

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**INTERFERÊNCIA DOS FATORES FÍSICOS, QUÍMICOS E DO
DESENVOLVIMENTO DO FUNGO SIMBIONTE DE *Atta sexdens
rubropilosa* FOREL, 1908 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) NA
SELEÇÃO DE SUBSTRATOS E LOCALIZAÇÃO DA DESFOLHA.**

NEWTON CAVALCANTI DE NORONHA JUNIOR

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU – SP
Fevereiro - 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

INTERFERÊNCIA DOS FATORES FÍSICOS, QUÍMICOS E DO
DESENVOLVIMENTO DO FUNGO SIMBIONTE DE *Atta sexdens*
rubropilosa FOREL, 1908 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) NA SELEÇÃO
DE SUBSTRATOS E LOCALIZAÇÃO DA DESFOLHA.

NEWTON CAVALCANTI DE NORONHA JUNIOR

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Forti

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu,
para obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Proteção de Plantas).

BOTUCATU – SP
Fevereiro – 2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E
TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO
UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

N852i Noronha Junior, Newton Cavalcanti, 1980-
Interferência dos fatores físicos, químicos e do desenvolvimento do fungo simbiote de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) na seleção de substratos e localização da desfolha / Newton Cavalcanti Noronha Junior. - Botucatu, [s.n.], 2006.
vii, 70 f. : il. color., gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2006
Orientador: Luiz Carlos Forti
Inclui bibliografia

1. Saúva (Formiga). 2. Plantas - Seleção. 3. Saúva (Formiga) - Comportamento. 4. *Leucoagaricus gongylophorus*. 5. Desfolha. I. Forti, Luiz Carlos. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: INTERFERÊNCIA DOS FATORES FÍSICOS, QUÍMICOS E DO DESENVOLVIMENTO DO FUNGO SIMBIONTE DE *Atta sexdens rubropilosa* FOREL, 1908 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) NA SELEÇÃO DE SUBSTRATOS E LOCALIZAÇÃO DA DESFOLHA.

ALUNO: NEWTON CAVALCANTI DE NORONHA JUNIOR

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ CARLOS FORTI

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. LUIZ CARLOS FORTI



PROF. DR. ODAIR CORREA BUENO



PROF. DR. IVONE PASCHOAL GARCIA

Data da Realização: 10 de fevereiro de 2006.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Luiz Carlos Forti, pelos ensinamentos em Entomologia, pela orientação, boas idéias, companheirismo e amizade.

Aos colegas de laboratório: Vânia M. Ramos, Roberto S. Camargo, Sandra Verza da Silva, Aline Silva, Ana Paula Protti Andrade, Marise G. Garcia, Nilson S. Nagamoto e Alexandre pela colaboração profissional e amizade.

Aos funcionários: Ailton França (preto) e José Carlos dos Santos “*in memorian*”, pelo auxílio nas atividades de campo e momentos de distração.

À minha namorada Gisleine F. França, pela constante contribuição no desenvolvimento do trabalho, paciência, dedicação, amizade e por tudo que foi vivido e que ainda será.

À minha irmãzinha Isis F. C. de Noronha, por todas as brincadeiras e alegria.

Aos meus pais: Newton C. de Noronha e Maria do Carmo F. C. de Noronha, pelo incentivo, participação integral nas minhas dificuldades e sucessos, e pelos exemplos que são para mim.

À minha avó Aurora C. de Noronha “*in memorian*”, por ter me ensinado na prática, que vale a pena viver e ser feliz.

SUMÁRIO

	Página
1. RESUMO.....	01
2. SUMMARY.....	03
3. INTRODUÇÃO.....	05
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	07
4.1. As formigas cortadeiras.....	07
4.2. Considerações gerais sobre <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	08
4.3. Forrageamento.....	09
4.4. Seleção de plantas.....	09
4.5. As formigas cortadeiras e o fungo simbiote.....	14
4.6. Papel do fungo na seleção de plantas.....	15
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
5.1. Áreas dos estudos.....	18
5.2. Identificação das plantas.....	18
5.3. Montagem e manutenção das colônias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> em laboratório.....	19
5.4. Aceitação das plantas de mata secundária pelas operárias através da resistência mecânica ao corte e palatabilidade das folhas.....	19
5.5. Papel do fungo na seleção de plantas por <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	21
5.5.1. Isolamento, repicagem e manutenção do fungo simbiote de <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	21
5.5.2. Ensaios de atratividade.....	22
5.5.3. Preparação dos extratos aquosos de folhas e do meio de cultura.....	23
5.5.4. Inoculação do fungo nos meios acrescidos com extratos vegetais.....	24

5.5.5. Manutenção e avaliação do crescimento das culturas fúngicas.....	25
5.6. Influência dos estímulos físicos e químicos do substrato no corte por <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	26
5.7. Influência da dureza e idade das folhas na preferência por <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	27
5.8. Localização da desfolha em plantas artificiais.....	28
5. 8. 1. Desfolha em plantas artificiais contendo folhas de <i>Ligustrum</i> sp.....	28
5. 8. 2. Desfolha em plantas artificiais contendo folhas de plantas da mata.....	29
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
6.1. Aceitação das plantas de mata secundária pelas operárias através da resistência mecânica ao corte e palatabilidade das folhas.....	32
6.1.1. Aceitação das folhas de <i>Actinostemom communis</i> pelas operárias.....	33
6.1.2. Aceitação das folhas de <i>Alchornea triplinervia</i> pelas operárias.....	34
6.1.3. Aceitação das folhas de <i>Croton floribundus</i> pelas operárias.....	35
6.1.4. Aceitação das folhas de <i>Faramea cyanea</i> pelas operárias.....	36
6.1.5. Avaliação geral das plantas da mata quanto à palatabilidade e resistência mecânica ao corte.....	37
6.2. Papel do fungo na seleção de plantas por <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	40
6.2.1. Cultivo e manutenção do fungo simbiote de <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	40
6.2.2. Ensaios de atratividade das folhas às operárias.....	41
6.2.3. Preparação dos extratos aquosos de folhas e do meio de cultura.....	43

6.2.4. Desenvolvimento do fungo nos extratos aquosos das plantas mais aceitas pelas operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	44
6.3. Influência dos estímulos físicos e químicos do substrato no corte por <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	48
6.4. Influência da dureza e idade das folhas na preferência por <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	50
6.5. Localização da desfolha em plantas artificiais.....	53
6.5.1. Desfolha em plantas artificiais contendo folhas de <i>Ligustrum</i> sp.....	53
6.5.2. Desfolha em plantas artificiais contendo folhas de plantas da mata.....	55
6.5.3. Aspectos gerais da localização da desfolha em plantas artificiais.....	56
7. CONCLUSÕES.....	58
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

1. RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi buscar uma melhor compreensão da interação entre planta-formiga-fungo simbiote, através do estudo do comportamento forrageiro das operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 durante a seleção de plantas. Os aspectos abordados foram os fatores físicos e químicos do substrato, que podem atuar na seleção dos materiais forrageados para o cultivo do fungo simbiote, além da localização de desfolha em plantas artificiais. A hipótese testada foi que além das características químicas, os estímulos físicos e localização das folhas numa planta têm grande importância na seleção de substratos por operárias de *A. sexdens rubropilosa*. Para tanto, utilizou-se material com diferentes características: folhas de diferentes espécies vegetais, folhas de papel com diferentes gramaturas recortadas em diferentes formatos e impregnadas com extratos de plantas e plantas artificiais. O intuito foi verificar a existência de estímulos físicos e químicos do material forrageado em função da resistência física, palatabilidade das folhas e localização de desfolha. As plantas de mata secundária, *Alchornea triplinervea*, *Faramea cyanea*, *Croton floribundus*, *Actinostemon communis* foram oferecidas para as operárias e avaliadas quanto à resistência mecânica ao corte e palatabilidade. Cada planta foi oferecida individualmente nos formatos de discos grandes (2,5cm de diâmetro), discos pequenos (0,5cm de diâmetro) e folhas inteiras. Outros estudos foram realizados para a detecção de estímulos físicos e químicos, através de cortes simulados e impregnação de extratos de plantas em folhas de papel com diferentes espessuras. Deste modo foi possível avaliar as combinações entre

características físicas e químicas do substrato. A localização da desfolha nas plantas foi estudada através do oferecimento de plantas artificiais em quatro patamares, nos quais foram presas folhas da mata secundária ou folhas de *Ligustrum* sp.. A intensidade de desfolha foi medida pelo número de folhas derrubadas pelas formigas. Para estudar a atratividade das plantas da mata, discos pequenos de folhas (0,5cm de diâmetro) foram oferecidos ao mesmo tempo para as formigas em laboratório. O término dos experimentos foi marcado pelo carregamento de todos os discos de uma espécie ou de um dos tratamentos. As mesmas plantas utilizadas nos estudos de atratividade originaram os extratos vegetais, nos quais o fungo foi cultivado. Os resultados permitiram verificar que substratos quimicamente atrativos adicionados de estímulos físicos, como recortes nos bordos das folhas, estimularam o corte pelas formigas. A desfolha no ápice das plantas artificiais foi mais intensa. Deste modo, a existência de estímulos físicos ao corte e exploração acentuada pelas operárias em determinadas regiões das plantas foram demonstrados. Não houve nítida preferência entre plantas da mata, nem correlação destas com o desenvolvimento do fungo simbiote. Por outro lado, estímulos físicos tiveram importante influência no comportamento forrageiro de *A. sexdens rubropilosa*, e as operárias foram estimuladas em primeira instância a cortar folhas da região apical das plantas. Os resultados demonstram a importância dos fatores físicos e da localização das folhas nas plantas para o forrageamento de *A. sexdens rubropilosa* além de confirmar o comportamento forrageiro polífago das formigas cortadeiras.

Palavras-chave: *Atta sexdens rubropilosa*, seleção de plantas, comportamento, desfolha, *Leucoagaricus gongylophorus*.

INTERFERENCE OF PHYSICOCHEMICAL FACTORS AND GROWTH OF SYMBIONT FUNGUS OF *Atta sexdens rubropilosa* FOREL, 1908 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE), IN SELECTION OF SUBSTRATES AND DEFOLIATE LOCALIZATION. Botucatu, 2006, 70p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: NEWTON CAVALCANTI DE NORONHA JR

Advisor: LUIZ CARLOS FORTI

2. SUMMARY

The objective of this paper was to have a better understanding of plant-ant-symbiotic fungus interaction focusing on foraging behavior of *Atta sexdens rubropilosa* workers during plant selection. Physical and chemical substrate factors were approached which can have a role on foraging material selection for symbiotic fungus cultivation besides defoliating localization in artificial plants. Tested hypothesis was that besides chemical characteristics physical stimulus and leaves localization in a plant also play a very important role in substrate selection by *A. sexdens rubropilosa* workers. Different shape and thickness material was used (different leaves, paper leaves with different shapes and thickness impregnated in plant extract and artificial plants). The aim was to verify the existence of physical and chemical resistance, leaf palatability and defoliating localization. Wood plants *Actinostemon communis*, *Alchornea triplinervea*, *Croton floribundus*, *Faramea cyanea*, were offered to workers and evaluated

according to mechanical resistance of cut and palatability. Each plant was offered individually in big disc shape (2,5cm diameter), small disc shape (0,5cm diameter) and whole leaves. Other studies were carried out for detecting physical and chemical stimulus through simulated cuts and impregnation of plant extract in paper leaves with different thickness making it possible to evaluate the combinations between physical and chemical substrate characteristics. Defoliating localization in plants was studied when offering artificial plants with four levels where either wood plant or *Ligustrum* sp. leaves was attached. Defoliating intensity was measured by the number of fallen leaves by ants. In order to study wood plant attractiveness small disc shaped leaves (0,5cm diameter) were offered at the same time for ants in laboratory. The end of the experiment was determined either by the carrying out of all disc shapes leaves in one species or in one of the treatments. The same plant used for the attractiveness study originated vegetal extracts where fungus was cultivated. Results showed that chemically attractive substrate as well as physical stimulus such as edge leaf cut stimulated leaf cutting. Defoliating at plant top was more intense. Wood plant attractiveness had no correlation to fungus growth. So the presence of physical stimulus in leaf-cutting as well as in high exploration by workers occurred in specific parts of the plant were shown. It was concluded that there was no preference among wood plants and neither a correlation with symbiotic fungus growth. Otherwise physical stimulus had great influence on foraging behavior of *A. sexdens rubropilosa* and workers were firstly stimulated to cut the leaves at top part of the plants. Results showed the importance of physical factors and leaf localization in foraging plants of *A.sexdens rubropilosa* as well as confirmed polyphagic foraging behavior of leaf-cutting ants.

Key words: *Atta sexdens rubropilosa*, plant selection, behavior, defoliating, *Leucoagaricus gongylophorus*.

3. INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras utilizam diversas fontes alimentares para a composição de sua dieta. A energia exigida pelas operárias adultas para a execução das tarefas, provém principalmente da seiva das plantas (Littleddyke & Cherrett, 1976; Bass & Cherrett, 1995; Forti & Andrade, 1999), do fungo simbiote (Weber, 1972; Quinlan & Cherrett, 1979; Silva et al., 2003) e da trofalaxia proctodeal com as larvas na colônia (Schneider et al., 2000).

A complexa estrutura alimentar está embasada na coleta de plantas, utilizadas como substrato para o cultivo do fungo simbiote (Weber, 1972; Wilson, 1980, 1983; Andrade et al., 2002). Para tanto, uma grande quantidade de espécies vegetais é coletada seletivamente em seu habitat (Hölldobler & Wilson, 1990). Tal variabilidade proporciona ao fungo simbiote uma composição adequada de nutrientes para o seu crescimento (Powell & Stradling, 1991).

O fungo cultivado fornece à colônia um complemento nutricional, sendo que mais de 50% de seu peso seco é disponibilizado sob forma solúvel. O peso seco do fungo de *A.colombica tonsipes* é constituído por 27% de carboidratos; 4,7% de aminoácidos livres; 13% de aminoácidos destinados à síntese protéica e 0,2% de lipídeos. Os carboidratos encontrados foram a trealose, manitol, arabinitol e glucose; enquanto que os lipídeos foram constituídos em maior parte por ergosterol (Martin et al., 1969). O desenvolvimento larval depende exclusivamente do consumo do fungo cultivado como alimento (Weber, 1972;

Quinlan & Cherrett, 1979; Hölldobler & Wilson, 1990), providenciando uma rica e completa dieta para as larvas. Apesar desta interação entre planta-formiga-fungo simbiote otimizar benefícios recíprocos, alguns fatores como a diversidade e qualidade das espécies vegetais podem reduzir a eficiência do mutualismo, através de efeitos deletérios ao fungo ou às formigas e/ou na redução da quantidade de alimento na colônia.

Embora, algumas plantas possam conter substâncias deletérias ao fungo ou às formigas (Bueno et al., 1995; Boaretto et al., 2000; Hebling et al., 2000), esta simbiose possibilitou o desenvolvimento de um sofisticado sistema de comunicação (Ridley et al., 1996; North et al., 1999). As operárias são capazes de detectar substâncias deletérias ao fungo através da produção de um provável alomônio que atua como um reforço negativo a elas (Ridley et al., 1996). Uma vez que a colônia tenha recebido tal efeito, a planta é rejeitada por dias ou até mesmo semanas (Knapp et al., 1990). Deste modo, a seleção de plantas não está apenas relacionada com fatores fisiológicos e morfológicos das plantas, mas também com o comportamento das operárias.

No presente trabalho, estudou-se o comportamento forrageiro das operárias de *Atta sexdens rubropilosa* perante estímulos físicos e químicos de folhas de diferentes espécies vegetais e de papel impregnado com extratos de plantas, além da localização da desfolha em plantas artificiais e influência de plantas mais aceitas pelas operárias no desenvolvimento do fungo simbiote.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 As formigas cortadeiras

Atta e *Acromyrmex* são os dois gêneros de formigas cortadeiras, que pertencem à tribo Attini (formigas cultivadoras de fungo). Estes insetos cortam e transportam para seus ninhos na maioria das vezes, folhas e outros tecidos vegetais frescos, os quais são processados e consumidos pela colônia. O consumo dos vegetais se dá de forma direta a partir da ingestão de seiva das folhas (Littleddyke & Cherrett, 1976; Bass & Cherrett, 1995; Andrade 1997; Forti & Andrade, 1999) ou indiretamente a partir da utilização dos vegetais como substrato no cultivo do fungo simbiote, o *Leucoagaricus gongylophorus* Singer, 1986 (Fisher et al., 1994), o qual é considerado fonte primária de alimento para a colônia (Weber, 1972; Quinlan & Cherrett, 1979; Silva et al., 2003).

Para manter o fungo, formigas cortadeiras exploram diversas espécies vegetais, exibindo alto grau de polifagia (Cherrett, 1980), porém elas são seletivas em seu habitat (Franzel & Farji-Brener, 2000) e aprendem os odores associados ao alimento (Roces, 1990, 1994, 2002; Howard et al., 1996).

Devido à grande diversidade de plantas exploradas pelas formigas cortadeiras, estas são consideradas em muitas circunstâncias pragas gerais (Gallo et al., 2002) que causam perdas significativas de produção nos sistemas agrícola, pecuário e florestal; acarretando sérios prejuízos econômicos.

4.2 Considerações gerais sobre *Atta sexdens rubropilosa*.

A. sexdens rubropilosa é uma das principais formigas cortadeiras que frequentemente ocorrem em áreas reflorestadas. Essa formiga foi responsável por sérios prejuízos às essências dos gêneros *Eucalyptus* e *Pinus*, no Estado de São Paulo (Amante, 1967). Além das essências florestais, também há registros de *A. sexdens rubropilosa* explorando espécies de plantas ornamentais e frutíferas (Mariconi et al., 1963).

A ocorrência de *A. sexdens* se dá em todo o Brasil, com exceção da caatinga e do sertão mais seco do nordeste (Gallo et al., 2002) e se distribui por toda a América tropical. Hilje et al. (1991) detectaram na Costa Rica, *A. sexdens* causando sérios danos às essências florestais como ciprestes, eucaliptos, pinheiros e acácias.

Essa espécie é denominada vulgarmente de “saúva – limão” por exalar odor característico, semelhante ao cheiro de limão, quando sua cabeça é comprimida.

Os ninhos dessa espécie possuem o monte de terra superficial depositada de forma não compactada e irregular e com câmaras de cultivo de fungo e de deposição de lixo situadas em sua grande maioria sob a projeção do monte de terra solta (Pretto, 1996).

A localização dos ninhos se dá sempre próxima a áreas florestadas ou reflorestadas (Jacoby, 1943) e se distribuem de maneira regular ou casual, embora a dispersão possa ser influenciada pela disposição de estradas ou carregadores nas áreas reflorestadas (Forti et al., 1987).

A. sexdens rubropilosa apresenta forrageamento bastante característico, composto por múltiplas fases, nas quais as operárias forrageadoras exploram o ambiente através de trilhas, e espalham-se num local de coleta onde cortam geralmente as folhas e brotações da região apical dos vegetais. Um grupo de operárias sobe nas plantas e inicia o desfolhamento cortando e derrubando as folhas no solo. Outro grupo é responsável pelo retalhamento das folhas caídas. As mesmas operárias que retalham, também carregam os fragmentos para o formigueiro, onde são processados para o cultivo do fungo (Amante, 1967). Ainda pode haver um terceiro subgrupo de operárias que recupera os fragmentos de folhas sobre as trilhas e as carregam para o ninho (Fowler & Robinson, 1979).

