

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

**METABOLISMO NUTRICIONAL EM *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908:
VOO NUPCIAL, FUNDAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA COLÔNIA**

EDYPO JACOB DA SILVA

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

BOTUCATU – SP

Julho - 2015

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

**METABOLISMO NUTRICIONAL EM *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908:
VOO NUPCIAL, FUNDAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA COLÔNIA**

EDYPO JACOB DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Forti

Co-orientador: Dr. Roberto da Silva Camargo

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

BOTUCATU – SP

Julho - 2015

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

S586m Silva, Edypo Jacob da, 1987-
Metabolismo nutricional em *Atta sexdens rubropilosa*
Forel, 1908: voo nupcial, fundação e desenvolvimento da colônia / Edypo Jacob da Silva. - Botucatu : [s.n.], 2015 xi, 54 f. : fots. color., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2015
Orientador: Luiz Carlos Forti
Coorientador: Roberto da Silva Camargo
Inclui bibliografia

1. Formiga-cortadeira. 2. Carboidratos - Metabolismo. 3. Lipídios - Metabolismo. 4. Teor proteico. I. Forti, Luiz Carlos. II. Camargo, Roberto da Silva. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. IV. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO: "METABOLISMO NUTRICIONAL EM *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908: VOO
NUPCIAL, FUNDAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA COLÔNIA"**

AUTOR: EDYPO JACOB DA SILVA

ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS FORTI

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. ROBERTO DA SILVA CAMARGO

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



Prof. Dr. LUIZ CARLOS FORTI

Dep de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu



Profa. Dra. MARIA APARECIDA CASTELLANI
Depto. Fitotecnia e Zootecnia - UESB



Prof. Dr. ANDRE RODRIGUES

Departamento de Bioquímica e Microbiologia / Instituto de Biociências de Rio Claro

Data da realização: 21 de agosto de 2015.

A todos os professores que não poupam esforços para ensinar e orientar com sabedoria, que lutam e acreditam em um Brasil com educação.

OFEREÇO

Aos meus pais Márcia Regina e Ronaldo Jacob, pelo apoio e confiança.

À minha querida vó, Cícera Simões, por sempre acreditar em mim.

À minha amada irmã Érica Emilly, pelas palavras de confiança e fé.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Forti, por sua generosidade, fé e orientação na minha vida acadêmica. Um grande professor!

Ao meu amigo e co-orientador, Dr. Roberto Camargo, por sua enorme dedicação a este trabalho e pelos conhecimentos transmitidos ao longo do tempo. Eternamente grato!

À minha amiga, Nádia Caldato, pela sua ajuda generosa na realização deste trabalho.

À Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Proteção de Plantas, pela ótima oportunidade.

À Prof^ª. Dra Aldenise Moreira, pela amizade, palavras de otimismo e conhecimentos transmitidos.

Aos amigos do Laboratório de Insetos Sociais-Praga: Lais Cristina, Raphael Vacchi, Maria Bulgari, Paula Dias, Mariana Brugger, Nilson Satoru e David Generoso pelo apoio e os bons momentos.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia- Proteção de plantas pelos ensinamentos e contribuição profissional, em especial, Silvia Renata, Regiane Bueno, Carlos Raetano e Renate Krause.

Aos amigos, Geovanny Barroso, Pedro Silva, Érika Cristina, Marylia Gabriela, Júlio César, Aline Sandin, Elialdo Alves, Samara Azevedo, Lais Fontana, Eumenes Farias, Patricia Silveira, Rodrigo Guimarães, Filipe Giardini, Adelana Santos e Rai Monteiro pelo companheirismo e bons momentos compartilhados.

Aos funcionários da biblioteca “Prof. Paulo de Carvalho Mattos” e da seção de Pós-Graduação, pela gentileza e profissionalismo nos serviços prestados. E todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização do trabalho, minha gratidão.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS CAPÍTULO I.....	VII
LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO I.....	VIII
LISTA DE TABELAS CAPÍTULO II.....	IX
LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO II.....	X
LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO III.....	XI
1. RESUMO.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUÇÃO GERAL.....	3
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	8
CAPÍTULO 1- TEOR DE LIPÍDEOS E CARBOIDRATOS EM MACHOS E FÊMEAS DE FORMIGAS CORTADEIRAS: ANTES E PÓS-VOO NUPCIAL.....	10
RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUÇÃO.....	12
MATERIAL E MÉTODOS.....	13
RESULTADOS.....	15
DISCUSSÃO.....	17
REFERÊNCIAS.....	19
CAPÍTULO 2 – DESENVOLVIMENTO INICIAL E PRODUÇÃO DE CO ₂ EM COLÔNIAS DA FORMIGA CORTADEIRA <i>Atta sexdens rubropilosa</i> , DURANTE A FASE CLAUSTRAL.....	26
RESUMO.....	26
ABSTRACT.....	27
INTRODUÇÃO.....	28
MATERIAL E MÉTODOS.....	29
RESULTADOS.....	30
DISCUSSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	33

CAPÍTULO 3 – CONTEÚDO DE PROTEÍNA EM RAINHAS DE FORMIGAS CORTADEIRAS ANTES DO VOO NUPCIAL E PÓS FASE CLAUSTRAL.....	41
RESUMO.....	41
ABSTRACT.....	42
INTRODUÇÃO.....	43
MATERIAL E MÉTODOS.....	44
RESULTADOS.....	45
DISCUSSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	49
5.CONCLUSÕES.....	54

LISTA DE TABELAS CAPÍTULO I

	Página
Tabela 1. Média e desvio padrão ($m \pm dp$) de massas (mg), percentual de gordura e energia (J) nos corpos de machos e fêmeas de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> antes e depois do voo nupcial.....	23
Tabela 2. Média e desvio padrão (cm) de comprimento do túnel e dimensões da câmara inicial (cm) de ninhos iniciais de <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	24

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO I

Página

Figura 1. Repertório comportamental das rainhas: retirada de uma porção de terra, transporte, deposição do torrão, retorno e reclusão da rainha (clausura).....25

LISTA DE TABELAS CAPÍTULO II**Página**

Tabela 1. Desenvolvimento de colônias iniciais de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> mantidas em laboratório (média e desvio padrão, respectivamente).....	36
---	----

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO II

	Página
Figura 1. Fluxograma do sistema respirométrico, onde recipiente respirométrico e acrílico A (colônia inicial). Recipiente respirométrico de acrílico B – sensor de CO ₂	37
Figura 2. Concentração de CO ₂ durante as 10 semanas de fundação claustral de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> ; dados são média, quartis e desvio padrão. Letras iguais diferentes (sem e com diferença estatística), pelo teste de comparação múltipla pareada de Student-Newman-Keuls (P<0,050). Pontos em negro são outliers.....	38
Figura 3. Cuidado da rainha de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> com a prole e o jardim de fungo (A). Detalhe do fungo simbionte (<i>Leucoagaricus gongylophorus</i>) com a primeira postura da rainha (B).....	39
Figura 4. Imaturos de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> : ovo, larva e pupa, contabilizados durante 10 semanas de experimentação.....	40

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO III**Página**

Figura 1. Massa média de proteína bruta (mg) de rainhas de *Atta sexdens rubropilosa*: 1- pós fase claustral laboratório; 2- antes vôo nupcial; 3- pós fase claustral campo; Dados são média, quartis e amplitude. Pontos vazios são outliers. Para estatística, vide o texto.....52

Figura 2. Peso da biomassa viva das colônias (g) e das rainhas (mg) de *Atta sexdens rubropilosa*. Correlação linear de Pearson com o peso da rainha e biomassa ($r = 0.7951$, $gl=20$, $p < 0.0001$).....53

METABOLISMO NUTRICIONAL EM *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908: VOO NUPCIAL, FUNDAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA COLÔNIA. Botucatu, 2015. 54p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Autor: EDYPO JACOB DA SILVA

Orientador: LUIZ CARLOS FORTI

1. RESUMO

As formigas cortadeiras são importantes pragas agrícolas; anualmente realizam a fundação de novas colônias. O voo nupcial e a escavação do ninho é uma atividade de alta intensidade, envolvendo o consumo de reservas corporais. O trabalho teve como objetivos: (1) verificar o esforço de escavação por medição do teor de carboidratos e lipídios totais em machos e fêmeas, antes e após o voo nupcial, e o esforço de escavação da rainha durante a fundação; (2) estudar os ninhos na fase claustral da colônia, o desenvolvimento e a produção de CO₂ durante a fundação e assentamento do ninho; (3) determinar o teor de proteína bruta das rainhas de *Atta sexdens rubropilosa* antes do voo nupcial e após a fase claustral em colônias de laboratório e campo. Para determinar o esforço de escavação, as rainhas foram estimuladas a escavar um ninho, uma, duas e três vezes consecutivas, em relação às rainhas que não escavaram. O método calorimétrico foi usado para determinar os carboidratos e um método de extração para os lipídeos totais. O estudo dos ninhos na fase claustral e a produção de CO₂ foi feito analisando o desenvolvimento de 50 colônias iniciais de *Atta sexdens rubropilosa*, e a produção de dióxido de carbono expelido em situação controlada. A proteína bruta das rainhas foi determinada pela digestão do material orgânico em ácido sulfúrico em temperaturas elevadas. Com relação aos resultados chegamos à conclusão que o teor de carboidratos é o principal recurso energético utilizado para o voo nupcial e a escavação do ninho para fêmeas de formigas cortadeiras. A concentração de CO₂ teve um grande aumento na sexta semana e sétima semana, e depois retornando a valores menores. A proteína é aproveitada para a sobrevivência da rainha e desenvolvimento inicial da colônia, pelo fato da diminuição do teor de proteína bruta em função do tempo de clausura.

Palavras-chave: formigas, carboidratos, lipídeos, CO₂, teor de proteína.

NUTRITIONAL METABOLISM IN *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908: NUPTIAL FLIGHT, FOUNDATION AND COLONY DEVELOPMENT. Botucatu, 2015.54p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: EDYPO JACOB DA SILVA

Adiviser: LUIZ CARLOS FORTI

2. SUMMARY

The leaf-cutting ants are important agricultural pests; held annually the foundation of new colonies. The nuptial flight and the nest digging are high intensity activity which consume body reserves. The study goals to: (1) verify the digging effort by measuring the carbohydrate content and total lipids in males and females before and after nuptial flight, and the queen's digging effort during the foundation; (2) study the nests in the claustral phase or the development and the production of CO₂ during the foundation and establishment of the nest; (3) determine the crude protein content of the queens of *Atta sexdens* before the nuptial flight at the claustral phase in laboratory and field colonies. The digging effort was quantified by experimentally stimulating the queens to dig a nest one, two or three consecutive times compared to the queens that did not dig. The colorimetric method was used to determine the soluble carbohydrates and extraction method of immersion was used to determine the total lipids. The study of the nests claustral phase and the CO₂ production was done by analyzing the development of the initial 50 colonies of *Atta sexdens rubropilosa*, and production of expelled carbon dioxide under laboratory conditions. Crude protein was determined by digestion of the organic material with sulfuric acid at high temperatures. Based on our results we conclude that the carbohydrate content is the main energetic resource used for the nuptial flight and nest digging, for gynes of leaf-cutting ants. The concentration of CO₂ had a large increase in week six and seven weeks, and then returning to lower values. Protein is used for survival of the queen and for early colony growth, as demonstrated by the reduction in crude protein content as a function of duration of the claustral phase.

Keywords: ants, carbohydrates, lipids, CO₂, protein content.

3. INTRODUÇÃO GERAL

A dinâmica de construção e manutenção dos ninhos de formigas cortadeiras é uma tarefa realizada pelo grupo, mas o surgimento do ninho se inicia com a fêmea recém acasalada (rainha). A fêmea alada recém copulada, quando desce ao solo, destaca suas asas e em seguida escava, durante horas, o seu próprio ninho. Este ninho consiste de um túnel vertical, cerca de 8,5 a 15 cm de comprimento e diâmetro de 9 a 12 mm, e de uma pequena câmara, com dimensões de 2,2 a 2,5 cm de altura e 3 a 4,5 mm de diâmetro da base. O túnel é obstruído com parte do solo removido durante a ampliação da câmara inicial, no sentido superfície do solo – câmara. A rainha do gênero *Atta* fica enclausurada, e expele uma pequena porção do fungo simbiote trazida por ela em sua cavidade infra-bucal (AUTUORI, 1942).

A realização da construção do ninho é de fundamental importância para o sucesso da colônia incipiente, pois a profundidade em que a rainha escava tem um alto valor adaptativo a esta espécie. Uma série de experimentos desenvolvidos por Ribeiro (1995), demonstrou uma plasticidade comportamental da rainha que é capaz de escavar mesmo após ter regurgitado o fungo (30 horas após a captura), com comprimento normal (17 cm em média), e 240 horas após captura, com canais menores (6,5 em média). Observa-se a importância da cronologia dos eventos, ou melhor, a influência do tempo decorrido no estímulo de escavação da rainha. Estas também são capazes de escavar canais maiores e menores quando se adiciona ou retira trechos de canais já escavados pelas mesmas, provavelmente sendo capazes de estimar o comprimento do túnel.

A construção do ninho pela rainha exige muito tempo, e provavelmente um grande gasto energético durante a sua escavação. Partindo deste pressuposto, postulou-se que a rainha deverá gastar um determinado tempo e energia para construir o túnel, ocorrendo depois uma inversão, em que a rainha iniciará a construção da câmara, então é esperado que o gasto energético da rainha seja compatível com o tempo gasto, havendo um período pré-determinado de tempo regido pelo gasto energético para efetuar esta tarefa. Isto implicará no conhecimento do custo de escavação da rainha durante a fundação da colônia, bem como, porque esta profundidade e dimensões de câmara são um padrão nesta espécie.

Dessa forma, a seleção natural provavelmente deve ter atuado no tempo da atividade de escavação, com a pressão seletiva percorrido alguns possíveis caminhos: (1) a predação sobre os indivíduos (rainhas) no momento do voo nupcial e escavação do ninho; (2) a profundidade ideal para o desenvolvimento do fungo simbiote e da prole; (3) a regulação energética para as atividades comportamentais, como o voo nupcial, escavação do ninho e cuidado com a prole e fungo simbiote.

