

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"**  
**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**  
**CAMPUS DE BOTUCATU**

**NA TRILHA COM AS ESCOTEIRAS: COMO OPERÁRIAS SABEM O CAMINHO A SEGUIR**

**Mariana Brugger Silva**

**Orientador: Dr. Luiz Carlos Forti**

**Co-orientador: Dra. Juliane Floriano Lopes Santos**

**BOTUCATU**  
**São Paulo, Brasil**

**2015**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
CAMPUS DE BOTUCATU**

**NA TRILHA COM AS ESCOTEIRAS: COMO OPERÁRIAS SABEM O CAMINHO A SEGUIR**

**Mariana Brugger Silva**

**Orientador: Dr. Luiz Carlos Forti**

**Co-orientador: Dra. Juliane Floriano Lopes Santos**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, campus de Botucatu, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas – Área de Concentração: Zoologia

**BOTUCATU  
São Paulo, Brasil**

**2015**

## AGRADECIMENTOS

---

A o CNPq pela bolsa concedida durante a execução deste trabalho..

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Forti, meu orientador, pelo apoio acadêmico, pela confiança e pelas oportunidades oferecidas

A Prof. Dra. Juliane Floriano Santos Lopes, co-orientadora e amiga, pelo carinho e pela paciência em sempre me auxiliar. Por me incentivar e apoiar em todas as etapas de minha formação acadêmica e pessoal.

Aos Colegas de laboratório em Botucatu (Roberto, Rafael, Satoru, Nádia, Paula, Lais e Davi) pelas contribuições ao desenvolvimento deste trabalho e pela convivência frutífera.

As amigas, Gabriela, Paula, Mel, Sergianne e Danielle, por tornarem tudo melhor.

Ao meu querido Vinícius, pela disposição em me ajudar de inúmeras formas e por toda compreensão e carinho.

Ao meu pequeno e adorado João, um grande amiguinho de sábias palavras.

Aos meus pais Gabriel e Maria Catarina e as minhas irmãs, Ana Carolina e Camila, pelo amor e apoio, sempre.

A todos que de alguma maneira estiveram envolvidos com a execução deste trabalho e minha memória falhou em lembrar.

*O nosso ir é que faz o caminho.*

*C. S. Lewis*

## SUMÁRIO

---

	Página
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. EXPERIMENTO I.....	6
3. EXPERIMENTO II.....	22
4. EXPERIMENTO III.....	34
5. EXPERIMENTO IV.....	48
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60

Muitas atividades realizadas pelos insetos sociais resultam em padrões espaço-temporais altamente organizados onde comportamentos coletivos de elevada complexidade podem surgir a partir de interações entre indivíduos que executam comportamentos simples (Bonabeau *et al.*, 1997). Evidências da emergência de comportamentos coletivos complexos a partir de comportamentos individuais simples podem ser observadas no forrageamento e recrutamento em colônias de formigas. A capacidade de explorar uma fonte de recursos de forma cooperativa revela o alto nível de organização social desses insetos. Milhares de operárias executam diferentes tarefas coordenadas garantindo o aporte de nutrientes para a colônia, sua manutenção e o sucesso reprodutivo (Deneubourg *et al.*, 1990; Beckers *et al.*, 1992).

O tipo de recrutamento e a transmissão das informações sobre a qualidade e localização da fonte de recursos está diretamente relacionado ao tamanho da colônia. Em colônias de espécies muito populosas ocorre o recrutamento em massa, onde as escoteiras depositam uma trilha de feromônios que serve como guia para as recrutadas, frequentemente mobilizadas pelo comportamento ativo da escoteira quando esta retorna ao ninho (Jaffe & Howse, 1979; Beckers *et al.*, 1989). No caso de formigas cortadeiras o sistema de recrutamento exhibe particularidades como a amplificação do sinal químico, a qual é realizada pelas operárias recrutadas através da deposição de feromônio de trilha (Jaffe & Howse, 1979).

A partir do estudo dos componentes de sistemas complexos, como observado em colônias de formigas, é possível verificar que há diferentes graus de flexibilidade comportamental. As ações individuais e coletivas interagem de modo flexível através de processos auto-organizáveis garantindo o rápido ajuste da estratégia de forrageamento utilizada pela colônia em função de modificações ocorridas no ambiente (Bonabeau *et al.*, 1997; Gordon, 1996; Dussutour *et al.*, 2009). A importância do comportamento individual num fenômeno coletivo normalmente não se evidencia em simples observações e requer uma dinâmica de análise das interações entre indivíduos (Jaffé & Deneubourg, 1992). Em um sistema auto-organizável (*self-organization*), um padrão ao nível global emerge de numerosas interações entre seus componentes. Operárias forrageiras utilizam somente de informações locais para

execução de tarefas, sem quaisquer referências do próprio padrão global ao qual pertencem (Bonabeau *et al.*, 1997). Sistemas biológicos auto-organizáveis são robustos, flexíveis e adaptativos. À maneira de emergentes sistemas computacionais, eles respondem à mudança das condições de modo satisfatório (Jackson *et al.*, 2008).

Em consonância com a descentralização prevista para sistemas auto-organizáveis, a dinâmica comportamental de uma colônia sugere a ocorrência da alocação de tarefas, proporcionando o ajuste apropriado no número de operárias envolvidas em uma atividade de acordo com a situação corrente da colônia (Gordon & Mehdiabadi, 1999). As atividades são interdependentes: o número de operárias engajadas em uma atividade dependerá da quantidade de operárias engajadas em outras (Gordon, 1989) e a decisão de executar determinada tarefa dependerá de sinais fornecidos pelo ambiente bem como de sinais sociais resultantes das interações com outros indivíduos (Gordon, 2002).

Aliadas a flexibilidade característica de sistemas auto-organizáveis, as trilhas químicas orientam os indivíduos facilitando o ajuste comportamental frente a novas demandas. Trilhas químicas de forrageamento ilustram como o comportamento animal pode ser modelado por feromônios (Mashlay, 2010). Assim como em outras espécies, em *Atta sexdens* as trilhas químicas de forrageamento são constituídas por uma mistura de compostos armazenados na glândula de veneno. Estudos verificaram que as principais substâncias na composição trilhas químicas dessa espécie são: 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine e 4-methylpyrrole-2-carboxylate (Cross *et al.*, 1979, Evershed & Morgan, 1983 ). Posteriormente, concluiu-se que há uma faixa ótima de concentração desses feromônios no que diz respeito ao recrutamento de forrageiras (Morgan *et al.*, 2006). Em geral, à medida que mais indivíduos são recrutados, maior é a deposição de trilha química e, por conseguinte, mais operárias saem em busca de recursos (Detrain & Deneubourg, 2008).

As trilhas químicas de formigas cortadeiras têm sido amplamente estudadas ( Riley *et al.* , 1974; Evershed & Morgan, 1983, Morgan, 2006, 2009), porém, pouco se sabe sobre aspectos básicos como seu efeito na dinâmica do fluxo de operárias e a existência ou não de polaridade química. Tais aspectos permanecem obscuros o que dificulta a compreensão do recrutamento. Embora muitos estudos ressaltem o papel da escoteira na avaliação e transferência de informação às demais companheiras de

ninho para formigas cortadeiras (Howard, 1996; Roces e Hölldobler, 1994; Roces e Núñez, 1993; ; Roces, 2002; Lopes *et al*, 2004), pouco se sabe sobre a influência da escoteira como agente disparador durante o recrutamento. Sendo a escoteira responsável pela deposição de trilha química a qual será amplificada pelas demais operárias a investigação de seu comportamento elucidou diversos aspectos da dinâmica do forrageamento.

Manipulações experimentais são comumente utilizadas para averiguar o impacto de alterações no forrageamento. A investigação das respostas comportamentais de formigas a manipulações envolvendo a transferência de informações promovidas pela escoteira e por trilhas químicas depositadas durante o forrageamento permitem conhecer estratégias de organização frente a novas contingências. Considerando a manutenção do aporte de recursos ao ninho primordial para o sucesso da colônia, pode-se inferir que os indivíduos se comportarão de modo a manter o sucesso na atividade de forrageamento.

A importância de estudos envolvendo a atividade forrageira em formigas está diretamente relacionada ao sucesso desse grupo. A dominância de algumas espécies de formiga parece ser intrinsecamente ligada a sua capacidade de exploração e não a agressividade ou a estratégias de defesa (Witte *et al.* , 2007; Morgan, 2009). A partir do estudo do comportamental de operárias durante o forrageamento espera-se compreender os mecanismos que contribuem para a emergência de processos comportamentais coletivos que garantem o sucesso das colônias de *Atta sexdens* fornecendo novos conhecimentos sobre sistemas biológicos auto-organizáveis.

## Referência Bibliográficas

- Beckers, R.; Goss S.; Deneubourg J. L.; Pasteels J. M. 1989. Colony size, communication, and ant foraging strategy. ***Psyche***, **96**: 239-256.
- Beckers, R.; Deneubourg, J.L.; Goss, S. 1992. Trail laying behavior during food recruitment in the ant *Lasius niger* L. ***Insectes Sociaux***, **39**: 59-72
- Bonabeau, E.; Theraulaz, G.; Deneubourg, J.L.; Aron, S.; Camazine, S. 1997. Self-organization in social insects. ***Trends Ecology Evolution***, **12**:188–193.
- Cross, J.H.; Byler, R.C.; Ravid; U.; Silverstein, R.M.; Robinson, S.W.; Baker, P.M.; De Oliveira; J.S.; Jutsum, A.R.; Cherrett, J.M. 1979: The major component of the trail pheromone of the leaf cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* Forel:3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine. ***Journal of Chemical Ecology*** **5**: 187–204.
- Deneubourg, J.-L.; Aron, S.; Goss, S.; Pasteels, J. M. 1990. The Self-Organizing Exploratory Pattern of the Argentine An. 1990. ***Journal of Insect Behavior***. **3**: 159-168.
- Detrain, C. & Deneubourg, J.-L. 2008. Collective Decision-Making and Foraging Patterns in Ants and Honeybees. ***Advances in Insect Physiology*** **35**: 123-173.
- Dussutour, A., Deneubourg, J.L., Beshers, S., Fourcassié, V. 2009. Individual and collective problem-solving in a foraging context in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. ***Animal Cognition***, **12**: 21-30.
- Evershed, R.P. & Morgan, E.D. 1983. The amounts of trail pheromone substances in the venom of workers of four species of Attine ants. ***Insect Biochemistry*** **13**: 469–474.
- Gordon D.M. 1989. Dynamics of task switching in harvester ants. ***Animal Behaviour***, **38**: 194-204.
- Gordon D.M. 1996. The organization of work in social insect colonies. *Nature*, **380**:121–124
- Gordon, D.M. 2002. The organization of work in social insect colonies. ***Wiley Periodicals***, **8** (1): 43-46.
- Gordon, D.M. & Mehdiabadi, N. 1999. Encounter rate and task allocation in harvester ants. ***Behavioral Ecology and Sociobiology***, **45**: 370–377.
- Howard, J.J.; Henneman, M.L.; Cronin, G.; Fox, J.A; Hormiga, G.1996. Conditioning of scouts and recruits during foraging by a leafcutting ant, *Atta colombica*. ***Animal Behaviour***, **52**: 299 – 306.

- Jackson, D. E.; Bicak, M.; Holcombe, M. 2008. A paradigm for self-organisation: New inspiration from ant foraging trails. **Romanian journal of information science and technology**, **11 (3)**: 253-265.
- Jaffe, K. & Deneubourg, J. L. 1992. On foraging, recruitment systems and optimum number of scouts in eusocial colonies. **Insectes Sociaux**, **39**: 201-213.
- Jaffe K. & Howse, P. E. 1979. The mass recruitment system of the leaf cutting ant, *Atta cephalotes* (L.). **Animal Behaviour**, **27 (2)**: 930-939.
- Lopes, J.F.S.; Forti, L.C.; Camargo, R.S. 2004. The influence of the scout upon the decision-making process of recruited workers in three *Acromyrmex* species (Formicidae: Attini). **Behavioural Processes**, **67** : 471-476.
- Mashaly, A.M.A. 2010. *Monomorium* ant's trail pheromones: Glandular source, optimal concentration, longevity and specificity. **Journal of Asia-Pacific Entomology** **13**: 23-26
- Morgan, E.D., Keegans, S.J., Tits, J., Wenseleer, T., Billen, J. 2006. Preferences and differences in the trail pheromone of the leaf-cutting ant *Atta sexdens sexdens* (Hymenoptera: Formicidae). **European Journal of Entomology** **103**: 553-558.
- Riley, R.G., Silverstein, R.M., Carroll, B., Carroll, R., 1974. Methyl 4-methylpyrrole-2-carboxylate: a volatile trail pheromone from the leaf-cutting ant, *Atta cephalotes*. **Journal of Insect Physiology** **20**: 651-654.
- Roces, F. 2002. Individual complexity and self-organization in foraging by leaf-cutting ants. **Biological Bulletin**, **202**:1-7.
- Roces, F. & Hölldobler, B. 1994. Leaf density and a trade-off between load-size selection and recruitment behavior in the ant *Atta cephalotes*. **Oecologia**, **97**: 1-8.
- Roces, F. & Núñez, J. A. 1993. Information about food quality influences load-size selection in recruited leaf-cutting ants. **Animal Behaviour**, **45**:135-143.
- Witte, V.; Attygalle, A.B.; Meinwald, J. 2007. Complex chemical communication in the crazy ant *Paratrechina longicornis* Latreille (Hymenoptera: Formicidae). **Chemoecology**: **17**, 57 - 62.

**Manutenção do recrutamento na ausência de forrageiras através da ampliação da atividade da escoteira**

**Resumo**

A troca de informações sociais através dos contatos físicos e deposição de trilha química constituem o arcabouço do recrutamento alimentar em formigas cortadeiras. Através de um sensível processo de amplificação, a informação transmitida pela escoteira é repassada às companheiras de ninho que por sua vez recrutam as demais forrageiras garantindo o sucesso do forrageamento. No presente estudo a ampliação do recrutamento realizado pelas forrageiras foi interrompido através de dois tratamentos: com a remoção apenas das forrageiras que retornavam com carga ou de todas as operárias que retornavam à colônia. A fim de compensar a ausência de estímulos entre operárias, a escoteira aumentou seu número de viagens entre a colônia e o recurso. Embora o forrageamento não tenha cessado, o tempo total da atividade foi prolongado e o fluxo se manteve mais baixo quando todas as operárias que retornavam à colônia eram removidas. Quer seja através de contatos diretos ou através de deposição de trilha química, o aumento de viagens da escoteira mobilizou a saída de operárias da colônia e assim manteve a atividade de forrageamento. A capacidade de reajustar-se frente a uma nova demanda na ausência de um controle central constitui um dos grandes trunfos dos insetos sociais. O presente estudo demonstra o aumento da atividade da escoteira como um exemplo da flexibilidade comportamental em formigas cortadeiras. Embora o desempenho durante o forrageamento da colônia seja reforçado por meio da comunicação entre as operárias, o simples ajuste na atividade das escoteiras pode contribuir para manutenção de uma atividade essencial à colônia, no caso o forrageamento, a despeito da ausência de comunicação entre os indivíduos

## 1.1 Introdução

A comunicação é um dos componentes centrais da vida (Hölldobler, 1999) e o acesso às informações através de coespecíficos constitui um dos grandes benefícios da vida em sociedade (Farji-Brener *et al.*, 2010). O modo como os indivíduos se comunicam e processam as informações é crucial, por exemplo, ao sucesso do forrageamento em insetos sociais (Camazine *et al.*, 2001; Detrain *et al.*, 2008).

Estratégias de forrageamento rapidamente se ajustam em função de mudanças ambientais graças a comunicação e a flexibilidade comportamental das operárias (Seeley *et al.*, 1991; Gordon, 1996). A organização eficiente do trabalho, no caso a atividade de busca e coleta de alimento, requer um número adequado de operárias engajadas em diferentes tarefas (Oster & Wilson 1978; Gordon 1989, 1996). Todavia, pouco se sabe sobre como operárias conduzem essa intrincada adaptação do forrageamento às necessidades da colônia e as mudanças externas.

O recrutamento alimentar pode então ser entendido como um processo controlado pelo comportamento da escoteira (De Biseau & Pasteels, 2000), envolvendo a tomada de decisão das operárias que podem ser influenciadas pelas interações com outras operárias e por diferenças inter-individuais de resposta aos estímulos. Além disso, colônias continuamente afinam seus esforços de forrageamento em acordo com a experiência prévia das escoteiras (Roces, 1994, Roces, 2002) e da experiência das forrageiras integrada as informações transmitidas pela escoteira (Lopes *et al.*, 2004). Há evidências que as operárias utilizam a sua experiência prévia como pista (Fowler 1982; Howard *et al.*, 1996) e, segundo De Biseau & Pasteels (2000), as operárias forrageiras dentro do ninho apresentam diferenças no limiar de resposta para os sinais de recrutamento que, provavelmente, interferem nas respostas obtidas em estudos sobre o forrageamento.

A relação entre o comportamento individual das escoteiras e o recrutamento em massa torna particularmente complexo o forrageamento em *Atta* (Jaffe & Howse, 1979). A escoteira, após encontrar uma fonte de recursos, estimula as operárias a forragearem e estas por sua vez ampliam o estímulo recrutando outros indivíduos quando retornam à colônia. Tal recrutamento ocorre através da deposição de

feromônio de trilha e do contato direto (colisões, toques antenais) entre companheiras de ninho.

Assim, é cabível supor que ao retirar todos os indivíduos que retornam à colônia, portando ou não material vegetal, não ocorrerá o recrutamento entre forrageiras, ficando a função do recrutamento restrito à ação da escoteira. A fim de compensar a ausência do recrutamento entre as forrageiras, espera-se que a escoteira persista nesta atividade de mobilização de operárias para o forrageamento. Nesse caso, se a escoteira ativa o recrutamento na ausência de estímulos forrageira-forrageira o seu número de viagens entre a colônia e o recurso deverá ser maior na ausência de operárias que retornam à colônia quando comparado a situações em que a comunicação entre forrageiras não é interrompida.

Desse modo, o tempo necessário para o forrageamento será maior na ausência total de recrutamento pelas operárias que retornam à colônia. A fim de compensar os efeitos da falta de comunicação entre operárias, o fluxo de indivíduos que tentarão retornar a colônia sem folhas, apenas para recrutar, também deverá ser maior o que diminuirá as taxas de entrega foliar. No presente estudo verificou-se como a ausência de comunicação entre operárias de *Atta sexdens* que caminham em direções opostas afetou a atividade de forrageamento.

