. Além disso, também temos as quatro colônias que preferiram usar o braço mais longo para o transporte de lixo. Nessas, observamos que houve alguns transportes de lixo pelo braço mais curto, o que iria contra a possibilidade de marcação química, ou teríamos observado um crescente uso desse lado. Talvez a orientação seja, então, por meio de memorização da rota. Para testar essas duas possibilidades (química ou memória), foram elaborados outros testes, que serão apresentados nos capítulos 8, *Experimento 5 – Confirmação da existência de trilhas químicas para*

descarte de lixo (Pontes invertidas), e 10, Experimento 7 – Teste de orientação para descarte do lixo (inversão e luzes).

Não podemos nos esquecer, também, das três colônias que não tiveram uso maior de um dos lados da ponte. Por um lado, poderíamos supor que essas colônias nos apontem uma aleatoriedade na escolha do caminho para descarte de lixo. Acreditamos que, com o passar dos dias, essa aleatoriedade acabaria diminuindo e observaríamos o mesmo processo de escolha que vimos para as outras nove colônias, mesmo que de forma mais lenta. Novas réplicas desse experimento teriam de ser feitas para que pudéssemos confirmar essa hipótese.

Conforme prevíamos, o fluxo, em geral, foi equivalente entre os dois braços da ponte e, quando não, foi maior no braço em que houve descarte de lixo. Essa informação nos sugere que a escolha do caminho para o descarte do lixo foi independente da atividade das formigas naquele braço, ou pode ter sido impulsionada por ela. No que diz respeito ao segundo ponto, podemos levar em conta a questão da segurança: sabemos que, durante o forrageamento, algumas formigas saem junto das forrageadoras para defendê-las de possíveis ataques (Keller & Gordon, 2009). Trilhas movimentadas poderiam estar associadas a caminhos mais seguros para a realização de descarte, o que também implicaria em um menor custo para a tarefa. Obviamente, também haveria o risco de contaminação com o lixo de formigas não lixeiras. Nesse sentido, não podemos ignorar se o tamanho da trilha era grande o suficiente para que as lixeiras pudessem transportar lixo sem encontrar com formigas de outras castas. O baixo número de transportes de lixo em direção ao ninho nos mostra o quanto a trilha parece ter sido formada de forma unilateral, o que faz sentido, uma vez que ela será usada para retirar o lixo do ninho. Levar o lixo de volta para o ninho seria um contrassenso. Um número maior de casos seria necessário para esclarecer melhor a ocorrência desses transportes.

8 EXPERIMENTO 5 – CONFIRMAÇÃO DA EXISTÊNCIA DE TRILHAS QUÍMICAS PARA DESCARTE DE LIXO (PONTES INVERTIDAS)

8.1 Pressupostos teóricos e objetivos

Embora tenhamos diversas pesquisas sobre o uso de trilhas em formigas e/ou como elas fazem para se orientar em atividade de forrageamento (ex.: Czaczkes, Grüter, Jones & Ratnieks (2012); Ribeiro et al. (2009); Robinson, Green, Jenner, Holcombe & Ratnieks (2008)), há poucos estudos que abordam essa temática para o descarte de lixo: o único encontrado até o presente momento foi o trabalho de Luchesi et al. (2017), desenvolvido por pesquisadores do nosso laboratório.

Este estudo é uma continuação do experimento 4 (pontes de tamanhos diferentes) e é equivalente à segunda parte do estudo-piloto apresentado no anexo III, *Dados extras do experimento 1 (Exposição ao lixo)*. Nele, iremos aprofundar os estudos realizados sobre as trilhas de lixo, que nos indicaram a possibilidade de que, para o descarte de lixo, talvez haja a existência de trilhas químicas que orientem as formigas. Para isso, iremos inverter as trilhas usadas no experimento anterior e verificar se as formigas continuam seguindo na direção que seguiam anteriormente (ou seja, seguem a rota memorizada) ou se irão seguir pelo mesmo braço da ponte que seguiam antes, mas que agora está invertido (ou seja, seguem algum tipo de pista química).

8.2 Hipóteses

Nossas hipóteses para este experimento são:

- As formigas continuarão a usar o braço que usavam para o transporte do lixo, apesar das manipulações experimentais feitas;
- O fluxo entre os diferentes braços unindo o ninho a uma bandeja será equivalente;
- O procedimento não afetará o transporte de lixo para a bandeja de ninho, se compararmos o resultado do experimento 4 com o do experimento 5.

8.3 Metodologia

12 colônias do nosso laboratório participarem desse procedimento – as mesmas que participaram do experimento 4 (pontes de tamanhos diferentes).

8.3.1 Procedimento

Este experimento ocorreu uma semana após o início do experimento 4 (pontes de tamanhos diferentes) e após a coleta de dados do dia em questão. Usando luvas de látex, para evitar contaminação, retiramos a ponte de descarte do ninho, removemos as possíveis formigas que estavam nela (que foram devolvidas para a subcolônia participante do experimento) e cortamos, com uma tesoura, o braço mais longo, fazendo com que ele passasse a ter o mesmo comprimento do braço curto. Toda estrutura foi virada em 180°, sendo que os braços da ponte (que não eram fixos) foram girados para que continuassem com seus pés na bandeja de lixo. Dessa forma, garantimos a ponte de descarte, embora estando em posição contrária à anteriormente seguida. A posição das bandejas não foi alterada. Uma vez invertidos os lados da ponte, ela foi devolvida para a mesma posição em que se encontrava antes. O procedimento de inversão durou menos de 5 minutos. Não houve alteração na ponte de forrageamento. A figura 23 apresenta o desenho esquemático da estrutura montada:

Figura 23 – Esquema da montagem do experimento 5

Fonte: Janiele Pereira da Silva

8.3.2 Análise

A análise feita foi a mesma do procedimento anterior, a saber: uma observação de 10 minutos por dia (seis vezes por semana), sendo observados:

- Fluxo de formigas durante um minuto em cada um dos braços da ponte de descarte de lixo (independente da direção seguida pelas formigas ou de elas estarem ou não carregadas);
- Número de transportes de lixo levados em direção ao ninho em cada um dos lados (apenas na ponte de descarte);
- Número de transportes de lixo levados em direção à bandeja de descarte em cada um dos lados (apenas na ponte de descarte).

Esses dados foram comparados, em relação ao tamanho do braço da ponte usado (curto ou longo) no experimento 4 (Pontes de tamanhos diferentes). Os dados

do procedimento anterior foram usados como controle para a análise do presente experimento.

Da mesma forma que ocorreu no experimento 4, faremos duas análises para o transporte de lixo. Primeiramente, faremos uma análise descritiva, avaliando, coleta a coleta, qual dos braços da ponte teve mais transporte de lixo, e verificando se houve preferência por um deles ou não, ao serem usados ao longo dos dias. Para a segunda análise, usamos os dados brutos de transporte em cada coleta, e aplicamos o teste de Wilcoxon pareado para comparar o transporte entre os lados Longo e Curto. A mesma análise foi feita para o fluxo entre os braços da ponte. O teste T de Student será aplicado também para compararmos os dados de transporte de lixo em direção ao ninho dos experimentos 4 e 5.

Todas as análises foram feitas colônia a colônia, para evitarmos que oscilações individuais das colônias sejam camufladas pelo resultado unificado de todas.

8.4 Resultados

No dia seguinte, após o procedimento de inversão, todas as colônias já tinham retomado o uso da ponte para o descarte de lixo, o que indica que o procedimento em si não afetou a atividade de descarte. A Figura 24 apresenta os resultados desse descarte em conjunto com o resultado do experimento 4 (Pontes de tamanho diferente), para comparação. Dividimos a apresentação dos resultados considerando o lado escolhido no experimento 4, para facilitar a visualização dos resultados aqui expostos. O nome do braço usado no gráfico indica qual era o braço original (antes do corte do braço longo). O dia marcado com um asterisco refere-se à primeira contagem após a inversão.

Figura 24 – Número de transporte de lixo (em 10 minutos) e fluxo de formigas (em um minuto) por braço da ponte – Colônias que usaram o braço curto

Figura 24 – Número de transporte de lixo (em 10 minutos) e fluxo de formigas (em um minuto) por braço da ponte – Colônias que usaram o braço curto

Figura 24 – Número de transporte de lixo (em 10 minutos) e fluxo de formigas (em um minuto) por braço da ponte – Colônias que usaram o braço curto

Figura 24 – Número de transporte de lixo (em 10 minutos) e fluxo de formigas (em um minuto) por braço da ponte – Colônias que usaram o braço curto

Figura 24 – Número de transporte de lixo (em 10 minutos) e fluxo de formigas (em um minuto) por braço da ponte – Colônias que usaram o braço curto

Figura 24 – Número de transporte de lixo (em 10 minutos) e fluxo de formigas (em um minuto) por braço da ponte – Colônias que usaram o braço curto

Figura 24 – Número de transporte de lixo (em 10 minutos) e fluxo de formigas (em um minuto) por braço da ponte – Colônias que usaram o braço curto

Fonte: a autora

O primeiro ponto que queremos destacar nos resultados está relacionado ao impacto da inversão no comportamento de descarte das colônias. Das quatro colônias que se destacaram no experimento 4 como “usando exclusivamente ou quase exclusivamente um dos braços da ponte” (independente de qual braço), duas (B4 e C5) passaram a usar ambos os lados, ainda que um dos lados tenha tido maior número de transportes. Chama a atenção que as duas colônias continuaram transportando o lixo na mesma direção que antes, mas que agora possui um braço diferente do que usavam. As colônias C7 e C8, por sua vez, mantiveram o padrão de exclusividade, sendo que a primeira continuou transportando o lixo na mesma direção que antes (mas que agora possui um braço diferente da que ela usava antes), enquanto a segunda continuou usando o braço que usava anteriormente, mesmo que agora ele esteja em uma nova posição. Já a colônia B7 passou a usar apenas um dos lados da ponte para o transporte de lixo – o que não ocorria no experimento 4 (quando o lado preferencial não era exclusivo).

Entre as colônias que antes usavam o braço curto da ponte para o transporte de lixo (a saber: B4, B5, B9, B17 e C8), duas delas, B9 e C8, continuaram usando o mesmo braço, agora em outra posição. As colônias B4, B5 e B17 continuaram seguindo com o lixo na mesma direção que antes, mas que agora continha outro braço da ponte, sendo que a B17 deixou de usar um dos lados de forma mais marcante (embora com o uso ligeiramente maior do braço que anteriormente era curto) e a B5 deixou gradualmente de usar a ponte para transporte de lixo, passando a depositá-lo na bandeja de ninho.

Já entre as colônias que antes usavam o braço longo para o transporte de lixo (B7, B10, C5 e C7), todas passaram, com exceção da B10, a usar o braço que antes era o curto para levar o lixo para fora da bandeja de ninho. A B10, por sua vez, deixou de ter um lado preferencial, embora houvesse uma tendência a usar o lado que antes era longo.

Quanto as colônias que anteriormente não tinham um lado preferido podemos observar que as colônias B2, C4 e C9 passaram a usar um dos lados da ponte de forma preferencial após o início do experimento 5, o que pode ser tomado, isoladamente, como a determinação da trilha.

Também foram realizados testes estatísticos com os dados do experimento 5. A Tabela 12 mostra o resultado dos testes estatísticos:

Tabela 12 – Resultado dos testes estatísticos do experimento 5 (pontes invertidas)

Colônia	Transportes de lixo			Fluxo de formigas		
	P	Média Curto	Média Longo	P	Média Curto	Média Longo
B2	0,50	3,67±3,14	2,17±2,64	0,92	15,50±14,27	16,50±16,39
B4	0,04	3,50±3,67	6,67±4,03	0,11	20,83±13,76	27,83±23,08
B5	0,41	0,80±1,10	1,80±2,49	0,79	36,80±34,70	33,60±24,94
B7	0,02	6,71±2,56	0,14±0,39	0,02	15,29±8,67	6,57±6,02
B9	0,41	6,00±5,34	4,60±4,39	0,89	73,80±34,34	71±36,41
B10	0,71	1,20±1,30	1,20±0,34	0,35	8,60±4,34	10,80±8,53
B17	1,00	6,17±5,88	5,83±4,58	0,17	23,67±15,36	29,83±2,76
C4	0,92	3,37±3,27	3,50±5,17	0,92	16,17±18,04	16,00±15,23
C5	0,04	3,67±1,97	1,67±0,82	0,05	18,33±12,66	31,50±21,86
C7	0,07	6,00±4,69	0,60±0,89	0,18	16,60±6,66	10,40±0,89
C8	0,04	8,67±3,20	1,67±1,86	0,08	24,67±17,51	17,17±14,61
C9	0,03	6,83±4,07	0,17±0,41	0,04	12,67±8,59	6,33±6,06

Fonte: a autora

Embora os testes estatísticos confirmem os dados das frequências descritivas que apresentamos, um aspecto importante a ser notado é que o número de colônias em que essa confirmação ocorre é menor: para o transporte de lixo, pudemos observar uma diferença significativa entre os braços para as colônias B4 ($n=6$; $Z=-2,02$; $p=0,04$; média braço curto: $3,50\pm3,67$ transportes; média braço longo: $6,67\pm4,03$ transportes), B7 ($n=7$; $Z=-2,38$; $p=0,02$; média braço curto: $6,71\pm2,56$ transportes; média braço longo: $0,14\pm0,39$ transportes), C5 ($n=6$; $Z=-2,04$; $p=0,04$; média braço curto: $3,67\pm1,97$ transportes; média braço longo: $1,67\pm0,82$ transportes) e C8 ($n=6$; $Z=-2,03$; $p=0,04$; média braço curto: $8,67\pm3,20$ transportes; média braço longo: $1,67\pm1,86$ transportes), e marginalmente significativa na colônia C7 ($n=5$, $Z=-1,84$, $p=0,07$; média braço curto: $6,00\pm4,69$; média braço longo: $0,60\pm0,89$). Chama a atenção que essas colônias, com exceção da C8, continuaram transportando o lixo na direção que transportavam antes, embora haja ali o outro braço da ponte.

Em 3 das 12 colônias estudadas houve diferença significativa no fluxo de formigas entre os braços. São elas: B7 ($n=7$, $Z=-2,37$, $p=0,02$; média braço curto: $15,29 \pm 8,67$ formigas; média braço longo: $6,57 \pm 6,02$ formigas), C5 ($n=6$, $Z=-1,99$, $p=0,05$; média braço curto: $18,33 \pm 12,66$ formigas; média braço longo: $31,50 \pm 21,86$ formigas), e C9 ($n=6$, $Z=-2,03$, $p=0,04$; média braço curto: $12,67 \pm 8,59$ formigas; média braço longo: $6,33 \pm 6,06$ formigas). Uma colônia teve diferença marginalmente significativa no fluxo entre os braços: C8 ($n=6$, $Z=-1,78$, $p=0,08$; média braço curto: $24,67 \pm 17,51$ formigas; média braço longo: $17,17 \pm 14,61$ formigas). Em todos os casos, o braço da ponte usado com maior fluxo é também o que foi mais usado para transporte de lixo.

A Figura 25 apresenta os dados do transporte de lixo em direção ao ninho para o presente experimento:

Figura 25 – Dados sobre transportes em direção ao ninho

Fonte: a autora

Podemos observar que as colônias, excetuando da C7, apresentaram transporte de lixo em direção ao ninho. Chama a atenção, nesse sentido, o pequeno aumento no número deles (em relação ao experimento 4 (Pontes de tamanhos diferentes)), embora sua quantidade ainda seja pequena, se comparada ao número de transportes feitos para a bandeja de ninho. Assim, o número de transportes no

braço curto aumentou significativamente para o segundo experimento ($t(83,84) = 2,81$, $p < 0,01$; média no experimento 4: $0,15 \pm 0,43$ transportes; média no experimento 5: $0,58 \pm 1,21$ transportes). Porém, isso aconteceu apenas no braço que anteriormente era curto.

8.5 Discussão

A presente pesquisa tinha como proposta inicial tentar elucidar a forma com a qual as formigas se orientam na tarefa de descarte de lixo, um assunto até então pouco estudado. Tendo em vista os resultados do experimento 4 (Pontes de tamanhos diferentes), já apresentados, levantamos a possibilidade de essa orientação ser ou por meio de trilhas químicas, como ocorre com o forrageamento, ou por meio da memorização da rota. Nossa hipótese, a princípio, era de que as trilhas químicas seriam as usadas, conforme é indicado por outras pesquisas sobre forrageamento com cortadeiras (VILELA, JAFFÉ & HOWSE, 1987). O resultado desta pesquisa, porém, não nos permite afirmar que a trilha química é a mais usada: caso isso ocorresse, teríamos observado que as diferentes colônias continuariam usando o braço que usavam para o descarte de lixo no experimento 4, mas isso, de fato, não ocorreu. Na verdade, apenas duas colônias continuaram usando o mesmo braço que usavam antes para transportar o lixo, sendo que ambas usavam, originalmente, o braço curto da ponte para o transporte do lixo. Esse é um ponto interessante, pois, conforme vimos, pesquisas que apresentam caminhos de tamanhos diferentes para avaliar a orientação em formigas mostram que o fato de elas terem tomado o caminho mais curto é um indício do uso de marcação química para orientação (Aron et al., 1990). O fato de usarem primeiramente o braço mais curto para descarte de lixo e, após ele ser mudado de lugar, continuarem usando-o, parece um claro indício de que essas formigas seguiriam, sim, pistas químicas para se orientar. Mas como explicaríamos, então, o resultado das outras sete colônias que tinham escolhido, no experimento 4, um lado preferencial e que ou passaram a usar o lado que não era o preferencial (mas que agora ocupa o lugar onde ele estava antes) ou deixaram de usar preferencialmente algum dos braços?

Não podemos descartar que haja efeito da memória nos resultados encontrados. Isso explicaria por que, entre as colônias que a princípio usavam mais o braço longo, nenhuma delas tenha continuado a usar o braço que usava antes do

procedimento de inversão – essas colônias possivelmente estavam se orientando, antes, usando uma rota memorizada (o que explicaria o motivo de estarem tomando o caminho mais longo, e não o mais curto, para chegar à bandeja de lixo), e após mudarmos os braços das pontes de lugar, continuaram usando a informação internalizada para se guiar. Isso também explica por que os dados estatísticos, quando aplicados, confirmam a análise descritiva (usando apenas os dados de frequência) apenas para essas colônias: elas, de fato, não foram afetadas pelo procedimento de inversão, uma vez que não usavam pistas químicas (que foram as únicas modificadas) para se orientar. Czaczkes et al. (2011), nesse sentido, apontam a importância da memória na orientação de formigas da espécie *Lasius niger* durante o forrageamento e que, após algumas viagens, as operárias passam a se guiar mais usando a rota memorizada que, de fato, as trilhas químicas existentes. Os autores, porém, afirmam a importância da trilha química na orientação, e que, caso haja conflito de informação entre a referência química e memorizada, será seguida a informação memorizada. Esse ponto talvez explique o motivo de algumas das colônias que continuaram seguindo na direção que seguiam antes (mas que agora tinha um novo braço) não terem seus dados comprovados pelas análises estatísticas (indicando que, apesar de terem usado, em uma comparação simples, mais um lado que o outro, não houve diferença significativa no uso desses braços): operárias que eventualmente não tenham memorizado o caminho de descarte do lixo guiaram-se por uma possível trilha química, que agora indica um caminho diferente do seguido por aquelas operárias que se orientam pela trilha memorizada.

Outro ponto relevante para destacarmos é o comportamento das colônias que não tinham selecionado um braço preferencial no experimento 4. De maneira mais forte ou mais fraca, as três passaram a ter um lado preferencial após alguns dias. Uma delas chegou até mesmo a usar mais esse lado, gradativamente, o que reforça a possibilidade de sua escolha ter se dado também por um reforço gradual na trilha química. Essa é uma informação interessante, particularmente se considerarmos que, no experimento 5, os dois braços da ponte levariam ao mesmo local, com o mesmo custo, já que ambos tinham o mesmo tamanho; como essas já eram colônias que vinham de um comportamento de não escolha no experimento anterior, esse comportamento poderia ter se mantido, já que ambos os caminhos agora possuem o mesmo comprimento. Uma orientação química, reforçando um dos caminhos, parece ser uma explicação viável para como isso pode ter ocorrido.

Assim, é de se esperar que as colônias usaram tanto pistas químicas quanto memória para se orientar. Qual a origem da informação memorizada, porém, não foi um aspecto avaliado: as formigas poderiam estar seguindo pistas visuais (RIBEIRO et al., 2009) ou algum outro tipo de orientação. O capítulo 10, *Experimento 7 – Teste de orientação para descarte do lixo (inversão e luzes)*, tentará esclarecer esse ponto em particular.

Um último ponto que queremos abordar é sobre o fluxo. Novamente, ele se manteve estável entre os braços, com exceção de algumas colônias e, mais uma vez, quando isso ocorreu, o braço com maior fluxo era também o mais usado para o transporte de lixo. Esse dado pode reforçar nossa explicação anterior, de que esse fluxo maior estaria relacionado com uma trilha mais segura para descarte (ver capítulo 7 e Keller & Gordon (2009)). Acreditamos que esse seja um tema interessante para estudos futuros.

9 EXPERIMENTO 6 – ISOLAMENTO DE LIXO USANDO ESTRATÉGIAS EFICAZES OU INEFICAZES (T EXTERNO E T INTERNO)

9.1 Pressupostos teóricos e objetivo

Cada espécie de formiga possui um local de descarte de lixo preferencial, de acordo com a sua origem evolutiva, o local onde se encontra atualmente, as condições climáticas da região, entre outros fatores (Farji-Brener et al., 2016).

Em seu ambiente natural, as formigas da espécie *Atta sexdens* depositam seu lixo dentro de painéis conectados às painéis de fungo do seu próprio ninho (Farji-Brener et al., 2016; Hölldobler & Wilson, 1990). Isso faz com que as operárias que executam o manejo do lixo tenham contato com o monte de detritos, do qual cuidam para evitar que seja fonte de patógenos que poderiam colocar em risco a colônia (Ribeiro & Navas, 2007).