(1) Predação sobre os indivíduos (rainhas) no momento do voo nupcial e escavação do ninho

A predação é intensa no momento do voo nupcial e na escavação do ninho, sendo os principais agentes de predação as aves, sapos, lagartos, tatus e insetos, como *Canthon* spp. (Coleoptera, Scarabidae) e formigas (*Solenopsis*, *Paratrechina* e *Nonamymex*) (AUTUORI, 1950). Entretanto, pouco se sabe sobre a taxa de predação no número de indivíduos inicialmente produzidos e que alçaram voo, tornando-se difícil estimar como a seleção pode ter atuado nos indivíduos.

Outro fato interessante é a redução do sucesso da fundação em ambientes com alta densidade de ninhos adultos de formigas cortadeiras. Fowler et al., (1984), verificaram que o sucesso de fundação de *Atta capiguara* foi reduzido quando as colônias maduras estavam presentes, pois as rainhas fundadoras eram executas pelas operárias coespecíficas, exemplificando a competição. Os indivíduos que escolherem regiões com altas densidades de ninhos adultos terão uma menor probabilidade de sobreviverem, e terão mais êxito as rainhas que “optarem” em campos com uma menor densidade de ninhos adultos.

(2) Profundidade ideal para o desenvolvimento do fungo simbiote e da prole

A profundidade ideal estaria ajustada por indivíduos que constroem a câmara inicial de 8,5 a 15 cm abaixo da superfície do solo. Provavelmente, esta profundidade proporcionaria uma amplitude térmica mínima e com uma temperatura quase constante, o que seria propício para o desenvolvimento do fungo simbiote e da prole que ainda está por surgir. O comportamento de escavação em formigas cortadeiras foi estudado por Bollazzi et al., (2008), que descobriram que as operárias de *Acromyrmex lundii* apresentam uma preferência na escavação em solos com temperatura de 20° a 30,6 °C. Esta amplitude propicia para alcançar um microclima apropriado nas câmaras, levando ao desenvolvimento adequado do fungo e da prole. Anteriormente, Bollazzi & Roces (2002), verificaram que as operárias apresentam uma preferência térmica na localização da prole e do jardim de fungo, com uma temperatura média ótima de 24° e 25 °C. Esses resultados dos autores combinam com o meio adequado para a maximização do desenvolvimento do fungo simbiote em formigas cortadeiras (QUINLAN & CHERRETT, 1978). Em colônias de campo de *Atta sexdens*, o jardim de fungo se localiza em faixas de temperatura oscilando entre 25° a 28 °C (BOLLAZZI & ROCES, 2002), mais uma evidência desta faixa de temperatura para o sucesso da colônia inicial.

(3) Regulação energética para as atividades comportamentais, como o voo nupcial, escavação do ninho, cuidado com a prole e fungo simbiote

A fundação do ninho de *Atta sexdens rubropilosa* é claustral, ou seja, a rainha por si mesma deve escavar o ninho, regurgitar o pellet de fungo, cuidar do fungo e da prole, até as primeiras operárias emergirem e começarem a forragear e executar tarefas da colônia atribuídas anteriormente à rainha (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990). Nesse sistema fechado, toda a energia para o desenvolvimento da futura colônia, depende da reserva corporal da rainha, ou seja, não entra nenhuma forma de energia adicional (alimento) durante o período de clausura (aproximadamente 90 dias). Desta forma, pode existir uma regulação energética rígida desde o voo nupcial até a entrada de energia para a colônia inicial (forrageamento pelas primeiras operárias).

a) Voo nupcial

O voo nupcial ocorre durante o período da tarde, durante os meses de Outubro – Novembro, regulado pelas primeiras chuvas que rompem o período de estiagem, com os machos formando “enxames” com 200 m de diâmetro e alturas superiores a 150 m do nível do solo (FOWLER et al., 1984). A distância percorrida devido ao voo varia de acordo com as espécies envolvidas e a velocidade que estas alcançam no fluxo aéreo. Na literatura, observou-se que fêmeas de *Atta texana* voaram a uma velocidade de $5,33 \text{ ms}^{-1}$, sugerindo uma distância de 10,4 km; *Atta sexdens* a uma velocidade $1,57 \text{ ms}^{-1}$, com uma possível distância de 11,1 km (JUTSUM & QUINLAN, 1978), e observações de campo, demonstram uma dispersão das rainhas de 9,6 km para mesma espécie (CHERRETT, 1968).

Para este voo nupcial, tanto o macho quanto a fêmea precisam de energia para efetuar tal atividade. Antes de partir do ninho de origem, machos e fêmeas estão bem nutridos e pronto para o acasalamento. Jutsum & Quinlan (1978) verificaram que 21 % do peso seco dos alados são carboidratos e esses são totalmente consumidos após o voo nupcial. Similarmente, em um trabalho com *Formica lugubris*, demonstrou-se que o carboidrato (estocado como glicogênio) é a principal fonte de energia para o voo nupcial (PASSERA et al., 1989). Além disso, ambos trabalhos afirmam que os lipídeos não são utilizados como energia para o voo dos alados.

Dada a situação, entendemos que o primeiro recurso energético a ser esgotado são os carboidratos reservados no corpo, com os lipídeos e proteínas poupados para as atividades exigidas durante a fundação da colônia.

b) Escavação do ninho

Após o voo nupcial, as rainhas pousam ao solo e destacam-se suas asas, iniciando a escavação, que perdura de 6 a 10 horas (AUTUORI, 1942), com a construção de um túnel e uma câmara inicial. Durante a escavação do túnel, as rainhas realizam em média 300 viagens, cada uma com uma duração variável de 30 segundos a 30 minutos, resultando em uma velocidade média de 3 cm hora^{-1} (RIBEIRO, 1972). Devido à intensidade de tal atividade, supõe-se que o gasto energético seja alto para a escavação como um todo.

Não se tem na literatura relato do gasto energético para escavação, bem como, o substrato utilizado para tal, mas postula-se que a energia requerida é extraída da reserva de lipídeos das rainhas, pois as reservas de carboidratos são esgotadas durante o voo nupcial (JUTSUM & QUINLAN, 1978; PASSERA et al., 1989).

c) Cuidado com a prole e fungo simbiote

Após a construção do ninho, a rainha regurgita o fungo simbiote que estava armazenado na cavidade infra-bucal. Ao decorrer dos 5 dias surgem os primeiros ovos, 25 dias as primeiras larvas, posteriormente, após 22 dias as primeiras pupas, e em seguida, os primeiros adultos (10 dias), totalizando 62 a 75 dias (AUTUORI, 1942). O autor ainda relatou atividades como cuidados com o fungo (lamber e depositar fluido fecal), limpeza de suas antenas e pernas, alimentação própria (oofagia) e da prole, oviposição, e cuidados com a prole (limpeza, alimentação e manejo desta).

Devido à fundação claustral, a rainha armazena uma grande reserva de gorduras (lipídeos) e histólise de músculo que serão utilizados nesta fase da vida da colônia. Nessa etapa a rainha perde cerca de 40 % de seu peso, com a menor massa corporal 4 meses após o voo nupcial (*Atta sexdens* e *Atta laevigata*) (DELLA LUCIA et al., 1995). Em rainhas menores de *Attini* mais basais, verificou-se que *Trachymyrmex septentrionalis* apresenta 25% do seu peso seco constituído por gordura e *Cyphomyrmex rimosus* tem 11% (SEAL & TSCHINKEL, 2007). Porém, estas espécies apresentam uma fundação semi-claustral e as que utilizam a fundação claustral apresentam uma maior quantidade de reserva corporal. Mas não existe nenhum estudo das reservas energéticas das rainhas do gênero *Atta*, que apresentam uma fundação claustral.

Apresentada essas possíveis rotas da seleção natural atuando nessa espécie, o trabalho buscou analisar a regulação energética em *Atta sexdens rubropilosa*.

4. REFERÊNCIAS

AUTUORI, M. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp. – Hymenoptera – Formicidae). II. O saueiro inicial (*Atta sexdens rubropilosa*, Forel, 1908). *Arquivos do Instituto Biológico*, v.13, n. 7, p.67-86, 1942.

AUTUORI, M. Longevidade de uma colônia de saúva (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908) em condições de laboratório. *Ciência e Cultura*, v.2, n.4, p.285-286, 1950.

BOLLAZZI, M.; ROCES, F. Thermal preference for fungus culturing and brood location by workers of the thatching grass-cutting ant *Acromyrmex heyeri*. *Insectes Soc.*, v.49, p.153–157, 2002.

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

CHERRETT, J.M. A flight record for queens of *Atta cephalotes* L. (Hym., Formicidae). *Ent. Mon. Mag.*, v.104, p.255-256, 1968.

DELLA LUCIA, T.M.C.; MOREIRA, D.D.O.; OLIVEIRA, M.A.; ARAÚJO, M.S. Perdas de peso de rainha de *Atta* durante a fundação e o estabelecimento das colônias. *Revista Brasileira de Biologia*, v.55, n.4, p.533-536, 1995

FOWLER, H.G.; ROBINSON, S.W.; DIEHL, J. Effect of mature colony density on colonization and initial colony survivorship in *Atta capigura*, a leaf-cutting ant. *Biotropica*, v.16, n.1, p.51-54, 1984.

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

JUTSUM, A.R.; QUINLAN, R.J. Flight and substrate utilisation in laboratory-reared males of *Atta sexdens*. *J. Insect Physiol.*, v. 24, p.821-825, 1978.

PASSERA, L.; KELLER, L.; GRIMAL, A.; CHAUTEMS, D.; CHERIX, D.; FLETCHER, D.J.C.; FORTELIUS, W.; ROSENGREN, R.; VARGO, E.L. Carbohydrates as energy source during the flight of sexuals of the ant *Formica lugubris* (Hymenoptera: Formicidae). *Entomol. Gener.*, v.15, n.1, p.25-32, 1989.

QUINLAN, R.J.; CHERRETT, J.M. Aspects of the symbiosis of the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) and its food fungus. *Ecol. Entomol.*, v.3, p.221–230, 1978.

RIBEIRO, F.L. A escavação do solo pela fêmea da saúva (*Atta sexdens rubropilosa*). *Revista de Psicologia*, v.6, n.1, p.75-93, 1995.

RIBEIRO, F.L. *Um estudo sobre a contribuição da fêmea durante a fundação da colônia em Atta sexdens rubropilosa Forel, 1908 (Hymenoptera – Formicidae)*. 1972. Tese (Doutorado) - Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo. 135 p.

SEAL, J.N.; TSCHINKEL, W.R. Energetics of newly-mated queens and colony founding in the fungus-gardening ants *Cyphomyrmex rimosus* and *Trachymyrmex septentrionalis* (Hymenoptera: Formicidae). *Physiological Entomology*, v.32, p.8-15, 2007.

CAPÍTULO 1 - TEOR DE LIPÍDEOS E CARBOIDRATOS EM MACHOS E FÊMEAS DE FORMIGAS CORTADEIRAS: ANTES E PÓS-VOO NUPCIAL

Sociobiology

Resumo

O voo nupcial e a escavação do ninho é uma atividade de alta intensidade, envolvendo o consumo de reservas corporais. O voo e o esforço de escavação foram quantificados por medição do teor de carboidratos e lipídios totais em machos e fêmeas, antes e após o voo nupcial, e o esforço de escavação da rainha durante a fundação. Para mensurar o esforço de escavação, as rainhas foram experimentalmente estimuladas a escavar um ninho, uma, duas ou três vezes consecutivas, em relação às rainhas que não escavaram. O método calorimétrico foi usado para determinar os carboidratos e um método de extração para os lipídios totais. Os resultados mostraram uma perda significativa de carboidratos e lipídios totais nos machos e fêmeas após o voo. Em média os machos possuíam 0,027 mg de carboidratos solúveis antes do voo nupcial, e 0,005 mg após o voo nupcial, e as fêmeas continham 0,129 mg de carboidratos solúveis antes do voo nupcial, e 0,079 mg após o voo nupcial. Para os machos o percentual de lipídios diminuiu de $5,27 \pm 1,07\%$ para $2,60 \pm 0,63\%$ e para as fêmeas de $36,46 \pm 4,86\%$ para $32,62\%$ após o voo nupcial. O esforço de escavação da rainha apresentou uma leve redução no teor de carboidratos totais, sem cavação 0,054 mg, 0,055 mg escavação normal, escavação dupla 0,045 mg (redução de 20,22%), e escavação tripla 0,044 mg (diminuição de 20%) por rainha. Com base em nossos resultados podemos concluir que o teor de carboidratos é o principal recurso energético utilizado para o voo nupcial e a escavação do ninho para fêmeas de formigas cortadeiras.

Palavras-chave: formigas, carboidratos, lipídeos, insetos sociais.

Abstract

The nuptial flight and nest digging are high intensity activities which consume body reserves. The flight and digging effort was quantified by measuring the carbohydrate and total lipids content in males and females before and after the nuptial flight, and the queen's digging effort during the foundation. The digging effort was quantified by experimentally stimulating the queens to dig a nest – one, two or three consecutive times – compared to the queens that did not dig. The colorimetric method was used to determine the soluble carbohydrates and extraction method of immersion was used to determine the total lipids. The results showed significant loss of carbohydrates and total lipids in males and females after the flight. On average the males contained 0.027 mg of soluble carbohydrates before the nuptial flight, and 0.005 mg after the nuptial flight, and the females contained 0.129 mg of soluble carbohydrates before the nuptial flight, and 0.079 mg after the nuptial flight. For the males the percentage of lipids decreased from $5.27 \pm 1.07\%$ to $2.60 \pm 0.63\%$ and for females from $36.46 \pm 4.86\%$ to 32.62% after the nuptial flight. The digging effort of the queen caused a slight reduction in total carbohydrates, it was without digging 0.054 mg, normal digging 0.055 mg, double digging 0.045 mg (decrease of 20,22 %), and triple digging 0.044 mg (decrease of 20 %) per queen. Based on our results we conclude that the carbohydrate content is the main energetic resource used for the nuptial flight and nest digging, for gynes of leaf-cutting ants.

Keywords: ants, carbohydrates, lipids, social insect.

