

ADRIANO PIMENTEL FARIAS

CRESCIMENTO DAS COLÔNIAS E DESENVOLVIMENTO DOS NINHOS DE *Atta bisphaerica* e *Atta capiguara* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)

Botucatu

2021

Adriano Pimentel Farias

CRESCIMENTO DAS COLÔNIAS E DESENVOLVIMENTO DOS NINHOS DE *Atta bisphaerica* e *Atta capiguara* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia: Proteção de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Forti

Botucatu

2021

F224c	<p>Farias, Adriano Pimentel</p> <p>Crescimento das colônias e desenvolvimento dos ninhos de <i>Atta bisphaerica</i> e <i>Atta capiguara</i> (Hymenoptera: Formicidae) / Adriano Pimentel Farias. -- Botucatu, 2021</p> <p>86 p. : il., tabs., fotos</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu</p> <p>Orientador: Luiz Carlos Forti</p> <p>1. Insetos sociais. 2. Formigas cortadeiras. 3. Operárias de <i>Atta</i>. 4. Fungicultura. 5. Arquitetura dos ninhos. I. Título.</p>
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA TESE: **CRESCIMENTO DAS COLÔNIAS E DESENVOLVIMENTO DOS NINHOS DE *Atta bisphaerica* E *Atta capiguara* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)**

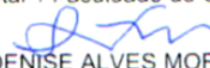
AUTOR: ADRIANO PIMENTEL FARIAS


ORIENTADOR: LUIZ CARLOS FORTI


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. LUIZ CARLOS FORTI (Participação Virtual)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. CARLOS FREDERICO WILCKEN (Participação Virtual)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP


Prof.ª Dr.ª ALDENISE ALVES MOREIRA (Participação Virtual)
Fitotecnia e Zootecnia / Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia


Profa. Dra. MARIA APARECIDA CASTELLANI (Participação Virtual)
Fitotecnia e Zootecnia / Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia


Dr.ª NADIA CALDATO (Participação Virtual)
Pós-Doutoranda - Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu

Botucatu, 13 de setembro de 2021

Aos meus pais, Édila da Fraga Pimentel Farias e José Ailton Monteiro de Farias; ao meu avô, Daniel da Fraga Pimentel; e irmãos, Alisson Pimentel Farias e Augusto Daniel Pimentel Farias, pelo apoio e incentivo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, agradeço pela força e coragem.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Forti, pela orientação, ensinamentos e incentivo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Proteção de Plantas da Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), pelo espaço e oportunidade.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil – CAPES – Código de financiamento 001.

Ao Dr. Roberto da Silva Camargo e a Dra. Nadia Caldato pelos ensinamentos, sugestões e direcionamento para realização dos experimentos.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Oliveira de Matos pelas dúvidas tiradas sobre análises estatísticas.

Aos colegas do Laboratório de insetos Sociais-praga (LISP), Nilson Satoru Nagamoto, Luís Eduardo Pontes Stefanelli e Tarcísio Marcos Macedo Mota Filho, em especial à Gabriela Christal Catalani e Kátia Kaelly Andrade Sousa pela boa convivência e ajuda.

Ao Marcos e equipe Pró-álcool (Perninha e Vagner) pelo auxílio e experiência na escavação dos ninhos.

À Maria Clezia dos Santos, por todo amor, compromisso, atenção, paciência e felicidade.

Aos amigos que fiz durante o Doutorado, pela convivência, conversas e momentos de lazer.

A todos que contribuíram diretamente e indiretamente para realização dos estudos.

RESUMO

As formigas cortadeiras de gramíneas, *Atta bisphaerica* e *Atta capiguara* (Formicidae: Myrmicinae: Attini: Attina), são encontradas no bioma Cerrado, frequentemente, como pragas de pastagem, cana-de-açúcar, arroz e milho. Embora as formigas construam ninhos elaborados, pouco foi elucidado sobre o padrão de construção para *A. capiguara*, bem como o desenvolvimento dos ninhos das duas espécies em função do crescimento da colônia. Desse modo, o objetivo foi estudar o desenvolvimento da arquitetura dos ninhos de *A. capiguara*; avaliar se os parâmetros dos ninhos (ex.: área externa, câmaras) crescem em proporções semelhantes ao número de operárias de *A. bisphaerica*; fazer uma análise comparativa entre as espécies sobre parâmetros dos ninhos, bem como avaliar se a área externa dos ninhos de *A. capiguara* é um parâmetro representativo do crescimento da colônia. O primeiro estudo sobre a arquitetura dos ninhos de *A. capiguara* foi realizado em ninhos moldados com cimento, enquanto os estudos dos ninhos em função da colônia foram realizados por meio de escavações e coleta da biomassa. Os resultados revelaram que o crescimento dos ninhos de *A. capiguara* no primeiro ano e meio de idade é em profundidade. Em seguida, os ninhos cresceram lateralmente pela adição de câmaras e túneis e surgimento das primeiras câmaras de resíduos. Além disso, o volume total das câmaras de resíduos aumenta com o incremento no volume das câmaras de fungo. Para *A. bisphaerica*, o volume total das câmaras e a área externa do ninho aumentaram em proporções semelhantes ao aumento do número de operárias. O número de câmaras de fungo, número de orifícios de entrada e a profundidade aumentaram em menor proporção. A análise comparativa entre as espécies revelou que as taxas de aumento da área externa, número de câmaras de fungo e profundidade dos ninhos em função do número de operárias não diferiu. Por outro lado, a taxa de aumento do número de orifícios para *A. bisphaerica* foi maior do que para *A. capiguara*, enquanto a taxa do volume total das câmaras foi maior para *A. capiguara*. Portanto, o presente estudo demonstra que o volume total das câmaras de resíduos é proporcional ao volume total das câmaras de fungo de *A. capiguara*. Para *A. bisphaerica*, o desenvolvimento do ninho em termos de volume das câmaras é semelhante ao aumento do número de operárias. A análise comparativa entre as espécies revelou que a área externa do ninho é o

parâmetro que melhor representa a população da colônia, tanto para a espécie que investe precoce em câmaras de resíduos, como a que investe posteriormente nessa estrutura. Assim, este estudo contribui para o melhor entendimento do crescimento das colônias e desenvolvimento dos ninhos das formigas cortadeiras de gramíneas do gênero *Atta*.

Palavras-chave: insetos sociais; formigas cortadeiras; operárias de *Atta*; fungicultura; arquitetura dos ninhos.

ABSTRACT

Grass-cutting ants *Atta bisphaerica* and *Atta capiguara* (Formicidae: Myrmicinae: Attini: Attina) are found in the Cerrado biome, frequently as pests of pasture, sugarcane, rice, and corn. Although ants build elaborate nests, little was elucidated about the pattern of *A. capiguara* nests, as well the nest development of two species as a function of colony growth. Thus, the objective of this study was to evaluate the nest architecture development of *A. capiguara*; to evaluate if nest parameters (ex.: external area, chambers) grow in similar proportions to worker number of *A. bisphaerica*; to perform a comparative analysis between species against nest parameters, as well as to assess if external area of *A. capiguara* nests is a representative parameter of colony growth. The first study of the *A. capiguara* nest architecture was performed in nests molded with cement, while the studies of nests as a colony function were performed through excavations and biomass collection. The results revealed that the development of *A. capiguara* nests in the first year and a half of age is in depth. Then, the nests grew laterally by adding chambers and tunnels and the emergence of the first waste chamber. Furthermore, the total volume of waste chambers increases with the increment in the fungus chambers volume. For *A. bisphaerica*, the total chambers volume and external area of the nest increased in a similar proportion to the increase in the worker number. The number of fungus chambers, number of entrance holes, and depth increased to a lesser proportion. Comparative analysis between colony growth and nest development revealed that the increase rates in the external area, number of fungus chambers and nest depth as a function of the number of workers did not differ between species. On the other hand, the increase rate in number of entrances holes for *A. bisphaerica* was greater than for *A. capiguara*, while the rate of total volume of chambers was greater for *A. capiguara*. Therefore, the present study demonstrates that the total volume of the waste chambers is proportional to the total volume of the fungus chambers of *A. capiguara*. The development of the *A. bisphaerica* nests in terms of chamber volume is similar to the increase in the worker number of colonies. The comparative analysis between species revealed that the external area is the parameter that best represents the colony population, both for the specie that invest early in waste chamber and that invests latterly in this structure. Thus, this study contributes to a

better understanding of colony growth and nest development of *Atta* grass-cutting ants.

Keywords: social insects; leaf-cutting ants; *Atta* workers; fungiculture; nest architecture.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1 – Desenvolvimento da Arquitetura dos Ninhos de Formigas Cortadeiras de Gramíneas, *Atta capiguara* (Hymenoptera: Formicidae)

- Figura 1 – Desenvolvimento da arquitetura dos ninhos de *Atta capiguara*, A – ninho com 2 meses; B – 14-18 meses; C – 30-36 meses e D – 42-54 meses. CF – câmara de fungo, CR – câmara de resíduo.....38
- Figura 2 – Vista vertical dos ninhos de *Atta capiguara*, A – ninho com 2 meses; B – 14 meses e C – 30 meses. CF – câmara de fungo, CR – câmara de resíduo.....39
- Figura 3 – Vista vertical do ninho de *Atta capiguara* com 42 meses de idade, A – vista total do ninho; B – câmaras de fungo (CF) agrupadas e profundidade máxima do ninho; e C – câmaras de fungo localizadas distantes das câmaras de resíduos (CR). TLC – túneis que ligam as câmaras.....40
- Figura 4 – Aumento no número de câmaras (fungo: $y = 2,83X^{2,87}$, $R^2 = 0,90$, $P < 0,01$; resíduos: $y = 3,51X^{3,03}$, $R^2 = 0,74$, $P < 0,01$), profundidade ($y = 0,35X^{0,53}$, $R^2 = 0,64$, $P < 0,01$) e volume total dos ninhos ($y = 1,95X^{3,40}$, $R^2 = 0,82$, $P < 0,01$) em função da idade.....41
- Figura 5 – Volume total das câmaras (fungo: $y = 7,73X^{3,48}$, $R^2 = 0,89$, $P < 0,01$; resíduos: $y = 1,99X^{4,14}$, $R^2 = 0,68$, $P = 0,02$) e aumento no volume das câmaras de resíduos com incremento de o volume das câmaras do fungo ($y = -1,18 + 0,37X$, $R^2 = 0,84$, $P < 0,01$).....42

CAPÍTULO 2 – Arquitetura do ninho e crescimento da colônia da formiga cortadeira de gramínea *Atta bisphaerica*

- Figura 1 – Relação do número de operárias de *A. bisphaerica* com (a) biomassa do jardim de fungo, (b) número de câmaras de fungo (CF), (c) número de orifícios de entrada (OE), (d) área externa, (e) volume total câmaras de fungo e (f) profundidade dos ninhos. A linha vermelha representa a inclinação esperada de 1 (a – e) ou 0,5 (f). Os valores e seus intervalos de confiança de 95% indicam diferenças ($n = 16$ colônias).....59

- Figura 2 – Área externa e arquitetura interna dos ninhos de *A. bisphaerica* com 8 meses (a), (b) e 32 meses (c) e (d). CF – câmara de fungo, OE – orifício de entrada.....60
- Figura 3 – Aumento da altura das câmaras de fungo (CF) com o aumento da largura (a), e aumento da altura com aumento do comprimento dos túneis de forrageamento (TF) (b). CF: $\log y = 0,13 + 0,94 \log x$, $R^2 = 0,71$, $p < 0,01$; TF: $\log y = 0,88 + 0,02 \log x$, $R^2 = 0,01$, $p = 0,48$61
- Figura 4 – Volume de cada câmara de fungo ao longo da idade do ninho (a), e aumento no volume da câmara de fungo com aumento no número de operárias (b). As caixas representam entre 25 e 75% da câmara do volume, enquanto as barras representam entre 5 e 95%. $\log y = 3,59 + 0,52 \log x$, $R^2 = 0,52$, $p < 0,01$62

CAPÍTULO 3 – Arquitetura Comparativa dos Ninhos e Parâmetros Utilizados no Controle de Formigas Cortadeiras de Gramíneas *Atta*

- Figura 1 – Relações do número de operárias de *Atta bisphaerica* e *Atta capiguara* com parâmetros externos dos ninhos, (a) área externa e (b) número de orifícios. As curvas e 95% dos seus intervalos de confiança indicam diferenças.....75
- Figura 2 – Relações do número de operárias de *Atta bisphaerica* e *Atta capiguara* com parâmetros internos dos ninhos, (a) número de câmaras, (b) volume total das câmaras de fungo e (c) profundidade. As curvas e 95% dos seus intervalos de confiança indicam diferenças.....76
- Figura 3 – Volume das câmaras de fungo (a) e distância entre os orifícios de entrada (b) entre as espécies de *Atta*. Boxes representam entre 25 e 75% das variáveis, enquanto as barras representam entre 5 e 95%. Asterísco indica diferença significativa pelo teste t-Student ($P < 0,05$).....77
- Figura 4 – Área externa de ninhos com 30 meses de idade: (a) *Atta bisphaerica*, comprimento 2,9 m; (b) *Atta capiguara*, comprimento 2,8 m78
- Figura 5 – Arquitetura comparativa entre os ninhos de *Atta bisphaerica* (a) e *Atta capiguara* (b). Ninhos com cerca de 50 meses de idade; CF – câmara de fungo, CR – câmara de resíduo.....79

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – Desenvolvimento da Arquitetura dos Ninhos de Formigas Cortadeiras de Gramíneas, *Atta capiguara* (Hymenoptera: Formicidae)

- Tabela 1 – Matriz baseada na correlação de Spearman entre o número de câmaras de fungo (CF), número de câmaras de resíduos (CR), número de túneis de forrageamento (TF), profundidade do ninho (PN), volume total das câmaras de fungo (VCF), volume total das câmaras de resíduos (VCR), volume dos túneis de forrageamento (VTF) e volume total do ninho (VN), ao longo do desenvolvimento dos ninhos de *Atta capiguara*, em Botucatu - SP.....36
- Tabela 2 – Dimensões das câmaras e túneis de *Atta capiguara* ao longo do desenvolvimento da arquitetura dos ninhos.....37

CAPÍTULO 2 – Arquitetura do ninho e crescimento da colônia da formiga cortadeira de gramínea *Atta bisphaerica*

- Tabela 1 – Área externa (AE), número de orifícios (NO), número de câmaras de fungo (CF), volume total das câmaras de fungo (VCF), profundidade dos ninhos (P), biomassa do jardim de fungo (BJF) e população (Pop) de *Atta bisphaerica* ao longo do crescimento das colônias/desenvolvimento dos ninhos, Botucatu, SP, 2019.....57
- Tabela 2 – Relações entre os parâmetros de desenvolvimento dos ninhos com o número de operárias em colônias/ninhos de *Atta bisphaerica*. F-teste; R²: coeficiente de determinação.....58

CAPÍTULO 3 – Arquitetura Comparativa dos Ninhos e Parâmetros Utilizados no Controle de Formigas Cortadeiras de Gramíneas *Atta*

- Tabela 1 – Sumário das relações entre os parâmetros dos ninhos com o número de operárias de *Atta bisphaerica* e *Atta capiguara*. F-teste; R² = coeficiente de determinação.....74

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	19
CAPÍTULO 1 - DESENVOLVIMENTO DA ARQUITETURA DOS NINHOS DE FORMIGAS CORTADEIRAS DE GRAMÍNEAS, <i>Atta capiguara</i> (HYMENOPTERA: FORMICIDAE).....	24
1.1 INTRODUÇÃO.....	26
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	27
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
REFERÊNCIAS.....	32
CAPÍTULO 2 - ARQUITETURA DO NINHO E CRESCIMENTO DA COLÔNIA DA FORMIGA CORTADEIRA DE GRAMÍNEA <i>Atta bisphaerica</i>	43
2.1 INTRODUÇÃO.....	45
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
2.2.1 <i>Área experimental</i>	46
2.2.2 <i>Colônias e ninhos estudados</i>	47
2.2.3 <i>População e biomassa do jardim de fungo</i>	47
2.2.4 <i>Arquitetura interna</i>	47
2.2.5 <i>Análises estatísticas</i>	48
2.3 RESULTADOS.....	48
2.4 DISCUSSÃO.....	50
2.5 CONCLUSÕES.....	52
REFERÊNCIAS	53
CAPÍTULO 3 - ARQUITETURA COMPARATIVA DOS NINHOS E PARÂMETROS UTILIZADOS NO CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS DE GRAMÍNEAS <i>Atta</i>.....	63
3.1 INTRODUÇÃO.....	65
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	66
3.2.1 <i>Área experimental</i>	66
3.2.2 <i>Colônias e ninhos estudados</i>	66
3.2.3 <i>População e arquitetura do ninho</i>	67
3.2.4 <i>Análises estatísticas</i>	67
3.3 RESULTADOS	68
3.4 DISCUSSÃO.....	69
3.5 CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS	71
CONSIDERAÇÕES FINAIS	80
REFERÊNCIAS.....	83

INTRODUÇÃO GERAL

As formigas pertencem à família Formicidae (Ordem Hymenoptera) e possuem complexidade comportamental, bem como importante organização social, assim como as vespas e abelhas (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990). A subfamília Myrmicinae possui o maior número de espécies, com formigas amplamente distribuídas e hábitos alimentares que variam desde sementes e outros alimentos ao cultivo e alimentação de fungo nos seus ninhos (TRIPLEHORN; JONHNSON, 2011; BACCARO et al., 2015).

A subfamília Myrmicinae é composta por cerca de 140 gêneros, distribuídos em seis tribos, com espécies reconhecidas pela importância econômica (como pragas), médico-sanitárias (venenosas) e ecológica (BACCARO et al., 2015). A tribo Attini abrange o maior número de espécies e gêneros do que as tribos Crematogastrini, Pogonomyrmecini, Solenopsidini (BACCARO et al., 2015). Dentro da tribo Attini, a subtribo Attina (formada por um grupo monofilético de aproximadamente 250 espécies) é caracterizada por espécies que possuem uma relação mutualista com fungo simbiote, e por isso, são conhecidas como “cultivadoras de fungo” (BRANSTETTER et al., 2017; SOSA-CALVO et al., 2018; BARRERA et al., 2021).