4.3 Forrageamento

Pode-se entender o forrageamento como um conjunto de atos ou estratégias comportamentais que levam os organismos a encontrar e utilizar as fontes de energia e nutrientes para a sua sobrevivência (Krebs & Davis, 1987).

Com relação às formigas cortadeiras, o forrageamento possui etapas, as quais envolvem a seleção, corte e transporte do material vegetal para o ninho (Della Lucia, 1993). A atividade forrageira tem início quando uma operária escoteira encontra uma fonte de alimento e recruta suas companheiras através do uso de trilhas utilizadas para o transporte dos fragmentos vegetais para o ninho, no entanto o conceito básico do forrageamento é o corte e transporte do material vegetal (Cadeño-León, 1984; Forti et al., 1987).

O forrageamento é um processo complexo, onde os elementos individual e social interagem para determinar o carregamento de substrato para a colônia (Roces & Hölldobler, 1994). Contudo é difícil distinguir as ações individuais das coletivas, devido ao alto grau de integração social da colônia durante a atividade de forrageio (Traniello, 1989).

A coleta de substratos envolve gasto de tempo e energia, incluindo além da coleta e carga, a transmissão de informações sobre a fonte de alimento descoberta (Roces, 1990; Roces & Núñez, 1993; Roces & Hölldobler, 1994). Considera-se ainda, que o forrageamento é complexo por envolver a modificação ou processamento do substrato para o cultivo do fungo simbiote (Quinlan & Cherrett, 1979).

Assim torna-se importante investigar como se dá a seleção de plantas por formigas cortadeiras e como as características das plantas afetam estes insetos.

4.4 Seleção de plantas

Das etapas que compreendem o forrageamento pelas formigas cortadeiras, a seleção de plantas vem despertando grande interesse dos pesquisadores, principalmente ao que se refere às possibilidades de aplicação dos conhecimentos gerados para o manejo de áreas cultivadas atacadas e implantação de estratégias de controle destes insetos.

As formigas cortadeiras foram consideradas monófagas por alimentarem-se de fungo, porém consideradas ecologicamente polífagas pela grande diversidade de vegetais cortados, dos quais a seiva é ingerida (Littledyke & Cherrett, 1976).

Apesar do alto grau de polifagia, as formigas cortadeiras possuem certas preferências de corte por determinados grupos de plantas, assim algumas espécies de *Atta* cortam gramíneas na maioria das vezes, enquanto outras cortam tanto gramíneas quanto dicotiledôneas. Existindo ainda, aquelas que cortam predominantemente dicotiledôneas, como *A. sexdens rubropilosa* (Mariconi, 1970).

A seleção de plantas por operárias de *Atta* spp. foi constatada, principalmente através de estudos realizados em ambientes florestais ou vegetação natural, onde há grande diversidade de vegetais e compõe o habitat de várias espécies de saúvas (Forti et al., 1996; Garcia, 1997). Contudo a capacidade seletiva é manifestada também para plantas cultivadas (Pollard et al., 1983).

Considerando-se grupos de formigas cortadeiras, em particular, aqueles, que são especializados em cortar dicotiledôneas ou gramíneas, é possível observar que existem nítidas preferências por determinadas espécies de plantas (Cherrett, 1968; Rockwood, 1975; Littledyke & Cherrett, 1978; Pollard et al., 1983; Forti, 1985; Vitória, 1996; Garcia et al, 2003).

Schoederer & Coutinho (1991) comprovaram a seleção de plantas de cerrado por *A. sexdens rubropilosa*, constatando assim que determinadas plantas são exploradas em maior quantidade pelas formigas. Esse trabalho comprovou, que plantas mais cortadas em laboratório são também mais exploradas no campo. Além das preferências, verificou-se que em determinados ambientes as formigas cortadeiras, quase sempre evitam o corte de algumas espécies vegetais disponíveis a elas, como foi observado para *Atta texana* (Waller, 1982 a, b) e para *A. sexdens* (Garcia, 1997).

Para uma melhor compreensão da interação formiga-planta, muitos estudos já foram realizados com a finalidade de constatar efeitos arrestantes (Cherrett & Seaforth, 1970; Littledyke & Cherrett, 1978), repelentes (Hubert et al., 1987), ou deterrentes (Salatino et al., 1998). Contudo, verifica-se uma grande variabilidade na preferência apresentada por formigas cortadeiras com materiais naturais e suas frações químicas. Essa variabilidade pode ser explicada pela necessidade nutricional da colônia. Assim as formigas

tenderiam a selecionar novas fontes alternativas de substratos (Camargo, 2004). Também é possível verificar que em ambiente natural há grande variação entre plantas cortadas pelas saúvas durante um mesmo ano (Howard, 1988).

Therrien (1988) sugere que a preferência individual proporciona exploração de maior quantidade de espécies vegetais, que se encontram distribuídas pelas trilhas de forrageamento, ocasionando variações na preferência de substratos pela colônia. Assim o comportamento individual reflete na variabilidade de preferências da colônia (Schneirla, 1952 citado por Therrien, 1988).

Outros aspectos seriam relacionados ao papel do fungo na seleção de plantas no momento do forrageamento, pois o vegetal é utilizado como substrato para o crescimento do fungo simbiote (Weber, 1972) ou o efeito do habitat sobre as formigas cortadeiras de modo que a seleção pode estar relacionada com experiências anteriores das operárias (Fowler, 1982).

Recentes evidências indicam que as mudanças na seletividade das plantas pelas formigas cortadeiras dependem fortemente dos efeitos que o material coletado previamente proporciona para o desenvolvimento do fungo simbiote, sugerindo que as operárias forrageadoras trocam informações sobre as condições do seu fungo quando estão selecionando plantas no exterior do ninho. Uma vez que apesar das operárias forrageadoras não processarem diretamente os fragmentos vegetais coletados, semioquímicos do fungo são percebidos pelas jardineiras e as informações químicas são transferidas para as forrageadoras (Roces 2002).

Houve estudos que utilizaram diferentes hipóteses para explicar como se dá a seleção de plantas por formigas cortadeiras, dentre eles cita-se: os aspectos químicos (Cherrett, 1968; Rockwood, 1975), aspectos físicos (Barrer & Cherrett, 1972; Cherrett, 1972; Stradling, 1978; Waller, 1982 a, b), conteúdo de água (Rockwood, 1976; Bowers & Porter, 1981), valor nutricional (Rockwood, 1976), substâncias químicas secundárias (Cherrett, 1972; Howard 1987, 1988), distribuição dos recursos palatáveis (Fowler & Stiles, 1980; Forti, 1985), arranjo espacial dos túneis de forrageio, dentre outras.

De acordo com Cherrett (1972), *Atta cephalotes* seleciona vegetais menos duros, densos e mais vigorosos, que possivelmente contêm uma maior quantidade de líquido. Esta preferência por folhas novas em relação às velhas, de um mesmo vegetal,

também foi constatada por Cherrett & Seaforth (1970), Barrer & Cherrett (1972), Rockwood (1976), Littlelyke & Cherrett (1978), Waller (1982 a, b) e Nichols-Orians & Schultz (1989).

A dureza das folhas, densidade e comprimento de tricomas não se apresentam como fatores de proteção das plantas contra o ataque de *A. cephalotes* em floresta tropical (Howard, 1988). Por outro lado, segundo Nichols-Orians & Shultz (1989), folhas velhas mostraram-se quatro vezes mais duras que as folhas novas de plantas pertencentes à família Rubiaceae, exploradas por *A. cephalotes*; assim as operárias que cortam folhas mais velhas apresentam cápsula cefálica significativamente maior do que aquelas que cortam folhas novas. Os autores não observaram preferência significativa para folhas novas, quando cortadas em discos, sugerindo que a resistência ao corte pode ser o critério mais importante de seleção, neste caso.

Evidências de que fatores físicos influenciam a atratividade das folhas às formigas cortadeiras foram obtidas por Barrer & Cherrett (1972), inclusive que cortes ou qualquer tipo de dano nas folhas, aumentam a probabilidade da ocorrência de outros cortes por *A. cephalotes*. Cortes simulados, realizados em folhas de *Eucalyptus grandis* e *E. citriodora*, estimularam as operárias de *A. sexdens rubropilosa* ao corte (Forti, 1985b). Assim baseando-se na hipótese de que a forma amostral afeta a atratividade, Santana et al. (1990) estudaram em laboratório a preferência de *A. sexdens rubropilosa* e *Atta laevigata* por folhas de *Eucalyptus urophila* e *E. saligna*, cortadas em fragmentos nos formatos circular, semicircular, triangular e quadrangular, constatando que todas as formas foram igualmente atrativas as duas espécies de formigas. Deve-se considerar que os autores utilizaram apenas uma colônia de cada espécie para os experimentos. Resultados semelhantes foram obtidos por Della Lucia et al. (1995), em três colônias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* Forel, 1983, em estudos de não preferência as folhas de *E. saligna*, também cortadas nas formas quadrangular, triangular, circular e semicircular. No entanto os autores concluíram pela necessidade de utilizar maior número de colônias na condução dos experimentos.

Quanto ao conteúdo de água na vegetação, como fator de seleção de plantas, Rockwood (1976) obteve dados que relacionam a alta proporção de água nas folhas que são palatáveis às espécies de *Atta*, quando comparadas às folhas não palatáveis. Estudos realizados por Bowers & Porter (1981) confirmam a importância dos teores de água relacionados com a palatabilidade dos vegetais para *Atta colombica*.

Mudanças temporárias nas defesas físicas (Johnson, 1975), nos compostos químicos secundários (Hubbell et al., 1984) e no valor nutricional das plantas, influenciam na seleção dos vegetais pelas formigas cortadeiras. Segundo Howard (1987) poucos são os trabalhos que buscam explicar a importância relativa de cada fator, possibilidade de interações entre dois ou mais fatores expressos nas plantas. Desta forma, o autor estudou o papel dos nutrientes, da água e dos compostos secundários na seleção de plantas por *A. cephalotes*, durante o período de forrageamento mais intenso da espécie em floresta tropical. A partir dos resultados, o autor constatou a possibilidade dos compostos secundários serem os fatores mais expressivos na seleção de plantas.

Mais tarde, estudando novamente *A. cephalotes*, e avaliando a seleção de plantas em função dos aspectos físicos, disponibilidade de água e de nutrientes, e compostos secundários, Howard (1988) concluiu que a dureza e densidade de tricomas não detêm o ataque de formigas cortadeiras. Além de detectarem combinações entre compostos químicos secundários e disponibilidade de nutrientes.

A composição qualitativa e quantitativa de substâncias químicas secundárias, não participantes dos processos metabólicos das plantas, tais como glicosídeos, alcalóides, terpenóides, fenólicos, óleos essenciais, dentre outros podem ser responsáveis pela preferência ou rejeição das formigas cortadeiras por substratos vegetais (Cherrett & Seaforth, 1970; Quinlan & Cherrett, 1977; Lyttledyke & Cherrett, 1978 a, b; Bowers & Porter, 1981; Chen et al., 1984; Hubbell et al., 1984; Hubert & Wiemer, 1985; Okunade & Wiemer, 1985 a, b; Howard, 1987; Rahbé et al., 1988; Howard et al., 1989; Sugayama & Salatino, 1995; Salatino et al., 1998; Hebling-Beraldo et al., 1991; Mazzafera, 1991).

De acordo com Littlelyke & Cherrett (1978), o estímulo gerado pelo substrato no reconhecimento da fonte alimentar pode ser dividido em 3 etapas: a) compostos químicos atrativos, que podem causar a movimentação das formigas em direção ao material a ser forrageado. O contrário ocorre com compostos repelentes, que promovem o não carregamento do material; b) compostos arrestantes, responsáveis pela parada do fluxo das formigas para uma investigação do material oferecido; c) o corte, carregamento e incorporação do material, estão na dependência do balanço de compostos repelentes e arrestantes do material.

Dentre os fatores que levam as formigas cortadeiras a selecionarem um vegetal para ser cortado e transportado ao ninho, se faz necessária a observação não somente de maneira isolada, como também é importante muitas vezes compreender a relevância que representam as interações entre fatores e sua influência sobre a seleção de plantas pelas formigas cortadeiras e seu fungo.

4.5 As formigas cortadeiras e o fungo simbiote

Todas as espécies de formigas da tribo Attini, são cultivadoras obrigatórias do fungo. O substrato coletado para a cultura fúngica varia de gênero para gênero, assim os gêneros mais basais utilizam materiais como fezes e carcaças de insetos, enquanto que os gêneros mais derivados, como *Atta* e *Acromyrmex*, cultivam o fungo quase que exclusivamente em material vegetal fresco como folhas e flores (Martin, 1970).

O fungo simbiote *L. gongylophorus* tem como reserva energética básica o glicogênio, nos primeiros estágios de formação dos gongilídeos (Kermarrec et al., 1986). Os polissacarídeos dos gongilídeos maduros encontram numa forma prontamente assimilável pelas formigas (Quinlan & Cherrett, 1979). Weber (1972) define os gongilídeos como dilatações na parte central ou final das hifas e estáfilas como conjunto de gongilídeos.

Estudos bioquímicos e micromorfológicos confirmam que os fungos simbiotes de Attini são basidiomicetos, os quais estão divididos em três grupos: G1- inclui os fungos cultivados pelos gêneros *Atta*, *Acromyrmex*, *Trachymyrmex* e *Sericomyrmex*; único grupo que possui gongilídeos; G2- cultivados pelas espécies morfológicamente derivadas do gênero primitivo *Apterostigma*, possuem abundantes grampos de conexão e hifas aéreas extremamente alongadas, que em algumas espécies servem como proteção aos ninhos; G3- cultivados pelos gêneros *Cyphomyrmex*, *Mycetosorites*, *Mycetophylax*, *Mycocephurus*, *Mycetarotes* e *Myrmecocrypta*, são relativamente mais heterogêneos, com alguns exemplares mais próximos ao grupo G1, enquanto outros estão mais relacionados a espécies de basidiomicetos não domesticados pelas formigas (Chapela et al., 1994).

Quanto à estrutura dos jardins de fungo cultivados por *Atta* e *Acromyrmex*, estes se constituem de pequenos fragmentos de substrato vegetal, sustentado por denso crescimento micelial (Martin, 1970). Bass & Cherrett (1995) demonstraram que o

jardim de fungo de *A. sexdens* possui inúmeras pequenas cavidades, sendo a maioria delas (74,7%) acessíveis apenas por operárias mínimas e fornece grande área superficial interna. As superfícies internas apresentam maior quantidade de gongilídeos por unidade de área em relação à superfície externa.

A constante coleta de plantas por formigas cortadeiras é fundamental para a manutenção da cultura fúngica, no entanto discute-se qual é a participação do fungo simbiote na aceitação ou rejeição de substratos pelas operárias.

4.6 Papel do fungo na seleção de plantas

Tem-se o conhecimento de que as formigas cortadeiras ingerem seiva das plantas durante o corte e preparação destes (Littlelyke & Cherrett, 1976; Bass & Cherrett, 1995; Andrade 1997; Forti & Andrade, 1999), porém, a principal utilização do vegetal se dá na forma de substrato para o cultivo do fungo simbiote (Weber, 1972).

Informações sobre os aspectos físicos e químicos das plantas, substratos selecionados e seus efeitos no crescimento do fungo simbiote, são escassas. Contudo, considerando-se que as formigas cortadeiras exibem certas preferências por determinadas plantas, alguns autores estudaram a possibilidade de que tais substratos promovam maiores taxas de crescimento para o fungo simbiote (Quinlan & Cherrett, 1978; Mudd & Bateman, 1979; Boaretto, 2000; Noronha et al., 2003)

Para tanto, o estudo do papel do fungo na seleção de plantas surgiu como uma possibilidade de tentar melhor compreender o complexo sistema de escolha de substratos. Assim, Quinlan & Cherrett (1978), verificaram aspectos da simbiose entre as formigas *Acromyrmex octospinosus* e *A. cephalotes* e seus respectivos fungos simbiotes, constatando que as operárias de *A. octospinosus* preferiram em termos de carregamento, os substratos: cevada, polpa cítrica, lentilha e flocos de milho, nesta ordem, apesar de algumas variações entre as colônias; enquanto que *A. cephalotes* preferiu polpa cítrica. No entanto, as taxas de crescimento do fungo, em meio artificial contendo os mesmos substratos, foram superiores naqueles contendo cevada e inferiores naqueles contendo polpa cítrica, para ambas as espécies. Os autores concluíram que as formigas não selecionam necessariamente materiais que propiciam o melhor crescimento para o fungo.

Mudd & Bateman (1979) utilizaram informações sobre as taxas de desenvolvimento do fungo simbiote de *A. cephalotes* em substratos mais aceitos pelas operárias para explicar essas preferências. Os autores constataram que o crescimento do fungo em meio de cultura contendo extratos de plantas selecionadas pelas formigas, foi afetado pelas espécies vegetais, pH, concentração dos extratos e pré-tratamento dos substratos pelas formigas. Não foi possível estabelecer relações entre taxa de crescimento e a preferência de forrageio. No entanto foram encontrados indícios de que as plantas mais atrativas promoveram maior crescimento do fungo. Também foi constatado pelos autores que o crescimento do fungo pode ser mais afetado por inibidores de crescimento do que pela disponibilidade de nutrientes.

Lapointe et al. (1996) estudaram o comportamento de forrageio de *Acromyrmex landolti* e *A. laevigata* em relação ao carregamento de espécies de gramíneas forrageiras e o crescimento do fungo simbiote de ambas as espécies em meio artificial contendo extratos aquosos das plantas estudadas. Constatou-se que para as duas espécies de formiga, ocorreram reduções na taxa de crescimento do fungo nos meios contendo extratos das espécies pouco atrativas ao corte (*Brachiaria* spp.). Os autores concluíram que a “resistência” a *Brachiaria* spp. é conferida por fatores inibitórios da planta ao fungo simbiote. Estes resultados foram confirmados por Cromme (1998).

Para *A. capiguara*, verificou-se que as gramíneas mais aceitas foram: *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar), *Pennisetum purpureum* (capim elefante), *Hiparrhenia rufa* (capim jaraguá) e *Paspalum* spp. (grama batatais), nesta ordem respectivamente. No entanto, verificou-se que os extratos de cana e braquiária foram desfavoráveis ao crescimento do fungo (Boaretto, 2000).

No Brasil, muitos trabalhos têm demonstrado que as formigas selecionam plantas com compostos atrativos ou estimulantes. Porém, a presença de substâncias repelentes e tóxicas às formigas ou ao fungo cultivado, pode estar mascarada. Dentro desta linha de pesquisa que procura plantas tóxicas para controle de formigas cortadeiras encontram-se trabalhos com gergelim (*Sesamum indicum*) (Hebling-Beraldo et al., 1986; Bueno et al., 1995; Pagnocca et al., 1996; Costa et al., 1997; Sinhori et al., 1997), mamona (*Ricinus communis*) (Fernandes et al., 1997), *Canavalia ensiformes* (Takahasahi-Del-Bianco et al., 1997), e *Virola* (Pagnocca et al., 1996). Com esta perspectiva, existem indícios

de que o fator de seleção pode estar mais relacionado com a preferência da formiga à planta e não com o substrato que promove uma maior taxa de crescimento do fungo simbiote.

Contudo, Ridley et al. (1995) observaram que as formigas percebem e rejeitam substratos que causam injúrias ao fungo simbiote, através da montagem de bioensaios onde os autores impregnaram polpa de laranja com um fungicida (cycloheximide) e ofereceram para colônias de *Atta* e *Acromyrmex*. No início a polpa foi bem aceita, porém com o passar do tempo, as formigas rejeitaram o substrato por várias semanas. Os autores sugeriram que este comportamento de rejeição está relacionado com a produção de semioquímicos pelo fungo durante o estresse causado pelo fungicida e disseminado entre as formigas por trofalaxia ou “grooming” (ato de limpeza onde as formigas lambem umas as outras e também se lambem).