1 Introdução

Anualmente, as colônias maduras de *Atta* produzem formigas aladas, machos e fêmeas que abandonam a colônia na qual foram produzidas para formarem novas colônias e, dessa forma, continuarem a perpetuação da espécie (Hölldobler & Wilson, 1990). O voo nupcial das formigas cortadeiras pode ocorrer na parte da manhã ou da tarde de acordo com a espécie, controlado pelas primeiras chuvas a partir da estação chuvosa (Staab & Kleineidam, 2014) para *Atta vollenweideri*, com os machos formando “enxames” com 200 m de diâmetro e alturas superiores a 150 m do nível do solo para *Atta capiguara* (Amante, 1972). A distância do voo pode variar de acordo com a espécie e a velocidade do ar no momento. Na literatura, observou-se que fêmeas de *Atta texana* voaram a uma velocidade de $5,33 \text{ ms}^{-1}$, sugerindo uma distância de 10,4 km e *Atta sexdens* a uma velocidade $1,57 \text{ ms}^{-1}$, com uma possível distância de 11,1 km (Jutsum & Quinlan, 1978), e observações de campo, demonstram uma dispersão das rainhas de 9,6 km para mesma espécie (Cherrett, 1968). Após o voo nupcial, a fêmea da saúva *Atta sexdens* escava um canal vertical de aproximadamente 15cm e uma câmara dentro da qual ficará enclausurada, cuidando da cultura de fungo e da prole (Autuori, 1942). A escavação do ninho pela rainha dura de 6 a 10 horas (Autuori, 1942), com uma média de 300 viagens, cada uma com uma duração variável de 30 segundos a 30 minutos (Ribeiro, 1972). Devido à intensidade de tal atividade, supõe-se que o gasto energético seja alto para a escavação como um todo. Há poucos dados disponíveis na literatura sobre a quantidade de energia necessária pela rainha para escavar os ninhos (Camargo & Forti, 2013 A). Postula-se que a energia seja retirada das reservas de carboidratos, pois as reservas de lipídeos são poupadas quando a rainha escava o ninho (Camargo & Forti, 2013 B).

O esforço de escavação afeta significativamente a sobrevivência de rainhas de *Atta sexdens rubropilosa*. Na primeira semana após um esforço induzido (cavar sucessivamente dois ou três ninhos) houve uma maior mortalidade das rainhas, podendo afirmar que a mortalidade foi causada pelo esgotamento das reservas corporais das mesmas (Camargo et al., 2011). Além disso, na fase de fundação do ninho a rainha perde cerca de 40% do seu peso corporal após 60 dias (Della Lucia et al., 1995), atingindo sua massa corporal mínima, antes que as primeiras operárias comecem a forragear. Quando forrageamento é iniciado, a rainha recupera a sua massa corporal, devido a alimentação dentro da colônia (Della Lucia et al., 1990, Camargo et al., 2013).

Assim, o objetivo do estudo foi determinar o teor de carboidratos e lipídeos das fêmeas e machos antes e após o voo nupcial, e também o teor de carboidrato antes e após realizada a escavação do ninho pela rainha.

2 Material e Métodos

*Coleta de machos e fêmeas de *Atta sexdens rubropilosa* antes e após o voo nupcial*

Foram coletadas fêmeas e machos (voo pré-nupcial) de três ninhos de *A. sexdens rubropilosa* sobre um montículo de terra solta antes do voo nupcial. Esses insetos (N = 40) foram levados para o laboratório, imediatamente mortos por congelamento e analisados quanto ao teor de lipídios e carboidratos. As fêmeas recém-acasaladas (voo pós-nupcial) foram coletadas após retirar as asas e começarem a escavar as suas novas colônias (N=20), e os machos após a sua morte (N=20). Depois da coleta, as rainhas foram imediatamente acondicionadas em recipientes de plástico (11cm de diâmetro, 8 cm de altura), contendo 1 cm de gesso na parte inferior para manter a umidade. As rainhas e machos foram transportados para o Laboratório de Insetos Sociais-Praga - FCA / UNESP - Botucatu, SP, Brasil, a viagem durou 30 minutos.

Esforço de escavação

O experimento foi realizado de acordo com Camargo et al., (2011) e Camargo e Forti (2013 B). Uma hora após a revoada, as rainhas foram colocadas em tubos cheios de solo (25 cm de altura e 10 cm de diâmetro), retirados a 60 cm de profundidade, a uma densidade de 1,6 g / cm³. As rainhas não começaram a postura dos ovos antes do início dos experimentos. Quatro séries experimentais foram realizadas:

- 1) Sem escavação: as rainhas não escavaram, e foram colocadas num recipiente plástico;
- 2) Escavação normal: as rainhas foram colocadas num tubo preenchido com solo até o momento da clausura.
- 3) Escavação dupla: as rainhas escavaram duas vezes no tubo preenchido com solo. As mesmas rainhas, imediatamente após finalizar o ninho, foram removidas e confrontadas novamente com um novo tubo.

- 4) Escavação tripla: como descrito anteriormente, mas as rainhas escavaram 3 vezes sucessivamente.

Para todos os quatro grupos, as rainhas foram removidas, colocadas em tubos e em seguida congeladas para determinar o teor de carboidratos totais. Além do teor de carboidratos totais, foi determinado o comprimento do túnel escavado, bem como, dimensões da câmara (comprimento, largura e altura). O volume de solo escavado também foi mensurado, pela pesagem direta em balança semi-analítica. O tempo de escavação das rainhas foi mensurado, para acessar seu desempenho e esforço.

O tempo de escavação da rainha foi observado de 3 maneiras: primeiro - tempo gasto na escavação do túnel, segundo - tempo gasto na escavação de câmara, e terceiro - tempo gasto no túnel e câmara, quando o observador perdeu o ponto de virada da rainha (Figura 1). Esta sequência comportamental foi estudada por Fröhle e Roces (2012).

Determinação de carboidratos

Os carboidratos totais foram determinados colorimetricamente por meio do método de Dubois et al., (1956), baseado na reação entre carboidratos e ácido sulfúrico – fenol. A reação gera cor amarelo-alaranjada e é sensível e estável. A absorvância foi determinada em espectrofotômetro Beckman DU640. Brancos receberam água em lugar dos extratos. Glicose foi empregada como padrão ($C = 90, 531 \text{ Abs} + 3,7125, R^2 = 0,992$). Os valores foram expressos em mg de açúcares totais.

Determinação de lipídeos

Machos e fêmeas antes e depois do voo nupcial foram mortos por congelamento e, em seguida, sujeito ao procedimento experimental utilizado por Seal (2009). O procedimento foi realizado da seguinte forma: 1) A massa fresca de machos e fêmeas foi determinada individualmente; 2) As rainhas foram colocadas em estufa por 24 horas a 70 ° C para determinar a massa seca; e 3) O teor de lipídeo foi extraído com éter (bp 40-60 ° C) durante 24 horas e em seguida as rainhas foram pesadas novamente. Este procedimento foi repetido durante 72 horas de extração. A porcentagem de matéria gorda total foi calculada usando a fórmula: $100 \times (DM - FFDM) / DM$, onde DM é a massa seca e FFDM é massa

seca livre de gordura. O conteúdo de energia das formigas foi obtida multiplicando a sua massa magra por 18,87 J mg⁻¹ e sua massa gorda por 39,33 J mg⁻¹ (Peakin, 1972).

3 Análise estatística

Os lipídios totais e conteúdo de carboidratos solúveis de machos e rainhas, antes e após o voo nupcial e esforço de escavação foram comparados utilizando teste t ($\alpha = 0,05$). Os dados de esforço da escavação foram submetidos à ANOVA para medidas repetidas ($\alpha = 0,05$), comparando o tempo variável total de escavação, comprimento do túnel e do solo escavado de cada série experimental. A análise foi realizada usando o programa SigmaPlot 11.0.

4 Resultados

Esforço do voo nupcial

A média de massa fresca de machos e fêmeas de *A. sexdens rubropilosa* antes do voo nupcial era de 103.6±18.6 mg e 656.7±75.1 mg, enquanto que a massa dos machos e das fêmeas após o voo nupcial, do qual copularam e voaram foi de 154.3±7.9 mg e 631.2±38.8 mg respectivamente (Tabela 1).

Para machos e fêmeas foi verificada uma perda significativa de carboidratos solúveis após o voo. Em média os machos continham 0,027 mg de carboidratos solúveis antes do voo nupcial, e 0,005 mg após o voo nupcial (redução de 81,48%) (teste t = 7,661, d.f = 18, P <0,0001). Em média, as fêmeas continham 0,129 mg de carboidratos solúveis antes do voo nupcial, e 0,079 mg após o voo nupcial (redução de 38,76%), diferindo significativamente entre eles (teste t, t = 4,718, d.f = 18, P <0,0001).

Os lipídios representaram 36,46 ± 4,86% e 5,27 ± 1,07% da massa corporal de fêmeas e machos antes de voo nupcial, respectivamente. Esta percentagem diminuiu para 35,00 ± 2,28% em fêmeas e 2,60 ± 0,63% em machos que acasalaram e voaram (Tabela 1). Como já era esperado, foram detectadas diferenças significativas na porcentagem de lipídios de machos antes e após o voo nupcial (ANOVA, $F_{1,19}=89.051$, $P<0.001$). No entanto, a porcentagem de lipídios em fêmeas que tinham e não tinham voadas não foram significativamente diferentes (ANOVA, $F_{1,19}=1.400$, $P=0.242$). O conteúdo de energia foi

8563.24 ± 1668.76 J para as fêmeas antes de voo nupcial, 8413.37 ± 802.56 J para as fêmeas que tinham voado (Tabela 1).

Esforço de escavação

Na escavação normal, as rainhas demoraram em média um tempo de 383,21±59,01 (N=14) minutos para escavar o túnel, e 42,21±40,46 (N=14) minutos para a câmara inicial. Não foi possível observar o momento da virada de algumas rainhas, assim, elas demoraram em média 523,75 ±164,79 (N=14) minutos para construir o ninho inteiro. Na escavação dupla, as rainhas demoraram em média um tempo de 310,35±137,94 (N=20) minutos para escavar o túnel, e 77,35±95,19 (N=20) minutos para a câmara inicial. Algumas enclausuraram sem a observação da virada da rainha, dessa forma, o tempo total de escavação foi de 305.0±184.59 (N=5) minutos. Nessa série experimental, 5 rainhas não escavaram. Na escavação tripla, as rainhas demoraram em média um tempo de 331,21±169,90 (N=10) minutos para escavar o túnel, e 79,30±89,87 (N=10) minutos para a câmara inicial. Algumas enclausuraram sem a observação da virada da rainha, dessa forma, o tempo total de escavação foi de 347,67±73,21 (N=10) minutos. Nessa série experimental, 8 rainhas não escavaram.

Por meio da análise estatística, verificou-se que houve diferença na série experimental escavação dupla (ANOVA, $F_{1;52}=12,47$, $P<0.001$), em que o tempo total de escavação da rainha foi maior na primeira do que na segunda vez escavando. Além disso, houve diferença na série experimental escavação tripla (ANOVA, $F_{1;77}=5.85$, $P<0.05$), onde o primeiro ninho fundado na série experimental escavação tripla levou mais tempo em comparação aos dois seguintes (Teste de Tukey: primeiro *versus* segundo, $P<0.05$; primeiro *versus* terceiro, $P<0.01$, segundo *versus* terceiro, não significativo).

Em relação ao peso seco médio de solo foi de 35,66 ± 6,86g para escavação normal, 59,21 ±15,38 g para escavação dupla e 87,90± 16,98 para escavação tripla. Houve diferenças significativas entre o peso seco de solo escavado pela rainha, sendo esse montante mais elevado para a escavação tripla, seguido pela escavação dupla (ANOVA, $F_{2;87}=70,95$, $P<0.0001$, Teste de Tukey: primeiro *versus* segundo, $P<0.01$; primeiro *versus* terceiro, $P<0.01$; segundo *versus* terceiro, $P<0.01$).

O comprimento total do túnel escavado pelas rainhas foi 12,00±2,02 cm para a escavação normal, 19,32±4,58 cm para escavação dupla e 26,62±6,12 cm para escavação

tripla. Houve diferença no comprimento do túnel escavado (ANOVA: $F_{2;87}=51.84$, $P<0.0001$, Teste de Tukey: primeiro *versus* segundo, $P<0.01$; primeiro *versus* terceiro, $P<0.01$; segundo *versus* terceiro, $P<0.01$).

O esforço de escavação da rainha causou uma ligeira redução em relação aos carboidratos solúveis totais: sem escavação 0,054 mg/rainha, escavação normal 0,055 mg/rainha, escavação dupla 0,045 mg/rainha, e escavação tripla 0,044 mg/rainha (redução de 20%) (ANOVA, $F_{3;36} = 3.1096$, $P = 0.0376$).

5 Discussão

Como esperado, o teor de carboidratos totais e o teor de lipídios totais reduziram nos machos; e carboidratos totais reduziram em fêmeas de *Atta sexdens rubropilosa* após o voo nupcial. Esse resultado é semelhante ao encontrado por Jutsum & Quinlan (1978) em *Atta sexdens*. Os autores verificaram que 21 % do peso seco dos alados são carboidratos e esse é totalmente consumido após o voo nupcial. Similarmente, em um estudo com *Formica lugubris*, demonstrou-se que o carboidrato (estocado como glicogênio) é a principal fonte de energia para o voo nupcial (Passera et al., 1989). Além disso, ambos os trabalhos afirmam que os lipídeos não são utilizados como energia para o voo das fêmeas, como observado em nosso estudo (Tabela 1) e em Camargo & Forti (2013 B). Em *Cataglyphis cursor* e *Iridomyrmex humilis*, os machos apresentam um maior conteúdo de carboidrato quando comparados com as fêmeas (Passera & Keller, 1990). A partir desses estudos, pode-se assumir que o primeiro recurso energético a ser esgotado no voo nupcial é a reserva de carboidratos. Lipídeos e proteínas são de degradação mais lenta quando comparado com os carboidratos, poupando essas reservas para atividades que seguem após o voo nupcial. Provavelmente, antes de partirem do ninho de origem, machos e fêmeas estão bem nutridos e prontos para o acasalamento.