Nossa experiência no laboratório, particularmente montando o experimento 3 (Pontes), mostrou-nos que as formigas muitas vezes usam recursos disponíveis no ninho para isolar o lixo sem necessariamente levá-lo até o monte de detritos, como por exemplo, usar uma ponte para atirar o lixo para fora da bandeja de ninho. Isso está de acordo com o que foi descrito por Ballari et al. (2007), que observaram que as formigas *Acromyrmex lobicornis* muitas vezes jogavam o lixo para o monte de detritos em vez de levá-lo até lá, o que diminuiria os custos no descarte (tanto no que diz respeito ao deslocamento quanto ao tempo de exposição ao lixo). Tanto no experimento 3 (Pontes) quanto no artigo apresentado, as operárias teriam a possibilidade de contato com o monte de lixo no qual estão jogando o detrito.

O que ocorreria, porém, se oferecêssemos à colônia uma maneira de isolar de forma eficaz o lixo, sem que houvesse a possibilidade de contato direto com o monte de detritos? Haveria a tentativa de uso desse elemento, com consequente percepção da eficácia dele para isolar o lixo e aumento gradual do uso? Ou a colônia optaria por manter o lixo em um local muito próximo àquele em que se encontra o pote de fungo, respeitando sua natureza de armazenar o lixo em um local previamente conhecido (como seria o caso de uma panela dentro do formigueiro)? E o que ocorreria se esse elemento que permitiria isolar o lixo fosse ineficaz, não permitindo que o lixo fosse, de fato, isolado da colônia? Ele nunca será usado ou será usado inicialmente e, depois, será abandonado?

Faremos isso oferecendo às colônias um T de madeira que poderá tanto estar totalmente dentro da bandeja da colônia (T interno – estratégia ineficaz de isolamento do lixo) quanto ter um de seus lados para fora da bandeja, podendo ser usado para arremessar o lixo para fora (T externo – estratégia eficaz de isolamento do lixo).

9.2 Hipóteses

Para esse experimento, nossas hipóteses são:

- Nos dois tipos de T oferecidos, haverá o seu uso para transporte e arremesso de lixo; ao longo dos dias, porém, notaremos diferenciação do comportamento das colônias diante dos Ts. Chamaremos o ato de jogar lixo pelo T de “arremesso”, pois houve um aparente esforço das formigas para executar esse comportamento (no sentido de se posicionarem no local ideal e fazerem os movimentos necessários para que o lixo desgrudasse de sua mandíbula sem que se desequilibrassem e caíssem do T);
- Quando o T representar uma estratégia eficaz de isolamento:
 - A princípio, haverá o uso dos dois lados de forma semelhante, mas logo será observado que o lado externo terá um uso maior;
 - Uma vez estabelecida a predominância do uso do lado externo, ela se manterá com o passar das semanas;
 - A quantidade de lixo arremessado será constante ao longo dos dias de observação, uma vez que tenha sido estabelecido o uso eficaz do T (ou seja, arremesso pelo lado externo);
 - Não haverá acúmulo de lixo dentro da bandeja, uma vez que o lado externo tenha se tornado predominante.
- Quando o T representar uma estratégia ineficaz de isolamento:
 - A princípio, haverá o uso dos dois lados de forma semelhante, mas logo será observada a predominância de um dos lados;
 - Essa predominância não se manterá, já que o uso do T não será efetivo;
 - O T deixará de ser usado após um tempo, por não ser efetivo.

9.3 Metodologia

21 colônias diferentes participaram deste procedimento. Dessas, três (B6, B9 e B14) foram descartadas por terem ficado doentes durante o procedimento de T externo, uma (B3) por ter adoecido no meio do procedimento de T interno, e três (B1, B15, B16) foram descartadas por terem morrido ou adoecido após terem participado de um, mas antes de participarem de outro (T externo ou T interno). Os dados dessas colônias serão apresentados no anexo V, *Resultado das colônias descartadas no T externo e no T interno*. No final, o experimento contou com 14 colônias. Dessas, oito começaram o procedimento pelo T externo e seis pelo T interno.

9.3.1 Procedimento – T externo

Primeiramente, foram criadas subcolônias que foram transferidas para uma bandeja de 54x33x19 cm, cada uma delas com aproximadamente 4 litros de fungo. Optamos por colocar as colônias em uma nova bandeja a fim de eliminar a influência do estímulo de lixo já existente na colônia. No momento em que a transferência foi feita, já existia na nova bandeja um T de madeira com 20 cm de altura e 40 cm de comprimento. A base dele ficava em seu centro, ou seja, a distância da base do T para suas pontas era a mesma. Um de seus lados apontava para dentro da colônia, enquanto o outro apontava para fora. Havia um recipiente para coletar o lixo jogado para fora da bandeja, que ficava a 1 metro, pelo menos, abaixo do nível da colônia, na tentativa de evitar que houvesse pistas olfativas do local em que o lixo se encontrava. Para metade das colônias, o lado externo do T ficava voltado para a janela existente no laboratório; para a outra metade, ficava para a parede.

A Figura 2626 representa de forma esquemática a montagem desse procedimento:

Figura 26 – Representação esquemática do experimento 6 (T externo).

Fonte: Prof. Dr. Paulo Sergio Panse Silveira

9.3.2 Procedimento – T interno

O procedimento de T interno foi similar ao descrito para o T externo, porém, neste caso, ambos os lados do T apontavam para dentro da colônia, de tal forma que o lixo descartado usando essa ponte caísse dentro da bandeja, independente do lado escolhido para descarte. Para metade das colônias, o T ficava paralelo à janela; para a outra, a 90° dela.

A Figura 2727 mostra uma representação esquemática da montagem desse procedimento:

Figura 27 – Representação esquemática do experimento 6 (T interno)

Fonte: Prof. Dr. Paulo Sergio Panse Silveira

9.3.3 Análise

As colônias ficaram montadas por um período de 4 a 5 semanas, com exceção da colônia B2, que ficou montada por 7 semanas, pois iniciou seu uso constante do T apenas no fim da segunda semana de coleta. Colônias que não iniciaram o uso do T para transporte de lixo em um período de 4 semanas foram desmontadas. Essa informação foi contabilizada. Nesses casos, o procedimento foi remontado após uma semana de descanso, pelo menos.

As colônias foram observadas diariamente por períodos de 10 minutos (cinco a seis vezes por semana), a fim de observar o comportamento das lixeiras em relação ao T e ao resto da colônia. Foram contabilizados:

- Número de dias que a colônia levou para usar o T. Consideramos que as formigas usaram o T para transporte de lixo sempre que, dentro da observação de 10 minutos, houve ao menos um transporte de lixo pelo T, mesmo que ele não tenha sido jogado da ponte para nenhum lugar;
- Número de dias que a colônia levou para usar o T para arremessos. Consideramos que houve uso do T para arremesso quando houve cinco ou mais arremessos de lixo dentro do período de observação de 10 minutos. Escolhemos esse valor como ponto de corte para o uso do T para essa tarefa, por indicar que

esse uso não seria esporádico e porque, em nossa observação, essa quantidade de arremessos, sendo feita no T externo, parecia ser suficiente para não permitir que houvesse acúmulo de lixo dentro da bandeja de ninho.

- Número de transportes de lixo pelo T que resultaram em arremessos, verificando em qual dos lados esses arremessos ocorreram. No caso do T externo, também foi computado se os arremessos foram efetivos (ou seja, realizados na extremidade externa da ponte).
- Número de transportes de lixo pelo T que não resultaram em arremessos (sendo ou deixados no próprio T, ou transportados de volta para a bandeja), sendo diferenciado qual foi o lado pelo qual a formiga lixeira andou com o lixo durante o transporte.
- Se houve ou não escolha de um dos lados do T, qual foi o escolhido e se essa escolha se manteve durante todo o período experimental. Considerou-se que um dos lados tinha sido preferido em relação ao outro naquela observação sempre que seu uso representou 75% ou mais dos arremessos feitos durante a observação de 10 minutos.

Foram feitos dois tipos de análise: primeiramente, analisamos o número de vezes em que a colônia participou do procedimento (caso não tenha participado apenas uma, pois não usou o T para arremessar lixo), em quantas das contagens feitas o T foi usado para arremesso (ou seja, foi observado mais que 5 arremessos por ele, independente do lado usado), quando o T passou a ser usado para transporte de lixo e para arremessos, se houve um lado preferencial e qual foi ele, e as médias de arremesso de cada um dos lados. Essa análise foi feita para cada um dos procedimentos. Também foi aplicado o teste de Wilcoxon pareado para comparar o resultado de média total de arremessos, a porcentagem de contagens com arremessos que não teve escolha e o dia em que ocorreu o primeiro uso do T para transporte ou arremesso de lixo.

Posteriormente foram feitas análises descritivas dos dados de arremesso de lixo, também comparando os dois experimentos.

9.4 Resultados

Primeiramente, vamos apresentar os dados a respeito do lançamento a partir do T, com o número total de contagem, em que contagem observamos o início do uso do T para arremessos, os dados de lado preferencial e a média de arremessos em cada um dos lados. A Tabela 13 mostra os resultados para o T externo e a Tabela 14, para o T interno:

Tabela 13 – Número de dias para o início do uso do T externo para transporte e isolamento do lixo, e escolha preferencial

Colônia	N. réplicas	Total de contagens	Contagens com arremesso	Dia de início		Contagem – lado de preferência			Média de arremessos	
				Uso do T	Arremessos	Externo	Interno	Sem preferência	Externo	Interno
C1	1	11	10	1	3	10	0	0	18,5	0,2
C2	1	23	16	8	8	16	0	0	10,0	0,6
C3	1	21	13	9	9	2	0	11	5,7	6,5
C4	1	25	22	2	2	20	0	2	11,6	0,6
C5	2	27	24	1	2	24	0	0	18,4	0,3
C7	1	25	24	1	3	20	1	3	19,8	4,4
C8	1	25	18	1	9	17	0	1	8,2	0,2
C9	1	24	24	1	1	15	0	9	16,0	5,6
B2	2	36	23	6	6	23	0	0	10,3	0,1
B4	1	24	22	1	4	21	0	1	12,0	0,7
B5	2	24	23	1	1	21	0	2	10,9	1,0
B7	1	26	19	6	6	18	1	0	9,1	0,8
B10	2	25	23	3	3	21	1	1	9,2	0,8
B17	1	25	25	2	2	23	0	2	13,2	1,2

Fonte: a autora

Tabela 14 – Número de dias para o início do uso do T interno para transporte e isolamento do lixo, e escolha preferencial

	N. réplicas	Total contagens	Contagens com arremesso	Dia de início		Contagem – lado de preferência			Média arremessos	
				Uso do T	Arremesso	Direita	Esquerda	Sem preferência	Direita	Esquerda
C1	1	20	19	2	2	19	0	0	100,9	1,4
C2	1	20	11	8	15	11	0	0	7,6	0,6
C3	1	20	19	2	2	0	2	17	41,3	43,5
C4	1	19	15	4	4	14	0	1	29,4	1,1
C5	1	26	20	4	11	12	0	8	40,7	11,3
C7	1	24	24	1	1	0	23	1	8,6	130,2
C8	1	18	16	1	4	5	1	10	27,5	17,5
C9	1	24	23	1	3	0	4	19	166,1	302,5
B2	1	31	27	4	5	0	13	14	5,9	21,2
B4	1	30	23	3	3	3	1	19	63,2	44,0
B5	1	24	24	1	1	0	19	5	33,2	186,8
B7	1	24	23	1	3	3	1	19	123,3	140,2
B10	1	23	22	1	1	1	10	11	14,4	36,0
B17	1	23	20	1	3	7	0	13	12,5	4,9

Fonte: a autora

Primeiramente, podemos destacar um ponto curioso a respeito dos dois procedimentos: em todas as réplicas do T interno, as colônias usaram o T para arremessar o lixo, enquanto isso não ocorreu no caso do T externo, em que observamos que quatro colônias não usaram o T em um primeiro momento, o que nos fez desmontar o experimento e iniciar um novo. Nenhuma das colônias chegou a fazer uma terceira réplica.

Para o T externo, todas as colônias, exceto a colônia 3, usaram preponderantemente o lado externo do T para isso. Em contrapartida, o lado interno do T foi pouco escolhido como lado preponderante. A menor média de arremessos no lado externo do T foi 5,7, e a maior foi 19,8. Já para o lado interno, a menor média foi 0,1 e a maior, 6,5. Em 9 das 14 colônias, o uso do T para descarte do lixo ocorreu no mesmo dia em que se observou o seu uso para transporte de lixo.

Já para o T interno, o que nos chama a atenção é o alto número de contagens e que um lado não foi usado preferencialmente. A menor média entre os arremessos é 0,6 e a maior, 302,5. Em 7 das 14 colônias, a contagem em que observamos o primeiro uso do T para transporte de lixo foi também a primeira contagem na qual foi identificado uso do T para descarte de lixo.

A Tabela 15 mostra o resultado das análises estatísticas:

Tabela 15 – Resultado dos testes estatísticos do experimento 6 (T externo e T interno)

	p	T externo	T Interno
Dia de início do uso do T para transporte de lixo	0,55	3,07±2,89	2,43±2,03
Dia de início do uso do T para arremessos	0,70	4,21±2,86	4,14±4,02
% de não escolha	0,01	13,83±22,48%	45,49±33,73%
Arremessos (total)	<0,01	13,78±4,81	113,81±127,51

Fonte: a autora

Conforme podemos ver, o dia em que os Ts começaram a ser usados tanto para transporte de lixo quanto para arremessos não variou entre os dois experimentos. Por outro lado, encontramos diferença significativa na porcentagem das coletas em que não houve escolha ($n=14$, $Z=-2,55$, $p=0,01$; T externo: 13,83±22,48%; T Interno:

45,49±33,73%) e média de arremessos (total) (n=14, Z=-3,23, p<0,01; T externo: 13,78±4,81 arremessos; T interno: 113,81±127,51 arremessos). Nos dois casos, o valor maior está relacionado ao T interno, confirmando que, de fato, o número de contagens em que não houve a escolha por um dos lados foi maior para esse procedimento, e o número de arremessos nele foi maior que no T externo.

A Figura 2828 mostra a distribuição dos arremessos ao longo dos dias de coleta de forma detalhada:

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Figura 28 – Resultados de arremessos – experimento 6 (T externo e T interno), por dia de coleta

Fonte: a autora

Um primeiro aspecto que chama a atenção quando observamos os resultados apresentados nos gráficos é como eles se distribuem entre os dois procedimentos: por um lado, temos os resultados do T externo, que parecem consistentes entre si (i. e., com predominância do uso do lado externo para arremesso do lixo ao longo das coletas, e baixo ou nenhum uso do lado interno), tendo como exceção apenas a colônia C3, que se destacou pelo não uso do lado externo do T; por outro lado, temos os resultados do T interno, que não mostram a mesma consistência: 5 das 14 colônias apresentaram preferência (usando o critério dos 75% de arremessos) por um dos lados, e as demais, mesmo quando não apresentavam, aparentavam ter um lado mais usado (se não usássemos esse critério), embora com uso acentuado do lado oposto do T.

Outro ponto de destaque é a oscilação no número de arremessos: ela existe em ambos os estudos, mas sua amplitude é pequena no T externo e, em alguns casos, já vemos um número de arremessos próximo à média já nos primeiros dias de coleta. Por outro lado, essa amplitude é maior no T interno, que também possui uma média maior de arremessos (total e por lado), provável consequência inevitável do acúmulo de lixo dentro da bandeja. Nesse sentido, vale voltar a uma de nossas hipóteses de trabalho, que dizia que o uso do T interno iria diminuir após a percepção de sua ineficácia para o isolamento do lixo. Isso não ocorreu, mas, ao contrário, observamos um uso cada vez maior.

Finalmente, podemos destacar a mudança ou a constância do uso do lado preferencial: no caso do T externo, houve casos (ex.: colônia B7) em que o lado externo do T não foi o lado preferido nas primeiras tomadas, mas, uma vez que esse tenha se apresentado como tal, essa preferência tendeu a se manter nas demais coletas. Por outro lado, houve casos (ex.: colônia B4) em que a preferência não se consolidou e os lados mais usados ficavam alternando entre si.

9.5 Discussão

Um aspecto comum entre os trabalhos que discutem o gerenciamento de detritos em formiga são as diferentes estratégias usadas para diminuir os potenciais riscos deles para o ninho.

Observamos, no presente experimento, que as formigas usaram os Ts (tanto interno quanto externo) para gerenciar o lixo que produzem e que o tempo para que

esse uso se dê é semelhante para ambos os procedimentos. Não é claro o mecanismo que faz com que elas iniciem esse uso. Imaginamos que possa estar relacionado ao fato de elas estarem em um ambiente totalmente novo para elas, o que as faria explorar naturalmente todo o espaço, incluindo o T. Por sua diferença de altura, ele pode ser tomado como um possível local para isolamento do lixo, o que faria com que as formigas carregadas com lixo passassem a explorá-lo. Algumas dessas formigas poderiam, por acaso, arremessar o lixo dos Ts, de forma semelhante ao que foi observado em algumas colônias no experimento 3 (pontes) e na literatura (Ballari et al., 2007), e, notando uma vantagem para isso, passariam a intensificar o seu uso. Acreditamos que o processo poderia ser regulado pelo mecanismo de auto-organização, em que se observa comportamentos complexos a um nível de colônia que está emergindo dos comportamentos simples dos indivíduos (Bonabeau et al., 1997). Nossa pesquisa, porém, não nos permite confirmar a nossa hipótese. Para isso, talvez fosse necessário observar as colônias em período integral, avaliando todos os transportes de lixo dos potes que contêm o jardim de fungo até o seu destino final (independente de qual seja), até que o comportamento de arremesso de lixo fosse estabelecido. Essa observação nos permitiria ver se mesmo entre as colônias que no primeiro dia já estavam usando o lado externo do T para arremesso, esse foi o lado preponderante ou se houve algum lado anteriormente escolhido, bem como saber, caso tenha havido transportes de lixo não direcionados ao lado externo, o que ocorreu com eles. Nesse sentido, precisamos nos lembrar da nossa primeira hipótese, que afirmava que nos primeiros dias o uso dos Ts para arremessos seria semelhante, e que não haveria um lado destacadamente predominante, como vimos no T externo. Acreditamos que, talvez, esse uso aleatório do T fosse visto por um período muito menor que um dia, e, então, essa observação em período integral seria a única que nos permitiria comprovar ou descartar nossa hipótese.

Mas qual seria a vantagem do uso do T para cada um dos procedimentos? No caso do T externo, muito provavelmente seria o isolamento efetivo do lixo, desde que fosse usado o lado correto para o arremesso do lixo, como nossos resultados indicam que ocorreu. Vimos na literatura que o isolamento do lixo é uma estratégia de imunidade social muito usada (Farji-Brener et al., 2016; Masri & Cremer, 2014; Medina et al., 2014). Essa percepção talvez tenha se dado graças ao fato de o lixo não se acumular na bandeja de ninho, como ocorreu no T interno, o que teria feito com que o lado externo fosse mantido ao longo dos dias de uso (conforme esperávamos). É,

porém, importante lembrarmos de um dado a respeito do T externo: esse foi o único procedimento em que tivemos colônias que não usaram o T para arremesso de lixo. Talvez esse aspecto estivesse relacionado com o fato de as formigas não terem acesso ao local onde o lixo cairia, mas nem sempre encontrávamos indícios de que teria havido arremessos de lixo nos períodos em que não estávamos fazendo observação, o que nos faz duvidar de tal hipótese. Parece-nos mais provável que alguma outra explicação seja mais pertinente, e seria interessante que novas pesquisas tentassem esclarecer isso.

As vantagens para o T interno, por sua vez, são mais nebulosas, já que o uso desse aparato não leva ao isolamento efetivo do lixo. O que faria, então, que seu uso fosse não apenas feito, mas intensificado ao longo dos dias, ao contrário do que nossas hipóteses indicavam? Duas possibilidades podem ser levantadas. A primeira é que, de fato, não haja uma vantagem e apenas não tenhamos visto a queda no uso porque o período de observação não foi grande o bastante para que isso ocorresse. O acúmulo de lixo na bandeja pode ter contribuído para isso: o aumento na quantidade de lixo aumentaria a necessidade de gerenciamento do lixo e, conseqüentemente, levaria ao aumento no número de arremessos. Isso faria com que se tornasse mais difícil extinguir o comportamento. Obviamente, prorrogar o experimento para testar a hipótese de que, com um tempo maior, o uso do T cessaria não é uma possibilidade viável, uma vez que colocaria em risco a saúde da colônia. A segunda possibilidade, por sua vez, é que, de alguma forma, o uso do T interno possa ter contribuído, sim, no gerenciamento do lixo, ajudando a fazer com que ficasse seco, por exemplo. A literatura nos indica (por exemplo: Ribeiro & Navas (2007)) que há uma preocupação das colônias em manter o lixo seco, o que contribuiria para um menor risco de proliferação de patógenos perigosos para a colônia como um todo. Essa seria uma das muitas tarefas executadas pelas operárias que trabalham no monte de lixo, e um dos meios de se fazer isso é pela construção de túneis no monte de lixo (P. R. G. Leite & Cunha, 1985). O uso do T interno para jogar o lixo poderia contribuir de alguma forma para secá-lo. Nesse caso, não observaríamos uma redução no número de arremessos, mas uma oscilação (conforme vimos) que poderia estar relacionada, por exemplo, a fatores como a umidade do lixo ou do ar. Sugerimos que pesquisas futuras avaliem essa possibilidade do uso do T.