Portanto, a proposta do trabalho foi gerar informações, que possam esclarecer como *A. sexdens rubropilosa* seleciona substratos para a colônia, perante estímulos físicos e químicos das plantas, além do efeito dos extratos vegetais sobre o desenvolvimento do fungo simbiote, a fim de obter fundamentação para escolher substratos e estratégias de controle de formigas cortadeiras.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram desenvolvidos no Laboratório de Insetos Sociais – Praga, pertencente ao Departamento de Produção Vegetal - Setor Defesa Fitossanitária – Faculdade de Ciências Agrônômicas – Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de Botucatu, SP, no qual foram mantidas as colônias de *A. sexdens rubropilosa* e conduzidos os bioensaios.

5.1 Áreas dos estudos

As plantas utilizadas nos experimentos, exceto *Ligustrum* sp., foram coletadas em mata secundária pertencente ao Parque Municipal de Botucatu, SP.

A vegetação da mata é classificada como secundária mesófila semidecídua, localizada no Planalto Central, de acordo com Rizzini (1979), cujo fragmento utilizado abrange cerca de 2,5 ha dos 12 ha pertencentes ao Parque Municipal.

5.2 Identificação das plantas

As espécies vegetais foram identificadas com o auxílio de um herbário, confeccionado e utilizado por Garcia (1997), em seus experimentos de campo. Além

do herbário aproveitaram-se também as marcações feitas em placas numeradas e fixadas nas plantas, as quais foram utilizadas nos experimentos de campo citados.

5.3 Montagem e manutenção das colônias de *Atta sexdens rubropilosa* em laboratório

As colônias utilizadas nos experimentos tinham dois anos de idade, e desenvolveram-se a partir de iças coletadas após o vôo nupcial, em outubro de 2002. Os formigueiros foram mantidos em laboratório a 24° C e umidade relativa aproximada de 70%. O espaço físico disponível para cada colônia restringiu-se a três potes de acrílico, sendo destinados à arena de forrageio (abastecimento com folhas), cultivo de fungo, e deposição de lixo (restos do jardim de fungo, operárias mortas e outros materiais). O recipiente destinado à câmara fúngica possuiu volume de 1,5 L e recebeu uma camada de 1 cm de gesso revestindo o fundo para manutenção da umidade. A arena de forrageio e o lixo foram ligados à câmara de fungo através de tubos de borracha transparente. Apenas a arena de forrageio foi substituída antes dos experimentos por bandejas com 40 cm de largura por 60 cm de comprimento. A bandeja também teve função de arena de forrageio, contudo sua utilização proporcionou melhorias na distribuição e visualização dos substratos oferecidos.

Uma vez estabelecidas, as colônias foram mantidas com dieta diversificada constituída por folhas de *Ligustrum* sp., *Acalypha* sp., *Citrus* sp. e flores de *Rosa* sp., além de cereais como flocos de aveia e milho triturado. Periodicamente o lixo foi retirado, antes que ocupasse todo o volume do recipiente destinado ao mesmo.

5.4 Aceitação das plantas de mata secundária pelas operárias através da resistência mecânica ao corte e palatabilidade das folhas

Folhas de *Alchornea triplinervia* (Spreng.) M. Arg. (Euphorbiaceae), *Faramea cyanea* Mull. Arg (Rubiaceae), *Croton floribundus* Spreng. (Rubiaceae), *Actinostemom communis* (Muell.Arg.) Pax. (Euphorbiaceae), foram oferecidas para as operárias e avaliadas quanto às características físicas e químicas, sendo o controle confeccionada com papel de filtro.

As folhas foram oferecidas na arena de forrageio dos formigueiros sob três formatos: inteiras, cortadas em círculos grandes (2,5 cm diâmetro) e cortadas em círculos pequenos (0,5cm de diâmetro) (Waller, 1982 a). Para cada unidade de folha recortada ou inteira, foi confeccionada uma replica em papel filtro, constituída como controle. Neste estudo realizaram-se quatro experimentos, sendo um para cada espécie de planta. Portanto, cada planta e seu respectivo controle foram oferecidos separadamente para cinco colônias.

Para padronizar os bioensaios, tomou-se como base as folhas vegetais inteiras, em número de três, sendo que tanto os discos grandes como os pequenos foram somados até que atingissem o mesmo valor da massa obtida para as folhas inteiras. Com as folhas de papel filtro, o procedimento foi o mesmo, sendo que o ponto de partida foi uma réplica da folha vegetal recortada em papel. Portanto, a quantidade de folhas cortadas e carregadas foi medida em massa, através da diferença entre a massa final e a massa inicial encontradas na arena de forrageio.

Por meio da exposição de duplicatas das folhas dos bioensaios ao ambiente experimental, e a diferença entre a massa final e a inicial foi possível estimar a quantidade de água perdida pelas folhas durante o experimento.

Todo o material utilizado foi devidamente limpo para que não houvesse resíduos de outros materiais, que não os do experimento, principalmente aqueles relacionados com odores perceptíveis pelas formigas. Cada experimento foi constituído por seis tratamentos (Folha inteira vegetal: FIV; Disco grande vegetal: DGV; Disco pequeno vegetal: DPV; Folha inteira de papel: FIP; Disco grande papel: DGP e Disco pequeno papel: DPP) com cinco repetições.

Para a análise dos resultados utilizaram-se as possibilidades propostas por Waller (1982 a), que pode ser resumida da seguinte forma:

Se as folhas forem quimicamente impalatáveis para as formigas, as folhas inteiras e ambos os tamanhos de discos deverão ser rejeitados;

Se as folhas forem palatáveis, porém duras demais para serem cortadas, espera-se que apenas os discos pequenos sejam carregados pelas formigas.

Se as folhas forem palatáveis e possíveis de serem cortadas pelas formigas, porém evitadas na natureza, as substâncias atrativas podem estar mascaradas. Se

isso for verdade, discos de ambos os tamanhos deverão ser aceitos, porém as folhas inteiras rejeitadas.

Os ensaios foram encerrados quando um dos tratamentos foi completamente removido da arena de forrageio. A avaliação dos experimentos foi feita através da pesagem da massa foliar retirada pelas operárias. Os dados coletados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e posteriormente teve suas médias comparadas através do teste de Tukey-Kramer com 5% de probabilidade.

5.5 Papel do fungo na seleção de plantas por *Atta sexdens rubropilosa*

5.5.1 Isolamento, repicagem e manutenção do fungo simbiote de *Atta sexdens rubropilosa*

Numa etapa anterior aos experimentos de atratividade, no laboratório de Insetos Sociais - Praga, cepas do fungo simbiote *L. gongylophorus* foram isoladas a partir de fragmentos retirados do jardim de fungo cultivado pelas formigas. O micélio foi cultivado em placas de Petri com meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), 27g/L. A massa micelial foi repicada também em meio BDA, com a finalidade de se obter maior quantidade de inóculos para os bioensaios. O pH dos meios de cultura foi ajustado para uma faixa próxima de 5,1 para todos os tratamentos.

O isolamento do fungo procedeu-se a partir da montagem de lâminas com fragmentos do fungo, onde foi possível observar ao microscópio óptico a presença de gongilídeos, que são dilatações da parte central ou final das hifas. Essas estruturas são ricas em glicogênio e carboidratos, os quais responsáveis por parte da dieta das formigas (Weber, 1972). Desta forma, por serem exclusivos do fungo simbiote de formigas cortadeiras, a presença de estáfilas (conjunto de gongilídeos) confirmou que se tratava realmente do fungo simbiote.

A repicagem para a manutenção da colônia fúngica foi realizada através do implante de fragmentos do fungo (Figura 2.A) em meio BDA contido no interior de placas de Petri, numa câmara de fluxo laminar e com os devidos procedimentos de

assepsia adotados para o manuseio do material. As placas foram mantidas em câmaras B.O.D. entre $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ na ausência de luz.

5.5.2 Ensaios de atratividade das folhas às operárias

Na avaliação da atratividade exercida pelas plantas da mata às formigas, as colônias foram acopladas a uma bandeja plástica com função de arena de forrageio, na qual foi confrontado o carregamento de discos de folhas de *A. communis*, *A. triplinervia*, *C. floribundus* e *F. cyanea*. As folhas foram coletadas na mata e transportadas imediatamente ao laboratório, onde estas foram perfuradas com vazadores de metal para a retirada de discos de meio cm de diâmetro. Na troca de planta a ser recortada, os vazadores (instrumentos de corte) foram limpos com álcool 70% e água destilada, para que não houvesse interferência de odores entre tratamentos.

Nas 24 horas antecedentes aos experimentos de atratividade, as colônias não receberam folhas com a finalidade de se evitar a interferência de outros substratos que não os do experimento, além de motivar o forrageamento. As bandejas foram acopladas às colônias com uma hora de antecedência ao ensaio e permaneceram vazias, sem operárias circulando, pois o túnel de acesso manteve-se obstruído por uma rolha de borracha até o momento das plantas serem oferecidas.

Durante os ensaios, foram tomados todos os cuidados possíveis para que não houvesse perturbação das operárias, desde a retirada da rolha até evitar que massas de ar deslocassem fortemente próximo à arena de forrageio.

Os discos foram oferecidos em número de 15 unidades de cada espécie vegetal por apresentação, contidos em placas de Petri com 10 cm de diâmetro e meio cm de altura das bordas. Os bioensaios foram realizados em duas épocas do ano, a primeira em março e a segunda em agosto de 2005. O delineamento experimental foi constituído por quatro tratamentos (espécies vegetais) e apresentados quatro vezes para cada uma das cinco repetições (colônias). O experimento encerrou no momento em que todos os discos de uma espécie foram carregados para o interior da colônia, quando então foram contabilizados fragmentos restantes de cada tratamento. Avaliando-se o número de fragmentos carregados pelas saúvas através dos que sobraram na arena de forrageio. Os dados foram submetidos à

análise de variância (ANOVA) e posterior comparação das médias através do teste de Tukey-Kramer com 5% de probabilidade.

5.5.3 Preparação dos extratos aquosos de folhas e do meio de cultura

Concomitantemente aos ensaios de atratividade das plantas da mata, os extratos vegetais foram obtidos através da limpeza das folhas e processamento em água destilada e autoclavada das mesmas plantas oferecidas às formigas, inclusive pertencentes ao mesmo lote coletado.

Antes de serem processadas, as folhas foram lavadas em água corrente para a remoção de resíduos como poeira e outros materiais indesejáveis presentes na superfície foliar. Cada espécie vegetal passou separadamente por processo químico de assepsia, que consistiu na imersão das folhas em soluções de álcool etílico (70%) por 10 segundos, Hipoclorito de sódio (0,5%) por cinco minutos e sulfato de estreptomicina (50mg/L) por 10 minutos. Entre imersões, as folhas foram lavadas em água destilada para a retirada de resíduos das soluções assépticas. Sendo que, ao terminar o tratamento, cada lote de folhas foi submetido a três lavagens sucessivas com água destilada.

As folhas foram maceradas em um aparelho liquidificador, utilizando-se 50g de massa verde/ 100mL de água destilada e autoclavada. Após o processamento das folhas, os extratos aquosos passaram por filtros de Nylon[®] tipo coador de café e papel filtro para a remoção do excesso de fibras vegetais, e, foram armazenados em Erlenmeyers com capacidade de 125mL devidamente tampados com rolhas feitas de algodão e recobertos por papel alumínio, como se procede em experimentos de microbiologia. O processo de maceração das folhas e a filtragem dos extratos foram realizados no interior de uma câmara de fluxo laminar de ar.

Para cada tratamento utilizou-se 250mL de meio de cultura BDA (12g/L) mais agar-ágar (4g/L) autoclavados a 121° C por 20 minutos. Antes de receber os extratos aquosos, o meio de cultura foi resfriado à temperatura de aproximadamente 60° C, recebeu antibacteriano sulfato de estreptomicina na proporção de 50mg/L e finalmente 10 mL de extrato vegetal com o auxílio de uma pipeta acoplada a uma pêra. O controle foi preparado apenas com meio BDA, sem adição de extratos vegetais. O potencial hidrogeniônico (pH) foi

medido através da retirada de alíquotas do meio mais extrato e analisados no eletrodo de um peagâmetro devidamente calibrado antes da medição de cada tratamento. O pH foi ajustado para $5,1 \pm 0,1$ com a adição de solução de 1% de ácido acético ou hidróxido de sódio conforme a necessidade de baixar ou elevar o pH respectivamente.

Uma vez preparados, os meios foram vertidos em placas de Petri. Todas as etapas de preparação dos meios de cultura e extratos vegetais, exceto o processo de autoclavagem e lavagem das folhas, foram realizados em câmara de fluxo laminar e manuseados com cuidado para se evitar contaminações por microorganismos.

5.5.4 Inoculação do fungo nos meios acrescidos com extratos vegetais

A inoculação do fungo foi realizada em meio BDA (12g de BDA/L de água) acrescido com extratos aquosos de folhas frescas das espécies de plantas da mata secundária.

Os fragmentos do inóculo foram removidos das placas de repicagem com o auxílio de um furador para meio de cultura e alças de platina. As porções retiradas mediram 0,5 cm de diâmetro no momento da transferência para as placas com meio mais extrato, e o controle.

Todo o procedimento ocorreu no interior de uma câmara de fluxo laminar, equipamento que protege materiais microbiológicos contra contaminantes, através da geração de fluxo de ar “limpo” (filtrado), estrategicamente posicionados para reduzir a incidência de partículas dispersas no ar sobre o material de trabalho. Também utilizou-se a chama de uma lamparina abastecida com álcool para a flambagem do material metálico e bordas das placas, além disso, esses recipientes foram vedados com um filme de polietileno.

Após a inoculação, as placas com extratos de plantas acompanhadas das placas destinadas para serem controle foram mantidas em câmaras B.O.D. entre temperaturas de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ na ausência de luz por 21 dias.

5.5.5 Manutenção e avaliação do crescimento das culturas fúngicas

As culturas fúngicas foram mantidas em câmaras de germinação tipo B.O.D., com temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e ausência de fotofase.

O desenvolvimento do fungo nos meios de cultura acrescidos com os extratos vegetais foi avaliado pelo crescimento radial do micélio e observação da presença de estáfilas de cada cultura, efetuando-se as devidas medições após 21 dias de incubação.

O crescimento do fungo foi observado através das medições do diâmetro micelial. Cada placa teve o fundo marcado por duas linhas perpendiculares entre si (L1 e L2) (Figura 1), tendo o local de implante do fungo coincidente com o local onde ocorreu o cruzamento dos traços. Assim registrou-se para cada placa, duas medidas de diâmetro.

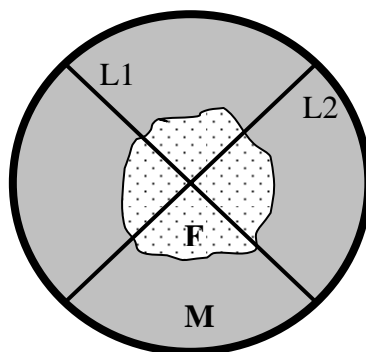


Figura 1. Ilustração da placa com as marcações para a medição do diâmetro micelial **F**= Fungo; **M**= Meio de cultura.

O delineamento experimental utilizado foi de cinco tratamentos (extratos aquosos de plantas e controle) com 15 repetições (número de placas). Para a análise estatística os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e posterior comparação das médias através do teste de Tukey-Kramer com 5% de probabilidade.

5.6 Influência dos estímulos físicos e químicos do substrato no corte por *Atta sexdens rubopilosa*

Para esta etapa dos estudos foram utilizadas folhas de papel filtro recortadas no formato de folhas de *Ligustrum* sp. contendo medidas de 7 cm de comprimento por 3 cm de largura. Em alguns tratamentos foram realizados recortes em forma de “v”, assumindo a função de estímulo físico ao corte (Forti, 1985 b). Os recortes, feitos em número de seis em cada lado dos bordos das folhas, possuíam 0,5 cm adentrados às folhas. Todas as folhas seguiram o mesmo padrão com relação ao formato e localização do recortes. Os estímulos químicos ao corte foram dados através da impregnação do papel com extrato aquoso de folhas maduras de *Ligustrum* sp.. O extrato foi obtido através da maceração das folhas frescas recém coletadas, adicionas com água destilada na proporção de 2:1 (massa de H₂O/ massa de folhas frescas). Antes da maceração, todas as folhas foram lavadas e secas. A idade das folhas foi padronizada através da coloração e tamanho do limbo foliar (Barrer & Cherrett, 1972), além de serem coletadas sempre da mesma posição nos ramos (ex: 3º par a partir da extremidade do ramo), sempre na região medial das plantas.

As folhas de papel filtro foram imersas nos extratos e secas em estufa a menos de 50°C por menos de 10 minutos, para a retirada do excesso de água. Os tratamentos constituíram-se de folhas contendo supostos estímulos físicos, químicos ou ambos, além da ausência de estímulos (controle). Portanto foram oferecidos ao mesmo tempo quatro tipos de folhas de papel: folhas sem recortes e sem extrato (Fi), folhas apenas com extrato (Fie), folhas apenas com recortes (Fr) e folhas com recortes e extratos (Fre) (Figura 2. D e Figura 2.E). Participaram do experimento, cinco colônias de formigas, as quais receberam os tratamentos três vezes cada. As folhas foram dispostas aleatoriamente na arena de forrageio.

A avaliação dos experimentos foi feita através da contagem do número de cortes realizados pelas operárias nas folhas. Antes que o primeiro fragmento de um dos tratamentos fosse retirado, o ensaio foi encerrado. Os dados coletados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e posteriormente teve suas médias comparadas através do teste de Tukey-Kramer com 5% de probabilidade.

5.7 Influência da dureza e idade das folhas na preferência por *Atta sexdens rubropilosa*

Corte de folhas de papel com diferentes gramaturas e impregnadas com extrato de folhas com diferentes idades de *Ligustrum* sp.

As folhas foram confeccionadas em papel sulfite nas gramaturas de 75g/ m² e 120g/m² no formato de folhas naturais, as quais foram impregnadas com extratos de folhas novas e de folhas velhas de *Ligustrum* spp.

As folhas foram escolhidas pela localização nos ramos, espessura do limbo, coloração e tamanho (Barrer & Cherrett, 1972). Sendo que as folhas novas localizavam-se nas extremidades dos ramos das plantas, possuíam o limbo pouco espesso, de coloração verde claro e de menor tamanho quando comparadas às folhas mais velhas que se localizavam na região basal dos ramos, com limbo espesso e coriáceo, cor escura e consideravelmente maior que as novas. Folhas com diferentes idades foram coletadas nas mesmas plantas e levadas diretamente para o laboratório, onde sofreram maceração para posterior impregnação das folhas de papel.

Os extratos foram obtidos através da maceração das folhas novas e velhas com adição de água destilada na proporção de 2: 1; água (g) / folha(g), nos quais foram imersas tanto as folhas de papel com 75g/m² quanto às de 120g/m². Após a imersão as folhas de papel foram levadas à estufa aquecida à temperatura de 50° C com a porta aberta, onde permaneceram por 10 minutos, apenas o suficiente para a retirada de água.