É conhecido que o fungo simbiote é uma rica fonte em carboidratos, em especial glicose. De acordo com Silva et al., (2003), a concentração de glicose no jardim de fungo foi de $27,7 \text{ mg.g}^{-1}$, cerca de duas vezes e meia mais alta à encontrada em folhas de plantas ($10,8 \text{ mg.g}^{-1}$, para *Eucaliptus alba*) e cerca de seis vezes e meia mais alta à encontrada em micélios fungo simbiote cultivado em meio de cultura ($4,3 \text{ mg.g}^{-1}$). Dessa forma, a alimentação do jardim de fungo permite que as formas sexuais adquiram reservas suficientes para o voo nupcial (Fujihara et al., 2012) com posterior escavação do ninho

pela rainha fundadora, como mostrado no nosso estudo quando a rainha escava duas e três vezes.

Em relação ao esforço de escavação, sob as condições experimentais, rainhas de formigas cortadeiras escavaram o ninho (Tabela 2), como já foi descrito anteriormente na literatura, primeiramente um túnel, e posteriormente, uma câmara (Eidmann, 1935, Cunha, 1968, Camargo et al., 2011, Fujihara et al., 2012) (Figura 1). A profundidade da câmara inicial, em torno de 8,5 a 15 cm (Autuori, 1942, Ribeiro, 1972).

Nossos resultados mostram que o teor de carboidratos das rainhas de *Atta sexdens rubropilosa* foram afetados pelo aumento do esforço de escavação, ou seja, pelas escavações sucessivas experimentalmente induzidas. Adicionalmente, Carmargo et al., (2013) verificaram que uma única operária (massa corporal $9,65 \pm 1,50$ mg) escava em média $0,85 \pm 0,27$ g de solo em 24 horas e consome aproximadamente $0,58 \pm 0,23$ J, um custo energético significativo as operárias. Assim, existe um custo de escavação diretamente relacionado ao consumo de carboidratos totais. As rainhas escavaram 35,66 gramas na escavação normal, e quando submetidas a 3 escavações, escavaram cerca de 87,90 gramas, significativo e oneroso energeticamente.

Além disso, sabe-se que o esforço de escavação não afeta a taxa de oviposição (Camargo et al., 2011), mas sim acentua a mortalidade dessas rainhas. Os autores afirmam que dificilmente pode-se justificar que a mortalidade rainha está baseada no esgotamento das reservas corporais. Duas consequências podem existir do esforço sucessivo. Primeiro, uma abrasão cuticular excessiva devido ao aumento da escavação, com perdas concomitantes de água como foi descrito para formigas coletoras de sementes (Johnson, 2000; Johnson e Gibbs, 2004) e segundo, a acumulação de dano oxidativo associado à intensa atividade de escavação inicial, como conhecido para insetos voadores (Magwere et al., 2006; Sohal e Buchan, 1981).

Com base em nossos resultados podemos concluir que o teor de carboidrato é o principal recurso energético utilizado para o voo nupcial, para machos e fêmeas de formigas cortadeira quando cavaram duas ou três vezes.

6 Referências

Amante, E. (1972). Preliminary observations on the swarming behavior of the leaf-cutting ants *Atta capiguara* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Georgia Entomological Society*, 7: 82-83.

Autuori, M. (1942). Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp – Hymenoptera-*Formicidae*). *Arquivos do Instituto Biológico*, 13: 137-50.

Bollazzi, M., Kronenbitter, J., Roces, F. (2008). Soil temperature, digging behaviour, and the adaptive value of nest depth in South America species of *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Oecologia*, v.158, p.165-175, 2008. Disponível em: doi: 10.1007/s00442-008-1113-z. Acesso em: 10 dez. 2014. doi: 10.1007/s00442-008-1113-z

Camargo, R.S. & Forti, L.C. (2013) A. Queen lipid content and nest growth in the leaf cutting ant (*Atta sexdens rubropilosa*) (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Natural History*, 47: 65-73. Disponível em: doi: 10.1080/00222933.2012.738836

Camargo, R.S. & Forti L.C. (2013) B. Esforço de escavação e teor de lipídios em rainhas da formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa*. *Ciência Rural*, 43: 1371-1374.

Camargo, R.S.; Fonseca, J.A.; Lopes, J.F.S.; Forti L.C. (2013) Influência do ambiente no desenvolvimento de colônias iniciais de formigas cortadeiras (*Atta sexdens rubropilosa*). *Ciência Rural*, 43: 1375-1380.

Camargo, R.S., Forti, L.C., Fujihara, R.T. & Roces, F. (2011). Digging effort in leaf-cutting ant queens (*Atta sexdens rubropilosa*) and its effects on survival and colony growth during the claustral phase. *Insectes Sociaux*, 58: 17-22. Disponível em: doi 10.1007/s00040-010-0110-5

Chapman, R.F. (1998). *The insects: structure and function*. Cambridge: Cambridge University Press. 770 p.

Cherrett, J.M. (1968). A flight record for queens of *Atta cephalotes* L. (Hym., Formicidae). *Entomologist Monthly Magazine* 104: 255–256.

Cunha, W.H.A. (1968). *Observações acerca do comportamento da raça Atta sexdens rubropilosa Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) na fundação do formigueiro. Ciências Cultura, 20: 233–234. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782013000800005>*

Della Lucia, T.M.C., Vilela, E.F., Moreira, D.D.O., Bento, J.M.S. & Dos Anjos, N. (1990). Egg-laying in *Atta sexdens rubropilosa*, under laboratory conditions. In: Vander Meer R.K. & Jaffe, K. (Eds.) *Applied Myrmecology—A World Perspective* p.173–179.

Della Lucia, T.M.C., Moreira, D.D.O., Oliveira, M.A. & Araújo, M.S. (1995). Perda de peso de rainhas de *Atta* durante a fundação e o estabelecimento das colônias. *Revista Brasileira Biologia*, 55(4): 533–536.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 26(3): 350-356.

Eidmann, H. (1935). Zur Kenntnis der Blattschneiderameise *Atta sexdens* L., insbesondere ihrer Ökologie. *Z. Angew. Entomol.* 22: 185–436.

Fröhle, K. & Roces, F. (2012). The determination of nest depth in founding queens of leaf-cutting ants (*Atta vollenweideri*): idiothetic and temporal control. *Journal Experimental Biology*, 1642-1650. Disponível em: doi: 10.1242/jeb.066217.

Fujihara, R.T., Camargo, R.S. & Forti, L.C. (2012). Lipids and energy contents in the bodies of queens of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae): pre and post nuptial flight. *Revista Brasileira Entomologia*, 56(1): 73-75. Disponível em : <http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262012005000015>

Hölldobler, B. & Wilson, E.O. (1990). *The Ants*. Cambridge: Harvard University Press, 732 p

Johnson, R.A. (2000). Water loss in desert ants: caste variation and the effect of cuticle abrasion. *Physiological Entomology* 25: 48–53. Disponível em: doi: 10.1046/j.1365-3032.2000.00170.x

Johnson, R.A. & Gibbs, A.G. (2004). Effect of mating stage on water balance, cuticular hydrocarbons and metabolism in the desert harvester ant, *Pogonomyrmex barbatus*. *Journal Insect Physiology*, 50: 943–953. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2004.07.006>

Jutsum, A.R. & Quinlan, R.J. (1978). Flight and substrate utilisation in laboratory-reared males of *Atta sexdens*. *Journal Insect Physiology* 24: 821-825. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0022-1910\(78\)90102-6](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1910(78)90102-6)

Magwera, T., Pamplona, R., Miwa, S., Martinez-Diaz, P., Portero-Otin, M., Brand, M.D. & Partridge, L. (2006). Flight activity, mortality rates, and lipoxidative damage in *Drosophila*. *Journal Gerontology: Biological Science* 61A: 136–145.

Passera, L., Keller, L., Grimal, A., Chaitems, D., Cherix, D., Fletcher, W., Rosengren, R., Vargo, E.L. (1989). Carbohydrates as energy source during the flight of sexuals of the ant *Formica lugubris* (Hymenoptera: Formicidae). *Entomologia Generalis*, 15: 25-32. Disponível em: doi: [10.1127/entom.gen/15/1990/25](https://doi.org/10.1127/entom.gen/15/1990/25).

Passera, L. & Keller, L. (1990). Loss of mating flight and shift in the pattern of carbohydrate storage in sexuals of ants (Hymenoptera; Formicidae). *Journal of Comparative Physiology*, 160: 207-211. Disponível em: doi: 10.1007/BF00300955.

Peakin, G.J. (1972). Aspects of productivity in *Tetramorium caespitum* L. *Ekologia Polska* 20: 55–63.

Ribeiro, F.J.L. (1972). Um estudo sobre o comportamento da fêmea durante a fundação da colônia em *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera—Formicidae). Tese Doutorado, Universidade São Paulo, Psicologia.

Silva, A., Bacci, M., Siqueira, C.G., Bueno, O.C., Pagnocca, F.C., Hebling, M.J.A. (2003). Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. Journal of Insect Physiology 49: 307-313. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-1910\(03\)00004-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-1910(03)00004-0)

Sohal, R.S. & Buchan, P.B. (1981). Relationship between physical activity and life span in the adult housefly, *Musca domestica*. Experimental Gerontology, 16: 157–162. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0531-5565\(81\)90040-1](http://dx.doi.org/10.1016/0531-5565(81)90040-1)

Staab, M. & Kleineidam, C.J. (2014). Initiation of swarming behavior and synchronization of mating flights in the leaf-cutting ants *Atta vollenweideri* Forel, 1893 (Hymenoptera: Formicidae). Myrmecological News, 19: 93-102. Disponível em: http://www.myrmecologicalnews.org/cms/images/pdf/volume19/mn19_93-102_non-printable.pdf

Tabela 1. Média e desvio padrão ($m \pm dp$) de massas (mg), percentual de gordura e energia (J) nos corpos de machos e fêmeas de *Atta sexdens rubropilosa* antes e depois do voo nupcial.

	Macho antes VP (n=20)	Macho depois VP (n=20)	Fêmea antes VP (n=20)	Fêmea depois VP (n=20)
Massa fresca (mg)	103.68±18.61	154.29±7.96	656.72±75.05	631.18±38.81
Massa seca (mg)	35.17±5,60	53.02±2.74	323.69±53.64	322.85±25.20
Massa magra (mg)	33.31±5.32	51.63±2.54	203.68±25.75	209.39±11.63
Teor de lipídeos (mg)	1.86±0.51	1.39±0.41	120,01±31.39	113.46±15.77
Porcentagem de lipídeos (%)	5.27±1.07	2.60±0.63	36.46±4.86	35.00±2.28
Conteúdo energético (J)	-	-	8563.24±1668.76	8413.37±802.56

Tabela 2. Média e desvio padrão (cm) de comprimento do túnel e dimensões da câmara inicial (cm) de ninhos iniciais de *Atta sexdens rubropilosa*.

Séries experimentais	Túnel	Câmara		
		Comprimento	Altura	Largura
Escavação normal	12.0±2.02	3.93±0.71	2.11±0.38	2.78±0.38
Escavação dupla I	10.82±2.48	3.35±0.70	2.09±0.40	2.78±0.73
Escavação dupla II	8.50±2.35	3.73±0.98	1.98±0.26	2.83±0.68
Escavação tripla I	10.47±2.52	3.22±0.82	1.95±0.32	2.66±0.56
Escavação tripla II	8.43±1.99	2.95±0.54	1.83±0.34	2.23±0.44
Escavação tripla III	7.72±2.27	3.87±0.57	1.99±0.30	2.64±0.51



Figura 1. Repertório comportamental das rainhas: retirada de uma porção de terra, transporte, deposição do torrão, retorno e reclusão da rainha (clausura).

CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO INICIAL E PRODUÇÃO DE CO₂ EM COLÔNIAS DA FORMIGA CORTADEIRA, *Atta sexdens rubropilosa*, DURANTE A FASE CLAUSTRAL

Revista Brasileira de Entomologia

Resumo

A fundação de colônias de *Atta* sempre envolve grande esforço da rainha, única responsável pelo cultivo do fungo e pelos cuidados consigo mesma e com sua prole. Entretanto, são poucos estudos que se endereça a estudar os ninhos na fase claustral, bem como, o desenvolvimento e a produção de CO₂ durante a fundação e estabelecimento do ninho. Dessa forma, nós estudamos o desenvolvimento de 50 colônias iniciais de *Atta sexdens rubropilosa*, bem como, produção de dióxido de carbono expelido em situação controlada. Os resultados demonstraram que a rainha ovipositou no segundo e terceiro dia após o voo nupcial, entretanto, foi contabilizado no sétimo dia. As larvas que eclodiram foram contabilizadas na avaliação do 28º dia, e as pupas entre o 42º e 49º dia. As operárias emergiram aos 63º e 70º dia. A concentração de CO₂ teve um grande aumento na sexta (4,516±1,819%) e sétima semana (3,350±2,837%), e depois retornando a valores mais baixos, por exemplo, 3,350±2,837% para a mesma semana. Contudo, o presente estudo é o primeiro a apresentar dados da emissão de CO₂ em ninhos iniciais, ou seja, em sua fase claustral. Cabe ressaltar, que em situação natural, não é conhecido se o CO₂ produzido seja liberado através do solo por difusão, ou se, é acumulado em níveis altos, como ocorre em ninhos adultos.

Palavras-chave: *Atta sexdens rubropilosa*, CO₂, fase claustral, formigas cortadeiras.

Abstract

The foundation of *Atta* colonies always involves great effort by the queen, who is solely responsible for fungus cultivation and for care of herself and her offspring. However, there are few studies that elucidate their nests in the claustral phase or the development and production of CO₂ during the foundation and establishment of the nest. Thus, we have studied the development of 50 initial colonies of *Atta sexdens rubropilosa*, and production of expelled carbon dioxide under laboratory conditions. The results show that the queen oviposited on the second and third day after the nuptial flight, although the eggs were counted on the seventh day. The larvae were counted on day 28, and the pupae between days 42 and 49. The workers emerged on the 63rd and 70th day. The CO₂ concentration increased steeply in the sixth ($4.516 \pm 1.819\%$) and seventh week ($3.350 \pm 2.837\%$), and subsequently returned to lower values, for example, $3.350 \pm 2.837\%$ at the same week. But the present study is the first to present CO₂ emission data in initial nests, that is, in their claustral phase. It should be emphasized that in a natural condition, it is not known whether the CO₂ produced is released through the soil by diffusion, or if it is accumulated at high levels, as occurs in adult nests.

Keywords: *Atta sexdens rubropilosa*, CO₂, claustral phase, leaf-cutting ants.