## **1.2 Material e Métodos**

Colônias de *Atta sexdens* com aproximadamente 3L de fungo simbiote foram conectadas através de pontes de vidro (comprimento: 2m; largura: 2,5cm) à arena de forrageamento contendo 50 discos de *Acalipha wilckesiana* com 0,5cm de diâmetro. A primeira operária, escoteira, a chegar na arena de forrageamento e retornar a colônia foi marcada com um ponto de tinta atóxica no pronoto, sem que esta fosse manipulada.

Após a marcação da escoteira, realizou-se a contagem do número de viagens que este indivíduo realizou entre o ninho e a arena de forrageamento, bem como se esta realizou o transporte de material vegetal. Foram realizados três tratamentos, em dias diferentes para cada colônia, que consistiram nas seguintes manipulações:

- **Tratamento IN (*Inbound*):** todas as operárias que retornavam a colônia com ou sem carga foram retiradas e mantidas em recipiente isolado, impedindo-se dessa forma o contato entre forrageiras e a deposição de trilha química. Apenas à escoteira marcada foi permitido trafegar entre a colônia e a área de forrageamento.
- **Tratamento NL (*Inbound laden*):** somente as operárias portando carga vegetal foram retiradas e mantidas em recipiente isolado, impedindo-se o retorno das forrageiras carregadas. A escoteira marcada e operárias que retornavam sem carga foi permitido trafegar entre a colônia e a área de forrageamento.
- **Tratamento CONTROLE (C):** nenhuma operária que retornava à colônia foi retirada, não havendo manipulação do recrutamento em massa.

As operárias foram separadas em quatro grupos para análise dos dados:

OUT (*outbound*)- operárias que seguiam na direção colônia -> arena;

INL (*inbound laden*)- operárias com carga que seguiam na direção arena-> colônia

INU (*inbound unladen*)- operárias sem carga que seguiam na direção arena-> colônia

SCOUT- escoteira.

Foram registrado o tempo de passagem de cada indivíduo a partir do início do experimento em um ponto fixo de observação, localizado a 1 cm da conexão entre a ponte e a arena de forrageamento. Este ponto fixo também foi utilizado como local da remoção das operárias de acordo com os tratamentos supracitados. Os registros foram realizados até que todo material vegetal disponível fosse transportado. As colônias não receberam alimentação regular nas 24 horas anteriores a cada repetição. Foram realizadas 12 repetições com quatro colônias (três repetições para cada tratamento).

### 1.2.1 Análise dos dados:

**#viagens da escoteira:** A fim de verificar o efeito dos tratamentos no número de viagens da escoteira entre o recurso e a colônia foi feita a ANOVA de medidas repetidas considerando cada colônia como um delineamento em blocos, seguido do teste t pareado com valores de p ajustados pelo método de Benjamini-Yekutieli. Os dados referentes ao número de viagens das escoteiras foram transformados em  $\log_{10}$  e a homocedasticidade e normalidade foram checados através dos testes Bartlett e Shapiro-Wilk, respectivamente. A fim de realizar ANOVA de medidas repetidas foi

feito o teste de Mauchly que indicou a esfericidade dos dados. O teste de esfericidade de Mauchly consiste em averiguar se dados possuem variâncias iguais e correlações nulas. Se essa condição for atendida a matriz de covariâncias será denominada esférica (Mauchly, 1940).

**Fluxo Out:** Para verificar se o fluxo de operárias OUT variou entre os tratamentos ao longo do tempo, foi feita a distribuição de freqüência do número de operárias OUT em intervalos de 5 minutos a partir do segundo minuto, tempo mínimo registrado para a saída da primeira operária OUT em todos os tratamentos e repetições. Procedeu-se a comparação da distribuição de freqüência do fluxo de operárias OUT entre os tratamentos NL, NI e CONTROLE através do teste Kolmogorov-Smirnov .

**Proporção de operárias inbound :** Para verificar se os tratamentos tiveram efeito na proporção de operárias *inbound* foi feita a ANOVA de medidas repetidas considerando cada colônia como um delineamento em blocos, seguido do teste t pareado com valores de p ajustados pelo método de Benjamini-Yekutieli. A proporção de operárias *inbound* em cada tratamento foi calculada através da seguinte fórmula: =  $n^{\circ}$  de operárias INL /  $n^{\circ}$  de operárias INL +  $n^{\circ}$  de operárias INU. Ressalta-se que nos tratamentos NI e NL deve-se entender as operárias carregadas foram removidas não ocorrendo aporte de discos vegetais à colônia sendo esta uma proporção potencial. As proporções de operárias *inbound* foram transformadas em  $\log_{10}$  e a homocedasticidade e a esfericidade foram verificadas através dos testes Bartlett, e Mauchly, respectivamente.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R, ao nível de 5% de significância (R Core Team, 2014).

### 1.3 Resultados:

O número de viagens realizadas pela escoteira foi significativamente diferente entre os tratamentos ( $F= 7,09$ ;  $gl= 2$ ;  $p= 0,01$ ), sendo maior no tratamento NI em relação aos tratamentos C ( $p= 0,028$ ) e NL ( $p= 0,028$ ) (Fig 1).

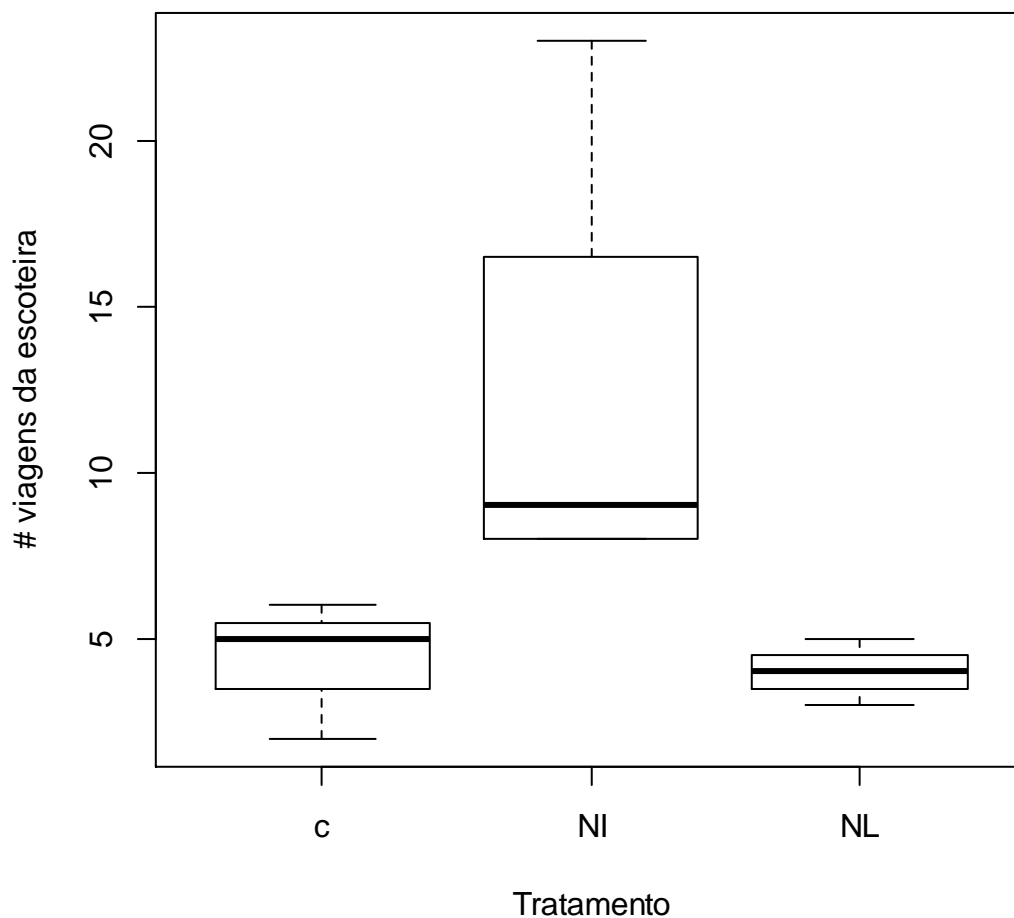


Figura 1. Número de viagens realizadas pela escoteira de *Atta sexdens* em cada tratamento (C=controle; NI=*inbound*; NL=*inbound laden*) durante o forrageamento de 50 discos vegetais de *Acalypha wilckesiana*.

A distribuição de frequência do fluxo OUT foi significativamente diferente entre NL e C ( $D= 0,11$ ;  $p< 0,001$ ) e NI e C ( $D= 0,13$ ;  $p< 0,001$ ). Essa diferença significativa também foi verificada e também entre os tratamento NI e NL ( $D= 0,16$ ;  $p< 0,001$ ). O tempo mínimo de passagem da primeira operária OUT variou aproximadamente entre 3min para os tratamentos C e NI e 2min para o tratamento

NL. Para a passagem da última operária OUT os tempos máximos verificados foram: 25min, 28min e 50min para os tratamentos C, NL e NI, respectivamente. Verificou-se um pico no fluxo OUT no intervalo 2-7 min para o tratamento NI enquanto para C e NL o pico ficou entre 7-12min. Nota-se que o fluxo de operárias OUT em NI foi mais baixo em todos os intervalos e o forrageamento se prolongou por mais tempo nesse tratamento (Fig. 2).

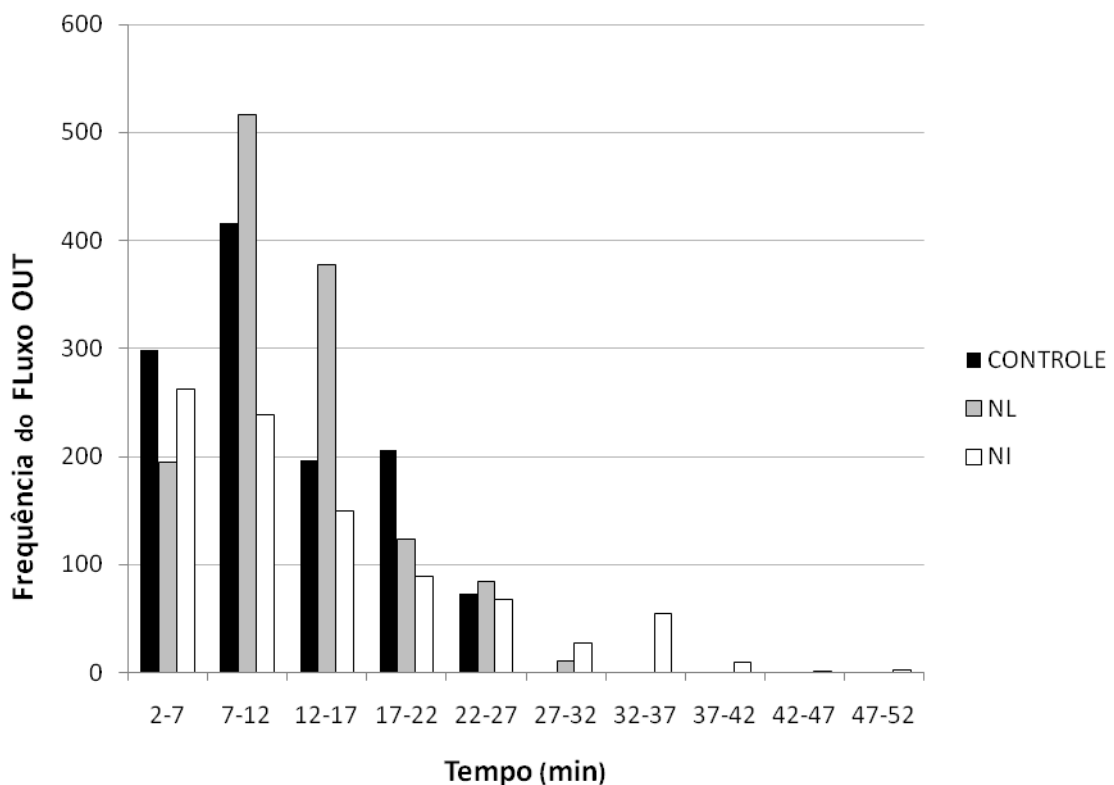


Figura 2. Distribuição de frequência do fluxo de operárias OUT por intervalos de 5min em cada tratamento (C=controle; NI=*inbound*; NL=*inbound laden*) durante o forrageamento de 50 discos vegetais de *Acalipha wilckesiana*.

A proporção de operárias *inbound* não diferiu entre os tratamentos ( $F= 0,04$ ;  $gl= 2$  ;  $p= 0,95$ ). A maior variação foi verificado no tratamento NL, 0,19-0,53, seguido por NI, onde ficou entre 0,6-0,14 e por fim o tratamento controle, com variação entre 0,21 e 0,37 (Fig.3). Ressalta-se que para essa proporção, valores menores indicam que um número maior de operárias não carregadas retornou a colônia.

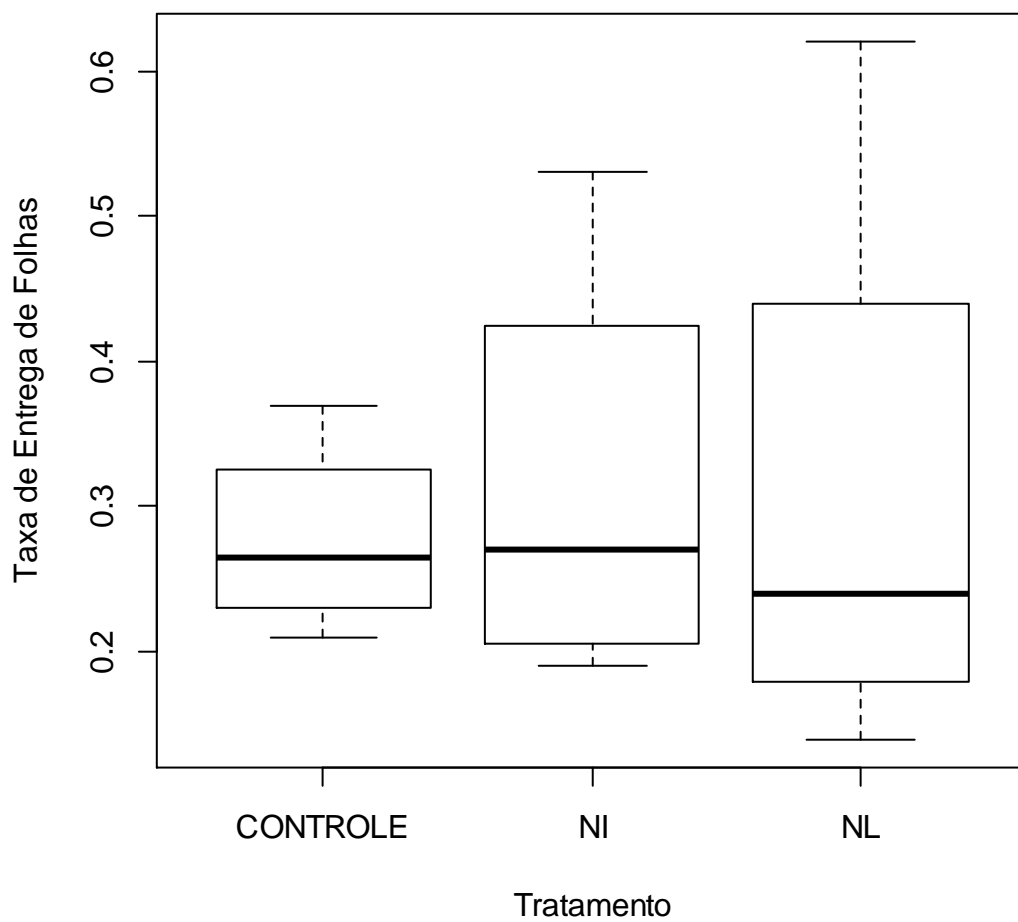


Figura 3. Proporção de operárias de *Atta sexdens* retornando com carga vegetal por tratamento (C=controle; NI=*inbound*; NL=*inbound laden*) durante o forrageamento de 50 discos vegetais de *Acalipha wilckesiana*.

## 1.4 Discussão

A remoção de todas as operárias que retornavam a colônia promoveu um aumento do número de viagens da escoteira, indicando uma modificação de sua atividade a fim de suprir a ausência de forrageiras. O aumento da atividade da escoteira registrado manteve a proporção entre operárias carregadas e não carregadas, a despeito do recrutamento ser executado somente pela escoteira. Contudo, o tempo total de forrageamento foi maior com a remoção das forrageiras indicando a importância do papel destas no recrutamento.

A atividade da escoteira constitui o estímulo inicial para a tomada de decisão das forrageiras em deixar a colônia para coletar recursos, porém a resposta ao estímulo da escoteira decai ao longo do tempo (Greene *et al.*, 2007), pois tal estímulo é principalmente químico, ocorrendo através da deposição de feromônios enquanto a escoteira retorna à colônia (Mailleux *et al.*, 2011). Além disso, após sucessivas viagens, sabe-se que escoteiras progressivamente param de depositar feromônios (Beckers *et al.*, 1993). Tanto em *Lasius niger* (Beckers *et al.*, 1993) quanto em *Camponotus rufipes* (Geissler and Roces, 2001) a persistência na deposição de trilha química da escoteira é variável porém sabe-se que esse comportamento cessa com o decorrer do forrageamento. Entretanto, o recrutamento em massa não é restrito a atuação da escoteira sendo disparado por ela mas mantido e ampliado através de um mecanismo de retro-alimentação positiva no qual as forrageiras também executam a deposição de trilha química e a transferência de informações através do contato direto com outras operárias (Jaffe & Howse, 1979; Beckers *et al.*, 1989). A manipulação imposta interferiu exatamente nesta fase do recrutamento em massa, alterando a atividade da escoteira. Quer seja através de contatos diretos ou através de deposição de trilha química, o aumento de viagens da escoteira mobilizou a saída de operárias da colônia e assim manteve a atividade de forrageamento. O efeito da remoção das forrageiras é verificado pela redução do fluxo de operárias OUT no tratamento NI e pelo maior tempo despendido para o transporte do número padronizado de fragmentos foliares.

Em *Pogonomyrmex barbatus*, a ausência de operárias retornando ao ninho promove o atraso e a diminuição da atividade, mas a colônia não cessa o

forrageamento (Gordon *et al.*, 2002). No presente trabalho também verificou-se a manutenção da atividade forrageadora em *A. sexdens* visto que o forrageamento foi mantido indicando que mesmo privadas do contato com forrageiras, as operárias continuaram transportando folhas. Além disso, não registrou-se um atraso para o início da atividade de forrageamento e a proporção de operárias carregadas e não carregadas também se manteve.