Independente do motivo pelo qual o uso do T interno se manteve, o fato de ele não ser um meio de isolamento do lixo possivelmente explica por que não há

necessariamente um lado preferencial para arremessos: poderia estar havendo uma tentativa de isolamento usando o outro lado do T, ou o lado poderia ser irrelevante, já que a função do T seria, na prática, apenas o manejo do lixo para diminuir seu perigo potencial.

Um ponto não investigado é o recrutamento de lixeiras no T interno. O aumento na quantidade de lixo pode ter alterado o limiar de resposta para exercer essa tarefa, fazendo com que operárias que normalmente não trabalhariam nessa função passassem a exercê-la. Esse é um fenômeno descrito na literatura, inclusive no recrutamento de lixeiras da espécie *Atta sexdens* (Lacerda et al., 2013; Theraulaz et al., 1998). Sugerimos que estudos futuros avaliem este aspecto: quem são essas operárias que são chamadas para lidar com o lixo? O que ocorre com elas quando a necessidade de lixeiras volta aos padrões normais? Essas são perguntas interessantes, já que a literatura indica tanto que forrageadoras e jardineiras, em geral, não são vistas exercendo funções no lixo e, quando o são, não voltam a exercer suas funções originais (Hart & Ratnieks, 2002; Waddington & Hughes, 2010), quanto dá pistas de que essa fidelidade poderia não ser tão fixa assim (Lacerda, 2008; Lacerda et al., 2013).

10 EXPERIMENTO 7 – TESTE DE ORIENTAÇÃO PARA DESCARTE DO LIXO (INVERSÃO E LUZES)

10.1 Pressupostos teóricos e objetivo

Os resultados do experimento 6 (T interno e T externo) indicaram-nos que as formigas da espécie *Atta sexdens* são capazes de usar elementos adicionados ao seu ambiente para isolar lixo (no caso, uma ponte de madeira em formato de um T). Essa conclusão parece estar de acordo com a literatura, que nos aponta que as formigas, como outros insetos sociais, percebem os perigos dos detritos para a colônia e o isolam, como uma estratégia de imunidade social (Cremer et al., 2007; Meunier, 2015).

Embora a questão do isolamento de lixo esteja bem relatada na literatura, resta ainda um ponto pouco estudado: como as formigas se orientam no transporte de lixo? Há poucos estudos sobre esse assunto na literatura e o único encontrado (Luchesi et al., 2017) estava relacionado a um experimento que durava poucos dias e cuja estrutura não permitia checar se, a longo prazo, a pista seguida pelas formigas poderia ter elementos relacionados à memória, uma vez que as formigas da fase experimental só atravessavam o percurso com lixo uma única vez, sendo, depois, removidas do experimento. O assunto também foi levantado em outros estudos desta tese (ver, por exemplo, os experimentos 4 (Pontes de tamanhos diferentes) e 5 (Pontes invertidas)), que também não pareceram esclarecer de forma adequada a questão. Podemos supor, de acordo com a literatura (Czaczkes et al., 2011; Ribeiro et al., 2009; Riveros & Srygley, 2008; Robinson, Green, Jenner, Holcombe, & Ratnieks, 2008), que a orientação siga os mesmos princípios que guiam o forrageamento, ou seja, a integração de pistas químicas com a memorização de outros elementos relacionados ao caminho (como pistas visuais) e a integração de rotas (quando o animal se orienta tendo como base a distância e a direção em relação ao ponto de origem).

O presente experimento teve como objetivo avaliar como as formigas se guiam para o descarte de lixo. Foram levantadas três possibilidades:

- Pistas extrínsecas químicas (doravante chamadas apenas de “pistas químicas”), podendo ser pistas de feromônio (como ocorre no forrageamento), ou algum outro tipo de marcação química não analisada;

- Pistas extrínsecas luminosas (doravante chamadas apenas de “pistas extrínsecas”), particularmente o estímulo luminoso, que será apresentado às colônias. Esse estímulo foi posicionado de forma a permitir que as formigas seguissem em sua direção ou em direção contrária, o que é considerado uma direção absoluta, pois não depende do ponto de vista do indivíduo que está se deslocando;
- Pistas intrínsecas: todas as pistas que as operárias poderiam usar para se orientar de forma relativa, ou seja, tendo a si ou a posição e a distância do ninho como referência central. A natureza dessa pista não será definida neste trabalho, mas poderia ser de diferentes aspectos, como a posição do ninho, alguma referência no ambiente (uma pedra, um desnível, por exemplo) ou integração de rotas (guiar-se por meio de magnetismo ou propriocepção da localização), como observado em outras espécies (Riveros et al., 2014; Riveros & Srygley, 2008).

Esse experimento é dividido em duas partes: a primeira (que chamaremos de “inversão”) tentou aprofundar a possibilidade de a orientação se dar por pistas químicas. A segunda (que chamaremos “luzes”) testará a possibilidade de as formigas, além da pista química, também usarem pistas extrínsecas e intrínsecas. Os dois experimentos usaram pontes de madeira em formato de T com uma de suas extremidades voltadas para fora da bandeja. Essas pontes poderiam ser usadas para isolar o lixo (conforme vimos no experimento 6, T externo). Uma vez que as colônias estivessem fazendo isso, modificaríamos o ambiente (girando o T a 180°, movendo-o de posição ou mudando as pistas luminosas) para verificar de que forma as colônias se orientariam no descarte de lixo.

10.2 Hipóteses

No presente experimento, as seguintes hipóteses foram levantadas:

- As formigas usarão o T para isolar o lixo;
- Após a mudança ambiental, as formigas continuarão usando o T para jogar o lixo;

- Caso a pista a ser usada seja a química, veremos (após a mudança ambiental) que as formigas continuarão jogando o lixo pela mesma ponta do T que usavam, respeitando, assim, a indicação da pista química original. Isso ocorrerá mesmo que esse lado esteja voltado para outra direção e esse comportamento não surta o mesmo efeito de antes;
- Caso a pista usada seja a extrínseca (no nosso caso, a pista luminosa apresentada na frente da bandeja de ninho), as formigas irão se orientar, após a modificação do ambiente, por meio da pista luminosa que usavam antes para se orientar na tarefa de descartar o lixo;
- Caso sejam usadas pistas intrínsecas, as formigas, quando chegarem ao topo do T, continuarão seguindo na mesma direção relativa que seguiam na fase de controle, ou seja, vão virar para o mesmo lado que viravam antes, mesmo que ele, agora, não seja a mesma ponta do T que usavam antes;
- Caso a direção usada após a mudança de ambiente faça com que as formigas usem a extremidade externa do T (independente de qual direção for e qual mudança feita), o comportamento de descarte se manterá igual ao da fase de controle;
- Caso a direção usada indique o caminho para a extremidade interna do T, o lixo irá se acumular gradualmente. Isso será um indicativo para a colônia da ineficácia do caminho seguido, levando ao aumento do número de arremessos ao longo dos dias. Após alguns dias, observaremos o gradual aumento do número de arremessos na outra extremidade do T, até que essa passe a ser predominante. Uma vez que isso ocorra, esse comportamento será fortalecido e mantido até o final do experimento.

10.3 Metodologia

10.3.1 Procedimento e análise – Inversão

O procedimento de inversão foi realizado com 14 das colônias que participaram do experimento 6 (T externo). Os anexos I, *Dados sobre as colônias*, e II, *Cronograma final*, apresentam maiores detalhes dessas colônias. As colônias B1 e B3 não tiveram seus dados apresentados no experimento 6 porque não participaram ou completaram

o procedimento de T interno. Como, porém, elas estavam saudáveis no momento da realização dos experimentos T externo e inversão, optamos por incluir seus dados no presente capítulo. Seus dados para o experimento 6 (T externo) podem ser encontrados no anexo V, *Resultado das colônias descartadas no T externo e no T interno*. Já as colônias C2 e C3 não participaram do procedimento de inversão por questões operacionais.

Demos início ao procedimento uma vez que as colônias estivessem usando o T para arremessar o lixo pelo lado externo há quatro semanas. Nesse momento, o T usado pela colônia foi girado em 180°, de forma que o lado que antes estava para dentro da colônia ficasse para fora, e vice-versa. A colônia não foi mudada de bandeja e a posição da bandeja dentro da sala de experimento manteve-se a mesma.

As colônias foram observadas diariamente (cinco a seis vezes por semana) por períodos de 10 minutos durante quatro semanas, a fim de verificar o comportamento das lixeiras carregadas em relação ao T e se o usavam para jogar lixo. Durante esse período, foram contabilizados:

- Se a colônia continuou a usar o T para descarte de lixo. Consideramos que teve uso do T para descarte quando houve cinco ou mais arremessos de lixo dentro do período de observação de 10 minutos. Chamaremos o ato de jogar lixo pelo T de “arremesso”, uma vez que houve aparente esforço das formigas para jogar o lixo (no sentido de se posicionar no local de arremesso e fazer os movimentos necessários para que o lixo desgrudasse de sua mandíbula para ser solto sem que elas se desequilibrassem e caíssem do T);
- Número de transportes de lixo pelo T que resultaram em arremessos, verificando em qual dos lados esses arremessos ocorreram e se foram efetivos (ou seja, realizados na extremidade externa da ponte);
- Quantidade de lixo dentro da bandeja (acompanhada diariamente por meio de registro fotográfico);
- Se houve ou não escolha de um dos lados do T, qual foi o lado escolhido e se essa escolha manteve-se durante todo o período experimental. Se considerou que um dos lados tinha sido preferido em relação ao outro naquela observação sempre que seu uso representou 75% ou mais dos arremessos feitos durante a observação de 10 minutos;
- Tempo (em dias) para a realização da inversão.

Foi estabelecido um período mínimo de quatro semanas para que as colônias realizassem a inversão. Nos casos em que a inversão foi imediata ou ocorreu no período de quatro semanas, o procedimento foi encerrado em até 30 dias. Caso essa inversão não tenha ocorrido até a quarta semana, fazíamos uma avaliação semana a semana do número de arremessos. Se, durante as medições de uma semana, houvesse indícios de arremesso usando a extremidade externa do T, o procedimento era mantido por mais uma semana, por, no máximo, 90 dias. Caso contrário, encerrávamos o procedimento.

Foram feitos dois tipos de análise. Primeiramente, foram apresentados dados descritivos das coletas. Depois, fizemos uma análise usando o teste de Wilcoxon pareado, comparando os dados de média de arremessos da última semana de coletas do experimento 6 (T externo) com os dados de média de arremessos no experimento de inversão. Para essas análises, chamaremos as extremidades de “Lado A” (o que teve maior número de arremessos na fase de controle) e “Lado B” (o que teve o menor número de arremessos na fase de controle).

10.3.2 Procedimento e análise – Luzes

O experimento Luzes foi desenvolvido tendo como base os resultados parciais do experimento de inversão, que indicavam que as pistas seguidas pelas formigas para o arremesso de lixo não eram exclusivamente pistas químicas. Foram realizados quatro procedimentos diferentes, cada um aplicado a cinco subcolônias. Os anexos I, *Dados sobre as colônias*, e II, *Cronograma final*, apresentam mais detalhes sobre as colônias participantes. Vale ressaltar que todas as colônias participaram duas vezes desse experimento, mas nunca duas vezes do mesmo procedimento. A escolha de qual colônia participaria de qual procedimento foi aleatória, feita por meio de sorteio prévio. Todas as colônias participaram anteriormente dos procedimentos de T interno, T externo, Inversão e Fuga (a ser apresentado), sendo que havia pelo menos um mês entre o procedimento Fuga (último realizado) e o início do procedimento Luzes.

Esse procedimento foi aplicado em uma sala de 1,5x2,5 m com controle de iluminação e temperatura. A temperatura da sala foi mantida em $23^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$, e o ciclo de claro/escuro era de 12/12 h. A alimentação das formigas nessa sala manteve-se igual à descrita no Capítulo 3, *Metodologia geral*.

Primeiramente, foram criadas subcolônias, cada uma delas com aproximadamente 2 litros de fungo, que foram transferidas para uma bandeja de 30x23x19 cm. Nessa bandeja havia um T de madeira com 20 cm de altura e 20 cm de comprimento. A base dele ficava em seu centro, ou seja, a distância da base do T para as suas pontas era a mesma. Uma de suas extremidades ficava dentro da colônia, enquanto a outra ficava para fora. Havia um recipiente para coletar o lixo jogado para fora da bandeja, que ficava a pelo menos 1 metro abaixo do nível da colônia, na tentativa de diminuir a influência das pistas olfativas do local onde o lixo se encontrava. Optamos por usar a ponte em T nesse experimento, pois, anteriormente, ela se mostrou uma boa forma de conseguir estimular o descarte do lixo usando preferencialmente um caminho, mesmo que outro fosse apresentado como opção. Em frente ao lado externo do T, e a aproximadamente 50 cm de distância dele, foram colocadas caixas transparentes com luzes branca, verde e azul. A escolha dessas cores deu-se porque, de acordo com Martinoya, Bloch, Ventura e Puglia (1975), formigas dessa espécie conseguem ver essas frequências de cores. Usamos estímulo luminoso nesse experimento como Pistas extrínsecas, pois seriam vistas mesmo no escuro. Além disso, sua posição em relação ao T (em frente a ele) representaria uma orientação absoluta, já que as formigas teriam de seguir sempre em direção a ele ou em direção contrária a ele, não importando a posição da operária quando chegasse ao topo da ponte. A figura 29 apresenta uma foto da montagem da sala:

Figura 29 – Foto do experimento 7 (Luzes)

Fonte: a autora

A sala ficou montada conforme o descrito por três semanas, período em que as colônias puderam estabelecer o comportamento de arremesso de lixo. Após esse período, foram feitas uma das quatro modificações no ambiente, listadas abaixo:

- Teste 1: a luz ficou no mesmo lugar e o T mudou de posição, sendo levado, sem girar, para a outra borda da bandeja;
- Teste 2: a luz ficou no mesmo lugar e o T girou 180°, sem mudar de posição;
- Teste 3: a luz foi para o outro lado da sala (passando a iluminar o outro lado da bandeja) e o T girou, sem mudar de posição;
- Teste 4: a luz foi para o outro lado da sala (passando a iluminar o outro lado da bandeja) e o T mudou de posição, sendo levado, sem girar, para a outra borda da bandeja.

A Figura 30 mostra um desenho esquemático dos diferentes procedimentos:

Figura 30 – Esquema do experimento 7 (Luzes)

Fonte: a autora

A segunda parte do procedimento ficou montada por três semanas. Por questões logísticas, as cinco colônias que participaram do experimento Luzes no mesmo período passaram pelo mesmo teste. Assim, garantimos a uniformidade do procedimento realizado.

Nas duas fases do experimento, as colônias foram observadas diariamente (cinco vezes por semana) por períodos de 10 minutos. Foram contabilizados:

- Se a colônia usou o T para o descarte de lixo. Nesse caso, não estabelecemos um número mínimo de arremessos para caracterizar descarte de lixo, já que as subcolônias eram menores que as usadas no experimento 6 (T externo e T interno);
- Número de transportes de lixo pelo T que resultaram em arremessos, verificando em qual dos lados eles ocorreram e se foram efetivos (ou seja, realizados na extremidade externa da ponte);
- Quantidade de lixo dentro da bandeja (acompanhada diariamente por meio de registro fotográfico);
- Lado com maior número de arremessos por coleta.

Além das análises descritivas, usamos o teste de Wilcoxon pareado para comparar os dados de média de arremessos de cada uma das extremidades do T. Essa análise foi feita na última semana, antes da inversão (quando o comportamento de jogar lixo usando o T já estava estabelecido), e na primeira semana da fase experimental.

10.4 Resultados

10.4.1 Resultados – Inversão – Teste de pista química

A primeira série de resultados que vamos apresentar diz respeito ao procedimento de inversão, que avaliou a possibilidade de as formigas se orientarem, para o descarte de lixo, por pistas químicas. Nesse caso, esperaríamos que, ao girar o T em 180°, os arremessos passassem a ser feitos na extremidade interna do T (que antes estava para fora, e para onde a orientação química apontaria).

Todas as colônias continuaram usando o T para jogar lixo depois que ele foi girado em 180°.

Os gráficos na Figura 31 mostram o processo de inversão das colônias participantes. Devemos ressaltar que todas as colônias participantes deste procedimento anteriormente estavam atirando lixo pela extremidade externa do T (experimento 6 (T externo)).

Figura 31 – Distribuição dos arremessos no T externo por dia de coleta após a inversão

Figura 31 – Distribuição dos arremessos no T externo por dia de coleta após a inversão

Figura 31 – Distribuição dos arremessos no T externo por dia de coleta após a inversão

Figura 31 – Distribuição dos arremessos no T externo por dia de coleta após a inversão

Figura 31 – Distribuição dos arremessos no T externo por dia de coleta após a inversão

Figura 31 – Distribuição dos arremessos no T externo por dia de coleta após a inversão

Figura 31 – Distribuição dos arremessos no T externo por dia de coleta após a inversão

Fonte: a autora

Conforme pudemos observar, 12 das 14 colônias fizeram a inversão (ou seja, passaram a jogar o lixo na nova extremidade externa), sendo que, em duas, essa inversão não foi imediata: C1 (levou 42 dias para a inversão) e B1 (levou 35 dias para a inversão). Para essas, é possível notar que o número de arremessos de lixo aumentou ao longo dos dias (possível resultado do acúmulo de lixo na bandeja), mas diminuiu tão logo a inversão foi estabelecida. As colônias B3 e B10 não fizeram a inversão. Também pudemos observar nelas o aumento gradativo do número de arremessos, mas, como não houve inversão, esse número não foi seguido de redução. Para as demais colônias, a inversão foi imediata, ou seja, as colônias usaram o lado externo mais que o lado interno já no primeiro dia após a inversão (mesmo que esse uso não tenha sido necessariamente preferencial, ou seja, tenha representado mais que 75% dos arremessos).

A Figura 3232 mostra a distribuição da preferência pelos lados do T após a inversão:

Fonte: a autora

De acordo com o gráfico, as colônias que não fizeram a inversão imediata (C1, B1, B3 e B10) foram as únicas com o uso preferencial do lado interno após a inversão. As demais, mesmo quando tiveram algum tipo de uso, não apresentaram uso preferencial.

A Tabela 16 mostra o resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado para as colônias que fizeram a inversão imediata:

Tabela 16 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado entre as colônias que fizeram a inversão imediata

Lado	Fase	p	Média
Externo	Controle	0,20	14,07±5,98
	Inversão		16,71±4,34
Interno	Controle	0,20	1,42±2,83
	Inversão		1,58±1,32

Fonte: a autora

Conforme podemos observar, nenhum dos lados do T apresentou diferença significativa na média de número de arremessos observada uma semana antes da inversão (fase Controle) e nas semanas seguintes (fase Inversão).

A Tabela 17 mostra-nos o resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado para as colônias que não fizeram a inversão imediata:

Tabela 17 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado entre as colônias que não fizeram a inversão imediata

Lado	Fase	p	Média
Externo	Controle	0,07	11,67±4,27
	Inversão		8,15±4,27
Interno	Controle	0,07	0,50±0,67
	Inversão		80,27±34,51

Fonte: a autora

No caso das colônias que não realizaram a inversão imediata, há uma diferença marginalmente significativa entre a fase Controle e a fase Inversão, tanto para a extremidade externa ($Z=1,82$, $p=0,07$; média controle: 11,67±4,27; média inversão: 8,15±4,27) quanto para a extremidade interna ($Z=1,86$, $p=0,07$; média controle: 0,50±0,67; média inversão: 80,27±34,51).

Não foi possível dividir as colônias que não fizeram a inversão imediata entre as que a fizeram após alguns dias e as que não a fizeram, pois a amostra é muito pequena.

10.4.2 Resultados – Luzes – Teste 1 – Luz parada, T muda de lugar

Para o procedimento Luzes – teste 1, não mudamos as caixas com luzes de lugar, mas mudamos o T para a lateral oposta à bandeja de ninho, sem girá-lo. Nessa estrutura, as pistas químicas e extrínsecas estariam indicando que o caminho a ser seguido deveria continuar sendo o que se seguia anteriormente, sendo que o que antes era extremidade externa passou a ser interna, e vice-versa. A pista intrínseca poderia ser levemente afetada, uma vez que houve modificação do local onde estaria o T, o que poderia mudar os pontos de referência das operárias dentro da colônia.

A Figura 33 apresenta os resultados desse procedimento. No retângulo tracejado, marcamos a fase experimental:

Figura 33 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Teste Luz parada, T muda de lugar

Figura 33 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Teste Luz parada, T muda de lugar

Figura 33 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Teste Luz parada, T muda de lugar

Fonte: a autora

Chama a atenção que, nessa série de experimentos, os Ts não foram usados necessariamente para jogar o lixo para fora da bandeja de ninho: em 3 das 5 colônias (C7, B7 e B17), observamos um número maior de arremessos, na fase de controle, para a extremidade interna do T, contrariando os resultados encontrados no experimento 6 (T externo). Apesar disso, observamos que todas as inversões foram na direção esperada, ou seja, as colônias continuaram jogando o lixo produzido pelo mesmo braço que jogavam antes, mesmo que agora esse braço tivesse uma utilidade diferente da original. Nesse sentido, é importante destacar que, para as colônias que estavam jogando o lixo usando a extremidade interna do T, o seu uso (que agora estava para fora) se fortaleceu ao longo dos dias, com o não uso da outra extremidade para o descarte de lixo. Já para as colônias que, na fase de controle, estavam usando a extremidade externa do lixo, observamos, nos primeiros dias da fase de teste, o uso do lado interno do T, mas que deixou de ser usado após alguns dias, quando observamos o aumento do uso do novo lado externo.

A Figura 3434 mostra a distribuição dos arremessos na semana (controle) e na semana seguinte à inversão (experimental):

Figura 34 – Frequência de extremidade mais usada na última semana da fase de controle e na primeira semana da fase experimental – Luzes – Teste Luz parada, T muda de lugar

Fonte: a autora

Pelo gráfico, é possível observar que, conforme já tínhamos visto nas frequências diárias, a extremidade mais usada do T inverteu entre as fases, se compararmos a última semana da fase de controle e a primeira da fase experimental.