1 Introdução

Anualmente, as colônias maduras de *Atta* produzem formigas aladas, machos e fêmeas que abandonam a colônia na qual foram produzidas para formarem novas colônias e, dessa forma, continuarem a perpetuação da espécie. As revoadas ocorrem sempre depois de fortes chuvas, que oferecem condições favoráveis para a sobrevivência inicial do fungo coletado antes do voo nupcial (Autuori, 1942). Além disso, a chuva facilita a escavação inicial do canal vertical por parte da rainha. Após o voo nupcial, a fêmea da saúva *Atta sexdens* escava um canal vertical de cerca de 15 cm e uma câmara dentro da qual fica encerrada, cuidando da cultura de fungo e da prole (Autuori, 1942; Ribeiro, 1995, Camargo et al., 2011; Fröhle & Roces, 2012). O processo de construção do novo ninho é o período mais crucial da vida de uma colônia de formiga e os mecanismos que otimizam a sobrevivência durante essa fase são de grande valor (Wilson, 1971).

A fundação de colônias de *Atta* sempre envolve grande esforço da rainha, única responsável pelo cultivo do fungo e pelos cuidados consigo mesma e com sua prole. Nesse período, ocorre o consumo de grande parte de suas reservas (Della Lucia et al., 1995). Mintzer (1990), afirmou que a fundação desses ninhos demanda o maior investimento já observado entre rainhas das várias espécies de formigas. Dessa forma, pode-se explicar o grande tamanho atingido por estas, devido ao acúmulo de reservas energéticas pré-voo nupcial, para que possam gastá-lo durante a formação de suas colônias (Fujihara et al., 2012; Camargo & Forti, 2013). De acordo com Heinze & Tsuji (1995), dentre os principais fatores que determinam o sucesso das estratégias reprodutivas, parecem ser a distribuição espacial e temporal dos habitats e da disponibilidade de locais de nidificação, o ambiente. Entretanto, são poucos estudos que se endereça a estudar os ninhos na fase claustral, bem como, o desenvolvimento e a produção de CO₂ durante a fundação e estabelecimento do ninho. A produção de CO₂ deve-se a respiração aeróbica de um organismo (Chown & Nicolson, 2004; Macieira & Proni, 2005), porém se desconhece a taxa de produção de dióxido de carbono expelido e/ou de consumo de oxigênio em colônias iniciais de formigas cortadeiras. Dessa forma, nós estudamos o desenvolvimento de 50 colônias iniciais de *Atta sexdens rubropilosa*, bem como, produção de dióxido de carbono expelido em situação controlada.

2 Material e Métodos

Coleta das rainhas de *Atta sexdens rubropilosa*

A coleta foi realizada durante a revoada que ocorreu em 5 de Outubro de 2013, pela captura das rainhas que estavam fundando seus ninhos na Fazenda Experimental Lageado, FCA - UNESP - Botucatu.

As rainhas recém-coletadas foram armazenadas em recipientes plásticos com 11 cm de diâmetro, 8 cm de altura, contendo 1 cm de gesso no fundo, para manter umidade. As rainhas foram transportadas até o Laboratório de Insetos Sociais Pragas – FCA/UNESP – Botucatu.

Desenvolvimento inicial das colônias

O desenvolvimento inicial foi mensurado através da produção da prole (número de ovos, larvas, pupas e adultos criados) até quando as primeiras operárias emergiram. A prole foi contabilizada semanalmente, examinando cuidadosamente sob um microscópio estereoscópio. Foram estudadas 50 colônias iniciais.

Produção de CO₂ das colônias

As colônias foram enclausuradas em câmaras herméticas durante uma semana, simulando a fundação claustral que se encontra em ambiente natural. A produção de CO₂ foi mensurada por meio de um sistema respirométrico que foi construído conforme a Figura 1. O medidor de CO₂ é da marca Bacharach, com sonda fixa (<http://www.bacharach-inc.com>), mantido a 25°C em laboratório. Foram realizadas leituras consecutivas (N=7) da concentração de CO₂ do recipiente respirométrico, para a obtenção de uma média. Os resultados foram expressos em ppm, posteriormente, transformados em mL ou mg, através do volume conhecido do recipiente respirométrico de acrílico B. Esse ambiente foi retroalimentado por uma bomba peristáltica, e dessa forma, sem a perda da atmosfera modificada da câmara das colônias.

3 Análise Estatística

Os dados de concentração de CO₂ foram submetidos à ANOVA ($\alpha=0,05$), para medidas repetidas, comparando-se a variável semanalmente. Como pós-teste utilizou a comparação múltipla pareada de Student-Newman-Keuls. As análises e gráficos foram realizados no programa SigmaPlot 11.0.

4 Resultados

As rainhas de *Atta sexdens rubropilosa* começaram a ovipositar no segundo e terceiro dias após o voo nupcial, entretanto, foi contabilizado no sétimo dia (1 semana) (Figura 2). As larvas que eclodiram foram contabilizadas na avaliação do 28º dia, e as pupas entre o 42º e 49º dia (Figura 4). As operárias emergiram aos 63º e 70º dia (Tabela 1). A concentração de CO₂ (%) e o volume foram, respectivamente, de 0,500±0,178% e 2,20±0,80 ml para primeira semana (7 dias), 0,510± 0,144 e 2,32±0,65 ml para segunda semana (14 dias), 0,519±0,105 e 2,36± 0,48 ml para terceira semana (21 dias), 0,727±0,300 e 3,32 ± 1,38 ml para quarta semana (28 dias), 1,412±0,273 e 6,44± 1,27 ml para quinta semana (35 dias), 4,516±1,819 e 20,60±8,36 ml para sexta semana (42 dias), 3,350±2,837 e 15,37±13,11 ml para sétima semana (49 dias), 1,101±0,237 e 5,02±1,10 ml para oitava semana (56 dias), 1,394±0,292 e 6,16± 1,71 ml para nona semana (63 dias) e 1,314±0,155 e 5,99± 0,71 ml para décima semana (70 dias). Ocorreu uma diferença significativa entre as concentrações de CO₂ em função do tempo (ANOVA, $F_{49;376}=67,007$; $P < 0,001$). Por meio da comparação múltipla pareada de Student-Newman-Keuls, verificou-se que a concentração de CO₂ da sexta semana diferiu das demais semanas, o mesmo ocorreu para a sétima semana (Figura 2). Por outro lado, não foi detectado diferença entre a primeira, segunda, terceira, quarta e oitava semana.

5 Discussão

Comparando o desenvolvimento das colônias iniciais de *Atta* com os dados da literatura (Autuori, 1942; Pereira-da-Silva, 1979), verificou-se que o período de incubação, larval e pupal foram similares. Para *Atta sexdens rubropilosa*, o período de incubação foi de 25 dias, larval foi de 22 dias e pupal foi de 10 dias (Autuori, 1942). Camargo et al.,

(2011), obtiveram resultados similares para a mesma espécie de formiga cortadeiras, mesmo quando se mensurou o esforço de escavação. Em *Atta capiguara*, nos períodos amostrados, os ovos prevaleciam no intervalo de 1-18 dias, larvas nos 21-38 dias, pupas de 39-55 e os adultos de 58-67 dias (Pereira-da-Silva, 1979).

Quando se compara à quantidade de prole produzida com dados de Autuori, (1942) e Pereira-da-Silva (1979), verifica-se um padrão na produção de ovos, larvas, pupas e adultos, ou seja, geralmente números concisos e com baixa variabilidade (Tabela 1). Isto se deve, pois a produção de ovos é controlada pelo seu sistema endócrino. De acordo com Fowler et al., (1986), a produção de ovos pela rainha durante as 3 ou 4 meses de vida da colônia está correlacionada com o ciclo da atividade dos corpora allata. Os corpora allata são responsáveis pela síntese de hormônio juvenil, que atua na oviposição das rainhas fundadoras, como verificado em fêmeas que sofreram alatectomia (Barker, 1978). O hormônio juvenil atua no corpo gorduroso, iniciando a síntese de vitelogenina (são glicolipofosfoproteínas, com lipídeos e carboidratos em sua composição) que será depositado no ovócito (Chapman, 1998). Desta forma, a produção da prole depende das reservas corporais (lipídeos do corpo gorduroso e proteína da massa muscular (alares)), pois a rainha não se alimenta durante o período de fundação (fundação claustral).

As rainhas com fundação claustral apresentam uma maior quantidade de lipídeos em suas reservas corporais (Keller & Passera, 1989). Em rainhas menores de *Attini* mais basais, verificou-se que *Trachymyrmex septentrionalis* apresenta 25% do seu peso seco constituído por gordura e *Cyphomyrmex rimosus* tem 11% (Seal & Tschinkel, 2007). Durante o período de fundação a rainha perde cerca de 40 % de seu peso, com a menor massa corporal 4 meses após o vôo nupcial (*Atta sexdens* e *Atta laevigata*) (Della Lucia et al., 1994). Provavelmente, toda esta perda de massa corporal se deve a utilização dos recursos nas atividades da rainha, incluindo a oviposição.

Em relação à concentração de CO₂ esta é crescente quando a população dentro do ninho aumenta, embora um pico foi observado na sexta e sétima semana, com o aparecimento da fase pupal na colônia (Figura 2 e Tabela 1). Embora esse valor de concentração de CO₂ seja alto, sabe-se que nos ninhos adultos os valores são bem maiores. Mas é conhecido que as operárias de formigas cortadeiras tem habilidades em tolerar elevados níveis de CO₂, e particularmente o gênero *Atta*, que são capazes de tolerar uma hipóxia grave (Hebling et al., 1992), e também, são capazes de se comportar normalmente nas concentrações elevadas de CO₂, como encontradas em ninhos *A. capiguara* e *A.*

laevigata, cerca de 1,5-4,5% (Bollazzi et al., 2012). Um outro exemplo interessante são as formigas que habitam os mangues, os níveis de dióxido de carbono no interior de ninhos se tornam elevados durante o fechamento do ninho, chegando a 11% (Nielsen et al., 2003). Sob estas condições hipercápnicas e hipóxica, as formigas são capazes de sustentar a respiração aeróbia até concentrações de CO₂ de 15% (Nielsen et al, 2006.; Nielsen et al, 2007).

O volume de CO₂ emitido semanalmente variou de 2,20±0,80 ml a 20,60±8,36 ml. Camargo et al; (2014), estudaram a produção de CO₂ durante a escavação do ninhos pelas operárias, e verificaram que o volume de ml CO₂ g⁻¹ produzido foi de 2,19±0,9 para grupo com escavação e 1,48±0,6 para grupo sem escavação. Esses valores são baixos quando comparamos com outros insetos e em outras atividades, sendo 9,1 ml CO₂ h⁻¹g⁻¹ para *Camponotus rufipes*, durante o transporte de alimento (Schilman & Roces, 2008) e 55 ml CO₂ h⁻¹g⁻¹ para abelha europeia, durante o voo (Batt & Roces, 2001). Provavelmente o ato de escavar não seja tão custoso energeticamente nesse caso específico, pois as operárias permaneceram enclausuradas com pouca quantidade de solo, com densidade e umidade padronizadas. Em situação natural, não é conhecido se o CO₂ produzido seja liberado através do solo por difusão, ou se, é acumulado em níveis altos, como ocorre em ninhos adultos. Porém, o presente estudo é o primeiro a apresentar dados da emissão de CO₂ em ninhos iniciais, ou seja, em sua fase claustral.

6 Referências

Autuori, M. 1942 Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp. – Hymenoptera – Formicidae). II. O sauveiro inicial (*Atta sexdens rubropilosa*, Forel, 1908). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.13, n. 7, p.67-86.

Barker, J.F. 1978. Neuroendocrine regulation of oocyte maturation in imported fire ant *Solenopsis invicta*. **General and Comparative endocrinology** 35: 234-237.

Blatt, J. & Roces F. 2001. Haemolymph sugar levels in foraging honey bees (*Apis mellifera carnica*): dependence on metabolic rate and in vivo measurement of maximal rates of trehalose synthesis. **Journal of Experimental Biology** 204: 2709-2716.

Bollazzi, M.; Forti, L.C.; Roces, F. 2012. Ventilation of the giant nests of *Atta* leaf-cutting ants: does underground circulating air enter the fungus chambers? **Insectes Sociaux** 59 (4), pp. 487-498.

Camargo R.S., Forti L.C., Fujihara R.T., Roces F., 2011.- Digging effort by leaf-cutting ant queens (*Atta sexdens rubropilosa*) and its effects on survival and colony growth during the claustral phase. **Insectes Sociaux**, 58: 17-22.

Camargo, R.S., Forti, L.C. 2013. Queen lipid content and nest growth in the leaf cutting ant (*Atta sexdens rubropilosa*) (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Natural History** 47: 65-73.

Chapman, R.F. 1998. **The insects: structure and function**. 4.ed. Cambridge: Cambridge University Press.

Chown, S.L., Nicolson, S.W. 2004. **Insect Physiological Ecology: mechanisms and patterns**. Oxford University Press, 237 pp.

Della Lucia, T.M.C., Moreira, D.D.O., Oliveira, M.A., Araújo, M.S. 1994. Perdas de peso de rainha de *Atta* durante a fundação e o estabelecimento das colônias. **Revista Brasileira de Biologia**, v.55, n.4, p.533-536.

Fowler, H.G., Pereira-Da-Silva, V., Forti, L.C., Saes, N.B. 1986. Population dynamics of leaf-cutting ants: a brief review. In: Fire ants and leaf-cutting ants: Biology and management. Lofgren, C.S. & Vander Meer, R.K. (Eds). Westview Press / Boulder and London, 435 p.

Fröhle K. & Roces F. 2012. The determination of nest depth in founding queens of leaf-cutting ants (*Atta vollenweideri*): idiothetic and temporal control. **Journal of Experimental Biology** 10: 1642-1650.

Fujihara, R.T., Camargo, R.S., Forti, L.C. 2012. Lipid and energy contents in the bodies of queens of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae): pre-and postnuptial flight. **Revista Brasileira de Entomologia**, 56: 73-75.

Hebling M.J.A., Penteado C.H.S., Mendes E.G. 1992. Respiratory regulation in workers of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908. Comp. **Biochem. Physiol.** 101A: 319-322.

Heinze, J. & Tsuji K. 1995. Ant reproductive strategies. **Researches on Population Ecology** 37: 135-149.

