



CAROLINE SILVA DE ABREU

**FATORES ENDÓGENOS E EXÓGENOS INFLUENCIAM
O FORRAGEAMENTO DE COLÔNIAS DE *Atta sexdens*
LINNAEUS, 1758
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE)?**

LAVRAS – MG

2019

CAROLINE SILVA DE ABREU

**FATORES ENDÓGENOS E EXÓGENOS INFLUENCIAM O
FORRAGEAMENTO DE COLÔNIAS DE *Atta sexdens* LINNAEUS, 1758
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE)?**

Tese apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Ronald Zanetti

Orientador

Prof. Dr. Alexandre dos Santos

Co-orientador

LAVRAS – MG

2019

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

de Abreu, Caroline Silva.

Fatores endógenos e exógenos influenciam o forrageamento de
colônias de *Atta sexdens*

LINNAEUS,1758 (Hymenoptera:Formicidae)? / Caroline Silva de
Abreu. - 2019.

67 p. : il.

Orientador(a): Ronald Zanetti.

Coorientador(a): Alexandre dos Santos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Entomologia. 2. Manejo Integrado de Pragas. 3. Formigas
Cortadeiras. I. Zanetti, Ronald. II. dos Santos, Alexandre. III.
Título.

CAROLINE SILVA DE ABREU

**FATORES ENDÓGENOS E EXÓGENOS INFLUENCIAM O
FORRAGEAMENTO DE COLÔNIAS DE *Atta sexdens* LINNAEUS, 1758
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE)?**

**DO ENDOGENOUS AND EXOGENOUS FACTORS INFLUENCE THE
COLONY FORAGE OF *Atta sexdens* LINNAEUS, 1758
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE)?**

Tese apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Doutor.

Aprovada em 30 de agosto de 2019.

Dr. Geraldo Andrade Carvalho (DEN/UFLA)

Dra. Maria Fernanda G. V. Penã Flor (DEN/UFLA)

Dr. Odair Correa Bueno (UNESP/Rio Claro)

Dr. Rodrigo Fagundes Braga (UEMG)

Prof. Dr. Ronald Zanetti

Orientador

Prof. Dr. Alexandre dos Santos

Co-orientador

LAVRAS – MG

2019

À minha mãezinha, Maria Eunice e ao meu pai Murilo, aos meus irmãos, Tatiane e Fabrício, e ao João

Paulo por todo apoio e compreensão pelos tantos momentos de ausência

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela graça da vida e por tantas bênçãos recebidas.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós Graduação em Entomologia e ao Departamento de Entomologia (DEN) pela oportunidade concedida para realização do Doutorado.

Ao professor Dr. Ronald Zanetti pela valiosa orientação durante o Doutorado, pela confiança, por todo o conhecimento transmitido e por todas as oportunidades.

Ao professor Dr. Alexandre Santos pela co-orientação, colaboração e ensinamentos em estatística e amizade.

Ao pesquisador Vincent Fourcassie pelas sugestões na condução dos experimentos, e auxílio nas análises estatísticas.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Entomologia pelos ensinamentos, incentivo e contribuição à minha formação.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições e melhorias na redação da tese.

Aos demais funcionários do DEN/UFLA pelo imenso carinho e cordialidade.

Aos amigos queridos do Laboratório de Entomologia Florestal (ao qual nos referimos carinhosamente como “Família MIP”): Thay, Phanie, Will, Alexandre Roger, Bruno, Matheus, João, Carlos, Kênia, Júlia, Jéssica por toda ajuda na condução do projeto, pelas tantas confraternizações e principalmente por terem tornado essa caminhada mais leve. À querida Léia (Eliana Andrade), a qual não tenho palavras para descrever a importância de sua colaboração a essa tese, obrigada pelo carinho, pela ajuda nas coletas campo e na condução dos ninhos, pelos inúmeros cortes nos dedos e roupas pelas formigas, e especialmente, obrigada pela amizade.

Às minhas queridas e amadas amigas Rafa e Lau por terem sido meu ponto de equilíbrio e lucidez nos momentos mais difíceis, pelas inesquecíveis terças-feiras e por estarem sempre presente, apesar da distância. À querida Rosangela Marucci pela amizade, ensinamentos e apoio em todos os momentos.

À CENIBRA – Celulose Nipo-Brasileira S.A. pela cessão de áreas para coletas de formigueiros e apoio em campo.

À minha amada mãezinha Maria Eunice, pelas orações e palavras de pura sabedoria, e principalmente por ter me transmitido sua coragem e determinação.

Ao meu pai Murilo, por ter me incentivado desde cedo a cursar mestrado e doutorado.

À minha querida irmã Tatiane, pela paciência, incentivo e orações, sei que não foi fácil suportar minhas crises de estresse, a ainda assim ter amor pra cuidar de mim.

Ao meu irmão Fabrício, o “Nerd” da família, pelo apoio e compressão da minha ausência.

Ao João Paulo, pelo incentivo, por toda paciência, amor e por me acompanhar em toda trajetória.

À minha querida sogra e segunda mãe, Raimunda, por todas as orações e apoio durante esses seis anos de pós-graduação.

A todos os familiares, por compreenderem os tantos momentos de ausência e por sempre torcerem pelo meu sucesso.

Agradeço ao Projeto Bioecologia de Formigas Cortadeiras pelo apoio financeiro para realização do projeto e coletas de campo e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pela concessão da bolsa.

A todas as pessoas que, de alguma forma, me auxiliaram ou incentivaram.

Meus sinceros agradecimentos.

A ignorância gera confiança com mais frequência do que o conhecimento: são aqueles que sabem pouco, e não aqueles que sabem muito, que tão positivamente afirmam que esse ou aquele problema jamais será resolvido pela ciência.

Charles Darwin

RESUMO GERAL

As formigas-cortadeiras são insetos sociais e estão associadas positivamente a processos ecológicos importantes como a regeneração de florestas, aeração do solo, dispersão de sementes, fragmentação da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes. Por outro lado, elas são consideradas um dos mais importantes herbívoros da região Neotropical e algumas espécies têm grande importância agrícola e florestal. O forrageamento de formigas-cortadeiras é uma atividade bastante complexa e sofre influência de fatores exógenos como temperatura, umidade, precipitação e também fatores endógenos como a presença da rainha, presença de rainha e estado nutricional do fungo mutualista. Tais fatores podem influenciar as atividades de forrageamento e o desempenho de colônias de *Atta sexdens* e suas funções ecológicas. Na primeira parte deste trabalho, buscou-se entender como alguns fatores endógenos, como a presença da rainha e de larvas e pupas, influenciam a massa forrageada e a conversão da massa vegetal em fungo simbiote em laboratório. Pequenas colônias com e sem rainha foram utilizadas e avaliou-se a massa forrageada, o volume de fungo e a mortalidade de operárias por 120 dias. Verificou-se que a presença da rainha não influencia a quantidade diária de massa forrageada, porém influencia positivamente a quantidade acumulada e o volume de fungo simbiote produzido e negativamente a mortalidade de operárias. Apesar de as colônias apresentarem um mesmo padrão de forrageamento, a ausência da rainha pode reduzir a atividade total da colônia em comparação com as colônias com rainha, assim, a utilização de colônias sem rainha em estudos de forrageamento por um longo período de tempo pode ocasionar uma subestimação de atividades observadas. Na segunda parte verificou-se como um fator exógeno, como a temperatura, influencia a velocidade de caminamento de operárias, o tamanho da massa vegetal transportada e a massa da operária forrageadora. Para isso, utilizou-se uma colônia adulta de *A. sexdens* mantida em laboratório e conectada a uma fonte de forrageamento com temperatura variando de 10 a 40°C. Verificou-se que a velocidade de caminamento e a massa seca dos fragmentos vegetais transportados pelas operárias de *A. sexdens* aumentam com o aumento da temperatura e que o tempo de forrageamento não influencia o tamanho dos fragmentos carregados pelas operárias. Verificou-se também que as massas secas e largas das cápsulas cefálicas das operárias são maiores em todas as temperaturas, exceto a 28°C e que o tempo de forrageamento também não influencia o tamanho das operárias forrageadoras. Estes resultados mostram que fatores endógenos e exógenos influenciam o comportamento e o desempenho do forrageamento das formigas-cortadeiras, induzindo adaptações da colônia para garantir a sua sobrevivência.

Palavras-chave: Formigas-cortadeiras. Herbivoria. Variação da temperatura. Colônias sem rainha.

GENERAL ABSTRACT

Leaf-cutting ants are social insects and are positively associated with important ecological processes such as forest regeneration, soil aeration, seed dispersal, organic matter fragmentation, nutrient cycling. On the other hand, they are considered one of the most important herbivores in the Neotropical region and some species have great agricultural and forest importance. The foraging of leaf-cutting ants is a very complex activity and is influenced by exogenous factors such as temperature, humidity, precipitation and also endogenous factors such as the presence of the young, presence of queen and nutritional status of the mutualistic fungus. Such factors can influence foraging activities and the performance of *Atta sexdens* colonies and their ecological functions. In the first part of this work, we sought to understand how some endogenous factors, such as the presence of the queen and larvae and pupae, influence the foraged mass and the conversion of the vegetal mass into symbiotic fungus in the laboratory. Small colonies with and without queen were used and forage mass, fungus volume and worker mortality were evaluated for 120 days. It was found that the presence of the queen does not influence the daily amount of foraged mass, but it positively influences the accumulated amount and the volume of symbiotic fungus produced and negatively the mortality of workers. Although the colonies present the same foraging pattern, the absence of the queen can reduce the total activity of the colony in comparison with colonies with queen, thus, the use of colonies without queen in foraging studies for a long period of time can cause an underestimation of observed activities. In the second part, it was verified that an exogenous factor, such as temperature, influences the walking speed of workers, the size of the vegetable mass transported and the mass of the forage worker. For this purpose, an adult colony of *A. sexdens* was used in the laboratory and connected to a foraging source with a temperature ranging from 10 to 40°C. It was found that the walking speed and the dry mass of the vegetable fragments carried by the workers of *Atta sexdens* increase with increasing temperature and that the foraging time does not influence the size of the fragments carried by the workers. It was also found that the dry masses and widths of the workers' cephalic capsules are higher at all temperatures, except at 28 ° C and that the foraging time also does not influence the size of the foraging workers. These results show that endogenous and exogenous factors influence the behaviour and foraging performance of leaf-cutting ants, inducing adaptations of the colony to ensure their survival.

Keywords: Leaf-cutting ants. Herbivory. Temperature increase. Colonies queenless.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	13
INTRODUÇÃO GERAL	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
SEGUNDA PARTE – ARTIGO 1	23
FORRAGEAMENTO DE COLÔNIAS DE <i>Atta sexdens</i> (Hymenoptera: Formicidae) COM E SEM RAINHA	24
1. INTRODUÇÃO	27
2. MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1. Estabelecimento de colônias	29
2.2. Massa vegetal forrageada, geração de resíduos e mortalidade de operárias ...	30
2.3. Desenvolvimento do fungo simbiote e presença de larvas e pupas	30
2.4. Análise de dados	30
3. RESULTADOS	31
3.1. Massa vegetal diária forrageada	31
3.2. Massa seca diária forrageada em função da presença de larvas e pupas	31
3.3. Massa vegetal acumulada forrageada	32
3.4. Desenvolvimento do fungo	33
3.5. Mortalidade de operárias ao longo do tempo	33
4. DISCUSSÃO	34
5. CONCLUSÃO	38
AGRADECIMENTOS	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ARTIGO 2	45
FORRAGEAMENTO E LOCOMOÇÃO DE <i>Atta sexdens</i> (Hymenoptera: Formicidae) EM DIFERENTES TEMPERATURAS	46
1. INTRODUÇÃO	49

2. MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1. Obtenção de colônia	50
2.2. Velocidade de caminhada	50
2.3. Massa e área do fragmento vegetal e massa e cápsula cefálica da operária.....	51
2.4. Análise de dados	51
3. RESULTADOS	52
3.1. Velocidade de caminhada	52
3.2. Massa e área do fragmento vegetal forrageado.....	53
3.3. Massa e cápsula cefálica das operárias	55
4. DISCUSSÃO	57
4.1. Massa e área do fragmento vegetal forrageado.....	59
4.2. Massa e cápsula cefálica das operárias	60
5. CONCLUSÃO	60
AGRADECIMENTOS	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS	67

PRIMEIRA PARTE

INTRODUÇÃO GERAL

As formigas são insetos eussociais, que vivem em colônias e apresentam divisão de trabalho entre as castas reprodutivas e estéreis; têm cuidado cooperativo da prole e sobreposição de gerações no mesmo ninho (Hölldobler & Wilson, 1990; Della Lucia, Fowler & Araújo, 1993). Esses insetos desempenham um papel ecológico em quase todos os ambientes terrestres e representam cerca de 75% da biomassa de insetos (Wheeler, 1910; Hölldobler & Wilson, 1990).

As formigas-cortadeiras compreendem gêneros *Atta* e *Acromyrmex* da sub-família Myrmicinae e tribo Attini (Bolton et al., 2006). O Brasil apresenta uma das maiores diversidades dessas formigas, com nove espécies do gênero *Atta* e 25 espécies do gênero *Acromyrmex* (Gonçalves, 1945, 1961; Delabie et al., 2011; Bolton, 2019).

Diferentemente das outras atines, as formigas-cortadeiras utilizam folhas frescas como substrato para seu fungo simbiote (Ribeiro & Marinho, 2011). Elas são grandes consumidoras de plantas herbáceas em toda a região Neotropical (Hölldobler & Willson, 2008) e consideradas herbívoros polípagos por explorarem um grande número de plantas (Della Lucia, 1993). Embora sejam considerados herbívoros generalistas, algumas espécies de formigas-cortadeiras se especializaram em cortar gramíneas e outras dicotiledôneas (Hölldobler & Wilson, 1990). Essas formigas estão associadas, positivamente, a processos ecológicos importantes como a regeneração de florestas e dispersão de sementes (Leal, Wirth & Tabarelli, 2011), pois aceleram os processos de decomposição de vegetais, participam na fragmentação da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes (Sousa-Souto & Sternberg, 2011; Swanson et al., 2019). Por outro lado, algumas espécies tem grande importância como pragas agrícolas e florestais (Souza, Zanetti & Calegario, 2011; Della Lucia, Gandra & Guedes, 2014; Zanetti et al., 2014).

O material vegetal cortado pelas formigas cortadeiras é transportado pelas operárias para o interior de seus ninhos subterrâneos. Esse processo é chamado forrageamento, e envolve também as atividades de exploração do ambiente e seleção de material (Ribeiro & Marinho, 2011). Durante a atividade de forrageamento as formigas usam estratégias comportamentais, como a antenação, para encontrar e utilizar fontes energéticas e nutrientes (Della Lucia, 1993). Isso resulta na interação de comportamentos individuais das operárias e na construção de trilhas de exploração (Schlindwein, 2004). As operárias exploradoras efetuam o corte de reconhecimento e levam o fragmento vegetal ao ninho, assim a informação

sobre a fonte alimentar é passada para outras operárias que vão até a fonte e iniciam o forrageamento, estabelecendo assim o recrutamento (Schlindwein, 2004).

No interior do ninho, os fragmentos vegetais são cortados em pedaços menores e incorporados ao fungo simbiote *Leucogaricus gongylophorus* (Agaricales: Basidiomycota), que serve como fonte primária de alimento para a colônia. Operárias adultas ingerem exsudatos de seiva durante as atividades de corte e manipulação das folhas, e este recurso alimentar representa a maior parte da dieta desses indivíduos. Como complementação da dieta das formigas adultas, a lambertura do fungo, trofalaxia, além de secreção anal das larvas, fornecem importantes nutrientes para as operárias (Moreira, Erthal Jr & Samuels, 2011; Garrett et al., 2016).

O fungo simbiote é um fator endógeno da colônia que exerce influência sobre o forrageamento, pois muitos autores sugerem que as plantas são selecionadas pelas operárias de acordo com suas necessidades nutricionais (Holldobler & Willson, 2008; Saverschek et al., 2010; Arenas & Roces, 2016). A seleção do material vegetal durante o forrageamento em formigas-cortadeiras é uma das principais adaptações para proteger o fungo mutualista contra os de compostos nocivos de algumas plantas, assegurando assim crescimento do fungo e a sucesso da colônia (Saverschek & Roces, 2011).