A Tabela 18 mostra o resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado às médias de arremesso uma semana antes e uma semana após a mudança do ambiente. A Figura 35 mostra o gráfico para os mesmos dados:

Tabela 18 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado entre as colônias participantes do teste Luz parada – T muda de lugar

Fase	Fase	p	Média
Controle	Lado A	0,04	14,64±13,72
	Lado B		1,88±1,39
Experimental	Lado A	0,10	7,04±4,01
	Lado B		1,96±1,2

Fonte: a autora

Figura 35 – Box-plot do número de arremessos do teste Luzes – Luz parada, T muda de lugar

Fonte: a autora

Observamos que, na fase Controle, há diferença significativa entre o número de arremessos entre o lado com maior número de arremessos (Lado A) e o com menor número de arremessos (Lado B): ($Z=-2,02$, $p=0,04$; média de arremessos Lado A: $14,64\pm13,72$; média de arremessos Lado B: $1,88\pm1,39$). Já para a fase experimental, observamos uma diferença marginalmente significativa entre os dois lados, mas, desta vez, o número de arremessos para o Lado B (que antes tinha menor quantidade de arremessos) é maior que o observado no Lado A: ($Z=-1,63$, $p=0,10$; média de arremessos Lado A: $7,04\pm4,01$; média de arremessos Lado B: $1,96\pm1,2$).

10.4.2.1 Resultados – Luzes – Teste 2 – Luz parada, T gira 180°

Para o procedimento Luzes – teste 2, não mudamos as caixas com luzes de lugar, mas giramos o T em 180°, mantendo-o na mesma borda da bandeja em que estava. Nessa organização da sala, pistas químicas passariam a apontar para a direção contrária à que estava sendo usada antes para o descarte de lixo, enquanto as pistas extrínsecas e intrínsecas continuariam apontando para a direção seguida na fase de controle.

A Figura 36 apresenta os resultados desse procedimento. No retângulo tracejado, marcamos a fase experimental:

Figura 36 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Teste Luz parada, T gira 180°

Figura 36 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Teste Luz parada, T gira 180°

Figura 36 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Teste Luz parada, T gira 180°

Fonte: a autora

Novamente, observamos que o lado mais usado não foi necessariamente a extremidade externa do T em duas colônias (C7 e B2), contrariando os resultados encontrados no experimento 6 (T externo). Apesar disso, o padrão de arremessos na fase experimental foi similar ao observado no procedimento Inversão (apresentado no presente capítulo). Vale ressaltar que não foi observada a troca de lado mais usado ao longo das coletas.

A Figura 3737 mostra a distribuição dos arremessos na semana anterior (controle) e na semana seguinte à inversão (experimental):

Figura 37 – Frequência de extremidade mais usada na última semana da fase de controle e na primeira semana da fase experimental – Luzes – Teste Luz parada, T muda de lugar

Fonte: a autora

Como podemos observar, a posição relativa (extremidade externa ou interna) usada durante a fase de controle por cada uma das colônias na semana anterior ao procedimento de mudança do ambiente (no caso, giro do T em 180°) continuou sendo a mais usada na semana seguinte, embora tenhamos notado, também, o aumento no número de coletas em que não houve preferência por um dos lados (no gráfico, a categoria Igual) entre as duas extremidades.

A Tabela 19 mostra o resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado às médias de arremesso uma semana antes e uma semana após a mudança do ambiente. A Figura 38 mostra o gráfico para os mesmos dados:

Tabela 19 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado entre as colônias que participaram do teste Luz parada – T gira 180°

Fase	Fase	p	Média
Controle	Lado A	0.04	36,68±50,15
	Lado B		1,82±0,45
Experimental	Lado A	0.04	3,64±2,67
	Lado B		23,4±30,09

Fonte: a autora

Figura 38 – Box-plot do número de arremessos do teste Luzes – Luz parada, T muda de lugar

Fonte: a autora

Observamos que há diferença significativa entre o uso dos dados tanto durante a fase de controle ($Z=-2,02$, $p=0,04$; média de arremessos Lado A: $36,68\pm50,15$; média de arremessos Lado B: $1,82\pm0,45$) quanto na fase experimental ($Z=-2,02$, $p=0,04$, média de arremessos Lado A: $3,64\pm2,67$; média de arremessos lado B: $23,4\pm30,09$), sendo que na fase controle o lado mais usado foi o Lado A e, na fase experimental, o Lado B.

10.4.2.2 Resultados – Luzes – Teste 3 – Luz muda de lugar, T gira 180°

Para o procedimento Luzes – teste 3, as caixas com luzes foram mudadas de lugar, de forma a ficarem de frente para a borda oposta da bandeja de ninho. O T foi

girado em 180° , mas continuou na mesma borda da bandeja de ninho. Dessa forma, as pistas químicas e extrínsecas apontariam para a direção oposta àquela apontada antes, enquanto as pistas intrínsecas apontariam para mesma direção.

A Figura apresenta os resultados desse procedimento. No retângulo tracejado, marcamos a fase experimental:

Figura 39 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Luz muda de lugar, T gira 180°

Figura 39 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Luz muda de lugar, T gira 180°

Figura 39 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Luz muda de lugar, T gira 180°

Fonte: a autora

Nesse experimento, ao contrário do que observamos nos anteriores, a extremidade externa do T foi a mais usada por todas as colônias durante a fase de controle, de forma semelhante ao que observamos no experimento 6 (T externo). Esse comportamento manteve-se durante a fase experimental, ou seja, as colônias continuaram jogando o lixo pelo lado externo do T, mesmo quando as pistas químicas e extrínsecas apontavam para o lado interno.

A Figura 40 mostra a distribuição dos arremessos na semana anterior (controle) e na semana após à inversão (experimental):

Figura 40 – Frequência de extremidade mais usada na última semana da fase de controle e na primeira semana da fase experimental – Luzes – Luz muda de lugar, T gira 180°

Fonte: a autora

Pelo gráfico, observamos que, conforme já descrito, a posição relativa do T (extremidade externa) mais usada durante a fase de controle foi também a mais usada durante a fase experimental.

A Tabela 20 mostra o resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado na média de arremessos uma semana antes e uma semana após a mudança do ambiente. A Figura 41 mostra o gráfico para os mesmos dados:

Tabela 20 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado entre as colônias que participaram do teste 3 – Luz muda de lugar, T gira 180°

Fase	Fase	p	Média
Controle	Lado A	0.04	7±1,83
	Lado B		0,88±0,23
Experimental	Lado A	0.04	2.7±1.2
	Lado B		12,51±3,31

Fonte: a autora

Figura 41 – Box-plot do número de arremessos do teste Luzes – Luz muda de lugar, T gira 180°

Fonte: a autora

Observamos que os arremessos feitos nas duas extremidades diferenciam-se significativamente tanto na fase de controle ($Z=-2,02$, $p=0,04$; média de arremessos Lado A: $7\pm1,83$; média de arremessos Lado B: $0,88\pm0,23$) quanto na fase experimental ($Z=-2,02$; $p=0,04$; média de arremessos Lado A: 2.7 ± 1.2 ; média de arremessos Lado B: $12,51\pm3,31$). Na fase de controle, o lado mais usado foi o Lado A. Já na fase experimental, o lado B.

10.4.2.3 Resultados – Luzes – Teste 4 – Luz e T mudam de lugar

Para o procedimento Luzes – teste 4, as caixas com luzes foram mudadas de lugar, de forma a começar a iluminar a borda oposta da bandeja de ninho. O T foi

levado para essa mesma borda, sem ser girado. Dessa forma, as colônias teriam as pistas químicas apontando para a mesma direção que estavam anteriormente, enquanto a pista extrínseca estaria apontando na direção contrária. Novamente, as pistas intrínsecas seriam afetadas pela mudança de posição do T, uma vez que sua posição dentro da bandeja de ninho havia mudado.

A Figura 42 apresenta os resultados desse procedimento. No retângulo tracejado, marcamos a fase experimental:

Figura 42 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Teste Luz parada, T muda de lugar

Figura 42 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Teste Luz parada, T muda de lugar

Figura 42 – Resultado do experimento 7 – Luzes – Teste Luz parada, T muda de lugar

Fonte: a autora

Nessa série de testes, voltamos a ter uma colônia (B2) que não usou a extremidade externa do T para jogar lixo na fase de controle, diferente do que foi observado no experimento 6 (T externo). O comportamento das colônias após a inversão também não seguiu um padrão único: duas colônias (B5 e C5) continuaram usando a mesma extremidade relativa que usavam antes para jogar o lixo (extremidade externa), ou seja, seguiram a direção apontada pela pista extrínseca. Seus arremessos seguiram um padrão semelhante ao observado na fase de controle. As outras três (B10, B2 e C4) seguiram a direção da pista química, ou seja, continuaram usando a mesma ponta do T que usavam antes, mesmo com ela estando agora em uma posição diferente. É interessante notar que essas três colônias tiveram um padrão diferente de arremesso de lixo após a inversão, e que esteve relacionado com o comportamento na fase de controle: por um lado, temos a C4 e a B10, que antes usavam a extremidade externa do T para jogar o lixo. Após a mudança no ambiente, elas passaram a usar a extremidade interna do T (A B10 de forma mais acentuada que a C4), fazendo com que o lixo não fosse isolado. Ao mesmo tempo, essas colônias tiveram um número acentuado de arremessos na outra extremidade do T (que agora está para fora), que poderia indicar tanto uma confusão na orientação como o início da tentativa de jogar o lixo pela extremidade externa (como foi visto nas colônias que, no procedimento de inversão, não fizeram a inversão imediatamente, mas após alguns dias). A colônia B2, por sua vez, usava a extremidade interna do T durante a fase de controle e, após a mudança ambiental, passou a usar a extremidade externa. Para essa colônia, observamos um baixo uso do novo lado interno do T durante a fase experimental.

A Figura 4343 mostra a distribuição dos arremessos na semana anterior (controle) e na semana após a inversão (experimental):

Figura 43 – Frequência de extremidade mais usada na última semana da fase de controle e na primeira semana da fase experimental – Luzes – Luz e T Mudam de lugar

Fonte: a autora

O gráfico acima mostra-nos, de forma mais clara, o que já tinha sido observado nos dados de frequência de arremesso: as colônias C4, B2 e B10 continuaram usando a mesma ponta do T que usavam antes para isolar o lixo, mesmo ela estando, agora, voltada para o outro canto da bandeja de ninho, enquanto as colônias C5 e B5 trocaram de lado.

A Tabela 21 mostra o resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado aplicado nas médias de arremesso uma semana antes e uma semana após a mudança do ambiente. A Figura 44 mostra o gráfico para os mesmos dados:

Tabela 21 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado no teste 4 – Luz e T mudam de lugar

Fase	Fase	p	Média
Controle	Lado A	0.04	8,12±2,24
	Lado B		2,52±1,73
Experimental	Lado A	0.69	4,52±3,26
	Lado B		3,69±2,09

Fonte: a autora

Figura 44 – Box-plot do número de arremessos do teste Luzes – Luz e T mudam de lugar

Fonte: a autora

Observamos que, na fase de controle, há diferença significativa entre o número de arremessos entre o lado com maior número de arremessos (Lado A) e o com menor número (Lado B): ($Z=-2,02$, $p=0,04$; média de arremessos Lado A: $8,12 \pm 2,24$; média de arremessos Lado B: $2,52 \pm 1,73$). Os Lados A e B não se diferenciaram estatisticamente na fase experimental, possivelmente devido ao fato de as colônias não terem seguido um padrão similar de comportamento nessa fase, como já vimos.

10.5 Discussão

O presente capítulo se propôs a tentar entender melhor como ocorre a orientação para o descarte de lixo, um assunto pouco estudado na literatura. Embora haja indícios de uma orientação química (Luchesi et al., 2017), temos resultados na presente tese que nos sugerem que esse não é o único elemento usado. Levantamos como hipótese que, de forma similar ao que ocorre no forrageamento, as formigas também se guiam por pistas visuais e pela integração de rotas (Czaczkes et al., 2011; Ribeiro et al., 2009; Riveros & Srygley, 2008; Robinson et al., 2008). Como as pistas visuais poderiam ser usadas em relação à sua posição relativa ou absoluta, não nos permitindo diferenciar de uma integração de rotas (meio de orientação em que o animal usa a distância e a direção do ponto de origem para se guiar (Andel & Wehner,

2004)), optamos por dividi-las em dois grupos: pistas extrínsecas (no caso, a pista luminosa apresentada, que poderia ser usada como uma pista de navegação absoluta pelas formigas, uma vez que elas poderiam apenas seguir em sua direção ou em direção contrária a ela) e intrínsecas (outras pistas visuais que não foram modificadas, como a posição do ninho e a orientação por integração de rotas).

Para testarmos nossa hipótese, fizemos duas séries de experimentos. Na primeira, Inversão, focamos na hipótese que a orientação seria química, proposta por Luchesi et al. (2017). Para isso, usamos colônias que estavam há pelo menos quatro semanas usando uma ponte em T para isolar o lixo, jogando-o pela extremidade externa. Após girarmos essa ponte em 180° (o que fez com que seu lado externo passasse a apontar para dentro da bandeja de ninho), notamos que a maioria das colônias jogava o lixo pela nova extremidade externa do T horas após a inversão, o que nos mostra que mesmo que realmente haja pistas químicas orientando a tarefa de descarte de lixo, não deve ser a única nem mesmo a mais importante das pistas, dando mais ênfase à ideia de que, na prática, haveria elementos como orientação visual e integração de rotas.

Na segunda série de experimentos, testamos a possibilidade de as pistas serem químicas, extrínsecas ou intrínsecas. Pelos resultados obtidos, podemos afirmar que as colônias também não usaram as pistas extrínsecas para se guiar de forma primária: quando as luzes foram mudadas de lugar e o T apenas girou, os arremessos continuaram sendo na direção que seguiam antes, mesmo que as pistas químicas e a iluminação apontassem na direção contrária. Por outro lado, não podemos descartar totalmente sua influência: no teste 4, quando mudamos a luz e o T de lugar, fizemos com que as pistas químicas apontassem em uma direção e as pistas extrínsecas, em outra; parte das colônias parece ter se orientado usando as pistas extrínsecas, embora algumas parecem ter seguido pistas químicas. O último resultado é o mais interessante: ao movermos o T para a outra borda da bandeja de ninho, podemos ter afetado as pistas intrínsecas usadas antes. Isso pode ter feito com que se tornasse mais importante o uso das pistas químicas ou extrínsecas, de forma semelhante ao visto por Czaczkes et. al. (2011) quando as formigas da espécie *Lasius niger* testadas em laboratório passaram a usar as pistas químicas para confirmar a informação memorizada. Como as pistas extrínsecas e químicas eram contraditórias (diferente do que ocorreu no teste 1, em que ambas apontavam para a mesma direção), isso talvez explique porque as colônias não tiveram o mesmo

comportamento após a inversão: parte delas, frente à contradição de informações, seguiu a pista extrínseca (Luzes), enquanto as outras seguiram a química. Apesar disso, a orientação parece ocorrer particularmente por pistas intrínsecas, de forma semelhante ao observado em outras espécies (Andel & Wehner, 2004; Riveros & Srygley, 2008). Esse resultado é corroborado pelos resultados dos testes 2 e 3, bem como suportado pelos resultados do procedimento de inversão. Em todos esses resultados, observamos que as formigas continuaram seguindo para a direção relativa que seguiam antes, se tomarmos que usavam como centro de deslocamento o seu ponto inicial (que poderia ser, por exemplo, o pote de fungo de onde o indivíduo saiu com o lixo ou a luz do teto, que não continuou no mesmo lugar). Ele também é um resultado coerente com a literatura, se considerarmos que a espécie *Atta sexdens* depositam seu lixo em painéis dentro do ninho, abaixo do solo (Farji-Brener et al., 2016; Hölldobler & Wilson, 1990). Esse espaço é escuro, logo seria preciso fazer uso de pistas que não visuais. Ao mesmo tempo, podemos supor que as painéis de lixo sejam usadas por um período suficientemente grande para permitir que as operárias lixeiras memorizem o caminho para chegar até elas, fazendo com que não seja preciso usar pistas químicas para chegar lá sempre, uma vez que o caminho seria memorizado de forma semelhante ao observado por Czaczkes et. al. (2011). Ainda assim, o uso de outras pistas poderá ser importante, como, por exemplo, para indicar o caminho para uma panela de lixo nova. As pistas químicas seriam, nesse sentido, as mais importantes, e o estudo de Luchesi (2017) indica-nos que seriam usadas. Isso talvez explique por que algumas colônias, no experimento Inversão, não passaram a usar o novo lado externo imediatamente: estavam usando as pistas químicas para se orientar. Não sabemos explicar, porém, por que essas colônias se detiveram tanto nas pistas químicas. Novos estudos são importantes para tentar elucidar essa questão.

Temos de ressaltar que não é impossível que as operárias lixeiras usem pistas visuais para se orientar, e nossos resultados sugerem que a orientação visual pode, sim, correr, caso haja luz (como ocorreria em um ambiente de laboratório, onde o lixo é necessariamente depositado do lado de fora da terra, o que permite que esse seja um espaço iluminado). Como, na espécie *Atta sexdens*, elas pertencem à casta das generalistas (Lacerda et al., 2013; Lacerda, 2008), e potencialmente poderiam exercer atividades fora do ninho, entre elas o forrageamento. As forrageadoras se guiam usando, entre outros elementos, pistas visuais (Ribeiro et al., 2009). Isso nos faz concluir que as lixeiras, se estiverem depositando seu lixo em um lugar iluminado

(como acontece em um laboratório), podem usar informações visuais (como a pista extrínseca que apresentamos) para a sua orientação. Seria adaptativo que operárias da mesma espécie usassem a mesma estratégia de orientação espacial, independente da atividade que exercem.

Um resultado periférico dessa pesquisa diz respeito ao modo de uso do T. Ao contrário do que observamos no experimento 6 (T externo), as formigas do procedimento Luzes não usaram exclusivamente o lado externo para o isolamento do T na fase de controle. Acreditamos, porém, que esse resultado possa estar relacionado a uma característica do procedimento aplicado: usamos subcolônias que tinham metade do tamanho das usadas no experimento 6 (T externo). Esse tamanho menor talvez tenha feito com que as colônias demorassem mais para estabelecer o comportamento de uso da extremidade externa do T para isolamento do lixo. Seria interessante replicar o experimento 6 (T externo) com subcolônias de diferentes tamanhos, para checar essa hipótese. Vale ressaltar, porém, que, como nosso interesse com esse experimento não era ver se as formigas usariam o T para isolar o lixo ou não, mas sim analisar a forma como se orientam no descarte de lixo, o uso diferenciado do T não foi um aspecto que inviabilizaria a continuação do procedimento, mas apenas mudaria a forma de analisarmos os dados. Além disso, as colônias que na fase de controle do experimento Luzes usavam a extremidade interna do T para isolar lixo e na fase experimental passaram a usar a extremidade externa apresentaram um padrão de uso do T semelhante àquele visto nas colônias que, no experimento Inversão, demoraram algumas semanas para realizar a inversão: assim que passaram a usar mais o lado externo que o interno do T, este se estabeleceu como o principal lado usado.

Acreditamos que o presente estudo ajudou a esclarecer aspectos da orientação das formigas para o descarte de lixo. É importante, porém, que novos estudos sejam realizados para que possamos compreender melhor os mecanismos existentes para isso.

11 EXPERIMENTO 8 – AVALIAÇÃO DA ESTRATÉGIA DE ISOLAMENTO DE LIXO MAIS USADA (FUGA CONTROLADA)

11.1 Pressupostos teóricos e objetivo

Ao longo deste trabalho, apresentamos o quanto é importante, para as formigas, isolar o lixo. Em meio natural, as operárias da espécie *Atta sexdens* depositam o seu lixo em painéis ligados à colônia. Essa é uma característica de formigas de ambientes úmidos, que poderiam levar a uma decomposição nociva do lixo (Farji-Brener et al., 2016). Depositando o lixo dentro da colônia, é possível manipulá-lo de forma a diminuir os riscos que ele representa para os indivíduos que ali estão (Ribeiro & Navas, 2007). Formigas criadas em laboratório, porém, nem sempre possuem acesso a câmaras específicas para o depósito de lixo, o que as obriga a depositar o lixo nas bandejas em que habitam, formando montes.

No experimento 6 (T externo e T Interno), observamos que essa espécie é capaz de isolar o lixo usando recursos que não permitem que elas saibam onde está localizado o monte de detritos. O que ocorrerá se mantivermos as pontes em T, às quais elas já estão habituadas, para o descarte de lixo, mas também permitirmos acessar um local para depósito do lixo que será isolado da bandeja de ninho e acessível para elas? Elas continuarão usando o T, independente de precisarem dele ou de sua utilidade? Avaliar essas questões é o objetivo do presente experimento.

11.2 Hipóteses

As hipóteses para este estudo são:

- Uma vez tendo uma possibilidade de caminho para o monte de lixo (quanto às colônias que vieram do T externo) ou para um local que seja isolado da bandeja de ninho, e onde possam depositar o lixo (quanto às colônias que vieram do T interno), as colônias passarão a usá-lo para o transporte de lixo;
- A partir do momento em que passarem a transportar o lixo pelo caminho oferecido a elas, as formigas deixarão de usar gradativamente o T para o transporte, passando a preferir, para isso, o uso da nova rota (que chamaremos de “fuga”), já que elas terão acesso e controle do local onde o lixo será depositado;

- Para o T externo, esse processo será mais lento, uma vez que o uso do T para isolar o lixo é efetivo; já quando as colônias estiverem vindo inicialmente do T interno, esse processo será mais rápido, pois o T não é um meio eficiente para isolar o lixo.
- A exploração do T continuará normalmente, ou seja, as formigas continuarão a andar por ele, mas não irão andar com lixo.