As formigas cortadeiras, espécies dos gêneros *Atta* Fabricius, *Acromyrmex* Mayr, *Amoimyrmex* Cristiano et al. 2020 e *Pseudoatta* Gallardo (Formicidae: Myrmicinae: Attini: Attina), cortam e utilizam material vegetal para cultivo do fungo simbiote e são reconhecidas por causar danos às plantas cultivadas (SCHULTZ et al., 2008; SOSA-CALVO et al., 2018; BARRERA et al., 2021). A relação mutualista das formigas cortadeiras com o fungo *Leucocoprinus gongylophorus* (Heim) é altamente especializada. O fungo *L. gongylophorus* transforma o material vegetal fresco em nódulos de hifas ricos em nutrientes (gongilídeos) (CURRIE et al., 2003; MUELLER et al., 2018). O fungo é o único alimento para as formas jovens e aladas das formigas, enquanto as operárias que realizam o corte e processamento do material vegetal complementam a sua dieta com líquidos extraídos das folhas (BASS; CHERRETT, 1994; CURRIE et al., 2003). As formigas, por outro lado, fornecem ao fungo um local altamente propício ao desenvolvimento, além da seleção das plantas como substrato para o seu crescimento e proteção contra competidores e parasitas (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990; MUELLER et al., 2018).

Algumas espécies de *Atta* utilizam gramíneas (não exclusivamente) para cultivar o jardim de fungo, *Atta bisphaerica* Forel e *Atta capiguara* Gonçalves, enquanto outras usam plantas dicotiledôneas, *Atta sexdens* Forel, *Atta cephalotes* (Linnaeus) ou ambos os materiais como substrato, *Atta laevigata* (Smith), *Atta vollenweideri* Forel, *Atta opaciceps* Borgmeier (FOWLER et al., 1986; DELLA-LÚCIA, 2011). Baseado nessa preferência, as formigas podem ser ainda classificadas em cortadeiras (cortadeiras de folhas largas) e cortadeiras de gramíneas.

Cortadeiras de gramíneas, as formigas *A. bisphaerica* e *A. capiguara* causam danos de importância econômica em pastagens, cultivos de arroz, milho e cana-de-açúcar e estão entre as cinco formigas cortadeiras de maior importância no Brasil (BRITTO et al., 2016). Conhecida como saúva parda, *A. capiguara* ocorre no Brasil e no Paraguai, sendo que no território brasileiro restringe-se aos estados de São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Goiás e Paraná (MARICONI, 1970; FORTI et al., 2020). A saúva-mata-pasto, *A. bisphaerica* ocorre somente no Brasil, nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso e Rio de Janeiro (MARICONI, 1970; FORTI et al., 2020).

Embora as formigas cortadeiras de gramíneas tenham pernas metatorácicas mais curtas quando comparadas com as espécies cortadeiras de dicotiledôneas (FOWLER; SILVA; SAES, 1986), o reconhecimento das espécies é feito principalmente pela observação dos caracteres morfológicos da cabeça dos soldados (MARICONI, 1970; FOWLER; DELLA LUCIA; MOREIRA, 1993). Os soldados de *A. bisphaerica* possuem sulco occipital profundo, formando um ângulo agudo no meio da cabeça (assim dividida em dois lobos salientes); espinhos mesonotais posteriores, pequenos e pontiagudos; cabeça e gáster foscos ou pouco brilhantes (GONÇALVES, 1945). Por outro lado, os soldados de *A. capiguara* possuem cabeça com escultura grosseira, devido a pontos grossos e finos juntos e com tubérculo pontiagudo em cada ângulo antero-lateral do vertex; espinhos mesonotais posteriores pequenos e pontiagudos; gáster pequeno, com menos de 3 mm de largura (GONÇALVES, 1945). Além disso, as características da área externa dos ninhos, como o formato do monte de solo solto também auxiliam no reconhecimento da espécie.

A fundação de um novo ninho/nova colônia de *Atta* inicia após o voo nupcial pela rainha, que escava a primeira câmara a 15-20 cm de profundidade e origina os

primeiros membros da colônia a partir das suas reservas de energia (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990; CARDOSO et al., 2014). Essas rainhas são claustrais, pois são maiores e ricas em lipídeos quando comparadas com as não claustrais, no entanto, são energeticamente caras para a colônia mãe (SEAL, 2009; FUJIHARA; CAMARGO; FORTI, 2012). Dessa forma, a colônia mãe precisa coletar recursos e cultivar grande quantidade de jardim de fungo para a produção dos alados (AUTUORI, 1950).

Após o início do forrageamento, as operárias assumem a atividade de escavação de novas câmaras e túneis (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990). Para a integração das atividades da colônia, as formigas são organizadas de tal forma que as operárias devem responder não apenas às suas necessidades individuais, mas também de toda a colônia. Portanto, as operárias ajustam o tamanho do ninho de acordo com o tamanho da população da colônia (RASSE; DENEUBOURG, 2001) e o crescimento do fungo simbiote e a presença de descendentes são os estímulos para a ampliação do espaço (CAMARGO; FORTI, 2014; RÖMER; ROCES, 2014, 2015). Além disso, as formigas devem adaptar cuidadosamente o tamanho do ninho aos seus requisitos de espaço para minimizar os custos e as necessidades da colônia (HALLEY; BURD; WELLS, 2005).

O aumento do número de operárias é essencial para o forrageamento, cuidados com as fases jovens/jardim de fungo e escavação (aumento do número e dimensões das câmaras de fungo e túneis), e uma quantidade mínima de soldados para atender as emergências contra predadores ou competidores (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990). O crescimento da colônia e obtenção de recursos são baseados na suposição de que a maximização do número de operárias faz parte de uma estratégia energética da colônia (HOUSTON; SCHMID-HEMPEL; KACELNIK, 1988; HÖLLDOBLER; WILSON, 1990). Além disso, para ter grande quantidade de alimento (jardim de fungo), a colônia precisa de grande quantidade de operárias para aumentar constantemente o tamanho do ninho.

Poucos estudos sobre o desenvolvimento da arquitetura dos ninhos de *Atta* estão disponíveis (AUTUORI, 1941; FORTI et al., 2018). No caso de *A. capiguara*, as pesquisas sobre arquitetura foram realizadas apenas em ninhos de colônias consideradas maduras (> 5 anos de idade) (MARICONI; ZAMITH; CASTRO, 1961; AMANTE, 1967; BOLLAZZI; FORTI; ROCES, 2012; FORTI et al., 2017). No ninho de *A. capiguara* escavado por Forti et al (2017), com idade de cerca de 8 anos, foram

encontradas 72 câmaras de fungo e 10 câmaras de resíduos, a maioria delas conectadas a um túnel principal, a uma profundidade média de 1,2 m. As câmaras conectadas aos túneis que se ramificavam do túnel principal foram encontradas em maior profundidade, cerca de 2,1 metros. Além das câmaras de resíduos, *A. capiguara* constrói seus ninhos de maneira diferente de outras espécies de *Atta*, *A. sexdens*, *A. bisphaerica*, *A. cephalotes*, cujas câmaras de fungo se agrupam fora do monte de solo solto (centro do ninho aparente) (AUTUORI, 1941; MOREIRA et al., 2004b; FORTI et al., 2017).

Estudos anteriores mostraram o padrão da área externa, número de câmaras e túneis em ninhos maduros de *A. bisphaerica*; e o número de orifícios de entrada e túneis que são influenciados pela disponibilidade de recursos alimentares (MOREIRA et al., 2004b; LOPES et al., 2016). Além disso, o padrão de desenvolvimento do ninho foi obtido a partir de ninhos de diferentes idades (FORTI et al., 2017a). Embora os estudos mencionem a arquitetura do ninho das formigas cortadeiras, estes são embasados apenas em ninhos moldados sem conhecimento ou relação com os parâmetros da colônia (operárias e biomassa do jardim de fungo).

O conhecimento detalhado sobre o desenvolvimento dos ninhos contribui para o melhor entendimento da arquitetura e da bioecologia das espécies de *Atta*, principalmente se os parâmetros dos ninhos forem avaliados de acordo com o número de operárias. Além disso, o conhecimento sobre o desenvolvimento dos ninhos e crescimento das colônias auxilia no controle das formigas cortadeiras (FORTI; BOARETTO, 1997).

Estudos para conhecimento detalhado dos ninhos de insetos utilizam ,principalmente, técnicas de moldagem com gesso, alumínio e resinas plásticas (MIKHEYEV; TSCHINKEL, 2004; TSCHINKEL, 2004; HALLEY; BURD; WELLS, 2005b; CERQUERA; TSCHINKEL, 2010), e posterior escavação. Algumas técnicas mais modernas não são destrutivas, pois utilizam radares e raio x para acessar a arquitetura interna (SWANSON et al., 2019). No entanto, no caso das formigas cortadeiras, a técnica mais utilizada e econômica é a moldagem por cimento, em que a mistura de cimento e água é injetada nos orifícios de entrada dos ninhos (JACOBY, 1950; MOREIRA et al., 2004a, 2004b).

Portanto, o presente estudo fornece uma descrição do desenvolvimento da arquitetura dos ninhos de *A. capiguara* (espécie que escava as câmaras de resíduos muito antes do que *A. bisphaerica*); avalia se os parâmetros dos ninhos (ex.: área

externa, câmaras) crescem em proporções semelhantes ao número de operárias da colônia de *A. bisphaerica*; faz uma análise comparativa entre as espécies sobre parâmetros dos ninhos, bem como avalia se a área externa dos ninhos de *A. capiguara* é um parâmetro representativo do crescimento da colônia.

CAPÍTULO 1¹

Desenvolvimento da Arquitetura dos Ninhos de Formigas Cortadeiras de Gramíneas, *Atta capiguara* (Hymenoptera: Formicidae)

AP Farias¹, RS Camargo¹, N Caldato¹, LC Forti¹

¹ Depto de Proteção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas, Univ. Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

Farias, A. P.; Camargo, R. S.; Caldato, N.; Forti, L. C. Nest Architecture Development of Grass-Cutting Ants, *Atta capiguara* (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 64, n. 03, e20200034, 2020. doi.org/10.1590/1806-9665-RBENT-2020-0034

¹ Capítulo escrito conforme as normas da Revista Brasileira de Entomologia.

Resumo: As formigas cortadeiras de gramíneas, *Atta capiguara*, são comumente encontradas no bioma Cerrado, em campos abertos. Embora as formigas cortadeiras de gramíneas construam ninhos gigantes, pouco foi elucidado sobre o padrão de construção e quando as câmaras e túneis surgem. O presente estudo descreve o desenvolvimento da arquitetura dos ninhos da formiga cortadeira *A. capiguara* a partir de dados de 31 ninhos moldados com cimento. Os ninhos de *A. capiguara* crescem com o aumento do número de câmaras de fungo e surgimento e aumento de câmaras de resíduos e túneis de forrageamento. O crescimento estrutural dos ninhos de *A. capiguara* no primeiro ano e meio de idade (18 meses) é em profundidade, com a construção das primeiras câmaras ao longo do perfil do solo. Após 18 meses, os ninhos crescem lateralmente com a adição de câmaras e túneis e surgimento das primeiras câmaras de resíduos. Entre 18 e 54 meses, o número de câmaras de fungo aumenta de 1-3 para 21-32, e as câmaras estão concentradas próximas à superfície do solo, embora possam ser encontradas a mais de 3 m de profundidade. Além disso, o volume total das câmaras de resíduos aumenta com o incremento no volume das câmaras de fungo. Assim, este estudo contribui para o entendimento do desenvolvimento da arquitetura dos ninhos da formiga cortadeira *A. capiguara* e demonstra que o volume total das câmaras de resíduos é proporcional ao volume total das câmaras de fungo adequadas para a colônia.

Palavras-chave: Insetos sociais, Formigas cortadeiras, Ninhos de *Atta*, Arquitetura interna dos ninhos.

1.1 INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras (Formicidae: Myrmicinae: Attini), além da associação interdependente com fungo simbiote, são organizadas e investem no rápido crescimento da colônia, principalmente, pela especialização de membros em tarefas específicas (Hölldobler e Wilson 1990). Contudo, o extraordinário sucesso ecológico das formigas cortadeiras é atribuído, principalmente, a sua grande capacidade de modificar ou explorar o ambiente para a construção de ninhos (Hölldobler e Wilson 1990; Passera e Aron 2005), os quais as protege de fatores bióticos e abióticos que afetam a sobrevivência e o desenvolvimento da colônia (Bollazzi et al., 2008).

Das 17 espécies de *Atta* conhecidas, *A. sexdens*, *A. laevigata*, *A. bisphaerica*, *A. capiguara* e *A. cephalotes* foram descritas e causam danos econômicos a culturas agrícolas no Brasil (Bolton et al., 2006). Dentre essas, *Atta capiguara*, comumente encontrada no Cerrado, é cortadeira de gramíneas e causa danos em pastagens, cultivos de arroz, milho e cana-de-açúcar (Mariconi et al., 1961; Forti et al., 2017). Embora as formigas cortadeiras, em geral, estejam distribuídas na região Neotropical, *A. capiguara* está presente apenas na América do Sul (Mariconi et al., 1961).

Poucos estudos sobre o desenvolvimento e a arquitetura dos ninhos de *Atta* estão disponíveis (Autuori 1941; Forti et al., 2018). No caso de *A. capiguara*, os estudos sobre a arquitetura foram realizados apenas em ninhos de colônias consideradas maduras (> 5 anos de idade) (Mariconi et al., 1961; Forti et al., 2017a). No ninho de *A. capiguara* escavado por Forti et al. (2017), com cerca de 8 anos, foram encontradas 72 câmaras de fungo e 10 câmaras de resíduos, grande parte conectadas a um túnel principal, a uma profundidade média de 1,2 m. As câmaras conectadas aos túneis que se ramificaram do túnel principal foram encontradas a uma profundidade maior, cerca de 2,1 m. Além das câmaras de resíduos, *A. capiguara* constrói seus ninhos de maneira diferente das outras espécies de *Atta*, *A. sexdens*, *A. laevigata*, *A. bisphaerica*, *A. cephalotes*, no qual as câmaras de fungo estão agrupadas fora do centro aparente do ninho, monte de solo solto (Autuori, 1941; Moreira et al., 2004; Forti et al., 2017).

A fundação dos ninhos das formigas cortadeiras é realizada pela rainha (Hölldobler e Wilson 1990), que constrói a primeira câmara a 15-20 cm de

profundidade (Camargo et al., 2011). Após o início do forrageamento, as operárias assumem a atividade de escavação de novos túneis e câmaras (Hölldobler e Wilson 1990). Para a integração das atividades da colônia, as formigas são organizadas de tal forma que as operárias devem responder não apenas às suas necessidades individuais, mas também de toda a colônia. Portanto, as operárias ajustam o tamanho do ninho de acordo com o tamanho da população da colônia (Rasse e Deneubourg 2001) e o crescimento do fungo simbiote e a presença de descendentes são os estímulos para a ampliação do espaço (Camargo e Forti 2014; Römer e Roces 2014, 2015).

A arquitetura dos ninhos é uma importante característica comportamental e pode esclarecer pontos do nível de organização social das formigas com poucos estudos sobre o padrão de construção dos ninhos, especialmente aqueles subterrâneos (Guimarães et al., 2018). O presente estudo descreve o desenvolvimento da arquitetura dos ninhos da formiga cortadeira de gramínea *A. capiguara* a partir de dados de 31 ninhos moldados com cimento.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Fazenda Santana, Botucatu, São Paulo, Brasil (20°50'46" S; 48°26'2" O). A pastagem da fazenda foi formada por *Brachiaria* spp., com algumas manchas de *Paspalum* spp., locais preferidos para a nidificação das formigas cortadeiras de gramíneas. O solo é um Latossolo Vermelho Escuro de textura média conforme descrito por Moreira et al. (2004).

Ninhos de *A. capiguara* foram mapeados após a revoada de outubro de 2008, de acordo com Forti et al. (2018), e com 2; 14-18; 30-36 e 42-54 meses da fundação, 8; 11; 9; 3 ninhos de cada idade, respectivamente, foram moldados para o estudo. Antes da escavação dos ninhos mais velhos (42-54 meses), estes foram mapeados usando iscas plásticas de diferentes cores e tipos de corte, de acordo com o método de Fowler et al. (1993), para confirmação do tamanho e orifícios de entrada do ninho.

Os ninhos de *A. capiguara* foram moldados com cimento, técnica utilizada por Moreira et al. (2004); Forti et al. (2018). Antes da injeção do cimento no ninho, foi realizada a limpeza do solo solto e das gramíneas que circundam o

orifício central e os orifícios de forrageamento do ninho, e adição de água, para desobstrução dos túneis de forragem e das câmaras, facilitando a entrada do cimento e melhor moldagem. O cimento foi misturado com água, na proporção de 1 kg de cimento para 2 litros de água.

A escavação do ninho foi manual, após a solidificação do cimento, que consistiu na abertura de uma trincheira, ao lado do ninho, na região com menor número de túneis, alargada e aprofundada em direção aos orifícios, conforme a observação das câmaras e túneis. As câmaras de fungo foram identificadas pelo formato cilíndrico e a presença de fragmentos de gramíneas fixados ao cimento e as câmaras de resíduos pelo formato cônico e a presença de material úmido e degradado. As câmaras de fungo e resíduos foram medidas em largura, comprimento, altura e profundidade em relação à superfície do solo e os túneis de forrageamento foram medidos em largura, altura, comprimento e profundidade em relação ao nível do solo.

O volume das câmaras de fungo e de resíduos e dos túneis foi estimado com base no volume das figuras geométricas que mais se assemelham, conforme Forti et al. (2017). As câmaras de fungo foram comparadas a cilindros, enquanto as câmaras de resíduos comparadas a cones, e os túneis aos troncos do cone. Contudo, como as câmaras são arredondadas, foi necessário utilizar um fator de correção para o cálculo do volume, $V = \pi r^2 (hc + r0,67)$, em que 'r': raio da base da câmara, e 'hc': altura do cilindro, obtido pela subtração da altura máxima da câmara pelo seu raio $hc = h - r$, conforme Forti et al. (2017). O volume dos túneis foi calculado pelo somatório do volume de várias seções $V = \pi h/3 (R^2 + r^2 + Rr)$, em que 'R': raio maior, 'r': raio menor, 'h': comprimento de cada seção. Com a grande complexidade dos ninhos de 42-54 meses, os dados de volume dos túneis de forrageamento, túneis que ligam câmaras e túneis isolados dos ninhos dessa idade foram obtidos de apenas um ninho.

Análises estatísticas

O número de câmaras de fungo, número de câmaras de resíduos, profundidade do ninho, número de túneis de forrageamento, volume total das câmaras de fungo, resíduos e túneis de forrageamento foram submetidos a análises de correlação de Spearman. Análises de regressão usando uma função

de potência foram realizadas entre o número e volume total de câmaras (fungo e resíduos), profundidade do ninho, volume total de ninhos e idade dos ninhos 2, 14-18, 30-36 e 42-54 meses. Além disso, a análise de regressão usando uma função polinomial foi realizada entre o volume total da câmara do fungo e o volume total da câmara de resíduos dos ninhos. Os dados das medidas referentes às câmaras e túneis de ninhos de diferentes idades foram submetidos à análise estatística descritiva para obtenção dos valores de média e desvio padrão. Todas as análises foram realizadas com o software Statistica versão 7.0 (Statsoft INC 1984-2004).