Em trilhas físicas, operárias que retornam sem carga comumente não são consideradas nas taxas de forrageamento em virtude de executarem outras funções como limpeza, manutenção e construção de trilhas (Howard, 2001). Em pontes de vidro, onde apenas a manutenção da trilha química é requisitada, operárias que retornam sem carga se ocupam principalmente desta atividade e do contato com formigas que saem da colônia. Realmente, as forrageiras deixam de cortar e transportar fragmentos vegetais a fim de recrutar mais rapidamente as companheiras de ninho (hipótese de transferência de informações: Roces e Nunez, 1993). Assim, podemos considerar que formigas que retornam à colônia sem carga estejam empenhadas em recrutar forrageiras. Ao retirar apenas as operárias carregadas, aquelas que retornavam sem carga continuaram recrutando através da deposição de trilha química e do contato. Porém, ao remover o estímulo promovido pelo retorno das operárias à colônia, apenas a escoteira coube a função de depositar trilha química e mobilizar as operárias para o forrageamento, protelando o transporte completo do material vegetal.

Tal estímulo químico associado (somado) aos estímulos físicos (de contato) entre operárias desempenham um papel fundamental ao sucesso na coleta de recursos. Um breve contato com uma companheira de ninho é capaz de influenciar na alocação de tarefas entre operárias (Greene & Gordon, 2003), confirmando a existência de um sistema de comunicação efetivo em que os contatos não são meramente ocasionais, mas se devem a particular tendência dos indivíduos em procurar e manter interações sociais com as companheiras do ninho (Boulay & Lenoir, 2001).

Encontros frontais entre operárias constituem um importante mecanismo para transmissão de informações e recrutamento (Roces & Hölldobler, 1994; Gordon, 1991; Roces & Núñez, 1993; Howard *et al.*, 1996; Burd & Arawela, 2003). Operárias que saem

da colônia são mais hábeis em encontrar e coletar um recurso após colidir frontalmente com uma operária retornando ao ninho com carga (Farji-Brener *et al.*, 2010). Para várias espécies de formigas, há indícios que o contato físico com operárias carregadas retornando ao ninho estimula operárias a saírem (Le Breton & Fourcassié, 2004; Lopes *et al.*, 2004; Dussutour *et al.*, 2007). O número de viagens da escoteira foi similar ao controle quando apenas as operárias com carga foram removidas. Não obstante, para o tratamento NI, onde não houve nenhum tipo de recrutamento entre forrageiras, a escoteira aumentou o número de viagens colônia-recurso a fim de compensar a ausência desses encontros. Quer seja através de contato direto com a carga ou do contato antenal com outras operárias, a troca de informações em ambos os casos garantiu a manutenção do forrageamento.

O aumento na densidade de formigas nas trilhas diminui o esforço de recrutamento tornando-o mais eficiente (Jaffé, 1980), pois, em insetos sociais, o intervalo entre as interações afeta as decisões no forrageamento (O'Donnell, 2001). Logicamente, em trilhas com maior densidade ocorre a diminuição da velocidade ampliando consideravelmente o número de interações entre indivíduos e por consequência o intervalo de tempo entre essas interações é reduzido (Burd, 2006). O efeito lotação no forrageamento em *Lasius niger* reduz a deposição de trilha química evidenciando um ajuste acurado na deposição de feromônios porém, após duas viagens com a trilha descongestionada, as operárias voltam a depositar trilha química (Czaczkes *et al.*, 2014) demonstrando a importância de um número ótimo de operárias na trilha. Em *Atta colombica*, o aumento na densidade de indivíduos em trilhas artificiais foi positivamente correlacionado ao aumento da eficiência (Dussutour *et al.*, 2007).

No presente estudo, a remoção das operárias com carga aumentou o intervalo tempo das interações entre operárias que saíam da colônia e operárias que retornavam a colônia pois houve a diminuição da intensidade do tráfego *inbound* em 13% em média. Embora considerando somente as operárias que retornavam sem carga o fluxo tenha aumentado em 20% em NL, o acréscimo de operárias INU não supriu a ausência de forrageiras carregadas. Já no tratamento NI, apenas a escoteira promoveu essas interações e os intervalos entre elas foram ainda mais espaçados sendo a média entre eles de 4,5min. A Atividade de forrageamento é notavelmente sincronizada com a velocidade da taxa de retorno das forrageiras em *P. barbatus* e a

colônia responde rapidamente as flutuações na taxa de retorno de forrageiras que obtêm sucesso (Gordon *et al.*, 2008). Conforme verificado para *P. barbatus*, a frequência de operárias OUT se manteve coerente ao retorno de operárias da arena de forrageamento. Quando apenas operárias sem carga retornaram a transmissão de informações ocorreu e o fluxo OUT se manteve elevado mas, quando não houve retorno de nenhuma operárias, o fluxo OUT permaneceu baixo. Em abelhas de mel atrasos resultantes de falhas durante a transferência direta de alimento entre forrageiras e receptores são utilizados como sinal para o recrutamento de mais indivíduos para aquela tarefa, mantendo-se a eficiência ergonômica da colônia (Anderson & Ratnieks, 1999b). No presente estudo, apesar do fluxo ter se mantido baixo na ausência de forrageiras, ele foi prolongado em relação aos demais tratamentos.

A manutenção da proporção de operárias carregadas e não carregadas demonstra que não houve aumento do número de indivíduos *unladen*. Esse aumento de seria esperado visto que apesar da ausência de operárias retornando ocorreu a deposição de trilha química devido a atividade da escoteira. Considerando a presença do estímulo químico, o recrutamento executado pela escoteira e o encontro com o alimento, é cabível supor que mais operárias retornassem sem carga a fim de recrutar rapidamente. No entanto, a manutenção das proporções entre formigas carregadas e não carregadas ressalta que a estratégia utilizadas para driblar a ausência de estímulos entre operárias foi o prolongamento da atividade de forrageamento.

De fato, encontros entre operárias exercem uma grande influência sobre o comportamento haja visto que o forrageamento com a retirada de todas as operárias que retornavam à colônia foi ainda mais lento em relação ao tratamento onde apenas as operárias que retornavam carregadas eram retiradas. Tal resultado coaduna o proposto para *Atta cephalotes*, onde as formigas são hábeis em regular sua atividade de recrutamento ajustando seu comportamento de acordo com o número de formigas na trilha. Os encontros com companheiras de ninho não carregadas motivam as operárias a coletarem recursos (Jaffe & Howse, 1979). Para *Pogonomyrmex barbatus*, contudo, apenas as forrageiras que obtêm sucesso, ou seja, retornam com carga, influenciam a atividade de forrageamento (Gordon *et al.*, 2002). É importante ressaltar que em ambos os casos o ajuste comportamental dos indivíduos é modulado através

do contato com outras operárias sem requerer uso da memória ou o monitoramento da atividade em nível colonial (Schafer *et al.*, 2006).

A capacidade de ajustar seu comportamento diante de mudanças sem a necessidade de um controle central constitui um dos trunfos dos insetos sociais (Bonabeau *et al.*, 1997). O presente estudo exemplifica o aumento da atividade da escoteira a flexibilidade comportamental em formigas cortadeiras. Embora o desempenho durante o forrageamento da colônia seja reforçado por meio da comunicação entre indivíduos (Roces, 2002), o simples ajuste na atividade das escoteiras pode contribuir para manutenção de uma atividade essencial à colônia, no caso o forrageamento, a despeito da ausência de comunicação entre as operárias.

## Referências Bibliográficas

Ratnieks, F.L.W. & Anderson, C. 1999. Task Partitioning in Insect Societies. II. Use of Queueing Delay Information in Recruitmen. **The American Naturalist**, **154** (5): 536-548.

Beckers, R., Goss S., Deneubourg J. L., Pasteels J. M.. 1989. Colony size, communication, and ant foraging strategy. **Psyche**, **96**: 239-256.

Beckers R.; Deneubourg J.L.; Goss S. 1993. Modulation of trailaying in the ant *Lasius niger* (Hymenoptera: Formicidae) and its role in the collective selection of a food source. **Journal of Insect Behavior**, **6**: 751-759.

Bonabeau E.; Theraulaz G.; Deneubourg J.L.; Aron S.; Camazine S .1997. Self-organization in social insects. **Trends Ecology Evolution**, **12**:188–193.

Boulay, R.; Lenoir,A. 2001. Social isolation of mature workers affects nestmate recognition in the ant *Camponotus fellah*. **Behavioural Processes**, **55**: 67–73.

Burd, M. & Aranwela, N. 2003. Head-on encounter rates and walking speed of foragers in leaf-cutting ant traffic. **Insectes Sociaux**, **50**: 3-8.

Burd, M. 2006. Ecological consequences of traffic organisation in ant societies. **Physica A**, **372**: 124–131

Camazine, S; Deneubourg, J.L.; Franks, N.; Sneyd; Bonabeau, E.; Theraulaz, G. 2001 Self-organization in biological systems. Princeton: Princeton University Press.

Czaczkes T. J., Grüter, C., Ratnieks, F.L.W. 2014. Rapid up- and down-regulation of pheromone signalling due to trail crowding in the ant *Lasius niger*. **Behaviour**

De Biseau, J.C. & Pasteels, J.M. 2000. Response thresholds to recruitment signals and the regulation of foraging intensity in the ant *Myrmica sabuleti* (Hymenoptera, Formicidae). **Behavioural Processes**, **48**: 137-148.

Detrain, C. & Deneubourg, J.L. 2008. Collective Decision-Making and Foraging Patterns in Ants and Honeybees. **Advances in insect physiology**, **35**: 123-173.

Dussutour, A.; Beshers, S.; Deneubourg, J.; Fourcassié, V. 2007. Crowding increases foraging efficiency in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. **Insectes Sociaux**, **54**: 158-165.

Farji-Brener, A.G.; Amador-Vargas, S.; Chinchilla, F.; Escobar, S.; Cabrera, S.; Herrera, M.I.; Sandoval, C. 2010. Information transfer in head-on encounters between leaf-cutting ant workers: food, trail condition or orientation cues? **Animal Behaviour**, **79**: 343–349.

- Geissler, O., Roces, F., 2001. Crop-loading dynamics in the nectarfeeding ant *Camponotus rufipes*: effects of foraging experience, food quality and colony starvation. Proceedings of the European IUSI Meeting 27.
- Gordon, D.M. 1989. Dynamics of task switching in harvester ants. **Animal Behaviour** **38**:194-204.
- Gordon, D.M. 1991. Behavioral flexibility and the foraging ecology of seed-eating ants, **The American Naturalist**, **138**:379-411.
- Gordon, D.M. 1991. Behavioral flexibility and the foraging ecology of seed-eating ants. **The American Naturalist**, **138**: 379 – 411.
- Gordon, D.M. 1996. The organization of work in social insect colonies. **Nature** **380**:121-124.
- Gordon, D.M. 2002. The organization of work in social insect colonies. **Wiley Periodicals**, **8** (1): 43-46.
- Gordon D.M.; Holmes S.; Nacu S. 2008. The short -term regulation of foraging in harvester ants. **Behavior Ecology** **19**: 217–222.
- Greene M.J. & Gordon D.M. 2003. Cuticular hydrocarbons inform task decisions. **Nature**, **423**: 32.
- Greene, M.J.; Gordon, D.M. 2007. Interaction rate informs harvester ant task decisions. **Behavioral Ecology**, **18**: 451–455.
- Hölldobler B. 1998. Multimodal signals in ant communication. **Journal of Comparative Physiology A** , **184**: 129- 141.
- Howard, J.J.; Henneman, M.L.; Cronin, G.; Fox, J.A; Hormiga, G.1996. Conditioning of scouts and recruits during foraging by a leafcutting ant, *Atta colombica*. **Animal Behaviour**, **52**: 299 – 306.
- Howard, J.J. 2001. Costs of trail construction and maintenance in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. **Behavior Ecology and Sociobiology**, **49**: 348-356.
- Jaffé, K. 1980. Theoretical Analysis of the Communication System for Chemical Mass Recruitment in Ants. **Journal of theoretical biology**, **84**: 589-609
- Jaffé, k. & Howse, P.E. 1979. The mass recruitment system of the leaf cutting ant, *Atta cephalotes* (L.). **Animal Behaviour**, **27**: 930-939.
- Le Breton, J. & Fourcassié, V. 2004. Information transfer during recruitment in the ant *Lasius niger* L. (Hymenoptera, Formicidae). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, **55**: 242 – 250.

- Lopes, J.F.S.; Forti, L.C.; Camargo, R.S. 2004. The influence of the scout upon the decision-making process of recruited workers in three *Acromyrmex* species (Formicidae: Attini). **Behavioural Processes**, **67** : 471–476.
- Mailleux, A.C.; Buffin, A.; Detrain, C.; Deneubourg, J.L. 2011. Recruitment in starved nests: the role of direct and indirect interactions between scouts and nestmates in the ant *Lasius niger*. **Insectes Sociaux** **58**: 559–567.
- O'Donnell, S. 2001. Social aggression and task performance in a swarm-founding eusocial wasp (*Polybia occidentalis*, Hymenoptera: Vespidae). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, **12** (3): 353–359.
- Oster, G.F. & Wilson, E. O. 1978. **Caste and Ecology in the Social Insects**. Princeton, Princeton University Press, 352 p.
- R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Roces, F. 1993. Both evaluation of resource quality and speed of recruited leaf-cutting ants (*Acromyrmex lundii*) depend on their motivational state. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, **33**: 183 – 189
- Roces, F., 1994. Odour learning and decision-making during food collection in the leaf-cutting ant *Acromyrmex lundii*. **Insectes Sociaux**, **41**: 235–239.
- Roces, F. & Hölldobler, B. 1994. Leaf density and a trade-off between load-size selection and recruitment behavior in the ant *Atta cephalotes*. **Oecologia**, **97**: 1-8.
- Roces, F. 2002. Individual complexity and self-organization in foraging by leaf-cutting ants. **Biological Bulletin**, **202**:1–7.
- Seeley, T. D.; Camazine, S.; Sneyd, J. 1991 Collective decision-making in honey bees: how colonies choose among nectar sources. **Behavioral Ecology and Sociobiology** **28**: 277– 290.
- Schafer, R.J.; Holmes, S.; Gordon, D.M. 2006. Forager activation and food availability in harvester ants. **Animal Behaviour** **71**:815–822.

**Efeito da remoção da escoteira no disparo do forrageamento em *Atta sexdens***

**Resumo**

O forrageamento é uma atividade crucial à vida. Em colônias de formigas cortadeiras cabe a operária escoteira o papel de recrutar as companheiras de ninho, incitando-as a participar da atividade de coleta de recursos. As interações entre as operárias presentes na trilha e a deposição de feromônio promovem um ajuste na intensidade de forrageamento. Todavia pouco se sabe sobre como esse ajuste ocorre e como esta intensidade varia em função da atividade da escoteira. Este estudo investigou o papel da escoteira no disparo do forrageamento e sua manutenção, através da remoção das escoteiras em colônias de *Atta sexdens*. Foram removidas 0, 1, 5, 10 e 30 primeiras operárias a chegarem à arena de forrageamento e registrado o fluxo de operárias e a taxa de aporte de folhas durante a atividade de forrageamento. Apesar da ausência do estímulo da escoteira para o disparo do forrageamento, este não cessou. Ocorreu um ajuste nessa atividade que se prolongou e a coleta de recursos foi postergada quando 10 ou 30 operárias foram removidas. Ao remover as escoteiras e por conseguinte cessar suas viagens colônia-recurso ocorreu um desajuste no fluxo de forrageiras. Além do retardo e prolongamento no tempo despendido para coleta e entrega do material vegetal, o fluxo de indivíduos se manteve em média 65% mais alto dos 15 aos 35 minutos quando 30 operárias foram removidas. A habilidade em produzir respostas coletivas adequadas através de contatos individuais constitui um padrão de sucesso dos insetos sociais. No presente estudo verificou-se a modificação da dinâmica do forrageamento em resposta a remoção das escoteiras, mas apesar desta modificação a atividade foi concluída ao nível colonial exemplificando a plasticidade comportamental das operárias.

## 2.1 Introdução

Nos insetos sociais, a chave para o sucesso é a eficiente organização social dos membros da colônia (Hölldobler & Wilson, 1990; Robinson, 1992). Para que essa organização ocorra, as operárias devem obter as informações necessárias através de pistas químicas e do contato com companheiras de ninho. O forrageamento de formigas cortadeiras é um claro exemplo de organização social: através do recrutamento em massa, escoteiras deixam uma trilha de feromônios enquanto retornam à colônia para recrutar forrageiras, frequentemente de forma ativa (Jaffe & Howse, 1979; Beckers *et al.*, 1989).

O papel da escoteira no recrutamento em massa tem sido bem delimitado e descrito (Jaffe & Howse, 1979; Beckers *et al.*, 1989; Jaffe & Deneubourg, 1992; Roces & Nuñez, 1993; Roces & Hölldobler, 1994; Howard *et al.*, 1996; Farji-Brener & Sierra, 1998; Roces, 2002). A escoteira que obteve sucesso na descoberta de uma fonte de recursos, ao retornar à colônia dispara a saída de companheiras de ninho guiando estas através da trilha química depositada (Jaffé & Howse, 1979; Beckers *et al.*, 1989; Roces, 2002; Detrain & Deneubourg, 2008).

Dada a importância do papel da escoteira na atividade de forrageamento, cabe dizer que seu comportamento pode ser influenciado tanto pelas condições da colônia quanto por sua própria condição durante o recrutamento. Respostas coletivas podem ser causadas diretamente por indivíduos que coletam e repassam informações sobre as necessidades da colônia (Czaczkes *et al.*, 2013) e pelas escoteiras, que incitam as operárias ao forrageamento. . As forrageiras processam os estímulos e respondem de forma adequada aos sinais emitidos pela escoteira (deposição de trilha química e contatos físicos) sendo responsáveis pela amplificação do recrutamento e estabelecimento do forrageamento (Roces, 1993, 2002), garantindo a vitalidade e o sucesso da colônia.