11.3 Metodologia

Este experimento foi realizado com 19 colônias. A exigência de que as colônias tivessem participado do experimento 7 (Inversão) foi por conveniência, já que todas as colônias que participaram do T externo participaram, em seguida, da inversão. Das colônias que participaram do experimento 6, 11 se qualificaram para participar do experimento 8. Seis colônias (B1, B3, B6, B9, B15 e B16) participaram do estudo apenas para um dos tipos do T e foram descartadas por isso. Seus dados se encontram no anexo VI, *Dados do experimento 8 (fuga) descartados*. Detalhes sobre as colônias participantes podem ser encontrados no Capítulo 9, *Experimento 6 – Isolamento de lixo usando estratégias eficazes e ineficazes (T externo e T interno)*, e anexos I, *Dados sobre as colônias*, e II, *Cronograma final*.

11.3.1 Procedimento

Esta pesquisa ocorreu após as colônias terem terminado sua participação nos procedimentos dos experimentos 6 (T interno) ou 7 (Inversão) – ver critérios nos capítulos 9, *Experimento 6 – Isolamento de lixo usando estratégias eficazes e ineficazes (T externo e T interno)*, e 10, *Experimento 7 – Teste de orientação para descarte do lixo (inversão e luzes)*. Colônias que não tenham efetuado a inversão no experimento 7 (Inversão) poderiam participar deste experimento.

Inicialmente, a bandeja da colônia foi colocada dentro de uma bandeja maior (60x60x10 cm), com uma mistura de álcool e talco passada nas bordas (que chamaremos de “bandeja de fuga”). Por uma semana, foram apenas observados quantos comportamentos de jogar lixo pelo T (que chamaremos de “arremesso”) ocorreram. Esse período será chamado de “fase de controle”. Caso, durante esse período, alguma colônia criasse uma trilha para acessar a bandeja de fuga,

passaríamos para a fase experimental do procedimento. Se, em uma semana, não houvesse uma trilha formada, seria colocada uma ripa de madeira balsa que permitiria essa fuga. A colônia não foi mudada de lugar dentro da sala.

O procedimento ficou montado entre 34 e 36 dias, sendo que uma colônia (B2, T interno) precisou ser interrompida antes, com 26 dias, pois a quantidade de lixo acumulado na bandeja de fuga estava permitindo que houvesse fuga.

11.3.2 Análise

As colônias foram observadas diariamente (cinco a seis vezes por semana) por períodos de 10 minutos. Foram avaliados:

- Número de transportes de lixo pelo T que resultaram em arremessos, verificando em qual dos lados eles ocorreram. No caso do T externo, também foi computado se esses arremessos foram efetivos (ou seja, realizados na ponta externa da ponte).
- Número de formigas em cada um dos lados do T no começo das observações;
- Se houve uso sistemático da fuga para o transporte de lixo (sim ou não). Chamaremos de “fuga” a trilha formada pelas operárias para chegar à bandeja de fuga, seja ela uma trilha formada naturalmente, seja usando a ripa de madeira adicionada. Consideraremos que uma colônia usou a fuga para transporte de lixo de forma sistemática quando, no período experimental, houve 50% ou mais de contagens em que tenha havido algum tipo de transporte de lixo por meio dela;
- Caso tenha havido transporte de lixo por meio da fuga, após quanto tempo esse transporte começou;
- Número de transportes de lixo usando a fuga, sendo classificados da seguinte forma:
 - Número de formigas que usaram a trilha de fuga para levar o lixo até o monte de lixo na bandeja de fuga (desceu);
 - Número de formigas que jogaram o lixo da bandeja de ninho na bandeja de fuga, sem ser pelo T (jogou);
 - Número de formigas que caíram com o lixo da bandeja de ninho na bandeja de fuga (caiu).

Faremos, primeiramente, uma análise descritiva dos dados, dia a dia. Entre as colônias que usaram a fuga para transporte de lixo, faremos a análise do número de formigas no T e o número de arremessos feitos nele na fase de controle e na última semana da fase experimental, usando o teste de Wilcoxon pareado. Esse teste também foi usado para avaliar se houve diferença no número de dias para que o uso da fuga para transporte de lixo começasse entre o T externo e o T interno.

11.4 Resultados

As colônias C4, C5 e C8 tiveram fugas espontâneas no T interno, porém não no T externo. Para todas as demais réplicas, a fuga teve de ser estimulada.

A Figura 45 mostra o processo de fuga das colônias participantes. Os dias marcados com asterisco (*) mostram quando foi observada fuga (de forma espontânea ou incentivada), embora não necessariamente quando foi feito o primeiro transporte de lixo por ela. Apresentaremos quatro gráficos por colônia: os dois primeiros apresentam os dados quando o experimento original era o T interno. Os dois últimos, quando o experimento original era o T externo. O primeiro gráfico do par sempre será o da fuga. As seguintes categorias de dados estão apresentadas nele: *i) caiu*: a formiga com lixo caiu da bandeja de ninho na bandeja de fuga; *ii) desceu*: a formiga andou com o lixo da bandeja de ninho até o monte de lixo; e *iii) jogou*: a formiga arremessou o lixo da bandeja de ninho. Ele também mostra quantas formigas haviam explorando cada um dos lados do T no início das observações. O segundo gráfico do par mostra o número de arremessos de lixo em cada um dos lados do T e a média de arremessos após a fuga:

Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos

Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos

Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos

Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos

Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos

Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos

Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos

Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos

Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos

Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos

Figura 45 – Gráfico da fuga. Os gráficos são apresentados em pares: os dois primeiros com dados do T externo e os dois últimos com os do T interno; no par, o primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T. O segundo gráfico mostra o número de arremessos por lado do T e a média de arremessos

Fonte: a autora

Podemos observar que nem todas as colônias usaram a fuga para transporte de lixo: a colônia B10 não a usou no T externo e a C9, no T interno. Vale reforçar que, quando dizemos que essas colônias não usaram a fuga para transporte de lixo, não queremos dizer que não foi observado esse tipo de comportamento na fuga, apenas que ele não foi sistemático (mais de 50% das coletas). Em geral, as formigas usaram a fuga para levar o lixo até o monte, na bandeja de fuga, mais do que caíram com ele ou o jogaram da bandeja de ninho para a bandeja de fuga.

A Tabela 22 e a Figura 46 mostram os dados de número de dias para o início do uso da fuga para o transporte de lixo:

Tabela 22 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado para o número de dias de início do uso da Fuga para transporte de lixo

Experimento original	p	Média
T Externo	0,07	0,5±0,85
T Interno		1,4±1,96

Fonte: a autora

Figura 46 – Box-plot do número de dias para o início do uso da fuga para transporte de lixo

Fonte: a autora

Conforme podemos ver, há uma diferença marginalmente significativa no número de dias para o começo do uso da fuga para transporte de lixo entre o T externo e o T interno ($Z=-1,83$, $p=0,07$; média de dias no T externo: $0,5\pm0,85$; média de dias

no T interno: $1,4 \pm 1,96$), com o número de dias para o T interno sendo maior que o para o T externo.

A Figura 47 mostra quantas colônias pararam de usar o T ao longo do experimento, por tipo de experimento (T externo ou T interno):

Figura 47 – Distribuição das colônias que pararam ou não de usar o T de acordo com o tipo de experimento original

Fonte: a autora

Foram realizados testes Qui-quadrado entre “parou” e “não parou”, dentro de um mesmo tipo de experimento original, e tiveram distribuição igual (T externo: $\chi^2 = 1,60$, $gl=9$, $p=0,21$; T Interno: T Externo: $\chi^2 = 0,40$, $gl=9$, $p=0,53$).

Observamos que algumas das colônias, embora não tenham parado de usar o T, diminuíram seu uso (tanto para arremesso de lixo quanto em número de formigas no T) em relação à fase de controle (antes da fuga). Comparamos, então, os dados de média de arremessos e de média do número de formigas na fase de controle (até uma semana antes da fuga) na última semana de coleta de dados (quando o uso da fuga para transporte de lixo já estaria estabelecido). A Tabela 23 e a Figura 48 apresentam os resultados dessa análise para o T externo, e a Tabela 24 e a Figura 49 apresentam os dados dessa análise para o T interno:

Tabela 23 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado para o número de arremessos usando o T e o número de formigas do T na semana de controle e na última semana da fase experimental – T externo

	Fase	p	Média
Número de formigas	Controle	0,05	49,85±28,21
	Experimental		25,33±14,91
Arremessos	Controle	0,33	15,27±8,19
	Experimental		11,86±11,46

Fonte: a autora

Figura 48 – Box-plot do número de arremessos usando o T e o número de formigas do T na semana de controle e na última semana da fase experimental – T externo

Fonte: a autora

Tabela 24 – Resultado das análises do teste de Wilcoxon pareado para o número de arremessos usando o T e o número de formigas do T na semana de controle e na última semana da fase experimental – T interno

	Fase	p	Média
Número de formigas	Controle	0,01	88,06±48,32
	Experimental		21,41±24,46
Arremessos	Controle	0,01	148,34±157,12
	Experimental		27,74±55,68

Fonte: a autora

Figura 49 – Box-plot do número de arremessos usando o T e o número de formigas do T na semana de controle e na última semana da fase experimental – T interno

Fonte: a autora

De acordo com os resultados obtidos, o número de formigas na fase de controle e na última semana da fase experimental variou significativamente, tanto para o T externo ($z=-1,99$, $n=10$, $p=0,05$; média do número de formigas na fase de controle: $49,85 \pm 28,21$; média do número de formigas na fase experimental: $25,33 \pm 14,91$) quanto para o T interno ($z=-2,80$, $n=10$, $p=0,01$; média do número de formigas na fase de controle: $88,06 \pm 48,32$; média do número de formigas na última semana da fase experimental: $21,41 \pm 24,46$), sempre com menor valor na semana experimental que na de controle. Já o número de arremessos usando o T só variou significativamente no T Interno ($z=-2,80$, $p=0,01$; média do número de arremessos na fase de controle: $148,34 \pm 157,12$; média do número de arremessos na fase experimental: $27,74 \pm 55,68$), novamente com um número menor de arremessos durante a fase experimental que durante a fase de controle.

11.5 Discussão

Cada espécie de formiga cortadeira possui uma forma de lidar com o lixo que produz. A espécie estudada, *Atta sexdens*, costuma depositar o lixo em panelas abaixo da terra (Farji-Brener et al., 2016; Hölldobler & Wilson, 1990), o que certamente contribui para que tenha contato constante com o monte de lixo.

No experimento apresentado neste capítulo, avaliamos se colônias que já estavam usando pontes de madeira em formato de T para isolar o lixo (Ver experimento 6, T externo e T interno) deixariam de usá-lo se fosse disponibilizado a elas um caminho para chegar a uma bandeja isolada da bandeja de ninho. Essa fuga teria duas utilidades diferentes, dependendo do tipo de T que estaria sendo usado pelas colônias: quando as colônias estivessem usando o T interno, a Fuga permitiria uma forma efetiva de isolar o lixo; quando estivessem usando o T externo, essa fuga permitiria que tivessem contato com o local onde o lixo estaria sendo depositado (ao contrário do que ocorreria no uso do T, já que ele só permitiria o isolamento do lixo se as colônias o jogassem dele para fora da bandeja de ninho).

Nossa primeira hipótese é de que as colônias iriam usar a fuga para transporte do lixo, independentemente do tipo de T que estariam usando anteriormente, uma vez que essa rota permitiria o isolamento do lixo, que é um comportamento importante de imunidade social (Cremer et al., 2018). Essa hipótese se confirmou. Esperávamos, também, que na medida em que a fuga fosse mais usada para transporte de lixo, o T seria menos usado. Isso foi observado apenas para o T interno (em que observamos um número menor de arremessos na última semana da fase experimental que na fase de controle), mas não para o T Externo (para o qual a diferença no número de arremessos no T não foi significativa). Essa diferença de comportamento pode estar relacionada com a efetividade do uso do T para o isolamento do lixo: o T interno, como já explicado no capítulo 9, não permite o isolamento do lixo. Ao apresentarmos às colônias um meio efetivo de fazer isso (depositando o lixo na bandeja de fuga, no caso), elas passam a fazer uso desse meio, diminuindo o T. É interessante notar que, apesar da diminuição no número de arremessos, o uso desse T nem sempre foi totalmente interrompido. Podemos atribuir esse ponto à questão da memória: algumas operárias continuaram seguindo o caminho memorizado para o descarte de lixo, em vez de passar a seguir um novo. Conforme vimos, a memória possui um efeito forte na orientação (Czaczkes et al., 2011). Acreditamos que se tivéssemos dado mais algumas semanas, o uso do T teria sido totalmente encerrado nessas colônias. Esse resultado está de acordo com o encontrado no experimento 3 (pontes), em que observamos que nem todas as colônias tiravam o lixo de dentro de sua bandeja de ninho para colocá-lo nas bandejas de lixo. Embora esse aspecto não tenha sido alvo de observação, é possível supor, inclusive, que algumas operárias continuaram transportando o lixo para os locais onde ele era armazenado no início do experimento.

Vale lembrar que, no capítulo 9, levantamos a possibilidade de o uso do T interno ter sido motivado não por seu efeito de isolamento, mas por ser um meio de manipular o lixo e, assim, diminuir os riscos ligados a ele, como observado por outros autores (P. R. G. Leite & Cunha, 1985; Ribeiro & Navas, 2007). Não acreditamos que o resultado do presente experimento invalide essa hipótese: na prática, isolar o lixo do jardim de fungo deve ser mais importante que diminuir sua periculosidade; e levar o lixo para fora usando a fuga é mais importante que manipulá-lo para deixá-lo menos perigoso.

Por outro lado, no T externo, o isolamento do lixo é efetivo, desde que as operárias usem sua extremidade externa para jogar o lixo para fora da colônia. De acordo com Ballari et al. (2007), jogar o lixo para o monte em vez de leva-lo até lá diminuiria o tempo de exposição ao detrito das operárias responsáveis pelo transporte, o que representaria menor custo no transporte. Essa é, também, uma das nossas hipóteses para explicar por que não observamos queda significativa no número de arremessos na fase experimental. Outra possibilidade diz respeito ao efeito da memória: o uso do T para isolamento do lixo teria continuado por inércia após adicionarmos uma nova forma de separar o lixo da colônia, uma vez que ele já vinha acontecendo há semanas. Nesse sentido, esperaríamos que o uso do T acabaria diminuindo, da mesma forma que ocorreu com o T interno, mas em uma velocidade muito mais lenta. Contra essa hipótese, temos a diferença marginalmente significativa no número de dias para iniciar o uso da fuga para transporte de lixo, com o T externo levando, para isso, menos dias que o T interno. Esperávamos que o resultado fosse na direção contrária, até por conta da pressão do lixo contra as colônias que participavam do T interno (já que ele estava se acumulando dentro da bandeja de ninho). Seria interessante aprofundar esses estudos para uma melhor compreensão desses resultados.

Esperávamos, também, que o número de formigas explorando o T se mantivesse igual entre a fase de controle e a fase experimental. O que observamos, porém, foi uma diferença significativa entre os dois resultados, com um menor número de operárias na fase experimental, independente do tipo de T. Acreditamos que essa diferença não deva estar relacionada ao fato de o T ser ou não usado para a manipulação do lixo, mas sim com o fato de a fuga ter aumentado o espaço de exploração da colônia. Haveria, portanto, uma área maior para ser explorada, o que diminuiria a densidade de formigas dentro da colônia e, conseqüentemente, a quantidade de formigas no T.

Um aspecto interessante dos resultados é a forma como a fuga foi usada para o transporte de lixo. Observamos que o lixo transportado por ela foi levado até o monte, na bandeja de fuga, em vez de ser jogado nela a partir da bandeja de ninho, independente do tipo de T que estava dentro da bandeja de ninho e independente de estarem, antes, jogando o lixo para isolá-lo. Esse é um dado curioso e que merece ser aprofundado em estudos futuros: essa seria uma característica do caminho (determinada trajetória estimula um tipo diferente de transporte de lixo) ou uma preferência das operárias (com algumas preferindo levar o lixo até o monte e outras preferindo jogá-lo de algum lugar)?

De forma geral, podemos esperar que o isolamento do lixo seja importante. Se ele já ocorre, diminuir o tempo de contato da operária com o lixo pode ser um aspecto que ganha importância, mesmo para espécies que depositam seu lixo dentro do ninho.

12 CONCLUSÕES GERAIS

Durante o trabalho apresentado nesta tese, procuramos entender como as formigas da espécie *Atta sexdens* interagem com o lixo que produzem. De forma semelhante ao observado na literatura (em Ballari et al. (2007), Farji-Brener et al. (2016), Hart & Ratnieks (2002), Lacerda et al. (2013), Lacerda et al. (2010), Medina et al. (2014), Verza et al. (2017) e Waddington & Hughes (2010), por exemplo), nossos resultados indicam que elas possuem alguma percepção de que o lixo produzido por elas é perigoso e buscam isolá-lo, quer jogando ele por meio de Ts (experimentos 6 – T externo e interno, 7 – Inversão e Luzes e 8 - Fuga), transportando por pontes (experimento 3 – Pontes, 4 – Pontes de tamanhos diferentes e 5 – Pontes invertidas), tratando as lixeiras de forma diferenciada (experimento 1 – Exposição ao lixo), quer evitando passar com folhas sobre o lixo (experimento 2 – Obstáculo).

Um ponto que chamou a atenção durante todos os experimentos é como o início do uso dos diferentes recursos oferecidos para as formigas para isolamento do lixo foi rápido, independente de serem pontes tradicionais ou em Ts (experimentos 3 – Pontes, 4 – Pontes de tamanhos diferentes e 6 – T externo e interno). Igualmente rápida foi a percepção de qual lado seria o adequado para o sucesso da tarefa, quando havia algum (experimento 6 – T externo e interno). Uma vez estabelecido o lado correto, ele não foi mudado – indicando que elas foram capazes de identificar se a estratégia era ou não eficiente. Quando não era, era notável a ausência de preferência por um dos lados, ao longo das diferentes observações. De forma equivalente, temos o número de arremessos, que aumentou ao longo dos dias para o T interno ou após girarmos o T externo (experimento 7 – Inversão e Luzes), se o lado usado para arremessos não fosse a extremidade externa. Uma de nossas interpretações para esse aumento de arremessos é que o acúmulo de lixo dentro da bandeja de ninho fez com que ele se tornasse necessário. Podemos supor, inclusive, que houve recrutamento de operárias para trabalhar no lixo, com mudança do limiar de resposta para exercer essa tarefa, conforme descrito na literatura (Lacerda et al., 2013; Theraulaz et al., 1998).

Esperávamos, porém, que, ao longo do tempo, o uso do T interno (experimento 6) fosse interrompido, uma vez que se mostrou ineficaz. Ao final, isso não apenas não ocorreu, como não houve indícios de que ocorreria. Temos duas hipóteses para explicar esse ponto: ou não oferecemos tempo suficiente para que houvesse a

percepção de que o uso do T era ineficaz ou, de fato, haveria algum benefício em continuar usando o T (por exemplo: jogar o lixo por ele contribuir para a diminuição da sua umidade). Sugerimos que a pesquisa, no futuro, seja replicada de forma a elucidar esses pontos.

O isolamento parece ser o aspecto mais importante no gerenciamento do lixo, conforme foi apontado em outros artigos (Ballari et al., 2007; Farji-Brener et al., 2016; Hart & Ratnieks, 2002; Verza et al., 2017). Isso fica muito evidente nos resultados dos experimentos 3 – Pontes, 4 – Pontes de tamanhos diferentes e 8 – Fuga. No experimento 8 Fuga, por exemplo, notamos que as colônias que estavam usando o T interno para jogar lixo pararam de usá-lo quando a opção da fuga foi apresentada. O mesmo não foi visto se o T usado fosse o T externo. A explicação estaria na questão do isolamento: o T externo permite que o lixo seja isolado da colônia, já que uma de suas extremidades está para fora da bandeja de ninho, logo seu uso não precisa ser abandonado. Por outro lado, o T interno não isola o lixo, logo usar a fuga (que permite o isolamento) é uma alternativa melhor que continuar usando inutilmente o T interno. Ao contrário do que esperávamos, tendo como base a literatura (Hart & Ratnieks (2002), por exemplo), o tamanho do ninho não influenciou a distância até onde o lixo seria depositado, quando foram oferecidos locais a diferentes distâncias para se colocar o lixo (experimento 3 – Pontes). A impressão de uma distância maior para isolamento do lixo também não influenciou o braço da ponte do experimento 4 (Pontes de tamanhos diferentes), que seria usado para transporte de lixo.

Outro aspecto avaliado diz respeito ao meio de orientação para descarte de lixo. Embora os resultados dos experimentos 4 – Pontes de tamanho diferentes, 5 – Pontes invertidas e 7 – Inversão e luzes indiquem a possível existência de pistas químicas orientando o descarte de lixo (conforme observado por Luchesi et al. (2017)), esse certamente não é o único meio de orientação usado para esse transporte. Nossos resultados, particularmente os dos experimentos 5 – Pontes invertidas e 7 – Inversão e luzes apontam que as colônias usaram outros meios para se orientar. Não sabemos definir que meios foram esses, mas o experimento 7 – Luzes sugere que podem ser elementos intrínsecos ao ambiente das operárias (por exemplo: a distribuição dos elementos da bandeja de ninho onde o experimento ocorreu). As operárias lixeiras podem ter memorizado o caminho para descarte de lixo após fazê-lo mais de uma vez. Isso não significaria, porém, que não houve uso de pistas químicas para deslocamento, mas que essas pistas foram usadas conjuntamente a

uma série de outras pistas, da mesma forma como foi observado por Czaczkes et al. (2011).