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A arquitetura dos ninhos de *A. capiguara* revelou que houve aumento no número de câmaras de fungo, profundidade do ninho, volume total do ninho, surgimento e aumento da quantidade de câmaras de resíduos à medida que os ninhos cresceram (Figs. 1-5). O aumento do número de câmaras de fungo ao longo do crescimento dos ninhos foi correlacionado com o aumento do número de túneis de forrageamento, aumento do volume total das câmaras de fungo e de resíduos, volume total dos túneis de forrageamento e o volume total do ninho (Tabela 1). O aumento do número de câmaras de fungo não foi correlacionado com o aumento do número de câmaras de resíduos, porém, o volume total das câmaras de resíduos aumenta com o incremento no volume das câmaras de fungo (Tabela 1, Fig. 5).

O número de câmaras de fungo variou mais nos ninhos com maior idade, de 21 a 32 nos ninhos com 42-54 meses, 2 a 11 em ninhos de 30-36 meses, enquanto os ninhos mais jovens (14-18 meses) possuíam de 1-3 câmaras e apenas 1 câmara nos ninhos de 2 meses (Figs. 1-3). As câmaras de resíduos foram encontradas em ninhos com 18 meses, mas em apenas 2 dos 6 ninhos com esta idade (Figs. 1-2). Os túneis de forrageamento foram encontrados em ninhos com 30-36 e 42-54 meses. As médias de altura, largura e volume das câmaras (fungo e resíduos) e as médias de altura, comprimento e volume dos túneis de forrageamento estão na Tabela 2.

As estruturas moldadas revelaram que, assim como em outras espécies de formigas, o tamanho do ninho de *A. capiguara* aumenta à medida que as colônias

crecem, com efeito, principalmente, no número de câmaras e na profundidade do ninho conforme aumenta o número de operárias (Figs. 1-3) (Tschinkel, 2015). Os ninhos crescem com a adição de câmaras (câmaras de fungo e resíduos, no caso das formigas cortadeiras deste estudo), bem como mudanças na forma e no volume dessas estruturas (Figs. 4 e 5) (Tschinkel, 2015). A construção de câmaras de fungo de *A. capiguara* em diferentes profundidades no solo é atribuída às condições de temperatura em torno de 25 °C, para o crescimento do fungo simbiote, ovos, larvas e pupas (Figs. 1-4) (Camargo e Forti, 2014; Römer e Roces, 2014, 2015).

No primeiro ano dos ninhos de *A. capiguara*, o crescimento estrutural é em profundidade, sem expansão lateral de câmaras e túneis (Fig. 1a). Após 18 meses, os ninhos crescem lateralmente pela construção de mais câmaras e túneis (Figs. 1 e 2). Este padrão de crescimento em ninhos jovens também foi observado em *A. sexdens* (Camargo e Forti 2013). Embora o maior número de câmaras de fungo de *A. capiguara* esteja concentrado na sub-superfície do solo (0-2 m), as câmaras podem ser encontradas a mais de 3 m de profundidade (Figs. 1-4). Essas informações contribuem para o estabelecimento do método ideal de controle das formigas cortadeiras (por exemplo, a aplicação de formicidas na formulação de pó seco em colônias com mais de um ano atinge apenas algumas câmaras e formigas na superfície do solo e, portanto, o controle é ineficiente). Assim, o controle por iscas tóxicas é eficiente, pois as formigas transportam e distribuem uniformemente as iscas dentro da colônia (Moreira et al., 2003).

Neste estudo, a variação nas dimensões das câmaras de fungo de *A. capiguara* é atribuída ao fungo simbiote que atua como um molde e determina o tamanho final da câmara (Fröhle e Roces, 2009) (Tabela 2). As operárias escavam ao redor do fungo realocado, aumentando assim o tamanho inicial da câmara para acomodar a quantidade de fungo cultivado (Römer e Roces, 2014). No entanto, parece haver um tamanho máximo para as câmaras, e num determinado ponto, novas câmaras precisam ser construídas (Römer e Roces, 2014). As dimensões dos túneis variam com a idade do ninho, provavelmente, pelo maior fluxo de operárias (Tabela 2) (Forti et al., 2018). Além de interligar as câmaras e o ambiente com o ninho, os túneis são de suma importância na difusão de gases (Bollazzi et al., 2012).

Algumas espécies de formigas cortadeiras, como *A. capiguara*, constroem câmaras específicas para o descarte de resíduos. Estudos estabeleceram que os resíduos das colônias de *Atta* e *Acromyrmex* concentram espécies do fungo patogênico *Escovopsis*, que é prejudicial ao jardim de fungo e causa a mortalidade de formigas (Currie et al., 1999; Bot et al., 2001). Assim, as câmaras de resíduos são setorizadas e isoladas das câmaras de fungo, mostrando a importância da separação dos resíduos para evitar a contaminação (Forti et al., 2017). Ao contrário da maioria das formigas do gênero *Atta*, *Atta colombica* (G. Meneville) não deposita resíduos dentro do ninho, porém precisa de cerca de 11% de todas as operárias para executar esta tarefa fora do ninho (Hart e Ratnieks, 2002; Farji-Brener et al., 2016). Neste estudo, a formação de câmaras de resíduos foi observada em ninhos com 18 meses de idade (Figs. 1-2). Provavelmente, devido à complexidade do ninho em estrutura, *A. capiguara* prefere construir câmaras de resíduos a recrutar um número maior de operárias para depositar os resíduos fora do ninho. Outra hipótese é que, embora a construção de câmaras de resíduos seja influenciada pela filogenia (espécies filogeneticamente próximas a *A. robusta*, *A. bisphaerica*, *A. capiguara*, *A. laevigata*, *A. saltensis* e *A. vollenweideri*, constroem câmaras de resíduos), o habitat das formigas é o principal fator que determina o local de deposição dos resíduos (Farji-Brener et al., 2016). Em condições ambientais prejudiciais aos organismos patogênicos, ou seja, habitats desérticos, as formigas cortadeiras costumam evitar custos de escavação, com risco sanitário mínimo ao depositar resíduos fora do ninho. Por outro lado, habitats úmidos como florestas tropicais e subtropicais fornecem condições adequadas para a proliferação de patógenos (Farji-Brener et al., 2016).

A relação entre o aumento do volume total das câmaras de resíduos com o aumento do volume total das câmaras fúngicas de *A. capiguara* indica um ajuste de acordo com a necessidade da colônia (Fig. 5). O ajuste do número ou volume das câmaras de resíduos de acordo com o fungo requerido pelas colônias foi sugerido por Jonkman (1980). Este autor observou câmaras de resíduos vazias em ninhos escavados sem cimento, sugerindo que cada câmara é construída antes de ser essencial.

O crescimento estrutural dos ninhos de *A. capiguara* no primeiro ano e meio de idade (18 meses) é em profundidade, provavelmente devido às demandas

microclimáticas pelo fungo simbiote e pelas formas imaturas das operárias. Após os 18 meses de idade, os ninhos crescem lateralmente pela adição de câmaras e túneis de fungo, sendo encontradas as primeiras câmaras de resíduos, certamente devido ao rápido crescimento da colônia em população e fungo cultivado. Entre 18 e 54 meses, o número de câmaras de fungo aumenta de 1-3 para 32, e as câmaras estão concentradas na superfície do solo, embora possam ser encontradas a mais de 3 m de profundidade. Essas informações também contribuem para o estabelecimento do método ideal de controle das formigas cortadeiras. Além disso, o volume total das câmaras de resíduos é proporcional ao volume total das câmaras de fungo adequadas para a colônia.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001. Luiz Carlos Forti obteve recursos do Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) (301-938 / 2017-2).

Declaração de contribuição dos autores

APF, RSC, NC e LCF conceberam/projetaram a pesquisa. APF, NC e LCF conduziram os experimentos. LCF e NC contribuíram com novos materiais e/ou ferramentas analíticas. APF e RSC analisaram os dados. APF escreveu o manuscrito. Todos os autores leram, corrigiram e aprovaram o manuscrito.

Referências

- Autuori, M., 1941. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp. – Hymenoptera: Formicidae). I – Evolução do saúveiro (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908). Arq. Inst. Biol. 12, 197–228.
- Bollazzi, M., Forti, L.C., Roces, F., 2012. Ventilation of the giant nests of *Atta* leaf-cutting ants: does underground circulating air enter the fungus chambers? Insectes Soc. 59, 487–498, <http://dx.doi.org/10.1007/s00040-012-0243-9>.
- Bollazzi, M., Kronenbitter, J., Roces, F., 2008. Soil temperature, digging behaviour, and the adaptive value of nest depth in South American species of *Acromyrmex* leaf-cutting ants. Oecologia 158, 165–175, <http://dx.doi.org/10.1007/s00442-008-1113-z>.

- Bolton, B., Alpert, G., Ward, P.S., Naskrecki, P., 2006. Bolton's catalogue of ants of the world. Cambridge: Harvard.
- Bot, A.N.M., Currie, C.R., Hart, A.G., Boomsma, J.J., 2001. Waste management in leaf-cutting ants. *Ethol. Ecol. Evol.* 13, 225–237, <https://doi.org/10.1080/08927014.2001.9522772>.
- Camargo, R.S., Forti, L.C., Fujihara, R.T., Roces, F., 2011. Digging effort in leaf-cutting ant queens (*Atta sexdens rubropilosa*) and its effects on survival and colony growth during the claustral phase. *Insectes Soc.* 58, 17–22, <http://dx.doi.org/10.1007/s00040-010-0110-5>.
- Camargo, R.S., Forti, L.C., 2013. Queen lipid content and nest growth in the leaf cutting ant (*Atta sexdens rubropilosa*) (Hymenoptera: Formicidae). *J. Nat. Hist.* 47, 65–73, <http://dx.doi.org/10.1080/00222933.2012.738836>.
- Camargo, R.S., Forti, L.C., 2014. What is the stimulus for the excavation of fungus chamber in leaf-cutting ants? *Acta Ethol.* 18, 31–35, <http://dx.doi.org/10.1007/s10211-014-0181-9>.
- Cassill, D., Tschinkel, W.R., Vinson, S.B., 2002. Nest complexity, group size and brood rearing in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Insectes Soc.* 49, 158–163, <http://dx.doi.org/10.1007/s00040-002-8296-9>.
- Currie, C.R., Mueller, U.G., Malloch, D., 1999. The agricultural pathology of ant fungus gardens. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96, 7998–8002, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.96.14.7998>.
- Farji-Brener, A.G., Elizalde, L., Fernández-Marín, H., Amador-Vargas, S., 2016. Social life and sanitary risks: evolutionary and current ecological conditions determine waste management in leaf-cutting ants. *Proc. R. Soc. B. Biol. Sci.* 283, 20160625, <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2016.0625>.
- Forti, L.C., Andrade, A.P.P., Camargo, R.S., Caldato, N., Moreira, A.A., 2017. Discovering the giant nest architecture of grass-cutting ants, *Atta capiguara* (Hymenoptera, Formicidae). *Insects* 8, 39, <http://dx.doi.org/10.3390/insects8020039>.
- Forti, L.C., Moreira, A.A., Camargo, R.S., Caldato, N., Castellani, M.A., 2018. Nest architecture development of grass-cutting ants. *Rev. Bras. Entomol.* 62, 46–50,

<http://dx.doi.org/10.1016/J.RBE.2017.10.002>.

Fröhle, K., Roces, F., 2009. Underground agriculture: the control of nest size in fungus-growing ants. In: Theraulaz G, Sole R, Kuntz P (eds) From insect nests to human architecture – Proceedings of the International Workshop on Engineering Principles of Innovation in Swarm-made Architectures. European Center for Living Technology, Venice, pp 95-104.

Guimarães, I.C., Pereira, M.C., Batista, N.R., Rodrigues, C.A.P., Antonialli, W.F., 2018. The complex nest architecture of the Ponerinae ant *Odontomachus chelifer*. PLoS One 13, e0189896. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0189896>.

Hart, A.G., Ratnieks, F.L.W., 2002. Waste management in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. Behav. Ecol. 13, 224–231, <http://dx.doi.org/10.1093/beheco/13.2.224>.

Hölldobler, B., Wilson, E.O., 1990. The ants. Harvard University press, Cambridge.

Jonkman, J.C.M., 1980. The external and internal structure and growth of nests of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri* Forel, 1893 (Hym.: Formicidae). Zeitschrift für Angew Entomol. 89, 217–246, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0418.1980.tb03461.x>.

Mariconi, F.A.M., Zamith, A.P.L., Castro, U. P., 1961. Contribuição para o conhecimento da saúva parda; *Atta capiguara* Gonçalves, 1944. An. Esc. Super. Agric. Luiz Queiroz 18, 301–312, <http://dx.doi.org/10.1590/S0071-12761961000100020>.

Moreira, A.A., Forti, L.C., Boaretto, M.A.C, Andrade, A. P. P., Rossi, M. N. , 2003. Substrate distribution in fungus chambers in nests of *Atta bisphaerica* Forel, 1908 (Hym., Formicidae). J. Appl. Ent. 127, 96–98, <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2003.00719.x>.

Moreira, A.A., Forti, L.C., Andrade, A.P.P., Boaretto, M.A., Lopes, J., 2004. Nest architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). Stud. Neotrop. Fauna Environ. 39, 109–116, <http://dx.doi.org/10.1080/01650520412331333756>.

Passera, L., Aron, S., 2005. Les fourmis : comportement, organisation sociale et

évolution. CNRC-NRC, Les Presses scientifiques.

- Rasse, P., Deneubourg, J.L., 2001. Dynamics of nest excavation and nest size regulation of *Lasius niger* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Insect. Behav.* 14, 433–449, <http://dx.doi.org/10.1023/A:1011163804217>.
- Römer, D., Roces, F., 2014. Nest enlargement in leaf-cutting ants: relocated brood and fungus trigger the excavation of new chambers. *PLoS One* 9, e97872, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0097872>.
- Römer, D., Roces, F., 2015. Available space, symbiotic fungus and colony brood influence excavation and lead to the adjustment of nest enlargement in leaf-cutting ants. *Insectes Soc.* 62, 401–413, <http://dx.doi.org/10.1007/s00040-015-0419-1>.
- Statsoft INC 1984-2004 Statistica for windows (Software-System for Data-analyses) Version 7.0
- Tschinkel, W.R., 2015. The architecture of subterranean ant nests: beauty and mystery underfoot. *J. Bioeconomics* 17, 271–291, <http://dx.doi.org/10.1007/s10818-015-9203-6>.

Tabela 1. Matriz baseada na correlação de Spearman entre o número de câmaras de fungo (CF), número de câmaras de resíduos (CR), número de túneis de forrageamento (TF), profundidade do ninho (PN), volume total das câmaras de fungo (VCF), volume total das câmaras de resíduos (VCR), volume dos túneis de forrageamento (VTF) e volume total do ninho (VN), ao longo do desenvolvimento dos ninhos de *Atta capiguara*, em Botucatu - SP.

	CF	CR	TF	PN	VCF	VCR	VTF	VN
CF	–	0,541	0,722*	0,807**	0,846**	0,564	0,916**	0,860**
CR	–	–	0,502	0,530*	0,794**	0,674*	0,358	0,794*
TF	–	–	–	0,433	0,689*	0,688*	0,866**	0,688**
PN	–	–	–	–	0,832**	0,414	0,334	0,622*
VCF	–	–	–	–	–	0,845**	0,667*	0,995**
VCR	–	–	–	–	–	–	0,619	0,873**
VTF	–	–	–	–	–	–	–	0,667**

* indica diferença significativa a $P < 0,05$; ** indicam diferença significativa a $P < 0,01$.

Tabela 2. Dimensões das câmaras e túneis de *Atta capiguara* ao longo do desenvolvimento da arquitetura dos ninhos.

Idade (meses)	Câmaras de fungo							Câmaras de resíduos							Túneis de forrageamento						
	Altura (cm)		Larg, (cm)		Volume (L)			Altura (cm)		Larg, (cm)		Volume (L)			Altura (cm)		Compr, (m)		Volume (L)		
	Média	DP**	Média	DP	Média	DP	n*	Média	DP	Média	DP	Média	DP	n*	Média	DP	Média	DP	Média	DP	n*
2	3,29	0,26	4,11	0,17	0,04	0,005	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14-18	9,81	2,70	10,02	2,05	0,85	0,56	26	11,50	0,71	11,50	4,95	0,07	0,05	2	-	-	-	-	-	-	-
30-36	12,32	4,66	13,20	5,02	2,24	2,89	44	21,60	15,73	18,84	11,19	0,63	2,72	10	1,60	0,28	0,95	1,04	0,28	0,17	5
42-54	15,23	3,40	16,00	3,88	3,10	2,64	57	27,11	12,37	25,11	16,60	4,74	3,80	9	1,69	0,29	1,93	1,46	2,18	1,86	14

*n: número de câmaras ou túneis encontrados; ** DP: Desvio Padrão.