Os tratamentos constituíram-se de folhas de papel recortadas no formato semelhante ao de uma folha natural de *Ligustrum* sp. com medidas de sete cm de comprimento por três cm de largura em ambas as gramaturas e impregnadas por extratos de folhas novas ou velhas. Assim os quatro tratamentos foram: folhas com 75g/m² com extrato de folhas novas (75n) (simulação das condições naturais); folhas de 75g/m² com extratos de folhas velhas (75 v); folhas de 120g/m² com extratos de folhas novas (120n); folhas de 120g/m² com extratos de folhas velhas (120 v) (simulação das condições naturais). As folhas foram oferecidas três vezes, para cada uma das cinco colônias de saúvas, sendo que todos os tratamentos estiveram presentes ao mesmo tempo na arena de forrageio. As folhas e formigas foram manuseadas com pinças e material apropriado para tal, evitando-se o contato direto com as mãos.

A avaliação dos experimentos foi feita através da contagem do número de cortes realizados pelas operárias nas folhas. Antes que o primeiro fragmento de um dos tratamentos fosse retirado, o ensaio foi encerrado. Os dados coletados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e posteriormente teve suas médias comparadas através do teste de Tukey-Kramer com 5% de probabilidade.

5.8 Localização da desfolha em plantas artificiais

5.8.1 Desfolha em plantas artificiais contendo folhas de *Ligustrum* sp.

As plantas artificiais foram confeccionadas em madeira, as quais possuíram o eixo principal com formato cilíndrico, contendo aproximadamente dois centímetros de diâmetro e dividido em quatro patamares equidistantes de 15 cm ao longo de seu comprimento. Os galhos, também em formato cilíndrico, com 0,4 cm de diâmetro e 24 cm de comprimento, dispunham-se levemente inclinados para cima, sendo que a extremidade de cada galho situava-se a 10 cm acima da inserção dos mesmos. Portanto, formando um ângulo de aproximadamente 25° entre um plano horizontal imaginário transversal ao eixo central da planta e os ramos destas (Figura 2. B).

As plantas artificiais tinham eixo central com 60 cm altura e extremidade dos ramos mais altos atingiram a altura de 70 cm. A inserção de cada patamar, a partir da base foi respectivamente 15 cm, 30 cm, 45 cm e 60 cm e a extremidade de cada ramo atingiu 10 cm acima da inserção, atingindo assim 25 cm, 40 cm, 55 cm e 70 cm. Os patamares foram chamados de h1, h2, h3 e h4, contando-se da base para o ápice das plantas artificiais, que foram semelhantes às plantas estudadas por Schlindwein (1996).

As folhas de *Ligustrum* sp., recém coletadas, foram presas pelos pecíolos com alfinete entomológico nº. 00. Todas as folhas foram fixadas com a porção abaxial voltada para baixo, posição que normalmente são encontradas nas plantas. Além disso, as folhas utilizadas, jovens na maioria das vezes, foram muito semelhantes entre si quanto à idade, área do limbo e diâmetro do pecíolo para cada bioensaio. Cada ramo continha uma folha localizada em sua extremidade, constituindo um total de 12 por bioensaio (Figuras 2. B e Figuras 2.C).

Os experimentos foram conduzidos em laboratório, à temperatura de 24°C e umidade relativa do ar em torno de 60%, onde as plantas foram oferecidas às operárias de *A. sexdens rubropilosa* numa arena de forrageio, a qual foi constituída por uma bandeja plástica acoplada à câmara de cultivo de fungo, por uma mangueira de borracha.

Uma camada de talco neutro foi impregnada nos bordos da bandeja para evitar a fuga das formigas. Além da arena de forrageio, as câmaras de fungo possuíam ligação com um recipiente destinado ao lixo. A cultura de fungo, com aproximadamente 1,5L foi sustentada por uma base feita de gesso contendo um centímetro de espessura, mantida úmida, ambas localizadas no interior de pote plástico. As colônias ficaram sem abastecimento de folhas por 24 horas antes do início de cada bioensaio. O jejum teve a finalidade de evitar a interferência de outros substratos, que não os do experimento.

O experimento foi constituído de quatro tratamentos (patamares) oferecidos para cinco colônias (repetições) com três apresentações por colônia.

As apresentações encerraram-se somente quando todas as folhas de um dos quatro patamares foram derrubadas pelas operárias, através do corte dos pecíolos ou do limbo foliar. Os valores encontrados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e posterior comparação das médias através do teste de Tukey-Kramer com 5% de probabilidade.

5.8.2 Desfolha em plantas artificiais contendo folhas de plantas da mata

As estruturas de madeira das plantas artificiais, utilizadas nessa etapa dos experimentos foram as mesmas citadas no item anterior. No entanto houve diferença no formato e na maneira com que as folhas foram oferecidas para as formigas. Assim, folhas frescas de *A. communis*, *A. triplinervia*, *C. floribundus* e *F. cyanea* foram coletadas na mata, levadas ao laboratório e utilizadas em torno de uma hora após a coleta, caso o período de tempo fosse maior as folhas foram armazenadas em aparelho refrigerador.

Os discos das folhas foram recortados com a ajuda de vazadores de metal contendo 2,5cm de diâmetro. Cada ramo da planta artificial continha em sua porção superior três discos apoiados e presos por alfinetes entomológicos, através de um furo localizado no centro de cada disco, totalizando nove discos por patamar. Cada patamar recebeu discos de mesma espécie vegetal. As plantas artificiais foram oferecidas quatro vezes

para as colônias, do modo que cada espécie vegetal ocupasse um diferente patamar por apresentação.

Antes de serem presos às plantas, os discos vegetais foram pesados separadamente por espécies e réplicas dos mesmos foram utilizadas expostas ao ambiente dos experimentos, com o intuito de estabelecer fatores de correção para a perda d'água do material cortado pelas operárias, as réplicas ficaram expostas exatamente o tempo entre o início e o final dos ensaios, quando foram pesadas novamente.

As apresentações encerraram somente quando todos os discos de um dos patamares foram totalmente cortados e carregados pelas formigas. Os discos ou fragmentos de folhas que sobraram nas plantas foram recolhidos e pesados ao término de cada bioensaio. Avaliou-se a massa do material cortado em função da sua localização nos diferentes patamares.

O experimento foi constituído de quatro tratamentos (patamares) oferecidos para cinco colônias (repetições) com quatro apresentações por colônia.

As apresentações encerraram-se somente quando todas as folhas de um dos quatro patamares foram derrubadas pelas operárias, através do corte dos pecíolos ou do limbo foliar. Os valores encontrados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e posterior comparação das médias através do teste de Tukey-Kramer com 5% de probabilidade.

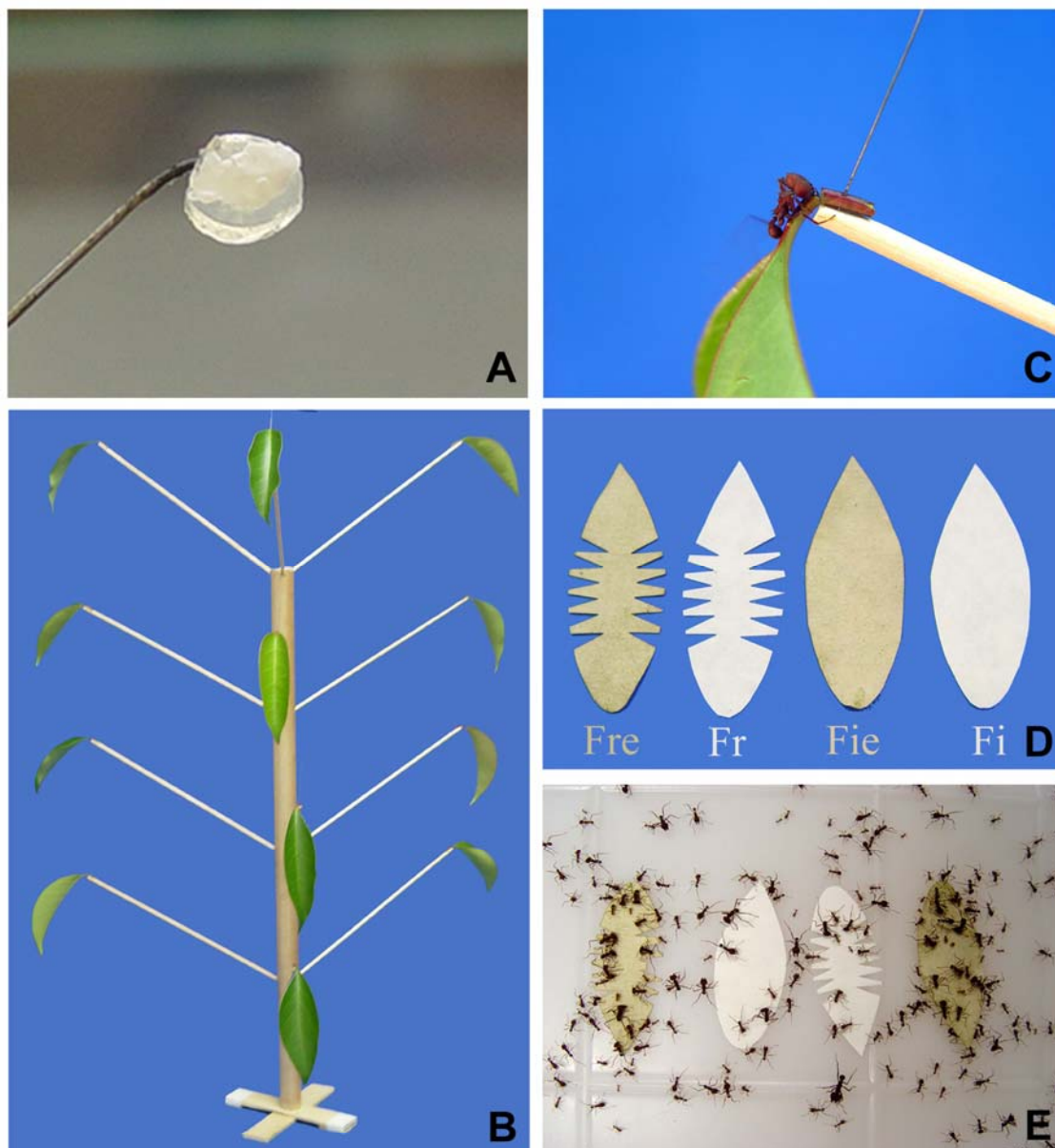


Figura 2: **A.** Inóculo do fungo (0,5cm de diâmetro) durante repicagem; **B.** Planta artificial com folhas de *Ligustrum* sp.; **C.** Detalhe de um ramo da planta artificial e corte do pecíolo por *A. sexdens rubropilosa*; **D.** Folhas de papel com estímulos físicos e/ou químicos: **Fre** - Folha recortada impregnada com extrato de *Ligustrum* sp.; **Fr** - Folha apenas com recortes nos bordos; **Fie** - Folha inteira impregnada com extrato de *Ligustrum* sp.; **Fi** - Folha sem extrato ou recortes; **E.** Folhas da figura D na arena de forrageio.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Aceitação das plantas de mata secundária pelas operárias através da resistência mecânica ao corte e palatabilidade das folhas

As folhas de *A. communis*, *A. triplinervia*, *C. floribundus*, *F. cyanea* e papel filtro, nos formatos de folhas inteiras, discos grandes (2,5cm de diâmetro) e discos pequenos (0,5cm de diâmetro), foram oferecidas para colônias de *A. sexdens rubropilosa* em laboratório.

Nessas condições foi possível estudar a influência da resistência mecânica ao corte e da palatabilidade de plantas estudadas por Garcia (1997) que sofrem alta frequência de ataque (*A. triplinervia* e *F. cyanea*) e baixa frequência de ataque (*A. communis* e *C. floribundus*) em mata secundária no município de Botucatu, SP.

Com o intuito de verificar se as plantas que sofreram maior frequência de ataque em campo seriam mais cortadas em laboratório e vice-versa, avaliou-se a quantidade, em massa, de folhas cortadas e carregadas à colônia.

Para tanto, as quantidades de material forrageado foram observadas através de características das plantas como resistência mecânica ao corte e a palatabilidade das folhas por meio de avaliações propostas por Waller (1982 a), da seguinte forma:

Se as folhas forem quimicamente impalatáveis para as formigas, as folhas inteiras e ambos os tamanhos de discos deverão ser rejeitados;

Se as folhas forem palatáveis, porém duras demais para serem cortadas, espera-se que apenas os discos pequenos sejam carregados pelas formigas.

Se as folhas forem palatáveis e possíveis de serem cortadas pelas formigas, porém evitadas na natureza, as substâncias atrativas podem estar mascaradas. Se isso for verdade, discos de ambos os tamanhos deverão ser aceitos, porém as folhas inteiras rejeitadas.

Os resultados são apresentados separadamente para cada espécie vegetal, pois conforme a metodologia para cada espécie de planta realizou-se um ensaio.

6.1.1 Aceitação das folhas de *Actinostemom communis* pelas operárias

Tanto as folhas inteiras do vegetal (FIv), quanto os discos grandes (DGv) e discos pequenos (DPv) foram cortados pelas operárias, no entanto dentre as formas vegetais, apenas os discos pequenos foram significativamente superiores quanto ao carregamento. O carregamento das folhas inteiras confeccionadas em papel (FIp) e discos grandes também de papel (DGp) foram nulos, sendo que única forma em papel carregada foi a de discos pequenos (DPP). Tanto discos pequenos vegetais (DPv) quanto discos pequenos de papel (DPP) tiveram o carregamento significativamente superior, com respectivamente 86,6% e 75,6% da massa carregada, como se pode observar (Tabela 1).

A partir dos resultados, acredita-se que *A. communis* é palatável, porém as folhas e discos grandes (FIv e DGv) são resistentes ao corte pelas operárias de colônias de laboratório.

Tabela 1: Exploração de *Actinostemom communis* em função da resistência mecânica ao corte e palatabilidade das folhas.

Tratamentos Formatos	Porcentagem de massa foliar de <i>A. communis</i> e de papel filtro cortados por <i>A. sexdens rubropilosa</i> .					Média e Desv. Padrão
	C1	C2	C3	C4	C5	
DPv	100	84,12	100	100	49,06	86,6 ± 22,131 a
DPp	96,15	100	71,43	47,06	64,1	75,6 ± 22,278 a
DGv	10	29,13	15,14	76,65	44,44	35,0 ± 26,954 b
FIv	35,64	42,82	40,41	6,21	0	25,0 ± 20,347 b
DGp	0	0	0	0	0	0 b
FIp	0	0	0	0	0	0 b

Análise de variância (ANOVA: $F = 19,287$; $P < 0,0001$, considerado extremamente significativo); Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente (teste Tukey-Kramer, $\alpha = 0,05$). DPv e DPp: discos pequenos de vegetal e papel; DGv e DGp: discos grandes de vegetal e de papel; FIv e FIp: folhas inteiras vegetais e folhas inteiras de papel. C1, C2, C3, C4, C5: cinco colônias utilizadas.

6.1.2 Aceitação das folhas de *Alchornea triplinervia* pelas operárias

Quanto ao material de origem vegetal, tanto folhas inteiras (FIv) quanto discos grandes (DGv) e pequenos (DPv) foram carregados, evidenciando que *A. triplinervia* é palatável e possível de ser cortada por operárias de colônias de laboratório. No entanto, para as formas confeccionadas em papel, o carregamento foi nulo, exceto para os discos pequenos (Tabela 2).

Tanto discos pequenos vegetais (DPv) quanto discos pequenos de papel (DPp) tiveram o carregamento significativamente superior aos demais tratamentos, sendo 76,2% para DPv e 59,6% para DPp. As folhas inteiras de vegetal (FIv) e discos grandes vegetais (DGv) tiveram o carregamento intermediário, 47,8% e 35,2% respectivamente. Os tratamentos menos carregados foram folhas inteiras e discos grandes, ambos de papel (FIp e DGp) com carregamento nulo.

Tabela 2: Exploração de *Alchornea triplinervia* em função da resistência mecânica ao corte e palatabilidade das folhas

Tratamentos (Formatos)	Porcentagem de massa foliar de <i>A. triplinervia</i> e de papel filtro cortados por <i>A. sexdens rubropilosa</i> .					Média e Desv. Padrão
	C1	C2	C3	C4	C5	
DPv	100,0	55,1	100,0	25,6	100,0	76,2 ± 34,164 a
DPp	91,5	46,3	15,0	100,0	44,7	59,6 ± 35,559 a
DGv	64,6	22,2	47,3	11,1	31,3	35,2 ± 21,241 ab
FIV	89,0	100,0	50,4	0,0	0,0	47,8 ± 47,426 ab
DGp	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0 b
FIP	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0 b

Análise de variância (ANOVA: F = 5,730; P < 0,0013, considerado muito significativo); Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente (teste Tukey-Kramer, $\alpha = 0,05$). DPv e DPp: discos pequenos de vegetal e papel; DGv e DGp: discos grandes de vegetal e de papel; FIV e FIP: folhas inteiras vegetais e folhas inteiras de papel. C1, C2, C3, C4, C5: cinco colônias utilizadas.

6.1.3 Aceitação das folhas de *Croton floribundus* pelas operárias

Apesar dos valores de massa carregada de folhas inteiras e discos grandes confeccionados em papel (FIP e DGp) não serem nulos, estes com 2,4 e 1,2% de massa carregada pelas formigas foram significativamente inferiores aos demais tratamentos. As formas vegetais (FIV e DGv) foram intermediárias com 42,6 e 21,8% de massa removida. Os discos pequenos (DPv e DPp), diferiram superiormente com massa cortada de 73,4% e 100% respectivamente. Os resultados permitem observar que nas condições experimentais, *C. floribundus* é palatável e possível de ser cortada pelas formigas (Tabela 3).

Tabela 3: Exploração de *Croton floribundus* em função da resistência mecânica ao corte e palatabilidade das folhas.

Tratamentos (Formatos)	Porcentagem de massa foliar de <i>C. floribundus</i> e de papel filtro cortados por <i>A. sexdens rubropilosa</i> .					Média e Desv. Padrão
	C1	C2	C3	C4	C5	
DPp	100	100	100	100	100	100,0 a
DPv	70,27	56,46	85,43	88,16	68,23	73,4 ± 13,145 a
FIV	15,75	87,41	48,07	45,19	16,66	42,6 ± 29,02 b
DGv	7,1	12	38,03	40,68	11,23	21,8 ± 16,3 c
FIP	1,16	0	3,7	7,41	0	2,4 ± 3,05 cd
DGp	1,18	2,38	0	0	2,5	1,2 ± 1,304 d

Análise de variância (ANOVA: $F = 37,029$; $P < 0,0001$, considerado extremamente significativo); Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente (teste Tukey-Kramer, $\alpha = 0,05$). DPv e DPp: discos pequenos de vegetal e papel; DGv e DGp: discos grandes de vegetal e de papel; FIV e FIP: folhas inteiras vegetais e folhas inteiras de papel. C1, C2, C3, C4, C5: cinco colônias utilizadas.

6.1.4 Aceitação das folhas de *Faramea cyanea* pelas operárias

Nesta etapa dos experimentos, os tratamentos constituídos por discos pequenos (DPv e DPp) foram significativamente superiores quanto à massa carregada pelas formigas (88,2% e 79,8%) respectivamente. Com relação aos tratamentos restantes (FIV, FIP, DGv e DGp), estes foram inferiores, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 4). Contudo os tratamentos vegetais (FIV e DGv) tiveram parte do seu conteúdo cortado e carregado, sendo aproximadamente 8,8% para folhas inteiras e 13,6% para discos grandes. Os resultados permitiram observar que as folhas de *F. cyanea* foram palatáveis, uma vez que os discos pequenos foram carregados, e relativamente resistentes ao corte, considerando-se que tanto folhas inteiras (FIV) quanto discos grandes (DGv) não diferiram significativamente dos formatos menos carregados (FIP e DGp), os quais foram pouco explorados quando comparados aos demais tratamentos.