Todavia pouco se sabe sobre como as interações entre indivíduos produzem ajustes na intensidade de forrageamento em função de mudanças nas condições vigentes (Fernandez *et al.*, 2003), apesar de muitos estudos terem investigado modificações no comportamento das escoteiras e forrageiras frente a novas demandas (Seeley *et al.*, 1991; Beckers *et al.*, 1993; Roces, 1994; Detrain *et al.*, 1999, Dussutour

*et al.*, 2007, 2008). Sabe-se que a alocação de tarefas e a flexibilidade comportamental garantem que as respostas se adequem com acurácia e rapidez (Elizalde & Farji-Brener, 2012), permitindo o direcionamento do esforço colonial utilizando apenas informações locais. Ou seja, os indivíduos se ocuparão preferencialmente das tarefas que precisam ser executadas (Gordon *et al.*, 2002a,b) e os encontros entre indivíduos e a troca de informações promovem as mudanças necessárias para adequação do número de operárias engajadas em cada situação vigente (Gordon *et al.*, 2002b, 2008).

Sabendo-se da importância dos encontros entre a escoteira e as companheiras de ninho, como, então, a colônia irá se ajustar na ausência de informações transmitidas pela escoteira? Tendo em vista o papel da escoteira no disparo do forrageamento e sua manutenção, o presente estudo verificou o efeito da remoção das escoteiras em colônias de *Atta sexdens* considerando o fluxo de operárias e as taxas de aporte vegetal à colônia. Espera-se que ao remover a escoteira não ocorra a transferência de informações que desencadeia processo de recrutamento de indivíduos para fontes de recursos afetando o disparo do forrageamento. Na ausência da escoteira presume-se que outras operárias assumam essa função, pois o forrageamento é uma atividade imprescindível à colônia. Se as forrageiras assumem a função da escoteira, o início do forrageamento deverá ser retardado enquanto o fluxo de indivíduos e o aporte de recursos serão mantidos a despeito do atraso inicial.

## 2.2 Material e Métodos

Colônias de *Atta sexdens* com aproximadamente 3L de fungo simbiote foram conectadas através de pontes de vidro (comprimento: 2m; largura: 2,5cm) à arena de forrageamento contendo 50 discos de *Acalipha wilckesiana* com 0,5cm de diâmetro.

Foram realizados cinco tratamentos:

- **R1:** foi removida e isolada a primeira operária a chegar a arena de forrageamento;
- **R5:** foram removidas e isoladas as cinco primeiras operárias a chegar a arena de forrageamento;
- **R10:** foram removidas e isoladas as dez primeiras operárias a chegar a arena de forrageamento;

- **R30:** foram removidas e isoladas as trinta primeiras operárias a chegar a arena de forrageamento;
- **Controle:** não foi removida nenhuma operária.

Anteriormente à remoção, foi registrado o tempo de chegada dessas operárias em um ponto fixo de observação, localizado a 1 cm da conexão entre a ponte e a arena de forrageamento. A seguir, foi registrado o momento da passagem de cada indivíduo neste ponto de observação a partir do início do experimento, considerando-se a direção que seguiam e o transporte ou não de carga vegetal.

A fim de verificar como ocorreu a atividade de forrageamento, o tempo total de cada evento experimental (40min) foi dividido em 8 intervalos de cinco minutos. Foi calculado o fluxo de operárias (Burd, 2002) por minuto dentro de cada intervalo, onde Fluxo= número de operárias\*min<sup>-1</sup>\*cm<sup>-1</sup>. Para cada intervalo também foi calculada a porcentagem do carregamento de discos vegetais: % de carregamento= número de discos vegetais carregados/150 (número total de discos vegetais disponíveis considerando 50 discos por colônia/tratamento). A proporção de carregamento foi calculada a fim de corroborar sua correspondência com os valores do fluxo médio de indivíduos durante os intervalos de tempo da atividade de forrageamento.

As colônias não receberam alimentação regular nas 24 horas anteriores a cada repetição. Cada tratamento foi realizado em três diferentes colônias totalizando 15 repetições.

### **2.2.1 Análise dos dados:**

O fluxo de operárias por intervalo foi considerado como variável dependente e comparado através do modelo linear de efeito misto (LME) considerando os tratamentos e intervalos de tempo como variáveis fixas. As colônias foram incluídas no modelo como variáveis aleatórias por terem comportamento não independentes. Em conformidade com os pressupostos do LME os dados de fluxo foram transformados em log<sub>10</sub> submetidos ao teste Bartlett que indicou variâncias homogêneas. A análise de resíduos do modelo foi verificada quanto a normalidade pelo teste Shapiro-Wilk. Foi testada a significância das variáveis fixas subtraindo-se os termos de interesse a partir do modelo completo. Nesse caso, os modelos foram comparados utilizando-se o teste ANOVA.

As análises estatísticas foram realizadas no programa R, ao nível de 5% de significância (R Core Team, 2014).

### 2.3 Resultados

A remoção das 30 primeiras operárias promoveu a manutenção de um fluxo alto durante um maior período de tempo, cerca de 25 min, registrando-se que o carregamento dos discos vegetais ocorreu de forma distribuída ao longo dos 40 minutos de observação, e mais tardio do que o verificado para os demais tratamentos.

Foi verificado que a variação do fluxo de operárias durante o forrageamento sofreu efeito da remoção das primeiras operárias ( $F= 4,25$ ;  $gl=4$ ;  $p= 0,00$ ) e dos intervalos de tempo ( $F= 6,93$ ;  $gl=7$   $p< 0,0001$ ). O fluxo de operárias foi significativamente diferente entre os tratamentos controle e R30 ( $t= 2,73$ ;  $p= 0,01$ ) e não houve diferença entre o controle e demais tratamentos (**R1**:  $t= -0,28$ ;  $p= 0,77$ ; **R5**:  $t= -1,06$ ;  $p= 0,28$ ; **R10**:  $t= -0,25$ ;  $p= 0,80$ ).

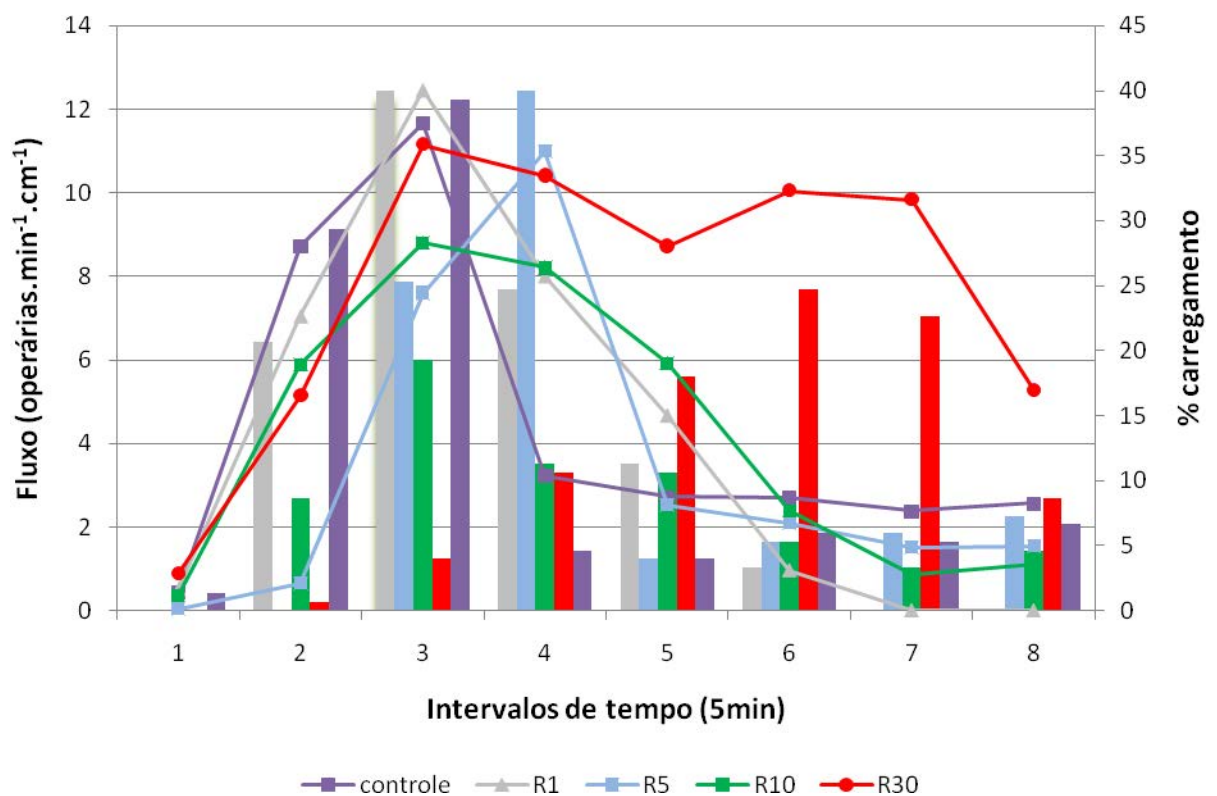


Figura 1. Fluxo de operárias de *Atta sexdens* e porcentagem de carregamento de discos vegetais por intervalos de 5min em cada tratamento (C=controle; R1=remoção da primeira operária; R5= remoção das cinco primeiras operárias; R10= remoção das dez primeiras operárias; R30= remoção das trinta primeiras operárias) durante o forrageamento de 50 discos vegetais de *Acalipha wilckesiana*.

Embora para todos os tratamentos, incluindo o controle, os maiores valores de fluxo tenham sido registrado entre 10 e 20min (intervalos 3 e 4), para R30 o fluxo permaneceu alto até, aproximadamente, 35min, enquanto reduz para os outros tratamentos já entre os 20 e 25 minutos (intervalo 5). Não obstante, a porcentagem de carregamento de discos vegetais em R30 foi alta (18-25%) entre 25 e 35 min, coincidindo com os valores elevados de fluxo. Para os tratamentos controle, R1 e R5, após o fluxo atingir seus valores máximos, ocorreu uma redução abrupta e acentuada no mesmo. Em R10, apesar do fluxo reduzir de maneira mais suave, não há um prolongamento dos valores elevados como foi verificado para R30, onde fluxo permanece em um platô até 35min (Fig.1).

Para o controle e R1, nos intervalos de 5 a 15 minutos as porcentagens de carregamento foram próximas (29-39% para o controle e 21-40% para R1). Quando foram retiradas 5 operárias as porcentagens praticamente se mantiveram (25-40%) porém nos intervalos de 10 a 20 minutos. Quando foram removidas 10 ou 30 operárias não se manteve esse padrão nas porcentagens de carregamento de material vegetal. Para R10 e R30 as maiores porcentagens de carregamento verificadas foram 19% e 23%, respectivamente.

Conforme esperado, a remoção das 30 primeiras operárias postergou o carregamento de discos vegetais. Nota-se que valores elevados na porcentagem de carregamento tendem a suceder os valores elevados de fluxo de operárias.

## **2.4 Discussão**

A remoção de 30 operárias no início do forrageamento promoveu um fluxo de indivíduos alto e prolongado durante a atividade forrageira. Apesar da remoção destas operárias, possivelmente as escoteiras, tal atividade não cessou. Pelo contrário, a colônia manteve o fluxo alto de forrageiras a fim de compensar a ausência de estímulos iniciais promovidos pela escoteira no disparo do forrageamento.

No presente estudo, a ativação do forrageamento foi retardada ao removerem-se as escoteiras, pois estas são responsáveis por iniciar o recrutamento das companheiras de ninho para a coleta de recursos. A escoteira, após a primeira visita à fonte de recursos, retorna à colônia depositando trilha química além de incitar co-

coloniais ao forrageamento através de contatos diretos (Jaffé & Howse, 1979; Beckers *et al*, 1989; Roces & Hölldobler, 1994). Após a atividade forrageira ser disparada pela escoteira, ocorre uma ampliação do recrutamento pelas operárias (Jaffé & Howse, 1979; Roces e Nuñez, 1993). Embora o papel da escoteira seja bem definido em uma colônia de formigas, pouco se sabe sobre quantas operárias desempenham essa função em uma colônia.

Em um estudo recente, Cao (2013) verificou que para *Temnothorax rugatulus* o número de escoteiras varia em função da densidade de ninhos. Em locais com alta densidade de ninhos, as colônias apresentam uma grande quantidade de escoteiras a fim de aumentar o número de indivíduos a serem rapidamente recrutados, garantindo a dominância do recurso. Já no modelo de recrutamento em massa proposto por Jaffé & Deneubourg (1992), recursos pequenos implicam em uma alta proporção de escoteiras pois necessitam de poucas operárias recrutadas para serem transportados. Recursos maiores têm baixa proporção de escoteiras, pois exigem um alto número de operárias recrutadas para seu transporte. Nesse caso, infere-se que há um incremento no número de escoteiras mas de forma pouco relevante, visto que a proporção entre o número de escoteiras/forrageiras diminui para recursos grandes.

Na manipulação realizada ao apresentar um recurso de tamanho fixo as colônias separadamente, exclui-se os fatores com influência comprovada no número de escoteiras. Assim, como não se sabe ao certo quantas escoteiras há em uma colônia de formigas cortadeiras, os resultados obtidos ao remover um número crescente de indivíduos (1, 5, 10 e 30) sugerem que pelo menos a 11<sup>a</sup> operária é escoteira, visto que a atividade de forrageamento foi similar sem a remoção ou removendo-se até 10 de indivíduos. No entanto, quando as 30 primeiras operárias foram removidas a atividade se alterou mas não cessou, sugerindo que as forrageiras assumiram a função de escoteira e que uma ágil reorganização colonial parece ter ocorrido.

A fase inicial do recrutamento corresponde aos cinco minutos iniciais, onde a fonte de recursos é encontrada e a primeira forrageira recrutada pela escoteira retorna transportando o recurso à colônia (Jaffé & Howse, 1979). A manipulação imposta promoveu um atraso no disparo do forrageamento feito pela escoteira e, obviamente, não ocorreu a entrega de material vegetal à colônia nem o contato físico entre operárias, retardando a fase inicial do forrageamento. Quando houve a remoção

apenas da primeira operária, a duração da fase inicial foi mantida. Ou seja, em menos de cinco minutos já havia transporte de recursos. Ao remover os 5, 10 e 30 primeiros indivíduos que chegaram à arena de forrageamento, houve um atraso na fase inicial em virtude da própria manipulação e a média de tempo para o retorno do primeiro indivíduo à colônia foi de 13, 14 e 11 minutos, respectivamente. Assim, o recrutamento em massa foi postergado, mas mesmo com a retirada das trinta primeiras operárias, a atividade forrageira foi estabelecida.

Haja visto o papel essencial da escoteira na mobilização da colônia para obtenção de recursos, a manutenção da atividade forrageira na ausência da escoteira demonstra a flexibilidade e ajuste colonial frente a uma nova demanda. Ao contrário do verificado neste estudo para *A. sexdens*, em colônias de formiga ceifadeira *Pogonomyrmex barbatus*, a remoção das escoteiras cessou as atividades fora do ninho e o forrageamento nem mesmo se iniciou (Gordon *et al.*, 2002). É notável que a plasticidade comportamental em insetos sociais possui aspectos especialmente interessantes. O ajuste a mudanças ambientais emerge de comportamentos coletivos e não somente de respostas individuais (Gordon, 1991, Gordon *et al.*, 2002a).

Um clássico exemplo sobre individual *versus* coletivo em insetos sociais diz respeito ao próprio recrutamento: a informação sobre a qualidade de um recurso transmitida por uma única escoteira tem efeitos diversos sobre a resposta comportamental de inúmeras operárias recrutadas (Roces, 2002). A ativação do forrageamento exercida pela escoteira e a sua persistência na deposição de trilha química em função do número de visitas à fonte de recursos é creditada como essencial ao ajuste do número de operárias engajadas no forrageamento. Através de sucessivas viagens e acesso ao alimento, a escoteira promove o recrutamento do número de indivíduos adequado às características da fonte de recursos (Mailleaux *et al.*, 2005). Ao remover as escoteiras e por conseguinte cessar sua viagens colônia-recurso ocorreu um desajuste no fluxo de forrageiras. Além do retardo e prolongamento no tempo despendido para coleta e entrega do material vegetal, o fluxo de indivíduos se manteve em média 65% mais alto dos 15 aos 35 minutos em relação ao controle quando 30 operárias foram removidas.

O ajuste no fluxo de indivíduos durante o forrageamento constitui uma resposta em nível colonial de grande importância. A intensidade do recrutamento é

controlada pela escoteira em função de diversas variáveis como localização, qualidade e quantidade de recursos (Von Frisch 1967; Hölldobler, 1976; Jaffe & Howse, 1979), suas experiências prévias (Roces, 1994, 2002) e a experiência das forrageiras integrada às suas (Lopes *et al*, 2004). Ao remover as escoteiras houve uma desregularização do fluxo já que a transmissão de informações foi comprometida. Tal desajuste no fluxo de indivíduos coaduna as funções credenciadas à escoteira como reguladora do recrutamento em colônias de insetos sociais.

Outro aspecto relevante diz respeito ao carregamento dos discos vegetais na ausência das escoteiras. Além do retardo no transporte de material vegetal verifica-se que não há picos nas porcentagens de carregamento quando 10 ou 30 operárias são removidas. Considerando que operárias assumiram a função da escoteira mantendo a entrega de recursos, pode-se supor que a transmissão de informações foi priorizada em detrimento ao rápido transporte vegetal. Como o fluxo se manteve mais alto nesses casos, era de se esperar porcentagens maiores de transporte, no entanto isso não ocorreu. Além da ausência do disparo promovido pela escoteira pode-se supor que a deposição de trilha química e o recrutamento promovido pelas forrageiras para a fonte de recursos foram fatores que influenciaram nas porcentagens de carregamento. Novamente, a *performance* coletiva parece se sobrepor a *performance* individual através da transferência de informações (Roces & Nuñez, 1993; Burd, 1996).

Sinais criados passivamente pelo comportamento do grupo frequentemente afetam o comportamento individual em insetos sociais (Burd, 1996). Por outro lado, a plasticidade comportamental envolve ajustes coloniais às mudanças no ambiente através de respostas individuais agregadas (Gordon, 2002). A habilidade de formigas em lidar com irregularidades do ambiente que não seriam aceitáveis caso apresentassem um comportamento estereotipado pode ser citada como uma consequência evolutiva das próprias variações inerentes a sistemas naturais (Ribeiro *et al.*, 2009). No presente estudo a remoção de operárias no início do forrageamento não cessou essa atividade mas levou a uma modificação em sua dinâmica adequando-a a uma nova demanda.

## Referencias Bibliográficas

Beckers, R.; Goss S.; Deneubourg J. L.; Pasteels J. M. 1989. Colony size, communication, and ant foraging strategy. **Psyche**, **96**:239-256.