A rainha, apesar de ser responsável exclusivamente pela reprodução na colônia, ela pode atuar como outro fator endógeno no forrageamento, pois exerce grande influência no comportamento das operárias, afetando assim, outras atividades da colônia, como o forrageamento (Vienne, Errard & Lenoir, 1998). A rainha de *Atta* é quase sempre única, e a colônia se extingue após a sua morte (Autuori, 1950; Mariconi, 1970).

Os relatos de substituição de rainhas artificialmente em colônias de *Atta* também são bem escassos e com baixa aceitação pela colônia (Mariconi, 1970). Visto a importância da espécie e a dificuldade de estabelecimento de colônias com rainha em laboratórios (Della Lucia et al., 1993; Delabie, Lucia & Pastre, 2000; Araújo et al., 2011), testes de carregamento de iscas e também comportamentais exigem um grande número de colônias com rainha para validação do protocolo (Brasil, 2011) e por isso, alguns experimentos são realizados utilizando sub-colônias. Portanto não se sabe o quanto a ausência da rainha na colônia de *Atta* pode afetar as atividades das operárias, em especial o forrageamento.

A presença da cria em colônias de formigas também podem influenciar o forrageamento como um fator endógeno. A presença de ovos e larvas em colônias *Leptothorax allardycei* aumenta a atividade de operárias (Cole & Hoeg, 1996). Algumas castas estão intimamente ligadas através da disponibilidade de alimentos, uma vez que as

fornageiras são responsáveis pela coleta de alimentos e as enfermeiras subsequentemente alimentam a cria com os alimentos coletados (Mildner & Rocés, 2017).

Alguns fatores exógenos podem influenciar o forrageamento, como temperatura (Araújo et al., 2002; Jofré & Medina, 2012; Giesel, Boff & Boff, 2013; Tizón, Wulff & Peláez, 2014; Caldato et al., 2016; Nickele et al., 2016a) umidade (Gordon, Dektar & Pinter-Wollman, 2013), precipitação (Martínez et al., 2015; Caldato et al., 2016; Lopes et al., 2016; Farji-Brener et al., 2018), vento (Alma, Farji-Brener & Elizalde, 2016), pressão atmosférica (Viana-Bailez & Endringer, 2016), intensidade luminosa (Corrêa et al., 2016; Viana-Bailez & Endringer, 2016), e presença de inimigos naturais (Guillade & Folgarait, 2015). Entretanto a temperatura pode ser considerada um dos fatores mais importantes, principalmente nos trópicos, onde as mudanças diárias e sazonais nas atividades de forrageamento se relacionam com esses fatores climáticos (Jofré & Medina, 2012).

As formigas-cortadeiras apresentam comportamento adaptativo às condições do ambiente (Viana-Bailez & Endringer, 2016), podendo ajudar o horário de forrageamento (Giesel, Boff & Boff, 2013) e a velocidade de caminhamento (Tizón, Wulff & Peláez, 2014). Mas o aumento da temperatura reduz a massa vegetal coletada por muitas espécies de formigas-cortadeiras (Lewis, Martin & Czaczkes, 2008; Tizón, Wulff & Peláez, 2014; Nobua-Behrmann et al., 2017a).

O conhecimento da influência dos fatores endógenos e exógenos sobre o forrageamento de formigas cortadeiras permite entender em parte a dinâmica de herbivoria desses insetos, principalmente porque são amplamente distribuídos em regiões com perfis climáticos distintos (Bolton et al., 2006). Além disso, esse conhecimento se torna indispensável num contexto de aumento da temperatura terrestre, devido à emissão de gases do efeito estufa (Bale et al., 2002; Tizón, Wulff & Peláez, 2014).

Este trabalho aborda o estudo sobre os fatores endógenos e exógenos envolvidos no forrageamento de colônias de *Atta sexdens* em condições de laboratório e é dividido em dois artigos, sendo que o primeiro trata do forrageamento de colônias de *A. sexdens* com e sem rainha, com o objetivo de avaliar como os fatores endógenos como a ausência de rainha, larvas e pupas influenciam o forrageamento das colônias em laboratório, pois, ensaios com o uso de sub-colônias sem rainha são muito utilizados, porém não se sabe até que ponto a ausência da rainha interfere nas atividades da colônia de *A. sexdens*. O segundo artigo avaliar o forrageamento e a velocidade caminhamento das operárias, tamanho da carga e tamanho das operárias forrageadoras em função da temperatura e entender quais estratégias as formigas

utilizam para manter a oferta de folhas para a colônia em condições de temperaturas adversas, permitindo estimar o impacto da herbivoria desses insetos no ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alma, A. M.; Farji-Brener, A. G.; Elizalde, L. Collective response of leaf-cutting ants to the effects of wind on foraging activity. **American Naturalist**, v. 188(5), p. 576-581, 2016. doi: 10.1086/688419.

Araújo, M. S. et al. Foraging activity of *Acromyrmex laticeps nigrosetosus* (Hymenoptera, Formicidae) in *Eucalyptus* stands. **Acta Scientiarum**, v. 24(5), p. 1321-1325, 2002.

Araújo, M. S. et al. Fundação e estabelecimento de formigueiros. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: UFV, p. 123-188, 2011.

Arenas, A.; Roces, F. Gardeners and midden workers in leaf-cutting ants learn to avoid plants unsuitable for the fungus at their worksites. **Animal Behaviour**, v. 115, 167-174, 2016. doi: 10.1016/j.anbehav.2016.03.016.

Autuori, M. Longevidade de uma colônia de uma saúva (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908) em laboratório. **Ciência e Cultura**, v. 2, p. 285-286, 1950.

Bolton, B. An online catalog of the ants of the world. Available at <http://www.antcat.org/catalog/429529> (accessed July 5, 1BC), 2019.

Bolton, B. et al. Bolton's catalogue of ants of the world. Cambridge: **Harvard University Press**, 2006.

Brasil. Instrução Normativa nº 42, de 5 de dezembro de 2011. **Normas para a realização de pesquisa e experimentação com agrotóxicos**. Brasil: Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, 2011.

Caldato, N. et al. Foraging activity pattern and herbivory rates of the grass-cutting ant *Atta capiguara*. **Insectes Sociaux**, v. 63, p. 421-428, 2016. doi: 10.1007/s00040-016-0479-x.

Camargo, R. S. et al. Brood care and male behavior in queenless *Acromyrmex subterraneus brunneus* (Hymenoptera: Formicidae) colonies under laboratory conditions. **Sociobiology**, v. 48, n. 3, p. 717-726, 2006. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/69223>>.

Cherrett, J. M. The Foraging Behaviour of *Atta cephalotes* L. (Hymenoptera, Formicidae). **The Journal of Animal Ecology**, v. 37, p. 387, 1968. doi: 10.2307/2955.

Cole, B. J.; Hoeg L. The influence of brood type on activity cycles in *Leptothorax allardycei* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Insect Behavior**, v. 9, p. 539-547, 1996. doi: 10.1007/BF02213878.

Corrêa, M. M. et al. Foraging activity of leaf-cutting ants changes light availability and plant assemblage in Atlantic forest. **Ecological Entomology**, v. 41, p. 442-450, 2016. doi: 10.1111/een.12312.

Delabie, J. H. C. et al. Distribuição das formigas-cortadeiras *Acromyrmex* e *Atta* no Novo Mundo. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: **UFV**, p. 80-101, 2011.

Delabie, J. H. C.; Della Lucia, T. M. C.; Pastre, L. Protocolo de experimentação para avaliar a atratividade de novas formulações de iscas granuladas utilizadas no controle das formigas cortadeiras *Acromyrmex* spp. e *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini) no campo. **Anais...**, v. 29, p. 843-848, 2000. doi: 10.1590/s0301-80592000000400029.

Della Lucia, T. M. C. Forrageamento. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa: **UFV**, p. 84-105, 1993.

Della Lucia, T. M. C.; Fowler, H. G.; Araújo, M. S. Castas de formigas cortadeiras. In: **As formigas cortadeiras**. Viçosa: **UFV**, p. 43-59, 1993.

Della Lucia, T. M. C. et al. Criação de formigas cortadeiras em laboratório. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **As formigas cortadeiras**. Viçosa: **UFV**, p. 151-162, 1993.

Della Lucia, T. M. C.; Gandra, L. C.; Guedes, R. N. Managing leaf-cutting ants: Peculiarities, trends and challenges. **Pest Management Science**, v. 70(1), p. 14-23, 2014. doi: 10.1002/ps.3660.

Farji-Brener, A. G. et al. Working in the rain? Why leaf-cutting ants stop foraging when it's raining. **Insectes Sociaux**, v. 65, p. 233-239, 2018. doi: 10.1007/s00040-018-0605-z.

Garrett, R. W. et al. Leaf processing behaviour in *Atta* leafcutter ants: 90% of leaf cutting takes place inside the nest, and ants select pieces that require less cutting. **Royal Society Open Science**, 3(1), 150111, 2016. doi: 10.1098/rsos.150111.

Giesel, A.; Boff, M. I. C.; Boff, P. Seasonal activity and foraging preferences of the leaf-cutting ant *Atta sexdens piriventris* (Santschi) (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, v. 42, p. 552-557, 2013. doi: 10.1007/s13744-013-0160-2.

Gonçalves, C. R. O gênero *Acromyrmex* no Brasil (Hym. Formicidae). **Studia Entomologia**, v. 4, p. 113-180, 1961.

Gonçalves, C. R. Saúvas do Centro Sul do Brasil. **Boletim Fitossanitário [do Ministério da Agricultura do Brasil]**, v. 2, p. 181-214, 1945.

Gordon, D. M.; Dektar, K. N.; Pinter-Wollman, N. Harvester Ant Colony Variation in Foraging Activity and Response to Humidity. **PLoS ONE**, v. 8, p. 1-6, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0063363.

Guillade, A. C.; Folgarait, P. J. Effect of phorid fly density on the foraging of *Atta vollenweideri* leafcutter ants in the field. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 154, p. 53-61, 2015. doi: 10.1111/eea.12255.

Hölldobler, B.; Wilson, E. O. The Ants. Cambridge, Mass.: **Belknap Press of Harvard University Press**, 1990.

Hölldobler, B.; Willson, E. O. The Superorganism. New York: **W.W. Norton & Company**, 2009. doi: 10.2307/j.ctvk12s6h.5.

Jofré, L. E.; Medina, A. I. Patrones de actividad forrajera y tamaño de nido de *Acromyrmex lobicornis* (Hymenoptera: Formicidae) en una zona urbana de San Luis, Argentina. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 71, p. 37- 44, 2012.

Leal, I. R.; Wirth, R.; Tabarelli, M. Dispersão de sementes por formigas cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: **UFV**, p. 236-248, 2011.

Lewis, O. T.; Martin, M.; Czaczkes, T. J. Effects of trail gradient on leaf tissue transport and load size selection in leaf-cutter ants. **Behavioral Ecology**, v. 19(4), p. 805-809, 2008. doi: 10.1093/beheco/arn032.

Lopes, J. F. S. et al. Spatio-temporal dynamics of foraging networks in the grass-cutting ant *Atta bisphaerica* forel, 1908 (Formicidae, Attini). **PLoS ONE**, v. 11, p. 1-15, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0146613.

Mariconi, F. A. M. As saúvas. São Paulo: **Agronômica CERES**, 1970.

Martínez, C. L. et al. Estudios sobre el comportamiento de forrajeo de *Acromyrmex lundii guering* (Hymenoptera, Formicidae) y su efecto sobre el crecimiento de procedencias de *Eucalyptus globulus labill.* (Myrtaceae). **Revista Árvore**, v. 39, p. 189-198, 2015.

Mildner, S.; Roces, F. Plasticity of daily behavioral rhythms in foragers and nurses of the ant *Camponotus rufipes*: Influence of social context and feeding times. **PLoS ONE**, v. 12, p. 1-23, 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0169244.

Moreira, D. D. O.; Erthal, Jr. M.; Samuels, R I. Alimentação e digestão em formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: **UFV**, p. 204-225, 2011.

Nickele, M. A. et al. Daily foraging activity of *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) leaf-cutting ants. **Sociobiology**, v. 63, p. 645-650, 2016. doi: 10.13102/sociobiology.v63i1.902.

Nobua-Behrmann, B. et al. **Coexisting in harsh environments**: temperature-based foraging patterns of two desert leafcutter ants (Hymenoptera: Formicidae: Attini). **Myrmecological News**, v. 25, p. 41-49, 2017.

Ribeiro, M. M. R.; Marinho, C. G. Seleção e forrageamento em formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: UFV, p. 189-203, 2011.

Saverschek, N. et al. **Avoiding plants unsuitable for the symbiotic fungus**: learning and long-term memory in leaf-cutting ants. **Animal Behaviour**, v. 79, p. 689-698, 2010. doi: 10.1016/j.anbehav.2009.12.021.

Saverschek, N.; Roces, F. **Foraging leafcutter ants**: Olfactory memory underlies delayed avoidance of plants unsuitable for the symbiotic fungus. **Animal Behaviour**, v. 82, p. 453-458, 2011. doi: 10.1016/j.anbehav.2011.05.015.

Schindwein, M. N. Dinâmica do Ataque de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 sobre a Vegetação: Uso de Manipulação de Recursos e Armadilha de Solo para se Estimar o Comportamento de Forrageamento. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 8, p. 153-165, 2004. doi: 10.25061/2527-2675/rebram/2004.v8i2.315.

Sousa-Souto, L.; Sternberg, L. Ciclagem de nutrientes por formigas cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: UFV, p. 249-261, 2011.

Souza, A.; Zanetti, R.; Calegario, N. Nivel de dano econômico para formigas-cortadeiras em função índice de produtividade florestal de eucaliptais em uma região de mata atlântica. **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 483-488, 2011.

Souza, D. J.; Santos, J. F. L.; Della Lucia, T. M. C. Organização social das formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: UFV, p. 126-137, 2011.

Swanson, A. C. et al. **Welcome to the *Atta* world**: A framework for understanding the effects of leaf-cutter ants on ecosystem functions. **Functional Ecology**, p. 1-14, 2019. doi: 10.1111/1365-2435.13319.

Tizón, R.; Wulff, J. P.; Peláez, D. V. The effect of increase in the temperature on the foraging of *Acromyrmex lobicornis* (Hymenoptera: Formicidae). **Zoological Studies**, v. 53(1), 2014.

Viana-Bailez, A. M.; Endringer, F. B. Plasticidade do comportamento de forrageamento em formigas cortadeiras. **Oecologia Australis**, v. 20, p. 11-19, 2016. doi: 10.4257/oeco.2016.2003.02.

Vienne, C.; Errard, C.; Lenoir, A. Influence of the Queen on Worker Behaviour and Queen Recognition Behaviour in Ants. **Ethology**, v. 104, p. 431-446, 1998. doi: 10.1111/j.1439-0310.1998.tb00081.x.

Wheeler, W. M. **Ants: their structure, development and behavior**. New York: **The Columbia University Press**, 1910.

Zanetti, R. et al. An overview of integrated management of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in Brazilian forest plantations. **Forests**, v. 5, p. 439-454, 2014. doi: 10.3390/f5030439.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO 1

Norma NBR 6022 (ABNT 2003)

FORRAGEAMENTO DE COLÔNIAS DE *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) COM E SEM RAINHA

Caroline Silva Abreu¹, Ronald Zanetti¹, Vincent Fourcassie², Alexandre dos Santos³

1. Laboratório de Entomologia Florestal, Departamento de Entomologia, Universidade Federal Lavras, CEP 37200-000 - Lavras, MG, Brasil, email: carolabreujp@yahoo.com.br.

2. Centre de Recherches sur la Cognition Animale, Centre de Biologie Intégrative Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse, Cedex 9, France.

3. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT), Cáceres, MT, Brasil.