Perante os resultados, sugere-se que *F. cyanea* é palatável, porém bastante resistente ao corte.

Tabela 4: Exploração de *Faramea cyanea* em função da resistência mecânica ao corte e palatabilidade das folhas.

Tratamentos (Formatos)	Porcentagem de massa foliar de <i>F. cyanea</i> e de papel filtro cortados por <i>A. sexdens rubropilosa</i> .					Média e Desv. Padrão
	C1	C2	C3	C4	C5	
DPv	100	100	100	40,64	97,84	88,2 ± 26,386 a
DPp	50	89,47	60	100	100	79,8 ± 23,35 a
DGv	2,94	35,4	7,59	4,87	16,55	13,6 ± 13,107 b
FIv	0	12,12	17,78	12,37	0	8,8 ± 8,672 b
FIp	0	0	5	5,26	0	2 ± 2,379 b
DGp	0	0	0	0	0	0 b

Análise de variância (ANOVA: $F = 33,067$; $P < 0,0001$, considerado extremamente significativo); Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente (teste Tukey-Kramer, $\alpha = 0,05$). DPv e DPp: discos pequenos de vegetal e papel; DGv e DGp: discos grandes de vegetal e de papel; FIv e FIp: folhas inteiras vegetais e folhas inteiras de papel. C1, C2, C3, C4, C5: cinco colônias utilizadas.

6.1.5 Avaliação geral das plantas da mata quanto à palatabilidade e resistência mecânica ao corte

Numa avaliação geral dos experimentos, nota-se que, independentemente da origem do material, seja ela vegetal ou papel, os discos pequenos obtiveram carregamento significativamente maior quando comparados aos demais tratamentos, para todas as espécies de plantas testadas.

Quando as escoteiras entram em contato com uma fonte vegetal disponível, podem retornar ao ninho marcando trilhas químicas ou carregar amostras do material encontrado (Hubbell et al., 1980 citado por Della-Lucia, 1993). Assim as amostras são levadas até as companheiras do ninho, exibindo um comportamento de recrutamento, como descrito para *A. cephalotes* por Jaffé & Howse (1979).

Roces (1990) observou que há um condicionamento olfatório para *Acromyrmex lundii*, onde utilizou material inerte impregnado com diferentes odores, e através da troca do material exposto às escoteiras, notou que as operárias recrutadas foram atraídas pelo odor do material previamente coletado pela escoteira.

Contudo, através de estudos sobre a transferência de informação entre operárias de *A. lundii*, sobre a fonte alimentar e o tamanho do fragmento cortado, Rocés &

Núñez (1993) permitiram o contato entre escoteiras e materiais com diferentes concentrações de sacarose, quando as operárias recrutadas chegaram ao local de forrageamento, depararam-se com folhas de Parafilm[®] (material inerte) sem adição de sacarose. Os autores observaram que as operárias recrutadas pelas escoteiras que tiveram contato com maiores concentrações de sacarose apresentaram-se mais estimuladas ao forrageamento, cortando fragmentos menores e deslocando-se com maior velocidade até a colônia.

Apesar dos dados de Roces & Núñez (1993) terem sido obtidos para o tamanho do fragmento cortado e velocidade de transporte do substrato, é concebível que fenômeno semelhante tenha ocorrido, quando além dos discos pequenos vegetais (DPv), as operárias de *A. sexdens rubropilosa* coletaram os discos pequenos de papel (DPp). Sugerindo que houve um estímulo gerado pela presença dos discos de plantas que ocasionou no carregamento dos discos de papel, pois estavam prontamente disponíveis.

Outra possível explicação para o carregamento dos discos de papel (DPp) seria a presença indesejada de atrativos químicos no material, no entanto se isso tivesse ocorrido, as outras formas confeccionadas em papel (DGp e FIp) seriam mais atrativas, o que não foi confirmado. A isenção de atrativos químicos no papel foi confirmada através do oferecimento apenas dos discos de papel para as operárias nas mesmas condições experimentais, os quais não foram carregados (comunicação pessoal).

Ao contrastar a palatabilidade das plantas com a resistência ao corte durante os ensaios, notou-se que todas as espécies testadas foram palatáveis. Apesar de algumas plantas terem sido mais resistentes ao corte, outras menos, os discos pequenos sempre tiveram o carregamento significativamente superior. Essa conclusão se deu partindo do pressuposto de que “se as folhas forem palatáveis, porém duras demais para serem cortadas, espera-se que apenas os discos pequenos sejam carregados pelas formigas” (Waller 1982 a). Notando-se assim, que esta condição foi observada para *A. communis* e *F. cyanea*, principalmente ao que se refere à resistência ao corte.

Mesmo com certa resistência ao corte pelas formigas, a alta frequência de ataque à *F. cyanea* no campo pode estar relacionada com o maior tamanho dos ninhos e maior quantidade de operárias com maiores dimensões corporais recrutadas para o corte. Uma vez que a resistência mecânica não impede o ataque de formigas cortadeiras como já foi estudado por Wilson (1980).

Com relação a *A. communis*, também foi observada certa resistência ao corte, porém as folhas não se apresentaram resistentes mecanicamente, pois foram bastante maleáveis e pouco espessas. Em testes prévios foi a espécie que menos resistiu ao corte por laminas de aço (dados não publicados).

Apesar das folhas não oferecerem resistência mecânica quanto à dureza, observou-se a sutil exudação de látex quando as folhas foram cortadas ou sofreram algum tipo de injúria, o que pode ter contribuído para a baixa frequência de ataque das plantas pelas formigas na mata, uma vez que nessas condições é necessário cortar as folhas. Ao estudar os efeitos que as plantas causam à formiga *A. cephalotes*, Stradling (1978) relatou que, a presença de látex nas folhas, dificulta a realização de cortes pelas formigas.

C. floribundus registrada como uma das plantas com baixa frequência de ataque (Garcia, 1997) foi palatável e pouco resistente ao corte, portanto a pequena exploração no campo possivelmente se deve a outros fatores, que não os encontrados nas condições experimentais.

Por fim, *A. triplinervia*, que foi a espécie registrada com maior frequência de ataque por *Atta sexdens* em área de mata (34,48%) (Garcia, 1997), apresentou-se palatável às operárias de laboratório e possível de ser cortada.

No presente trabalho, apenas as folhas maduras foram oferecidas. No entanto sabe-se que a maturidade das folhas promove consideráveis diferenças na atratividade tanto em campo quanto em laboratório (Howard, 1988; Cherrett, 1968). Assim a ausência de diferenças significativas na preferência das plantas pelas formigas nas condições de laboratório é concebível, pois no campo são encontradas folhas de diferentes idades na mesma planta.

Em experimentos de atratividade das plantas da mata às formigas, nos quais foram oferecidos discos pequenos de cada espécie vegetal ao mesmo tempo na arena de forrageio de colônias de laboratório, não foram detectadas diferenças estatísticas significativas na preferência das formigas. Os resultados do experimento permitem concluir que as quatro espécies oferecidas são palatáveis, sendo igualmente aceitas (ver item 6.2.2. Ensaios de atratividade), confirmando a complexa e variada preferência por plantas (Cherrett, 1968, 1972; Lytledyke & Cherrett, 1975; Fowler, 1977).

6.2 Papel do fungo na seleção de plantas por *Atta sexdens rubropilosa*

O estudo do papel do fungo na seleção de plantas surgiu como uma possibilidade de tentar melhor compreender o complexo sistema de escolha de substratos pelas formigas cortadeiras. Assim, uma das maneiras de se estudar essa relação, foi oferecer algumas espécies de plantas às formigas e concomitantemente, cultivar o fungo em meios de cultura acrescidos com extratos destas. Para tanto, os resultados foram analisados através do cruzamento dos dados obtidos para o carregamento de plantas pelas formigas em laboratório e os extratos vegetais que propiciaram maior desenvolvimento para o fungo.

6.2.1 Cultivo e manutenção do fungo simbiote de *Atta sexdens rubropilosa*

Anteriormente aos experimentos de atratividade, no laboratório de Insetos Sociais-Praga, cepas do fungo simbiote foram isoladas a partir de fragmentos retirados do jardim de fungo cultivado pelas formigas. O micélio foi cultivado em placas de Petri com meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), 27g/L. A massa micelial foi repicada também em meio BDA, o que possibilitou a obtenção de quantidade de inóculos suficientes para serem utilizados nos bioensaios de desenvolvimento do fungo em meio artificial.

O pH dos meios de cultura foi ajustado para uma faixa próxima de 5,1 para todos os tratamentos, pois a faixa de pH entre 4,5 e 6,0 não desfavorece o crescimento do fungo de *A. capiguara* (Boaretto, 2000). Há também evidências que a mesma faixa de pH, mais precisamente igual a cinco, promove maior crescimento de fungos de Attini (Powell & Stradling, 1986), incluindo o fungo cultivado por *A. sexdens* (Silva-Pinhati et al., 2005).

O isolamento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* procedeu-se a partir da montagem de lâminas com fragmentos do fungo retirado das esponjas pertencentes às colônias, onde foi possível observar ao microscópio óptico a presença de gongilídeos, que são exclusivos dos fungos simbiotes de formigas cortadeiras. A presença de estáfilas (conjunto de gongilídeos) permitiu o reconhecimento do fungo simbiote, o qual pertence ao grupo 1 (G1) dos basidiomicetos (Chapela et al., 1994).

6.2.2 Ensaios de atratividade das folhas às operárias

Nos ensaios em que se estudou a palatabilidade das plantas e resistência mecânica das folhas ao corte de *A. sexdens rubropilosa*, não foi possível efetuar a comparação direta entre as plantas, pois os tratamentos foram constituídos dos recortes das folhas de cada espécie vegetal e comparados entre si.

Assim, para verificar a atratividade das plantas na preferência das formigas, as quatro espécies vegetais foram oferecidas ao mesmo tempo na arena de forrageio das colônias de laboratório. Cada ensaio encerrou apenas quando todos os fragmentos (15 discos) da mesma espécie foram carregados.

Além de confirmar a palatabilidade das plantas nos experimentos anteriormente descritos (item 6.1.), os ensaios foram montados para estudar o desenvolvimento do fungo nos extratos aquosos plantas mais aceitas. Para tanto as plantas foram coletadas na mata em duas épocas do ano, referentes aos meses de março e agosto do ano de 2005.

Em mata secundária, *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) foi a planta mais explorada por *A. sexdens*, com maior frequência de ataque (34,48%), com maior intensidade entre os meses maio e outubro, seguida por *Faramea cyanea* (Rubiaceae) com 20,68% , com maior intensidade entre os meses de maio e setembro (Garcia, 1997). Para ambas as épocas de estudos do presente trabalho, não houve diferenças no carregamento dos fragmentos das plantas em laboratório (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5: Atratividade exercida por discos pequenos (0,5 cm de diâmetro) de plantas da mata, coletadas em março de 2005 às operárias de *A. sexdens rubropilosa* nas condições de laboratório.

Tratamentos	Número de discos carregados					Média e Desv. Padrão
	C1	C2	C3	C4	C5	
<i>A.communis</i>	10,0	12,0	7,7	7,3	10,0	9,4 ± 1,9 a
<i>A.triplinervia</i>	11,0	6,7	12,7	9,0	13,7	10,6 ± 2,8 a
<i>C.floribundus</i>	10,7	11,7	5,7	8,3	6,7	8,6 ± 2,6 a
<i>F.cyanea</i>	10,3	7,3	7,0	10,3	11,7	9,3 ± 2,1 a

Análise de variância (ANOVA: F = 0,6142; P = 0,6157, não considerado significativo); Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente (teste Tukey-Kramer, $\alpha = 0,05$). C1, C2, C3, C4, C5: cinco colônias utilizadas.

Tabela 6: Atratividade exercida por discos pequenos (0,5 cm de diâmetro) de plantas da mata, coletadas em agosto de 2005 às operárias de *A. sexdens rubropilosa* nas condições de laboratório.

Tratamentos	Número de discos carregados					Média e Desv. Padrão
	C1	C2	C3	C4	C5	
<i>A.communis</i>	0,8	10,8	15,0	13,5	1,0	8,2 ± 6,1 a
<i>A.triplinervia</i>	10,5	9,0	2,0	13,0	12,3	9,4 ± 4,4 a
<i>C.floribundus</i>	15,0	13,0	11,5	7,5	12,3	11,8 ± 3,2 a
<i>F.cyanea</i>	6,5	9,3	1,5	10,5	4,3	6,9 ± 4,0 a

Análise de variância (ANOVA: F = 0,8241; P = 0,5037, não considerado significativo); Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente (teste Tukey-Kramer, $\alpha = 0,05$). C1, C2, C3, C4, C5: cinco colônias utilizadas.

A seleção de plantas por formigas cortadeiras é um fenômeno complexo que envolve o comportamento social e implicações ecológicas (Cherrett & Seaforth, 1970; Fowler, 1982). As formigas cortadeiras são extremamente polípagas, no entanto, apesar da grande diversidade de plantas exploradas, nota-se também certas preferências por determinadas espécies ou grupos de plantas (Cherrett, 1968, 1972; Rockwood, 1976). No presente estudo não foi possível a observação destas preferências, uma vez que houve aceitação diversificada das plantas.

Contudo o carregamento de todas as plantas oferecidas permitiu observar a exploração por diferentes espécies de plantas ao mesmo tempo, corroborando os

trabalhos, nos quais a exploração de grande diversidade de plantas por formigas cortadeiras foi observada (Wheeler, 1907 citado por Cherrett, 1972; Cherrett, 1968; Rockwood, 1975, 1987, 1988).

6.2.3 Preparação dos extratos aquosos de folhas e do meio de cultura

Os extratos vegetais foram obtidos através da coleta e processamento das folhas de *A. communis*, *A. triplinervia*, *C. floribundus* e *F. cyanea*. Antes de serem processadas, as folhas higienizadas para a remoção de materiais indesejáveis presentes na superfície foliar. As folhas foram maceradas em um aparelho liquidificador, utilizando-se 50g de massa verde/ 100mL de água destilada e autoclavada, adaptação das metodologias utilizada por Lapointe (1996) e Boaretto (2000). Após o processamento das folhas, os extratos aquosos passaram por filtros de Nylon[®]. O processo de maceração das folhas e a filtragem dos extratos foram realizados no interior de uma câmara de fluxo laminar. Esse processo tornou viável a utilização dos extratos com considerável redução de possíveis contaminantes.

Cada espécie vegetal passou separadamente por processo químico de assepsia semelhante aos processos adotados em técnicas de cultura de tecidos vegetais, como a de meristemas. A técnica consistiu na imersão das folhas em soluções de álcool etílico (70%) por 10 segundos, Hipoclorito de sódio (0,5%) por cinco minutos e sulfato de estreptomicina (50mg/L) por 10 minutos. Entre imersões, as folhas foram lavadas em água destilada para a retirada de resíduos das soluções assépticas. Sendo que, ao terminar o tratamento, cada lote de folhas foi submetido a três lavagens sucessivas com água destilada.

Em experimentos anteriores, realizados com o intuito de preservar ao máximo as características originais dos extratos aquosos de plantas, observou-se que os procedimentos de assepsia contribuíram para a redução de microorganismos contaminantes, além de oferecerem menores riscos de degradação promovida pelo aquecimento dos extratos de plantas. Os ensaios foram realizados tanto para os fungos simbiotes de *A. capiguara* (Noronha et al., 2004), quanto para o fungo de *A. sexdens rubropilosa* (dados não publicados).

Uma vez preparados, os meios de cultura adicionados com extratos de plantas não autoclavados foram vertidos em placas de petri. Todas as etapas de preparação dos meios de cultura e extratos vegetais, exceto o processo de autoclavagem e lavagem das folhas,

foram realizados em câmara de fluxo laminar e manuseados com todo cuidado para se evitar contaminações.

6.2.4 Desenvolvimento do fungo nos extratos aquosos das plantas mais aceitas pelas operárias de *A. sexdens rubropilosa*

As observações do crescimento do fungo foram realizadas através de medições do diâmetro micelial na terceira semana de incubação (aos 21 dias). A produção de estáfilas ocorreu aos 21 dias, após a inoculação no meio de cultura. De acordo com Bass & Cherrett (1995), o início da produção de estáfilas ocorre ao 21^o dia de crescimento, quando a colônia do fungo esta com 1 cm de diâmetro.

Durante o referido período, notou-se que o crescimento no meio de cultura acrescido com extrato aquoso de *C. floribundus* (18,2 mm) foi significativamente superior ao crescimento do fungo em extrato de *A. triplinervia* (16 mm). Os meios com extratos de *A. communis* (17,6 mm) e *F. cyanea* (17,6 mm), além da testemunha (apenas meio BDA) (17,6 mm) não diferiram quanto ao diâmetro micelial. Logo após as devidas medições do fungo no vigésimo primeiro dia de incubação, realizou-se a visualização da presença de estáfilas.

A avaliação foi realizada através de observação do fungo sob uma lupa, onde foi atribuída a presença ou ausência dessas estruturas, indicando a maturação para o consumo pelas formigas. As estáfilas estiveram presentes em todos os tratamentos, inclusive na testemunha.

As medidas do crescimento micelial foram feitas tomando-se duas medidas por repetição (placas). Os valores foram lidos com o auxílio de um paquímetro em dois segmentos de reta perpendiculares entre si, os quais foram traçados no fundo das placas onde o fungo foi cultivado. O desenvolvimento do fungo ocorrido nos diferentes meios de cultura pode ser observado na Tabela 7.

Tabela 7: Medidas do fungo na terceira semana de incubação

Tratamentos (extratos das plantas da mata)	Média do diâmetro micelial (mm) e desvio padrão
<i>Croton floribundus</i>	18,100 ± 2,623 a
<i>Actinostemom communis</i>	17,556 ± 0,6821 ab
<i>Faramea cyanea</i>	17,556 ± 1,074 ab
Testemunha (BDA)	17,556 ± 1,074 ab
<i>Alchornea triplinervia</i>	16,00 ± 1,396 b

Análise de variância (ANOVA: F = 2,776; P = 0,0388, considerado significativo); Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente (teste Tukey-Kramer, $\alpha = 0,05$).

Com o intuito de elucidar o papel do fungo na seleção de plantas, alguns trabalhos já foram realizados. Portanto considerando-se que as formigas cortadeiras exibem certas preferências por determinadas plantas, alguns autores estudaram a possibilidade de que substratos mais forrageados promovam maiores taxas de crescimento para o fungo simbiote.

Assim, Quinlan & Cherrett (1978), estudaram a relação entre as formigas *A. octospinosus* e *A. cephalotes* e seus respectivos fungos simbiotes, constatando que as operárias de *A. octospinosus* preferiram. Em termos de carregamento, os substratos: cevada, polpa cítrica, lentilha e flocos de milho, nesta ordem, apesar de algumas variações entre as colônias; enquanto que *A. cephalotes* preferiu polpa cítrica. No entanto, as taxas de crescimento do fungo, em meio artificial contendo os mesmos substratos, não foram superiores naqueles contendo os substratos mais carregados. Os autores concluíram que as formigas não selecionam necessariamente materiais que propiciam o melhor crescimento para o fungo.