Beckers, R.; Deneubourg, J.L.; Goss,S. 1993. Modulation of trail-laying in the ant *Lasius niger* and its role in the collective selection of a food source. **Journal of Insect Behavior** **6**: 751–759.

Burd, M. 1996. Foraging performance by *Atta colombica*, a leaf-cutting ant. **The American Naturalist**, **148**: 597–612.

Burd, M.; Archer, D.; Arawela, N.; Stradling, D. J. 2002. Traffic Dynamics of the Leaf-Cutting Ant, *Atta cephalotes*. **The American Naturalist**, **159 (3)**: 283-293.

Cao, T. T. 2013. High social density increases foraging and scouting rates and induces polydomy in *Temnothorax* ants. **Behavioral Ecology Sociobiology** **67**: 1799–1807

Czaczkas, T. J.; Grüter, C.; Ratnieks, F.L.W. 2014. Rapid up- and down-regulation of pheromone signalling due to trail crowding in the ant *Lasius niger*. **Behaviour**, **151**: 669-682.

Detrain, C. & Deneubourg, J.L. 2008. Collective Decision-Making and Foraging Patterns in Ants and Honeybees. **Advances in insect physiology**, **35**: 123-173.

Detrain, C.; Deneubourg, J.L.; Pasteels, J.M. 1999. Decision-making in foraging by social insects. In: **Information Processing in Social Insects** 331–354. Basel: Birkhäuser Verlag.

Dussutour, A.; Beshers, S.; Deneubourg, J.; Fourcassié, V. 2007. Crowding increases foraging efficiency in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. **Insectes Sociaux**, **54**: 158-165.

Dussutour, A.; Beshers, S.; Deneubourg, J.L.; Fourcassié, V. 2008. Priority rules govern the organization of traffic on foraging trails under crowding conditions in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. **The Journal of Experimental Biology**, **212**: 499-505.

Elizalde, L.; Farji-Brener, A. 2012. To be or not to be faithful: flexible fidelity to foraging trails in the leaf-cutting ant *Acromyrmex lobicornis*. **Ecological Entomology**, **37**: 370–376.

Farji-Brener, A.G. & Sierra, C. 1998. The role of trunk trails in the scouting activity of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. **Écoscience**, **5(2)**: 271-274.

Fernandez P.C.; Gil M.; Farina W.M. 2003. Reward rate and forager activation in honeybees: recruiting mechanisms and temporal distribution of arrivals. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, **54**: 80–87.

Gordon D.M. 1991. Behavioral flexibility and the foraging ecology of seed-eating ants, **The American Naturalist**, **138**: 379-411.

Gordon, D.M. 2002a. The organization of work in social insect colonies. **Wiley Periodicals**, **8** (1): 43-46.

Gordon D.M. 2002. The regulation of foraging activity in red harvester ant colonies. **American society of naturalist**, **159**: 509–518.

Gordon D.M.; Holmes, S.; Nacu, S. 2008. The short-term regulation of foraging in harvester ants, **Behavioral Ecology**, **19**: 217–222.

Hölldobler, B. 1976. Recruitment behaviour, homerange orientation and territoriality in the Harvester ants *Pogonomyrmex*. **Behavior Ecology and Sociobiology**, **1**: 3-44.

Hölldobler, B. & Wilson, E. 1990. **The Ants**. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, 732p.

Howard, J.J. 2001. Costs of trail construction and maintenance in the leaf-cutting ant *Atta columbica*. **Behavior Ecology and Sociobiology**, **49**: 348-356.

Jaffe, K. & Deneubourg, J. L. 1992. On foraging, recruitment systems and optimum number of scouts in eusocial colonies. **Insectes Sociaux**, **39**: 201-213.

Jaffé, K. & Howse, P.E. 1979. The mass recruitment system of the leaf cutting ant, *Atta cephalotes* (L.). **Animal Behaviour**, **27**: 930-939.

Lopes, J.F.S.; Forti, L.C.; Camargo, R.S. 2004. The influence of the scout upon the decision-making process of recruited workers in three *Acromyrmex* species (Formicidae: Attini). **Behavioural Processes**, **67** : 471–476.

Mailleux, A. C.; Detrain, C.; Deneubourg, J. L. 2005. Triggering and persistence of trail-laying in foragers of the ant *Lasius niger*. **Journal of Insect Physiology**, **51**: 297-304.

R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Ribeiro, P. L.; Helene, A. F.; Xavier, G.; Navas, C.; Ribeiro, F. L. 2009. Ants can learn to forage on one-way trails. **Plos One**, **4**(4): e5024.

Robinson, G.E. 1992. Regulation of division of labor in insect societies. **Annual Review Entomology**, **37**: 637–665.

Roces, F. 2002. Individual complexity and self-organization in foraging by leaf-cutting ants. **Biological Bulletin**, **202**:1–7.

Roces, F. & Hölldobler, B. 1994. Leaf density and a trade-off between load-size selection and recruitment behavior in the ant *Atta cephalotes*. **Oecologia**, **97**: 1-8.

Roces, F. & Núñez, J. A. 1993. Information about food quality influences load-size selection in recruited leaf-cutting ants. **Animal Behaviour**, **45**:135-143.

Seeley, T. D.; Camazine, S.; Sneyd, J. 1991 Collective decision-making in honey bees: how colonies choose among nectar sources. **Behavioral Ecology and Sociobiology** **28**: 277– 290.

## Investigação da polaridade de trilhas químicas através do comportamento de operárias durante o forrageamento em *Atta sexdens*

### Resumo

Uma trilha química é dita polarizada quando o animal determina qual a direção a seguir utilizando-se unicamente de informações olfativas. Tendo em vista que operárias de formigas devem seguir em direções opostas: colônia ou fonte de recursos, é lícito supor que haja uma indicação de direção nas trilhas de feromônios. Supondo que a trilha química de *Atta sexdens* apresente polaridade entre a colônia e o recurso, espera-se que haja maior quantidade de feromônios em uma das extremidades gerando um gradiente de concentração. Assim operárias poderiam se direcionar na trilha fornecendo evidências empíricas de sua polaridade. O presente estudo teve por objetivo verificar se as trilhas químicas de *Atta sexdens* direcionam as forrageiras ao recurso e à colônia. Para tanto, verificou-se o efeito da rotação de trilha química em 180° sobre o fluxo de operárias e sobre os comportamentos de marcação de trilha e *u-turn* (meia volta) a fim de redirecionar o forrageamento. As respostas comportamentais de operárias demonstraram não haver polaridade nas trilhas químicas que funcione como indicação de direção.. A marcação de trilha variou somente em função da distância colônia-recurso, provavelmente a fim de manter o fluxo de operárias garantindo o aporte de material vegetal à colônia para maiores distância. Operárias de *A. sexdens* demonstraram a capacidade de ajuste ao lidar com modificações abruptas no ambiente. O fluxo de forrageiras se manteve e não houve alteração comportamental a despeito da rotação em 180° das trilhas químicas. Haja visto a manutenção da atividade forrageiras, a eficiência das informações utilizadas pelas operárias através da deposição de trilha química ou dos contatos físicos entre companheiras de ninho é incontestável. Maiores investigações sobre aspectos químicos dos feromônios de trilha são necessárias à compreensão categórica do funcionamento de trilhas químicas de formigas.

### 3.1 Introdução

Para grande parte dos animais, o forrageamento envolve a saída e retorno ao ninho. Em insetos sociais são utilizados diversos sistemas para localização e retorno à colônia como: pistas visuais, campos magnéticos, radiação térmica, sinais táteis, e, mais freqüentemente, sinais químicos (Steck, 2012). Trilhas depositadas no substrato (sinal químico) são utilizadas para orientação nos grupos onde o forrageamento ocorre com saída e retorno ao mesmo local ("central place foragers") como cupins e formigas (Wyatt, 2003).

Feromônios de trilhas são especialmente importantes para organizar as atividades de forrageamento e explorar o ambiente nas espécies de formigas mais abundantes (Hölldobler & Wilson, 1990). A alta dependência de feromônio de trilhas para orientação e comunicação faz com que essas trilhas sejam cruciais ao sucesso de forrageamento nesses insetos (Jackson *et al.*, 2008), dentre os quais inclui-se as formigas cortadeiras. As operárias depositam uma trilha de feromônios que serve como guia para as forrageiras que devem transitar entre a colônia e a fonte de recursos (Jaffé & Howse, 1979). Tais trilhas ilustram como o comportamento pode ser modulado através dos feromônios (Mashlay, 2010). Diferentes respostas comportamentais são observadas em acordo com a concentração, contexto e proporção de feromônios utilizados (Hölldobler & Wilson, 1990; Vander Meer *et al.*, 1990). Não por acaso, feromônios utilizados em trilhas de forrageamento de formigas têm sido extensivamente estudados (Hölldobler & Wilson 1990).

Através do estudo de respostas comportamentais coletivas pode-se obter pistas sobre a existência de polaridade nas trilhas químicas de formigas cortadeiras. Pode-se dizer que uma trilha química é polarizada quando o animal pode determinar qual a direção correta a seguir utilizando-se apenas de informações olfativas (Bradbury & Vehrencamp 1988). Supondo que a trilha química de formigas cortadeiras apresente polaridade entre a colônia e o recurso, a direção correta para forrageiras com folhas é o ninho, enquanto que para operárias que saem para forragear, a direção correta é a fonte de recursos. Portanto, espera-se que haja maior quantidade de feromônios em uma das extremidades gerando um gradiente de concentração o qual seria efetivamente utilizado como sinal químico pelas operárias para se direcionar na trilha

fornecendo evidências empíricas de sua polaridade. Operárias da espécie *Lasius niger* de fato executam o comportamento de deposição de trilha até cinco vezes mais junto a fonte de recursos em relação ao ninho (Beckers *et al.*, 1992). Assim, pode-se esperar que a manipulação das trilhas tenha efeito sobre o comportamento das forrageiras. Por exemplo, caso haja uma indicação da direção colônia-recurso ou vice-versa, a rotação da trilha química em 180° deverá diminuir o fluxo pois as operárias estarão desorientadas na própria trilha, sendo que as forrageiras carregadas não irão se deslocar na direção da colônia diminuindo o recrutamento. Além disso, os comportamentos de marcação de trilha e o de *u-turn* (meia volta) deverão ocorrer em maior frequência a fim de redirecionar o forrageamento. O presente estudo teve por objetivo verificar se as trilhas químicas de *Atta sexdens* direcionam as forrageiras ao recurso e à colônia. Para tanto, investigou-se o efeito da rotação de trilhas químicas sobre o comportamento de operárias durante o forrageamento.

### 3.2 Material e Métodos

Foram utilizadas três colônias de *Atta sexdens* com aproximadamente 3L de fungo simbiote, conectadas através de pontes de vidro (largura: 2,5cm) à arena de forrageamento contendo 50 discos de *Acalipha wilckesiana* com 0,5cm de diâmetro. As colônias foram mantidas sem alimentação nas 24 horas anteriores a cada evento experimental.

Foram realizados dois tratamentos:

- **Tratamento Teste:** Após o carregamento de 50% do material vegetal, a ponte foi manipulada e rotacionada em 180°. Assim, a extremidade da ponte conectada à arena de forrageamento passou a ser conectada à colônia e vice-versa. Por conseguinte, houve a rotação da trilha química de feromônio depositada pelas operárias;
- **Tratamento Controle:** Após o carregamento de 50% do material vegetal a ponte foi manipulada, porém não houve a rotação da mesma.

Para cada tratamento foram utilizados três diferentes comprimentos de ponte (50, 100 e 200cm) a fim de verificar se a distância entre a colônia e o recurso afeta o fluxo de operárias antes e depois da manipulação da trilha química.

Foram registrados o número de operárias, comportamento de marcação de trilha e *U-turns* antes e depois da manipulação (com ou sem rotação) a cada 5 minutos com intervalos de 1min, até que todo material vegetal fosse transportado. Visto que o tempo de forrageamento em cada repetição, colônia e comprimento de trilha foi diferente, foram utilizados apenas os dados referentes aos 5 minutos imediatamente antes e após a manipulação.

Para a análise dos dados, foi calculado o fluxo de operárias por min seguindo a fórmula proposta por Burd (2002), , onde Fluxo= número de operárias\*min<sup>-1</sup>\*cm<sup>-1</sup>.

Cada colônia foi submetida aos dois tratamentos (teste e controle) e aos três comprimentos de ponte (0,5, 1 e 2m) totalizando 36 repetições.

### **3.2.1 Análise dos dados:**

O fluxo de operárias, a frequência de marcação de trilha química e de "*U-turns*" foram analisados separadamente utilizando-se Modelos lineares de efeito misto (LME). A manipulação (antes e depois), os tratamentos (teste e controle) e o comprimento das pontes, foram considerados no modelo completo como variáveis fixas. As colônias foram incluídas no modelo como variáveis aleatórias por terem comportamentos inerentes. As variáveis dependentes (fluxo, marcação de trilha e *u-turn*) foram transformadas em log10 e a homocedasticidade e normalidade dos resíduos verificadas através dos testes de Bartlett e Shapiro-Wilk, respectivamente. As significâncias de variáveis fixas foram testadas subtraindo-se termos de interesse do modelo completo. Nesse caso, os modelos foram comparados utilizando-se o teste ANOVA.

Também foi feita uma análise de regressão linear a fim de verificar o efeito da marcação de trilha química sobre o fluxo de operárias.

As análises estatísticas foram realizadas no programa R, ao nível de 5% de significância (R Core Team, 2014).

### **3.3 Resultados**

Não foi verificado efeito da manipulação ( $F= 2,67$ ;  $gl=29$ ;  $p= 0,11$ ), dos tratamentos ( $F= 0,16$ ;  $gl=29$ ;  $p= 0,69$ ), do comprimento de trilha ( $F= 2,23$ ;  $gl=29$ ;  $p= 0,18$ ) sobre o fluxo de operárias durante o forrageamento (Fig.1). A manipulação da trilha química, com ou sem rotação, não afetou o fluxo de operárias para qualquer comprimento de ponte testado.

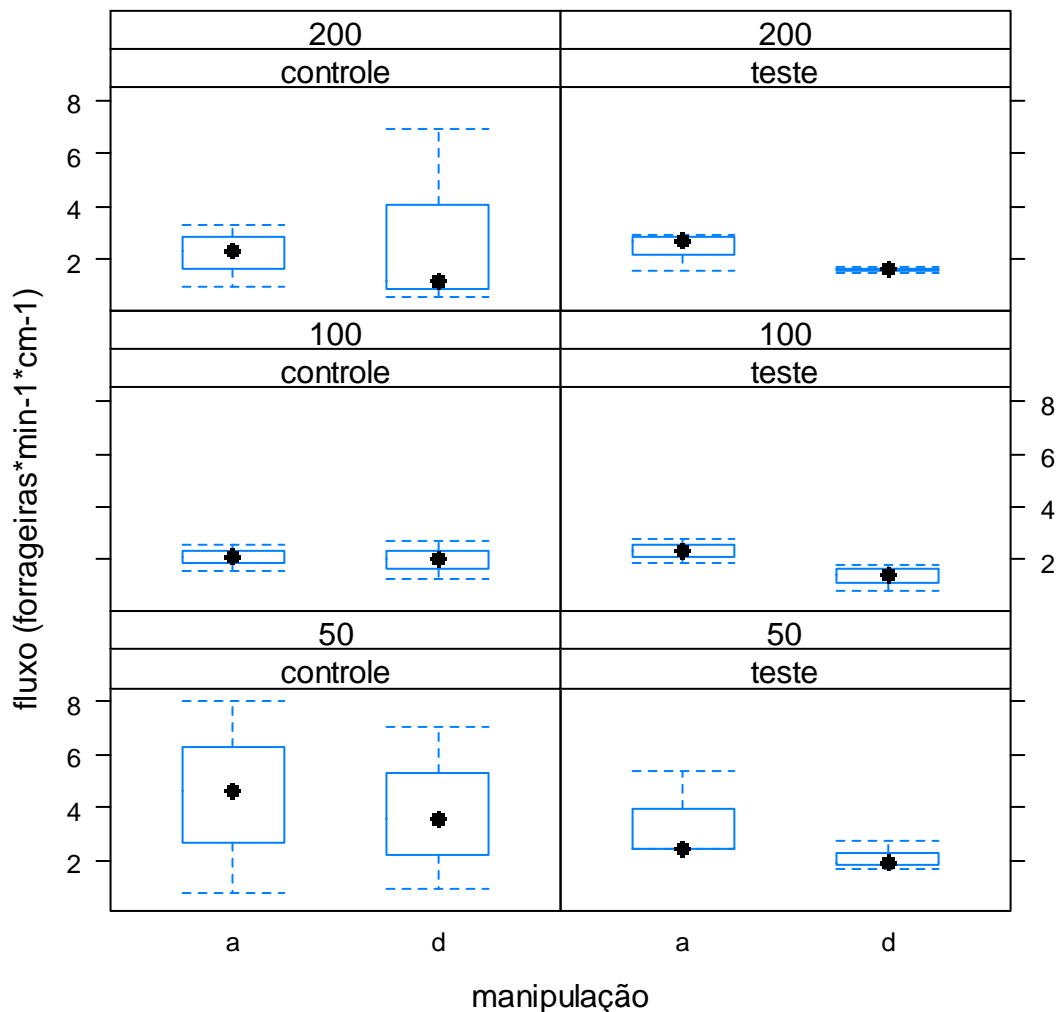


Figura 1. Fluxo de operárias de *Atta sexdens* 5min antes (a) e depois (d) da manipulação nos tratamentos controle e teste para os três comprimentos de ponte testados (50cm, 100cm, 200cm) durante o forrageamento de 50 discos de *Acalipha wilckesiana*.

A atividade de marcação de trilha também não variou em função da manipulação ( $F=0,09$ ;  $gl=29$ ;  $p= 0,76$ ) nem do tratamento ( $F=0,83$ ;  $gl=29$ ;  $p= 0,36$ ). No entanto, verificou-se efeito significativo do comprimento das pontes ( $F=2,99$ ;  $gl=29$ ;  $p= 0,05$ ), com maior atividade de marcação de trilha química na ponte mais longa para o tratamento controle (Fig.2). Quando houve a rotação da trilha no tratamento teste,

essa relação não foi mais verificada. Sendo tal confirmado pela interação significativa entre as variáveis comprimento e tratamento ( $F=7,865$ ;  $gl=29$ ;  $p=0,002$ ). As demais interações não foram significativas sendo portanto retiradas a fim de simplificar o modelo.