RESUMO

As formigas-cortadeiras são consideradas os principais herbívoros da região Neotropical, por a sua herbivoria e outros comportamentos são bastante estudados. O estabelecimento de colônias em laboratório com a finalidade de pesquisa é difícil e requer muito espaço físico, dada à alta mortalidade inicial das colônias. Por isso, o uso de colônias sem rainha poderia ampliar o desenvolvimento de novos estudos. O objetivo desse trabalho foi avaliar como os fatores endógenos como a ausência de rainha, larvas e pupas influenciam o forrageamento de colônias de *Atta sexdens* em laboratório. O forrageamento foi avaliado por 120 dias em cinco colônias com rainha e cinco colônias sem rainha, com relação à massa diária e acumulada forrageada, presença de larvas e pupas, volume do fungo simbiote e mortalidade de operárias. A ausência da rainha e da cria não influenciou a quantidade diária de massa vegetal forrageada. A quantidade de massa vegetal acumulada foi maior em colônias com rainha que também apresentaram maior conversão da massa vegetal forrageada em volume de fungo simbiote. A diferença entre as colônias aumentou com o tempo. A mortalidade de operárias foi maior em colônias sem rainha. O uso de colônias sem rainha em estudos de forrageamento por um longo período de tempo pode ocasionar uma subestimação das atividades observadas.

Palavras-chave: Formigas-cortadeiras. Colônias órfãs. Herbivoria. Fungo simbiote. Mortalidade.

**FORAGING OF *Atta sexdens* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) COLONIES
WITH AND WITHOUT QUEEN**

ABSTRACT

Leaf-cutting ants are considered the main herbivores in the Neotropical region, so their herbivory and other behaviours are well studied. The establishment of colonies in the laboratory for research purposes is difficult and requires big physical space, given the high initial mortality of the colonies. Therefore, the use of queenless colonies could expand the development of new studies. The objective of this work was to evaluate how endogenous factors such as the absence of queen, larvae and pupae influence the foraging of *Atta sexdens* colonies in the laboratory. Daily and accumulated foraging mass, presence of larvae and pupae, volume of the symbiotic fungus and mortality of workers was evaluated for 120 days in five colonies with queen and five queenless colonies. The presence of the queen and the young did not influence the daily amount of foraged vegetable mass. The amount of accumulated vegetal mass was higher in colonies with queen that also presented greater conversion of foraged vegetal mass in volume of symbiotic fungus; the difference between colonies increased over time. Worker mortality was higher in colonies without a queen. The use of queenless colonies in foraging studies for a long period of time can underestimate the observed activities.

Keywords: Leaf-cutting ants. Orphan colonies. Herbivory. Symbiotic fungus. Mortality.

1. INTRODUÇÃO

As formigas são insetos eussociais, pertencem à ordem Hymenoptera e família Formicidae. Entende-se por formigas-cortadeiras, uma parte das espécies da tribo Attini, da subfamília Myrmicinae, sendo representadas pelos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (Brandão, Mayhé-Nunes & Sanhudo, 2011; Bolton, 2019). Diferentemente das outras atines, as formigas-cortadeiras utilizam folhas frescas como substrato para seu fungo simbionte, e este, serve de alimento principalmente para as larvas (Moreira, Erthal Jr & Samuels, 2011; Ribeiro & Marinho, 2011).

O hábito de cortar folhas torna essas formigas importantes pragas das áreas cultivadas, das florestas e das pastagens na região Neotropical, e a sua organização social e a estrutura complexa do ninho torna seu manejo complexo (Ribeiro & Marinho, 2011; Della Lucia, Gandra & Guedes, 2014). Por essa razão, as formigas-cortadeiras são alvo de diversas pesquisas e são interessantes organismos para testar modelos de forrageamento e outros comportamentos relacionados com a eussocialidade (Hölldobler & Wilson, 1990).

Diversos artigos avaliaram a atividade de forrageamento diária ou sazonal de formigas-cortadeiras em função das variáveis ambientais, a exemplo da temperatura (Araújo et al., 2002; Jofré & Medina, 2012; Giesel, Boff & Boff, 2013; Tizón, Wulff & Peláez, 2014; Caldato et al., 2016; Nickele et al., 2016a), umidade (Gordon, Dektar & Pinter-Wollman, 2013), precipitação (Farji-Brener et al., 2018), vento (Alma, Farji-Brener & Elizalde, 2016), pressão atmosférica (Viana-Bailez & Endringer, 2016), intensidade luminosa (Corrêa et al., 2016; Viana-Bailez & Endringer, 2016), mas faltam estudos sobre a relação dos fatores endógenos à colônia e o forrageamento.

Estudos com formigas-cortadeiras exigem uma grande quantidade de colônias com rainha. Testes toxicológicos de novos formicidas, por exemplo, requerem numerosas repetições para verificação da atratividade e forrageamento desses produtos (Brasil, 2011). Grande parte desse processo é ser feito em laboratório em formigueiros artificiais mantidos em câmaras de criação. A criação e manutenção de formigas-cortadeiras em condições artificiais são realizadas há tempos para fins de pesquisa (Della Lucia et al., 1993; Araújo et al., 2011). No entanto, o sucesso do desenvolvimento dessas colônias em laboratório é baixo (entre 12 e 16%) (Delabie, Lucia & Pastre, 2000). Ensaios com o uso de subcolônias sem rainha otimizam os estudos, devido à redução no tempo de obtenção das colônias, uso menor espaço físico e

consequentemente menor custo, porém não se sabe até que ponto a ausência da rainha interfere nas atividades da colônia.

Rainhas de insetos eussociais muitas vezes são a única unidade reprodutiva e, portanto, um membro altamente influente da colônia. Além disso, a presença da rainha é fundamental para a manutenção da divisão reprodutiva do trabalho das colônias (Konrad, Pamminer & Foitzik, 2012). Em algumas sociedades de formigas, a perda da rainha resulta na morte da colônia (Autuori, 1950; Kronauer, 2009). Existem alguns estudos sobre a influência da ausência da rainha em colônias de formigas como sobre o ritmos locomotores de forrageiras em *Camponotus rufipes* (Mildner & Roces, 2017), atração da rainha por operárias e repertório comportamental em *Cataglyphis cursor* (Berton et al., 1992), comportamento das operárias e reconhecimento da rainha em *Manica rubida*, *Myrmica rubra* e *Myrmica ruginodi* (Vienne, Errard & Lenoir, 1998), reconhecimento do ninho por *Aphaenogaster senilis* (Ichinose et al., 2009), comportamento sanitário de *Temnothorax crassispinus* (Giehr, Czaczkes & Heinze, 2019), harmonia social em *Temnothorax longispinosus* (Konrad, Pamminer & Foitzik, 2012), supressão de dopamina em operárias de *Diacamma* sp. (Shimoji et al., 2017), suscetibilidade a doenças em *Temnothorax curvispinosus* (Keiser et al., 2018), mortalidade intrínseca de operárias em *T. longispinosus* (Kohlmeier et al., 2017), porém se tratam de grupos de formigas que não são cultivadoras de fungos, portanto apresentam biologia e comportamento diferentes de *Atta*. No período entre a perda da rainha e a morte da colônia, a organização social da colônia muda rapidamente (Keiser et al., 2018). Até onde se sabe, o grau em que a perda da rainha altera a execução de múltiplas tarefas coletivas ainda é desconhecido.

A ausência de rainha por um período de 10 dias não causa mudanças no padrão de forrageamento de colônias de *A. sexdens* (Sousa-Souto & Souza 2006), contudo alguns estudos de comportamento demandam tempos maiores de avaliações. Della Lucia et al. (2003) descreveram o comportamento de uma colônia de *A. sexdens* após a remoção da rainha por 80 dias e verificaram que as atividades de forrageamento, manutenção do fungo e a manipulação dos resíduos não foram diretamente afetados pela ausência da rainha nos 30 primeiros dias de avaliação. Entretanto, esses trabalhos são pouco plausíveis para propor adequações ao uso de colônias sem rainhas em novos estudos, seja pelo curto período de avaliação ou pelo reduzido número de colônias. Dessa forma, o estudo comparativo do comportamento de forrageamento de formigas-cortadeiras em colônias com e sem rainha, e na presença e ausência de larvas e pupas é

importante para propor adequações às pesquisas futuras com estes importantes insetos-praga.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar como os fatores endógenos, como a ausência de rainha, larvas e pupas influenciam o forrageamento de colônias de *A. sexdens* em laboratório, respondendo as seguintes perguntas: i) a quantidade de massa vegetal forrageada diária difere entre colônias com e sem rainha?; ii) a massa vegetal acumulada ao longo do tempo difere entre colônias com e sem rainha?; iii) a presença de larvas e pupas influencia a quantidade diária de massa vegetal forrageada?; iv) a conversão de massa vegetal forrageada em volume de fungo difere em colônias com e sem rainha?; v) o índice de mortalidade de operárias difere entre colônias com e sem rainha? A hipótese inicial era que a massa vegetal diária e acumulada forrageada por colônias com rainha é maior que das sem rainha; a presença de larvas e pupas aumenta a quantidade de massa vegetal forrageada; colônias sem rainha são mais eficientes na conversão de massa vegetal em fungo; e a mortalidade de operárias de colônias sem rainha é maior que as com rainha.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Estabelecimento de colônias

As colônias com rainha de *Atta sexdens* foram estabelecidas em laboratório a partir da coleta de colônias recém-fundadas em campo, em fevereiro de 2017, no município de Naque – MG (-19,09222 -42,18732) e mantidas no Laboratório de Entomologia Florestal, com condições controladas de temperatura e umidade, $24 \pm 2^\circ \text{C}$ e $75 \pm 10\%$ de UR, respectivamente. As colônias foram supridas diariamente com folhas de *Acalypha wilkesiana* (família: Euphorbiaceae), *Hibiscus* sp. (família: Malvaceae), *Morus* sp. (família: Moraceae), flocos de farinha de milho e água. Após 12 meses da coleta, cinco colônias com desenvolvimento semelhante foram selecionadas e transferidas para uma câmara de vidro com medidas de 20 x 20 x 2 cm, que foi disposta no interior de uma bandeja plástica (43 x 29 x 8 cm) com talco neutro aplicado nas bordas para evitar a fuga das formigas. Entretanto, três colônias morreram ao longo das avaliações do experimento.

As colônias sem rainha foram obtidas retirando parte da massa de fungo juntamente com as operárias (exceto soldados), ovos, larvas e pupas, de colônias com mais de 5 anos mantidas em laboratório. Os soldados aparecem em colônias de

laboratórios depois de quatro anos (Wilson, 1983). As colônias sem rainha foram transferidas para câmaras de vidro e supridas, conforme descrito para as colônias com rainha.

2.2. Massa vegetal forrageada, geração de resíduos e mortalidade de operárias

A atividade de forrageamento foi monitorada por 120 dias, que é o tempo máximo sobrevivência de colônias de *Atta sexdens* em campo e laboratório após a morte rainha (Autuori, 1950; Mariconi, 1970). Antes do fornecimento de folhas as colônias foram pesadas em balança analítica (peso fresco) e uma amostra das folhas foi reservada para estabelecer o peso seco (mg). Foram fornecidos para cada colônia, cerca de 20 gramas de folhas de *Acalypha wilkesiana* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) a cada 48 horas. Na troca das folhas, o material não consumido foi recolhido e seco em estufa por 48 horas a 60° C e pesado em balança digital analítica, assim como a amostra de folhas reservada anteriormente. Dessa maneira, a massa de folhas total forrageada foi calculada pela subtração da massa foliar oferecida pela massa foliar que sobrou. Os resíduos gerados por cada colônia foram recolhidos a cada 10 dias, secos e pesados (mg). A mortalidade foi obtida pelo número de formigas mortas encontradas juntas aos resíduos, e o resíduo também foi seco em estufa por 48 horas a 60° C e pesado em balança digital analítica.

2.3. Desenvolvimento do fungo simbiote e presença de larvas e pupas

O desenvolvimento do fungo simbiote *Leucogaricus gongylophorus* nas colônias foi acompanhado a cada 10 dias por 120 dias. A câmara de vidro contendo o fungo foi fotografada juntamente com uma escala graduada, e a área determinada utilizando o Software livre ImageJ, assim como o volume dos potes adicionais de fungo.

A presença ou ausência de larvas e pupas foi verificada a cada 10 dias, agitando a câmara de fungo até que as formigas começassem a transportar as larvas e pupas, confirmando sua presença. Quando a visualização da fase jovem não era possível, a câmara de fungo era revolvida a fim de verificar a presença de larvas e pupas.

2.4. Análise de dados

A massa diária forrageada (g) foi comparada em colônias com e sem rainha por meio da análise de variância e ajuste de modelos lineares generalizados mistos (GLMM). A presença de rainha foi inserida como variável independente e a colônia

como um efeito aleatório. Assim como a quantidade de massa vegetal acumulada (g) ao longo do tempo (dias), o crescimento do volume do fungo simbionte (cm^3) ao longo do tempo (dias) e o número de operárias mortas ao longo do tempo (dias).

A influência da presença de larvas e pupas sobre a quantidade diária de massa forrageada (g) foi analisada apenas durante o tempo de ocorrência destas em colônias sem rainha, visto que as larvas e pupas sempre estavam presentes em colônias com rainha. A variância e ajuste de modelos lineares generalizados mistos (GLMM) utilizando a presença de larvas e pupas variável independente e número da colônia como um efeito aleatório.

Em todas as análises, após a verificação de *outliers* nos valores dos parâmetros de busca, foram testados os pressupostos de normalidade residual e homocedasticidade por meio de gráficos Q-Q. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R (versão 3.4.4) (R CORE, 2018) e pacotes estatísticos “multcomp” (Bates et al., 2015) e “lme4” (Hothorn, Bretz & Westfall, 2008).

3. RESULTADOS

3.1. Massa vegetal diária forrageada

A massa seca diária forrageada não diferiu entre colônias de *Atta sexdens* com e sem rainha (GLMM, $F_{1,5} = 12,415$; $p=0,995$) (Figura 1). A massa seca média diária forrageada por colônias com e sem rainha foi de $3,99 \pm 0,16$ e $3,99 \pm 0,06$ g.

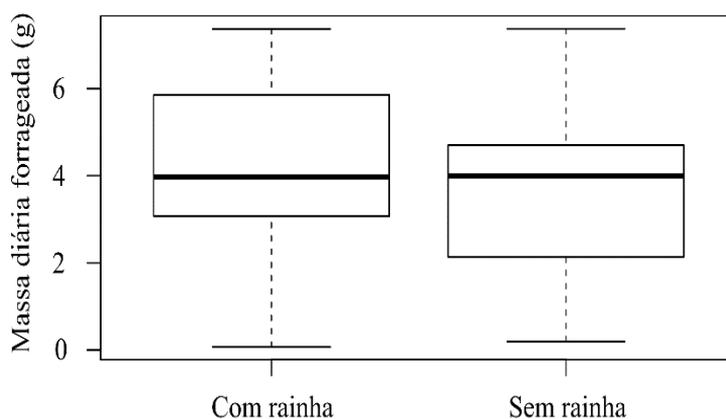


Figura 1. Massa seca diária forrageada (g) por colônias de *Atta sexdens* com e sem rainha.

3.2. Massa seca diária forrageada em função da presença de larvas e pupas

Apesar de haver a presença constante das fases jovens em colônias com rainha, a presença de larvas e pupas foi observada em colônias sem rainha até 40 a 60 dias, e

durante esse período, a presença da fase jovem não influenciou a quantidade diária de massa seca forrageada de colônias com e sem rainha (GLMM: $T=1,031$; $p=0,304$) (Figura 2).

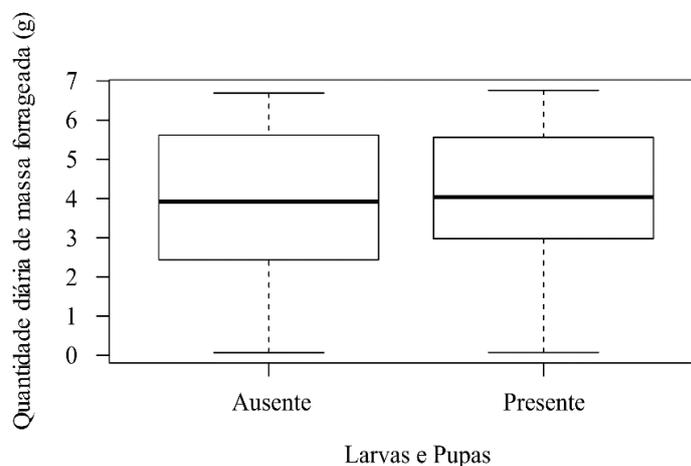


Figura 2. Massa seca diária forrageada na presença e ausência de larvas e pupas de colônias de *Atta sexdens* com e sem rainha.