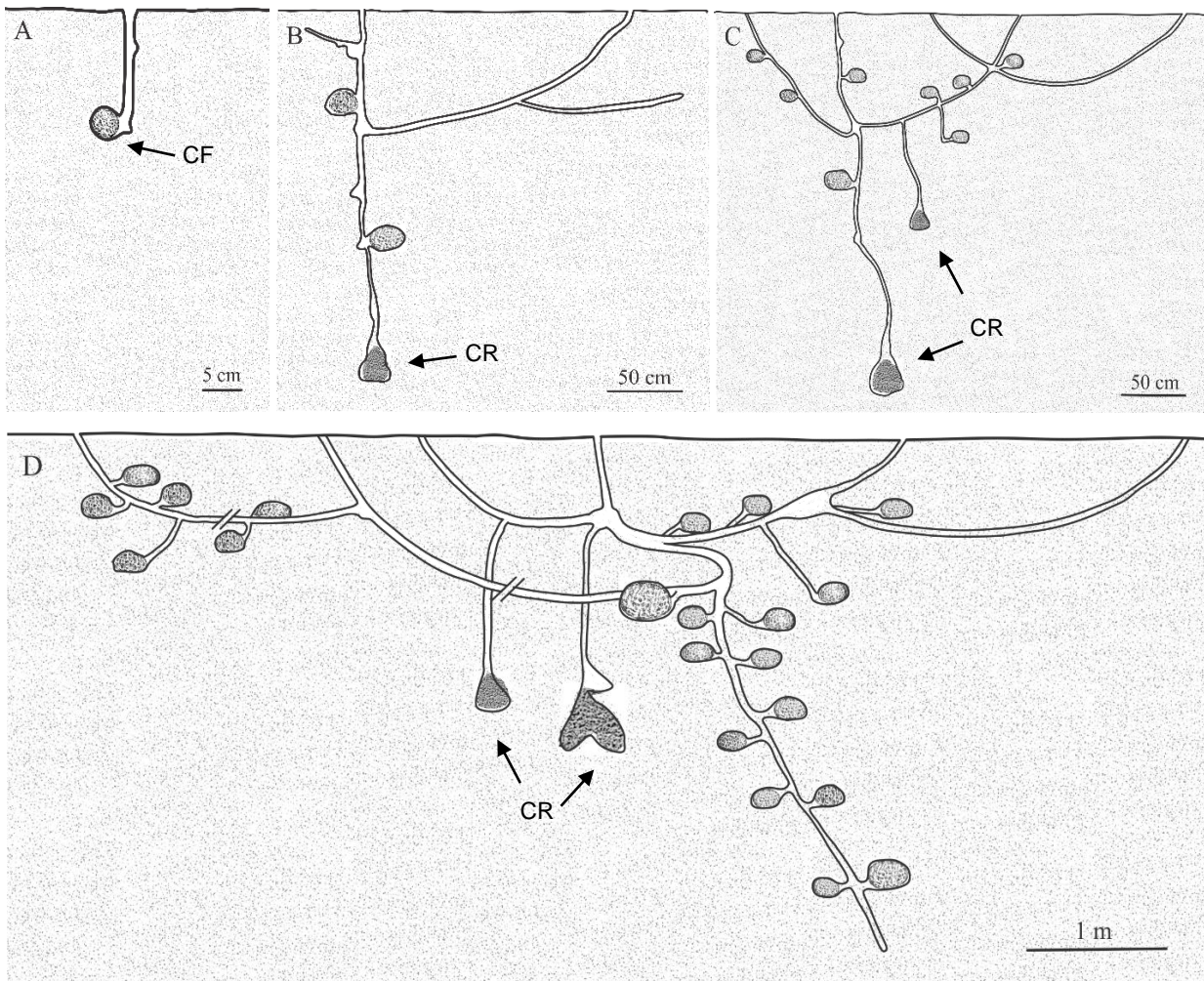


Figura 1. Desenvolvimento da arquitetura dos ninhos de *Atta capiguara*, A – ninho com 2 meses; B – 14-18 meses; C – 30-36 meses e D – 42-54 meses. CF – câmara de fungo; CR – câmara de resíduo.

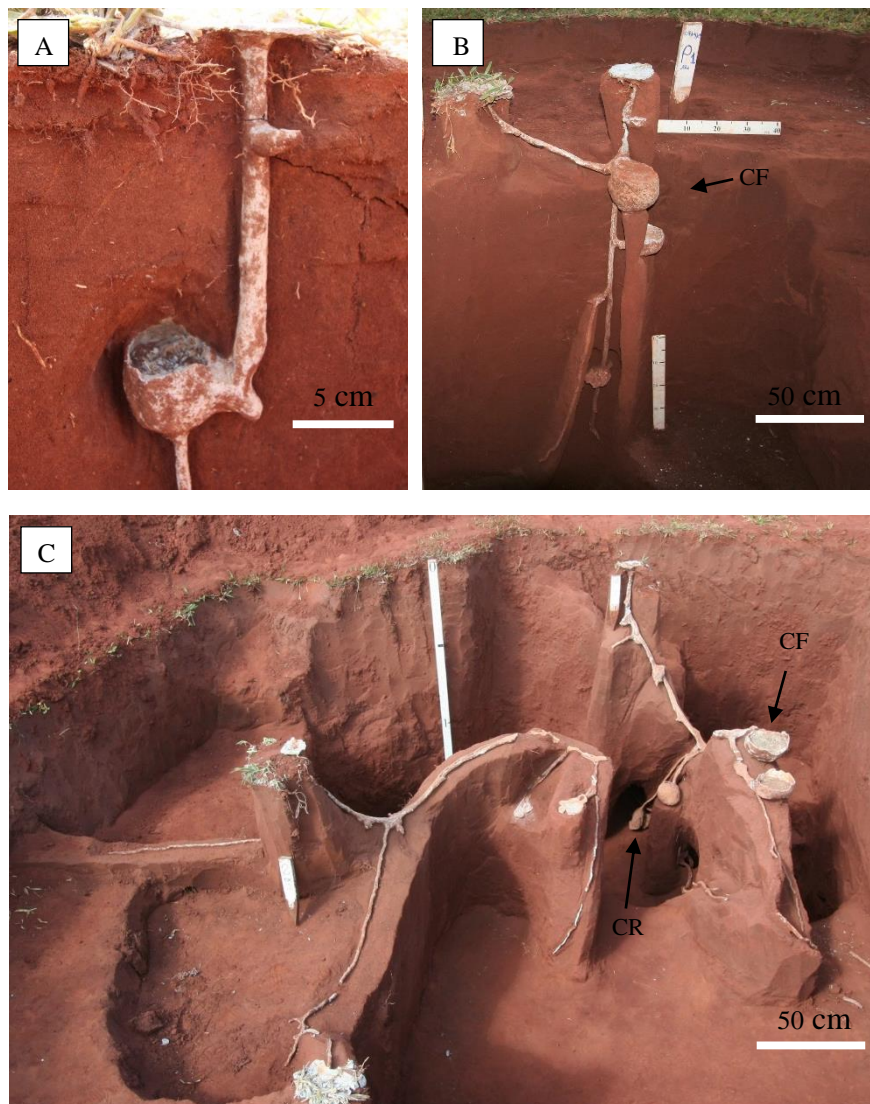


Figura 2. Vista vertical dos ninhos de *Atta capiguara*, A – ninho com 2 meses; B – 14 meses e C – 30 meses. CF – câmara de fungo, CR – câmara de resíduos.



Figura 3. Vista vertical do ninho de *Atta capiguara* com 42 meses de idade, A – vista total do ninho; B – câmaras de fungo (CF) agrupadas e profundidade máxima do ninho; e C – câmaras de fungo localizadas distantes das câmaras de resíduos (CR). TLC – túneis que ligam as câmaras.

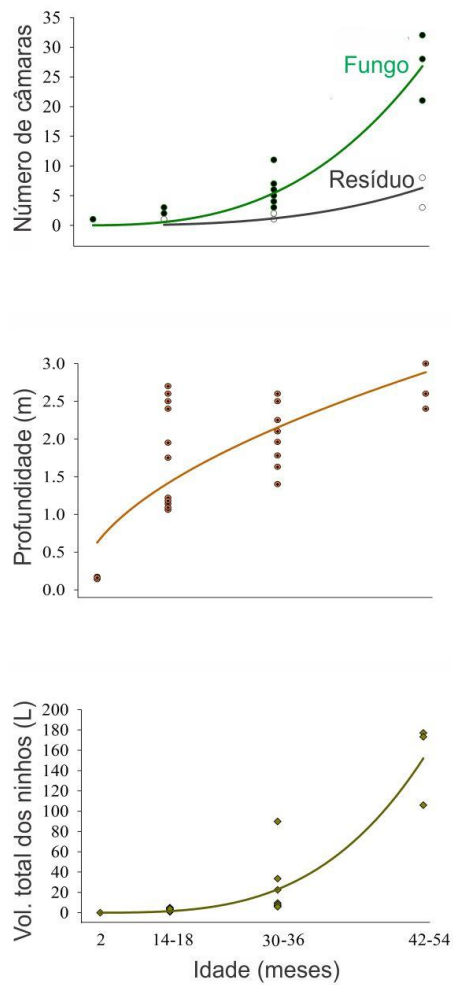


Figura 4. Aumento no número de câmaras (fungo: $y = 2,83X^{2,87}$, $R^2 = 0,90$, $P < 0,01$; resíduos: $y = 3,51X^{3,03}$, $R^2 = 0,74$, $P < 0,01$), profundidade ($y = 0,35X^{0,53}$, $R^2 = 0,64$, $P < 0,01$) e volume total dos ninhos ($y = 1,95X^{3,40}$, $R^2 = 0,82$, $P < 0,01$) em função da idade.

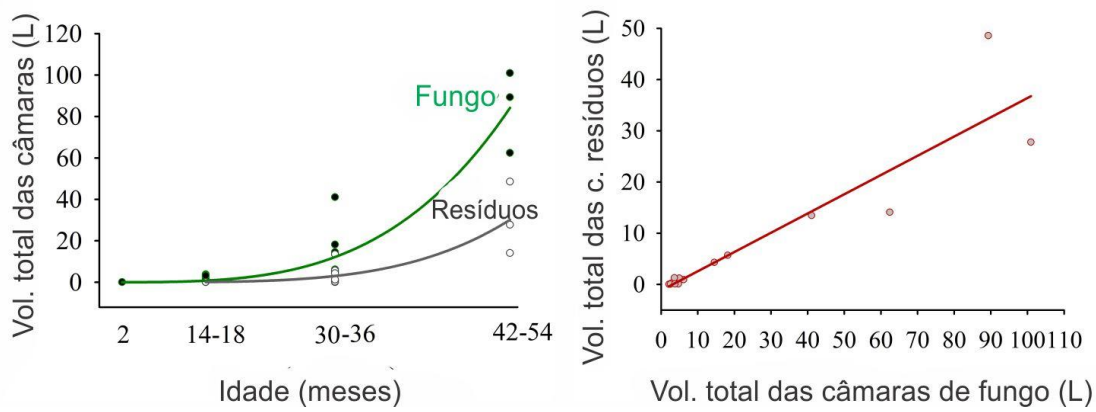


Figura 5. Volume total das câmaras (fungo: $y = 7,73X^{3,48}$, $R^2 = 0,89$, $P < 0,01$; resíduos: $y = 1,99X^{4,14}$, $R^2 = 0,68$, $P = 0,02$) e aumento no volume das câmaras de resíduos com incremento de o volume das câmaras do fungo ($y = -1,18 + 0,37X$, $R^2 = 0,84$, $P < 0,01$).

CAPÍTULO 2²

Arquitetura do ninho e crescimento da colônia da formiga cortadeira de gramínea *Atta bisphaerica*

AP Farias¹, RS Camargo¹, KKA Sousa¹, N Caldato¹, LC Forti¹

¹ Depto de Proteção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas, Univ Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

Farias, A. P.; Camargo, R. S.; Sousa, K. K. A.; Caldato, N.; Forti, L. C. Nest Architecture and Colony Growth of *Atta bisphaerica* Grass-Cutting Ants. **Insects**, v.11, n. 11,p. 1-10, 2020. doi:10.3390/insects11110741.

² Capítulo escrito conforme as normas da revista Insects.

Resumo: As formigas cortadeiras de gramíneas, *Atta* (Formicidae: Myrmicinae: Attini), são encontradas no bioma Cerrado e constroem ninhos gigantes com centenas ou milhares de câmaras. Para a formiga cortadeira de gramínea *Atta bisphaerica*, foram avaliados se o volume total das câmaras do fungo e outros parâmetros do ninho crescem em proporções semelhantes ao número de operárias da colônia. Os dados da biomassa do jardim de fungo, população, área externa, número de orifícios de entrada, número de câmaras de fungo, volume total das câmaras de fungo e a profundidade dos ninhos foram obtidas durante o crescimento da colônia/ desenvolvimento do ninho. Os resultados revelaram que a biomassa do jardim de fungo, a área externa e o volume total das câmaras de fungo aumentaram em taxas semelhantes ao número de operárias. O volume total das câmaras e a área externa do ninho aumentaram em proporção semelhantes ao aumento do número de operárias, provavelmente para atender as necessidades de alocação de fungo para a colônia. O número de câmaras de fungo, número de orifícios de entrada e a profundidade aumentaram menos de 4 vezes para cada aumento de 10 vezes no número de operárias. Além disso, a altura das câmaras de fungo aumentou com o incremento em largura, um padrão não observado para a altura e comprimento dos túneis, e o volume da câmara aumentou de acordo com o número de operárias. Assim, este estudo demonstra para *A. bisphaerica* que o desenvolvimento do ninho, em termos de volume da câmara, é semelhante ao aumento do número de operárias da colônia, e isso contribui para um melhor entendimento da arquitetura dos ninhos de *Atta*.

Palavras-chave: Número de operárias, Crescimento do fungo, Desenvolvimento dos ninhos, Formigas cortadeiras.

2.1 Introdução

Ninhos, tocas, armadilhas, galhas e várias estruturas que os animais constroem são vitais para a sobrevivência e produtos da seleção natural [1,2]. Algumas espécies dependem da disponibilidade de materiais de construção, como é o caso de peixes da família Gasterosteidae que utilizam fios fibrosos incorporados nos ninhos e insetos da ordem Trichoptera que precisam de sedimentos para formar suas tocas [3,4]. As aranhas e a formiga leão constroem armadilhas baseadas em auto-secreções do corpo (como seda) ou no arranjo de partículas de areia, essenciais para a captura de presas [5,6]. Espécies de formigas do gênero *Pseudomyrmex* e *Camponotus* constroem ninhos em árvores a partir de cavidades pré-formadas e materiais orgânicos [7,8]. No solo, espécies de *Pheidole*, *Odontomachus* e *Pogonomyrmex* escavam dezenas de câmaras [9–11]. No entanto, as formigas cortadeiras, em especial as do gênero *Atta*, escavam ninhos subterrâneos elaborados com centenas e/ou milhares de câmaras [12–14].

No caso das formigas cortadeiras (*Atta*), foi proposto que a alta mortalidade de rainhas semi-claustrais foi o suficiente para compensar a produção de rainhas totalmente claustrais [15]. As rainhas claustrais são maiores e ricas em lipídeos para a escavação do ninho e originar os primeiros membros da colônia às custas das suas reservas de energia [15–17]. No entanto, essas rainhas são energeticamente caras para a colônia mãe que precisa trabalhar ativamente para o armazenamento de recursos (alimento) [15]. Para armazenar e ter grande quantidade de alimento (jardim de fungo) visando a formação de milhares de alados [18] a colônia deve ajustar constantemente o ninho.

A disponibilidade de recursos certamente influencia o aumento do número de operárias e de fungo cultivado para o crescimento da colônia [19,20]. Os recursos parecem ser abundantes quando as formigas cortadeiras de gramíneas como *A. bisphaerica* habitam ambientes de pastagem, porém, poucas espécies de gramíneas são selecionadas para o forrageamento [21]. Assim, os ninhos construídos por *A. bisphaerica* podem ser considerados extensões funcionalmente versáteis da colônia e uma maneira direta de estudar como as estruturas são ajustadas pelas operárias [22]. Os ninhos de *A. bisphaerica* são caracterizados por um menor número de câmaras de fungo quando comparados com espécies que cortam dicotiledôneas,

como *A. sexdens* [23]. Além disso, os ninhos possuem grande número de orifícios de entrada para as operárias explorarem o ambiente [21]. Por outro lado, *A. bisphaerica* não escava câmaras especializadas para a deposição de resíduos (câmaras de resíduos), como é o caso da formiga cortadeira *A. capiguara* [14].

Estudos anteriores mostraram o padrão da área externa e o número de câmaras e túneis em ninhos maduros de *A. bisphaerica*; também mostraram o número de orifícios de entrada e túneis que foram influenciados pela disponibilidade de recursos alimentares [12,21]. Além disso, o padrão de desenvolvimento do ninho foi obtido a partir de ninhos de diferentes idades [23]. Embora esses estudos mencionem a arquitetura dos ninhos das formigas cortadeiras, eles se baseiam apenas em ninhos moldados e não estabelecem relação com os parâmetros da colônia (número de operárias e biomassa do jardim de fungo). Em *Atta*, as colônias maduras são grandes e contêm milhares a mais de um milhão de operárias [24].

Nas formigas em geral, o tamanho do ninho está relacionado ao número de operárias, visto que elas constroem o ninho em alguma proporção às suas necessidades [24,25]. No entanto, estudos mostraram que parâmetros dos ninhos das formigas *Pogonomyrmex* e *Aphaenogaster* (por exemplo, área total das câmaras) aumentaram mais lentamente do que a população de operárias [25,26]. Nesse contexto, hipotetizamos para as formigas cortadeiras de que o volume total das câmaras de fungo, e outros parâmetros do ninho, crescem em proporções próximas ou semelhantes ao crescimento do número de operárias na colônia (por causa do jardim de fungo). Assim, o presente estudo fornece uma descrição do desenvolvimento da arquitetura do ninho da formiga cortadeira de gramínea *A. bisphaerica* de acordo com o número de operárias, e contribui para um melhor entendimento da arquitetura do ninho de *Atta*.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Área experimental

O estudo foi realizado na Fazenda experimental Lageado (22°50'47"S; 48°26'01" O) e na Fazenda Santana (22°50'44"S; 48°26'12" O), Botucatu, São Paulo, Brasil. As fazendas possuíam áreas de pastagem, *Brachiaria* spp., com

manchas de *Paspalum* spp., locais preferidos para a nidificação das formigas cortadeiras de gramíneas.

2.2.2 Colônias e ninhos estudados

Ninhos de *A. bisphaerica* foram mapeados desde a revoada de outubro de 2014, de acordo com Forti et al. [23]. Após cerca de 2; 8; 20; 32; 44 e 56 meses da rainha fundar o ninho, 3; 4; 4; 3; 1 e 1 colônias de cada idade, respectivamente, foram estudadas. Antes da escavação, a área externa do ninho foi mensurada pelo método tradicional, que consiste em medir a maior largura e maior comprimento da área formada por todos os montes de terra solta [27]. Além disso, os orifícios de cada ninho foram contabilizados e marcados, e foi polvilhado talco em cada orifício, como um guia para localização das câmaras em geral e túneis mais profundos. A escavação dos ninhos foi manual, pela abertura de trincheiras em intervalos de 1 m de profundidade, para coleta da biomassa de cada câmara de fungo (jardim de fungo e indivíduos), bem como para a medição das dimensões das câmaras e túneis [12,23].

2.2.3 População e biomassa do jardim de fungo

O jardim de fungo e a população foram coletados em potes plásticos de 0,5 a 15 L de volume, imediatamente após a abertura de cada câmara. O jardim de fungo foi imediatamente levado ao laboratório para a obtenção da massa fresca e pesagem de 20% para estimativa da massa seca. A secagem foi realizada em estufa com circulação de ar a 50 °C por 24 h, e a biomassa seca do jardim de fungo de cada ninho foi obtida extrapolando os valores de massa seca para 100%. A população de cada ninho e câmara foi conservada em Álcool 70% e 10% do volume coletado foi utilizado para a contagem do número de operárias. As operárias foram separadas e contabilizadas, e a população total de cada ninho foi obtida extrapolando o número para 100% do volume.