O contato com o lixo não parece tão aversivo quanto poderia, porém. Podemos dizer isso ao avaliar o resultado observado no experimento 1 – Exposição ao lixo. Nele, pareceu claro que a origem da formiga é mais importante que ter sido ou não exposta a material aversivo, diferente do que foi observado no experimento original (Waddington & Hughes, 2010), mas de alguma forma concordando com o encontrado por Lacerda et. al (2014). A explicação pode estar relacionada à questão de o ambiente de laboratório ser mais limpo e seguro, além de nossas formigas serem alimentadas com folhas de *Acalypha wilkesiana*, que, de acordo com a literatura, produzem lixos mais seguros (Lacerda et al., 2010). Isso talvez minimize o efeito negativo do lixo, se as formigas o “considerarem” mais seguro, tornando-o mais “aceitável” se a exposição for curta. Para exposições de longa duração, porém, como ocorre com as lixeiras, ele ainda é considerado nocivo, conforme vimos em nossos resultados e no número maior de comportamentos agressivos contra lixeiras e de transporte delas para o lixo. Esse perigo também foi observado no experimento 2 – Obstáculos, em que vimos que as formigas evitaram passar carregadas com folhas sobre o obstáculo de lixo, o que provavelmente foi uma estratégia para não contaminá-lo, de forma semelhante ao visto em outros estudos (por exemplo, Hart & Ratnieks (2012)). Não podemos nos esquecer, nesse sentido, da questão da umidade do lixo produzido pelas formigas, já que a umidade é um fator que pode afetar a sua periculosidade (Ribeiro & Navas, 2007).

Este trabalho, embora amplo, deixou diversas questões em aberto. Esperamos que, no futuro, algum pesquisador se aventure nessas questões e tente elucidar esses pontos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS²

- Alcock, J. (2005). *Animal Behavior*. (Vol. 5). Sinauer.
- Altmann, J. (1974). Observational Study of Behavior: sampling methods. *Behaviour*, 49, 227–265.
- Andel, D., & Wehner, R. (2004). Path integration in desert ants, *Cataglyphis*: how to make a homing ant run away from home. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 271(1547), 1485–1489. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2749>
- Arenas, A., & Roces, F. (2016a). Gardeners and midden workers in leaf-cutting ants learn to avoid plants unsuitable for the fungus at their worksites. *Animal Behaviour*, 115, 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2016.03.016>
- Arenas, A., & Roces, F. (2016b). Learning through the waste: olfactory cues from the colony refuse influence plant preferences in foraging leaf-cutting ants. *The Journal of Experimental Biology*, (June), jeb.139568. <https://doi.org/10.1242/jeb.139568>
- Armitage, S. A. O., & Boomsma, J. J. (2010). The effects of age and social interactions on innate immunity in a leaf-cutting ant. *Journal of Insect Physiology*, 56(7), 780–787. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.01.009>
- Aron, S., Deneubourg, J.-L., Goss, S., & Pasteels, J. M. (1990). Functional self-organisation illustrated by internet traffic in ants: the case of the argentine ant. *Biological Motion*.
- Ballari, S., Farji-Brener, A. G., & Tadey, M. (2007). Waste management in the leaf-cutting ant *Acromyrmex lobicornis*: Division of labour, aggressive behaviour, and location of external refuse dumps. *Journal of Insect Behavior*, 20(1), 87–98. <https://doi.org/10.1007/s10905-006-9065-9>
- Bautista, J., Fernández, E., & Pereira, J. (2008). Solving an urban waste collection problem using ants heuristics. *Computers and Operations Research*, 35(9), 3020–3033. <https://doi.org/10.1016/j.cor.2007.01.029>
- Belt, T. (1874). *The Naturalist in Nicaragua*.
- Bennett, A. T. D. (1996). Do animals have cognitive maps? *The Journal of Experimental Biology*, 199(1), 219–224. <https://doi.org/10.1.1.318.4634>
- Benoit, G. (2013). An Overview of the Species and Ecological Diversity of Ants. *eLS*, 1–10. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0023598>

² De acordo com o estilo APA (*American Psychological Association*).

- Beshers, S. N., & Fewell, J. H. (2001). Models of division of labor in social insects. *Annual Review of Entomology*, 46, 413–440.
- Blomquist, G. J., & Bagnères, A.-G. (2010). *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry, and Chemical Ecology*. Cambridge University Press.
- Bonabeau, E., Theraulaz, G., Deneubourg, J.-L., Aron, S., & Camazine, S. (1997). Self-organization in social insects. *Trends in Ecology and Evolution*, 12(5), 188–193. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(97\)01048-3](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(97)01048-3)
- Bot, A. N. M., Currie, C. R., Hart, A. G., & Boomsma, J. J. (2001). Waste management in leaf-cutting ants. *Ethology Ecology & Evolution*, 13, 225–237.
- Breed, M. D. (2014). Kin and nestmate recognition: The influence of W. D. Hamilton on 50years of research. *Animal Behaviour*, 92, 271–279. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2014.02.030>
- Burkart, J. M., Hrdy, S. B., & Schaik, C. P. Van. (2009). Cooperative breeding and human cognitive evolution. *Evolutionary Anthropology*, 18, 175–186. <https://doi.org/10.1002/evan.20222>
- Carvalho, A. M. A. (1995). Organização do trabalho em colônias de saúvas: relações locais e objetos das atividades. *Psicologia USP*, 6(1), 95–121.
- Châline, N., Ferreira, R. S., Yagound, B., Silva, J. P. da, & Chameron, S. (2015). Comunicação e comportamento de formigas poneromorfas. In J. H. Delabie, R. M. Feitosa, J. E. Serrão, C. S. Mariano, & D. J. Majer (Eds.), *As formigas Poneromorfas do Brasil* (pp. 203–236). Ilhéus: Editus.
- Chapuisat, M. (2009). Social Evolution: The Smell of Cheating. *Current Biology*, 19(5), R196–R198. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.12.039>
- Cremer, S., Armitage, S. A. O., & Schmid-Hempel, P. (2007). Social Immunity. *Current Biology*, 17(16), 693–702. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.06.008>
- Cremer, S., Pull, C. D., & Fürst, M. A. (2018). Social Immunity: Emergence and Evolution of Colony-Level Disease Protection. *Annual Review of Entomology*, 63(1), 105–123. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-020117-043110>
- Cross, J. H., Byler, R. C., Ravid, U., Silverstein, R. M., Robinson, S. W., Baker, P. M., ... Cherrett, J. M. (1979). The major component of the trail pheromone of the leaf-cutting ant, *Atta sexdens rubropilosa* forel. *Journal of Chemical Ecology*, 5(2), 187–203. <https://doi.org/10.1007/BF00988234>
- Cunha, W. H. de A. (2004). On the panic reactions of ants to a crushed conspecific: a contribution to a psychoethology of fear. *Revista de Etologia*, 6, 133–140.

- Retrieved from <http://pepsic.bvsalud.org/pdf/reto/v6n2/v6n2a07.pdf>
- Czaczkes, T. J., Grüter, C., Jones, S. M., & Ratnieks, F. L. W. (2011). Synergy between social and private information increases foraging efficiency in ants. *Biology Letters*, 7(4), 521–524. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2011.0067>
- Czechowski, W. (2008). Around-nest “cemeteries” of *Myrmica schencki* em. (hymenoptera: Formicidae): Their origin and a possible significance. *Polish Journal of Ecology*, 56(2), 359–363.
- Darwin, C. (1859). *On the Origin of Species by Means of Natural Selection*. Londres: John Murray.
- Della Lucia, T. M. C. (1993). *As formigas cortadeiras*. Viçosa: UFV.
- Diez, L., Deneubourg, J.-L., & Detrain, C. (2012). Social prophylaxis through distant corpse removal in ants. *Naturwissenschaften*, 99(10), 833–842. <https://doi.org/10.1007/s00114-012-0965-6>
- Diez, L., Deneubourg, J.-L., Hoebeker, L., & Detrain, C. (2011). Orientation in corpse-carrying ants: Memory or chemical cues? *Animal Behaviour*, 81(6), 1171–1176. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.02.026>
- Diez, L., Le Borgne, H., Lejeune, P., & Detrain, C. (2013). Who brings out the dead? Necrophoresis in the red ant, *Myrmica rubra*. *Animal Behaviour*, 86(6), 1259–1264. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2013.09.030>
- Diez, L., Lejeune, P., & Detrain, C. (2014). Keep the nest clean: survival advantages of corpse removal in ants. *Biology Letters*, 10(7), 20140306. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0306>
- Diez, L., Moquet, L., & Detrain, C. (2013). Post-mortem Changes in Chemical Profile and their Influence on Corpse Removal in Ants. *Journal of Chemical Ecology*, 39(11–12), 1424–1432. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0365-1>
- Dornhaus, A., & Franks, N. R. (2008). Individual and collective cognition in ants and other insects (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 11(August), 215–226.
- Farji-Brener, A. G., Elizalde, L., Fernández-Marín, H., & Amador-Vargas, S. (2016). Social life and sanitary risks: evolutionary and current ecological conditions determine waste management in leaf-cutting ants. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 283(1831), 20160625. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0625>
- Franks, N. R., Hooper, J., Webb, C., & Dornhaus, A. (2005). Tomb evaders: house-

- hunting hygiene in ants. *Biology Letters*, 1(2), 190–192.
<https://doi.org/10.1098/rsbl.2005.0302>
- Goss, S., Aron, S., Deneubourg, J.-L., & Pasteels, J. M. (1989). Self-organized Shortcuts in the Argentine Ant. *Naturwissenschaften*, 76, 579–581.
- Grüter, C., & Leadbeater, E. (2014). Insights from insects about adaptive social information use. *Trends in Ecology and Evolution*, 29(3), 177–184.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.01.004>
- Hamilton, W. D. (1964). The Genetical Evolution of Social Behaviour . I. *Journal of Theoretical Biology*, 7, 1–16.
- Hart, A. G., & Ratnieks, F. L. W. (2002). Waste management in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Behavioral Ecology*, 13(2), 224–231.
<https://doi.org/10.1093/beheco/13.2.224>
- Heinze, J., & Walter, B. (2010). Moribund Ants Leave Their Nests to Die in Social Isolation. *Current Biology*, 20(3), 249–252.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.12.031>
- Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (1990). *The Ants*. Belknap Press.
- Jutsum, A. R. (1979). Interspecific aggression in leaf-cutting ants. *Animal Behaviour*, 27(PART 3), 833–838. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(79\)90020-4](https://doi.org/10.1016/0003-3472(79)90020-4)
- Jutsum, A. R., Saunders, T. S., & Cherrett, J. M. (1979). Intraspecific Aggression In the Leaf-cutting Ant *Acromyrmex octospinosus*. *Anim Behav*, 27(AUG), 839–844.
[https://doi.org/10.1016/0003-3472\(79\)90021-6](https://doi.org/10.1016/0003-3472(79)90021-6)
- Keller, L., & Gordon, É. (2009). *The lives of ants*. New York: Oxford University Press.
- Lacerda, F. G. (2008). *Comportamento e morfologia de Atta sexdens rubropilosa (Hymenoptera: formicidae) envolvidas na manipulação de lixo das colônias*. Tese Entomologia UFV. Universidade Federal de Viçosa.
- Lacerda, F. G., Della Lucia, T. M. C., DeSouza, O., de Souza, L. M., & de Souza, D. J. (2013). Task Performance of Midden Workers of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior*, 26(6), 873–880.
<https://doi.org/10.1007/s10905-013-9403-7>
- Lacerda, F. G., Della Lucia, T. M. C., Desouza, O., Pereira, O. L., Kasuya, M. C. M., De Souza, L. M., ... De Souza, D. J. (2014). Social interactions between fungus garden and external workers of *Atta sexdens* (Linnaeus) (Hymenoptera: Formicidae). *Italian Journal of Zoology*, 81(2), 298–303.
<https://doi.org/10.1080/11250003.2014.911369>

- Lacerda, F. G., Della Lucia, T. M. C., Pereira, O. L., Peternelli, L. a, & Tótola, M. R. (2010). Mortality of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers in contact with colony waste from different plant sources. *Bulletin of Entomological Research*, 100(1), 99–103. <https://doi.org/10.1017/S000748530900683X>
- Larsen, J., Nehring, V., d'Ettorre, P., & Bos, N. (2016). Task specialization influences nestmate recognition ability in ants. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 70(9), 1433–1440. <https://doi.org/10.1007/s00265-016-2152-9>
- Leclerc, J.-B., & Detrain, C. (2016). Ants detect but do not discriminate diseased workers within their nest. *The Science of Nature*, 103(7–8), 70. <https://doi.org/10.1007/s00114-016-1394-8>
- Leite, P. A. M., & Cunha, W. H. de A. (n.d.). Construção com depósitos de detritos pela saúva (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908): fatores desencadeantes e provável função.
- Leite, P. R. G., & Cunha, W. H. A. (1985). Construção com depósitos de detritos pela saúva (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908): fatores desencadeantes e provável função. *Cienc. Cult.*, 37(7) (Res(7), ??
- Liang, D., & Silverman, J. (2000). “You are what you eat”: Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften*, 87(9), 412–416. <https://doi.org/10.1007/s001140050752>
- Luchesi, S. H., de Brito Chaves, G., Otta, E., & David, V. F. (2017). Controle do tráfego de formigas carregadoras de lixo em *Atta sexdens*. In *Temas atuais em ecologia comportamental e interações Anais do II Beclnt – behavioral ecology and interactions symposium*. (pp. 241–251).
- Martinoya, C., Bloch, S., Ventura, D., & Puglia, N. (1975). Spectral efficiency as measured by ERG in the ant (*Atta sexdens rubropilosa*). *Journal of Comparative Physiology*, 104(2), 205–210.
- Masri, L., & Cremer, S. (2014). Individual and social immunisation in insects. *Trends in Immunology*, 35(10), 471–482. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.08.005>
- Medina, L. A. M., Hart, A. G., & Ratnieks, F. L. W. (2014). Waste management in the stingless bee *Melipona beecheii* Bennett (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, 61(4), 435–440. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v61i4.435-440>
- Meunier, J. (2015). Social immunity and the evolution of group living in insects. *Philosophical Transactions B of the Royal Society*, 370, 20140102. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0102>

- Moreau, C. S., Bell, C. D., Vila, R., Archibald, S. B., & Pierce, N. P. (2006). Phylogeny of the Ants : Diversification in the Age of Angiosperms. *Science*, 312(7 abril), 101–104. <https://doi.org/10.1126/science.1124891>
- Norman, V. C., Butterfield, T., Drijfhout, F., Tasman, K., & Hughes, W. O. H. (2017). Alarm Pheromone Composition and Behavioral Activity in Fungus-Growing Ants. *Journal of Chemical Ecology*. <https://doi.org/10.1007/s10886-017-0821-4>
- Nowak, M. A., Tarnita, C. E., & Wilson, E. O. (2010). The evolution of eusociality. *Nature*, 466(7310), 1057–62. <https://doi.org/10.1038/nature09205>
- Pearce, J. M. (2008). *Animal Learning and Cognition, 2nd Edition: An Introduction*. New York: Psychology Press. <https://doi.org/10.1007/s10892-007-9017-4>
- Plowes, N. J. R. (2010). An Introduction to Eusociality. *Nature Education Knowledge*, 3(10), 7.
- Quinlan, R. J., & Cherrett, J. M. (1979). The role of fungus in the diet of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.). *Ecological Entomology*.
- Ratnieks, F. L. W., & Wenseleers, T. (2008). Altruism in insect societies and beyond: voluntary or enforced? *Trends in Ecology and Evolution*, 23(1), 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.09.013>
- Ribeiro, P. L., Helene, A. F., Xavier, G., Navas, C., & Ribeiro, F. L. (2009). Ants can learn to forage on one-way trails. *PLoS ONE*, 4(4), e5024. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005024>
- Ribeiro, P. L., & Navas, C. A. (2007). The leaf-cutting ant *Atta Sexdens rubropilosa*, FOREL, 1908 prefers drier chambers for garbage disposal. *Journal of Insect Behavior*, 20(1), 19–24. <https://doi.org/10.1007/s10905-006-9052-1>
- Riveros, A. J., Esquivel, D. M. S., Wajnberg, E., & Srygley, R. B. (2014). Do leaf-cutter ants *Atta colombica* obtain their magnetic sensors from soil? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 68(1), 55–62. <https://doi.org/10.1007/s00265-013-1621-7>
- Riveros, A. J., & Srygley, R. B. (2008). Do leafcutter ants, *Atta colombica*, orient their path-integrated home vector with a magnetic compass? *Animal Behaviour*, 75(4), 1273–1281. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2007.09.030>
- Robinson, E. J. H. (2009). Physiology as a caste-defining feature. *Insectes Sociaux*, 56(1), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s00040-008-1035-0>
- Robinson, E. J. H., Green, K. E., Jenner, E. A., Holcombe, M., & Ratnieks, F. L. W. (2008). Decay rates of attractive and repellent pheromones in an ant foraging trail network. *Insectes Sociaux*, 55(3), 246–251. <https://doi.org/10.1007/s00040-008->

0994-5

- Roces, F., & Kleineidam, C. (2000). Humidity preference for fungus culturing by workers of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Insectes Sociaux*, 47, 348–350. <https://doi.org/10.1007/PL00001728>
- Schmid-Hempel, P. (2017). The Parasites and Their Social Hosts. *Parasites in Social Insects*, 33(6), 453–462. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.01.003>
- Silva, A., Bacci, M., Gomes De Siqueira, C., Correa Bueno, O., Pagnocca, F. C., & Aparecida Hebling, M. J. (2003). Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. *Journal of Insect Physiology*, 49(4), 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(03\)00004-0](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(03)00004-0)
- Silva, J. P. da. (2017). *Forrageamento de Pachycondyla striata Smith , 1858 (Hymenoptera : Formicidae : Ponerinae) em ambiente urbano*. Universidade de São Paulo.
- Souza, M. D. De, Peres Filho, O., Caldeira, S. F., Dorval, A., & Sousa, N. J. (2012). Desenvolvimento in vitro do fungo simbiote de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) em meio de cultura com diferentes extratos vegetais. *Ciência Rural*, 42(Setembro), 1603–1609. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012005000058>
- Sun, Q., & Zhou, X. (2013). Corpse management in social insects. *International Journal of Biological Sciences*, 9(3), 313–321. <https://doi.org/10.7150/ijbs.5781>
- Theraulaz, G., Bonabeau, E., & Deneubourg, J.-L. (1998). Response threshold reinforcements and division of labour in insect societies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 265(1393), 327–332. <https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0299>
- Traniello, J. F. A., & Rosengaus, R. B. (1997). Ecology, evolution and division of labour in social insects. *Anim. Behav.*, 53(1), 209–213. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1006/anbe.1996.0289>
- Troitino, L. (2015). *Descrição do processo de tomada de decisão e resolução de problemas durante o forrageamento e investigação de um feromônio repelente em Atta sexdens rubropilosa*. USP.
- Ugelvig, L. V, Kronauer, D. J. C., Schrempf, A., Heinze, J., & Cremer, S. (2010). Rapid anti-pathogen response in ant societies relies on high genetic diversity. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 277(1695), 2821–2828. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0644>

- Valadares, L., Nascimento, D., & Nascimento, F. S. do. (2015). Foliar substrate affects cuticular hydrocarbon profiles and intraspecific aggression in the leafcutter ant *Atta sexdens*. *Insects*, 6(1), 141–151. <https://doi.org/10.3390/insects6010141>
- Valadares, L., & Nascimento, F. S. do. (2016). Chemical cuticular signature of leafcutter ant *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae) worker subcastes. *Revista Brasileira de Entomologia*, 60(4), 308–311. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2016.06.008>
- Verza, S. S., Diniz, E. A., Chiarelli, M. F., Mussury, R. M., & Bueno, O. C. (2017). Waste of leaf-cutting ants: disposal, nest structure, and abiotic soil factors around internal waste chambers. *Acta Ethologica*, 20(2), 119–126. <https://doi.org/10.1007/s10211-017-0255-6>
- Vilela, E. F., Jaffé, K., & Howse, P. E. (1987). Orientation in leaf-cutting ants (Formicidae: Attini). *Animal Behaviour*.
- Waddington, S. J., & Hughes, W. O. H. (2010). Waste management in the leaf-cutting ant *Acromyrmex echinator*: The role of worker size, age and plasticity. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64(8), 1219–1228. <https://doi.org/10.1007/s00265-010-0936-x>
- Ward, P. S. (2014). The Phylogeny and Evolution of Ants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 45(1), 23–43. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-120213-091824>
- Wehner, R. (1999). Large-scale navigation: the insect case. In C. Freksa & D. M. Mark (Eds.), *Spatial information theory: cognitive and computational foundations of geographic information science* (pp. 1–20). New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Retrieved from http://www.math.tau.ac.il/~mansour/course_games/nash-load.pdf
- Wenseleers, T., & Ratnieks, F. L. W. (2006). Enforced altruism in insect societies. *Nature*, 444(November), 6–9. <https://doi.org/10.1086/50>
- Whitehouse, M. E. A., & Lubin, Y. (2005). The functions of societies and the evolution of group living: Spider societies as a test case. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 80(3), 347–361. <https://doi.org/10.1017/S1464793104006694>
- Wilson, E. O. (1971). *The insect societies*. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.
- Wilson, E. O. (1980). Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera:

- Formicidae: *Atta*) I. The overall pattern in *A. sexdens*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 7(1), 143–156. <https://doi.org/10.1007/BF00299520>
- Wilson, E. O., & Hölldobler, B. (2005). Eusociality: Origin and consequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(38), 13367–13371. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505858102>
- Wystrach, A., & Graham, P. (2012). What can we learn from studies of insect navigation? *Animal Behaviour*, 84(1), 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2012.04.017>