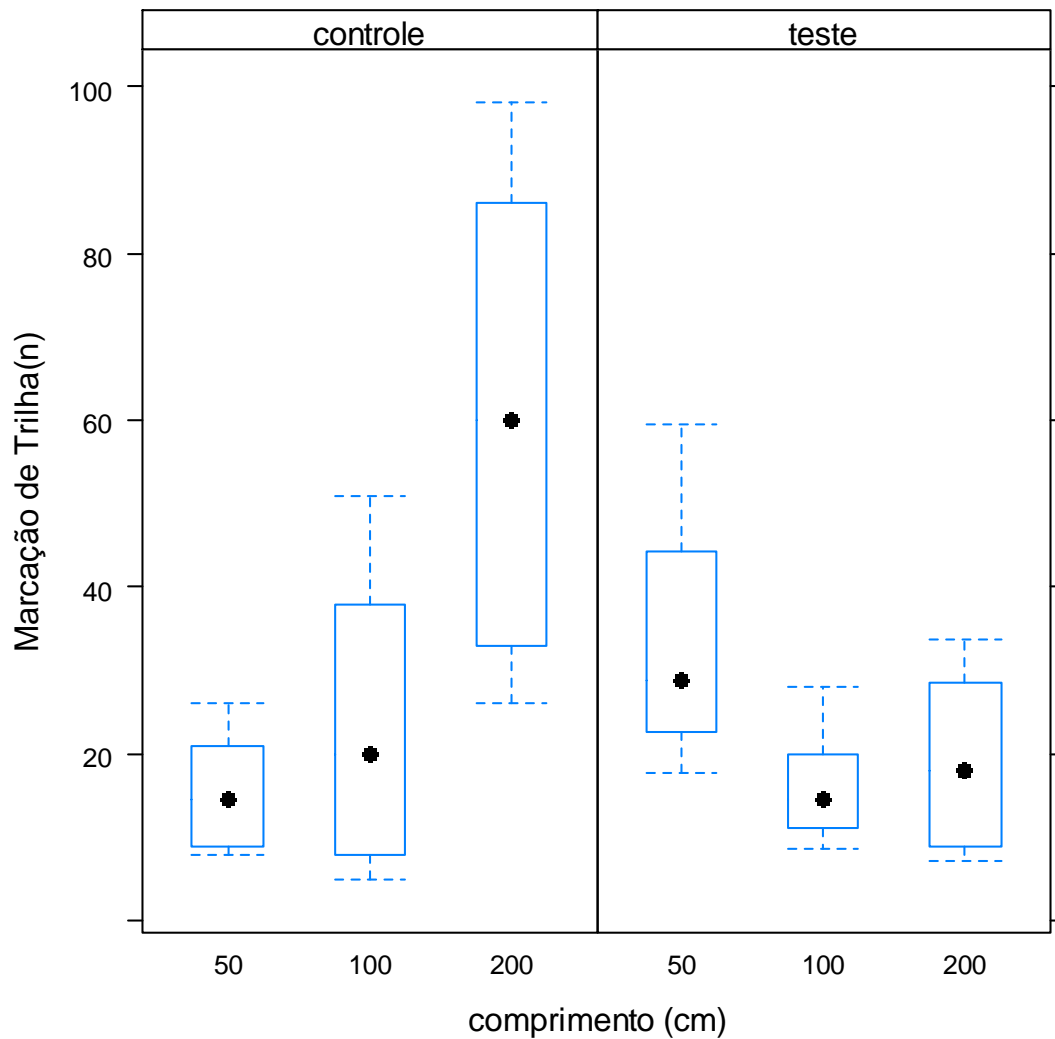


Figura 2. Frequência da atividade de marcação de trilha realizada por operárias de *Atta sexdens* antes (a) e depois (d) da manipulação nos tratamentos controle e teste, nos três comprimentos de ponte testados (50, 100 e 200cm) durante o forrageamento de 50 discos de *Acalipha wilckesiana*.

Não houve efeito da manipulação ( $F= 0,17$ ;  $gl=29$ ;  $p= 0,68$ ), dos tratamentos ( $F= 0,05$ ;  $gl=29$ ;  $p= 0,82$ ), do comprimento de trilha ( $F= 0,77$   $gl=29$ ;  $p= 0,47$ ) sobre a frequência de *u-turns* executados pelas operárias durante o forrageamento (Fig.3). Ressalta-se que a frequência de *u-turns* foi baixa ocorrendo no máximo 4 vezes na

ponte de 200 cm antes da manipulação e nenhuma vez na ponte de 50cm após a manipulação.

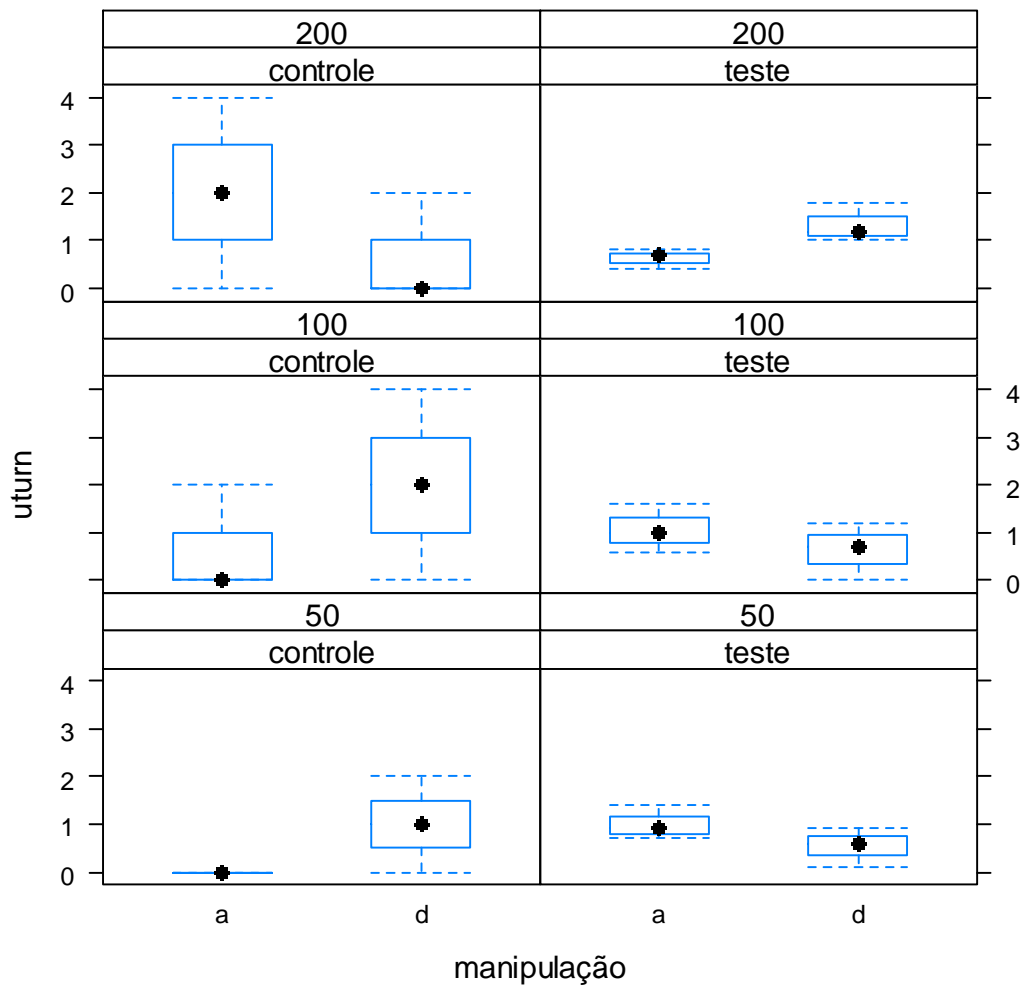


Figura 3. Frequência de *u-turn* realizado por operárias de *Atta sexdens* antes (a) e depois (d) da manipulação nos tratamentos controle e teste, nos três comprimentos de ponte testados (50, 100 e 200cm) durante o forrageamento de 50 discos de *Acalipha wilckesiana*.

Conforme esperado, quanto maior a deposição de trilha química, maior o fluxo de operárias na trilha ( $t= 73,80$ ;  $p < 0,001$ )(Fig.4).

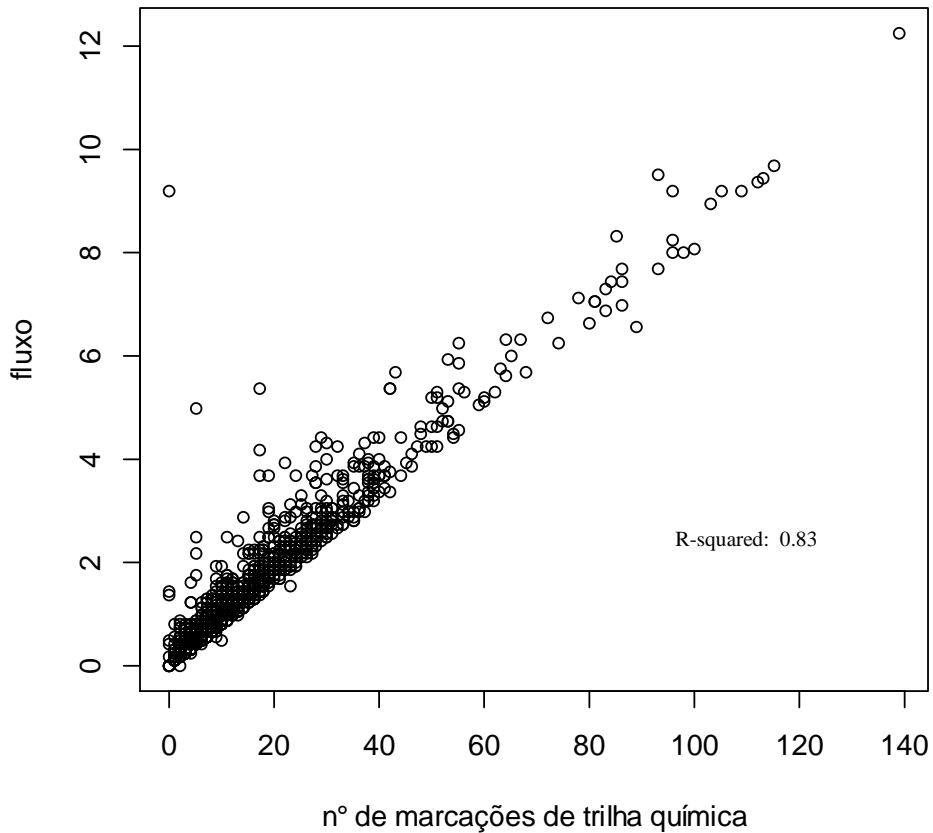


Figura 4. Fluxo de operárias de em função do número de marcações de trilha química durante o forrageamento em *Atta sexdens*.

### 3.4 Discussão

As respostas comportamentais de operárias durante o forrageamento demonstraram não haver polaridade química nas trilhas de feromônios em *Atta sexdens*, dado a não variação do fluxo, nem da frequência de marcação de trilha e *u-turn*. A marcação de trilha variou apenas em função da distância colônia-recurso, provavelmente a fim de manter o fluxo de operárias e garantir o aporte de material vegetal à colônia quando essa distância é mais longa. Além da manutenção do fluxo, a frequência de *u-turn* demonstrou a habilidade das operárias em trafegar pela trilha química independente de sua posição. Assim, podemos concluir que trilhas químicas de *Atta sexdens* não possuem polaridade que funcione como indicação de direção para as forrageiras.

O aumento da deposição de trilha química pode ser compreendido como um mecanismo para manutenção da concentração de feromônios nas trilhas físicas maiores, no caso as pontes de vidro. De fato, em colônias de *Atta*, a manutenção de trilha aparenta ser um aspecto importante visto que entre 13% e 75% dos indivíduos retornam à colônia sem transportar carga vegetal. (Hodgson, 1955; Cherrett, 1972; Lugo *et al.*, 1973). Estima-se que parte desses indivíduos esteja justamente engajada na manutenção de trilha química e recrutamento (Jaffé & Howse, 1979). Além da maior atividade de marcação de trilha, poderia se esperar uma frequência maior de *u-turn's* visto que esse comportamento, além de indicar uma possível desorientação, pode representar uma tentativa de intensificar a marcação de trilha química (Hart & Jackson, 2006). Embora ele ocorra em baixa frequência, o "u-turn" representa uma marcação de trilha desproporcional visto que há uma maior deposição de feromônios quando as operárias executam a meia volta (Reid *et al.*, 2012).

Dado que o recrutamento pode ser definido como a comunicação que traz companheiros de ninho a algum ponto no espaço que requer trabalho (Wilson, 1971) é justo supor que este, quer seja através da deposição de trilha química, quer seja através de contato físico entre operárias, oferece pistas direcionais de onde o trabalho é premente. No entanto, quando operárias de *Atta cephalotes* são experimentalmente desorientadas, não há aumento na frequência de encontros frontais (head-on encounters). Tais encontros seriam esperados para estes indivíduos de modo que eles obtivessem pistas direcionais e se reorientassem na trilha (Farji-Brener *et al.*, 2010).

É possível traçar um paralelo entre o estudo de Farji-Brener *et al* (2010) e o presente estudo pois em ambos as operárias foram experimentalmente desorientadas. Tanto para *A. cephalotes* quanto para *A. sexdens* as respostas comportamentais destas operárias não se alteraram, resultado que sugere que a obtenção de informações de direção não ocorre através de contatos físicos ou da polaridade da trilha química das trilhas. Como então operárias se orientam entre colônia e recurso? Como as operárias sabem em que direção estão caminhando?

Carthy (1951) observou que formigas do gênero *Acanthomyops* (*Lasius fuliginosus*) seguem uma trilha invisível utilizando suas antenas mas conclui não haver indicação de direção nessas trilhas. Verifica-se que estas se mantêm na trilha ajustando sua caminhada de modo a garantir uma concentração de feromônios

equivalente entre as duas antenas (Hangartner, 1967). Embora esse mecanismo explique como os indivíduos se mantêm na trilha, ele ainda não determina como eles se direcionam.

É importante notar que a comunicação durante o forrageamento em formigas é multimodal. A orientação utilizando apenas o odor é rara entre formigas e outros padrões associados de navegação são utilizados de forma variada entre as espécies (Vilela *et al.*, 1987) como as pistas visuais, a estridulação promovida por operárias, o contato com outras operárias na trilha (Roces, 1993; Hölldobler, 1998) e, possivelmente, o campo magnético (Banks & Srygley, 2003). Nesse contexto, quando a ponte foi rotacionada em 180°, somente a trilha química foi invertida mas manteve-se as pistas visuais. Caso a trilha química apresentasse polaridade e fosse a informação prioritariamente utilizada, as forrageiras iriam alterar a frequência dos comportamentos frente a nova demanda decorrente da manipulação. Porém, tal alteração não foi observada sugerindo que a trilha não tem polaridade.

A utilização das pistas visuais é factível, embora não tenha sido testada, mas o aumento na marcação de trilha para a ponte mais longa sugere que a deposição de trilha química sobrepõe a utilização de pistas visuais. Vilela *et al.* (1987) hierarquiza as informações utilizadas para *Atta cephalotes* durante o forrageamento de forma que as operárias sigam tal ordem: trilha de odor presente, pistas visuais ou *layout* espacial da trilha, pistas de odor na própria trilha e pistas gravitacionais. No presente estudo foram utilizadas pontes de vidro sem quaisquer bifurcações ou angulações, o próprio *layout* da pista é descartado como possível informação de orientação. Sugere-se que além de tais informações propostas acima, o contato com as companheiras de ninho seja primordial ao desempenho das forrageiras.

O uso da rotação de trilha química constitui uma metodologia já empregada na investigação de polaridade de trilhas. Em um estudo com *A. cephalotes*, forrageiras carregadas foram testadas isoladamente, sendo as mesmas transferidas para trilhas químicas rotacionadas em 180° e para trilhas sem marcação química. Concluiu-se que elas se movimentam em direção ao ninho independente da rotação da trilha química. Mesmo em trilhas que foram rotacionadas em 180° as forrageiras retomaram a direção correta em relação ao ninho. Por outro lado, quando reposicionadas em trilhas físicas sem marcação química, essas forrageiras não se moveram em direção ao ninho

(Wetterer *et al.*, 1992). Vilela *et al* (1987) verificaram que *Acromyrmex octospinosus* demonstra ter maior sensibilidade ao detectar diferenças na orientação de trilhas químicas quando comparadas à espécies de *Atta*. Os autores sugerem a possível existência de polaridade química nas trilhas dessa espécie visto que a frequência de operárias que seguiam a trilha em *Ac. octospinosus* foi mais relacionada ao odor de trilha do que as outras possíveis pistas de orientação manipuladas pelos autores.

Diferente dos trabalhos supracitados, no presente estudo foi realizada uma investigação das respostas comportamentais das formigas. A direção em que seguiam após a rotação não foi o foco desse estudo e sim a maneira como se comportavam após a manipulação experimental. Trilhas artificiais, como as pontes de vidro, somente oferecem duas direções possíveis. Operárias teriam, mesmo ao acaso, 50% de chance de tomarem a direção correta, mesmo na ausência efetiva de polaridade química nas trilhas. A comparação de frequências comportamentais e do fluxo antes e após a rotação de trilha química foi considerada uma maneira mais eficaz e não - arbitrária de averiguar uma possível polaridade química do que simplesmente o registro da direção escolhida pelos indivíduos. Ressalta-se que dados comportamentais são importantes ferramentas para a compreensão de pistas químicas em trilhas de formigas. Sinais de "no-entry" verificados em trilhas químicas de *Monomorium pharaonis* foram identificados unicamente através de frequências comportamentais (Robinson *et al.*, 2005).

Embora haja uma investigação extensiva sobre a orientação em trilhas de formiga (Carthy, 1950, 1951; Wilson. 1962; Hölldobler, 1974;Traniello, 1977; Rosengren & Fortelius, 1987; Farji-Brenner, 2010), poucos estudos são conclusivos quanto a maneira como as operárias se orientam. Para formigas, a primeira evidência conclusiva da existência de polaridade de trilhas utilizou a espécie *Monomorium pharaonis*. As operárias dessa espécie utilizam a geometria das trilhas, precisamente os ângulos entre bifurcações, de sua própria rede de trilhas para se reorientar na direção correta (Jackson *et al.*, 2004). Outro exemplo de polaridade em insetos sociais é verificado em abelhas da espécie *Trigona spinipes*. Forrageiras experientes depositam o feromônio de trilha em diferentes gradientes de concentração permitindo as demais forrageiras distinguir entre o início e o fim da trilha (Nieh *et al.*, 2004).