2.2.4 Arquitetura interna

As câmaras de fungo encontradas ao longo da escavação foram contabilizadas e medidas em largura, altura e em relação a superfície do solo (profundidade). Os túneis de forrageamento e túneis que ligam as câmaras foram medidos em largura, altura, comprimento e profundidade. Os túneis que ligam as

câmaras foram contabilizados e medidos até a idade de 32 meses, devido ao grande número em ninhos com maior idade. Nos ninhos com 44 e 56 meses, as dimensões dos túneis de forrageamento foram obtidas de 3 túneis em cada quadrante do ninho.

O volume de cada câmara de fungo foi estimado com base no volume do cilindro. No entanto, como as câmaras são arredondadas, um fator de correção foi necessário para o cálculo do volume, $V = \pi r^2 (hc + r0,67)$, em que 'r': raio da base da câmara, e 'hc': altura do cilindro, obtido pela subtração da altura máxima da câmara pelo seu raio $hc = h - r$ [23]. O volume total das câmaras de fungo em cada idade foi obtido pela soma do volume das câmaras.

2.2.5 Análises estatísticas

Análises de regressão linear de variáveis transformadas com log (log de base e de x) foram usadas para determinar o crescimento da biomassa do jardim de fungo e o desenvolvimento da arquitetura do ninho em relação ao aumento no número de operárias da colônia. As variáveis da arquitetura do ninho avaliadas foram área externa, número de orifícios de entrada, número de câmaras de fungo, volume total das câmaras de fungo e profundidade do ninho. Análises bivariadas (log-log) foram realizadas entre o número de operárias com (a) biomassa de jardim de fungo, (b) número de câmaras de fungo, (c) número de orifícios de entrada, (d) área externa, (e) volume total de câmaras de fungo, e (f) a profundidade dos ninhos. O crescimento em número de vezes no número de operárias também foi usado para determinar a proporção de crescimento para cada variável. Além disso, as dimensões das câmaras e túneis foram submetidas à análise de regressão, e os dados sobre os parâmetros de arquitetura, número de operárias e biomassa do jardim de fungo de acordo com a idade da colônia (2, 8, 20, 32, 44 e 56 meses) foram submetidos à estatística descritiva para obter a média, o desvio padrão e os valores máximo e mínimo. Todas as análises foram realizadas com o software Statistica versão 7.0 (StatSoft, Tulsa, EUA) [28].

2.3 Resultados

Os ninhos de *A. bisphaerica* com 2 meses de idade possuem apenas um orifício de entrada, área externa em torno de 200 cm², câmara fúngica com

volume de 160 mL e profundidade de 18 cm. Aos 8 meses de idade, os ninhos aumentaram para duas câmaras fúngicas (volume total da câmara em torno de 700 mL), área externa para 360 cm² e atingiram a profundidade de 0,9 m (Tabela 1). De 20 a 56 meses de idade, o número de orifícios de entrada aumentou de 2 para 132, o número de câmaras aumentou de 2 para 104 (volume total da câmara de 6 para 290 L), área externa de 0,2 a 42 m² e profundidade de 1,6 a 3,4 m (Tabela 1). A colônia com 2 meses de idade possui cerca de 121 operárias e 5 g de biomassa seca de jardim de fungo. Aos 8 meses de idade, o número de operárias aumentou para cerca de 700 e o jardim de fungo para 21 g. Dos 20 aos 56 meses de idade, o número de operárias aumentou de cerca de 3.000 para 450.000, enquanto a biomassa seca do jardim de fungo aumentou de 100 g para 12 kg (Tabela 1).

A biomassa do jardim de fungo, a área externa e o volume total das câmaras de fungo aumentaram em taxas semelhantes ao aumento do número de operárias (Figura 1; Tabela 2). Dentre todas as variáveis, o número de câmaras fúngicas, orifícios de entrada e profundidade do ninho tiveram maiores variações na taxa de aumento (Figura 1; Tabela 2). A proporção encontrada entre o aumento dos fatores do jardim de fungo e do ninho de acordo com o número de operárias variou na proporção de 0,25:1 (2,5:10) a 1:1 (10:10). O volume total das câmaras de fungo e a área externa aumentaram 8 e 10 vezes, respectivamente, para cada aumento de 10 vezes no número de operárias (Figura 1c, d). A biomassa do jardim de fungo aumentou cerca de 8,3 vezes para cada aumento de 10 vezes no número de operárias (Figura 1a). Além disso, o número de câmaras de fungo, número de orifícios de entrada e profundidade do ninho aumentaram 3,1; 3,4; e 2,5 vezes, respectivamente, para cada aumento de 10 vezes no número de operárias (Figura 1b, c, f).

Além do crescimento vertical, os ninhos cresceram lateralmente, e as câmaras de fungo estão localizadas na projeção da terra solta (área externa) (Figura 2). As câmaras de fungo e túneis, em geral, variam em tamanho durante o desenvolvimento do ninho. A altura das câmaras do fungo aumenta com o aumento da largura; no entanto, as câmaras eram limitadas em tamanho (Figura 3a). Túneis de forrageamento foram encontrados em ninhos com 20 meses ou

mais; no entanto, a altura do túnel não aumentou com o aumento do comprimento (Figura 3b).

Os ninhos de *A. bisphaerica* possuem câmaras com volume que varia de cerca de 200 mL a 14 L (Figura 4a). Em ninhos jovens (2-8 meses de idade), foram encontradas câmaras com volume inferior a 1 L. Para ninhos com mais de 20 meses, foram encontradas câmaras com volume de menos de 1 L a mais de 10 L (Figura 4a). Além disso, o volume de cada câmara aumentava à medida que o número de operárias aumentava (Figura 4b).

2.4 Discussão

Depois que o ninho é fundado pela rainha de *Atta*, todo esforço é direcionado para produção do grande número de operárias que assumirão as atividades de escavação do ninho, coleta de recursos e cultivo do jardim de fungo e cuidados com as fases jovens [24]. Assim, os resultados mostram que o crescimento da biomassa do jardim de fungo de *A. bisphaerica*, o volume total das câmaras de fungo e a área externa dos ninhos foram isométricos de acordo com o número de operárias (Figura 1; Tabela 2).

O aumento proporcional no volume total das câmaras de fungo e área externa com o aumento do número de operárias é atribuído à necessidade da colônia de espaço para alocar principalmente o jardim de fungo. Vários estudos sustentam a hipótese de que o jardim de fungo e a presença de formigas em estágios pré-imaginais dentro da colônia são incentivos para que as operárias aumentem o espaço e construam novas câmaras [29-31]. Uma câmara de *Atta* é muito maior do que as câmaras documentadas para outros gêneros de formigas e, conseqüentemente, contribui para um maior volume total do ninho [13,14]. Neste estudo para *A. bisphaerica*, foram encontradas câmaras com volume de até 14 L, embora estudos com *A. capiguara* tenham revelado câmaras com volume de 22 L [14]. Para a formiga *Solenopsis invicta* (que não cultiva fungo, mas pode atingir milhares de operárias semelhantes a *A. bisphaerica*), especulou-se que a população dividida em grupos e pequenas câmaras (por exemplo, área de 5 cm²) beneficia a colônia na comunicação [32].

A área externa (terra solta) dos ninhos de *A. bisphaerica* é resultado de câmaras e túneis escavados para permitir o acesso ao ambiente (Figura 2a, c). Para *A. bisphaerica*, os pellets de solo são depositados em um local definido; assim, a terra solta é bem espalhada ao redor do ninho [33]. Por outro lado, *A. sexdens* e *A. capiguara* não depositam pellets de solo em um local definido, e à medida que rolam, montes de terra solta com maior altura são formadas próximo aos orifícios dos ninhos [33]. Em *A. capiguara*, a área externa também é decorrente da escavação de câmaras de resíduos [14]. Como uma adaptação comportamental ao habitar solos úmidos e argilosos, *A. vollenweideri* usa pellets de solo para formar estruturas externas (ou seja, "torres") que auxiliam na ventilação do ninho [34].

O aumento da biomassa do jardim de fungo proporcional ao aumento do número de operárias é possivelmente uma estratégia energética para a colônia [35,36]. Uma colônia de *Atta* madura precisa de grande biomassa de fungo para a produção de alados (por exemplo, uma colônia de *A. bisphaerica* libera cerca de 1.690 fêmeas e 5360 machos anualmente) [18]. Durante o voo nupcial, as rainhas *Atta* possuem o máximo de reservas internas, com massa variando de 400 a 800 mg [37]. O voo nupcial também depende de condições adequadas, sendo que a colônia precisa alimentar os alados por um determinado período [18,38]. Além disso, a alometria das formigas tende a operárias maiores conforme as colônias crescem, e operárias maiores têm metabolismos mais baixos do que operárias menores [24,39].

O aumento no número de câmaras e orifícios de entrada em uma proporção de menos de 4 vezes para cada aumento de 10 vezes no número de operárias é atribuído ao grande tamanho da câmara e alocação de milhares de operárias e grande biomassa do jardim de fungo. Os resultados mostram que as câmaras de fungo de *A. bisphaerica* crescem em dimensões (altura em função da largura) e aumentam de volume em torno de 3 vezes para cada aumento de 10 vezes no número de operárias; entretanto, seu tamanho é limitado e não excede o volume de 14 L (Figuras 3 e 4). Isso ocorre porque as operárias ajustam o tamanho da câmara até determinado espaço e, a seguir, acrescentam uma nova câmara [29,30]. Assim, o desenvolvimento do ninho é baseado principalmente na ampliação e adição de câmaras (aumento de 1 a 104 em um

período de 56 meses). As dimensões dos túneis também variam, provavelmente devido ao aumento do número e fluxo de operárias (Figura 3) [23]. Entretanto, alguns túneis possuem maior altura e são mais curtos, enquanto outros são mais baixos e mais longos (Figura 3).

O aumento de 2,5 vezes na profundidade dos ninhos a cada aumento de 10 vezes no número de operárias certamente ocorre porque os ninhos expostos nas pastagens têm câmaras mais profundas (até 3,41 m), visto que a temperatura do solo está negativamente correlacionada com a profundidade do solo [40]. O fungo simbiote e as fases da formiga jovem precisam de condições de temperatura adequadas em torno de 25 °C para o crescimento [31]. Este arranjo de câmaras no solo certamente interfere na profundidade de nidificação, embora a maioria das câmaras esteja localizada entre 1 e 2 m de profundidade.

2.5 Conclusões

Este estudo demonstrou que o desenvolvimento do ninho de *A. bisphaerica* em estrutura é isométrico de acordo com o número de operárias, com aumento do volume total das câmaras em taxa semelhante ao aumento do número de operárias. Essas descobertas indicam que as dimensões maiores dos ninhos de *Atta* não são apenas resultados da grande população, como se pensava anteriormente, mas do jardim de fungo como um dos principais fatores. Estudos futuros poderão ser conduzidos com espécies de *Atta* que nidificam em florestas (ambientes fechados), e possíveis alterações na comunicação dessas formigas que podem ter surgido dos ninhos maiores também devem ser investigadas.

Contribuições dos autores: Conceituação, A.P.F., R.S.C., N.C. e L.C.F.; metodologia, A.P.F., K.K.A.S. e L.C.F.; investigação, A.P.F.; análises, A.P.F. e K.K.A.S.; curadoria de dados, A.P.F.; escrita - rascunho original e preparação, A.P.F.; redação - revisão e edição, A.P.F.; supervisão, N.C. e R.S.C.; Obtenção de recursos, L.C.F. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Financiamento: Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil (CAPES), Código Financeiro 001. Luiz Carlos Forti obteve recursos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Bolsa 301718 / 2013-0).

Conflitos de interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

1. Hansell, M. Oxford animal biology series. In *Animal Architecture*; Oxford University Press: New York, USA, 2005.
2. Gilbert, S.F. Evolutionary transitions revisited: Holobiont evo-devo. *J. Exp. Zool. Part B Mol. Dev. Evol.* **2019**, *332*, 307–314.
3. Okano, J.I.; Sasaki, O.; Kano, H. The effects of surface roughness of sediment particles on the respiration of case-bearing caddisfly larvae. *Freshw. Sci.* **2016**, *35*, 611–618.
4. Rushbrook, B.J.; Head, M.L.; Katsiadaki, I.; Barber, I. Flow regime affects building behaviour and nest structure in sticklebacks. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **2010**, *64*, 1927–1935.
5. Franks, N.R.; Worley, A.; Falkenberg, M.; Sendova-Franks, A.B.; Christensen, K. Digging the optimum pit: antlions, spirals and spontaneous stratification. *Proc. Biol. Sci.* **2019**, *286*, 20190365.
6. Cranford, S.W.; Tarakanova, A.; Pugno, N.M.; Buehler, M.J. Nonlinear material behaviour of spider silk yields robust webs. *Nature* **2012**, *482*, 72–76.
7. Fernandes, E.F.; Castro, M.M.; Barbosa, B.C.; Prezoto, F. Variation in nesting behavior of the arboreal Ant *Camponotus sericeiventris* (Hymenoptera: Formicidae). *Fla. Entomol.* **2014**, *97*, 1237–1239.
8. Ward, P.S.; Downie, D.A. The ant subfamily Pseudomyrmecinae (Hymenoptera: Formicidae): Phylogeny and evolution of big-eyed arboreal ants. *Syst. Entomol.* **2005**, *30*, 310–335.
9. Guimarães, I.C.; Pereira, M.C.; Batista, N.R.; Rodrigues, C.A.P.; Antonialli, W.F. The complex nest architecture of the Ponerinae ant *Odontomachus chelifer*. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0189896.
10. Tschinkel, W.R. The architecture of subterranean ant nests: beauty and mystery underfoot. *J. Bioeconomics* **2015**, *17*, 271–291.

11. Forti, L.C.; Camargo, R.S.; Fujihara, R.T.; Lopes, J.F.S. The nest architecture of the ant, *Pheidole oxyops* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). *Insect Sci.* **2007**, *14*, 437–442.
12. Moreira, A.A.; Forti, L.C.; Boaretto, M.A.C.; Andrade, A.P.P.; Lopes, J.F.S.; Ramos, V.M. External and internal structure of *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae) nests. *J. Appl. Entomol.* **2004**, *128*, 204–211.
13. Moreira, A.A.; Forti, L.C.; Andrade, A.P.P.; Boaretto, M.A.C.; Lopes, J.F.S. Nest Architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). *Stud. Neotrop. Fauna Environ.* **2004**, *39*, 109–116.
14. Forti, L.C.; Andrade, A.P.P.; Camargo, R.S.; Caldato, N.; Moreira, A.A. Discovering the giant nest architecture of grass-cutting ants, *Atta capiguara* (Hymenoptera, Formicidae). *Insects* **2017**, *8*, 39.
15. Seal, J.N. Scaling of body weight and fat content in fungus-gardening ant queens: Does this explain why leaf-cutting ants found claustrally? *Insectes Soc.* **2009**, *56*, 135–141.
16. Fujihara, R.T.; Camargo, R.S.; Forti, L.C. Lipid and energy contents in the bodies of queens of *Atta sexdens rubropilosa* forel (Hymenoptera, formicidae): Pre-and post-nuptial flight. *Rev. Bras. Entomol.* **2012**, *56*, 73–75.
17. Camargo, R.S.; Forti, L.C. Queen lipid content and nest growth in the leaf cutting ant (*Atta sexdens rubropilosa*) (Hymenoptera: Formicidae). *J. Nat. Hist.* **2013**, *47*, 65–73.
18. Autuori, M. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp. Hymenoptera -Formicidae) V-Número de formas aladas e redução dos sauveiros iniciais. *Arq. Inst. Biol.* **1950**, *19*, 325–331.
19. Camargo, R.S.; Forti, L.C.; Lopes, J.F.S.; Matos, C.A.O. Growth of populations and fungus gardens of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera, Formicidae) response to foraged substrates. *Sociobiology* **2008**, *52*, 1–11.
20. Seal, J.N.; Tschinkel, W.R. Food limitation in the fungus-gardening ant, *Trachymyrmex septentrionalis*. *Ecol. Entomol.* **2008**, *33*, 597–607.
21. Lopes, J.F.S.; Brugger, M.S.; Menezes, R.B.; Camargo, R.S.; Forti, L.C.; Fourcassié, V. Spatio-temporal dynamics of foraging networks in the grass-cutting ant *Atta bisphaerica* Forel, 1908 (Formicidae, Attini). *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0146613.

22. Turner, J.S. *The Extended Organism: The Physiology of Animal-Built Structures*; Harvard University Press: Cambridge, MA, USA, 2009.
23. Forti, L.C.; Moreira, A.A.; Camargo, R.S.; Caldato, N.; Castellani, M.A. Nest architecture development of grass-cutting ants. *Rev. Bras. Entomol.* **2017**, *62*, 46–50.
24. Hölldobler, B.; Wilson, E.O. *The Ants*; Harvard University Press: Cambridge, MA, USA, 1990.
25. Tschinkel, W.R. The nest architecture of three species of north Florida *Aphaenogaster* ants. *J. Insect Sci.* **2011**, *11*, 105.
26. Tschinkel, W.R. The nest architecture of the Florida harvester ant, *Pogonomyrmex badius*. *J. Insect Sci.* **2004**, *4*, 21.
27. Mariconi, F.A.M. *As Saúvas*; Ceres: São Paulo, Brasil, 1970.
28. Statsoft INC. *Statistica for Windows Version 7.0.*; Tulsa, USA, 1984–2004.
29. 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 Soc.* **2015**, *62*, 401–413.
30. Römer, D.; Roces, F. Nest enlargement in leaf-cutting ants: relocated brood and fungus trigger the excavation of new chambers. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e97872.
31. Camargo, R.S.; Forti, L.C. What is the stimulus for the excavation of fungus chamber in leaf-cutting ants? *Acta Ethol.* **2014**, *18*, 31–35.
32. Cassill, D.; Tschinkel, W.R.; Vinson, S.B. Nest complexity, group size and brood rearing in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Insectes Soc.* **2002**, *49*, 158–163.
33. Zamith, A.P.L.; Mariconi, F.A.M.; Castro, U.D.P. Contribuição para o conhecimento da "saúva mata pasto" *Atta bisphaerica* Forel, 1908. *An. Esc. Super. Agric. Luiz Queiroz* **1961**, *18*, 327–338.
34. Halboth, F.; Roces, F. The construction of ventilation turrets in *Atta vollenweideri* leaf-cutting ants: carbon dioxide levels in the nest tunnels, but not airflow or air humidity, influence turret structure. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0188162.
35. Bershers, S.N.; Traniello, J.F.A. The adaptiveness of worker demography in the Attine ant *Trachymyrmex septentrionalis*. *Ecology* **1994**, *75*, 763–775.
36. Kang, Y.; Clark, R.; Makiyama, M.; Fewell, J. Mathematical modeling on obligate mutualism: Interactions between leaf-cutter ants and their fungus garden. *J. Theor. Biol.* **2011**, *289*, 116–127.