Mudd & Bateman (1979) utilizaram informações sobre as taxas de desenvolvimento do fungo simbiote de *A. cephalotes* em substratos mais aceitos pelas operárias para explicar essas preferências. Os autores constataram que o crescimento do fungo em meio de cultura contendo extratos de plantas selecionadas pelas formigas, foi afetado pelas espécies vegetais, pH, concentração dos extratos e pré-tratamento dos substratos pelas

formigas. Não foi possível estabelecer relações entre taxa de crescimento e a preferência de forrageio. No entanto foram encontrados indícios de que as plantas mais atrativas promoveram maior crescimento do fungo. Também foi constatado pelos autores que o crescimento do fungo pode ser mais afetado por inibidores de crescimento do que pela disponibilidade de nutrientes.

Estudando o comportamento de forrageio de *A. landolti* e *A. laevigata* em relação ao carregamento de espécies de gramíneas forrageiras e o crescimento do fungo simbiote de ambas as espécies em meio artificial contendo extratos aquosos das plantas estudadas. Constatou-se que para as duas espécies de formiga, ocorreram reduções na taxa de crescimento do fungo nos meios contendo extratos das espécies pouco atrativas ao corte (*Brachiaria* spp.) (Lapointe et al., 1996). Os autores concluíram que a “resistência” em *Brachiaria* spp. é conferida por fatores inibitórios da planta ao fungo simbiote. No entanto os mesmos autores constataram o crescimento equivalente do fungo em extrato aquoso de planta suscetível ao ataque das formigas ou na testemunha, constituída apenas de ágar.

Para *A. capiguara*, Boaretto (2000) verificou que as gramíneas mais aceitas foram: *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar), *Pennisetum purpureum* (capim elefante), *Hiparrhenia rufa* (capim jaraguá) e *Paspalum* spp. (grama batatais) e *Brachiaria brizantha*, nesta ordem respectivamente. Verificou-se que os extratos de cana e braquiária foram desfavoráveis ao crescimento do fungo. Ainda para *A. capiguara*, Noronha et al. (2003) confirmou a maior aceitação de *S. officinarum* pelas operárias nas condições de campo, no entanto não foi observada nítida relação entre a planta mais aceita e o maior desenvolvimento do fungo, mas foi observada forte rejeição por *Brachiaria decumbens* e inibição do crescimento micelial.

Existem trabalhos que têm discutido a seleção de plantas com compostos atrativos ou estimulantes por formigas cortadeiras. Porém a presença de substâncias repelentes e tóxicas às formigas ou ao fungo cultivado podem estar mascaradas. Dentro desta linha de pesquisa que procura plantas tóxicas para controle de formigas cortadeiras encontram-se trabalhos com gergelim (*Sesamum indicum*) (Hebling-Beraldo et al., 1986; Bueno et al., 1995; Pagnocca et al., 1996; Costa et al., 1997; Sinhori et al., 1997), mamona (*Ricinus communis*) (Fernandes et al., 1997), *Canavalia ensiformes* (Takahasahi-Del-Bianco et al., 1997), e *Virola* sp. (Pagnocca et al., 1996). Com esta perspectiva, existem

indícios de que o fator de seleção pode estar mais relacionado com a preferência da formiga à planta, e não com o substrato que promove uma maior taxa de crescimento do fungo simbiote.

Quanto aos resultados obtidos para o desenvolvimento do fungo nos extratos aquosos de *A. communis*, *A. triplinervia*, *C. floribundus* e *F. cyanea*, encontrou-se certa dificuldade em comparar o crescimento do fungo com as plantas mais atrativas uma vez que as quatro espécies não diferiram em termos de carregamento, sendo todas aceitas pelas operárias. Provavelmente as plantas não apresentaram compostos repelentes às formigas. Apesar de *A. triplinervia* ter propiciado crescimento menor ao fungo do que apenas o meio com extrato de *C. floribundus*, aparentemente nenhum tipo de rejeição foi constatada para as folhas dessa planta.

Foi constatado ainda que *C. floribundus*, registrada com baixa frequência de ataque (1,72%) propiciou maior crescimento para o fungo (18,1mm de diâmetro), enquanto que a planta registrada com maior frequência de ataque, a *A. triplinervia* (34,48%) propiciou o menor crescimento micelial (16,0 mm). Portanto, ficou evidente que plantas frequentemente atacadas, não necessariamente propiciam o maior crescimento do fungo, sugerindo que o fungo não determina quais plantas devem ser coletadas.

Tratando-se das implicações que os vegetais coletados pelas formigas propiciam para o desenvolvimento do fungo, principalmente quanto à inibição do crescimento ou injúrias provocadas, nota-se que para que haja rejeição do vegetal, torna-se necessário o contato prévio do fungo com o substrato. Como exemplo, cita-se os estudos de Ridley et al. (1996), onde os autores observaram que as formigas percebem e rejeitam substratos que causam injúrias ao fungo simbiote, através da impregnação de fungicida em polpa de laranja oferecida às colônias de *Atta* e *Acromyrmex*.

Os autores sugeriram que este comportamento de rejeição está relacionado com a produção de semioquímicos pelo fungo durante o estresse causado pelo fungicida e disseminado entre as formigas por trofalaxia ou “grooming” (ato de limpeza onde as formigas lambem umas as outras e também se lambem). O que de certa forma regula a seleção de plantas pelas formigas.

6.3 Influência dos estímulos físicos e químicos do substrato no corte por *A. sexdens rubropilosa*

As folhas confeccionadas em papel filtro mimetizaram folhas de *Ligustrum* sp. correspondendo ao formato e tamanho de folhas naturais maduras. Foi possível padronizar a idade das folhas através da coleta de folhas com mesma coloração e tamanho do limbo foliar (Barrer & Cherrett, 1972). Além de serem coletadas sempre da mesma posição nos ramos e na planta.

Todas as folhas tiveram o mesmo molde para o recorte dos bordos, obedecendo, assim um padrão com relação ao formato e localização do recortes. A espessura das folhas manteve-se a mesma, por meio da utilização de papel filtro.

Em alguns tratamentos foram realizados recortes em forma de “v”, assumindo a função de estímulo físico ao corte (Forti, 1985 b). Os estímulos químicos ao corte foram dados através da impregnação do papel com extrato aquoso de folhas maduras de *Ligustrum* sp..

O experimento constituiu-se dos seguintes tratamentos: folhas sem recortes e sem extrato (Fi), folhas apenas com extrato (Fie), folhas apenas com recortes (Fr) e folhas com recortes e extratos (Fre). A avaliação dos experimentos foi feita através da contagem do número de cortes realizados pelas operárias nas folhas. Antes que o primeiro fragmento de um dos tratamentos fosse retirado o ensaio foi encerrado.

No presente estudo foi observado que o substrato contendo estímulos físico e químico (Fre), como folhas de papel contendo cortes em “v” nos bordos e impregnadas com extrato de planta respectivamente foi significativamente superior quanto ao número de cortes realizados pelas operárias (Figura 3).

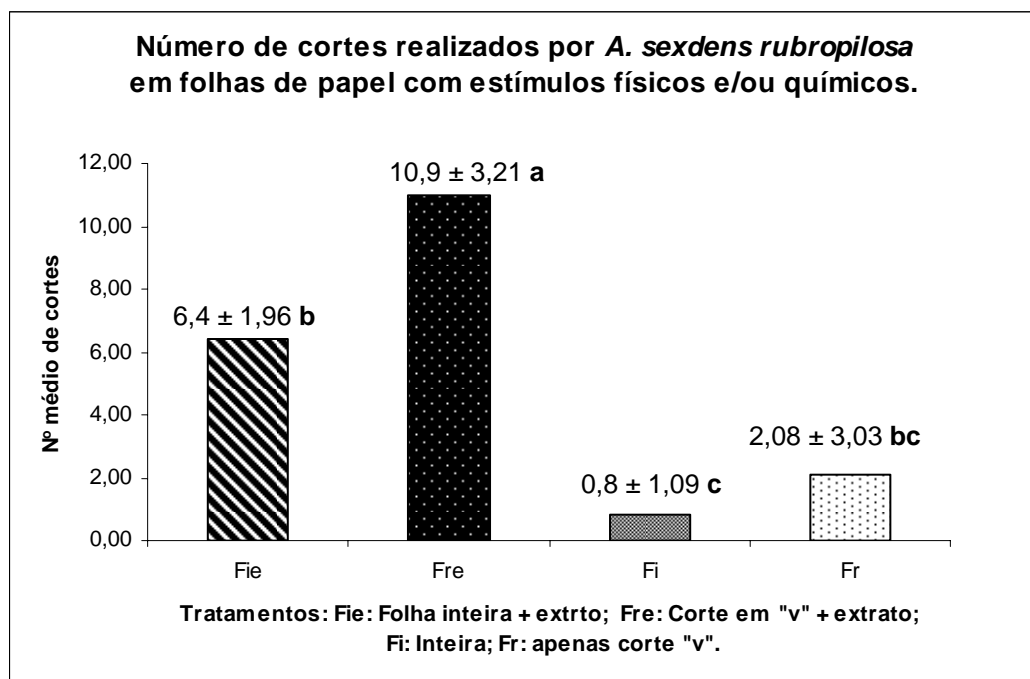


Figura 3: Exploração de folhas de papel por *A. sexdens rubropilosa* em função da presença de cortes simulados e extratos de folhas de *Ligustrum* sp.. Análise de variância (ANOVA: $F = 17,073$; $P < 0,0001$, considerado extremamente significativo); Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente (teste Tukey-Kramer, $\alpha = 0,05$).

Dentre os estudos que utilizam diferentes hipóteses para explicar como se dá a seleção de plantas por formigas cortadeiras, cita-se: os aspectos químicos (Cherrett, 1968; Rockwood, 1975), aspectos físicos (Barrer & Cherrett, 1972; Cherrett, 1972; Stradling, 1978; Waller, 1982 a, b). Incluindo que cortes ou qualquer tipo de dano nas folhas aumentam a probabilidade da ocorrência de outros cortes por *A. cephalotes* (Barrer & Cherrett, 1972). Cortes simulados, realizados em folhas de *Eucalyptus grandis* e *E. citriodora*, estimularam as operárias de *A. sexdens rubropilosa* ao corte (Forti, 1985 b).

Baseando-se na hipótese de que a forma amostral afeta a atratividade, Santana et al. (1990) estudaram em laboratório a preferência de *A. sexdens rubropilosa* e *A. laevigata* por folhas de *Eucalyptus urophila* e *E. saligna*, cortadas em fragmentos nos formatos circular, semicircular, triangular e quadrangular, constatando que todas as formas foram igualmente atrativas as duas espécies de formigas. de *A. sexdens rubropilosa* e *A. laevigata*.

A soma dos estímulos físicos e químicos foi considerada mais expressiva, pois além de diferir significativamente, notou-se que tanto os estímulos físicos quanto os químicos, quando estudados separadamente, não diferiram entre si em termos do número de cortes pelas operárias. Verificou-se que em primeira instância as características químicas das folhas são muito importantes na seleção de plantas por *A. sexdens rubropilosa*, mas que as características físicas podem apresentar-se tão importantes quanto.

Segundo Barrer & Cherrett (1972), cortes ou injúrias previamente provocados nas folhas aumentam a probabilidade da ocorrência de novos cortes por *A. cephalotes*. Os autores discutiram que esse aumento nos cortes, se deve ao estímulo físico promovido pelo formato dos recortes nos bordos das folhas ou quimicamente, atribuído às substâncias voláteis que folhas injuriadas exalam, facilitando a percepção destas pelas formigas.

Em estudos conduzidos por Forti (1985 b), foi verificado que os cortes em “v” nos bordos das folhas atuam como estímulo físico à *A. sexdens rubropilosa*, aumentando o número de cortes provocados pelas operárias nas folhas. Os resultados, aqui obtidos, corroboram os trabalhos anteriormente citados.

6.4 Influência da dureza e idade das folhas na preferência por *A. sexdens rubropilosa*

Neste ensaio foram oferecidas folhas confeccionadas em papel sulfite nas gramaturas de 75g/m² e 120g/m², recortadas com o formato semelhante ao de folhas naturais de *Ligustrum* sp. (sete centímetros de comprimento por três centímetros de largura), sendo que estas foram impregnadas com extratos aquosos de folhas jovens e velhas da mesma espécie de planta.

Assim os quatro tratamentos foram: folhas com 75g/m² com extrato de folhas novas (75 n) (simulação de folhas novas naturais); folhas de 75g/m² com extratos de folhas velhas (75 v); folhas de 120g/m² com extratos de folhas novas (120 n); folhas de 120g/m² com extratos de folhas velhas (120 v) (simulação de folhas velhas naturais).

Os resultados podem ser observados na Figura 4, onde as folhas que receberam maior número de cortes foram aquelas, confeccionadas com papel menos espesso e

impregnada com extrato de folhas jovens, as quais mimetizaram as folhas novas (75 n). As folhas menos cortadas foram as que mimetizaram folhas velhas (120 v).

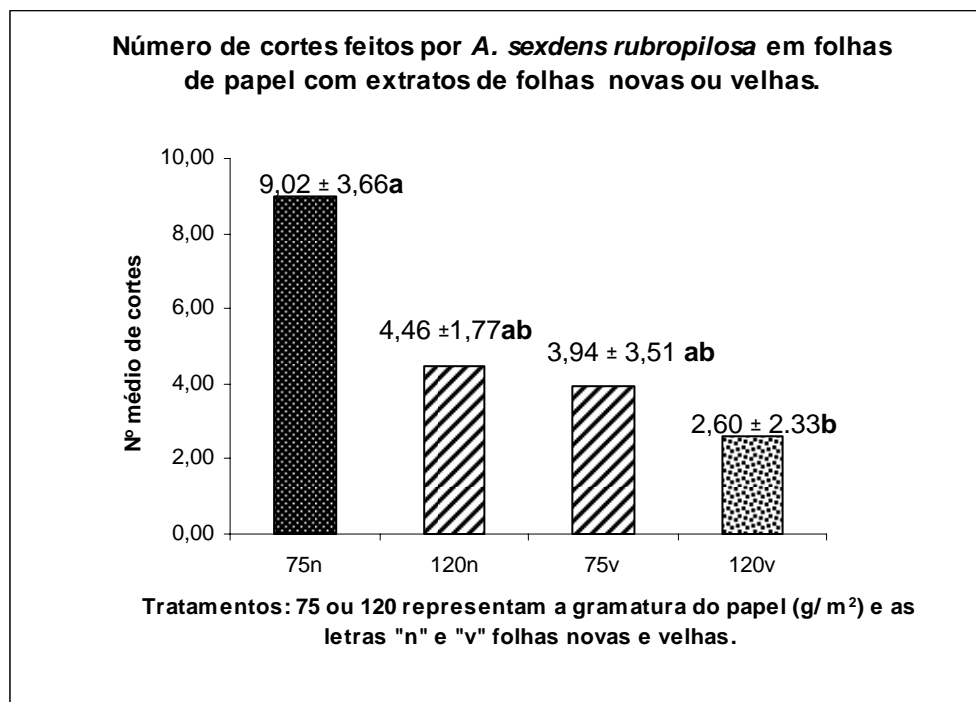


Figura 4: Exploração de folhas de papel por *A. sexdens rubropilosa* em função de dureza e presença de extratos de folhas novas e velhas de *Ligustrum* sp.. Análise de variância (ANOVA: F = 4,527; P < 0, 0176, considerado significativo); Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente (teste Tukey-Kramer, $\alpha = 0,05$).

De modo geral as formigas cortadeiras apresentam certas preferências por determinados órgãos vegetais de determinadas plantas, assim Pintera (1983), concluiu que as formigas cortadeiras forrageiam órgãos de plantas seguindo uma ordem decrescente de preferência, sendo explorados respectivamente folhas jovens, maduras, secas e partes florais. No entanto para *A. sexdens rubropilosa*, Sales et al. (1994) notou que as flores de citros são mais exploradas em laboratório.

Quando se compara a aceitação de folhas novas ou velhas por formigas cortadeiras, nota-se maior freqüência de trabalhos que demonstram a preferência por folhas jovens (Cherrett e Seaforth, 1970; Barrer & Cherrett, 1972; Cherrett, 1972; Rockwood, 1972; Littleddyke & Cherrett, 1978, Waller, 1982 a).

Cherrett & Seaforth (1970) utilizaram papel filtro impregnado com extratos de folhas novas e velhas de *Citrus paradisi* e *Hibiscus* sp. com o intuito de estudar os

efeitos das características químicas das plantas à preferência por *A. cephalotes* e *A. octospinosus*. Os autores concluíram que a preferência por folhas mais novas se deu através da maior quantidade de nutrientes e de menor quantidade de compostos químicos secundários.

Em experimentos de campo, Cherrett (1972) estudaram alguns fatores que envolvem a seleção de plantas por formigas cortadeiras, onde se observou que as plantas mais selecionadas são mais tenras, possuem grandes quantidades de seiva e são pouco densas, características frequentemente encontradas em folhas novas. Também foi observado que extratos de folhas velhas repeliram as formigas, sugerindo que tanto os aspectos físicos quanto os químicos interferem na seleção de plantas por formigas cortadeiras.

Além de estímulos físicos gerados por cortes simulados nas folhas, Barrer & Cherrett (1972) estudaram também a influência da idade das folhas no corte por *A. cephalotes*, através do oferecimento de papel impregnado com extrato aquoso de *Ligustrum ovalifolium*. Neste caso o extrato de folhas velhas também repeliu as formigas.

Littlelydyke e Cherrett (1978) estudaram os mecanismos de defesa em folhas novas e velhas contra o ataque de *A. cephalotes* e *A. octospinosus*. Tanto os discos quanto os extratos de folhas novas foram carregados mais rapidamente, quando comparados às velhas. Verificou-se também que os extratos não lipídicos foram mais atrativos que os lipídicos. Folhas que tiveram a camada de cera removida com clorofórmio, também foram mais atrativas.

Estudando os aspectos físicos e químicos das plantas Waller (1982 a) obteve que folhas jovens de *Celtis* e *Berberis* são palatáveis e possíveis de serem cortadas por *A. texana*, contudo as folhas velhas são evitadas. No entanto os resultados indicaram que as folhas velhas de *Celtis* são impalatáveis, enquanto que as folhas velhas de *Berberis* são duras demais para serem cortadas.

Observando os resultados de Waller (1982 a) é possível notar que em algumas plantas os fatores físicos são mais limitantes ao corte, enquanto que em outras plantas o fator limitante pode ser o químico, como o acentuado acúmulo de compostos secundários, uma vez que as formigas são capazes de distingui-los (Cherrett & Seaforth, 1970; Barrer & Cherrett, 1972; Lyttledyke & Cherrett, 1978).

No entanto, ainda não se encontram na literatura, trabalhos que evidenciem uma teoria geral da exploração de plantas por formigas cortadeiras.

Outros trabalhos também evidenciam que a retirada da cera epicuticular das folhas, as tornam mais vulneráveis ao ataque por formigas cortadeiras, como observado por Forti (1984) para *A. sexdens rubropilosa* e por Garcia et al. (2005) para *A. capiguara*.

Considerando que frações lipídicas (principalmente das folhas velhas) podem repelir as formigas, como verificado por Littledyke e Cherrett (1978), é importante salientar que, apesar serem diluídos em água, os extratos do presente ensaio não foram filtrados. As partículas das folhas encontraram-se suspensas no momento da imersão das folhas de papel. O método de impregnar as folhas de papel assemelhou-se ao utilizado por Barrer e Cherrett (1972) e possibilitou que frações lipídicas fossem impregnadas no substrato, conferindo-lhe características semelhantes às das folhas naturais.

No presente estudo foram nítidas as diferenças entre o número de cortes provocados pelas formigas nos tratamentos que mimetizaram as folhas novas (75 n) e folhas velhas (120 v) de *Ligustrum* sp.. Contudo, os tratamentos que constituídos por folhas com maior gramatura e extratos de folhas novas (120 n) e vice-versa (75 v) não diferiram entre si, impossibilitando assim, estudar os fatores físicos e químicos separadamente (Figura 3).