Keller, L. & Passera, L. 1989. Size and fat content of gynes in relation to mode of colony founding in ants (Hymenoptera: *Formicidae*). **Oecologia** 80, 236-240.

Macieira, J.D.; Proni, E.A. 2005. Influência da temperatura na taxa respiratória de abelhas forrageiras *Trigona spinipes* (Fabricius) (Hymenoptera, Apidae, Meliponina) durante períodos de verão e inverno. **Revista Brasileira de Zoologia** 22 (4): 1159-1163.

Mintzer, A. 1990. Foundress female weight and cooperative foundation in *Atta* leafcutting ants. In: VANDER MEER, R.K. et al., (Eds.). **Applied myrmecology: a world perspective**. Boulder: Westview, p.211-219.

Nielsen M.G. & Christian K.A. 2007. The mangrove ant, *Camponotus anderseni*, switches to anaerobic respiration in response to elevated CO₂ levels. **Journal Insect Physiology** **53**: 505-508.

Nielsen M.G., Christian K., Birkmose D. 2003. Carbon dioxide concentrations in the nests of the mud-dwelling mangrove ant *Polyrhachis sokolova* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Australian Journal Entomology** **42**: 357-362.

Nielsen M.G., Christian K., Henriksen P.G., Birkmose D. 2006. Respiration by mangrove ants *Camponotus anderseni* during nest submersion associated with tidal inundation in Northern Australia. **Physiological Entomology** **31**: 120-126.

Pereira-Da-Silva, V. 1979. Dinâmica populacional, biomassa e estrutura dos ninhos iniciais de *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera: Formicidae) na região de Botucatu, SP; Tese UNESP, Botucatu.

Schilman, P.E.; Roces, F. Energetics of locomotion and load carriage in the nectar feeding ants, *Camponotus rufipes*. **Physiological Entomology**, 30, 332-337, 2005.

Schilman, P.E. & Roces, F. 2008. Haemolymph sugar levels in a nectar-feeding ant: dependence on metabolic expenditure and carbohydrate deprivation. **J. Comp. Physiol.** **178**: 157-165.

Seal, J.N. & Tschinkel, W.R. 2007. Energetics of newly-mated queens and colony founding in the fungus-gardening ants *Cyphomyrmex rimosus* and *Trachymyrmex septentrionalis* (Hymenoptera: Formicidae). **Physiological Entomology** **32**, 8-15.

Wilson, E.O. 1971. **The insect societies**. Cambridge: Harvard University. 548p.

Tabela 1. Desenvolvimento de colônias iniciais de *Atta sexdens rubropilosa* mantidas em laboratório (média e desvio padrão, respectivamente).

Semanas/dias	1 (7)	2 (14)	3 (21)	4 (28)	5 (35)	6 (42)	7 (49)	8 (56)	9 (63)	10 (70)
Ovo	32,86	79,90	114,02	77,66	67,72	58,89	40,30	35,76	29,68	44,78
	9,67	17,96	31,23	29,26	23,71	20,70	16,54	16,95	18,85	18,28
Larva				28,02	47,22	55,78	47,14	39,14	31,18	35,88
				9,73	13,81	21,61	15,97	20,00	15,40	18,29
Pupa							18,47	32,15	30,21	36,73
							7,34	13,48	9,48	14,50
Adulto									12,81	27,12
									5,27	11,38

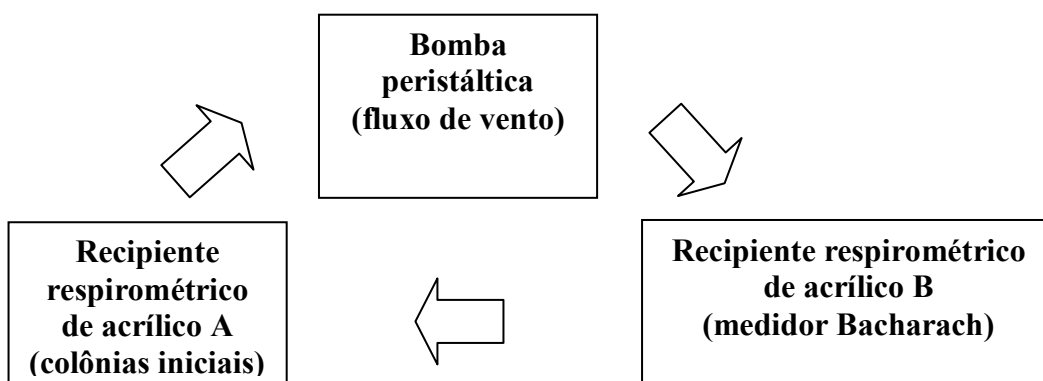


Figura 1. Fluxograma do sistema respirométrico, onde recipiente respirométrico de acrílico A (colônia inicial). Recipiente respirométrico de acrílico B – sensor de CO₂

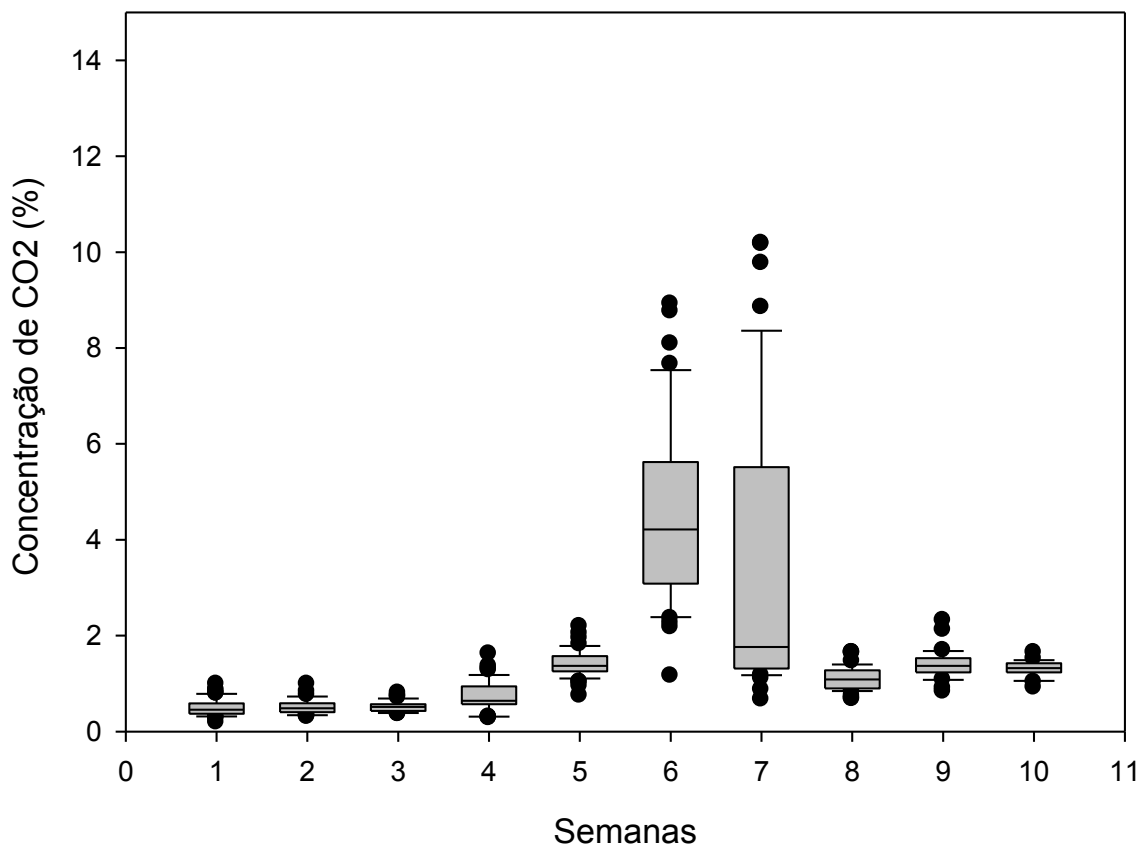


Figura 2. Concentração de CO₂ durante as 10 semanas de fundação claustral de *Atta sexdens rubropilosa*; Dados são média, quartis e desvio padrão. Letras iguais diferentes (sem e com diferença estatística), pelo teste de comparação múltipla pareada de Student-Newman-Keuls ($P < 0,050$). Pontos em negro são *outliers*.

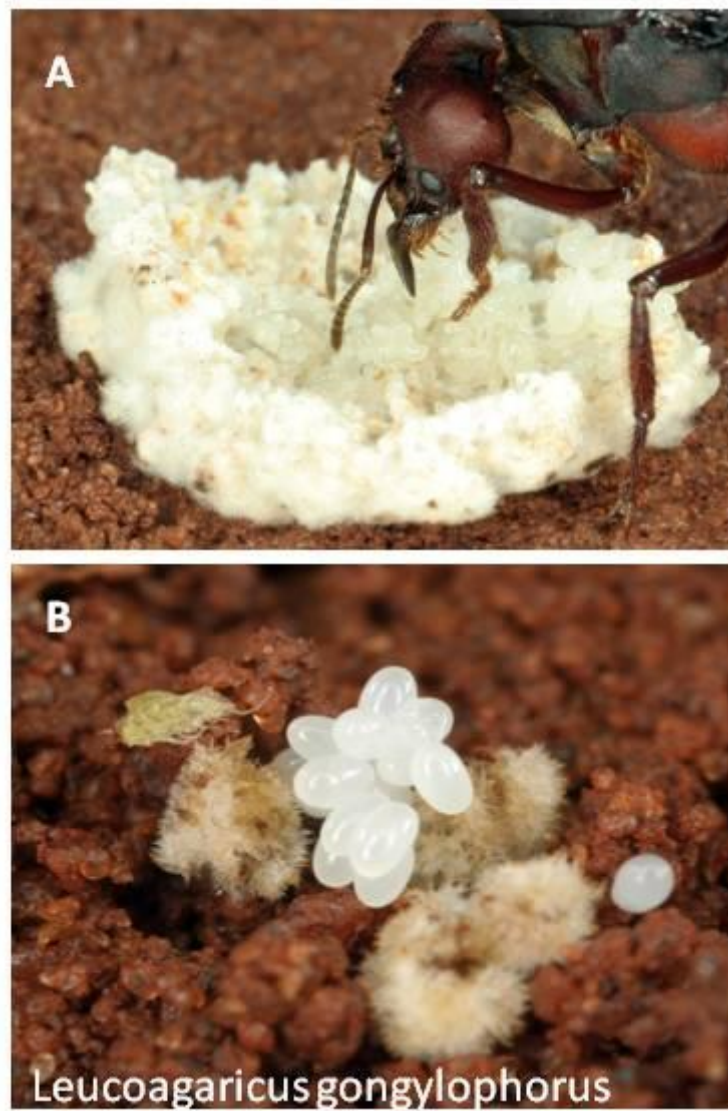


Figura 3. Cuidado da rainha de *Atta sexdens rubropilosa* com a prole e o jardim de fungo (A). Detalhe do fungo simbiote (*Leucoagaricus gongylophorus*) com a primeira postura da rainha (B).

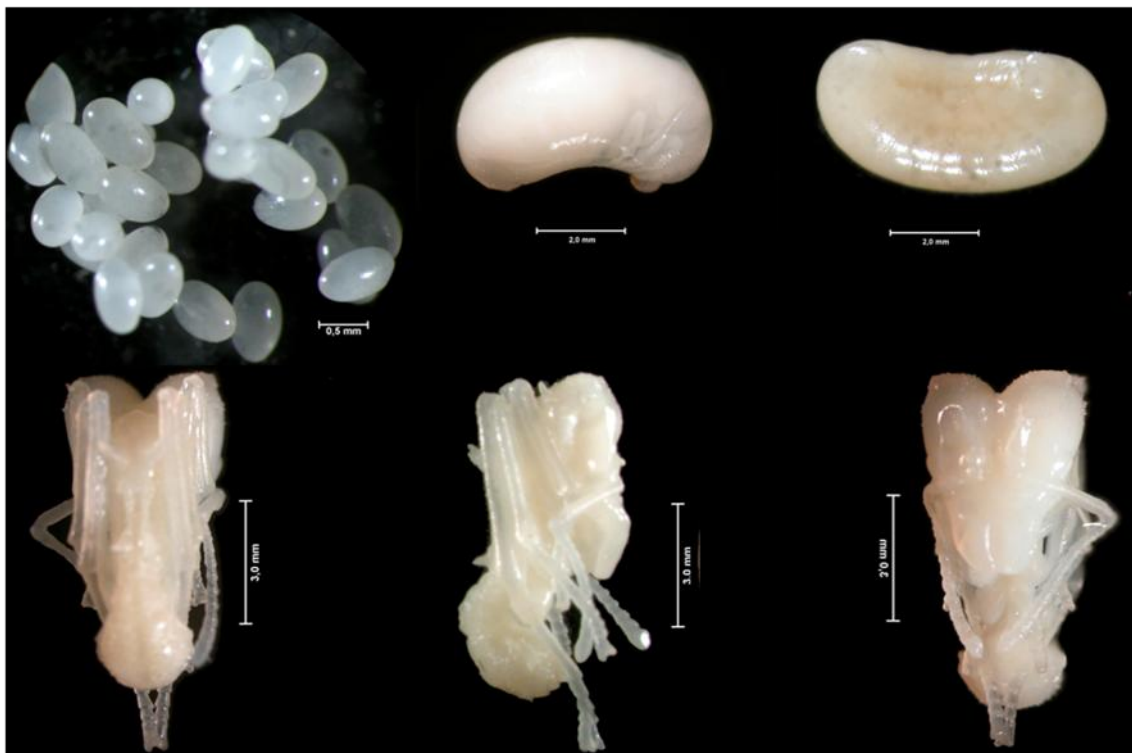


Figura 4. Imaturos de *Atta sexdens rubropilosa*: ovo, larva e pupa, contabilizados durante 10 semanas de experimentação.