ANEXO I – DADOS SOBRE AS COLÔNIAS

Colônias	Ano de coleta	Local da coleta	Exposição ao lixo	Obstáculo (lixo)	Obstáculo (terra)	Obstáculo (milho)	Pontes	Pontes de tamanhos diferentes e invertida	T externo	T externo invertido	Fuga controlada (T externo)
1	2012	Corumbataí	Sim				Sim		Sim	Sim	
2	2012	Corumbataí							Sim		
3	2012	Corumbataí							Sim		
4	2012	Corumbataí	Sim		Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
5	2012	Corumbataí		Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
7	NS	NS		Sim	Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
8	2014	Itirapina		Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
9	NS	NS		Sim	Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
10	NS	NS	Sim								
B1	2014	Itirapina				Sim	Sim		Sim	Sim	Sim
B2	2014	Itirapina		Sim	Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
B3	2014	Itirapina							Sim	Sim	Sim
B4	2014	Itirapina		Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
B5	2014	Itirapina		Sim			Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
B6	2014	Itirapina					Sim		Sim		
B7	2014	Itirapina		Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
B9	2014	Itirapina		Sim	Sim		Sim	Sim	Sim		
B10	2014	Itirapina			Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
B14	2014	Itirapina		Sim	Sim	Sim			Sim		
B15	2014	Itirapina									
B16	2014	Itirapina									
B17	2014	Itirapina		Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

Colônias	T interno	Fuga controlada (T interno)	Luzes 1 - Luz parada, T muda de lugar	Luzes 2 - Luz parada, T gira	Luzes 3 - Luz muda de lugar, T gira	Luzes 4 - Luz e T mudam de lugar
1	Sim					
2	Sim					
3	Sim					
4	Sim	Sim	Sim			Sim
5	Sim	Sim	Sim			Sim
7	Sim	Sim	Sim	Sim		
8	Sim	Sim				
9	Sim	Sim		Sim	Sim	
10						
B1	Sim	Sim			Sim	
B2	Sim	Sim		Sim		Sim
B3	Sim	Sim				
B4	Sim	Sim		Sim	Sim	
B5	Sim	Sim			Sim	Sim
B6	Sim	Sim				
B7	Sim	Sim	Sim	Sim		
B9	Sim	Sim				
B10	Sim	Sim			Sim	Sim
B14						
B15	Sim	Sim				
B16	Sim	Sim				
B17	Sim	Sim	Sim		Sim	

ANEXO II – CRONOGRAMA FINAL

Colônias	Exposição ao lixo		Obstáculo (lixo)		Obstáculo (terra)		Obstáculo (milho)		Pontes	
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim
1	30/04/2015	21/05/2015	-	-	-	-	-	-	24/01/2014	17/02/2014
2			-	-	-	-	-	-	-	-
3			-	-	-	-	-	-	-	-
4	22/05/2015	08/06/2015	-	-	26/01/2017	27/01/2017	-	-	29/07/2016	26/08/2016
5			26/12/2016	27/12/2016	-	-	26/01/2017	27/01/2017	17/02/2017	10/03/2017
7			26/12/2016	27/12/2016	27/01/2017	28/01/2017	-	-	28/10/2016	25/11/2016
8			27/12/2016	28/12/2016	-	-	27/01/2017	28/01/2017	28/08/2016	23/09/2016
9			27/12/2016	28/12/2016	28/01/2017	29/01/2017	-	-	21/05/2017	24/06/2017
10	26/05/2015	03/06/2015	-	-	-	-	-	-	-	-
B1			-	-	-	-	28/01/2017	29/01/2017	16/12/2016	13/01/2017
B2			30/12/2016	31/12/2016	02/02/2017	03/02/2017	-	-	19/03/2017	16/04/2017
B3			-	-	-	-	-	-	19/01/2016	13/03/2016
B4			28/12/2016	29/12/2016	-	-	02/02/2017	03/02/2017	01/07/2016	22/07/2016
B5			28/12/2016	29/12/2016	-	-	-	-	20/01/2017	10/02/2017
B6			-	-	-	-	-	-	22/04/2017	20/05/2017
B7			29/12/2016	30/12/2016	-	-	03/02/2017	04/02/2017	23/04/2017	12/05/2017
B9			29/12/2016	30/12/2016	03/02/2017	04/02/2017	-	-	27/03/2016	06/05/2016
B10			-	-	04/02/2017	05/02/2017	-	-	07/07/2017	05/08/2017
B14			29/04/2016	01/05/2016	29/04/2016	01/05/2016	29/04/2016	01/05/2016	-	-
B15			-	-	-	-	-	-	-	-
B16			-	-	-	-	-	-	-	-
B17			30/12/2016	31/12/2016	-	-	04/02/2017	05/02/2017	30/09/2016	21/10/2016

Colônias	Pontes de tamanhos diferentes e invertidas				T externo		T externo invertido		Fuga controlada (T externo)	
	Início	Meio	Fim		Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim
1	-	-	-		14/04/2014	01/05/2014	05/05/2014	04/09/2014	-	-
2	-	-	-		14/04/2014	06/06/2014	-	-	-	-
3	-	-	-		14/04/2014	04/09/2014	-	-	-	-
4	28/01/2017	03/02/2017	10/02/2017		21/10/2016	19/11/2016	19/11/2016	16/12/2016	16/12/2016	20/01/2017
5	19/03/2017	24/03/2017	02/04/2017		30/05/2016	01/07/2016	01/07/2016	29/07/2016	29/07/2016	02/09/2016
7	17/04/2017	29/04/2017	05/05/2017		08/07/2016	07/08/2016	07/08/2016	02/09/2016	02/09/2016	07/10/2016
8	14/01/2017	20/01/2017	27/01/2017		27/03/2016	04/05/2016	04/05/2016	03/06/2016	03/06/2016	08/07/2016
9	01/04/2017	07/04/2017	14/04/2017		01/07/2016	29/07/2016	29/07/2016	28/08/2016	28/08/2016	02/10/2016
10	-	-	-		-	-	-	-	-	-
B1	-	-	-		08/07/2016	12/08/2016	12/08/2016	07/10/2016	07/10/2016	11/11/2016
B2	28/01/2017	03/02/2017	10/02/2017		16/01/2016	05/03/2016	05/03/2016	02/04/2016	02/04/2016	13/05/2016
B3	-	-	-		18/03/2016	15/04/2016	15/04/2016	08/07/2016	08/07/2016	12/08/2016
B4	19/03/2017	24/03/2017	02/04/2017		24/03/2017	23/04/2017	23/04/2017	21/05/2017	21/05/2017	19/06/2017
B5	04/03/2017	10/03/2017	17/03/2017		24/03/2017	23/04/2017	23/04/2017	21/05/2017	21/05/2017	19/06/2017
B6	-	-	-		25/11/2016	20/01/2017	-	-	-	-
B7	01/04/2017	14/04/2017	22/04/2017		27/02/2016	02/04/2016	02/04/2016	01/05/2016	01/05/2016	05/06/2016
B9	17/04/2017	29/04/2017	05/05/2017		04/02/2017	01/04/2017				
B10	04/03/2017	10/03/2017	17/03/2017		20/08/2016	17/09/2016	16/09/2016	16/12/2016	16/12/2016	27/01/2017
B14	-	-	-		22/12/2015	01/03/2016	-	-	-	-
B15	-	-	-		-	-	-	-	-	-
B16	-	-	-		-	-	-	-	-	-
B17	14/01/2017	20/01/2017	27/01/2017		14/05/2016	17/06/2016	17/06/2016	15/07/2016	15/07/2016	19/08/2016

Colônias	T interno		Fuga controlada (T interno)		Luzes 1 - Luz parada, T muda de lugar			Luzes 2 - Luz parada, T gira		
	Início	Fim	Início	Fim	Início P1	Inversão1	Fim	Início P1	Inversão1	Fim
1	09/03/2015	03/04/2015	-	-	-	-	-	-	-	-
2	30/06/2014	04/09/2014	-	-	-	-	-	-	-	-
3	09/03/2015	03/04/2015	-	-	-	-	-	-	-	-
4	07/08/2014	19/09/2014	06/10/2014	01/12/2014	03/06/2017	23/06/2017	15/07/2017	-	-	-
5	07/08/2014	19/09/2014	06/10/2014	01/12/2014	03/06/2017	23/06/2017	15/07/2017	-	-	-
7	04/02/2017	04/03/2017	04/03/2017	07/04/2017	03/06/2017	23/06/2017	15/07/2017	16/07/2017	04/08/2017	25/08/2017
8	07/08/2014	19/09/2014	06/10/2014	01/12/2014	-	-	-	-	-	-
9	20/01/2017	17/02/2017	17/02/2017	24/03/2017	-	-	-	16/07/2017	04/08/2017	25/08/2017
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B1	31/03/2017	28/04/2017	28/04/2017	26/05/2017	-	-	-	-	-	-
B2	25/11/2016	31/12/2016	31/12/2016	20/01/2017	-	-	-	16/07/2017	04/08/2017	25/08/2017
B3	02/12/2016	31/12/2016	31/12/2016	28/01/2017	-	-	-	-	-	-
B4	10/09/2016	15/10/2016	15/10/2016	16/12/2016	-	-	-	16/07/2017	04/08/2017	25/08/2017
B5	09/09/2016	07/10/2016	07/10/2016	11/11/2016	-	-	-	-	-	-
B6	22/12/2015	22/01/2016	22/01/2016	11/03/2016	-	-	-	-	-	-
B7	20/01/2017	17/02/2017	17/02/2017	24/03/2017	04/06/2017	23/06/2017	15/07/2017	16/07/2017	04/08/2017	25/08/2017
B9	03/06/2016	01/07/2016	01/07/2016	07/08/2016	-	-	-	-	-	-
B10	07/04/2017	05/05/2017	05/05/2017	09/06/2017	-	-	-	-	-	-
B14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B15	22/12/2015	22/01/2016	22/01/2016	11/03/2016	-	-	-	-	-	-
B16	22/12/2015	22/01/2016	22/01/2016	11/03/2016		-	-	-	-	-
B17	22/12/2015	22/01/2016	22/01/2016	20/03/2016	03/06/2017	23/06/2017	15/07/2017	-	-	-

Colônias	Luzes 3 - Luz muda de lugar, T gira				Luzes 4 - Luz e T mudam de lugar		
	Início P1	Inversão1	Fim		Início P1	Inversão1	Fim
1	-	-	-		-	-	-
2	-	-	-		-	-	-
3	-	-	-		-	-	-
4	-	-	-		08/10/2017	29/10/2017	17/11/2017
5	-	-	-		08/10/2017	29/10/2017	17/11/2017
7	-	-	-		-	-	-
8	-	-	-		-	-	-
9	27/08/2017	17/09/2017	06/10/2017		-	-	-
10	-	-	-		-	-	-
B1	-	-	-		-	-	-
B2	-	-	-		08/10/2017	29/10/2017	17/11/2017
B3	-	-	-		-	-	-
B4	27/08/2017	17/09/2017	06/10/2017		-	-	-
B5	27/08/2017	17/09/2017	06/10/2017		08/10/2017	29/10/2017	17/11/2017
B6	-	-	-		-	-	-
B7	-	-	-		-	-	-
B9	-	-	-		-	-	-
B10	27/08/2017	17/09/2017	06/10/2017		08/10/2017	29/10/2017	17/11/2017
B14	-	-	-		-	-	-
B15	-	-	-		-	-	-
B16	-	-	-		-	-	-
B17	27/08/2017	17/09/2017	06/10/2017		-	-	-

ANEXO III – DADOS EXTRAS DO EXPERIMENTO 1 (EXPOSIÇÃO AO LIXO)

Considerando que a análise avaliando todos os grupos não apresentou diferença significativa entre elas, optamos por fazer uma avaliação mais detalhada, iniciando com um teste para verificar se, para cada tipo de tratamento (lixo, hortelã ou tubo vazio) e função da formiga (forrageadora ou lixeira), o tempo de tratamento (10 segundos, 10 minutos ou 30 minutos) afetaria essa distribuição, usando um teste Qui-quadrado com tabela de dupla entrada. A Tabela 25 apresenta o resultado do teste aplicado:

Tabela 25 – Resultado do teste Qui-quadrado aplicado nos dados de frequência para se a primeira interação foi agressiva ou não, por tempo de tratamento

	Tipo de contato	p	Forrageadora			p	Lixeira		
			10 segundos	10 minutos	30 minutos		10 segundos	10 minutos	30 minutos
Exposição a lixo	Agressivo	0,65	60,0%	42,9%	53,3%	0,91	53,3%	46,7%	53,3%
	Não agressivo		40,0%	57,1%	46,7%		46,7%	53,3%	46,7%
	Tipo de contato	p	Forrageadora			p	Lixeira		
			10 segundos	10 minutos	30 minutos		10 segundos	10 minutos	30 minutos
Exposição a hortelã	Agressivo	0,41	50,0%	60,0%	73,3%	0,24	73,3%	46,7%	46,7%
	Não agressivo		50,0%	40,0%	26,7%		26,7%	53,3%	53,3%
	Tipo de contato	p	Forrageadora			p	Lixeira		
			10 segundos	10 minutos	30 minutos		10 segundos	10 minutos	30 minutos
Exposição Tubo Vazio	Agressivo	0,70	40,0%	53,3%	40,0%	0,28	60,0%	53,3%	80,0%
	Não agressivo		60,0%	46,7%	60,0%		40,0%	46,7%	20,0%

Fonte: a autora

Podemos observar que a distribuição das frequências de agressividade no primeiro encontro com a formiga focal não sofreu influência do tempo de exposição ao tratamento. A seguir, avaliamos se o tipo de tratamento (lixo, hortelã ou tubo vazio)

influenciou a distribuição dessa agressividade. A Tabela 26 apresenta o resultado do Qui-quadrado:

Tabela 26 – Resultado do teste Qui-quadrado aplicado nos dados de frequência para se a primeira interação foi agressiva ou não, por tipo de tratamento

		Tratamento				
	Primeiro contato	P	Lixo	Hortelã	Controle vazio	Externa
Forrageadora	Agressivo	0,45	52,3%	60,9%	44,4%	46,7%
	Não agressivo		47,7%	39,1%	55,6%	53,3%
Lixeira	Agressivo	0,35	51,1%	55,6%	64,4%	40,0%
	Não agressivo		48,9%	44,4%	35,6%	60,0%

Fonte: a autora

Novamente observamos que o tipo de tratamento também não afetou a distribuição de agressividade, ou não no primeiro contato com a formiga focal. A última série de testes sobre esse assunto avaliou se a função da formiga (forrageadora ou lixeira) afetou essa agressividade. De novo, excluimos as focais vindas de outras colônias, pois entendemos que essa é uma característica que vai além do tratamento experimental, mas também diz respeito à sua função. A Tabela 27 apresenta o resultado do Qui-quadrado:

Tabela 27 – Resultado do teste Qui-quadrado aplicado nos dados de frequência para se a primeira interação foi agressiva ou não, por função da formiga

		Função da formiga	
	Primeiro contato	P	
	Agressivo	0,46	Forrageadora
	Não agressivo		Lixeira

Fonte: a autora

O último resultado indica-nos que a função da formiga também não afetou a agressividade no seu primeiro contato.

A análise seguinte avaliou se haveria diferença no índice de agressividade nos primeiros 10 segundos, considerando o tempo de exposição com o tratamento por meio do teste Kruskal-Wallis. A Tabela 28 apresenta o resultado dessa análise:

Tabela 28 – Índice de agressividade nos primeiros 10 segundos de experimento, de acordo com a função da formiga focal, o tratamento experimental e o tempo de exposição

	p	Forrageadora			p	Lixeira		
		10 segundos	10 minutos	30 minutos		10 segundos	10 minutos	30 minutos
Exposição ao lixo	0,83	1,47±0,64	1,57±0,65	1,47±0,64	0,13	1,2±0,77	1,13±0,64	1,6±0,51
Exposição à hortelã	0,51	1,38±0,62	1,27±0,7	1,53±0,64	0,94	1,27±0,88	1,33±0,62	1,27±0,59
Exposição Tubo vazio	0,40	1,27±0,7	1,6±0,51	1,4±0,63	0,97	1,33±0,62	1,27±0,7	1,33±0,62

Fonte: a autora

Conforme podemos observar, o índice de agressividade nos primeiros 10 segundos do experimento não variou de acordo com o tempo de exposição a cada um dos tipos de tratamento e a função da formiga focal.

A segunda análise avaliou se esse mesmo índice variou de acordo com apenas o tratamento experimental da formiga focal (ou seja, se ela foi exposta a lixo, hortelã, ou tubo vazio, ou era uma operária de outra colônia). A Tabela 29 apresenta o resultado do teste Kruskal-Wallis aplicado:

Tabela 29 – Índice de agressividade nos primeiros 10 segundos, de acordo com a função da formiga focal e o tratamento experimental

	p	Tratamento			
		Lixo	Hortelã	Tubo vazio	Externa
Forrageadora	0,82	1,5±0,63	1,39±0,65	1,42±0,62	1,47±0,74
Lixeira	1,00	1,31±0,67	1,29±0,69	1,31±0,63	1,33±0,49

Fonte: a autora

Observamos novamente que os dados de agressividade não variaram de acordo com o tipo de tratamento apresentado.

Finalmente, foram feitas análises com os índices de agressividade para 3 minutos entre todos os grupos. A Tabela 30 apresenta o resultado dessa análise:

Tabela 30 – Índices de agressividade para 3 minutos para cada uma das categorias experimentais

	Índice			
	Abertura de mandíbula	Mordida	Carregamento	Total
P	0,72	0,57	0,09	0,08
Exposição Lixo Forrageadora 10 segundos	9,67±3,02	8,13±4,88	1±2,2	28,93±13,02
Exposição Lixo Lixeira 10 segundos	10,13±2,97	9,13±3,81	1,33±3,5	32,4±14,13
Exposição Lixo Forrageadora 10 minutos	10,21±3,87	10,79±4,59	0,86±1,7	34,36±11,74
Exposição Lixo Lixeira 10 minutos	11,53±2,13	10,33±4,64	3,2±3,21	41,8±12,72
Exposição Lixo Forrageadora 30 minutos	9,87±4,19	8,6±4,87	1,2±2,68	30,67±13,19
Exposição Lixo Lixeira 30 minutos	10,27±2,28	9,47±3,68	4,67±5,46	43,2±19,44
Exposição Hortelã Forrageadora 10 segundos	11,06±3,26	7±3,97	0,63±1,15	26,94±10,16
Exposição Hortelã Lixeira 10 segundos	10±3,36	8,67±5,19	2±3,05	33,33±13,9
Exposição Hortelã Forrageadora 10 minutos	10,27±4,18	7,47±5,34	0,27±0,7	26±13,33
Exposição Hortelã Lixeira 10 minutos	11,27±3,95	10,67±4,55	1,07±2,37	35,8±14,55
Exposição Hortelã Forrageadora 30 minutos	11,67±4,58	10,53±4,45	1,67±3,24	37,73±14,8
Exposição Hortelã Lixeira 30 minutos	10,53±3,81	9,6±5,15	3,33±5,04	39,73±20,58
Exposição Controle Forrageadora 10 segundos	11±2,73	8,33±5,55	0,33±0,9	28,67±14,07
Exposição Controle Lixeira 10 segundos	10±2,1	7,8±3,82	1,93±3,65	31,4±17,26
Exposição Controle Forrageadora 10 minutos	10,33±4,2	8,53±4,88	1,07±1,91	30,6±14,09
Exposição Controle Lixeira 10 minutos	12,53±4,32	10,53±5,07	2,4±4,24	40,8±18,76
Exposição Controle Forrageadora 30 minutos	11,13±4,22	8,93±6,26	0,6±1,68	30,8±18,3
Exposição Controle Lixeira 30 minutos	10,07±4,15	9,47±5,93	1,67±3,35	34±15,4
Exposição Externa Forrageadora	11,07±3,75	9,2±3,8	0,33±0,9	30,47±11,37
Exposição Externa Lixeira	11,67±3,2	9,07±3,92	2,27±3,53	36,6±14,77

Fonte: a autora

Conforme podemos observar, houve uma diferença marginalmente significativa para os índices de carregamento ($p=0,09$) e total ($p=0,08$). Fazendo uma avaliação

sobre entre quais grupos essas diferenças existiriam, encontramos que, para o índice de carregamento, a diferença está entre lixeiras expostas ao lixo por 30 minutos e forrageadoras expostas à hortelã por 10 segundos ou 10 minutos; e forrageadoras expostas a controle por 10 segundos e 30 minutos e forrageadoras de outras colônias. Para todos esses valores, a da focal lixeira foi maior que a média das demais operárias, incluindo a focal vinda de outra colônia. Também houve diferença significativa entre as lixeiras expostas ao lixo por 10 minutos e as forrageadoras expostas à hortelã por 10 segundos ou 10 minutos; e forrageadoras expostas a controle por 10 segundos ou 30 minutos e às forrageadoras de outra colônia. Novamente, os valores são maiores para as lixeiras, independente do tratamento.

Já para o índice de agressividade, observamos diferença entre a lixeira exposta ao lixo por 10 minutos e as forrageadoras expostas ao lixo por 10 segundos, as lixeiras expostas ao lixo por 10 segundos ou 30 minutos, as forrageadoras expostas à hortelã por 10 segundos ou 10 minutos, e forrageadoras e lixeiras expostas a controle por 10 segundos. O índice da lixeira exposta ao lixo por 10 minutos foi maior que todos os demais. As lixeiras expostas ao lixo por 30 minutos também se diferenciaram das forrageadoras expostas à hortelã por 10 segundos e 10 minutos, e das forrageadoras expostas a controle por 10 segundos; novamente, as lixeiras tiveram os maiores índices de agressividade. As forrageadoras expostas à hortelã por 10 segundos também se diferenciaram das forrageadoras e lixeiras expostas à hortelã por 30 minutos, bem como das lixeiras expostas a controle por 10 minutos, tendo sempre o menor valor de agressividade, se comparado com os outros grupos. Finalmente, as forrageadoras expostas à hortelã por 10 minutos se diferenciaram das lixeiras expostas à hortelã por 10 minutos, das forrageadoras e lixeiras expostas à hortelã por 30 minutos, das lixeiras expostas a controle por 10 minutos e às lixeiras de outra colônia. E, de novo, o valor do índice de agressividade dessas formigas focais é menor que o encontrado para os demais grupos.