Os tratamentos 75 n e 120 v evidenciaram que a soma dos fatores físicos e químicos são bastante relevantes na seleção de plantas por *A. sexdens rubropilosa*, uma vez que, quando somados, a menor gramatura do papel com extrato de folhas novas (75 n) ou maior gramatura do papel com extrato de folhas velhas (120 v), o corte das folhas foi significativamente favorecido ou desfavorecido respectivamente.

6.5 Localização da desfolha em plantas artificiais

6.5.1 Desfolha em plantas artificiais contendo folhas de *Ligustrum* sp.

A utilização de plantas artificiais contendo folhas de *Ligustrum* sp. possibilitou estudar a localização da desfolha de maneira isolada, pois permitiu que algumas variáveis encontradas em plantas naturais fossem reduzidas, como desuniformidade quanto a idade e distribuição das folhas na planta, além das condições ambientais, uma vez que os experimentos foram conduzidos em laboratório. Assim, plantas artificiais de mesma estrutura

foram utilizadas, além da padronização da idade das folhas oferecidas através da coleta de folhas com mesmo tamanho e coloração do limbo (Barrer & Cherrett, 1972) e mesma localização nos ramos das plantas naturais utilizadas. A avaliação da desfolha se deu a partir da observação do número de folhas derrubadas pelas operárias nas plantas artificiais.

O ensaio constituiu-se por quatro tratamentos, sendo eles os diferentes patamares da planta artificial, os quais foram denominados de h1, h2, h3 e h4, da base da planta ao ápice. O número de folhas de *Ligustrum* sp. derrubadas na região apical (h4, à 70 cm da base) foi significativamente superior ao número de folhas derrubadas nos demais patamares (Figura 5). Assim, das três folhas disponíveis por patamar, em média 2,62 folhas foram derrubadas de h4(a), enquanto que em h3(b) foi derrubada 1,26 folha, e tanto em h2(b), quanto em h1(b), a média de folhas derrubadas foi de 0,8 folha.

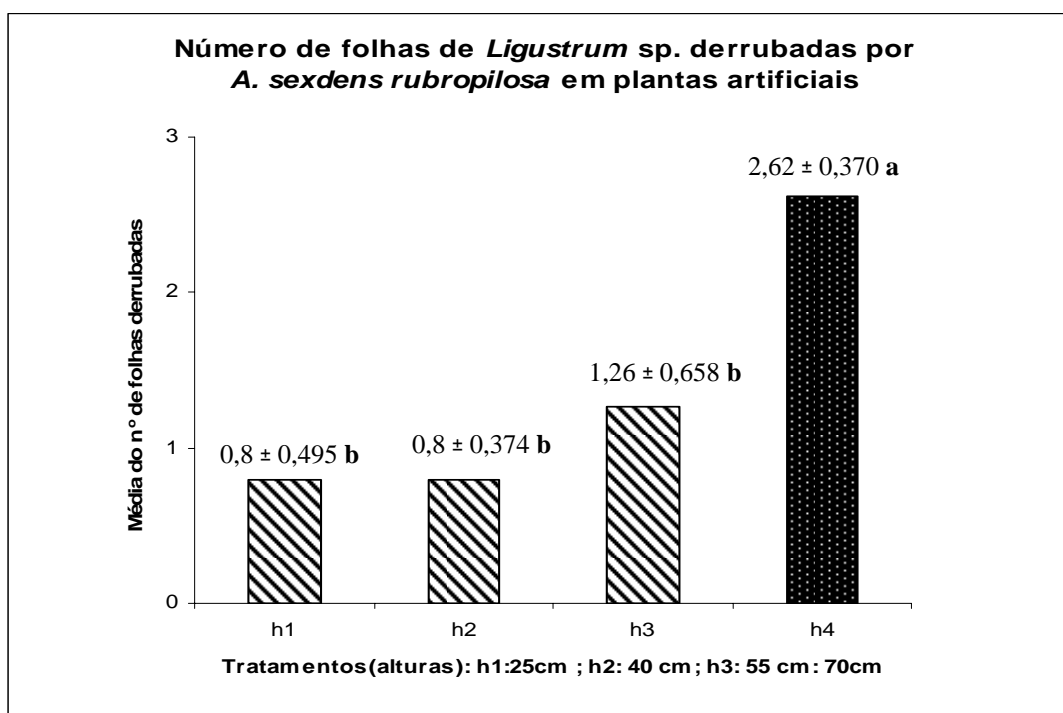


Figura 5: Desfolha ocasionada por *A. sexdens rubropilosa* em plantas artificiais contendo folhas de *Ligustrum* sp.. Análise de variância (ANOVA: $F = 15,53$; $P < 0,0001$, considerado extremamente significativo); Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente (teste Tukey-Kramer, $\alpha = 0,05$).

6.5.2 Desfolha em plantas artificiais contendo folhas de plantas da mata

Da mesma forma em que foram conduzidos os experimentos de desfolha em plantas artificiais contendo folhas de *Ligustrum* sp., também foram realizados os ensaios com as plantas da mata (*A. communis*, *A. triplinervia*, *C. floribundus* e *F. cyanea*).

Contudo, pela dificuldade em padronizar a quantidade de folhas de cada espécie (limbos foliares diferentes), as folhas foram oferecidas em forma de discos. Os discos com 2,5 cm de diâmetro foram dispostos em número de nove por patamar (três por ramo), sendo que cada espécie ocupou um patamar diferente por apresentação.

Como os discos não tinham pecíolo para serem derrubados, a avaliação se deu através da quantidade de massa foliar cortada e carregada.

Os resultados obtidos neste experimento foram praticamente os mesmos para a desfolha nas plantas artificiais com folhas de *Ligustrum* sp.. Assim a maior quantidade de vegetal removido ocorreu na região apical da planta, evidenciando que apesar das espécies vegetais terem sido trocadas quanto à posição nos patamares a cada apresentação, o patamar h4 (70 cm) foi o mais explorado com retirada de 76,6% do total de massa foliar que lá esteve presente. Em contraste, o patamar mais próximo à base da planta foi o menos explorado, tendo 45,3% de suas folhas removidas pelas formigas (Figura 6).

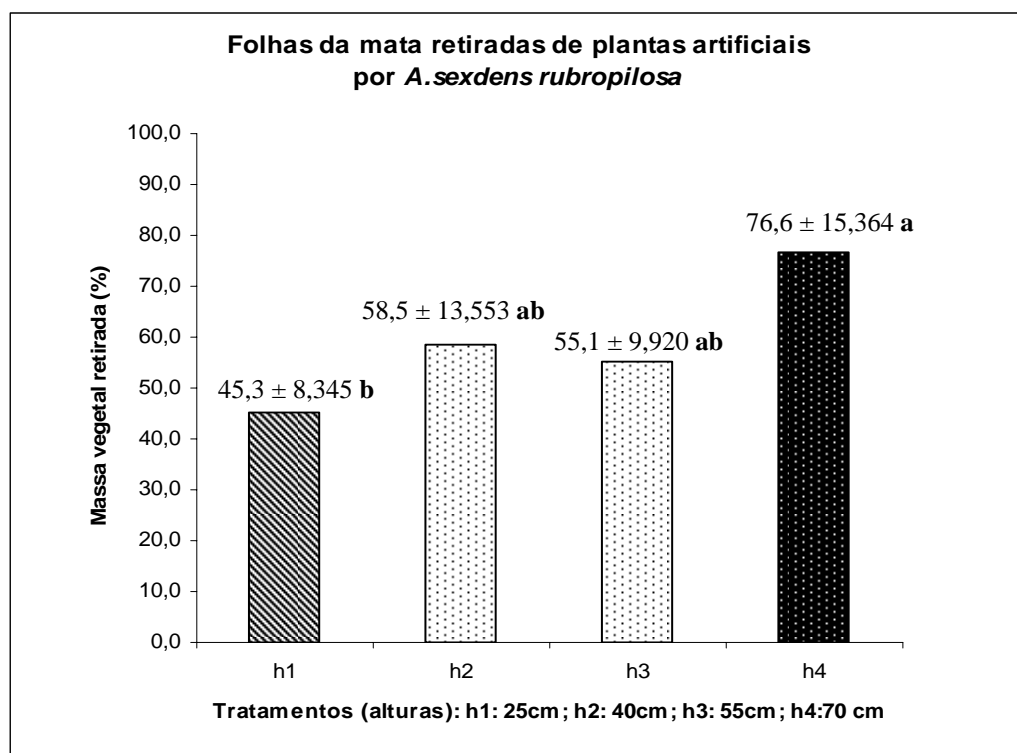


Figura 6: Desfolha ocasionada por *A. sexdens rubropilosa* em plantas artificiais contendo folhas das plantas da mata. Análise de variância (ANOVA: $F = 5,85$; $P < 0,0068$, considerado muito significativo); Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente (teste Tukey-Kramer, $\alpha = 0,05$).

6.5.3 Aspectos gerais da localização da desfolha em plantas artificiais

O forrageamento de *A. sexdens rubropilosa* se dá através do corte predominante de dicotiledôneas, onde há um comportamento bastante característico, constituído por múltiplas fases: um grupo de operárias sobe nas árvores e inicia o desfolhamento, derruba as folhas cortadas no solo. Outro grupo de operárias repica e carrega o material vegetal para o interior do formigueiro, onde ocorre o cultivo do fungo simbiote (Amante, 1967). Pode também haver um terceiro subgrupo de operárias que recuperam os fragmentos de folhas sobre a trilha e carregam para a colônia (Fowler & Robinson, 1979).

Este padrão de forrageamento vem sendo observado no campo, onde geralmente o local da planta mais explorado é a região apical, no entanto não há demonstração da ocorrência deste fenômeno em laboratório, tampouco o que leva as operárias a explorarem o ápice com maior frequência. Uma das hipóteses seria a presença de folhas jovens na região

apical das plantas, que geralmente são mais exploradas por formigas cortadeiras quando comparadas às folhas velhas (Cherrett & Seaforth, 1970; Barrer & Cherrett, 1972; Littlelyke & Cherrett, 1978; Waller, 1982 a; Nichols-Orians & Schultz, 1989). Contudo convém lembrar que os demais ramos das plantas também possuem folhas jovens em suas extremidades.

Nos ensaios realizados no presente estudo não se utilizou folhas jovens com o intuito de não promover estímulos, que não os propiciados pelos diferentes patamares, possibilitando assim melhor observar o comportamento de desfolha por *A. sexdens rubropilosa*.

A hipótese de que a intensa exploração apical ocorre pelo maior acúmulo de folhas jovens, que conseqüentemente possuem maiores quantidades de nutrientes como carboidratos e aminoácidos (Cherrett & Seaforth, 1970, Rockwood, 1976; Howard, 1987, 1988; Fowler, 1991) e menos compostos secundários, como taninos (Rockwood, 1976; Waller, 1982 a, Nichols-Orians e Schultz, 1989, 1990), além de menor resistência mecânica ao corte (Barrer & Cherrett, 1972; Waller, 1982 a, b), pode estar associada, não só às condições encontradas nas plantas no momento da exploração, assim como pode apresentar aspectos co-evolutivos entre formigas e plantas desenvolvidos no decorrer de milhões de anos.

Portanto é possível que este, seja um comportamento inato, uma vez que as operárias utilizadas nos experimentos nunca tiveram que subir em plantas para coletar folhas, no entanto exibiram esse tipo de comportamento, que é observado no campo.

O estudo não permite desvendar por que *A. sexdens rubropilosa* explora mais intensamente o ápice de uma planta. Contudo, traz contribuições para o melhor entendimento deste fenômeno pouco estudado, através da demonstração desse comportamento nas condições de laboratório.

7. CONCLUSÕES

1. Apesar das diferenças na frequência de ataque em mata, *A. communis*, *A. triplinervia*, *C. floribundus* e *F. cyanea* são palatáveis e possíveis de serem cortadas nas condições de laboratório.
2. O crescimento do fungo simbiote de *A. sexdens rubropilosa* em meio artificial não está correlacionado com a preferência de plantas pelas operárias.
3. Cortes feitos nas folhas de papel estimulam a exploração do substrato pelas operárias, quando associado ao estímulo químico.
4. A resistência mecânica ao corte e a idade das folhas interferem na seleção de substratos por *A. sexdens rubropilosa*, principalmente quando somados.
5. A desfolha de plantas artificiais em laboratório se dá de forma mais intensa na região apical das plantas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

AMANTE, E. Prejuízos causados pela formiga saúva em plantações de *Eucalyptus* e *Pinus* no Estado de São Paulo. **Silv. S. Paulo**, p.335-63, 1967.

ANDRADE, A. P. P.; FORTI, L. C.; MOREIRA, A. A.; BOARETTO, M. A. C.; RAMOS, V. M.; MATOS, C. A. O. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. **Sociobiology**, Chicago, v. 40, n. 2, p. 293-306, 2002.

ANDRADE, A.P.P. Comportamento forrageiro e aprendizado de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae) em condições de campo e laboratório. 1997. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BARRER, P. M.; CHERRETT, J. M. Some factors affecting the site and pattern of leaf-cutting activity in the *Atta cephalotes* L.. **Journal of Entomology**, v. 47, p. 15-27, 1972.

BASS, M.; CHERRETT, J. M. Fungal hyphae as a source of nutrients for the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. **Physiological Entomology**, London, v. 20, p. 1-6, 1995.

¹UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Faculdade de Ciências Agrônomicas. Normas para a elaboração de dissertações e teses.

BOARETTO, M. A. C. **Seleção de substratos com potencial para uso em iscas granuladas para as saúvas *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 e *Atta bisphaerica* Forel, 1908**

(Hymenoptera: Formicidae) e isolamento do fungo simbiote. Botucatu, 2000. Tese (Doutorado)- Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

BOWERS, M. A.; PORTER S. D. Effect of foraging on water content of substrates harvested by *Atta colombica* (Guerin). **Ecology**, E.U.A, v. 62, p. 273-275, 1981.

BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; SILVA, O. A.; MATENHAUER, A. M. C. Effect of sesame (*Sesamum indicum*) on the nest development of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 119, p. 341-343, 1995.

CADEÑO-LEÓN, A. **Los bachacos**: aspectos de su ecología. Venezuela: Fondo Editorial, 1984. 71p.

CAMARGO, R. S. **Importância de fatores físicos, químicos e do pré-condicionamento de operárias de *Acromyrmex subterraneus brunneus* forel, 1911 (Hymenoptera: Formicidae), na seleção de substratos**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu SP, 2004. 161p.

CHAPELA, I.H., REHNER, S.A., SCHULTZ, T.R., MUELLER, U.G. Evolutionary history of the symbiosis between fungus-growing ants and their fungi. **Science (New York)**, v. 266, p. 1691-4, 1994.

CHEN, T. K., WIEMER, D. F., HOWARD, J. J. A volatile leafcutter ant repellent from *Astronium graveolens*. **Naturwissenschaften**, v. 71, p. 97-98, 1984.

CHERRETT, J. M. Possible reason for the mutualism between leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) and their fungus. **Biologie Ecologie Méditerranéenne**, Paris, v. 7, p. 113-22, 1980.

CHERRETT, J. M. Some factors involved in the selection of vegetable substrate by *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae) in tropical rain forest. **Journal of Animal Ecology**, v. 41, p. 647-60, 1972.

CHERRETT, J. M. The foraging behavior of *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera, Formicidae). I. Foraging pattern and plant species attacked in tropical rain forest. **J. Anim. Ecol.**, v. 37, p. 387-403, 1968.

CHERRETT, J. M.; SEAFORTH, C. E. Phytochemical arrestants for the leaf-cutting ants, *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich), with some notes on the ants' response. **Bulletin of Entomological Research**, Canterbury, v. 59, p. 615-25, 1970.

COSTA, G. C.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; PAGNOCCA, F. C.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C. Toxicidade de substâncias presentes no gergelim (*Sesamum indicum*) sobre *Atta sexdens* Forel (Hym., Formicidae). In: INTERNATIONAL PEST ANT SYMPOSIUM, 6, ENCONTRO DE MIRMECOLOGIA, 13, 1997, Ilhéus. **Anais de Mirmecologia Tropical**. Ilhéus: Universidade Estadual de Santa Cruz, 1997. p. 134.

CROMME, N. **Biological control of the leaf-cutting ant *Acromyrmex landolti* using forage grass species**. Vechta, 1998. 93p. Diplomarbeit (Graduação) – Universität Hohenheim.
DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed.) **As formigas cortadeiras**. Viçosa: Folha de Viçosa, 1993. p. 263.

DELLA LUCIA, T. M. C., OLIVEIRA, M. A., ARAÚJO, M. S., VILELA, E. F. Avaliação da não-preferência da formiga cortadeira *Acromyrmex subterraneus subterraneus* Forel ao corte de *Eucalyptus*. **Revista Árbore**, v. 19, n. 1, p. 92-99, 1995.

FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; GROOTE, S. C. T. S.; ACÁCIO-BIGI, M. F. M.; HEBLING, M. J. A.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; SILVA, O. S. A utilização de produtos naturais oriundo da mamona no controle de formigas cortadeiras. In: INTERNATIONAL PEST ANT SYMPOSIUM, 6, ENCONTRO DE MIRMECOLOGIA, 13, 1997, Ilhéus. **Anais de Mirmecologia Tropical**. Ilhéus: Universidade Estadual de Santa Cruz, 1997. p.127.

FISHER, P. J.; STRADLING, D. J.; PEGLER, D. N. Leaf cutting ants, their fungus gardens and the formation of basidiomata of *Leucoagaricus gongylophorus*. **Mycologist**, Aberdeen, v. 8, n. 3, p. 128-31, 1994.

FORTI, L. C.; ANDRADE, A. P. P.; GARCIA, I. P. Ecologia comportamental das formigas cortadeiras: seleção de plantas e outros substratos. In: WORKSHOP SOBRE FITOSSANIDADE FLORESTAL DO MECOSSUL, 1, 1996, **Anais**, Santa Maria: UFSM, CEPEF. p. 25-34.

FORTI, L. C. **Ecologia da saúva *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera, Formicidae) em pastagem**. Piracicaba, 1985a. 234p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

FORTI, L. C. Relação entre plantas atacadas e a saúva *Atta sexdens rubropilosa* (Formicidae: Hymenoptera). **Bol. do Grupo Trabalho com Formigas Cortadeiras (GTFC)**, v.2, p.11-13, 1985b.

FORTI, L. C.; ANDRADE, A. P. P. Ingestão de líquidos por *Atta sexdens* (L.) (Hymenoptera, Formicidae) durante a atividade forrageira e na preparação do substrato em condições de laboratório. **Naturalia**, Rio Claro, v. 24, p. 61-63, 1999.

FORTI, L. C.; CROCOMO, W. B.; GUASSU, C. M. O. **Biologia e controle das formigas cortadeiras de folhas em florestas importadas. São Paulo: FEPAF**, Boletim didático n. 4, 1987. 30p.

FORTI, L. C.; GULLI, V. F.; DEL, B.; PEREIRA DA SILVA, V. Estímulos químicos e físicos que afetam a atividade forrageira de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hym; Formicidae). IX Congresso Brasileiro de Entomologia, **Resumos**. Londrina, PR, 1984. p. 76.

FOWLER, H. G., FORTI, L. C., BRANDÃO, C. R. F., DELABIE, J. H. C., VASCONCELOS, H. L. Ecologia nutricional de formigas. In: PANIZZI, A. R., PARRA, J. R. P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**.