3.3. Massa vegetal acumulada forrageada

A quantidade da massa vegetal forrageada diferiu entre colônias com e sem rainhas ao longo do tempo. Em colônias com rainha, a massa vegetal acumulada foi maior e aumentou mais rapidamente ao longo do tempo que em colônias sem rainhas (GLMM, $F_{1,5}= 11,41$; $p=0,002$) (Figura 3).

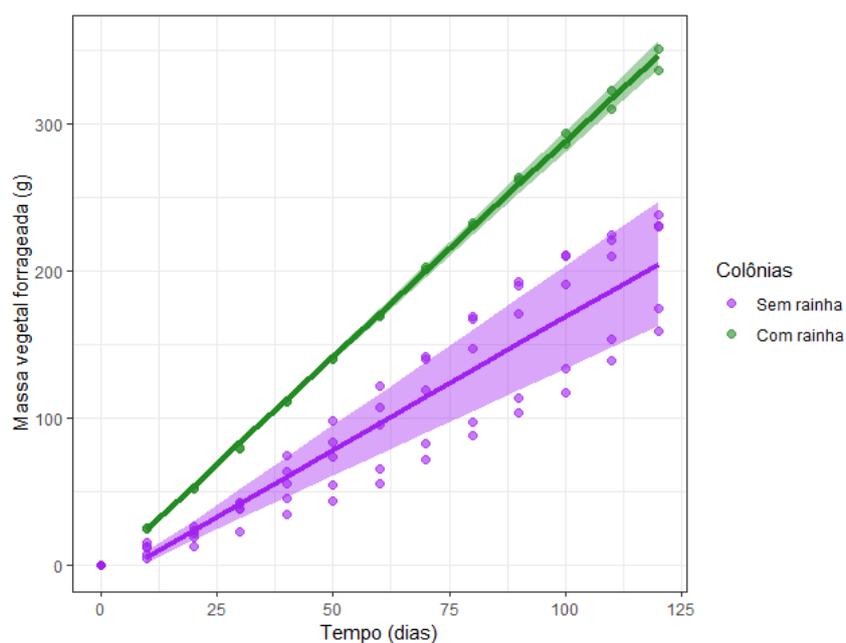


Figura 3. Quantidade de massa forrageada (g) por colônias de *Atta sexdens* com e sem rainha ao longo do tempo. As linhas fornecem a relação prevista por um modelo linear misto geral

(GLMM). As linhas indicam o valor de extrapolação e o sombreado indica os intervalos de confiança de 95%.

3.4. Desenvolvimento do fungo

A relação entre a biomassa acumulada forrageada e o volume de fungo diferiu entre colônias com e sem rainha (GLMM, $T_{1,80} = 9,55$; $p=0,002$) (Figura 4). Para uma mesma quantidade de biomassa acumulada forrageada, o volume de fungo é maior em colônias com rainhas do que em colônias sem rainhas.

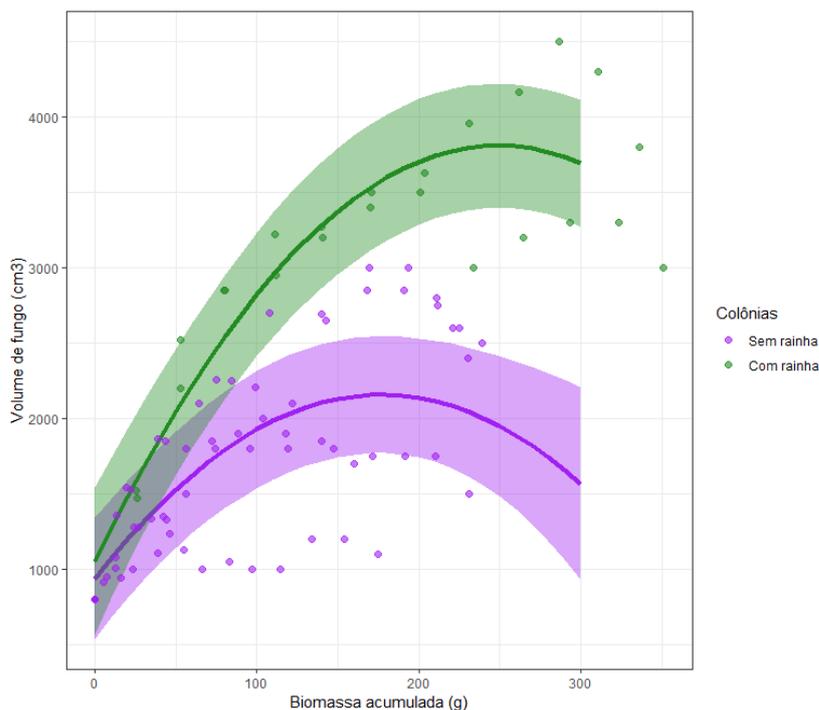


Figura 4. Relação entre o volume do fungo *Leucoagaricus gonylophorus* (cm³) e massa vegetal forrageada acumulada (g) ao longo do tempo em colônias de *Atta sexdens* com e sem rainha. A linha fornece a relação prevista por um modelo misto linear generalizado (GLMM). As linhas indicam o valor de extrapolação e o sombreado indica os intervalos de confiança de 95%.

3.5. Mortalidade de operárias ao longo do tempo

A mortalidade foi maior em colônias sem rainhas do que em colônias com rainhas (GLMM: $T_{1,14} = 8,30$; $p=0,011$) (Figura 5). O número de formigas mortas foi semelhante em colônias com e sem rainhas até 20 dias, após esse período, ocorreu aumento considerável na mortalidade de operárias de colônias sem rainha, enquanto a mortalidade de operárias de colônias aumentou gradativamente, dada à mortalidade natural em função da reposição da população.

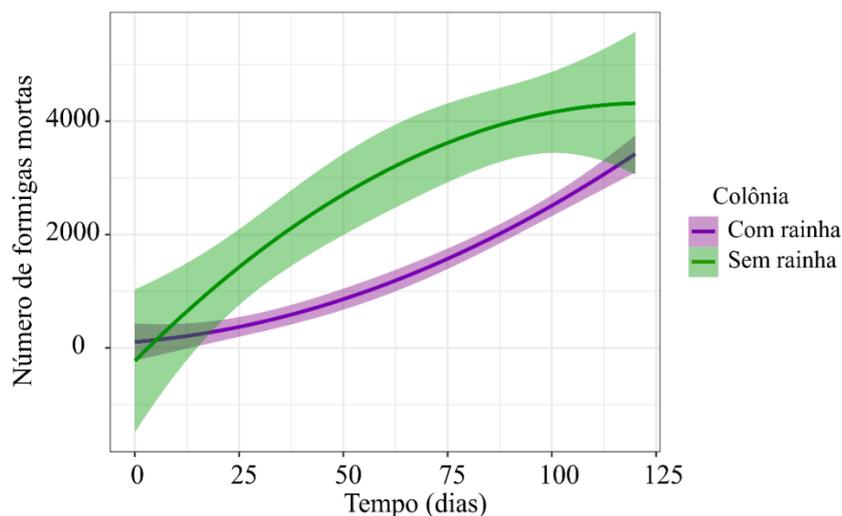


Figura 5. Extrapolação do número de operárias mortas ao longo do tempo em colônias de *Atta sexdens* com e sem rainha. A linha fornece a relação prevista por um modelo misto linear generalizado (GLMM). As linhas indicam o valor de extrapolação e o sombreado indica os intervalos de confiança de 95%.

4. DISCUSSÃO

As rainhas da espécie *Atta sexdens* são a única unidade reprodutiva da colônia, a sua presença é fundamental para a manutenção da divisão reprodutiva do trabalho das colônias (Konrad, Pamminer & Foitzik, 2012). A organização social da colônia muda rapidamente na ausência de rainhas (Keiser et al., 2018), mas o grau em que a perda da rainha altera a execução de múltiplas tarefas coletivas ainda era desconhecido até a realização desse trabalho, em que foi observado que a ausência da rainha em colônias da formiga-cortadeira *A. sexdens* alterou o comportamento de forrageamento.

A quantidade diária de material vegetal forrageado não diferiu entre colônias com e sem rainha. Sousa-Souto & Souza (2006) demonstraram que a ausência da rainha por um período de 10 dias em uma colônia de *A. sexdens* não alterou o tempo de localização e transporte de fragmentos vegetais, sugerindo que a rainha não exerce influência sobre as atividades externas da colônia durante esse curto período de tempo.

A presença de larvas e pupas não influenciou a massa foliar diária forrageada em colônias com ou sem rainha. O período de desenvolvimento de ovos de *A. sexdens* dura 25 dias, a fase larval 22 dias e a fase pupal 10 dias (Mariconi, 1970). Dessa forma, o tempo total de desenvolvimento nesta espécie é de aproximadamente 60 dias, período a partir do qual não foi mais observado a presença de larvas ou pupas nas colônias sem rainha. Della Lucia et al. (2003) também observaram a ausência de larvas e pupas na colônia de *A. sexdens* em tempo similar após a remoção da rainha. Em *Leptorax*

allardycei o ritmo de atividade na colônia aumenta na presença de ovos e larvas (Cole & Hoeg, 1996). As formigas apresentam alta plasticidade comportamental e por isso era esperado que a ausência de larvas e pupas promovesse um aumento no forrageamento diário, pois a colônia deixa de gastar energia no cuidado da prole e isso poderia aumentar a energia gasta no forrageamento. Entretanto foi observado que a presença de rainha, larva e pupa não influencia na organização social de trabalho, principalmente porque existe sincronismo nas atividades dentro e fora da colônia, assim, as castas estão intimamente ligadas através da disponibilidade de alimentos, uma vez que as forrageiras são responsáveis pela coleta de alimentos e as enfermeiras subsequentemente alimentam a cria com os alimentos coletados (Mildner & Roces, 2017). Entretanto, o forrageamento em *A. sexdens* parece não estar ligado exclusivamente à presença de larvas, assim, outros fatores são mais importantes no estímulo ao forrageamento nesta espécie, pois o número de larvas famintas pode indicar apenas o tipo de material a ser forrageado (Hölldobler & Wilson, 1990).

É possível que a plasticidade comportamental em relação a ausência de fases jovens nas colônias induzir apenas respostas no crescimento da estrutura física da colônia, como observado para *Acromyrmex lundii* (Römer & Roces, 2015) e *A. sexdens* (Camargo & Forti, 2014).

A quantidade acumulada de material vegetal forrageado foi maior em colônias com rainha, e a diferença entre as colônias com e sem rainha aumentou com tempo, pois a presença de rainha permite a manutenção no número de operárias, como observado para *Camponotus rufipes* (Mildner & Roces, 2017), *Cataglyphis cursor* (Berton et al., 1992), *Temnothorax curvispinous* (Keiser et al., 2018). O mesmo padrão de comportamento foi observado em colônias de *A. sexdens* sem rainha, que apresentaram menor massa forrageada acumulada ao longo do tempo, e quanto maior o tempo de orfandade, maior a diferença de massa forrageada entre as colônias. Alguns trabalhos sugerem que as rainhas exercem alta influência no comportamento das operárias (Vienne, Errard & Lenoir, 1998), mas aparentemente isso não ocorre com a espécie *A. sexdens*, primeiro porque não há diferenças no comportamento de forrageamento diário, além disso já foi observado que as colônias com rainha apresentam maior número de operárias envolvidas no forrageamento (Keiser et al., 2018).

Até o momento, nenhum trabalho havia quantificado a massa forrageada em colônias de *A. sexdens* com e sem rainha por um longo período de tempo, pois o

comportamento das operárias varia de maneira dependente do tempo de ausência da rainha (Ichinose et al., 2009).

Há evidências de que a rainha tem um importante papel na organização social e coesão da colônia, pois na sua ausência, existe um maior número de operárias fora do ninho e também ocorrem frequentes tentativas de fuga (Vienne, Errard & Lenoir, 1998). Após a morte da rainha em uma colônia de *A. sexdens*, a frequência de tentativas de fuga aumentou oito vezes nos primeiros 30 dias de ausência da rainha e foi 19 vezes mais frequente no final de 80 dias (Della Lucia et al., 2003). O fungo apresentou maior volume em colônias com rainha. Operárias de colônias adultas são mais eficientes na execução de tarefas em função do maior polimorfismo das operárias e especialização das atividades quando comparado a colônias iniciais de *Atta*, que apresentam menor polimorfismo das castas. Em colônias incipientes de *A. sexdens*, a rainha produz o maior número de operárias que apresentam uma faixa de tamanho mínimo necessária para processar a vegetação e cultivar o fungo simbiótico (Wilson, 1983).

Grupos contendo uma composição favorável de diferentes tipos de indivíduos, ou seja, uma mistura adaptativa de fenótipos comportamentais ou castas morfológicas (Pruitt & Goodnight, 2014), são mais eficientes em tarefas coletivas e geralmente superam grupos com composições sub-ótimas (Farine, Montiglio & Spiegel, 2015). Dessa forma, era esperado que as operárias de colônias sem rainha apresentassem maior volume de fungo, visto que eram provenientes de colônias consideradas adultas, com mais de cinco anos, enquanto as colônias com rainha apresentavam pouco mais de um ano. Entretanto, foi demonstrado com esse trabalho que a ausência da rainha reduziu o forrageamento de operárias, e, apesar de colônias sem rainha terem forrageado uma grande quantidade de material vegetal, apenas uma parte do material foi incorporado ao fungo, pois em colônias sem rainha, existe uma maior frequência de operárias fora do ninho (Vienne, Errard & Lenoir, 1998), o que diminui a eficiência da incorporação do material vegetal e o cuidado com o fungo.

Della Lucia et al. (2003) relataram que o crescimento de fungo em uma colônia de *A. sexdens* se manteve estável até 29 dias após a morte da rainha. A partir desse período houve declínio constante no jardim fungo, possivelmente pela alta frequência de tentativas de fuga e, também, pelo fato de operárias mínimas, que normalmente ficam dentro do ninho desenvolvendo suas tarefas como jardineiras e enfermeiras, serem frequentemente observadas descansando sobre a arena de forrageamento, o que implica na redução da manutenção do fungo.

A mortalidade de operárias foi maior em colônias sem rainha, isso porque grupos de formigas sob estresse da perda de um indivíduo importante como a rainha, podem ser mais suscetíveis e apresentar maior risco de mortalidade (Keiser et al., 2018), pois as operárias tornam-se mais lentas e a colônia morre rapidamente (Weber, 1972). Além disso, a maior mortalidade de operárias pode estar relacionada com o aumento no gasto energético individual devido ao aumento da antenação, uma vez que as rainhas são capazes de afetar o comportamento das operárias sem contato físico direto, através de sinais químicos voláteis. A partir de cinco dias da ausência da rainha na colônia de ocorre alteração no perfil de hidrocarbonetos cuticulares das operárias, aumentando a frequência de antenação das operárias, como observado para *Temnothorax longispinosus* (Konrad, Pamminer & Foitzik, 2012), *Aphaenogaster sensilis* (Ichinose et al., 2009) e *A. sexdens* (Della Lucia et al., 2003).

Em *A. sexdens* a frequência de transporte e despejo de operárias mortas aumentou 70 vezes após 30 dias da remoção da rainha (Della Lucia et al., 2003). Estes autores também observaram o comportamento de despejo de operárias vivas no lixo. Sousa-Souto & Souza (2006) observaram um aumento na mortalidade diária de *A. sexdens* após a remoção da rainha. A ausência da rainha também pode modificar o comportamento de defecação da colônia, fazendo com que as operárias defequem no interior do ninho, aumentando o risco morte devido à exposição à patógenos (Giehr, Czaczkes & Heinze, 2019), visto que as operárias de colônias sem rainha são mais vulneráveis a mortalidade por doenças (Keiser et al., 2018).