ANEXO IV – ESTUDO-PILOTO – ESCOLHA ENTRE CAMINHOS DE TAMANHOS DIFERENTES E AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DAS TRILHAS DE LIXO (CANOS)

Abaixo, apresentaremos os resultados do estudo-piloto de escolha entre caminhos de tamanhos diferentes e a avaliação da composição das trilhas de lixo (canos).

Esse experimento estava previsto para acontecer com todas as colônias de formigas do nosso laboratório que possuíssem ao menos um pote de fungos pequeno (até 1 litro). Ele tinha como objetivo avaliar a existência do uso de trilhas para o descarte de lixo, mas, devido a problemas operacionais, foi reformulado, transformando-se nos experimentos 4 (pontes de tamanhos diferentes) e 5 (pontes invertidas) da presente tese. Ele foi realizado em 3 colônias:

- Colônia 2: 1 pote de fungo de 1 litro;
- Colônia 7: 1 pote de fungo de 3 litros;
- Colônia 10: 1 pote de fungo de 5 litros.

O procedimento foi dividido em duas partes. No primeiro, o tamanho dos canos era diferente. Nossas previsões eram:

- A escolha dos caminhos preferidos por cada colônia não será aleatória:
 - O transporte de folhas ocorrerá pelo cano mais curto, saindo da bandeja de folhas para o ninho;
 - O transporte de lixo ocorrerá pelo cano mais longo (por dar uma sensação maior de afastamento da colônia), saindo do ninho para a bandeja de lixo.
- O fluxo de formigas nos diferentes canos será equivalente, para canos longos e curtos, sempre que os dois canos forem ligados a uma bandeja do mesmo tipo. Haverá, porém, maior fluxo naqueles canos que estão unidos à bandeja de folhas.

Nessa primeira parte, os potes de fungo das colônias participantes foram colocados em um recipiente de vidro com duas saídas opostas. Em cada uma delas tinha um T de plástico interligado a canos transparentes de comprimentos diferentes (um mais longo, um mais curto), que levavam a duas bandejas diferentes, uma que

seria usada para forrageamento e outra, para descarte de lixo. A Figura 50 representa de forma esquemática a montagem desse procedimento:

Figura 50 – Representação esquemática do experimento 8 (canos)

Fonte: Janiele Pereira

Eram feitas duas observações por dia para cada um dos canos (tanto os que ligavam a colônia à bandeja de folhas quanto à de lixo), sendo analisados:

- Fluxo de formigas durante um minuto (independente da direção seguida ou de elas estarem ou não carregadas);
- Número de transportes de folhas levadas em direção ao ninho;
- Número de transportes de folhas levadas em direção à bandeja;
- Número de transportes de lixo levados em direção ao ninho;
- Número de transportes de lixo levados em direção à bandeja.

Já a segunda parte foi um desmembramento da primeira, quando percebemos que, ao contrário do previsto, a escolha dos canos não seguia um padrão relacionado ao tipo de material transportado (conforme esperávamos), mas a um padrão que indicava que haveria marcação química orientando o transporte feito, a exemplo do visto em Aron, Deneubourg, Goss e Pasteels (1990). Tendo em vista isso, decidimos checar o que ocorreria caso houvesse a inversão dos canos e o cano maior fosse diminuído para que ambos passassem a ter o mesmo tamanho. Nossa hipótese era de que as formigas iriam continuar a usar o cano que antes usavam para o transporte de lixo, mesmo ele tendo agora o mesmo tamanho do outro cano e estando na outra saída, sem que o fluxo fosse influenciado.

Para testarmos essas hipóteses, deixamos o aparato experimental descrito na primeira parte do experimento montado por uma semana e, depois, cortamos o cano mais longo que unia o ninho à bandeja de lixo, de forma que ficasse com o mesmo

tamanho do cano curto. Esse cano foi novamente ligado ao T que unia ninho e bandeja de lixo, mas na saída que antes era do cano curto, e vice-versa. Não foram feitas modificações nos canos que uniam o ninho e a bandeja de forrageamento.

As análises feitas foram as mesmas feitas para a parte 1.

A Figura 51 apresenta os resultados desse estudo. O dia marcado com o asterisco (*) mostra o momento em que terminou a primeira parte e iniciou a segunda:

Figura 51 – Número de transporte de lixos (em 10 minutos) e fluxo (em um minuto) por tamanho original de cano

Figura 51 – Número de transporte de lixos (em 10 minutos) e fluxo (em um minuto) por tamanho original de cano

Fonte: a autora

Conforme pode ser visto nos gráficos, e ao contrário do que havíamos imaginado, as formigas, na primeira parte do experimento, tenderam a levar mais lixo pelo cano curto, embora de uma forma não tão marcante quanto o observado no experimento 6 – T externo. Vale levar em conta que o fluxo entre os dois lados se manteve semelhante ao longo dos dias.

Já para a segunda parte do experimento, notamos que as colônias não seguiram o mesmo padrão de comportamento após a inversão do cano. Enquanto a colônia 2, antes mais forte na escolha de um dos lados, não fez a inversão e de fato acentuou o uso do lado que antes era o longo, a colônia 10, que não tinha preferência, passou a usar mais o lado que seria anteriormente curto (inclusive, passando a ter preferência por ele, de acordo com a regra dos 75%, explicada anteriormente). A colônia 7 deixou de ter preferência por qualquer um dos lados. O fluxo continuou constante entre os lados nas três colônias.

O resultado do primeiro experimento nos indicaria, mesmo que de forma sutil, que a escolha por qual caminho seguir estaria relacionada, mais que com a percepção da distância a ser seguida, com uma marcação química, conforme visto em outros estudos (ARON et al., 1990). A sutileza dos resultados pode estar relacionada com o material usado para montar o aparato experimental (canos de plástico), que poderia não ter adequadamente a marcação química. Além disso, na segunda parte do experimento, tivemos dificuldade de fazer a inversão, uma vez que o cano usado na primeira parte, após uma semana curvado em uma direção, ficava deformado a ponto de não conseguirmos curvá-lo na direção oposta. Por esse motivo, optamos por abrir mão desses resultados e desenvolver um outro estudo para avaliar os aspectos apresentados aqui.

ANEXO V – RESULTADO DAS COLÔNIAS DESCARTADAS NO T EXTERNO E NO T INTERNO

Abaixo, apresentaremos os resultados das colônias que participaram do experimento 6 (T externo e T interno), mas que foram descartados porque a colônia morreu ou adoeceu durante os procedimentos ou entre eles.

Primeiramente, apresentaremos as tabelas com os dados numéricos dessas colônias (Tabela 31 e Tabela 32) e, em seguida, os gráficos de suas coletas (Figura):

Tabela 31 – Número de dias levados para o início do uso do T externo para transporte e isolamento do lixo, e escolha preferencial (colônias descartadas)

Colônia	N. réplicas	Total de contagens	Contagens com arremesso	Dia de início		Contagem – lado de preferência			Média de arremessos	
				Uso do T	Arremessos	Externo	Interno	Sem preferência	Externo	Interno
B1	2	30	20	4,0	7,0	19	0	1	9,8	0,5
B3	1	23	22	1,0	1,0	22	0	0	8,7	0,1
B6	2	60	25	1,0	1,0	13	2	10	4,2	1,8
B9	1	45	19	3	5	5	0	14	5,0	2,5
B14	1	68	65	4,0	4,0	1	63	1	2,8	106,9
B16	1b	25	2	1,0	1,0	1	1	0	0,6	0,4

Fonte: a autora

Tabela 32 – Número de dias levados para o início do uso do T interno para transporte e isolamento do lixo, e escolha preferencial (colônias descartadas)

Colônia	N. réplicas	Total de contagens	Contagens com arremesso	Dia de início		Contagem – Lado de Preferência			Média de arremessos	
				Uso do T	Arremessos	Esquerdo	Direito	Sem preferência	Esquerdo	Direito
B3	1	24	19	1	1	8	0	11	16,2	4,5
B6	1	23	23	1	1	1	3	19	26,3	19,3
B9	1	22	16	1	9	2	1	13	57,0	48,3
B15	1	23	23	1	1	4	9	10	52,3	71,6

Fonte: a autora

Figura 52 – Resultados de arremessos no experimento 6 (T externo e T interno) por dia de coleta – Colônias descartadas

Figura 52 – Resultados de arremessos no experimento 6 (T externo e T interno) por dia de coleta – Colônias descartadas

Figura 52 – Resultados de arremessos no experimento 6 (T externo e T interno) por dia de coleta – Colônias descartadas

Figura 52 – Resultados de arremessos no experimento 6 (T externo e T interno) por dia de coleta – Colônias descartadas

Figura 52 – Resultados de arremessos no experimento 6 (T externo e T interno) por dia de coleta – Colônias descartadas

Fonte: a autora

Um aspecto que chama a atenção nessas colônias é que elas seguem um padrão de distribuição dos dados muito semelhante ao observado nas colônias cujos dados apresentamos no capítulo 9, *Experimento 6 – Isolamento de lixo usando estratégias eficazes ou ineficazes (T externo e T interno)*, mas não quando a colônia apresentou sinais de estar doente durante o procedimento.

ANEXO VI – DADOS DO EXPERIMENTO 8 (FUGA) DESCARTADOS

Apresentamos, abaixo, os resultados das fugas que foram descartadas porque as colônias não participaram dos procedimentos T externo e T interno (figura 53):

Figura 53 – Gráfico da fuga – Resultados descartados. O primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T

Figura 53 – Gráfico da fuga – Resultados descartados. O primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T

Figura 53 – Gráfico da fuga – Resultados descartados. O primeiro gráfico mostra as frequências de “desceu”, “jogou” e “caiu”, e o número de formigas em cada lado do T

Fonte: a autora

Os gráficos apresentados indicam que as colônias que foram descartadas seguiram o padrão de comportamento semelhante ao observado para as colônias de T interno no capítulo 11, *Experimento 8 – Avaliação da estratégia de isolamento de lixo mais usada (fuga controlada)*.

ANEXO VII – RESUMOS EM CONGRESSOS

XXXII Encontro Anual de Etologia

Evidências de orientação por marcação para o local de descarte de lixo em *Atta sexdens*

Vinicius Frayze David, Pedro Leite Ribeiro, Nicolas Chaline, Lia Matos Viegas, Larissa Troitino, Camila Razzante, Janiele Pereira, Emma Otta

A formação de trilhas de forrageamento em *Atta sexdens* acontece por marcação com feromônios, de maneira que um *feedback* positivo permite a seleção do caminho mais curto. Um experimento prévio sugeriu que o descarte de lixo também poderia ser dirigido através de alguma orientação por marcação. O objetivo desse trabalho foi evidenciar a existência duma marcação do caminho levando ao lixo e de um feedback positivo no uso desse caminho. Foi montado um experimento com uma colônia de *A. sexdens*, com duas saídas opostas. Cada saída dividia - se em “T” para dois tubos transparentes, um curto e um longo, ligados a uma bandeja de forrageamento de um lado e uma bandeja vazia do outro. As formigas logo começaram a usar a bandeja vazia para o descarte de lixo. Os caminhos foram observados por 6 dias, com 2 contagens diárias de fluxo geral (1 minuto) e carregamentos de folhas em direção à colônia ou lixo em direção à bandeja inicialmente vazia (10 minutos). Ocorreram poucos carregamentos de folhas, mas 77% deles feitos pela trilha curta. No lixo, do segundo dia em diante, em média 82% dos transportes aconteceram pelo caminho curto (min= 60% , max= 92%). O fluxo geral foi parecido nos diversos caminhos. Esses resultados apontam a possibilidade de existência de alguma orientação por marcação para o local de depósito de lixo, embora sua natureza ainda não esteja elucidada. Eles também destacam a existência de mecanismos complexos que evoluíram para livrar a colônia duma fonte potencial importante de patógenos.

Palavras-chave: formigas cortadeiras, lixo, orientação, comportamento coletivo, auto-organização.

Tomada de decisão em relação ao descarte de lixo em *Atta sexdens*

LIA M. VIEGAS, LARISSA C. TROITINO, EMMA OTTA, VINICIUS F. DAVID,
ANDRÉ F. HELENE, PEDRO L. RIBEIRO

Introdução. Tomada de decisão tem sido estudada em várias espécies de formigas em vários contextos, mas há poucos estudos sobre o assunto no descarte de lixo

Objetivos: investigar se as formigas podem fazer uso de uma ponte em T para isolar o lixo da colônia e as estratégias relacionadas. **Método.** Uma ponte em T com uma extremidade voltada para dentro da bandeja da colônia (ED) e outra para fora (EF) foi colocada numa bandeja contendo um ninho de *Atta sexdens*. Após 24 dias a ponte foi girada em 180° graus. Ao longo dos dias foram feitas contagens do número de descartes de lixo que aconteceram em cada uma das extremidades do T em sessões de 10-min. O experimento foi realizado com uma colônia.

Resultados. O T foi usado desde a primeira observação. Houve preferência por EF, que se acentuou com o tempo. Após a rotação do T, as formigas passaram a depositar lixo pelo que se tornou a ED (Antiga EF). Observou-se intensificação do esforço dedicado à tarefa, com aumento de até oito vezes no número de arremessos. Três semanas após a rotação, voltou-se a observar movimento na nova EF, com retomada do predomínio de arremessos neste lado.

Conclusão. As formigas fazem uso de uma ponte em T para isolar o lixo da colônia, evitando a possibilidade de que patógenos do lixo possam representar perigo à ela. Havendo rotação da ponte, observou-se influência da trilha química na tomada de decisão, com inversão do padrão comportamental após algum tempo.

Palavras-chave: tomada de decisão, *Atta sexdens*, lixo.

II Workshop de Insetos Sociais

Transporte de lixo por *Atta sexdens* - Forel, 1908: Um estudo-piloto

Viegas, L. M., Troitino, L., David, V. F., Otta, E. (Instituto de Psicologia, USP) &
Ribeiro, P. L. (Instituto de Biociências, USP)

Observamos transporte de lixo por uma colônia de *Atta sexdens* por 15 dias, em Laboratório que era mantida com folhas *ad libitum* de *Acalypha*. A área do ninho (AN) – uma bandeja de 56x34x19 cm, contendo dois potes com fungo e um pote onde o descarte de lixo era feito – foi ligada a uma ponte de 36 cm de altura que dava acesso a uma plataforma em que havia três opções, todas levando a bandejas vazias (potenciais Áreas de Descarte) a três distâncias: 1) Próxima (44 cm), 2) Intermediária (82 cm) e 3) Distante (128 cm). Observamos comportamentos que podem ser interpretados em termos de “imunidade social” como defesa profilática contra patógenos, de relativização custo:benefício e de aprendizagem: 1) priorização do descarte de cadáveres em relação a fungo ressecado. Em 24 horas todos os corpos haviam sido retirados; 2) após o descarte de corpos, o lixo alimentar começou a ser descartado. A retirada foi totalmente completada em 10 dias; 3) áreas de descarte mais próximas foram preferidas em relação a mais distantes, cujo acesso exigia maior custo de deslocamento, 4) jogar corpos ou detritos do alto da ponte após ter caminhado por certa distância foi uma estratégia comum, evidenciando também redução do custo na remoção de detritos. Uma pequena quantidade de lixo foi jogada da ponte para dentro da AN (1º dia), tendo sido retirada em seguida (correção de “erro”). Um experimento sugerido por este estudo piloto está em andamento para compreender os determinantes causais do comportamento de descarte de lixo.

**17th Biennial Scientific Meeting of the International Society for
Comparative Psychology**

Decision-making regarding waste disposal in *Atta sexdens*

VIEGAS, L. ; TROITINO, L. ; DAVID, V. ; OTTA, E. ; RIBEIRO, P.L.

Decision-making has been extensively studied in several ant species in many contexts, especially during foraging and nest site selection. The goal of our research was to study decision-making regarding waste disposal in *Atta sexdens*, which is less studied. Given the option of throwing garbage from a T bridge would they choose the path leading outside the colony over the path leading backwards into the colony?

A T bridge (one arm containing a suspended transparent recipient pre-venting the thrown garbage of returning to the colony versus another arm in which the thrown garbage fell back into the colony) was placed inside a tray containing the nest of a colony of *Atta sexdens* maintained in our Laboratory. After 11 days the T bridge was inverted. Photoperiod was based on natural patterns. Ants were offered fresh leaves of *Acalypha* spp. replaced daily. Since Day 1 it was observed that the garbage was predominantly thrown from the arm with the recipient over the other side. The mean percentages of throws were 91% and 9%, respectively, and throwing rapidly (less than 10-sec after reaching the border of the T) was the most frequent behavior. One day after inversion, the ants continued choosing the arm that previously led to the recipient. Four days after the inversion, however, the ants had changed their behavior choosing the other side. When the option is given, instead of accumulating the garbage on a pile inside the colony's tray the ants choose a T bridge.

Comparação do uso de estratégias efetivas e não efetivas para isolamento de lixo em *Atta sexdens rubropilosa*

LIA MATOS VIEGAS^{1*}, ANDREA OLIVEIRA ALVES¹, EMMA OTTA¹

Detritos produzidos pelas formigas cortadeiras são fonte de patógenos e alvo de cuidado por parte das operárias, pois a proximidade genética entre indivíduos do ninho facilita a disseminação de doenças. Essa pesquisa teve como objetivo comparar o comportamento de *Atta sexdens rubropilosa* frente a recursos que permitam ou não o isolamento efetivo do lixo. Para isso, colocamos, dentro das bandejas das colônias testadas, uma ponte em T, sendo que em 10 delas uma das pontas do T ficava para fora da bandeja da colônia (estratégia efetiva de isolamento – EE) e em 8 os dois lados ficavam para dentro (estratégia não efetiva de isolamento - ENE). As colônias tinham tamanhos semelhantes. Por 28 dias foram feitas observações diárias de 10 minutos, checando se houve transporte e arremesso de lixo usando a ponte em T e o lado usado para esse arremesso. Nos dois delineamentos, a ponte foi usada para arremesso de detrito entre 1 e 6 dias após o início dos experimentos. Em EE houve clara preferência por arremessar o lixo pela extremidade que ficava para fora da bandeja (Média Arremessos: 12,68 Externo x 0,4 Interno), indicando algum tipo de percepção de que um dos lados seria efetivo para isolamento do lixo. Já em ENE, não houve preferência clara pelo lado A ou B (Média arremessos: 36,48 A x 24,52 B), sinalizando a percepção de que nenhum deles seria efetivo para isolar o lixo. O número de arremessos total em ENE foi maior que em EE (média total: 63,28 x 16,17 respectivamente), possivelmente como consequência do acúmulo do lixo na bandeja quando a estratégia usada não era efetiva. Os resultados apontam que as formigas usarão os recursos disponíveis no ambiente para isolar lixo, e possuem mecanismos para avaliar a efetividade da estratégia usada. Estratégias eficazes serão mantidas enquanto as ineficazes não.

Palavras-chave: *Atta sexdens*, lixo, tomada de decisão.

¹ Laboratório de Formigas Walter Hugo Cunha, Departamento de Psicologia Experimental, Instituto de Psicologia da USP

*lia.viegas@usp.br

Tinha um obstáculo no meio do caminho: reação de formigas *Atta sexdens rubropilosa* frente à interferência na sua trilha de forrageamento
In the middle of the road there was an obstacle: reaction of ants *Atta sexdens rubropilosa* facing interference on their foraging path

Viegas, Lia Matos¹, Troitino, Larissa¹ & Otta, Emma¹

¹ Instituto de Psicologia - USP.
lia.viegas@usp.br

Resumo: As formigas cortadeiras são conhecidas por formar trilhas de forrageamento. Para preservar a saúde dos ninhos, essas trilhas evitam regiões onde haja material potencialmente perigoso, evitando contaminar as folhas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a reação de formigas cortadeiras quando elementos de diferentes graus de periculosidade passam a obstruir o caminho. Para isso, colocamos 22 subcolônias da espécie *Atta sexdens rubropilosa* em um labirinto em Y fechado, onde ficaram em privação de alimento por 24 horas. Passado esse período, colocamos folhas de *Acalypha wilkesiana* nas duas extremidades do Y. Após 30 minutos (tempo dado para que fossem estabelecidas trilhas de forrageamento), colocamos em um dos braços do labirinto uma pequena quantidade de Lixo produzido por elas (10 subcolônias), quirera de Milho (6 subcolônias) ou Terra (6 subcolônias). Conforme esperado, a reação das formigas aos obstáculos foi diferente, a depender da periculosidade potencial do mesmo: as formigas levaram mais tempo e hesitaram mais para fazer a primeira travessia com folha sobre o Lixo (considerado elemento perigoso) do que sobre a Terra (elemento neutro) ou Milho (elemento atrativo). A frequência de *u-turns* frente ao Lixo também foi maior do que frente aos outros dois tipos de obstáculos. Já a frequência de transporte de folhas sobre o Lixo foi menor, assim como o de folhas largadas sobre o obstáculo. Embora as formigas tenham trabalhado nos três obstáculos, apenas o Lixo foi visivelmente recondicionado, enquanto o Milho chegou a ser levado para o ninho. Alimento contaminado pode trazer risco a colônia. Os resultados indicam que as formigas se comportam como se identificassem o Lixo que produzem como um elemento nocivo a elas, hesitando mais em passar sobre ele com folhas ou recondicionando-o de forma a abrir uma rota segura. Milho e Terra, como elementos seguros, provocaram menor distúrbio na trilha de forrageamento.

Palavras-chave: *Atta sexdens*; lixo; forrageamento.