37. Mintzer, A.C. Foundress female weight and cooperative foundation in *Atta* leaf-cutting ants. In *Applied Myrmecology: A World Perspective*; Vander Meer, R.K., Jaffe, K., Cedeno, A., Eds.; Westview Press: Boulder, CO, USA, 1990.
38. Jonkman, J.C.M. The external and internal structure and growth of nests of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri* Forel, 1893 (Hym.: Formicidae). *Z. Angew. Entomol.* **1980**, *89*, 217–246.
39. Wilson, E.O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). I: The overall pattern in *A. sexdens*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **1980**, *7*, 143–156.
40. Rosenberg, N.J.; Blad, B.L.; Verma, S.B. *Microclimate: The Biological Environment*; Wiley-Blackwell: Hoboken, NJ, USA, 1983.

Tabela 1. Área externa (AE), número de orifícios (NO), número de câmaras de fungo (CF), volume total das câmaras de fungo (VFC), profundidade dos ninhos (P), biomassa do jardim de fungo (BJF) e população (Pop) de *Atta bisphaerica* ao longo do crescimento das colônias/desenvolvimento dos ninhos, Botucatu, SP, 2019.

Idade (meses)	AE (m ²)	NO	CF	VFC (L)	P (m)	BJF (Kg)	Pop (x1000)
2							
Média	0,020	1,00	1,00	0,161	0,18	0,005	0,121
Dp*	0,0008	0,00	0,00	0,015	0,02	0,002	0,039
Max.	0,040	1,00	1,00	0,175	0,19	0,006	0,161
Min.	0,032	1,00	1,00	0,144	0,15	0,003	0,083
8							
Média	0,036	1,00	2,00	0,705	0,96	0,021	0,662
DP	0,003	0,00	0,00	0,190	0,26	0,006	0,285
Max.	0,021	1,00	2,00	0,859	1,25	0,026	0,970
Min.	0,019	1,00	2,00	0,434	0,67	0,013	0,280
20							
Média	0,220	3,25	4,50	5,822	2,27	0,107	3,315
DP	0,150	1,50	1,91	4,465	0,79	0,083	2,242
Max.	0,352	5,00	6,00	11,050	3,41	0,207	5,203
Min.	0,086	2,00	2,00	0,980	1,61	0,024	0,587
32							
Média	10,657	15,67	13,00	45,729	3,07	1,267	65,144
DP	2,598	4,93	6,08	22,089	0,02	0,683	46,079
Max.	13,011	19,00	20,00	71,232	3,30	2,042	117,772
Min.	7,869	10,00	9,00	32,596	2,70	0,752	32,047
44							
n=1	16,342	25,00	42,00	130,988	2,60	4,610	192,611
56							
n=1	42,125	132,00	104,00	291,537	3,30	12,359	446,088

*DP: Desvio padrão.

Tabela 2. Relações entre os parâmetros de desenvolvimento dos ninhos com o número de operárias em colônias/ninhos de *Atta bisphaerica*. F-teste; R²: coeficiente de determinação.

Relações	Modelos	F (1,14)	p-Valor	R²
Operárias (O) vs. Biomassa de Fungo (BF)	$\log y = -2,87 + 0,92\log x$	918,63	<0,001	0,98
O vs. Câmaras de Fungo (CF)	$\log y = -2,39 + 0,48\log x$	262,81	<0,001	0,94
O vs. Orifícios de entrada	$\log y = -2,98 + 0,53\log x$	144,33	<0,001	0,90
O vs. Área externa	$\log y = -0,02 + 1,00\log x$	268,14	<0,001	0,95
O vs. Volume Total CF	$\log y = -0,91 + 0,90\log x$	907,24	<0,001	0,98
O vs. Profundidade	$\log y = 2,25 + 0,31\log x$	26,84	<0,001	0,63

n = 16 colônias/ninhos.

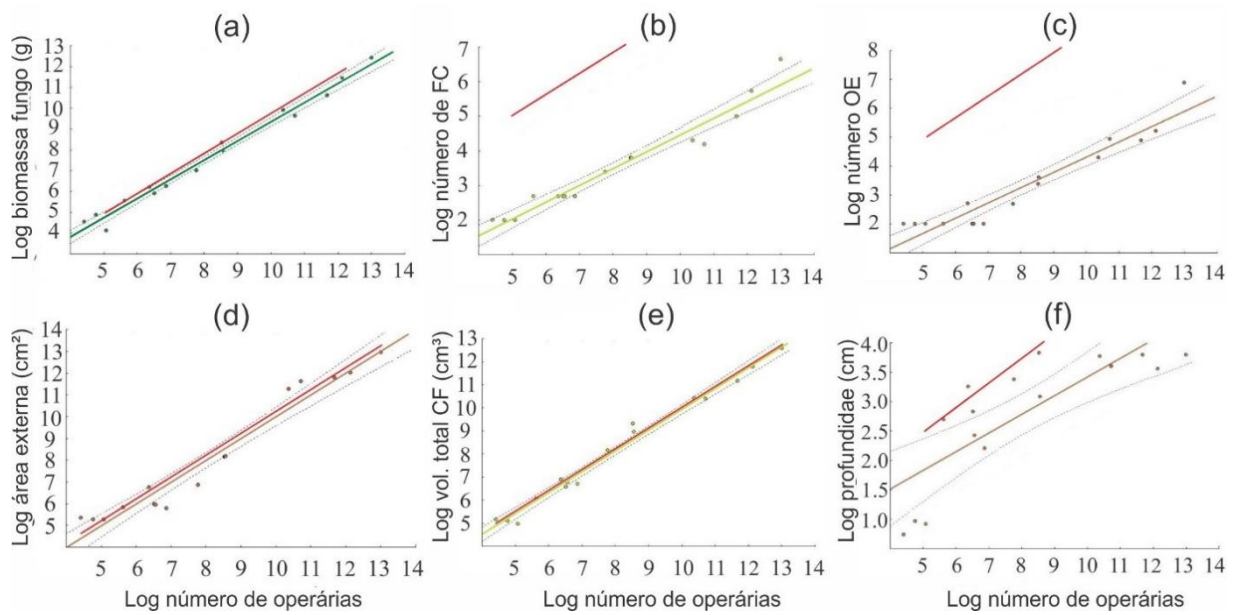


Figura 1. Relação do número de operárias de *A. bisphaerica* com (a) biomassa do jardim de fungo, (b) número de câmaras de fungo (FC), (c) número de orifícios de entrada (OE), (d) área externa, (e) volume total câmaras de fungo e (f) profundidade dos ninhos. A linha vermelha representa a inclinação esperada de 1 (a – e) ou 0,5 (f). Os valores e seus intervalos de confiança de 95% indicam diferenças ($n = 16$ colônias).

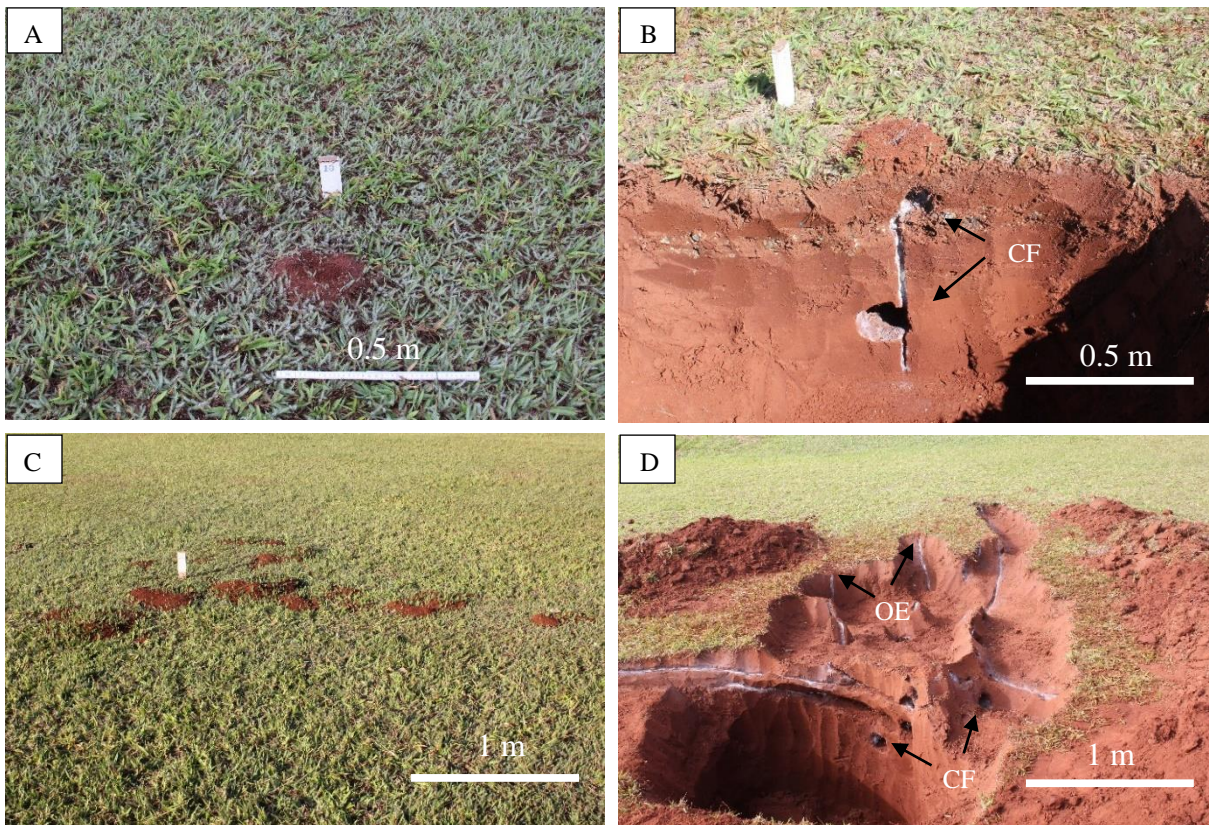


Figura 2. Área externa e arquitetura interna dos ninhos de *A. bisphaerica* com 8 meses (a), (b) e 32 meses (c) e (d). CF – câmara de fungo, OE– orifício de entrada.

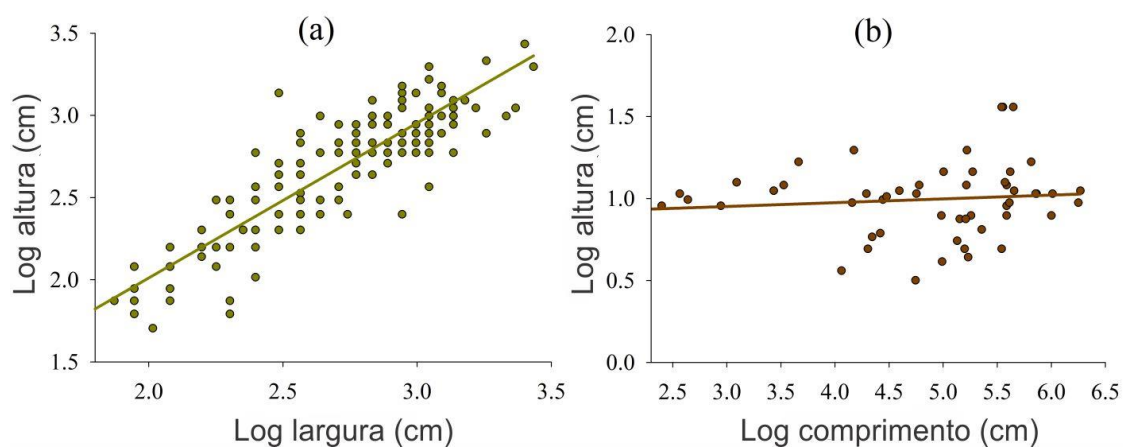


Figura 3. Aumento da altura das câmaras de fungo (CF) com o aumento da largura (a), e aumento da altura com aumento do comprimento dos túneis de forrageamento (TF) (b). CF: $\log y = 0,13 + 0,94 \log x$, $R^2 = 0,71$, $p < 0,01$; TF: $\log y = 0,88 + 0,02 \log x$, $R^2 = 0,01$, $p = 0,48$.

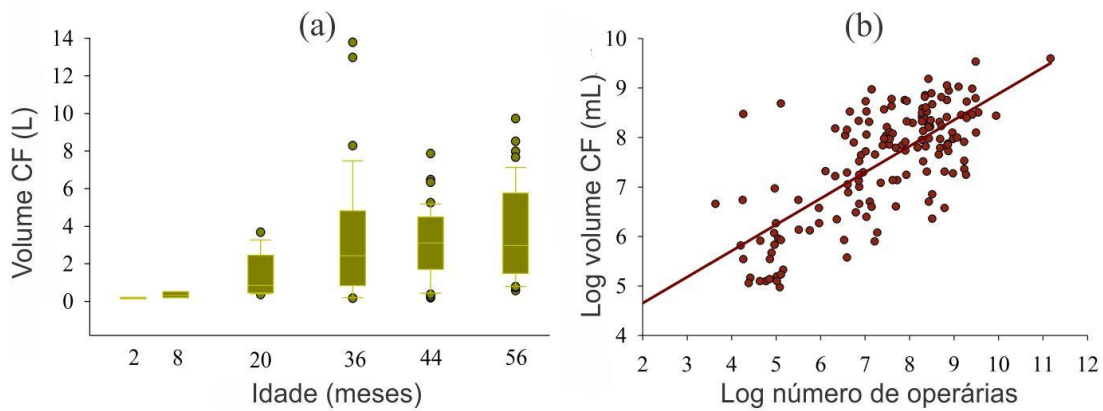


Figura 4. Volume de cada câmara de fungo ao longo da idade do ninho (a), e aumento no volume da câmara de fungo com aumento no número de operárias (b). As caixas representam entre 25 e 75% da câmara do volume, enquanto as barras representam entre 5 e 95%. $\text{Log } y = 3,59 + 0,52 \text{ log } x$, $R^2 = 0,52$, $p < 0,01$.

CAPÍTULO 3

Arquitetura Comparativa dos Ninhos e Parâmetros Utilizados no Controle de Formigas Cortadeiras de Gramíneas *Atta*

AP Farias¹, KKA Sousa¹, N Caldato¹, RS Camargo¹, LC Forti¹

¹ Depto de Proteção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Univ. Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

O manuscrito será submetido à revista Journal of Economic Entomology.

Resumo

As formigas *Atta bisphaerica* e *Atta capiguara* (Formicidae: Myrmicinae: Attini) compartilham o mesmo habitat e recursos de forragem para cultivo do fungo simbiote (cortadeiras de gramíneas). No entanto, *A. capiguara* escava as câmaras específicas para deposição de resíduos desde o primeiro ano e meio de idade, o que pode interferir também na área externa do ninho (um parâmetro utilizado para controle). Assim, foi realizada uma análise comparativa entre o crescimento da colônia e o desenvolvimento dos ninhos das duas espécies, para saber se a área externa dos ninhos da espécie que constrói as câmaras de resíduos, precocemente, é um parâmetro representativo do crescimento da colônia. As taxas de aumento da área externa, número de câmaras de fungo e profundidade dos ninhos em função da massa de operárias não diferiram entre as espécies. Por outro lado, a taxa de aumento do número de orifícios para *A. bisphaerica* foi maior do que para *A. capiguara*, enquanto o volume total das câmaras de fungo aumentou a uma taxa maior para *A. capiguara*. Portanto, esse estudo indica que o solo escavado para a construção das câmaras de resíduos não interfere significativamente na área externa dos ninhos de *A. capiguara*. Além disso, a área externa é o parâmetro que melhor representa a população da colônia, tanto para a espécie que investe precoce em câmaras de resíduos como aquela que investe posteriormente nessas câmaras.

Palavras-chave: *Atta bisphaerica*. *Atta capiguara*. Desenvolvimento dos ninhos. Formigas cortadeiras. Massa de operárias.

3.1 INTRODUÇÃO

A simbiose entre formigas e fungo cultivado a partir de folhas de diferentes plantas permitiu que as formigas cortadeiras, espécies de *Atta*, *Acromyrmex*, *Amoimyrmex* e *Pseudoatta* (Formicidae: Myrmicinae: Attini: Attina), se tornassem herbívoros com notável importância ecológica e econômica (MUELLER et al., 2018; SOSA-CALVO et al., 2018; CRISTIANO et al., 2020; BARRERA et al., 2021). No Brasil, as formigas cortadeiras são relatadas causando injúrias às plantas desde o período da colonização, com necessidade de métodos de controle, principalmente, com a intensificação da agricultura e cultivo de espécies que servem de substrato ideal para o crescimento do fungo simbiote (FORTI; BOARETTO, 1997).

De acordo com o material forrageado para o jardim de fungo simbiote, dicotiledôneas ou gramíneas, as formigas podem ser classificadas em formigas cortadeiras e formigas cortadeiras de gramíneas (FOWLER et al., 1987). As formigas *A. bisphaerica* e *A. capiguara* compartilham o mesmo habitat e recursos de forragem para cultivo do fungo simbiote, e são cortadeiras de gramíneas. Portanto, essas características são excelentes para análises comparativas sobre o crescimento da colônia e desenvolvimento dos ninhos entre as espécies.

As formigas cortadeiras em geral (*Atta*) são controladas principalmente utilizando iscas tóxicas, pela dificuldade em se aplicar o ingrediente ativo diretamente nas câmaras de fungo mais profundas por outros métodos de aplicação e custos com equipamentos e mão de obra (FORTI; BOARETTO, 1997; ZANETTI et al., 2014; VINHA et al., 2020). Assim, as operárias carregam as iscas e distribuem uniformemente dentro da colônia, o que promove a intoxicação de grande número de indivíduos e posteriormente a morte (CATALANI et al., 2019; FORTI et al., 2019). O controle localizado das colônias com as iscas utiliza a área externa dos ninhos, formada pelo agrupamento dos montes de terra solta, como um indicativo da população (biomassa de formigas) para estimativa da dosagem, método clássico de Mariconi (1970).