CAPÍTULO 3 - CONTEÚDO DE PROTEÍNA EM RAINHAS DE FORMIGAS CORTADEIRAS: ANTES DO VOO NUPCIAL E PÓS FASE CLAUSTRAL

Revista Brasileira de Entomologia

Resumo

O estudo determinou o teor de proteína bruta das rainhas de *Atta sexdens* antes do voo nupcial e após a fase claustral em colônias de laboratório e campo. A hipótese é que a proteína seja utilizada para a sobrevivência da rainha e desenvolvimento inicial da colônia durante a fase claustral. Adicionalmente, foi mensurado a morfologia dos ninhos, biomassa viva e população de adultos em ninhos de campo. A proteína bruta foi determinada pela digestão do material orgânico por meio do ácido sulfúrico, em altas temperaturas. O teor médio de proteína bruta foi de $123,23 \pm 11,20$ mg para as fêmeas antes do voo nupcial e $70,44 \pm 12,21$ mg para as rainhas após a fase claustral em laboratório. As rainhas após a fase claustral em campo tinha $55,90 \pm 9,18$ mg de proteína bruta. Em relação a perda de proteína bruta em função do tempo de clausura, as rainha em condições de laboratório perderam $52,79$ mg e as de campo $67,33$ mg em comparação as fêmeas antes do vôo nupcial. O peso da rainha de campo ($256,4 \pm 36,3$ mg) e a biomassa da colônia ($13,02 \pm 9,12$ g) apresentou uma correlação linear positiva, porém, não foi verificada correlação entre a biomassa e a profundidade da colônia ($13,11 \pm 3,82$ cm). Como esperado, os resultados suportam a hipótese que a proteína é utilizada para a sobrevivência da rainha e desenvolvimento inicial da colônia, pelo fato da redução do teor de proteína bruta em função do tempo de clausura. Nosso estudo é o primeiro a contribuir ao conhecimento da dinâmica do conteúdo de reserva proteica em rainhas de formigas cortadeiras durante a fase claustral.

Palavras-chave: *Atta sexdens*; ninho; formigas cortadeiras, teor de proteína, fase claustral.

Abstract

This study evaluated the crude protein content of queens of *Atta sexdens* before the nuptial flight and after the claustral phase in laboratory and field colonies. The hypothesis was that protein is used for survival of the queen and for early colony growth during the claustral phase. Additionally, the nest morphology, live biomass and adult population of field colonies were evaluated. Crude protein was determined by digestion of the organic material with sulfuric acid at high temperatures. The mean crude protein content was 123.23 ± 11.20 mg for females before the nuptial flight and 70.44 ± 12.21 mg for laboratory-reared queens after the claustral phase. The post claustral crude protein content of field-collected queen was 55.90 ± 9.18 mg. With respect to the loss of crude protein as a function of duration of the claustral phase, laboratory-reared queens lost 52.79 mg and field-collected queens lost 67.33 mg compared to females before the nuptial flight. A positive linear correlation was observed between the weight of field-collected queens (256.4 ± 36.3 mg) and colony biomass (13.02 ± 9.12 g), but there was no correlation between biomass and nest depth (13.11 ± 3.82 cm). As expected, the present results support the hypothesis that protein is used for survival of the queen and for early colony growth, as demonstrated by the reduction in crude protein content as a function of duration of the claustral phase. To our knowledge, this is the first study to provide data of the dynamics of protein reserves in leaf-cutting ant queens during the claustral phase.

Keywords: *Atta sexdens*, nest, leaf-cutting ants, protein content; claustral phase.

1 Introdução

A fundação geralmente é claustral em formigas cortadeiras, exceto para *A. cephalotes* que apresenta fundação semi-claustral (Weber, 1972). As rainhas dependem das suas reservas corporais para manter suas atividades até que as primeiras operárias comecem o forrageamento (Hölldobler & Wilson, 1990). As rainhas são maiores devido à necessidade de armazenamento de lipídeos, carboidratos e proteínas para as atividades durante a fase claustral (Boomsma & Isaaks 1985; Brown & Bonhoeffer 2003; Keller & Passera 1989; Seal 2009; Seal & Tschinkel 2007). O voo nupcial, a escavação do ninho e a fase claustral demandam um gasto excessivo de tempo e energia pela rainha. Com relação a isso, pouco é conhecido sobre como as rainhas gastam esses recursos energéticos para o sucesso da fundação do ninho.

O voo nupcial envolve um consumo energético grande, como já se sabe em alados de *Atta sexdens* e *Formica lugubris*, observado por Jutsum & Quinlan (1978) e Passera et al., (1989). Os autores verificaram que 21 % do peso seco dos alados é carboidrato, e esse é totalmente consumido após o voo nupcial. Quando as rainhas de *Atta sexdens* descem ao solo, retiram suas asas e iniciam a fundação da colônia.

A partir desses estudos, pode-se assumir que o primeiro recurso energético a ser esgotado no voo nupcial é a reserva de carboidratos. Lipídeos e proteínas são de degradação mais lenta quando comparado com os carboidratos, poupando essas reservas para atividades que seguem após o voo nupcial. Provavelmente, antes de partirem do ninho de origem, machos e fêmeas estão bem nutridos e prontos para o acasalamento. As rainhas de *Atta sexdens* têm aproximadamente 40% de sua massa corporal composta em lipídeos (Seal, 2009, Fujihara et al., 2012), e possuem reservas energéticas suficiente para manter a sua taxa de produção de prole alta por várias semanas (Camargo et al., 2011). Em fato, as rainhas perdem cerca de 40% da sua massa corporal após 60 dias (Della Lucia et al., 1995), atingindo sua massa corporal mínima, antes que as primeiras operárias comecem a forragear. Quando forrageamento é iniciado, a rainha recupera a sua massa corporal, devido a alimentação dentro da colônia (Della Lucia et al., 1990). Posteriormente, as rainhas recuperam seu peso e reservas lipídicas, com até 6,4 % de gordura aos 12 meses (Camargo & Forti, 2013). Desta forma, a produção da prole depende das reservas corporais (lipídeos do corpo gorduroso e proteína dos músculos alares), pois a rainha não se alimenta

durante o período de fundação (Fowler et al., 1986). Todavia, não se sabe quanto de proteína é metabolizada durante a fase claustral.

Dado ao exposto, nós hipotetizamos que a proteína é utilizada para a sobrevivência da rainha e desenvolvimento inicial da colônia durante a fase claustral. Assim, foi determinado o teor de proteína bruta das rainhas antes do voo nupcial e após a fase claustral em colônias em laboratório e em campo. Adicionalmente, em campo foram estudadas a morfologia dos ninhos, biomassa viva e população de adultos.

2 Material e Métodos

Coletando fêmeas de *Atta sexdens rubropilosa* antes do voo nupcial e após a fase claustral

Foram coletadas fêmeas de *A. sexdens rubropilosa* em um ninho com terra solta antes do voo nupcial. Os insetos (N=40) foram levados para o laboratório e mortos imediatamente para ser realizada a análise de proteína. As fêmeas acasaladas (pós voo nupcial) foram coletadas após perderem as asas e começarem a fundar a colônia (N=20). Após a coleta, as rainhas foram colocadas em recipientes plásticos com 11 cm de diâmetro, 8 cm de altura, contendo 1 cm de gesso no fundo, para manter umidade. As rainhas foram transportadas até o Laboratório de Insetos Sociais (Laboratório de Insetos Sociais –Praga), FCA/UNESP – Botucatu, SP, Brasil.

Após 4 meses do voo nupcial, foram escavados ninhos iniciais (N=22) em campo em uma área florestal. Estes foram coletados e medidas da morfologia de seu ninho foram feitas: comprimento do túnel e dimensões da câmara (comprimento, largura e altura). Em laboratório, foi realizada a pesagem da biomassa (jardim de fungo, ovos, larvas, pupas e adultos), com posterior censo da população adulta.

Determinação de Proteína Bruta

As rainhas foram pesadas e secas em tubo de digestão de 300 ml. Foi adicionada uma medida padronizada de mistura catalisadora ($K_2SO_4 + CuSO_4$; 10:1) e 3 mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi levada ao bloco digestor, elevando gradualmente até a temperatura de 400°C. O extrato com a coloração verde água transparente foi refrigerado e

levado a titulação. Posteriormente, foi adicionado o volume padrão de NaOH (15 mL) no tubo e iniciou-se o aquecimento. O tubo foi colocado em um Erlenmeyer com 10 mL de ácido bórico 1%, com indicadores na saída do destilador. A extremidade da saída foi imersa em ácido bórico. Aguardou-se atingir um volume de 50 mL destilado, então foi retirado do aquecimento. O volume do Erlenmeyer foi titulado com ácido sulfúrico a 0,05 N. Foi titulado até a mudança de cor, e anotado o volume do ácido utilizado. O cálculo da proteína bruta foi feita pela fórmula: $\%N = ((14 * 0,05 * 100) / 100) * (\text{Vol.H}_2\text{SO}_4 - \text{Vol.Branco})$, sendo 14= equivalente do nitrogênio; 0,05= normalidade do ácido sulfúrico; 100=100% (para expressar o resultado em porcentagem); 100= massa utilizada (em miligramas); Vol.H₂SO₄= volume de ácido consumido até o ponto de viragem; Vol.Branco= volume de ácido consumido até o ponto de viragem do branco. A porcentagem de proteína bruta (PB)=%N*6,25. O método para determinar a proteína bruta foi Kjeldahl (Kjeldahl 1883).

3 Análise Estatística

Os teores de proteína das rainhas antes do voo nupcial e pós fase claustral (laboratório e campo) foram comparados pelo teste t ($\alpha=0,05$). Adicionalmente, foi realizada uma correlação linear de Pearson entre o peso da rainha, biomassa e profundidade do ninho. As análises e gráficos foram realizados no programa BioStat 5.0.

4 Resultados

O teor médio de proteína bruta foi de $123,23 \pm 12,21$ mg para as fêmeas antes do voo nupcial (massa seca= $239,55 \pm 36,0$ mg) e $70,44 \pm 12,21$ mg para as rainhas após a fase claustral em laboratório (massa seca= $95,94 \pm 20,3$ mg), sendo detectado diferenças entre elas (teste t, $t=-10.0735$, g.l.=18, $p<0.0001$) (Figura 1). Quando se compara as fêmeas antes do voo nupcial com as rainhas após a fase claustral em campo (massa seca= $76,70 \pm 11,5$ mg; proteína bruta= $55,90 \pm 9,18$ mg), constata-se diferenças significativas (teste t, $t=-14.7019$, g.l.=18, $p<0.0001$) (Figura 1). Entretanto, não se detectou diferenças significativas entre as rainhas após a fase claustral em laboratório e campo (teste t, $t=-3.0107$, g.l.=18, $p=0.0075$).

A porcentagem de proteína bruta em relação a massa corporal total, é de 74,4 % para as rainhas em laboratório e 59,1 % para as rainhas de campo pós fase claustral, e de 51,4% para as fêmeas antes do voo nupcial. Em relação a perda de proteína bruta em

função do tempo de clausura, as rainha em condições de laboratório perderam 52,79 mg e as de campo 67,33 mg em comparação as fêmeas antes do voo nupcial.

Existiu uma correlação positiva com o peso da rainha de campo ($256,4 \pm 36,3$ mg) e a biomassa da colônia ($13,0271 \pm 9,1227$ g) (Correlação Linear de Pearson, $r = 0.7951$, $gl=20$, $p < 0.0001$) (Figura 2). Foi verificada correlação negativa entre a biomassa e a profundidade da colônia ($13,11 \pm 3,82$ cm) (Correlação Linear de Pearson, $r = -0.3438$, $gl=20$, $p = 0.1171$). Os ninhos continham em média $650,5 \pm 447,9$ operárias, com dimensões de câmara: comprimento: $8,14 \pm 2,29$ cm, largura: $7,54 \pm 2,07$ cm e altura: $7,54 \pm 2,07$ cm.

5 Discussão

Os resultados corroboram a hipótese que a proteína é utilizada para a sobrevivência da rainha e desenvolvimento inicial da colônia, pelo fato da redução do teor de proteína bruta em função do tempo de clausura. As rainhas em condições de laboratório perderam 52,79 mg e as de campo 67,33 mg em comparação às fêmeas antes do voo nupcial (Figura 1). Provavelmente existe uma regulação energética durante essa fase de reprodução das formigas cortadeiras, primeiramente os carboidratos utilizados como recurso energético para o voo nupcial (Jutsum & Quinlan, 1978) e escavação do ninho (Camargo et al., 2013 b), em segundo momento, os lipídeos são utilizados para produção de ovos (reprodutivos e tróficos), cuidar da prole e jardim de fungo autolimpeza (Augustin, 2011, Camargo et al., 2013 a). Adicionalmente, a proteína bruta é mobilizada para diversos fins, decaindo em função do tempo como verificado no presente estudo. Logo após o voo nupcial, a rainha desce ao solo e remove as suas asas, a partir de então, a musculatura alar passa por um processo de reabsorção que começa a se evidenciar no primeiro dia após a fecundação, sendo o maior grau de reabsorção nos 45 dias (Cruz Landin & Silva de Moraes, 1979). Os autores afirmam que reabsorção está relacionado com a atividade secretora da corpora allata, além do processo de vitelogênese.

De acordo com Fowler et al., (1986), a produção de ovos pela rainha durante as 3 ou 4 meses de vida da colônia está correlacionada com o ciclo da atividade dos corpora allata. Os corpora allata são responsáveis pela síntese de hormônio juvenil, que atua na oviposição das rainhas fundadoras, como verificado em fêmeas que sofreram alatectomia (Barker, 1978). O hormônio juvenil atua no corpo gorduroso, iniciando a síntese de vitelogenina (são glicolipofosfoproteínas, com lipídeos e carboidratos em sua composição)

que será depositado no ovócito (Chapman, 1998). Desta forma, a produção da prole depende das reservas corporais (lipídeos do corpo gorduroso e proteína da massa muscular alares), pois a rainha não se alimenta durante o período de fundação claustral.

Considerando a porcentagem de proteína bruta em relação a massa corporal total, é de 74,4 % para as rainhas de laboratório e 59,1 % para as rainhas de campo pós fase claustral, e de 51,4% para as fêmeas antes do voo nupcial. Nota-se que a composição corporal mudou drasticamente, ou seja, no início havia uma grande quantidade de lipídeos e proteínas, portanto distribuído de uma forma mais igualitária. O teor de lipídios em rainhas de *A. sexdens* é alto durante a fase inicial de fundação da colônia, com $36,50 \pm 2,48\%$ de gordura corporal no momento do voo nupcial, diminuindo para $9,17 \pm 5,21\%$ cerca de 3 meses depois (Camargo & Forti 2013). Ao decorrer do tempo, os lipídeos reduzem em uma proporção maior do que o conteúdo proteínas em relação à massa corporal total. Cruz- Landin & Silva de Moraes (1979) sugerem que o corpo gorduroso é totalmente consumido até os 60 dias para ser mobilizado a vitelogênese, fase em que o ovário está em seu maior crescimento, uma vez que a rainha de *Atta sexdens rubropilosa* não se alimenta.