De qualquer modo, fica evidente a capacidade das operárias em lidar com modificações abruptas no ambiente. O fluxo de forrageiras se manteve e não houve alteração comportamental a despeito da rotação em 180° das trilhas químicas. Nesse sentido, a eficiência das informações utilizadas pelas operárias, tanto através de marcação química quanto através dos contatos entre co-colônias é incontestável. Maiores investigações sobre aspectos químicos dos feromônios de trilha são indispensáveis à compreensão categórica do funcionamento de trilhas químicas de formigas.

## Referências Bibliográficas

- Banks, A. N.; Srygley, R. B. 2003. Orientation by magnetic field in leaf-cutter ants, *Atta colombica* (Hymenoptera: Formicidae). **Ethology**, **109 (10)**: 835-846.
- Beckers, R.; Deneubourg, J. L.; Goss, S. 1992. Trail laying behaviour during food recruitment in the ant *Lasius niger* (L.). **Insectes Sociaux**, **39**: 59-72.
- Bradbury J.; Vehrencamp, S. L. 1988. Principles of animal communication. Sinauer, Sunderland, Mass
- Burd, M.; Archer, D.; Arawela, N.; Stradling, D. J. 2002. Traffic Dynamics of the Leaf-Cutting Ant, *Atta cephalotes*. **The American Naturalist**, **159 (3)**: 283-293.
- Carthy, J.D. 1950. Odour trails of *Acanthomyops-fuliginosus*. **Nature** **166**: 154–154.
- Carthy, J.D. 1951. The Orientation of 2 allied species of British ant .2. Odour trail laying and following in *Acanthomyops-(Lasius)-Fuliginosus*. **Behaviour** **3**: 304–318.
- Cherrett, J. M. 1972. Some Factors Involved in the Selection of Vegetable Substrate by *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae) in Tropical Rain Forest. **Journal of Animal Ecology**, **41 (3)**: 647-660.
- Farji-Brener, A.G.; Amador-Vargas, S.; Chinchilla, F.; Escobar, S.; Cabrera, S.; Herrera, M.I.; Sandoval, C. 2010. Information transfer in head-on encounters between leaf-cutting ant workers: food, trail condition or orientation cues? **Animal Behaviour**, **79**: 343–349.
- Hangartner W. 1967. Specificity and inactivation of trail pheromone in *Lasius fuliginosus* (Latr.) and orientation of ant workers in scent field. **Z Vergleichende Physiology**, **57**: 103-136.
- Hart, A. G. & Jackson, D. E. 2006. U-turns on ant pheromone trails. **Current Biology**, **16**: 42-43.
- Hodgson, L. D. 1955. An ecological study of the behavior of the leafcutting ant *Atta cephalotes*. **Ecology**, **36**: 293–304.
- Hölldobler B. 1998. Multimodal signals in ant communication. **Journal of Comparative Physiology A**, **184**: 129- 141.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. 1990. **The Ants**. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, 732p.
- Jackson, D.E.; Holcombe, M.; Ratnieks, F.L.W. 2004. Trail geometry gives polarity to ant foraging networks. **Nature**, **432**: 907-909.

- Jackson, D. E.; Bicak, M.; Holcombe, M. 2008. A Paradigm for Self-Organisation: New Inspiration from Ant Foraging Trails. **Romanian Journal of Information Science and Technology**, **11(3)**: 253:265.
- Jaffé, k. & Howse, P.E. 1979. The mass recruitment system of the leaf cutting ant, *Atta cephalotes* (L.). **Animal Behaviour**, **27**: 930-939.
- Lugo, A. E.; Farnworth, E. G.; Pool, D.; Jerez, P.; Kaufman, G. 1973. The Impact of the Leaf Cutter Ant *Atta Colombica* on the Energy Flow of a Tropical West Forest. **Ecology**, **54 (6)**: 1292-1301
- Mashaly, A.M.A. 2010. *Monomorium* ant's trail pheromones: Glandular source, optimal concentration, longevity and specificity. **Journal of Asia-Pacific Entomology** **13**: 23–26
- Nieh, J. C.; Contrera, F. A. L.; Yoon, R. R.; Barreto, L. S.; Imperatriz-Fonseca, V.L. 2004. Polarized short odor-trail recruitment communication by a stingless bee, *Trigona spinipes*. **Behavior Ecology and Sociobiology**, **56**: 435–448
- R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Reid, C. R.; Latty, T.; Beekman, M. 2012. Making a trail: informed Argentine ants lead colony to the best food by U-turning coupled with enhanced pheromone laying. **Animal Behaviour**, **84**: 1579 - 1587.
- Robinson, E. J. H.; Jackson, D. E.; Holcombe, M.; Ratnieks, F. L. W. 2005. 'No entry' signal in ant foraging. **Nature**, **438 (24)**: 442.
- Roces, F. 1993. Both evaluation of resource quality and speed of recruited leaf-cutting ants (*Acromyrmex lundii*) depend on their motivational state. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, **33**: 183 – 189
- Rosengren, R. & Fortelius, W. 1987. Trail communication and directional recruitment to food in red wood ants (Formica). **Annales Zoologici Fennici**, **24 (2)**: 137-146.
- Steck, K., Hansson, B. S., Knaden, M. 2009. Smells like home: desert ants, *Cataglyphis fortis*, use olfactory landmarks to pinpoint the nest. **Frontiers in Zoology**, **6**: 5.
- Traniello, J.F.A.1977. Recruitment Behavior, Orientation, and the Organization of Foraging in the Carpenter Ant *Camponotus pennsylvanicus* DeGeer (Hymenoptera: Formicidae). **Behavior Ecology Sociobiology** **2**: 61-79.
- Vander Meer, R.K.; Lofgren, C.S.; Alvarez, F.M. 1990. The orientation inducer pheromone of the fire ant *Solenopsis invicta*. **Physiology Entomology** **15**: 483–488.
- Vilela, e. F.; Jaffé, k.; Howse, P. E. 1987. Orientation in leaf-cutting ants (Formicidae: Attini). **Animal Behavior**, **35**: 1443 1453.

Wetterer, J.; Shafir, S.; Morrison, L.; Lips, K.; Gilbert, G.; Cipollini, M.; Blaney, C. 1992. On- and Off-Trail Orientation in the Leaf-Cutting Ant, *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, **65 (1)**: 96-98.

Wilson, E.O. 1962. Chemical communication among workers of fire ant *Solenopsis saevissima* (Fr. Smith): I. The organization of mass foraging; II. An information analysis of the odour trail; III. The experimental induction of social responses. **Animal Behavior**, **10**: 134–164.

Wilson, E.O. (1971) *The Insect Societies*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

Wyatt, T.D., 2003. Pheromones and Animal Behaviour. Cambridge University Press, Cambridge (UK).

---

**Efeito da marcação de trilha química por co-específicos sobre a atividade de forrageamento em *Atta sexdens***

**Resumo**

Os feromônios de trilha constituem o mecanismo de comunicação com maior grau de elaboração utilizado pelos insetos sociais. A habilidade de explorar fonte de recursos cooperativamente constitui um excelente exemplo da utilização de trilhas químicas. Para o gênero *Atta* pequenas variações na composição química desses feromônios garantem sua especificidade. Embora se conheça a habilidade de operárias em seguir trilhas depositadas por indivíduos da mesma espécie, não se sabe como essas trilhas influenciam na atividade forrageira de colônias co-específicas. O presente estudo investigou o efeito da marcação de trilhas químicas por co-específicos sobre a atividade forrageira em colônias de *Atta sexdens*. Para tanto foram utilizadas em cada evento experimental duas colônias: C1: que executou a marcação prévia em papel filtro por tempo determinado e C2, que recebia o papel filtro previamente marcado. Foi avaliado o efeito desta marcação prévia sobre o fluxo de indivíduos e sobre o tempo total de forrageamento. A marcação prévia de trilha química durante cinco minutos teve efeito significativo sobre o fluxo de operárias durante os 12 minutos iniciais do forrageamento. Embora não tenha sido verificado efeito sobre o tempo total desta atividade, a marcação de trilha prévia executada por co-específicos interferiu na dinâmica do fluxo no início do forrageamento. Trilhas que foram marcadas previamente durante cinco minutos tiveram o fluxo mais alto, nos doze primeiros minutos de atividade forrageira. Trilhas com maior concentração de feromônios tendem a receber um fluxo maior de operárias o que coaduna os elevados valores de fluxo observados em trilhas marcadas previamente por cinco minutos. Provavelmente, em trilhas previamente marcadas durante dez minutos, excedeu-se a faixa ótima de concentração de feromônios o que explicaria os baixos valores de fluxo observados. Ao adicionar um novo estímulo ao forrageamento, interferiu-se em sua dinâmica ocorrendo um reajuste dessa atividade.

## 4.1 Introdução

Feromônios podem ser descritos como sinalizadores químicos utilizados para comunicação entre co-específicos modulando seu padrão de comportamento de forma adaptativa. Para os insetos sociais, os feromônios de trilha constituem o mecanismo de comunicação empregado com maior grau de elaboração (Wilson, 1971). Sob muitos aspectos formigas atingiram um altíssimo nível de organização social e tal condição está indissociavelmente relacionada ao desenvolvimento de trilhas químicas de feromônios (Morgan, 2009). A habilidade de explorar fonte de recursos cooperativamente constitui um excelente exemplo da utilização de trilhas químicas.

Dentre as vantagens adaptativas relacionadas a deposição de trilhas químicas durante o forrageamento podemos citar a capacidade das operárias em selecionar fontes de recursos energeticamente mais rentáveis. Tal seleção ocorre através da quantidade (concentração) de feromônio de trilha depositado (Hölldobler & Wilson, 1990). Sob diversas circunstâncias a concentração de feromônios será determinante na modulação do comportamento das forrageiras. Em espécies do gênero *Monomorium*, a atividade das operárias será otimizada em uma faixa ótima de concentração de feromônios. Qualquer valor de concentração acima ou abaixo dessa faixa diminui significativamente a atividade das operárias (Mashlay, 2010).

Um outro aspecto importante do uso de feromônios de trilhas diz respeito a pouca variação destes entre espécies do mesmo gênero. Pequenas variações na composição química desses feromônios garantem sua especificidade em colônias do gênero *Atta* (Riley *et al.*, 1974; Cross *et al.*, 1979). De fato, embora trilhas de outras espécies também possam ser seguidas, forrageiras seguem preferencialmente trilhas depositadas por co-específicos, (Robinson *et al.*, 1974). Conquanto se conheça a habilidade de operárias em seguir trilhas depositadas por indivíduos da mesma espécie, não se sabe sobre como essas trilhas influenciam na atividade forrageira de co-específicos.

O presente estudo investigou o efeito de trilhas químicas depositadas por co-específicos sobre a atividade forrageira em colônias de *Atta sexdens*. Para tanto transferiu-se a marcação prévia executada por tempo determinado entre colônias co-específicas avaliando-se o efeito desta marcação prévia sobre o fluxo de indivíduos e

sobre o tempo total de forrageamento. Sabendo-se da preferência de operárias de *A. sexdens* por trilhas com maior concentração de feromônios (Morgan *et al.*, 2006), espera-se que com o aumento da deposição de trilha química em virtude da marcação prévia, o fluxo de indivíduos aumente. Quanto maior o tempo marcação de trilha prévia, maior deverá ser o fluxo de indivíduos e por conseguinte, menor será o tempo total gasto na atividade de forrageamento, pois o recrutamento em massa para fontes de recursos garante a espécie o rápido monopólio da mesma (Traniello, 1989; de Biseau *et al.*, 1997; Nieh *et al.*, 2004). Considerando-se que atividades externas ao ninho apresentam maiores riscos e que o aporte rápido de recursos evita possíveis competidores, trilhas mais concentradas seriam mais vantajosas pois permitiriam um fluxo maior de indivíduos os quais executariam o forrageamento com maior agilidade.

#### 4.2 Material e Métodos

Para cada evento experimental foram utilizadas 2 colônias (C1 e C2) de *Atta sexdens* com aproximadamente 3L de fungo simbiote conectadas através de pontes de vidro (comprimento: 2m; largura: 2,5cm) à arena de forrageamento contendo 30 discos de *Acalipha wilckesiana* com 0,5cm de diâmetro. Para a colônia C1, no centro da ponte foi disposto uma seção de papel filtro com a mesma largura da ponte de 10cm de comprimento. Foi permitido as operárias forragearem durante um tempo pré-estabelecido a partir do retorno do primeiro indivíduo com carga, de acordo com os respectivos tratamentos:

- **T1:** marcação de trilha química prévia durante um minuto pela colônia C1 após retorno do primeiro indivíduo com carga;
- **T5:** marcação de trilha química prévia durante cinco minutos pela colônia C1 após retorno do primeiro indivíduo com carga;
- **T10:** marcação de trilha química prévia durante dez minutos pela colônia C1 após retorno do primeiro indivíduo com carga;
- **Controle:** não houve marcação de trilha química prévia pela colônia C1, sendo utilizado o papel filtro "limpo".

Assim, o forrageamento já havia se iniciado e a marcação química seria propriamente desta atividade e não proveniente de comportamento exploratório.

Após a marcação prévia exercida pelas forrageiras da colônia C1, o papel filtro foi removido e disposto no centro da ponte que ligava a colônia C2 à arena de forrageamento. Assim, a colônia C1 estabeleceu uma marcação de trilha química prévia durante períodos de tempo determinados e através do papel filtro tal marcação foi transferida para a colônia C2.

Após a disposição da seção de papel filtro previamente marcado no centro da ponte utilizada para conectar C2 à arena de forrageamento foi registrado o momento de passagem de cada operária em um ponto fixo de observação, localizado no centro da seção de papel filtro, considerando-se a direção que seguiam e o transporte ou não de carga vegetal.

As colônias não receberam alimentação regular nas 24 horas anteriores a cada repetição. Cada tratamento foi realizado em seis colônias, 2 por evento experimental: C1 e C2, totalizando 12 repetições. Cabe ressaltar que os 3 pares C1 e C2 eram fixos.

#### **4.2.1 Análise dos dados:**

**Fluxo de Operárias:** Para verificar se o fluxo de operárias variou entre os tratamentos ao longo do tempo, foi feita a distribuição de frequência do número de operárias em quatro intervalos de 3 minutos. Procedeu-se a comparação da distribuição de frequência do fluxo de operárias entre os tratamentos T1, T5, T10 e Controle durante os 12 primeiros minutos do forrageamento através do teste Kolmogorov-Smirnov .

**Tempo Total de Forrageamento:** A fim de verificar o efeito da marcação química prévia no tempo total de forrageamento foi feita a ANOVA. Os dados referentes ao tempo total de forrageamento para cada tratamento foram transformados em log10 e a homocedasticidade e normalidade foram checados através dos testes Bartlett e Shapiro-Wilk, respectivamente.

As análises estatísticas foram realizadas no programa R, ao nível de 5% de significância (R Core Team, 2014)

### 4.3 Resultados

A distribuição de freqüência do fluxo de operárias foi significativamente diferente entre os tratamento Controle e T5 ( $D= 0,14$ ;  $p< 0,001$ ) considerando-se os 12min iniciais do forrageamento. Não foi verificada diferença entre o Controle e o tratamentos: T1 ( $D= 0,06$ ;  $p= 0,28$ ) e T10 ( $D=0,06$ ;  $p=0,29$ )( Fig.1).

Para os todos os tratamentos incluindo o Controle os maiores valores de fluxo ocorreram entre 9-12 min, ou seja, ao longo dos 12 primeiros minutos de forrageamento o fluxo foi crescente. Para o tratamento T5 verificou-se maiores valores de fluxo em todos os intervalos de tempo analisados em relação ao tratamento Controle. No intervalo de 3-6 minutos o fluxo no tratamento T5 foi aproximadamente o triplo do fluxo verificado neste intervalo para o Controle. Para os demais intervalos, o fluxo de T5 foi aproximadamente o dobro dos valores verificados para o Controle.

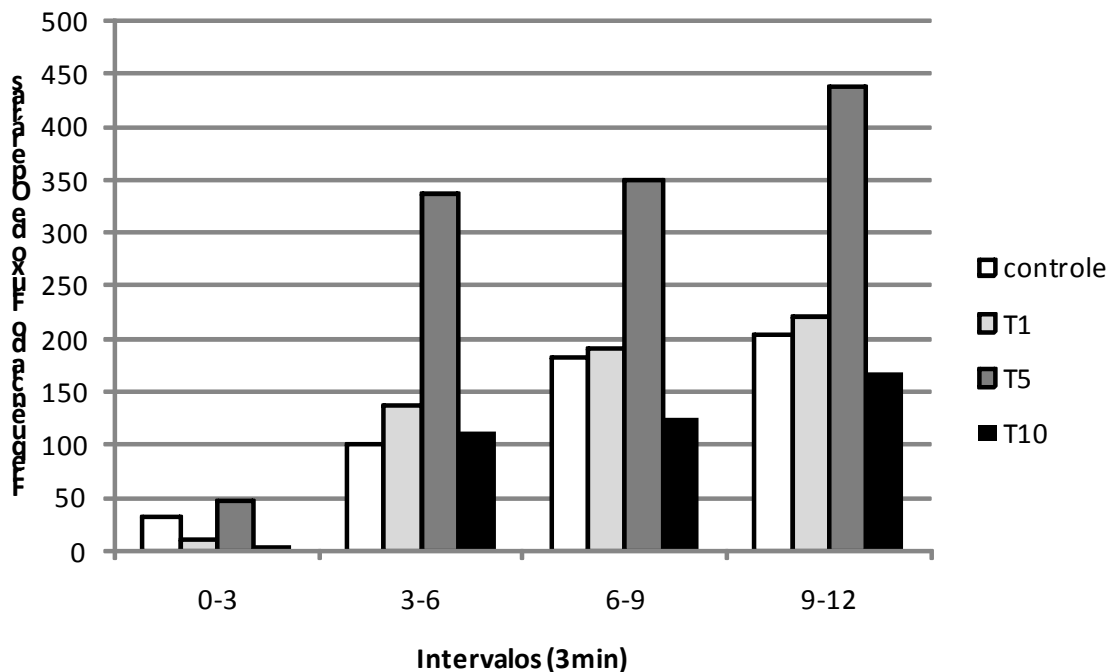


Figura 1. Fluxo de operárias de *Atta sexdens* por intervalos de 5min em cada tratamento (C=controle; T1=1min de marcação prévia de trilha química; T5=5min de marcação prévia de trilha química; T10=10min de marcação prévia de trilha química) durante os 12 min iniciais do forrageamento de 30 discos vegetais de *Acalypha wilkesiana*.