Estudos anteriores sobre a arquitetura dos ninhos das formigas cortadeiras de gramíneas revelaram que *A. capiguara* constrói câmaras especificamente para o manejo dos resíduos mais de 3 anos antes do que *A. bisphaerica* (FORTI et al., 2018; FARIAS et al., 2020). Além disso, as câmaras de resíduos de *A. capiguara* podem atingir volume de mais de 500 L e são agrupadas distantes das câmaras de

fungo (FORTI, 1985). O resíduo concentra espécies do fungo patogênico *Escovopsis* e a separação das câmaras de fungo evita a contaminação do jardim de fungo, o que interfere no crescimento da colônia e mortalidade das operárias (BOT et al., 2001; FORTI et al., 2017).

A área externa dos ninhos de *A. bisphaerica* é um parâmetro da arquitetura externa que aumenta em proporção semelhante ao aumento da população de operárias (FARIAS et al., 2020). No entanto, como *Atta capiguara* escava câmaras de resíduos desde o primeiro ano e meio de idade, surge a hipótese de que a área externa do ninho pode não ser um parâmetro bem representativo de crescimento da colônia. Assim, o objetivo do presente estudo é fazer uma análise comparativa entre o crescimento da colônia e o desenvolvimento dos ninhos de *A. bisphaerica* e *A. capiguara*, bem como testar a seguinte questão: a área externa dos ninhos de *A. capiguara* é um parâmetro representativo de crescimento da colônia?

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Área experimental

Esse estudo foi conduzido nas fazendas: Experimental Lageado (22°50'47"S; 48°26'01" W) e Santana (22°50'44"S; 48°26'12" W), localizadas em Botucatu, São Paulo, Brasil. As pastagens das fazendas foram formadas usando *Brachiaria* spp., com manchas de *Paspalum* spp., locais preferidos para nidificação das formigas cortadeiras de gramíneas.

3.2.2 Colônias e ninhos estudados

Ninhos de *A. capiguara* e *A. bisphaerica* foram mapeados desde a revoada de 2014, de acordo com Forti et al. (2018). Após 2-56 meses da fundação, os ninhos foram mensurados quanto aos parâmetros externos (número de orifícios e área externa) e identificados quanto a espécie. A área externa foi medida pela largura e comprimento da área formada por todos os montes de terra solta. Parte dos ninhos utilizados para este estudo compartilham dados com estudos de desenvolvimento da arquitetura e crescimento das colônias de formigas cortadeiras de gramíneas (FARIAS et al., 2020). No total, foram utilizados para este estudo 17 ninhos/colônias de *A. capiguara* e 13 de *A. bisphaerica*. Antes da escavação dos ninhos e coleta da população, foi aplicado talco em pó (Cromoline®), dos túneis em direção aos orifícios

principais e diretamente nos orifícios principais para melhorar a localização dos túneis no processo de escavação. Os ninhos foram escavados manualmente, através da abertura de trincheiras na região com o menor número de túneis e avançando em direção aos orifícios principais.

3.2.3 População e arquitetura do ninho

As operárias em associação com o jardim de fungo foram coletadas em recipientes plásticos com volume de 0,5 a 15 L, imediatamente após a abertura de cada câmara. Após a coleta, as câmaras de fungo foram medidas em largura, altura e distância à superfície, para obtenção do volume de cada câmara, volume total e profundidade do ninho. Ao longo da escavação, os túneis foram fechados para evitar a fuga de formigas.

A população de operárias coletada de cada câmara e ninho foi conservada em álcool 70% e uma parcela de 10% do volume coletado foi utilizada para a pesagem. As operárias foram separadas do jardim de fungo, secaram em temperatura ambiente para pesagem, e a massa total de cada ninho foi obtida por número extrapolado para 100% do volume. O volume de cada câmara de fungo foi estimado com base no volume do cilindro. No entanto, como as câmaras são arredondadas, um fator de correção foi usado para calcular o volume, $V = \pi r^2 (ch + r0,67)$ - em que 'r' é o raio da base da câmara, e 'ch' é a altura do cilindro, medida pela subtração a altura máxima da câmara a partir de seu raio, $ch = h - r$ (FORTI et al., 2017). O volume total das câmaras do fungo em cada idade foi obtido pela soma dos volumes de cada câmara.

3.2.4 Análises estatísticas

Análises de regressão linear das variáveis transformadas (log de base e de x) foram utilizadas para determinar o desenvolvimento da arquitetura dos ninhos de *A. bisphaerica* e *A. capiguara* com o crescimento das colônias em massa de operárias. As variáveis da arquitetura do ninho utilizadas para as análises bivariadas com a massa das operárias foram: orifícios de entrada do ninho, área externa, número de câmaras de fungo, volume total das câmaras de fungo e profundidade do ninho. Diferenças entre as espécies para cada escala bivariada foram identificados por meio dos intervalos de confiança. As dimensões das câmaras de fungo e a distância entre os orifícios dos ninhos para cada espécie e ao longo do tempo foram

submetidas a Anovas para medidas repetidas. Em cada tempo, comparações entre as espécies foram realizadas pelo teste t-Student. Todas as análises foram realizadas com o software Statistica versão 7.0 (STATSOFT INC 1984-2004).

3.3 RESULTADOS

Os ninhos de *A. bisphaerica* e *A. capiguara* com idade de 2 meses possuem apenas um orifício de entrada, área externa de 195-306 cm², câmara de fungo com 144-174 mL de volume e profundidade de 14-19,5 cm. Dos 2 aos 54-56 meses, o número de orifícios dos ninhos de *A. bisphaerica* aumentou de 1 para 132, número de câmaras de 1 para 104, área externa de 195 cm² a 42,1 m² e profundidade de 15,5 cm a 3,41 m. Nesse período para *A. capiguara*, o número de orifícios dos ninhos aumentou de 1 para 11, número de câmaras de 1 para 34, área externa de 272 cm² a 33,06 m² e profundidade de 14 cm a 3,10 m. As colônias de *A. bisphaerica* e *A. capiguara* com idade de 2 meses possuem apenas cerca de 0,18 e 0,22 g de operárias, respectivamente. Dos 2 aos 54-56 meses, a massa de operárias de *A. bisphaerica* aumentou para 803,14 g, enquanto para *A. capiguara* aumentou para 294,40 g.

As taxas de crescimento do número de orifícios e volume total das câmaras de fungo ao longo do aumento da população de operárias foram diferentes entre as espécies estudadas (Figuras 1 e 2; Tabela 1). O número de orifícios para *A. bisphaerica* aumenta a uma proporção maior do que para *A. capiguara* (Figura 1). Por outro lado, o volume total das câmaras de fungo aumentou a uma proporção maior para *A. capiguara*. As taxas de aumento da área externa (fator principal estudado), número de câmaras de fungo e profundidade dos ninhos não diferiram entre as espécies (Figuras 1 e 2, Tabela 1).

Os ninhos de *A. capiguara* próximos a maturidade (> 30 meses) possuem câmaras de fungo com maior variação de volume, câmaras com 130 mL a mais de 18 L. Por outro lado, o volume das câmaras dos ninhos de *A. bisphaerica* na faixa de idade similar variou de 170 mL a 14 L. Embora possa ser encontrado câmaras de fungo maiores para *A. capiguara*, a média de volume das câmaras dos 30 aos 54 meses é de 3,03 L. Além disso, o volume médio das câmaras em cada idade não diferiu entre as espécies (2 meses: $t = -1,581$, $P = 0,189$; 8 meses: $t = 0,863$, $P = 0,410$; 18-20 meses: $t = -1,016$, $P = 0,324$; 30-36 meses: $t = -1,301$, $P = 0,197$; 42-44 meses: $t = -0,361$, $P = 0,718$; 54-56 meses: $t = -0,360$, $P = 0,719$, $n = 3$) (Figura 3 a).

A distância entre os orifícios dos ninhos variou com a idade, com tendência de aumento para *A. capiguara* e decréscimo para *A. bisphaerica*. Inicialmente, o segundo orifício dos ninhos de *A. bisphaerica* e *A. capiguara* (20 meses de idade) foi construído a uma distância similar, 0,72 e 0,78 m ($t = 0,759$, $P = 0,465$, $n = 12$) (Figura 3b). Dos 30-36 aos 54-56 meses, os orifícios dos ninhos de *A. capiguara* estão localizados a uma distância maior do que para *A. bisphaerica* (Figura 3b, Figura 4). Além disso, vários orifícios de *A. bisphaerica* foram construídos entre os anteriores, o que reduziu a distância entre eles, padrão não observado para *A. capiguara* (Figura 5).

3.4 DISCUSSÃO

Os ninhos de *Atta* são resultantes do arranjo da população e do jardim de fungo no solo, local que fornece proteção, mantém em seu perfil condições ideais de crescimento para os organismos (formigas e fungo) e proximidade aos recursos de forragem (BOLLAZZI; KRONENBITTER; ROCES, 2008; CAMARGO; FORTI, 2014; RÖMER; ROCES, 2014; LOPES et al., 2016; FARIAS et al., 2020). Para *A. capiguara*, os resultados revelaram diferenças na taxa de crescimento dos ninhos em número de orifícios e volume total das câmaras de fungo quando comparada com *A. bisphaerica*.

A menor taxa de crescimento do número de orifícios para *A. capiguara* é associada a maior distância entre os orifícios. A maior distância entre os orifícios de *A. capiguara* quando comparada com *A. bisphaerica* em ninhos com mais de 20 meses de idade é atribuída ao agrupamento e separação das câmaras de resíduos das câmaras de fungo (FORTI et al., 2017). Assim, o centro aparente do ninho não corresponde ao local com maior número de câmaras de fungo, diferentemente de *A. bisphaerica* e outras espécies de *Atta* (AMANTE, 1967; MOREIRA et al., 2004). Além disso, foram encontrados túneis de forrageamento mais largos e a presença de um túnel principal interconectando uma região do ninho a outra, o que não compromete o tráfego das operárias (FORTI et al., 2017). Estudos anteriores também relatam esse padrão de construção dos túneis para *A. capiguara*, principalmente em ninhos com maior idade. No caso de *A. bisphaerica*, o maior número de orifícios está associado ao grande número de trilhas e alocação de recursos (LOPES et al., 2016), no entanto, pode favorecer o ataque de forídeos, com

várias espécies do parasitoide associadas aos seus ninhos (FARDER-GOMES et al., 2018).

A diferença na taxa de crescimento do volume total das câmaras de fungo entre as espécies é atribuída à proporção que cada câmara de *A. capiguara* representa no volume total. Embora a taxa de crescimento do número de câmaras de fungo não diferiu, a tendência de aumento do número de câmaras de fungo de *A. capiguara* é inferior a *A. bisphaerica*. Portanto, a adição de cada câmara para *A. capiguara* contribui para uma maior taxa de aumento do volume, mesmo que o volume total do ninho seja menor.

Embora os valores da área externa dos ninhos de *A. capiguara* em função da população de operárias sejam maiores, a taxa de aumento não diferiu quando comparada com *A. bisphaerica*. Portanto, a hipótese de que a espécie que escava câmaras de resíduos precocemente possui uma maior taxa de crescimento da área externa foi rejeitada. A maior distância entre os orifícios para *A. capiguara* parece contribuir significativamente para uma maior área externa. No entanto, foi encontrado com frequência um maior comprimento combinado com uma menor largura, o que contribui para a formação da área externa com formato de uma elipse e com área próxima aos ninhos de *A. bisphaerica* com formato mais próximo a uma circunferência. Nesse estudo, as colônias com 54-56 meses atingiram biomassa próxima a 1 kg e no caso de *A. bisphaerica* mais de 100 câmaras, porém, colônias mais velhas podem proporcionar maior biomassa e, conseqüentemente, construção de mais câmaras, bem como ampliação da área externa (MOREIRA et al., 2004).

Dentre os parâmetros externos dos ninhos das espécies avaliadas, a área externa cresce em proporção mais próxima da população ao contrário do número de orifícios. Assim, a área externa é o parâmetro mais adequado para estimativa da população (biomassa) da colônia. Esse resultado indica que o método clássico de Mariconi (1970) é a forma mais simples e eficaz para estimativa da biomassa de formigas cortadeiras de gramíneas.

A presença de câmaras de fungo com maior variação de volume para *A. capiguara* indica de que estas possivelmente serão ajustadas em tamanho. Estudos anteriores em ninhos de *A. capiguara* adultos mostram câmaras de fungo com mais de 20 L (FORTI et al., 2017). Além disso, o ajuste de câmaras para cultivo e reserva de grande volume do jardim de fungo pode compensar o menor investimento em número de câmaras, túneis e orifícios. A textura do solo com maior teor de argila

mantém o solo estruturado mesmo com a presença de câmaras com maior tamanho (JONKMAN, 1980).

3.5 CONCLUSÕES

Esse estudo demonstrou que a taxa de aumento da área externa dos ninhos de *A. capiguara* em função da massa de operárias não diferiu quando comparada com *A. bisphaerica*, o que indica que o solo escavado para a construção das câmaras de resíduos não interfere significativamente na área externa. Portanto, a área externa é o parâmetro da arquitetura externa dos ninhos das formigas cortadeiras de gramíneas que melhor representa a população da colônia tanto para a espécie que investe precoce em câmaras de resíduos como aquela que investe posteriormente nessas estruturas. Futuros estudos poderão ser conduzidos para a comparação da taxa de aumento da área externa entre as espécies que cortam espécies dicotiledôneas como *A. sexdens*.

Agradecimentos

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil (CAPES), Código Financeiro 001. Luiz Carlos Forti obteve recursos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Bolsa 301718 / 2013-0).

Contribuições dos autores

Conceituação, A.P.F., R.S.C., N.C. and L.C.F.; investigação, A.P.F. e K.K.A.S; análises, A.P.F.; curadoria de dados, A.P.F; escrita - rascunho original e preparação, A.P.F.; redação - revisão e edição, A.P.F.; supervisão, N.C. e R.S.C.; Obtenção de recursos, L.C.F. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Referências

AMANTE, E. A formiga saúva *Atta capiguara*, praga das pastagens. **O Biológico**, v. 33, p. 113–120, 1967.

BARRERA, C. A. et al. Phylogenomic reconstruction reveals new insights into the evolution and biogeography of *Atta* leaf-cutting ants (Hymenoptera):

Formicidae). **Systematic Entomology**, 2021.

BOLLAZZI, M.; KRONENBITTER, J.; ROCES, F. Soil temperature, digging behaviour, and the adaptive value of nest depth in South American species of *Acromyrmex* leaf-cutting ants. **Oecologia**, v. 158, n. 1, p. 165–175, 2008.

BOT, A. N. M. et al. Waste management in leaf-cutting ants. **Ethology Ecology & Evolution**, v. 13, p. 225–237, 2001.

CAMARGO, R. S.; FORTI, L. C. What is the stimulus for the excavation of fungus chamber in leaf-cutting ants? **Acta Ethologica**, v. 18, n. 1, p. 31–35, 2014.

CATALANI, G. C. et al. Chemical control of leaf-cutting ants: how do workers disperse toxic bait fragments onto fungus garden? **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 63, n. 4, p. 290–295, 2019.

CRISTIANO, M. P. et al. *Amoimyrmex* Cristiano, Cardoso & Sandoval, gen. nov. (Hymenoptera: Formicidae): a new genus of leaf-cutting ants revealed by multilocus molecular phylogenetic and morphological analyses. **Austral Entomology**, v. 59, n. 4, p. 643–676, 2020.

FARDER-GOMES, C. F. et al. Parasitism, sexual dimorphism and effect of host size on *Apocephalus attophilus* offspring, a parasitoid of the leaf-cutting ant *Atta bisphaerica*. **PLOS ONE**, v. 13, n. 12, p. e0208253, 2018.

FARIAS, A. P. et al. Nest architecture and colony growth of *Atta bisphaerica* grass-cutting ants. **Insects**, v. 11, n. 11, p. 1–10, 2020.

FORTI, L.; BOARETTO, M. **Formigas cortadeiras: biologia, ecologia, danos e controle**. Botucatu: Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Estadual Paulista, 61p, 1997.

FORTI, L. C. **Ecologia da saúva *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera, Formicidae) em pastagem**. Piracicaba, Brasil. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”-USP, 1985.

FORTI, L. C. et al. Discovering the giant nest architecture of grass-cutting ants, *Atta capiguara* (Hymenoptera, Formicidae). **Insects**, v. 8, n. 2, p. 39, 2017.

FORTI, L. C. et al. Nest architecture development of grass-cutting ants. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, n. 1, p. 46–50, 2018.

FORTI, L. C. et al. Contamination route of leaf-cutting worker ants analyzed through a fat-soluble tracer dye in toxic bait. **Neotropical Entomology**, v. 48, n. 2, p. 349–355, 2019.

FOWLER, H. G. et al. Economics of grass-cutting ants. In: LOFGEN, C. S.; VANDER MEER, R. K. (p. 18-35). **Fire ants and leafcutting ants: Biology and management**. Boulder, 1987.

JONKMAN, J. C. The external and internal structure and growth of nests of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri* Forel, 1893 (Hym.: Formicidae). **Zeitschrift für**

Angewandte Entomologie, v. 89, p. 217–246, 1980.

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, n. 1, p. e0146613, 2016.

MARICONI, F. A. M. **As saúvas**. São Paulo: Ceres, 1970.

MOREIRA, A. A. et al. External and internal structure of *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae) nests. **Journal of Applied Entomology**, v. 128, n. 3, p. 204–211, 2004.

MUELLER, U. G. et al. Phylogenetic patterns of ant-fungus associations indicate that farming strategies, not only a superior fungal cultivar, explain the ecological success of leafcutter ants. **Molecular Ecology**, v. 27, n. 10, p. 2414–2434, 2018.

RÖMER, D.; ROCES, F. Nest enlargement in leaf-cutting ants: relocated brood and fungus trigger the excavation of new chambers. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, p. e97872, 2014.

SOSA-CALVO, J. et al. Evolution, systematics, and natural history of a new genus of cryptobiotic fungus-growing ants. **Systematic Entomology**, v. 43, n. 3, p. 549-567, 2018.

STATSOFT, I. N. C. **Statistica for windows (Software-System for Data-analyses) Version 7.0**. Tulsa, USA. 1984-2004.

VINHA, G. L. et al. Leaf-cutting ants in commercial forest plantations of Brazil: biological aspects and control methods. **Southern Forests: a Journal of Forest Science**, v. 82, n. 2, p. 95-103, 2020.

ZANETTI, R. et al. An overview of integrated management of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in brazilian forest plantations. **Forests**, v. 5, n. 3, p. 439–454, 2014.