A alta mortalidade em colônias sem rainha também sugere potenciais efeitos estressantes da disponibilidade de alimentos (Mildner & Roces, 2017), visto que o volume e a qualidade do fungo diminuem, devido à redução na sua manutenção. Embora as larvas estejam presentes durante todo o período em colônias com rainha, estas produzem feromônios que unificam a colônia, e é possível que o fluido fecal larval seja de fato uma fonte crítica de nutrientes e/ou enzimas para as operárias, como observado para *Acromyrmex rugosus* e *Acromyrmex balzani* (Lopes et al., 2005) fato esse que não ocorre em colônias sem rainha após a ausência de larvas.

Outro fator que pode explicar a maior taxa de mortalidade de operárias de colônias sem rainha é a tentativa de reprodução das operárias, que afeta a fisiologia individual da operária e a estrutura de toda a sociedade (Shimoji et al., 2017). Em algumas formigas, quando a rainha é removida, a colônia continua a produzir larvas de ovos fertilizados previamente pela rainha e machos de ovos provenientes de operárias.

A regulação da reprodução e a formação de uma hierarquia dominante impõem um custo energético adicional à colônia. Essa reorganização é dispendiosa do ponto de vista energético, e a conseqüente mudança na participação de tarefas na colônia pode reduzir o tempo de vida da operária. Quando as operárias reproduzem, sua expectativa de vida média é reduzida para entre 74% e 88% do que na ausência de reprodução, indicando um custo de longo prazo para a colônia, além disso, operárias não reprodutivas também têm a vida útil reduzida em função do aumento na carga de trabalho pela redução da eficiência de toda a colônia na divisão de tarefas (Tsuji, Kikuta & Kikuchi, 2011).

A produção de machos por operárias em colônias de *Acromyrmex subterraneus brunneus* sem rainha resulta em um alto custo tanto para as operárias quanto para a colônia como um todo (Camargo, 2007). Em *Atta*, no entanto, esse fato é muito raro (Souza, Lopes & Della Lucia, 2011). Apesar de operárias de *Atta sexdens*, *Atta cephalotes* e *Atta colombica* serem capazes de produzir machos sem a presença da rainha (Dijkstra & Boomsma, 2006), esses indivíduos são anões e possivelmente não seriam capazes de copular. Por isso, não se sabe ainda se em *Atta* a tentativa de reprodução das operárias pode contribuir com o aumento da mortalidade das operárias.

5. CONCLUSÃO

A quantidade diária de massa vegetal forrageada por operárias de *A sexdens* não difere entre colônias com e sem rainha, e a presença de larvas e pupas não influencia na quantidade de material forrageado. A quantidade de massa vegetal acumulada ao longo do tempo até 120 dias é maior em colônias com rainha do que sem rainha. Colônias com rainha apresentam maior conversão da massa vegetal forrageada em volume de fungo simbiote. A mortalidade de operárias é maior em colônias sem rainha. Apesar de as colônias apresentarem um mesmo padrão de forrageamento, a ausência da rainha pode reduzir a atividade total da colônia em comparação com as colônias com rainha, assim, a utilização de colônias sem rainha em estudos de forrageamento por um longo período de tempo pode ocasionar uma subestimação de atividades observadas.

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos a Eliana Andrade pela manutenção e montagem dos formigueiros. Celulose Nipo-Brasileira pela cessão de áreas para coletas de ninhos e

apoio em campo. Agradecemos a todas as empresas florestais que fomentaram o Projeto Bioecologia de Formigas Cortadeiras apoiando financeiramente este projeto. CSA agradece a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos de Doutorado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alma, A. M.; Farji-Brener, A. G.; Elizalde, L. Collective response of leaf-cutting ants to the effects of wind on foraging activity. **American Naturalist**, v. 188(5), p. 576-581, 2016. doi: 10.1086/688419.

Araújo, M. S. et al. Foraging activity of *Acromyrmex laticeps nigrosetosus* (Hymenoptera, Formicidae) in *Eucalyptus* stands. **Acta Scientiarum**, v. 24(5), p. 1321-1325, 2002.

Araújo, M. S. et al. Fundação e estabelecimento de formigueiros. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: **UFV**, p. 123-188, 2011.

Arenas, A.; Roces, F. Gardeners and midden workers in leaf-cutting ants learn to avoid plants unsuitable for the fungus at their worksites. **Animal Behaviour**, v. 115, 167-174, 2016. doi: 10.1016/j.anbehav.2016.03.016.

Autuori, M. Longevidade de uma colônia de uma saúva (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908) em laboratório. **Ciência e Cultura**, v. 2, p. 285-286, 1950.

Bates, D. et al. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. **Journal of Statistical Software**, [S.I.], v. 67, Issue 1, p. 1-48, oct. 2015. Available at: <<https://www.jstatsoft.org/v067/i01>>. Date accessed: 06 feb. 2020. doi:<http://dx.doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.

Berton, F. et al. Effect of orphaning on the effectiveness of queen attraction and on worker behavioral repertoire in *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 21, p. 301-313, 1992.

Bolton, B. An online catalog of the ants of the world. Available at <http://www.antcat.org/catalog/429529> (accessed July 5, 1BC), 2019.

Brandão, C. R. F.; Mayhé-Nunes, A. J.; Sanhudo, C. E. D. Taxonomia e filogenia das formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: **UFV**, p. 27-48, 2011.

Brasil. Instrução Normativa nº 42, de 5 de dezembro de 2011. **Normas para a realização de pesquisa e experimentação com agrotóxicos**. Brasil: Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, 2011.

Caldato, N. et al. Foraging activity pattern and herbivory rates of the grass-cutting ant *Atta capiguara*. **Insectes Sociaux**, v. 63, p. 421-428, 2016. doi: 10.1007/s00040-016-0479-x.

Camargo, R. da. S. **Polietismo etário e produção de machos em colônias sem rainha da formiga cortadeira *Acromyrmex subterraneus bruneus* Forel, 1911 (Hymenoptera: Formicidae)**. 2007. 113 p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2007.

Camargo, R. da. S.; Forti, L. C. What is the stimulus for the excavation of fungus chamber in leaf-cutting ants? **Acta Ethologica**, v. 18(1), p. 31-35, 2014. doi: 10.1007/s10211-014-0181-9.

Cole, B. J.; Hoeg L. The influence of brood type on activity cycles in *Leptothorax allardycei* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Insect Behavior**, v. 9, p. 539-547, 1996. doi: 10.1007/BF02213878.

Corrêa, M. M. et al. Foraging activity of leaf-cutting ants changes light availability and plant assemblage in Atlantic forest. **Ecological Entomology**, v. 41, p. 442-450, 2016. doi: 10.1111/een.12312.

Delabie, J. H. C.; Della Lucia, T. M. C.; Pastre, L. Protocolo de experimentação para avaliar a atratividade de novas formulações de iscas granuladas utilizadas no controle das formigas cortadeiras *Acromyrmex* spp. e *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini) no campo. **Anais...**, v. 29, p. 843-848, 2000. doi: 10.1590/s0301-80592000000400029.

Della Lucia, T. M. C. et al. Colony behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) in the absence of the queen under laboratory conditions. **Behavioural Processes**, v. 64, p. 49-55, 2003. doi: 10.1016/S0376-6357(03)00078-0.

Della Lucia, T. M. C. et al. Criação de formigas cortadeiras em laboratório. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). As formigas cortadeiras. Viçosa: **UFV**, p. 151-162, 1993.

Della Lucia, T. M. C.; Gandra, L. C.; Guedes, R. N. Managing leaf-cutting ants: Peculiarities, trends and challenges. **Pest Management Science**, v. 70(1), p. 14-23, 2014. doi: 10.1002/ps.3660.

Dijkstra, M. B.; Boomsma, J. J. Are workers of *Atta* leafcutter ants capable of reproduction? **Insectes Sociaux**, v. 53, p. 136-140, 2006. doi: 10.1007/s00040-005-0848-3.

Farine, D. R.; Montiglio, P. O.; Spiegel, O. **From Individuals to Groups and Back: The Evolutionary Implications of Group Phenotypic Composition.** **Trends in Ecology and Evolution**, v. 30, p. 609-621, 2015. doi: 10.1016/j.tree.2015.07.005.

Farji-Brener, A. G. Influencia de la estacionalidad sobre los ritmos forrajeros de *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae) en una sabana tropical. **Revista de Biología Tropical**, v. 41, p. 897-899, 1993.

Farji-Brener, A. G. et al. Working in the rain? Why leaf-cutting ants stop foraging when it's raining. **Insectes Sociaux**, v. 65, p. 233-239, 2018. doi: 10.1007/s00040-018-0605-z.

Giehr, J.; Czaczkes, T. J., Heinze, J. Sanitary behavior in queenright and queenless ant colonies. **Behavioural Processes**, v. 164, p. 86-90, 2019. doi: 10.1016/j.beproc.2019.04.017.

Giesel, A.; Boff, M. I. C.; Boff, P. Seasonal activity and foraging preferences of the leaf-cutting ant *Atta sexdens piriventris* (Santschi) (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, v. 42(6), p. 552-557, 2013. doi: 10.1007/s13744-013-0160-2.

Gordon, D. M.; Dektar, K. N.; Pinter-Wollman, N. Harvester Ant Colony Variation in Foraging Activity and Response to Humidity. **PLoS ONE**, v. 8, p. 1-6, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0063363.

Hölldobler, B.; Wilson, E. O. The Ants. Cambridge, Mass.: **Belknap Press of Harvard University Press**, 1990.

Hölldobler, B.; Willson, E. O. The Superorganism. New York: **W.W. Norton & Company**, 2009. doi: 10.2307/j.ctvk12s6h.5.

Hothorn, T.; Bretz, F.; Westfall, P. Simultaneous inference in general parametric models. **Biometrical Journal**, v. 50, p. 346-363, 2008. doi: 10.1002/bimj.200810425.

Ichinose, K.; Boulay, R.; Cerdá, X.; Lenoir, A. Influence of Queen and Diet on Nestmate Recognition and Cuticular Hydrocarbon Differentiation in a Fission-Dispersing Ant, *Aphaenogaster senilis*. **Zoological Science**, v. 26, p. 681-685, 2009. doi: 10.2108/zsj.26.681.

Jofré, L. E.; Medina, A. I. Patrones de actividad forrajera y tamaño de nido de *Acromyrmex lobicornis* (Hymenoptera: Formicidae) en una zona urbana de San Luis, Argentina. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 71, p. 37-44, 2012.

Keiser, C. N. et al. Queen presence mediates the relationship between collective behaviour and disease susceptibility in ant colonies. **Journal of Animal Ecology**, v. 87, p. 379-387, 2018. doi: 10.1111/1365-2656.12696.

Kohlmeier, P. et al. Intrinsic worker mortality depends on behavioral caste and the queens' presence in a social insect. **Science of Nature**, p. 104, 2017. DOI: 10.1007/s00114-017-1452-x.

Konrad, M.; Pamminer, T.; Foitzik, S. Two pathways ensuring social harmony. **Naturwissenschaften**, v. 99(8), p. 627-636, 2012. doi: 10.1007/s00114-012-0943-z.

Kronauer, D. J. C. Recent advances in army ant biology (Hymenoptera: Formicidae). **Myrmecological News**, v. 12, p. 51-65, 2009.

Lopes, J. F. S. et al. Larval isolation and brood care in *Acromyrmex* leaf-cutting ants. **Insectes Sociaux**, v. 52, p. 333-338, 2005. doi: 10.1007/s00040-005-0816-y.

Lopes, J. F. S. et al. Spatio-temporal dynamics of foraging networks in the grass-cutting ant *Atta bisphaerica* forel, 1908 (Formicidae, Attini). **PLoS ONE**, v. 11, p. 1-15, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0146613.

Mariconi, F. A. M. As saúvas. São Paulo: **Agronômica CERES**, 1970.

Martínez, C. L. et al. Estudios sobre el comportamiento de forrajeo de *Acromyrmex lundii guering* (Hymenoptera, Formicidae) y su efecto sobre el crecimiento de procedencias de *Eucalyptus globulus labill.* (Myrtaceae). **Revista Árvore**, v. 39, p. 189-198, 2015.

Mildner, S.; Roces, F. Plasticity of daily behavioral rhythms in foragers and nurses of the ant *Camponotus rufipes*: Influence of social context and feeding times. **PLoS ONE**, v. 12, p. 1-23, 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0169244.

Moreira, D. D. O.; Erthal, Jr. M.; Samuels, R I. Alimentação e digestão em formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: **UFV**, p. 204-225, 2011.

Nickele, M. A. et al. Daily foraging activity of *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) leaf-cutting ants. **Sociobiology**, v. 63, p. 645-650, 2016. doi: 10.13102/sociobiology.v63i1.902.

Pruitt, J. N.; Goodnight, C. J. Site-specific group selection drives locally adapted group compositions. **Nature**, v. 514, p. 359-362, 2014. doi: 10.1038/nature13811.

R CORE T. 2018. **R**: A language and environment for statistical computing. Available at <http://www.r-project.org/> (accessed February 8, 2019).

Ribeiro, M. M. R.; Marinho, C. G. Seleção e forrageamento em formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: **UFV**, p. 189-203, 2011.

Römer, D.; Roces, F. Available space, symbiotic fungus and colony brood influence excavation and lead to the adjustment of nest enlargement in leaf-cutting ants. **Insectes Sociaux**, v. 62, p. 401-413, 2015. doi: 10.1007/s00040-015-0419-1.

Saverschek, N. et al. **Avoiding plants unsuitable for the symbiotic fungus: learning and long-term memory in leaf-cutting ants.** **Animal Behaviour**, v. 79, p. 689-698, 2010. doi: 10.1016/j.anbehav.2009.12.021.

Saverschek, N.; Roces, F. **Foraging leafcutter ants: Olfactory memory underlies delayed avoidance of plants unsuitable for the symbiotic fungus.** **Animal Behaviour**, v. 82, p. 453-458, 2011. doi: 10.1016/j.anbehav.2011.05.015.

Shimoji, H. et al. Queen contact and among-worker interactions dually suppress worker brain dopamine as a potential regulator of reproduction in an ant. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 71(2), p. 1-9, 2017. doi: 10.1007/s00265-016-2263-3.

Sousa-Souto, L.; Souza, D. J. 2006. Queen influence on workers behavior of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908). **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, p. 503-508, 2006. doi: 10.1590/S1519-69842006000300016.

Souza, D. J.; Santos, J. F. L.; Della Lucia, T. M. C. Organização social das formigas-cortadeiras. In: Della Lucia, T. M. C. (Ed.). **Formigas-Cortadeiras: da Bioecologia ao Manejo**. Viçosa: **UFV**, p. 126-137, 2011.

Tizón, R.; Wulff, J. P.; Peláez, D. V. The effect of increase in the temperature on the foraging of *Acromyrmex lobicornis* (Hymenoptera: Formicidae). **Zoological Studies**, v. 53(1), 2014.

Tsuji, A.K.; Kikuta, N.; Kikuchi, T. Determining the cost of worker reproduction via viminalised lifespan of the ant *Diacamma* sp. **Evolution**, v. 66, p. 1322-1331, 2011. doi: 10.5061/dryad.jq203737.

Viana-Bailez, A. M.; Endringer, F. B. Plasticidade do comportamento de forrageamento em formigas cortadeiras. **Oecologia Australis**, v. 20, p. 11-19, 2016. doi: 10.4257/oeco.2016.2003.02.

Vienne, C.; Errard, C.; Lenoir, A. Influence of the Queen on Worker Behaviour and Queen Recognition Behaviour in Ants. **Ethology**, v. 104, p. 431-446, 1998. doi: 10.1111/j.1439-0310.1998.tb00081.x.

Villalta, I.; Abril, S.; Cerdá, X.; Boulay, R. **Queen Control or Queen Signal in Ants: What Remains of the Controversy 25 Years After Keller and Nonacs' Seminal Paper?** **Journal of Chemical Ecology**, v. 44, p. 805-817, 2018. doi: 10.1007/s10886-018-0974-9.

Weber, N. A. Gardening Ants, the Attines. **Memoirs of the American Philosophical Society**, v. 92, p. 1-146, 1972.

Wilson, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants The colonies were collected at the earliest stages of development. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, p. 55-60, 1983.