Não houve diferença entre os tratamento quanto ao tempo total de forrageamento ( $F= 1,83$ ;  $gl= 3$ ;  $p= 0,21$ )(Fig.2).

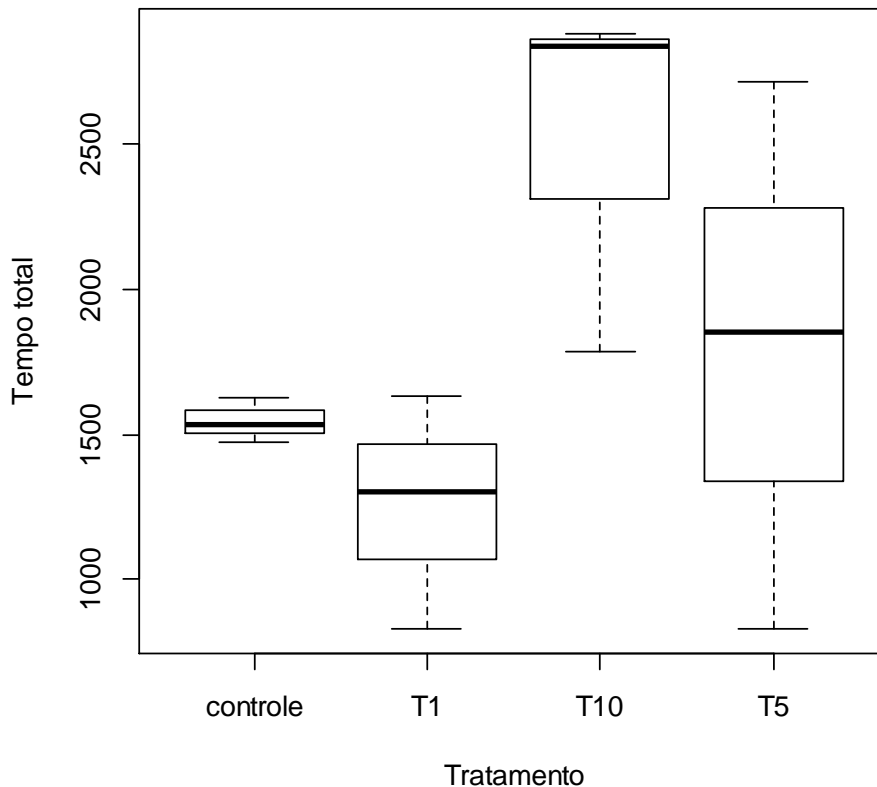


Figura 2. Tempo total de forrageamento de 30 discos vegetais de *Acalipha wilckesiana* por operárias de *Atta sexdens* em cada tratamento (C=controle; T1=marcação prévia de 1min; T5= marcação prévia de 5min, T10= marcação prévia de 10min).

#### 4.4 Discussão

A marcação prévia de trilha química durante cinco minutos aumentou o fluxo de operárias durante o início do forrageamento. Embora não tenha sido verificado efeito sobre o tempo total desta atividade, a marcação de trilha prévia executada por co-específicos interferiu na dinâmica do fluxo no início do forrageamento. Trilhas que foram marcadas previamente durante cinco minutos tiveram o fluxo mais alto, nos doze primeiros minutos de atividade forrageira.

Ao apresentar às operárias trilhas químicas previamente marcadas, interferiu-se no processo de recrutamento através da deposição de trilha química. O recrutamento em massa se inicia com a atividade da escoteira, a qual incita companheiras de ninho a engajarem-se na atividade de forrageamento, com

ampliação desse processo pelas operárias. Tal ampliação pode ocorrer tanto pelos contatos diretos quanto pela deposição de trilha química de feromônios (Jaffé & Howse, 1979; Beckers *et al*, 1989; Traniello, 1989; Roces e Nuñez, 1993; Roces & Hölldobler, 1994).

Segundo Jaffé & Howse (1979), o recrutamento pode ser dividido em cinco fases sendo que até três delas foram atingidas pela colônia C1 durante a marcação de trilha prévia. A fase inicial do recrutamento corresponde a descoberta da fonte de recursos com conseqüente retorno da primeira forrageira recrutada pela escoteira transportando o recurso vegetal à colônia. Ou seja, em todos os tratamentos (exceto o controle) a fase inicial já havia ocorrido em C1. Portanto houve, a transferência da marcação química referente a fase inicial do recrutamento para as colônias C2.

Na segunda fase do recrutamento, o número máximo de operárias recrutadas será alcançado e isto ocorre aproximadamente cinco minutos após a oferta do recurso alimentar (Jaffé & Howse, 1979). No tratamento com marcação prévia de cinco minutos (T5), a transferência do papel filtro ocorreu justamente nessa fase. Assim, o fluxo elevado observado em T5 entre durante os doze minutos iniciais foi provavelmente devido a deposição química correspondente a essa fase e já executada por C1. Enquanto para ao tratamento com marcação prévia de dez minutos (T10), a fase de equilíbrio do forrageamento já teria sido atingida em C1, não ocorrendo mais a saída de um número elevado de indivíduos. Portanto, em T10, podemos supor que C2 apresentou valores de fluxo mais baixos ao longo dos doze minutos iniciais devido a fase do recrutamento já atingida em C1.

De fato, o comportamento de deposição de trilha química varia ao longo da atividade de forrageamento. Em *Lasius niger*, que como *Atta sexdens* possui recrutamento em massa, operárias responsáveis por recrutar indivíduos tendem a depositar mais trilha que operárias recrutadas. Sabe-se ainda que operárias diminuem o comportamento de deposição de trilha química após sucessivas viagens (Beckers *et al.*, 1992). Considerando que as operárias que recrutam, como as escoteiras, fazem sucessivas viagens (cap. 1) podemos supor que o seu comportamento de marcação de trilha química diminua ao longo do tempo. Sendo assim, nas trilhas químicas marcadas previamente durante cinco minutos, provavelmente a frequência de deposição de trilha química era mais intensa. Nas trilhas marcadas durante dez minutos, o número

de viagens das operárias, incluindo a escoteira, foi potencialmente maior, o que teoricamente levaria a diminuição na frequência do comportamento de marcação de trilha. Tal predição que condiz com os baixos valores de fluxo verificados para C2 durante os doze minutos iniciais no tratamento T10.

Sabe-se que diminuição no comportamento de deposição de trilha está relacionada ao efeito lotação durante o forrageamento. A probabilidade de operárias executarem o comportamento de deposição de trilha é menor em trilhas congestionadas. Cabe ressaltar que a resposta ao efeito lotação é rápida, levando a modificações quase imediatas no comportamento das operárias. Tal mecanismo constitui um *feedback* negativo promovendo a diminuição na produção de um sinal químico em *L niger* sem a presença de um sinal inibitório (Czaczkes *et al.*, 2013; Czaczkes *et al.*, 2014; Czaczkes *et al.*, 2014b).

Neste estudo, o efeito lotação pode ser descartado visto que as trilhas não ficaram congestionadas e portanto, as operárias em C1 não receberam tal estímulo para diminuir seu comportamento de marcação química. Logo, a trilha química depositada previamente por C1 pode ser interpretada como o sinal para os altos valores de fluxo observados em T5 visto que as operárias não haviam recebido outros estímulos além é claro, do recrutamento promovido pela escoteira. Da mesma maneira, os baixos valores de fluxo observados em T10, embora não o diferenciem do Controle, não podem ser interpretados como consequência do efeito lotação.

O aumento no fluxo de operárias em trilhas marcadas por co-colônias durante cinco minutos é compreensível visto que operárias de formigas cortadeiras sem experiência prévia de forrageamento, tendem a seguir trilhas com maior concentração de feromônios (Hölldobler, 1998; Morgan *et al.*, 2006). Ao promover a marcação prévia de trilha química, aumentou-se a concentração de feromônios no centro da trilha, assim, forrageiras que chegaram aquela seção obtiveram um estímulo externo para a coleta de recursos. Por quê então, o fluxo no tratamento com marcação prévia de dez minutos permaneceu baixo?

No estudo realizado por Morgan *et al.* (2006) a concentração ótima de feromônios em trilhas químicas de *Atta sexdens sexdens* está entre 15 e 150 pg\*cm<sup>-1</sup>. Trilhas com menor ou maior concentração têm baixa atividade forrageira. O presente estudo não mediu a concentração das trilhas depositadas por co-específicos mas

presume-se que quando a marcação prévia durou dez minutos, atingiu-se uma concentração elevada o suficiente para ultrapassar a faixa ótima de concentração de feromônios nas trilhas químicas. O recrutamento nesse caso foi menor pois a colônia pode ter "interpretada" tal marcação como indicação de uma fonte extensivamente explorada.

Além de variações comportamentais quanto a sua deposição, feromônios de trilha podem variar quanto a sua própria composição ao longo do espaço e do tempo. Na espécie *Monomorium pharaonis*, variações na composição de feromônios são relacionadas a distância e localização dos recursos garantindo a flexibilidade no comportamento das forrageiras em acordo com tais características (Jackson *et al.*, 2007). No presente estudo não houve variação quanto à quantidade de recursos oferecidos nem quanto a distância desses recursos. Assim, somente o tempo de deposição prévia de trilha química variou, sendo os demais estímulos mantidos. Tal condição garantiu que durante o início do forrageamento possíveis variações no fluxo de operárias e na atividade forrageira como um todo fossem relacionadas justamente a deposição de feromônios por co-específicos. Com a exploração da fonte de recursos as informações sobre esta possivelmente interferiram na dinâmica do fluxo juntamente com a marcação de trilha prévia.

Haja visto que não houve transporte de recursos em nenhum tratamento até os seis minutos, presume-se que somente a marcação de trilha química prévia interferiu no fluxo até este momento. A partir da exploração da fonte de recursos, com o aporte de discos vegetais à colônia, além de acessarem informações sobre a própria qualidade da fonte, operárias mantiveram contato com companheiras de ninho. O simples contato com operárias carregadas na trilha estimula companheiras de ninho aumentando a probabilidade de coleta de um recurso (Dussutour *et al.*, 2007; Farji-Brener *et al.*, 2010).

Assim, tanto o próprio contato com operárias recrutadas quanto a ampliação na marcação de trilha química executada pelas mesmas podem ser considerados como *feedback* positivos para a coleta de recursos enquanto a evaporação do feromônio e o desgaste da fonte de recurso ao longo do processo de forrageamento são considerados *Feedback* negativos (Detrain *et al.*, 2008). Tais estímulos agem sobre a atividade forrageira moldando-a de acordo com as necessidades da colônia. Neste

estudo adicionou-se um estímulo inicial o qual muito embora não tenha alterado o tempo total de atividade promoveu modificações na dinâmica do fluxo no início da atividade de forrageamento.

## Referências Bibliográficas

Beckers, R.; Goss S.; Deneubourg J. L.; Pasteels J. M. 1989. Colony size, communication, and ant foraging strategy. **Psyche**, **96**: 239-256.

Cross, J. H.; Byler, R. C.; Ravid, U; Silverstein, R. M.; Robinson, S. W.; Baker, P. M.; Oliveira, J. S.; Jutsum, A. R.; Cherrett, J. M. 1979. The major component of the trail Pheromone of the leaf-cutting ant, *Atta sexdens rubropilosa* FOREL 3-Ethyl-2, 5-Dimethylpyrazine. **Journal of Chemical Ecology**, **5 ( 2)**: 187- 203.

Czaczkes, T.J. 2014. How to not get stuck-Negative feedback due to crowding maintains flexibility in ant foraging. **Journal of Theoretical Biology**, **360**: 172 - 180.

Czaczkes, T.J.; Grüter, C.; Ratnieks, F.L.W. 2013. Negative feedback in ants: crowding results in less trail pheromone deposition. **Journal of Experimental Biology**, **216**: 188 - 197.

Czaczkes, T.J.; Grüter, C.; Ratnieks, F.L.W. 2014. Rapid up- and down-regulation of pheromone signalling due to trail crowding in the ant *Lasius niger*. **Behaviour**, DOI:10.1163/1568539X-00003157

De Biseau, J.C.; Quinet, Y.; Deffernez, L.; Pasteels, J.M. 1997. Explosive food recruitment as a competitive strategy in the ant *Myrmica sabuleti* (Hymenoptera, Formicidae). **Insectes sociaux**, **44**: 59 – 73.

Dussutour, A.; Beshers, S.; Deneubourg, J.; Fourcassié, V. 2007. Crowding increases foraging efficiency in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. **Insectes Sociaux**, **54**: 158-165.

Farji-Brener, A.G.; Amador-Vargas, S.; Chinchilla, F.; Escobar, S.; Cabrera, S.; Herrera, M.I.; Sandoval, C. 2010. Information transfer in head-on encounters between leaf-cutting ant workers: food, trail condition or orientation cues? **Animal Behaviour**, **79**: 343–349.

Hölldobler B. 1998. Multimodal signals in ant communication. **Journal of Comparative Physiology A**, **184**: 129- 141.

Hölldobler, B. & Wilson, E. 1990. **The Ants**. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, 732p.

- Jackson , D.E. & Chaline , N. 2007. Modulation of pheromone trail strength with food quality in Pharoah's ant, *Monomorium pharaonis*. **Animal Behaviour**, **74**: 463 - 470.
- Jaffé, k. & Howse, P.E. 1979. The mass recruitment system of the leaf cutting ant, *Atta cephalotes* (L.). **Animal Behaviour**, **27**: 930-939.
- Mashaly, A.M.A. 2010. *Monomorium* ant's trail pheromones: Glandular source, optimal concentration, longevity and specificity. **Journal of Asia-Pacific Entomology** **13**: 23–26.
- Morgan, E.D. 2009. Trail pheromones of ants. **Physiological Entomology**, **34**: 1–17.
- Morgan, E. D.; Keegans, S J.; Tits, J.; Wenseleers, T.; Bille, J. 2006. Preferences and differences in the trail pheromone of the leaf-cutting ant *Atta sexdens sexdens* (Hymenoptera: Formicidae). **European Journal of Entomology**, **103**: 553–558.
- Nieh, J. C.; Contrera, F. A. L.; Yoon, R. R.; Barreto, L. S.; Imperatriz-Fonseca, V.L. 2004. Polarized short odor-trail recruitment communication by a stingless bee, *Trigona spinipes*. **Behavior Ecology and Sociobiology**, **56**: 435–448.
- R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.  
URL <http://www.R-project.org/>.
- Riley, R. G.; Silverstein, R. M.; Carroll, B.; Carroll, R. 1974. Methyl 4-methylpyrrole-2-carboxylate: a volatile trail pheromone from the Leaf-cutting ant, *Atta cephalotes*. **Journal of Insect Physiology**, **20**: 651 - 654.
- Robinson, S.W.; Moser, J.C.; Blum, M.S.; Amante, E. 1974. Laboratory investigations of the trail-following responses of four species of leaf-cutting ants with notes on the specificity of a trail pheromone of *Atta texana* (Buckley). **Insectes Sociaux**, **21**: 87-94.
- Roces, F. & Hölldobler, B. 1994. Leaf density and a trade-off between load-size selection and recruitment behavior in the ant *Atta cephalotes*. **Oecologia**, **97**: 1-8.
- Roces, F. & Núñez, J. A. 1993. Information about food quality influences load-size selection in recruited leaf-cutting ants. **Animal Behaviour**, **45**:135-143.
- Wilson , E.O. 1971. **The Insect Societies** . Harvard University Press , Cambridge , MA.
- Traniello, J.F.A. 1989. Foraging strategies of ants. **Annual Review Entomology**, **34**: 191-210.

Sociedades de insetos exibem particularidades as quais explicam sua dominância no ambiente terrestre. Dentre tais particularidades o forrageamento pode ser considerado como um aspecto de relevância ímpar. Numerosos mecanismos de coleta e obtenção de recursos são utilizados por esses insetos a fim de garantir seu êxito. O presente estudo investigou o forrageamento simulando modificações em sua dinâmica. Dentre todos os resultados obtidos, ressalta-se a capacidade de operárias em manter a atividade forrageira mediante circunstância variadas comprovando seu caráter essencial.

Ao promover a remoção das forrageiras, as escoteiras modificaram sua atividade garantindo o aporte de recursos à colônia e, portanto, a manutenção do forrageamento. Do mesmo modo, quando as escoteiras foram removidas a colônia não cessou sua atividade. Em ambos os casos o forrageamento se prolongou e o fluxo se ajustou adequando-se a uma nova demanda. A habilidade de colônias de *Atta sexdens* em promover e manter o recrutamento a despeito de intervenções na dinâmica da atividade forrageira pode ser compreendida como um dos fatores que promovem seu sucesso.

A investigação de atos comportamentais é um importante mecanismo para compreensão do funcionamento de sociedades de insetos. Ao utilizar-se dados comportamentais para inferir sobre polaridade química nas trilhas de feromônios depositadas por forrageiras não foi verificado qualquer indício indicativo de direcionamento. Operárias são hábeis em reorganizar o fluxo após a rotação mantendo o forrageamento. Trilhas físicas mais longas recebem maior deposição de trilha química possivelmente mantendo a concentração de feromônios entre a colônia e o recurso.

Sabendo-se da especificidade de feromônios de trilha, testou-se o efeito da marcação prévia realizada por co-específicos sobre o fluxo de forrageiras. Verificou-se que trilhas previamente marcadas por cinco minutos têm fluxo mais alto no início da atividade forrageira. Tal resultado corrobora estudos que indicam a existência de uma faixa ótima de concentração de feromônios de trilha.

Conforme proposto por Stephens e colaboradores "O forrageamento é imprescindível à sobrevivência e reprodução animal e deve ser compreendido como um imperativo biológico". Tal sentença se aplica aos resultados em todos os experimentos realizados. A ágil reorganização das operárias foi efetivamente verificada de modo a permitir que uma atividade imprescindível à colônia fosse realizada. Sistemas auto-organizáveis, como colônias de *A. sexdens* demonstraram ser flexíveis, operárias se adaptaram a modificações impostas em intervenções experimentais remodelando a dinâmica da atividade forrageira.