FOWLER, H. G. Habitat affect in fungal substrate selection by a leaf-cutting ants. **New York Entomological Society**, New York, v. 90, n. 2, p. 64-69, 1982.

FOWLER, H. G., ROBINSON, S. W. Foraging by *Atta sexdens* (Formicidae: Attini): seasonal patterns, caste and efficiency. **Ecological Entomology**, v.4, p. 239, 1979.

FOWLER, H. G.; ROBINSON, S. W. Foraging and grass selection by the grass-cutting ant *Acromyrmex landolti* (Forel) (Hymenoptera: Formicidae) in habitats of introduced forage grasses in Paraguay. **Bulletin of Entomological Research**, Canterbury, v. 67, p. 659-666, 1977.

FOWLER, H. G.; STILES, E. W. Conservative resource management by leaf-cutting ants? The role of territories and trails, and environmental patchiness. **Sociobiology**, Chicago, v. 5, n. 1, p. 25-41, 1980.

FRANZEL, C.; FARJI-BRENER, A. ¿Oportunistas o selectivas? Plasticidad en la dieta de la hormiga cortadora de hojas *Acromyrmex lobicornis* en el noroeste de la Patagonia. **Ecologia Austral**, Buenos Aires, v. 10, p. 159-168, 2000.

GALLO, D; NAKANO, O; SILVEIRA NETO, S; CARVALHO, R. P. L; BATISTA, G. C; BERTI FILHO, E; PARRA, J. R. P; ZUCCHI, R. A; ALVES, S. B; VENDRAMIM, J. D. **Manual de Entomologia Agrícola**. Piracicaba, SP, Fealq, 2002. V.10, 920 p.

GARCIA, I. P. **Atividade forrageira da saúva *Atta sexdens* L., 1758 (Hymenoptera, Formicidae) em *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden e em mata secundária**. Botucatu, SP, 1997. 135p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Agricultura). Faculdade de Ciências Agrônômicas- Universidade Estadual Paulista.

GARCIA, I. P., FORTI, L. C., ENGEL, V. L., ANDRADE, A. P. P., WILCKEN, C. F. Ecological interation between *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) and the vegetation of mesophyll semideciduous forest fragment in Botucatu, SP, Brazil. **Sociobiology**. v. 42, n. 2, 2003.

GARCIA, M. G., FORTI L. C.; VERZA, S. S., NORONHA JR., N. C; NAGAMOTO, N. S. Interference of epicuticular wax from leaves from leaves of grasses in selection and preparation of substrate for cultivation of symbiont fungus of *Atta capiguara* (Hym. Formicidae). **Sociobiology**. v.45, n. 3, 2005.

HEBLING, M. J. A.; BUENO, O. C.; MAROTI, P. S.; PAGNOCCA, F. C.; DA SILVA O. A. Effects of leaves of *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ants *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 124, p. 249-252, 2000.

HEBLING-BERALDO, M. J. A.; BUENO, O. C.; ALMEIDA, R. E.; SILVA, O. A.; PAGNOCCA, F. C. Influencia do ratamento com folhas de *Sesamum indicum* sobre o metabolismo respiratório de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hym., Formicidae). **An. Soc.Ent. Brasil**, v. 20, p. 27-33, 1991.

HEBLING-BERALDO, M. J. A.; BUENO, O. C.; SILVA, O. A.; PAGNOCCA, F. C. Efeitos do gergelim no crescimento de saúveiros iniciais de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908. Bol. **GTFC (Grupo de Trabalho Formigas Cortadeiras)**, v. 3, p. 7-8, 1986.

HILJIE, L.; QURÓZ, L.; REGGIO, F. S. El “status” actual de lãs plagas florstalis en costa Rica. **Manejo Integrado de Plagas**, n. 20, p. 18-22, 1991.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E.O.. **The ants**. Harvard: Harvard University Press, 1990, p. 732.

HOWARD J. J.; CAZIN, J.; WIEMER, D. F. Toxicity of terpenoid deterrents to the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* and its mutualistic fungus. **Journal of Chemical Ecology**, Tampa, v. 14, n. 1, p. 59-69, 1988.

HOWARD J. J.; HENNEMAN, M. L.; CRONIN, G.; FOX, J. A.; HORMIGA, G. Conditioning of scouts and recruits during foraging by a leaf-cutting ant, *Atta colombica*. **Animal Behaviour**, London, v. 52, p. 299-306, 1996.

HOWARD, J. J. Leaf cutting ant diet selection: Relative influence of leaf chemistry and physical features. **Ecology**. Ecogycal Society of America. v.69, n. 1, p. 250-260. 1988.

HOWARD, J. J. Leaf-cutting ant diet selection: the role of nutrients, water, and second chemistry. **Ecology**, v. 68, p. 503-15, 1987.

HOWARD, J. J.; GREEN, T. P.; D. F. Comparative deterrence of two terpenoids to genera of attine ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 15, n. 9, p. 2279-88, 1989.

HUBBELL, S. P.; HOWARD J. J.; WIEMER, D. F. Chemical leaf repellency to an attine ant: seasonal contribution among potential host plant species. **Ecology**. v. 65, n. 4, p. 1067- 76, 1984.

HUBBELL, S. P.; JOHNSON, L. K.; STANISLAV, E.; WILSON, B.; FOWLER, H. G. Foraging by bucket brigade in leaf-cutter ants. **Biotropica**, Lawrence, v. 12, n. 3, p. 210-213, 1980.

HUBERT, T. D.; OKUNADE, A. L.; WIEMER, D. F. Quadrangolide, a heliangolide from *Eupatotium quadrangularae*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 26, p. 1751-3, 1987.

HUBERT, T. D.; WIEMER, D. F. Ant-repellent terpenoids from *Melampodium divaricatum*. **Phytochemistry**.v.24, p.1197-8,1985.

JACOBY, M. Observações e experiências sobre *Atta sexdens rubropilosa* Forel, visando facilitar seu combate. Rio de Janeiro, separata do “**Boletim do Ministério da Agricultura**” 1943. 55p.

JAFFÉ, K., HOWSE, P. E. The mass recruitment system of the leaf-cutting ant, *Atta cephalotes* (L.). **Anim. Behav.** v. 27, p. 930-939, 1979.

JOHNSON, H. B. Plant pubescence: an ecological perspective. **Bot. Rev.**, v. 42, p. 233-58, 1975.

KERMARREC, A.; DECHARME, M.; FEBVAY, G.; Leaf-cutting ant symbiotic fungi: a synthesis of recent research. In: LOFGREN, C. S.; VANDER MEER, R. K. **Fire ants and leaf-cutting ants**. Colorado: Westview Press, 1986. p. 231-46.

KNAPP, J. J.; HOWSE, P. E.; KERMARREC, A. Factors controlling foraging patterns in the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich). In: VANDER MEER, R. K.; JAFFÉ, K.; CEDENO, A. (Eds). **Applied Myrmecology: a world perspective**, Boulder, San Francisco & Oxford: Westview Press, 1990, p. 382-409.

KREBS, J. R., DAVIS, N. R. **An introduction to behavioural ecology**. 2 ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1987. 389p.

LAPOINTE, S. L; SERRANO, M. S; CORRALES, I. J. Resistance to leaf- cutter ants (Hymenoptera: Formicidae) and inhibition of their fungal symbiont by tropical forage grasses. **J. Econ. Entomol.**, v.3, p.757- 65, 1996.

LAPOINTE, S.L., SERRANO, M.S., CORRALES, I.J. Resistance to leaf- cutter ants (Hymenoptera: Formicidae) and inhibition of their fungal symbiont by tropical forage grasses. *J. Econ. Entomol.*, v.3, p.757- 65, 1996.

LITTLEDYKE, M., CHERRETT, J.M. Direct ingestion of plant sap from cut leaves by the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae, Attini). **Bulletin of Entomological Research**, Canterbury, v. 66, p. 205-17, 1976.

LITTLEDYKE, M.; CHERRETT, J. M. Olfactory responses of the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera: Formicidae) in the laboratory. **Bulletin of Entomological Research**, Canterbury, v. 68, p. 273-82, 1978b.

LITTLEDYKE, M; CHERRETT, J. M. Defense mechanisms in young and old leaves against cutting by the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera: Formicidae). **Bull. Entomol. Res.**, v.68, p. 263- 71, 1978a.

LOECK, A. E; NAKANO, O. O efeito de novas substâncias visando o controle de saúveiros novos de *Atta laevigata* (Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). **O Solo**, v.1, p.25- 30, 1984.

MARICONI, F. A. M. **As Saúvas**. São Paulo, Agronômica Ceres, 1970. 167p.

MARICONI, F. A. M; ZAMITH, A. P. L; CASTRO, U. P; JOLY, S. Nova contribuição para o conhecimento das saúvas de Piracicaba (*Atta* spp.) (Hym.- Formicidae). **Rev. Agric.**, Piracicaba, SP, v.38, n.2, p.85, 1963.

- MARTIN, M. M. The biochemical basis of the fungus - attine ant symbiosis. **Science**, v.169, p.16- 20, 1970.
- MARTIN, M. M.; CARMAN, R. M.; MARCCONNELL, J. G. Nutrients derived from the fungus cultured by the fungus-growing ant *Atta colombica tonsipes*. **Ann. Entomol. Soc. Am.**, v. 62, p. 11-13, 1969.
- MAZZAFERA, P. Análise química em folhas de cafeeiro atacados por *Atta* spp.. **Rev. Agric.** (Piracicaba),v. 66, n.1, p. 33-45, 1991.
- MUDD, A.; BATEMAN, G. L. Rates of growth of the food fungus of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae) on different substrates gathered by the ants. **Bull. Entomol. Res.**, v. 69, p. 141-8, 1979.
- MUDD, A; PEREGRINE, D. J; CHERRETT, J. M. The chemical basis for the use of citrus pulp as a fungus garden substrate by the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera: Formicidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.68, p.673-85, 1978.
- MUELLER, U. G. Ant versus fungus versus mutualism: ant-cultivar conflict and deconstruction of the attine ant-fungus symbiosis. **The American Naturalist**, Chicago, v.160 (supplement), p. 67- 98, 2002.
- MUELLER, U. G.; SCHULTZ, T. R.; CURRIE, C. R.; ADAMS, R. M. M.; MALLOCH, D. The origin of the attine ant-fungus symbiosis. **Quarterly Review of Biology**, Chicago, v. 76, p. 169-197, 2001.
- NICHOLS-ORIAN, C. M.; SCHULTZ, J. C. Interactions among leaf toughness, chemistry, and harvesting by attine ants. **Ecological Entomology**, London, v. 15, p. 311-320, 1990.
- NICHOLS-ORIAN, C. M.; SCHULTZ, J. C. Leaf toughness affects leaf harvesting by the leaf cutter ant, *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae). **Biotropica**, Lawrence, v. 21, n. 1, p. 80-83, 1989.
- NORONHA JR., N. C.; FORTI, L. C.; CAMARGO, R. S.; RAMOS, V. M. Comparação do crescimento do fungo simbiote da formiga cortadeira *Atta capiguara* (Hymenoptera: Formicidae) em extratos vegetais esterilizados física e quimicamente. In: XI Reunião de ciências agrárias do lageado. **CD Resumos**. Botucatu, SP, 2004.

NORONHA JR., N. C.; FORTI, L. C.; MATOS, C. A. O.; RAMOS, V. M.; LOPES, J. F. S.; GARCIA, M. G.; VERZA, S. S. Desenvolvimento do fungo simbiote de *Atta capiguara* (Hymenoptera: Formicidae) e a relação com as espécies de gramíneas mais aceitas pelas operárias. In: XVI Simpósio de Mirmecologia. Florianópolis SC, **Anais do XVI Simpósio de Mirmecologia**. 2003, p. 489-491.

NORTH, R. D.; JACKSON, C. W.; HOWSE, P.E. Communication between the fungus garden and workers of the leaf-cutting ant, *Atta sexdens rubropilosa*, regarding choice of substrate for the fungus. **Physiological Entomology**, London, v. 24, p. 127-133. 1999.

OKUNADE, AL WIEMER D F Ant-repellent sesquiterpene lactones from *Eupatorium quadrangularae*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 6, p. 1199-201, 1985a.

OKUNADE, AL WIEMER D F Jacquininic acid, an ant-repellent compound from *Jacquininia pungens*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 6, p. 1203-5, 1985b.

PAGNOCCA, F. C.; CARREIRO, S. C.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; SILVA, O. A. Microbiological chances in the nests of leaf-cutting ants fed on sesame leaves. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 120, p.317-20, 1996.

PINTERA, A. Selection of plants utilized by *Atta insularis* in Cuba (Hymenoptera, Formicidae). **Acta Ent. Bohemoslov.**, v. 80, p. 13- 20, 1983.

POLLARD, G.V; RILEY, R; WATTIE, E. Preliminary investigations on the selection of citrus species by the leaf-cutting ant, *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae: Attini). **Trop. Agric**, Trinidad, v. 60, p.282-5, 1983.

POWELL, R. J., STRADLING, D. J. factors influencing the growth of *Attamyces bromatificul*, a symbiont of Attini ants. **Trans. Br. Mycol. Soc.**, v. 87, n. 2, p. 205- 213, 1986.

POWELL, R. J.; STRADLING, D. J. The selection and detoxification of plant material by fungus-growing ants. In: HUXLEY, C.R.; CULVER D.F. (Eds.). **Ant plant interactions**. Oxford: Oxford University Press, 1991, p. 19-41.

PRETTO, D. R. **Arquitetura dos túneis de forrageamento e do ninho de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae), dispersão de substrato e dinâmica do inseticida na colônia**. Botucatu, 1996. 109p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas. Universidade Estadual Paulista.

QUINLAN, R. J.; CHERRETT, J. M. Aspects of the symbiosis of the leaf cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) and its food fungus. **Ecological Entomology**, London, v. 3, p. 221-231, 1978.

QUINLAN, R. J; CHERRETT, J. M. The role of fungus in the diet of leaf-cutting ant *Atta cephalotes*(L.). **Ecological entomology**, v. 4, p. 151-160, 1979.

RIDDLEY, P. S; HOWSE, P. E; JACKSON, C. W. Control of the behavior of leaf-cutting ants by their “symbiotic” fungus. **Experientia**, v.52, p.631-635, 1996.

RIZZINI, C. T. **Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos sociológicos e florísticos**. São Paulo, Editora Universidade de São Paulo, 1979. v .2, 374p.

ROCES, F. Individual complexity and self-organization in foraging by leaf-cutting ants. **Biological Bulletin**, Woods Hole, v. 202, p. 306-313, 2002.

ROCES, F. Odour learning and decision-making during food collection in the leaf-cutting ant *Acromyrmex lundi*. **Insectes sociaux**, Paris, v. 41, p. 235-239, 1994.

ROCES, F. Olfactory conditioning during the recruitment process in a leaf-cutting ant. **Oecologia**, Berlin, v. 83, p. 261-2, 1990.

ROCES, F., HÖLLDOBLER, B. Leaf density and a trade-off between load-size selection and recruitment behavior in *Atta cephalotes*. **Oecologia**, v. 97, p. 1-8, 1994.

ROCES, F., NÚÑEZ, J. A. Information about food quality influences load-size selection in recruited leaf-cutting ants. **Anim. Behav.** v.45, p. 135-143, 1993.

ROCKWOOD, L. L. Plant selection and foraging patterns in two species of leaf-cutting ants (*Atta*). **Ecology**, v. 57, p. 48-61, 1976.

ROCKWOOD, L. L. The effects of seasonality on foraging in two species of leaf-cutting ants (*Atta*) in Guanacaste Province Costa Rica. **Biotropica**, v.7, n.3, p.176-93, 1975.

SALATINO, A.; SUGAYAMA, R. L.; NEGRI, G.; VILEGAS, W. Effect of constituents the foliar wax of *Didymopanax vinosum* on the foraging activity of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomol. Exp. Appl.**, v. 86, n. 3, p. 261-266, 1998.

SALES, J. M. Assesment of the behaviour patterns of the lemon leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera, Formicidae), to natural sources of allelochemicals. **Bull. Ent. Res.**, v. 84, p. 91-6, 1994.

SCHNEIRLA, T. C. Basic correlations in insect societies with special reference to ants, **Proc. Coll. Int. CNRS. Structure et physiologie des sociétés animales**, Paris, v. 34, p. 247-69, 1952.

SCHOEREDER, J. H; COUTINHO, L. M. Atividade forrageira e sobreposição de nichos tróficos em formigas do gênero *Atta* (Hymenoptera: Formicidae) em cerrado. **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 35, n. 2, p. 229-236, 1991.

SCHOEREDER, J. H; COUTINHO, L. M. Fauna e estudo zoossociológico das espécies de saúvas (Formicidae, Attini) de duas regiões do estado de São Paulo. **Rev. Brasileira de Entomologia**, v. 34, n. 3, p. 561-8, 1990.

SILVA, A.; BACCI, M.; SIQUEIRA, C. G.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; HEBLING, M.J.A. Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. **Journal of Insect Physiology**, London, v. 49, p. 307-313, 2003.

SILVA-PINHATI, A. C. O.; BACCI JR., M.; SIQUEIRA, C. G., SILVA, A.; PAGNOCCA, F. C.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A. Isolamento e manutenção de fungos simbiotes de formigas da tribo Attini (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**. v.34, n.1. 2005.

SINHORI, K.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; PAGNOCCA, F. C.; SILVA, O. A.; BACCI M.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C. Toxicidade de extrato foliar de *Sesamum indicum* para operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae). In: INTERNATIONAL PEST ANT SYMPOSIUM, 6, ENCONTRO DE MIRMECOLOGIA, 13, 1997, Ilhéus. **Anais de Mirmecologia Tropical**. Ilhéus: Universidade Estadual de Santa Cruz, 1997. p. 131.

STRADING, D. J. The influence of size on foraging in the ant, *Atta cephalotes*, and the effect of some plant mechanisms. **Journal of Animal Ecology**, v. 47, p. 173-188, 1978.

TAKAHASHI-DEL-BIANCO, M.; HEBLING, M. J. A.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; SILVA, O. A.; BACCI M.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C. Toxicidade de sub frações de extrato orgânicos foliares de *Canavalia ensiformis* L. para operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae), em laboratório. In: INTERNATIONAL PEST ANT SYMPOSIUM, 6, ENCONTRO DE MIRMECOLOGIA, 13, 1997, Ilhéus. **Anais de Mirmecologia Tropical**. Ilhéus: Universidade Estadual de Santa Cruz, 1997. p.139.

THERRIEN, P. Individual food choices by foragers from the species *Acromyrmex octospinosus* (Reich), the leaf-cutting ant. **Memories of Entomological Society of Canada**, Ottawa, v. 146, p. 123-30, 1988.

TRANIELLO, J. F. A. Foraging strategies of ants. **Annual Review Entomology.**, v. 34, p. 191- 210, 1989.

VITÓRIO, A. C. **Avaliação da seletividade de *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera, Formicidae) por diferentes gramíneas forrageiras.** Botucatu, 1996. 103p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas)- Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

WALLER, D. A. Leaf- cutting ants and avoided plants: defenses against *Atta texana* attack. **Oecologia**, v. 52, p. 400-03, 1982a.

WALLER, D. A. Leaf- cutting ants and live oak: the role of leaf toughness in seasonal and intraespecific host choice. **Entomologia Experimentalis Applicata.** v.32, p. 146-150. 1982b.

WEBER, N. A. **Gardening ants: the attines.** Philadelphia: The American Philosophical Society, 1972. 147p.

WHEELER, W. M. The fungus-growing ants of North America. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, Washington, v. 23, p. 669-807, 1907.

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