ARTIGO 2

Norma NBR 6022 (ABNT 2003)

FORRAGEAMENTO E LOCOMOÇÃO DE *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Caroline Silva Abreu¹, Ronald Zanetti¹; Jéssica Josefa Sanches¹, Alexandre dos Santos²

1. Laboratório de Entomologia Florestal, Departamento de Entomologia, Universidade Federal Lavras, CEP 37200-000 - Lavras, MG, Brasil, email: carolabreujp@yahoo.com.br.

2. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT), Cáceres, MT, Brasil.

RESUMO

A temperatura influencia o forrageamento e locomoção de formigas-cortadeiras. Essa informação é importante para entender a dinâmica de carregamento de folhas por esses insetos, principalmente porque são importantes herbívoros americanos e são amplamente distribuídos em regiões com perfis climáticos distintos. O objetivo foi avaliar o forrageamento e locomoção de operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes temperaturas. A velocidade de caminamento, a massa seca dos fragmentos carregados pelas operárias e a largura da cápsula cefálica das operárias dessa espécie foram medidas nas temperaturas de 10, 16, 22, 28, 34 e 40°C. A velocidade de caminamento e a massa seca dos fragmentos vegetais transportados por *A. sexdens* aumentam com o aumento da temperatura. A área dos fragmentos carregados por essas formigas aumenta até a temperatura de 34°C, mas a 40°C reduz. O tempo de forrageamento não influencia o tamanho dos fragmentos carregados pelas formigas. A massa seca e largura da cápsula cefálica das operárias são maiores em todas as temperaturas, exceto a 28°C. O tempo de forrageamento não influencia o tamanho das operárias forrageadoras. As formigas cortadeiras apresentam alta plasticidade comportamental, e conseguem se adaptar e mudar seu comportamento em condições variável de temperatura.

Palavras-chave: Formigas cortadeiras. Termotolerância. Herbivoria. Velocidade de caminamento.

**FORAGING AND WALKING SPEED OF *Atta sexdens* (HYMENOPTERA:
FORMICIDAE) AT DIFFERENT TEMPERATURES**

ABSTRACT

Temperature influences foraging and locomotion of leaf-cutting ants. This information is important to understand the dynamics of leaf loading by these insects, mainly because they are important American herbivorous and are widely distributed in regions with different climatic profiles. The objective was to evaluate the foraging and locomotion of workers of *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) at different temperatures. The walking speed, the dry mass of the fragments carried by the workers and the width of the head capsule of the workers of this species were measured at temperatures of 10, 16, 22, 28, 34 and 40°C. The walking speed and dry biomass of carried by *A. sexdens* increase with increasing temperature. The area of the fragments carried increases up to a temperature of 34°C, but reduces at 40°C. The foraging time does not influence the size of the fragments carried by the ants. The dry mass and width of the workers' head capsule are higher at all temperatures, except at 28°C. The foraging time does not influence the size of the foraging workers. Leaf-cutting ants have high behavioural plasticity, and they are able to adapt and change their behaviour under varying temperature conditions.

Keywords: Leaf-cutting ants. Thermotolerance. Herbivory. Speed.

1. INTRODUÇÃO

As formigas-cortadeiras do gênero *Atta* e *Acromyrmex* são de extrema importância para a manutenção do equilíbrio dos ecossistemas. Essas formigas incorporam matéria orgânica no solo e contribuem para a constituição e disponibilidade de nutrientes essenciais para outros organismos (Tadey & Farji-Brener, 2007; Farji-Brener & Tadey, 2009; Swanson et al., 2019). Porém, causam também desfolhas severas em plantas cultivadas, tornando-se pragas em diversos agrossistemas (Zanetti et al., 2003, 2014).

As formigas-cortadeiras forrageiam material vegetal fresco para cultivar seu fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*, do qual se alimentam (Bass & Cherrett, 1995). O transporte de folhas é bastante complexo e requer um comportamento com alta plasticidade pelas formigas-cortadeiras para manter a eficiência do forrageamento mesmo em situações adversas (Fourcassie, Dussutour & Deneubourg, 2010). Fatores abióticos, como temperatura (Giesel, Boff & Boff, 2013; Caldato et al., 2016; Nickele et al., 2016b), precipitação (Caldato et al., 2016; Farji-Brener et al., 2018) e vento (Alma, Farji-Brener & Elizalde, 2016) são os principais fatores que afetam o forrageamento e caminhamento de formigas cortadeiras.

O conhecimento de como a temperatura influencia no forrageamento e caminhamento de formigas-cortadeiras nos permite entender a dinâmica de herbivoria desses insetos, principalmente porque são amplamente distribuídos em regiões com perfis climáticos distintos (Bolton et al., 2006). Além disso, esse conhecimento se torna indispensável num contexto de aumento da temperatura terrestre, devido à emissão de gases do efeito estufa (Bale et al., 2002; Tizón, Wulff & Peláez, 2014).

O forrageamento de *A. sexdens*, principal espécie praga de diversos cultivos no continente americano, ocorre principalmente durante a noite, mas varia de acordo com as estações do ano, isso porque a temperatura é limitante para essa atividade (Fowler & Robinson, 1979; Giesel, Boff & Boff, 2013). Essas formigas forrageiam melhor às temperaturas próximas a 26°C, e têm o forrageamento completamente cessado a temperaturas abaixo de 10°C e acima de 30°C (Fowler & Robinson, 1979; Giesel, Boff & Boff, 2013). Em situações de seca, a atividade de forrageamento é prejudicada, principalmente em dias quentes (Caldato et al., 2016).

As formigas-cortadeiras apresentam comportamento adaptativo às condições do ambiente (Viana-Bailez & Endringer, 2016). Esses insetos têm a capacidade de

aumentar a velocidade de caminhada em temperaturas mais altas (Tizón, Wulff & Peláez, 2014). Mas o aumento da temperatura reduz a massa vegetal coletada por formigas das espécies *Acromyrmex lobicornis*, *Atta cephalotes* e *Acormyrmex heyeri* (Bollazzi & Roces, 2001; Lewis, Martin & Czaczkes, 2008; Tizón, Wulff & Peláez, 2014; Nobua-Behrmann et al., 2017b). Diante disso, essas formigas têm outras estratégias para manter a oferta de folhas para a colônia, como o aumento no fluxo de formigas com carga, recrutamento de operárias maiores para carregar fragmentos maiores (Robinson & Fowler, 1982; Burd, 2000).

É esperado que o aumento da temperatura seja prejudicial para o forrageamento e caminhada de formigas cortadeiras *A. sexdens*, devido ao seu padrão de forrageamento e distribuição que ocorrem em regiões com temperaturas mais amenas. O objetivo foi avaliar o forrageamento e caminhada de operárias de *A. sexdens* em diferentes temperaturas. As hipóteses são que 1) a velocidade de caminhada de operárias com e sem carga aumenta com a temperatura, sendo maior nas formigas sem carga; 2) o aumento da temperatura aumenta o tamanho do fragmento vegetal transportado, e se altera ao longo do tempo de forrageamento; 3) o aumento da temperatura aumenta o recrutamento de operárias forrageadoras maiores.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção de colônia

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia Florestal do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras. Uma colônia de *A. sexdens* com quatro anos de idade da criação do Laboratório de Entomologia Florestal foi utilizada. A colônia foi mantida a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e $75 \pm 10\%$ de umidade relativa, suprida diariamente, com folhas de *Acalypha wilkesiana*, *Hibiscus* sp., *Morus* sp., flocos de farinha de milho e água.

2.2. Velocidade de caminhada

A colônia de *A. sexdens* foi conectada por uma mangueira plástica transparente ($\varnothing 19$ mm) a uma fonte de recurso (arena de forrageamento) com temperatura controlada em câmara climática adaptada, simulando o ambiente externo em campo. A temperatura interna da colônia foi mantida a $24^\circ \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12:12 horas (L:D) (sala de criação). Foi instalada uma câmera filmadora para o registro da atividade locomotora

das formigas acima da mangueira e da arena de forrageamento. Um tubo de vidro com 10 cm de diâmetro foi demarcado com papel milimetrado e conectado às mangueiras na saída da arena de forrageamento. Posteriormente, as filmagens foram analisadas e a velocidade de caminamento das formigas calculada a partir da razão da distância percorrida pelas formigas sobre o tempo gasto para percorrer os 10 cm anteriormente demarcados. (Tizón, Wulff & Peláez, 2014).

Antes das avaliações, folhas foram oferecidas às colônias por 24 horas. Para a indução do forrageamento e foram colocados 10 gramas de folhas frescas de *Acalypha wilkesiana* na arena de forrageamento. A temperatura da câmara foi reajustada para 10, 16, 22, 28, 34 ou 40°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), após iniciado o forrageamento, quando as folhas da arena foram trocadas. As avaliações foram feitas por até oito horas em cada temperatura, a fim de obter o número suficiente de formigas na trilha para completar a avaliação.

Os tempos de deslocamento (segundos) de 100 formigas com carga e 100 sem carga retornando à colônia foram contabilizados na saída da arena de forrageamento e a velocidade de deslocamento calculado em cm/segundo.

2.3. Massa e área do fragmento vegetal e massa e cápsula cefálica da operária

Para avaliar a influência da temperatura sobre o tamanho do fragmento vegetal cortado e transportado pelas operárias de *A. sexdens* e a relação do tamanho das operárias e do fragmento vegetal transportado, durante as avaliações de velocidade de caminamento, foram coletadas aleatoriamente 100 operárias e os respectivos fragmentos vegetais transportados na trilha de forrageamento externa à câmara climática, para cada temperatura avaliada. Os fragmentos coletados foram digitalizados em um scanner de mesa com 600 dpi de resolução e a área medida utilizando o Software livre ImageJ. Os fragmentos e as formigas foram secos a 60°C por 48 horas e pesados em balança analítica, e a cápsula cefálica medida com objetiva micrométrica.

2.4. Análise de dados

A velocidade de caminamento de operárias (cm/seg) na trilha de forrageamento retornando ao ninho com e sem carga em cada temperatura foi analisada por meio de ajuste de modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição do tipo Gama. Os dados de velocidade passaram por transformação do tipo raiz quadrada. Além disso,

uma análise de contraste de modelos por comparações par a par foi feita para verificar se existe diferença na velocidade de caminamento de operárias retornando ao ninho com e sem carga e operárias deixando o ninho em direção à arena de forrageamento.

Para verificar se a massa (mg) e área (mm²) dos fragmentos transportados são influenciadas pela temperatura e tempo de forrageamento foi realizada análise utilizando de ajuste modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição do tipo Gaussiana. Uma transformação logarítmica para a base 10 foi aplicada aos dados para atender aos pressupostos requeridos do modelo. A fim de verificar se o tamanho do fragmento se altera ao longo do tempo de forrageamento, os fragmentos foram categorizados em quatro grupos, de acordo com o tempo de forrageamento, e foi realizada uma análise utilizando modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição do tipo Gaussiana, com transformação logarítmica nos dados de massa e transformação do tipo raiz quadrada nos dados de largura de cápsula cefálica para atender aos pressupostos requeridos do modelo.

A relação entre temperatura e a massa (mg) e a largura de cápsula cefálica das operárias forrageadoras na trilha foi realizada utilizando modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição do tipo Gaussiana, com transformação logarítmica nos dados de massa e transformação do tipo raiz quadrada nos dados de largura de cápsula cefálica para atender aos pressupostos requeridos do modelo.

Em todas as análises, após a verificação de *outliers* nos valores dos parâmetros de busca, testamos os pressupostos de normalidade residual e homocedasticidade por meio de gráficos Q-Q. Os resultados de dados que foram previamente transformados foram apresentados sem transformação para facilitar sua interpretação. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R (versão 3.4.4) (R CORE, 2018).

3. RESULTADOS

3.1. Velocidade de caminamento

A velocidade de caminamento de operárias de *A. sexdens* diferiu entre formigas com e sem carga (GLM: $X^2=1,69$; $GL=1$; $p=0,003$) e aumentou com a temperatura (GLM: $X^2=388,22$; $GL=1$; $p<0,001$). A taxa de aumento da velocidade de caminamento das operárias é dada pela equação:

$$Velocidade = \frac{1}{1.3855398 - 0.0264949 * carga - 0.0288825 * temperatura}$$

A velocidade de caminamento de formigas sem carga foi maior ($4,48 \pm 0,13$ cm/seg) que com carga ($3,08 \pm 0,14$ cm/seg) a 40°C . O mesmo ocorreu nas temperaturas de 16°C e 22°C na qual as formigas sem carga apresentaram velocidade de caminamento de $0,84 \pm 0,03$ e $1,45 \pm 0,07$ cm/seg, respectivamente, enquanto a velocidade de formigas com carga foi de $0,90 \pm 0,03$ e $1,56 \pm 0,06$ cm/seg. A velocidade de caminamento de formigas com carga foi maior que sem carga sob 10 , 28 e 34°C , apresentando velocidade média de $0,75 \pm 0,03$; $2,43 \pm 0,09$ e $3,33 \pm 0,10$ respectivamente (Figura 2).

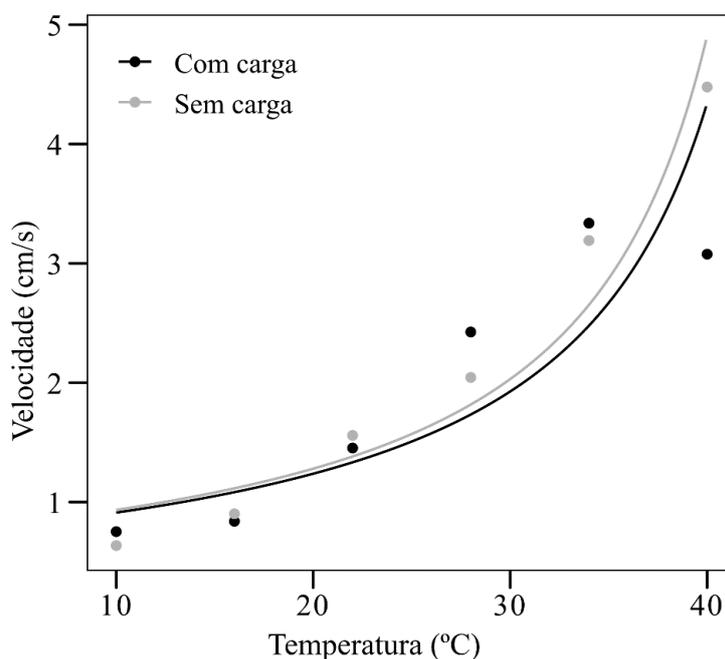


Figura 2 Velocidade de caminamento de operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae), com e sem carga, em diferentes temperaturas.

3.2. Massa e área do fragmento vegetal forrageado

A massa seca dos fragmentos vegetais transportados pelas operárias de *A. sexdens* aumenta com o aumento da temperatura (GLM: $F_{6,593} = 16,67$; $p < 0,001$). Os fragmentos com maior massa foram selecionados e transportados a 34 e 40°C , e não houve diferença entre essas faixas de temperatura. Assim como não houve diferença estatística entre a massa dos fragmentos a 10 , 16 , 22 e 28°C (Figura 3).

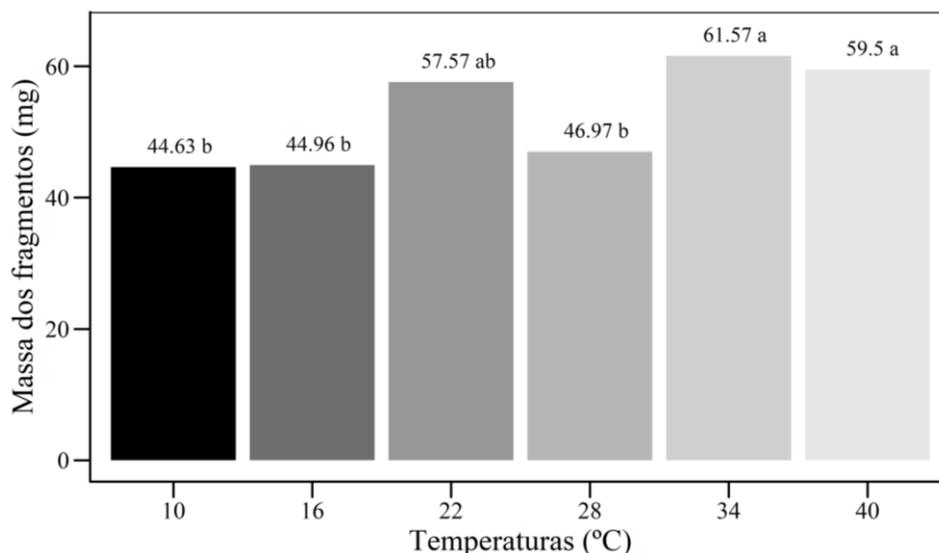


Figura 3 Massa seca dos fragmentos transportados de *Acalipha wilkesiana* por operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes temperaturas. Barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A área dos fragmentos também aumenta com a temperatura (GLM: $F_{5,594}=17,86$; $p < 0,001$), exceto sob 40°C, que apresentou a segunda menor média de área ($9,75 \pm 0,25$ mm²) (figura 4). Não houve diferença na área média dos fragmentos sob 10 e 16 °C, assim como os fragmentos forrageados sob 22, 28 e 40°C. Os maiores fragmentos foram forrageados sob 34°C. Além disso, o tamanho dos fragmentos não se altera ao longo do tempo de forrageamento (GLM: $F_{15,576}=2552,6$; $p=0,45$).