Tabela 1 – Sumário das relações entre os parâmetros dos ninhos com o número de operárias de *Atta bisphaerica* e *Atta capiguara*. F-teste; R² = coeficiente de determinação

Relações	Espécie	Modelos	F_(1,17;1,13)	P-Valor	R²
Massa Operárias (MO) vs. Área externa	<i>A. capiguara</i>	$\log y = -2,77 + 1,01\log x$	112,57	<0,001	0,89
	<i>A. bisphaerica</i>	$\log y = -1,91 + 1,00\log x$	218,11	<0,001	0,90
MO vs. Orifícios de entrada	<i>A. capiguara</i>	$\log y = 0,31 + 0,36\log x$	124,11	<0,001	0,88
	<i>A. bisphaerica</i>	$\log y = 0,43 + 0,53\log x$	83,47	<0,001	0,87
MO vs. número CF	<i>A. capiguara</i>	$\log y = 0,38 + 0,48\log x$	82,34	<0,001	0,83
	<i>A. bisphaerica</i>	$\log y = 0,61 + 0,51\log x$	216,87	<0,001	0,94
MO vs. Volume Total CF	<i>A. capiguara</i>	$\log y = -0,24 + 1,15\log x$	155,35	<0,001	0,92
	<i>A. bisphaerica</i>	$\log y = -1,14 + 0,89\log x$	158,32	<0,001	0,90
MO vs. Profundidade	<i>A. capiguara</i>	$\log y = 4,13 + 0,36\log x$	37,47	<0,001	0,73
	<i>A. bisphaerica</i>	$\log y = 3,91 + 0,40\log x$	57,89	<0,001	0,77

Figura 1 – Relações do número de operárias de *Atta bisphaerica* e *Atta capiguara* com parâmetros externos dos ninhos, (a) área externa e (b) número de orifícios. As curvas e 95% dos seus intervalos de confiança indicam diferenças

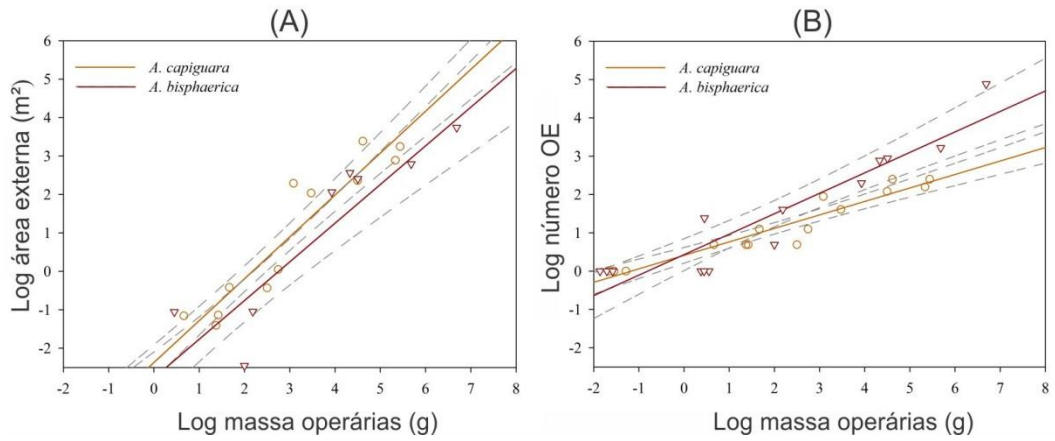


Figura 2 – Relações do número de operárias de *Atta bisphaerica* e *Atta capiguara* com parâmetros internos dos ninhos, (a) número de câmaras, (b) volume total das câmaras de fungo e (c) profundidade. As curvas e 95% dos seus intervalos de confiança indicam diferença

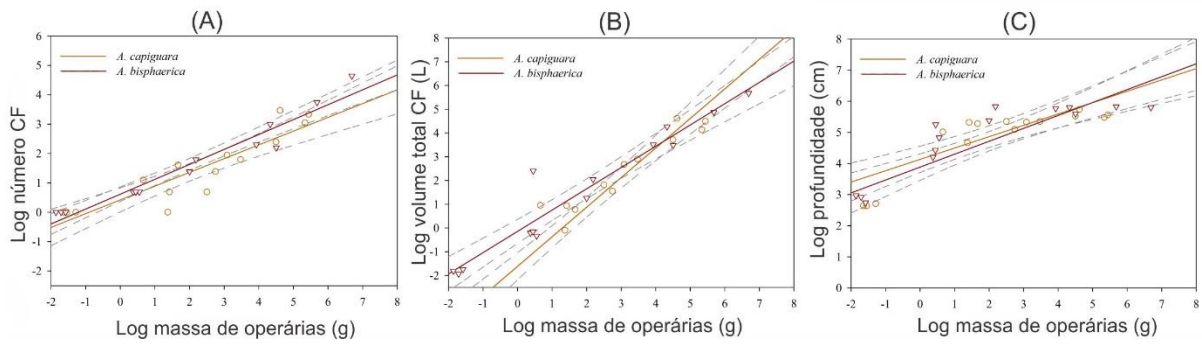


Figura 3 – Volume das câmaras de fungo (a) e distância entre os orifícios de entrada (b) entre as espécies de *Atta*. Boxes representam entre 25 e 75% das variáveis, enquanto as barras representam entre 5 e 95%. Asterísco indica diferença significativa pelo teste t-Student ($P < 0,05$)

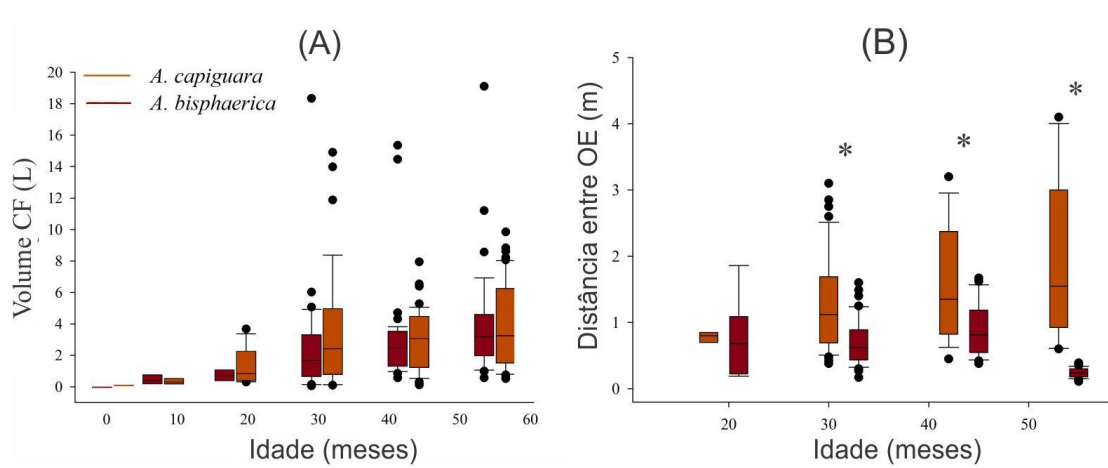


Figura 4. Área externa de ninhos com cerca de 30 meses de idade: (a) *Atta bisphaerica*, comprimento 2,9 m; (b) *Atta capiguara*, comprimento 2,8 m

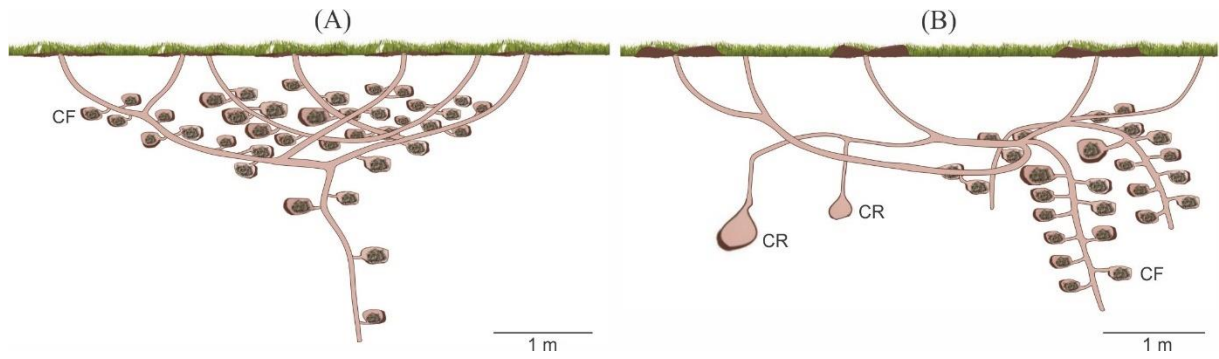
(A)



(B)



Figura 5 – Arquitetura comparativa entre os ninhos de *Atta bisphaerica* (a) e *Atta capiguara* (b). Ninhos com cerca de 50 meses de idade; CF – câmara de fungo; CR – câmara de resíduo



CONSIDERAÇÕES FINAIS

As formigas cortadeiras utilizam os recursos de forragem para cultivo do fungo simbiote e por isso, várias espécies se tornaram pragas de importância agrícola. Nos ninhos, o fungo é cultivado em câmaras, as quais variam em dimensões, quantidade e profundidade no solo, de acordo com a espécie e habitat. Além disso, os ninhos protegem as formigas contra fatores bióticos e abióticos. Para armazenar e ter grande quantidade de alimento (jardim de fungo) visando a formação de alados para reprodução e dispersão, a colônia deve aumentar a população de operárias para realizar as atividades e ajustar constantemente o ninho, em câmaras, túneis e orifícios.

As formigas cortadeiras de gramíneas *A. bisphaerica* e *A. capiguara* estão entre as cinco formigas cortadeiras de maior importância agrícola no Brasil. Este estudo revela que o crescimento estrutural dos ninhos de *A. capiguara* no primeiro ano e meio de idade é em profundidade. Posteriormente, os ninhos crescem lateralmente pela adição de câmaras de fungo e túneis, e são encontradas as primeiras câmaras de resíduos. O volume total das câmaras de resíduos é proporcional ao volume total das câmaras de fungo adequadas para a colônia. Além disso, as câmaras de fungo estão concentradas na sub-superfície do solo, embora possam ser encontradas a mais de 3 m de profundidade. Essas informações também contribuem para o estabelecimento do método ideal de controle das formigas cortadeiras.

Para *A. bisphaerica*, este estudo revelou que o desenvolvimento dos ninhos em estrutura é isométrico, de acordo com o número de operárias, com aumento do volume total das câmaras em taxa semelhante ao aumento do número de operárias. Esses resultados indicam o jardim de fungo como um dos principais fatores para as dimensões maiores dos ninhos de *Atta*.

Além disso, o presente estudo indica que a taxa de aumento da área externa dos ninhos de *A. capiguara* em função do número de operárias não diferiu quando comparada com *A. bisphaerica*. Portanto, a área externa é o parâmetro da arquitetura externa dos ninhos das formigas cortadeiras de gramíneas que melhor representa a população da colônia, tanto para a espécie que investe precoce em câmaras de resíduos como aquela que investe posteriormente nessas estruturas.

Os resultados contribuem para o melhor entendimento da arquitetura, biometria e bioecologia das espécies de *Atta* cortadeiras de gramíneas. Além disso, futuros estudos com o crescimento da população e arquitetura dos ninhos poderão ser conduzidos para espécies de *Atta* que utilizam dicotiledôneas, bem como análises comparativas entre espécies.

REFERÊNCIAS

- AMANTE, E. A formiga saúva *Atta capiguara*, praga das pastagens. **O Biológico**, v. 33, p. 113–120, 1967.
- AUTUORI, M. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp. – Hymenoptera: Formicidae). I – Evolução do sauveiro (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 12, p. 197–228, 1941.
- AUTUORI, M. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp.–Hymenoptera–Formicidae) V—Número de formas aladas e redução dos sauveiros iniciais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 19, p. 325–331, 1950.
- BACCARO, F. B. et al. Guia para os gêneros de formigas do Brasil. **Manaus: Editora INPA**, v. 388, 2015.
- BARRERA, C. A. et al. Phylogenomic reconstruction reveals new insights into the evolution and biogeography of *Atta* leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae). **Systematic Entomology**, 2021.
- BASS, M.; CHERRETT, J. M. The role of leaf-cutting ant workers (Hymenoptera: Formicidae) in fungus garden maintenance. **Ecological Entomology**, v. 19, n. 3, p. 215–220, 1994.
- BOLLAZZI, M.; FORTI, L. C.; ROCES, F. Ventilation of the giant nests of *Atta* leaf-cutting ants: does underground circulating air enter the fungus chambers? **Insectes Sociaux**, v. 59, n. 4, p. 487–498, 2012.
- BRANSTETTER, M. G. et al. Dry habitats were crucibles of domestication in the evolution of agriculture in ants. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 284, n. 1852, p. 20170095, 2017.
- BRITTO, J. S. et al. Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. **International Journal of Research Environmental Studies**, v. 3, p. 11–92, 2016.
- CAMARGO, R. S.; FORTI, L. C. What is the stimulus for the excavation of fungus chamber in leaf-cutting ants? **Acta Ethologica**, v. 18, n. 1, p. 31–35, 2014.
- CARDOSO, S. et al. First-year nest growth in the leaf-cutting ants *Atta bisphaerica* and *Atta sexdens rubropilosa*. **Sociobiology**, v. 61, n. 3, p. 243–249, 2014.
- CERQUERA, L. M.; TSCHINKEL, W. R. The nest architecture of the ant *Odontomachus brunneus*. **Journal of Insect Science**, v. 10, n. 64, p. 1–12, 2010.
- CRISTIANO, M. P. et al. *Amoimyrmex* Cristiano, Cardoso & Sandoval, gen. nov. (Hymenoptera: Formicidae): a new genus of leaf-cutting ants revealed by multilocus molecular phylogenetic and morphological analyses. **Austral Entomology**, v. 59, n. 4, p. 643–676, 2020.

- CURRIE, C. R. et al. Ancient tripartite coevolution in the attine ant-microbe symbiosis. **Science**, v. 299, n. 5605, p. 386–388, 2003.
- DELLA-LÚCIA, T. M. C. **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: Editora UFV, 2011.
- FORTI, L. C.; BOARETTO, M. A. C. **Formigas cortadeiras: biologia, ecologia, danos e controle**. Botucatu: 61 p. 1997.
- FORTI, L. C. et al. Discovering the giant nest architecture of grass-cutting ants, *Atta capiguara* (Hymenoptera, Formicidae). **Insects**, v. 8, n. 2, p. 39, 2017.
- FORTI, L. C. et al. Nest architecture development of grass-cutting ants. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, n. 1, p. 46–50, 2018.
- FORTI, L. C. et al. Occurrence of leaf-cutting and grass-cutting ants of the genus *Atta* (Hymenoptera: Formicidae) in geographic regions of Brazil. **Sociobiology**, v. 67, n. 4, p. 514-525, 2020.
- FOWLER, H. G. et al. Economics of grass-cutting ants. In: LOFGEN, C. S.; VANDER MEER, R. K. (p. 18-35). **Fire ants and leafcutting ants: Biology and management**. Boulder, 1987.
- FOWLER, H. G.; DELLA LUCIA, T.M.C. MOREIRA, D. D. O. Posição taxonômica das formigas cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. (p. 4-30). **As formigas cortadeiras**. Viçosa, Editora Folha de Viçosa, 1993.
- FOWLER, H. G.; SILVA, V. P.; SAES, N. B. Population dynamics of leaf-cutting ants: a brief review. In: LOFGREN, C. S.; VANDER MEER, R. K. (p. 123–145). **Fire ants and leafcutting ants: Biology and management**. Colorado: West-View Press, 1986.
- FUJIHARA, R. T.; CAMARGO, R. da S.; FORTI, L. C. Lipid and energy contents in the bodies of queens of *Atta sexdens rubropilosa* forel (Hymenoptera, formicidae): Pre-and post-nuptial flight. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 56, n. 1, p. 73–75, 2012.
- HALLEY, J. D.; BURD, M.; WELLS, P. Excavation and architecture of Argentine ant nests. **Insectes Sociaux**, v. 52, n. 4, p. 350–356, 2005.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. **The ants**. Harvard University Press, 1990.
- HOUSTON, A.; SCHMID-HEMPEL, P.; KACELNIK, A. Foraging strategy, worker mortality, and the growth of the colony in social insects. **American Naturalist**, v. 131, n. 1, p. 107–114, 1988.
- JACOBY, M. A arquitetura do ninho. In: JACOBY, M. (p. 21–31). **A. saúva: uma inteligência nociva**. 2. ed. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola 3, 1950.
- 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, n. 1, p. e0146613, 2016.

MARICONI, F. A. M. **As saúvas**. São Paulo: Ceres, 1970.

MARICONI, F. A. M.; ZAMITH, A. P. L.; CASTRO, U. P. Contribuição para o conhecimento da saúva parda; *Atta capiguara* Gonçalves, 1944. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 18, n. 0, p. 301–312, 1961.

MIKHEYEV, A. S.; TSCHINKEL, W. R. Nest architecture of the ant *Formica pallidefulva*: structure, costs and rules of excavation. **Insectes Sociaux**, v. 51, n. 1, p. 30–36, 2004.

MOREIRA, A. et al. Nest architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 39, n. 2, p. 109–116, 2004a.

MOREIRA, A. A. et al. External and internal structure of *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae) nests. **Journal of Applied Entomology**, v. 128, n. 3, p. 204–211, 2004b.

MUELLER, U. G. et al. Phylogenetic patterns of ant-fungus associations indicate that farming strategies, not only a superior fungal cultivar, explain the ecological success of leafcutter ants. **Molecular Ecology**, v. 27, n. 10, p. 2414–2434, 2018.

RASSE, P.; DENEUBOURG, J. L. Dynamics of nest excavation and nest size regulation of *Lasius niger* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Insect Behavior**, v. 14, n. 4, p. 433–449, 2001.

RÖMER, D.; ROCES, F. Nest enlargement in leaf-cutting ants: relocated brood and fungus trigger the excavation of new chambers. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, p. e97872, 2014.

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, n. 4, p. 401–413, 2015.

SCHULTZ, T. R.; BRADY, S. G. Major evolutionary transitions in ant agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 14, p. 5435–5440, 2008.

SEAL, J. N. Scaling of body weight and fat content in fungus-gardening ant queens: Does this explain why leaf-cutting ants found claustrally? **Insectes Sociaux**, v. 56, n. 2, p. 135–141, 2009.

SOSA-CALVO, J. et al. Evolution, systematics, and natural history of a new genus of cryptobiotic fungus-growing ants. **Systematic Entomology**, v. 43, n. 3, p. 549–567, 2018.

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**. Blackwell Publishing Ltd, 2019.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. **Estudo dos insetos**. São Paulo: Cengage Learning, v. 7, 2011.

TSCHINKEL, W. R. The nest architecture of the Florida harvester ant, *Pogonomyrmex badius*. **Journal of insect science**, v. 4, p. 21, 2004.