Além disso, a massa da rainha de campo apresentou uma correlação positiva com a biomassa da colônia e peso da rainha, ou seja, rainhas mais pesadas apresentam uma maior oviposição e conseqüentemente, uma maior população. Essa correlação positiva se reflete na população, que atingiu aproximadamente em média $650,5 \pm 447,9$ operárias. A variabilidade de população é grande em colônias de 4 meses, como observado por Camargo et al., (2013b), com forte influencia do ambiente em seu habitat natural (Camargo et al., (2013 b); Viera-Neto & Vasconcelos, (2010); Seal & Tschinke.I, (2007), ou seja, com disponibilidade de recursos palatáveis as forrageiras, e conseqüentemente, um aumento da biomassa fungica responsável pelo aumento da população e peso da rainha (Camargo et al., 2013b).

A qualidade do alimento é extremamente importante, exemplificando, Camargo et al., (2008) ofertaram apenas um único vegetal por dois meses a colônias iniciais de *Atta sexdens rubropilosa*. Dentre as espécies vegetais, foi ofertado *Acalypha* spp., que promoveu o maior crescimento populacional, peso da rainha, postura e alta produção de estáfilas (hifas intumescidas do jardim de fungo, fonte primária de alimento às larvas (Bass & Cherrett, 1996). Mais uma explicação da grande variabilidade populacional de nosso estudo (Figura 2).

As dimensões da câmara (comprimento: $8,14 \pm 2,29$ cm, largura: $7,54 \pm 2,07$ cm e altura: $7,54 \pm 2,07$ cm) foram maiores àquelas verificadas por Camargo & Forti (2013), para a mesma espécie. Esse fato se deve às colônias apresentarem uma maior biomassa fungica, pois é conhecido que o jardim de fundo atua como um molde tridimensional para a regulação do tamanho da câmara em formigas cortadeiras (Fröhle & Roces, 2009).

Outro resultado interessante foi a não correlação entre a biomassa fungica ($13,0271 \pm 9,1227$ g) e a profundidade da colônia ($13,11 \pm 3,82$ cm), provavelmente pela profundidade ideal em que a câmara estava.

Em conclusão, o estudo com *Atta sexdens rubropilosa* determinou a proteína bruta das rainhas antes do voo nupcial e após a fase claustral em colônias de laboratório e campo, bem como, a morfologia dos ninhos, biomassa viva e população de adultos, corroborando a hipótese que a proteína é utilizada para a sobrevivência da rainha e desenvolvimento inicial da colônia durante a fase claustral.

6 Referências

- Bass, M. & Cherrett, J.M. 1996. Leaf-cutting ants (*Formicidae*, Attini) prune their fungus to increase and direct its productivity. **Functional Ecology** **10**: 55–61.
- Barker, J.F. 1978. Neuroendocrine regulation of oocyte maturation in imported fire ant *Solenopsis invicta*. **General and Comparative Endocrinology** **35**: 234–237.
- Boomsma, J.J. & Isaaks, J.A. 1985. Energy investment and respiration in queens and males of *Lasius niger* (Hymenoptera: Formicidae). **Behavioral Ecology and Sociobiology** **18**: 19–27.
- Brown, M.J.F. & Bonhoeffer, S. 2003. On the evolution of claustral colony founding in ants. **Evolutionary Ecology Research** **5**: 305–313.
- Camargo, R.S.; Forti, L.C.; Lopes, J.F.S. & Matos, C.A.O. 2008. Growth of population and fungus garden of *Atta sexdens rubropilosa* in response to foraged substrate. **Sociobiology** **52**: 633–643.
- Camargo, R.S., Forti, L.C., Fujihara, R.T. & Roces, F. 2011. Digging effort by leaf-cutting ant queens (*Atta sexdens rubropilosa*) and its effects on survival and colony growth during the claustral phase. **Insectes Sociaux** **58**:17–22.
- Camargo, R.S. & Forti, L.C. 2013. Queen lipid content and nest growth in the leaf cutting ant (*Atta sexdens rubropilosa*) (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Natural History** **47**: 65–73.
- Camargo, R.S., Lopes, J.F.S., Forti, L.C., Somera, A. & Bacci Jr, M. 2013a. Energy substrate used by leaf cutting ant workers during nest excavation. **Revista Brasileira de Entomologia** **57**: 397–400.

Camargo, R.S., Fonseca, J.A., Lopes, J.F.S. & Forti, L.C. 2013b. Influência do ambiente no desenvolvimento de colônias iniciais de formigas cortadeiras (*Atta sexdens rubropilosa*). **Ciência Rural** **43**: 1375–1380.

Chapman, R.F. 1998. **The Insects: Structure and Function**. 4th ed. Cambridge, Cambridge University Press, 788 p.

Cruz-Landin, C. & Silva de Moraes, R.L.M. 1979. Flight muscle degeneration in *Atta sexdens* queens (Hym., Formicidae): Studies under electron microscope. **Cytobios** **24**: 13–23.

Della Lucia, T.M.C., Moreira, D.D.O., Oliveira, M.A. & Araujo, M.S. 1995. Perdas de peso de rainhas de *Atta* durante a fundação e o estabelecimento das colônias. **Revista Brasileira de Biologia** **55**: 533–536.

Della Lucia, T.M.C., Vilela, E.F., Moreira, D.D.O., Bento, J.M.S. & Dos Anjos, N. 1990. Egg-laying in *Atta sexdens rubropilosa*, under laboratory conditions, p. 173–179. In: Vander Meer, R.K., Jaffe, K. & Cedeno, A. (eds.). **Applied Myrmecology—A World Perspective**. Boulder, Westview Press, 741 p.

Fröhle, K. & Roces, F. 2009. Underground agriculture: the control of nest size in fungus-growing ants, p. 95–104. In: Theraulaz, G., Solé, R & Kuntz, P. (eds.). **From insect nest to human architecture**. Venice, European Centre for Living Technology, 454 p.

Fowler, H.G., Pereira-da-Silva, V., Forti, L.C. & Saes, N.B. 1986. Population dynamics of leaf-cutting ants: a brief review, p. 123–145. In: Lofgren, C.S. & Vander Meer, R.K. (eds.). **Fire ants and leaf-cutting ants: Biology and management** Westview Press, 435 p.

Fujihara, R.T., Camargo, R.S. & Forti, L.C. 2012. Lipid and energy contents in the bodies of queens of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae): pre- and post-nuptial flight. **Revista Brasileira de Entomologia** **56**: 73–75.

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

Jutsum, A.R. & Quinlan, R.J. 1978. Flight and substrate utilization in laboratory-reared males of *Atta sexdens*. **Journal Insect Physiology** **24**: 821–825.

Keller, L. & Passera, L. 1989. Size and fat content of gynes in relation to the mode of colony founding in ants (Hymenoptera; Formicidae). **Oecologia** **80**: 236–240.

Kjeldahl, J. 1883. Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. **Zeitschrift für Analytische Chemie** **22**: 366–382.

Passera, L., Keller, L., Grimal, A., Chautems, D., Cherix, D., Fletcher, D.J.C., Fortelius, W., Rosengren, R. & Vargo, E.L. 1989. Carbohydrates as energy source during the flight of sexuals of the ant *Formica lugubris* (Hymenoptera: Formicidae). **Entomologia Generalis** **15**: 25–32.

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

Seal, J.N. & Tschinkel, W.R. 2007. Energetics of newly-mated queens and colony founding in the fungus-gardening ants *Cyphomyrmex rimosus* and *Trachymyrmex septentrionalis* (Hymenoptera: Formicidae). **Physiological Entomology** **32**: 8–15.

Viera-Neto, H.E. & Vasconcelos, H.L. 2010. Developmental changes in factors limiting colony survival and growth of the leaf-cutters ants *Atta laevigata*. **Ecography** **33**: 538–544.

Weber, N.A. 1972. **Gardening Ants. The Attines**. Memoirs of the American Philosophical Society 92. Philadelphia, American Philosophical Society, 146 p.

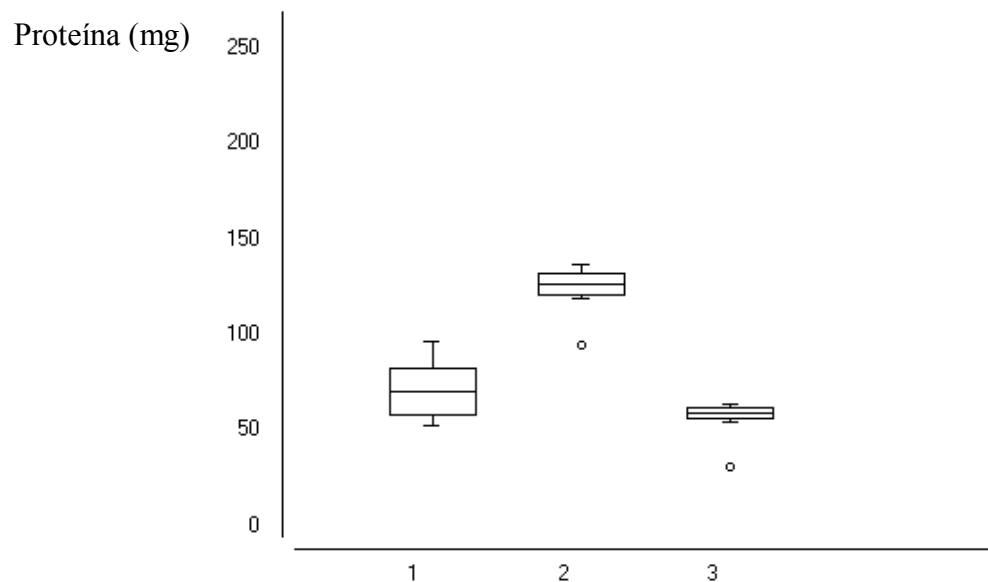


Figura 1. Massa média de proteína bruta (mg) de rainhas de *Atta sexdens rubropilosa*: 1- pós fase claustral laboratório; 2- antes vôo nupcial; 3- pós fase claustral campo; Dados são média, quartis e amplitude. Pontos vazios são *outliers*. Para estatística, vide o texto.

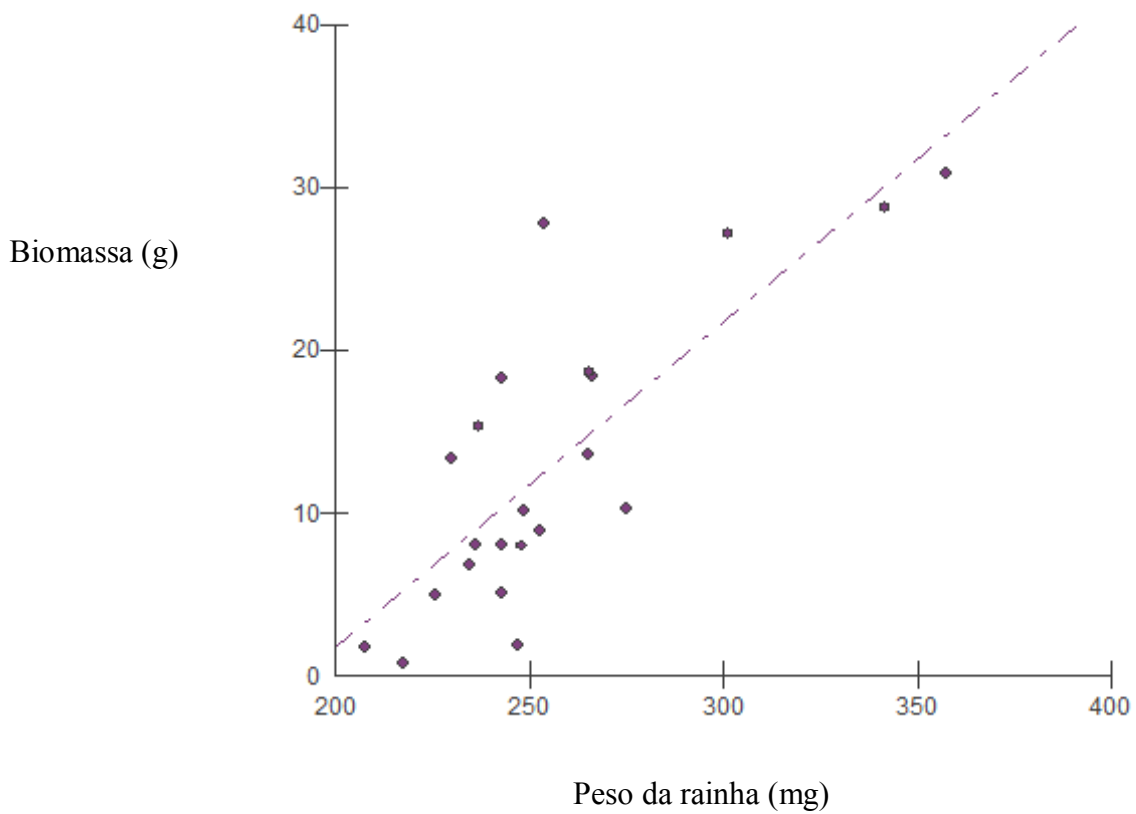


Figura 2. Peso da biomassa viva das colônias (g) e das rainhas (mg) de *Atta sexdens rubropilosa*. Correlação linear de Pearson com o peso da rainha e biomassa ($r = 0.7951$, $gl=20$, $p < 0.0001$).

5. CONCLUSÕES

O carboidrato é o principal recurso energético utilizado para o voo nupcial, para os machos e para as fêmeas de formigas cortadeiras quando escavaram mais de uma vez. Os lipídeos não são utilizados como energia para o voo das fêmeas.

A concentração de CO₂ cresce quando a população dentro do ninho aumenta, um pico foi observado na sexta e sétima semana durante a fase pupal na colônia. No entanto, sabe-se que em ninhos adultos os valores são bem mais elevados.

A proteína é utilizada para a sobrevivência da rainha e desenvolvimento inicial da colônia durante a fase claustral.