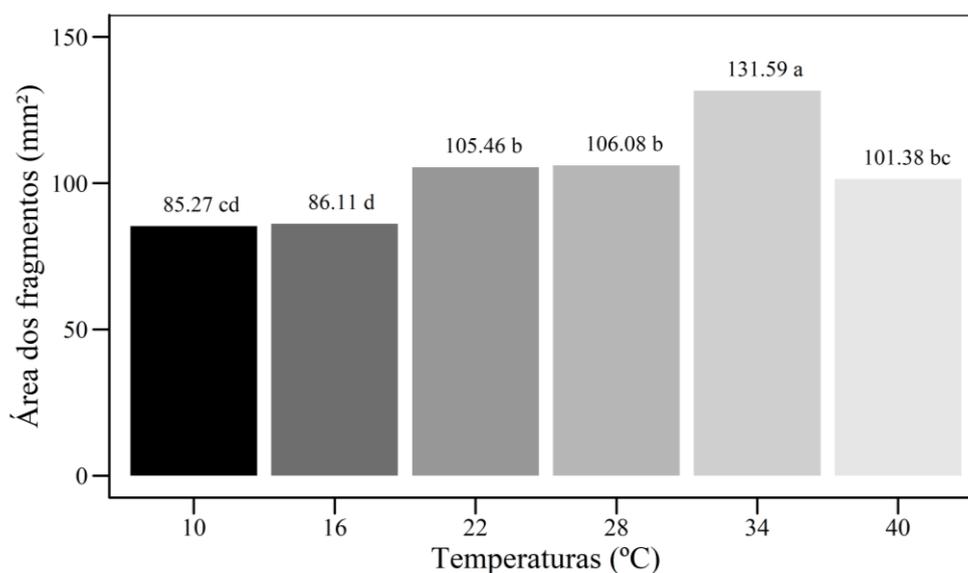


Figura 4 Área (mm²) dos fragmentos transportados de *Acalipha wilkesiana* por operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes temperaturas. Barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

3.3. Massa e cápsula cefálica das operárias

A temperatura influenciou a massa (GLM: $F_{5,594}=7,54$; $p<0,001$) (figura 6) e cápsula cefálica das operárias (GLM: $F_{5,594}=9,74$; $p<0,001$) (Figura 7). A 28°C a massa e a cápsula cefálica das operárias foram significativamente menores que as demais temperaturas. A massa das operárias não teve relação com a massa vegetal forrageada (LM: $F_{1,5}= 64,110$; $p<0,01$; $R^2 = 0,1357$) (Figura 8) nem com a área dos fragmentos (LM: $F_{1,5}= 45,573$ $p= 0,001$; $R^2=0,177$) (Figura 9) nas diferentes temperaturas. Além disso, as variáveis massa e cápsula cefálica das operárias com e sem carga não alteraram ao longo do tempo de forrageamento nas diferentes temperaturas (GLM: $F_{15,574}=13,55$; $p=0,55$).

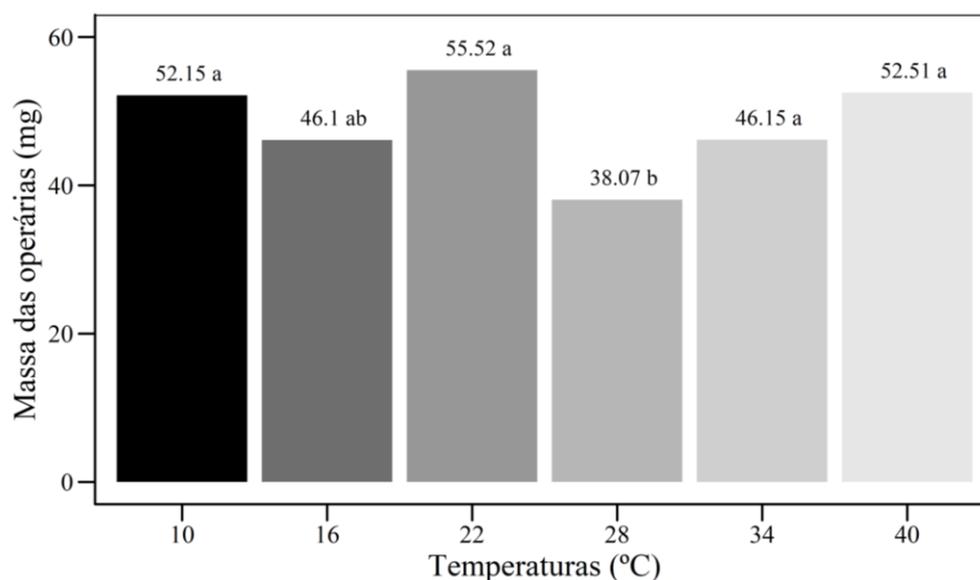


Figura 6 Massa (mg) das operárias forrageadoras de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes temperaturas. Barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

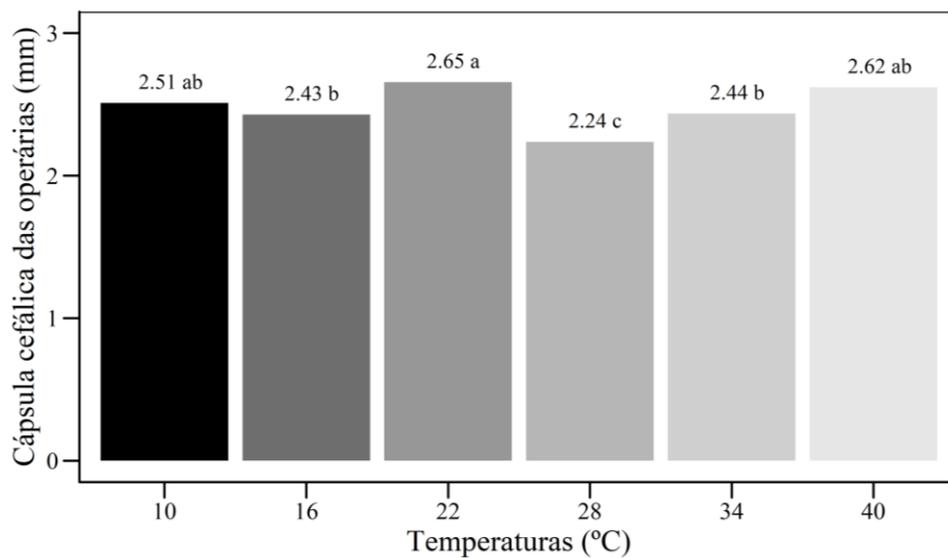


Figura 7 Largura da cápsula cefálica (mm) das operárias forrageadoras de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes temperaturas. Barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

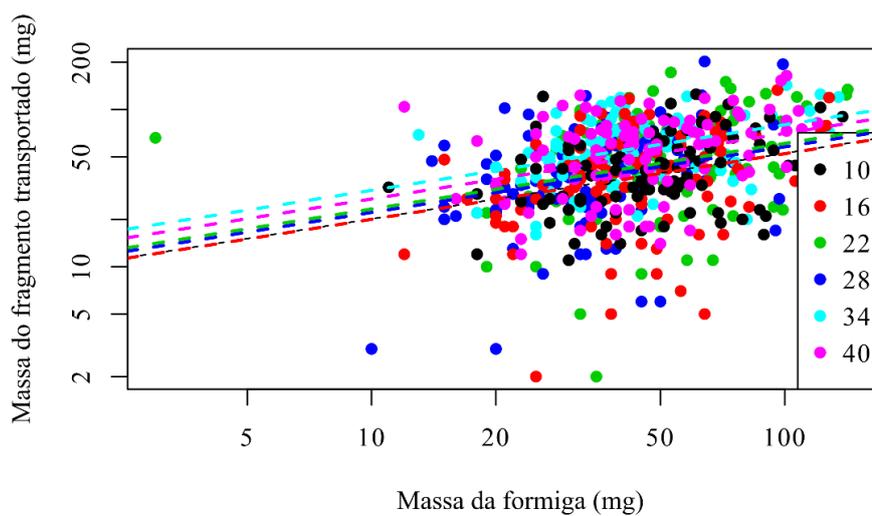


Figura 8 Relação entre a massa do fragmento vegetal transportado (mg) e a massa da operária forrageadora de *Atta sexdens* (mg) em função das diferentes temperaturas (10, 16, 22, 34 e 40°C). A linha fornece a relação prevista por um modelo linear.

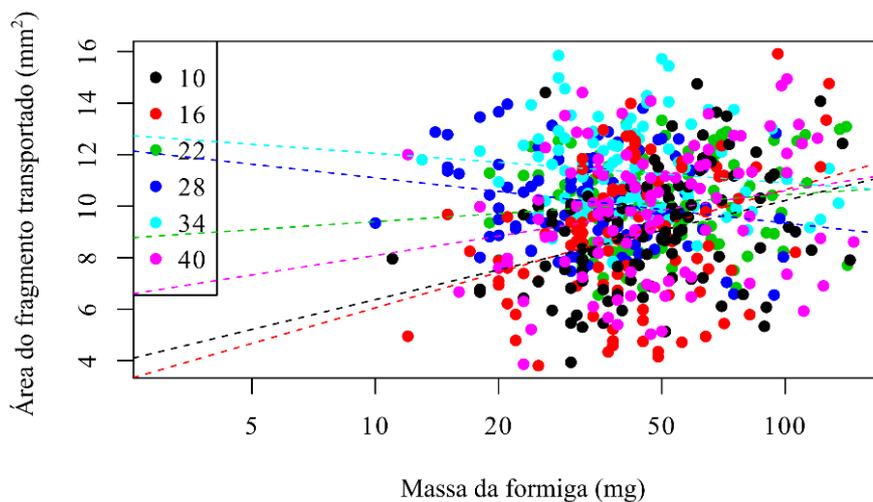


Figura 9 Relação entre a área do fragmento vegetal transportado (mm^2) e a massa da operária forrageadora de *Atta sexdens* (mg) em função das diferentes temperaturas (10, 16, 22, 34 e 40°C). A linha fornece a relação prevista por um modelo linear.

4. DISCUSSÃO

As formigas-cortadeiras são amplamente distribuídas no Continente Americano, e experimentam intervalos de temperatura muito amplos (Bolton et al., 2006). As estratégias de forrageamento podem ser rapidamente adaptadas às mudanças ambientais, devido à flexibilidade comportamental e à comunicação entre as operárias das formigas (Gordon, 1996). Neste trabalho foi observado que o aumento da temperatura afeta o forrageamento e caminhamento de operárias de *Atta sexdens* e isso pode influenciar a herbivoria desses insetos e a sua dinâmica com ambiente.

A velocidade de caminhamento de *A. sexdens* com e sem carga aumenta com o aumento da temperatura, pois a temperatura pode ter aumentado a taxa de contato entre as formigas com carga retornando ao ninho e as formigas sem carga que estão indo em direção ao recurso (Fourcassie, Dussutour & Deneubourg, 2010; Bouchebti et al., 2015). A temperatura afeta a organização do tráfico bidirecional de *A. sexdens*, provavelmente porque com o aumento da temperatura as formigas com carga caminham mais próximas ao meio da trilha e conseqüentemente tem maior chance de ter colisão. Além disso, as manobras se tornam mais difíceis com o aumento da velocidade e com o carregamento de fragmentos (Fourcassie, Dussutour & Deneubourg, 2010).

Esse comportamento foi relatado para outras espécies de *Atta*, como: *A. cephalotes* (Lewis, Martin & Czaczkes, 2008), *A. laevigata* (Bouchebti et al., 2014), *A. sexdens rubropilosa* (Souza-Silva & Zanetti, 2007) e *A. vollenweideri* (Röschard & Roces, 2002; Bouchebti et al., 2015). Isso ocorre porque a exposição prolongada das

formigas em temperaturas acima da sua tolerância térmica causa morte por desidratação (Angilletta et al., 2007; Kaspari et al., 2015; Mitchell et al., 2017). Uma maneira de minimizar esse efeito é aumentando a velocidade para ficar menos tempo exposta à essa condição.

As formigas apresentaram comportamento de desorientação em altas temperaturas porque essas causam evaporação de feromônios de trilha (Van Oudenhove et al., 2011), causando um confundimento para localizar a saída da arena de forrageamento. Altas temperaturas afetam comunicação química de formigas, causando menor eficiência no recrutamento das operárias (Van Oudenhove et al., 2011). Algumas espécies conseguem se adaptar a essas condições e conseqüentemente reduzem a competitividade por recurso e espaço (Bestelmeyer, 2000; Tizón, Wulff & Peláez, 2014), pois podem forragear em horários e regiões com condições climáticas adversas, como as formigas *Acromyrmex lobicornis* e *A. striatus* (Nobua-Behrmann et al., 2017b). O custo de síntese e reposição de feromônio nas trilhas de forrageamento estão relacionados com a termotolerância dos insetos que resistem mais a temperaturas adversas podendo realizar essas funções. A formiga *A. sexdens* tem a sua mobilidade prejudicada em temperaturas extremas, como 0 e 42°C. Apesar da desorientação das formigas, os autores sugerem que esses insetos são tolerantes ao calor, pois apresentaram comportamento defensivo que permitiria que essas formigas evacuassem uma trilha com o aumento da temperatura (Angilletta et al., 2007).

Em temperaturas baixas não há aumento da velocidade de caminamento porque o frio impacta negativamente na movimentação desses insetos. Temperaturas muito abaixo do limite térmico, nesses insetos podem reduzir ou até paralisar a movimentação (Angilletta et al., 2007; Jumbam et al., 2008; Cole et al., 2010). Resultado semelhante foi observado para as formigas *A. lobicornis* (Tizón, Wulff & Peláez, 2014). Durante a avaliação de 10°C, algumas operárias ficaram imóveis, e precisaram ser removidas para não interromper o fluxo de forrageamento. Alguns compostos como alcanos aumentam a fluidez da cutícula, dificultando a paralisação da movimentação das formigas pela ação do frio (Menzel, Blaimer & Schmitt, 2017). Mas os teores de componentes cuticulares importantes para a tolerância térmica ocorrem em menos concentração nas temperaturas baixas na formiga *A. sexdens* (Duarte et al., 2019). Reforçando que para essa espécie ocorra diferentes estratégias como resposta a ocorrência de temperaturas extremas no ambiente.

A menor velocidade das formigas com carga deve-se à maior quantidade de energia necessária para transportar carga, causando redução na velocidade dessas formigas (Lighton, Bartholomew & Feener, 1987).

4.1. Massa e área do fragmento vegetal forrageado

A massa seca dos fragmentos vegetais transportados pelas operárias de *A. sexdens* aumenta com o aumento da temperatura, porque para essa formiga é mais importante o carregamento de fragmentos mais pesados para manter a oferta de folhas para o fungo simbiote. A massa seca dos fragmentos carregados pelas - cortadeiras influencia a mobilidade desses insetos, fragmentos muito pesados ou grandes prejudicam as manobras desses insetos, culminando num maior gasto de energia (Fourcassie, Dussutour & Deneubourg, 2010; Moll, Ferderle & Roces, 2011; Alma, Farji-Brener & Elizalde, 2016).

Outra possibilidade para a massa seca dos fragmentos vegetais transportados pelas operárias ter aumentado com a temperatura pode estar relacionado com a frequência com que cada formiga sai para forragear. As formigas carregam fragmentos mais pesados para fornecer a quantidade ideal de folhas para o fungo e como consequência saem menos vezes para forragear e permanecem menos tempo expostas a condições letais de temperatura.

A área dos fragmentos aumenta com a temperatura, sendo maior a 34°C, porque os fragmentos maiores apresentam área maior, e a massa seca desses fragmentos também aumenta com o aumento da temperatura. Entretanto, os fragmentos coletados a 40°C tem áreas pequenas e maiores massas, isso pode indicar um comportamento de seleção de fragmentos com maiores densidades nessas temperaturas.

As formigas-cortadeiras apresentam alta plasticidade comportamental, e conseguem se adaptar e mudar seu comportamento dependendo das condições externas (Viana-Bailez & Endringer, 2016). A espécie *A. sexdens* não é bem adaptada para forragear a 40°C (Giesel, Boff & Boff, 2013), dessa maneira a seleção de fragmentos mais densos e com maior teor de água pode tornar esses fragmentos mais fáceis de serem assimilados no momento da ingestão e digestão da seiva, pois pode diluir possíveis compostos secundários tóxicos das folhas (Barrer & Cherrett, 1972; Bowers & Potter, 1981).

O tamanho dos fragmentos não se altera ao longo do tempo de forrageamento porque o carregamento de fragmentos maiores requer um custo energético muito alto

para a colônia, como observado para *A. vollenweideri* e *A. colombica* (Lighton, Bartholomew & Feener, 1987; Moll, Ferderle & Roces, 2011; Bochynek, Meyer & Burd, 2017). Além disso, formigas diferentes são recrutadas ao longo do tempo para carregar os fragmentos, fazendo com que esses insetos consigam manter o padrão de carregamento de folhas, assim, a maioria das espécies de formigas cuja dieta depende da coleta de material sólido é caracterizada por um alto polimorfismo da casta operária (Hölldobler e Wilson, 1990).

4.2. Massa e cápsula cefálica das operárias

As maiores larguras de cápsula cefálica e massa seca da formiga *A. sexdens* em todas as temperaturas, exceto em 28°C, ocorre porque esses insetos apresentam alto polimorfismo e comportamento de partição de tarefas (Toledo et al., 2016). As formigas com maior massa e largura de cápsula cefálica são recrutadas em situações de temperatura diferente da ideal, que nesse trabalho acredita-se ser 28°C, porque inseto maior tem maior capacidade de carga de fragmentos e são mais velozes no caminhar de formigas (Roces, 1990; Burd, 1996). Além disso, formigas maiores também são mais robustas e mais resistentes à dessecação e paralisação pelo frio (Andrew et al., 2013; Bouchebti et al., 2014; Bujan, Yanoviak & Kaspari, 2016).

As formigas são bem conhecidas por sua habilidade de transporte de cargas muito grandes, e embora as formigas maiores sejam individualmente mais eficientes que as formigas pequenas no transporte de alimentos, a taxa de transporte relativa, definida como a razão da taxa de transporte pela massa da formiga, é maior para formigas pequenas do que para formigas grandes. Assim, as colônias apresentam maior benefício em investir em formigas menores do que grandes para o transporte de alimentos (Bernardou, et al. 2016).

5. CONCLUSÃO

A velocidade de caminhar e massa seca dos fragmentos carregados pelas formigas *A. sexdens* aumentam com o aumento da temperatura. A área dos fragmentos carregados por essas formigas aumenta até a temperatura de 34°C. O tempo de forrageamento não influencia o tamanho dos fragmentos carregados pelas formigas. A massa seca e largura da cápsula cefálica das operárias são maiores em todas as temperaturas, exceto a 28°C. O tempo de forrageamento não influencia o tamanho das

operárias forrageadoras. Essas formigas mostraram uma capacidade de adaptação à atividade de forrageamento em condições de aumento gradual na temperatura.

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos a Eliana Andrade pela manutenção e montagem dos formigueiros assim como o auxílio na adaptação da câmara climática. Dr. Vincent Fourcassie pelas sugestões na metodologia e análise estatística. Agradecemos a todas as empresas florestais que fomentaram o Projeto Bioecologia de Formigas Cortadeiras apoiando financeiramente este projeto. CSA agradece a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos de Doutorado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alma, A. M.; Farji-Brener, A. G.; Elizalde, L. Collective response of leaf-cutting ants to the effects of wind on foraging activity. **American Naturalist**, v. 188(5), p. 576-581, 2016. doi: 10.1086/688419.

Andrew, N. H. et al. **Can temperature insects take the heat?** A case of the physiological and behavioural response in a common ant, *Iridomyrmex purpureus* (Formicidae), with potential climate change. **Journal of Insect Physiology**, v. 59(9), p. 870-880, 2013. doi:10.1016/j.jinsphys.2013.06.003.

Angilletta, M. J. et al. **Urban Physiology: City Ants Possess High Heat Tolerance.** **PLoS One**, v. 2(2), e258, 2007.

Bale, J. S. et al. **Herbivory in global climate change research:** Direct effects of rising temperature on insect herbivores. **Global Change Biology**, v. 8(1), p. 1-16, 2002. doi:10.1046/j.1365-2486.2002.00451.x.

Barrer, P. M.; Cherrett, J. M. Some factors affecting the site and pattern of leaf-cutting activity in the ant *Atta cephalotes* L. **Physiological Entomology**, v. 47(1), p. 15-27, 1972. doi:10.1111/j.1365-3032.1972.tb00002.x.

Bass, M.; Cherrett, J. M. Fungal Hyphae as a Source of Nutrients for the Leaf-Cutting Ant *Atta Sexdens*. **Physiological Entomology**, v. 20, p. 1-6, 1995. doi:10.1111/j.1365-3032.1995.tb00793.x.

Bestelmeyer, B. T. The trade-off between thermal tolerance and behavioural dominance in a subtropical South American ant community. **Journal of Animal Ecology**, v. 68, p. 998-1009, 2000.

Bochynek, T.; Meyer, B.; Burd, M. Energetics of trail clearing in the leaf-cutter ant *Atta*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 71(1), p. 1-10, 2017. doi:10.1007/s00265-016-2237-5.

Bochynek, T.; Meyer, B.; Burd, M. Energetics of trail clearing in the leaf-cutter ant *Atta*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 71(1), p. 1-10, 2017. doi:10.1007/s00265-016-2237-5.

Bollazzi, M.; Roces, F. Thermal preference for fungus culturing and brood location by workers of the thatching grass-cutting ant *Acromyrmex heyeri*. **Insectes Sociaux**, v. 49(2), p. 153-157, 2001. doi:10.1007/s00040-002-8295-x.

Bolton, B. et al. Bolton's catalogue of ants of the world. Cambridge: **Harvard University Press**, 2006.

Bouchebti, S. et al. Contact rate modulates foraging efficiency in leaf cutting ants. **Scientific Reports**, v. 5(1), 2015. doi:10.1038/srep18650.

Bouchebti, S. et al. Comparative study of resistance to heat in two species of leaf-cutting ants. **Insectes Sociaux**, v. 62(1), p. 97-99, 2014. doi:10.1007/s00040-014-0378-y.

Bowers, M. A.; Potter, S. D. Effect of foraging distance on water content of substrate harvested by *Atta colombica*. **Ecology**, v. 37, p. 273-275, 1981.

Bragança, M. A. L.; Tonhasca, A.; Della Lucia, T. M. C. Reduction in the foraging activity of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* caused by the phorid *Neodohrniphora* sp. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 89, p. 305-311, 1998.

Bowers, M.A.; Potter, S. D. Effect of foraging distance on water content of substrate harvested by *Atta colombica*. **Ecology**, v. 37, p. 273-275, 1981.

Bujan, L.B.; Yanoviak, S.; Kasparim, M. **Desiccation resistance in tropical insects: causes and mechanisms underlying variability in Panama ant community.** **Ecology and Evolution**, v. 6(17), p. 6282-6291, 2016. doi:10.1002/ece3.2355.

Burd, M. **Foraging behaviour of *Atta cephalotes* (leaf-cutting ants): an examination of two predictions for load selection.** *Animal Behaviour* 60(6):781–788, 2000. doi:10.1006/anbe.2000.1537.

Burd, M. Foraging performance by *Atta colombica*, a leaf-cutting ant. **The American Naturalist**, v. 148(4), p. 597-612, 1996.

Caldato, N. et al. Foraging activity pattern and herbivory rates of the grass-cutting ant *Atta capiguara*. **Insectes Sociaux**, v. 63, p. 421-428, 2016. doi:10.1007/s00040-016-0479-x.

Cole, B. J. et al. The structure of foraging activity in colonies of the harvester ant, *Pogonomyrmex occidentalis*. **Behavioral Ecology**, v. 21(2), p. 337-342, 2010. doi:10.1093/beheco/arp193.

Duarte, B. F. et al. Effect of temperature on survival and cuticular composition of three different ant species. **Journal of Thermal Biology**, v. 80(2), p. 178-189, 2019. doi:10.1016/j.jtherbio.2019.02.005.

Farji-Brener, A. G. et al. **Working in the rain?** Why leaf-cutting ants stop foraging when it's raining. **Insectes Sociaux**, v. 65, p. 233-239, 2018. doi:10.1007/s00040-018-0605-z.

Farji-Brener, A. G.; Tadey, M. **Contributions of Leaf-Cutting Ants to Soil Fertility: Causes and Consequences.** In: Lucero, D. P; Boggs, J. E. (Eds.). *Soil Fertility.* Nova Science Publishers, Inc, p. 81-91, 2009.

Fourcassie, V.; Dussutour, A.; Deneubourg, J. L. Ant traffic rules. *Journal of Experimental Biology*, v. 213(14), p. 2357-2363, 2010. doi:10.1242/jeb.031237.

Fowler, H. G.; Robinson, S. W. **Foraging by *Atta sexdens* (Formicidae: Attini):** seasonal patterns, caste and efficiency. *Ecological Entomology*, v. 4(3), p. 239-247, 1979. doi:10.1111/j.1365-2311.1979.tb00581.x.

Giesel, A.; Boff, M. I. C.; Boff, P. Seasonal activity and foraging preferences of the leaf-cutting ant *Atta sexdens piriventris* (Santschi) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology*, v. 42(6), p. 552-557, 2013. doi: 10.1007/s13744-013-0160-2.

Jumbam, K. et al. Acclimation effects on critical and lethal thermal limits of workers of the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Journal of Insect Physiology*, v. 54(6), p. 1008-1014. doi: 10.1016/j.jinsphys. 2008.03. 011.

Kaspari, M. et al. Thermal adaptation generates a diversity of thermal limits in a rainforest ant community. *Global Change Biology*, v. 21(3), p. 1092-1102, 2015. doi:10.1111/gcb.12750.

Lewis, O. T.; Martin, M.; Czaczkes, T. J. Effects of trail gradient on leaf tissue transport and load size selection in leaf-cutter ants. *Behavioral Ecology*, v. 19(4), p. 805-809, 2008. doi:10.1093/beheco/arn032.

Lighton, J. R. B.; Bartholomew, G. A.; Feener, D. H. Energetics of locomotion and load carriage and a model of the energy cost of foraging in the leaf-cutting ant *Atta colombica* Guer. *Physiological Zoology*, v. 60(5), p. 534-537, 1987.

Menzel, F.; Blaimer, B. B.; Schmitt, T. **How do cuticular hydrocarbons evolve?** Physiological constraints and climatic and biotic selection pressures act on a complex functional trait. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 284(1850), 20161727, 2017. doi:10.1098/rspb.2016.1727.

Mitchell, K. A. et al. **Effects of nutrient and water restriction on thermal tolerance:** A test of mechanisms and hypotheses. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 212, p. 15-23, 2017. doi:10.1016/j.cbpa.2017.06.019.

Moll, K.; Ferderle, W.; Roces, F. **The energetics of running stability:** costs of transport in grass-cutting ants depend on fragment shape. *Journal of Experimental Biology*, v. 215, p. 161-168, 2011. doi:10.1242/jeb.063594.

Nickele, M. A.; Filho, W. R.; Pie, M. R.; Penteadó, S. R. C. Daily foraging activity of *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) leaf-cutting ants. **Sociobiology**, v. 63, p. 645-650, 2016. doi: 10.13102/sociobiology.v63i1.902.

Nobua-Behrmann, B. et al. **Coexisting in harsh environments**: Temperature-based foraging patterns of two desert leafcutter ants (Hymenoptera: Formicidae: Attini). **Myrmecological News**, v. 25, p. 41-49, 2017.

Robinson, S. W.; Fowler, H. G. Foraging and pest potential of Paraguayan grass-cutting ants (*Atta* and *Acromyrmex*) to the cattle industry. **Zeitschrift für Angewandte Entomologie**, v. 93, p. 42-54, 1982. doi:10.1111/j.1439-0418.1982.tb03569.x.

Roces, F. Leaf-cutting ants cut fragment sizes in relation to distance from the nest. **Animal Behaviour**, v. 40, p. 1181-1183, 1990. doi:10.1016/S0003-3472(05)80185-X.

Röschard, J.; Roces, F. The effect of load length, width and mass on transport rate in the grass-cutting ant *Atta vollenweideri*. **Oecologia**, v. 131, p. 319-324, 2002. doi: 10.1007/s00442-002-0882-z.

Souza-Silva, A.; Zanetti, R. Forrageamento por *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) a campo em mudas de eucalipto pulverizadas ou imersas em soluções de extrato pirolenhoso. **Revista Árvore**, v. 31(4), p. 753-759, 2007. doi:10.1590/S0100-67622007000400021.

Swanson, A.C. et al. **Welcome to the *Atta* world**: A framework for understanding the effects of leaf-cutter ants on ecosystem functions. **Functional Ecology**, v. 33, p. 1386-1399, 2019. doi:10.1111/1365-2435.13319.

Tadey, M.; Farji-Brener, A. G. Indirect effects of exotic grazers: livestock decreases the nutrient content of refuse dumps of leaf-cutting ants through vegetation impoverishment. **Journal of Applied Ecology**, v. 44(6), p. 1209-1218, 2007. doi:10.1111/j.1365-2664.2007.01338.x.

Tizón, R.; Wulff, J. P.; Peláez, D. V. The effect of increase in the temperature on the foraging of *Acromyrmex lobicornis* (Hymenoptera: Formicidae). **Zoological Studies**, v. 53(1), 2014.

Toledo, M. A. et al. Two castes sizes of leafcutter ants in task partitioning in foraging activity. **Ciência Rural**, v. 46(11), p. 1902-1908, 2016. doi:10.1590/0103-8478cr20151491.

Van Oudenhove, L. et al. Temperature limits trail following behaviour through pheromone decay in ants. **Naturwissenschaften**, v. 98(12), p. 100–1017, 2011. doi:10.1007/s00114-011-0852-6.

Viana-Bailez, A. M.; Endringer, F. B. Plasticidade do comportamento de forrageamento em formigas cortadeiras. **Oecologia Australis**, v. 20, p. 11-19, 2016. doi: 10.4257/oeco.2016.2003.02.

Zanetti, R. et al. An Overview of Integrated Management of Leaf-Cutting Ants (Hymenoptera: Formicidae) in Brazilian Forest Plantations. **Forests**, v. 5(3), p. 439-454, 2014. doi:10.3390/f5030439.

Zanetti, R. et al. Level of economic damage for leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in *Eucalyptus* plantations in Brazil. **Sociobiology**, v. 42(2), p. 433-442, 2003.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As formigas cortadeiras são insetos extremamente importantes para os ecossistemas, e a sua atividade, principalmente de forrageamento é bastante influenciada por fatores ambientais e endógenos. Os resultados encontrados nesse trabalho são importantes, pois foi possível entender melhor a dinâmica do comportamental desses insetos em condições de ausência de rainha e condições ambientais desfavoráveis e as suas adaptações. Em um cenário de aumento a temperatura terrestre é importante prever os impactos que as formigas cortadeiras causam em cultivos e florestas nativas, principalmente em relação à herbivoria.