

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

PREPARAÇÃO E INCORPORAÇÃO DO SUBSTRATO EM *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) E MORFOFUNCIONALIDADE MANDIBULAR EM ESPÉCIES DE *Atta*

LAÍS CRISTINA 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 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

PREPARAÇÃO E INCORPORAÇÃO DO SUBSTRATO EM *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) E MORFOFUNCIONALIDADE MANDIBULAR EM ESPÉCIES DE *Atta*

LAÍS CRISTINA DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Forti

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

BOTUCATU – SP

Julho 2014

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

S586p Silva, Laís Cristina da, 1989-
Preparação e incorporação do substrato em *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) e morfofuncionalidade mandibular em espécies de *Atta* / Laís Cristina da Silva. - Botucatu : [s.n.], 2014
xii, 66 f. : ils. color., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2014
Orientador: Luiz Carlos Forti
Inclui bibliografia

1. Hymenoptera. 2. Substratos. 3. *Atta*. 4. Silício. 5. Mandíbula. I. Forti, Luiz Carlos. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "PREPARAÇÃO E INCORPORAÇÃO DO SUBSTRATO EM *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) E MORFOFUNCIONALIDADE MANDIBULAR EM ESPÉCIES DE *Atta*"

ALUNA: LAIS CRISTINA DA SILVA

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ CARLOS FORTI

Aprovado pela Comissão Examinadora

PROF. DR. LUIZ CARLOS FORTI

PROF. DR. ROBERTO DA SILVA CAMARGO

PROFA. DRA. ALDENISE ALVES MOREIRA

Data da Realização: 01 de agosto de 2014.

À Maria Gomes da Silva, minha avó, pelo amor e dedicação incondicionais e por tudo que representa em minha vida

OFEREÇO

DEDICO

Aos meus pais Felismina Pereira da Silva e Carlindo Gomes, pelo incentivo, apoio e confiança

Ao meu querido irmão Jean Carlos da Silva, pelas palavras de incentivo e pelos momentos de alegria compartilhados, ainda que por telefone.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Forti, pela orientação, apoio e grande contribuição para minha formação acadêmica; minha eterna gratidão.

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

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Dr. Roberto da Silva Camargo, pelos conhecimentos transmitidos e por todo o auxílio, sem o qual a realização desse trabalho seria impossível.

À Pro^a. Dr^a Aldenise Aldenise Moreira, pela sempre boa convivência e conhecimentos transmitidos.

À Prof^a. Dr^a. Tatiane Maria Rodrigues e Prof^a Dr^a Silvia Rodrigues Machado pela parceria e orientação nos estudos morfológicos realizados no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Biociências da Unesp de Botucatu.

À Stefany Cristina de Melo Silva por todo auxílio na elaboração dos cortes e descrição do material vegetal.

Aos meus colegas do Laboratório de Insetos Sociais-Pragas: Raphael Travaglini, Paula Dias, Mariana Brugger, Edypo Jacob, Nádia Caldato, David Generoso e Nilson Nagamoto, pelo apoio, pelos bons momentos compartilhados, pela amizade e companheirismo.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia- Proteção de Plantas pelos ensinamentos e contribuição profissional.

À Marylia Gabriella Silva Costa, Érika Cristina e Ivana Fernandes, pela amizade e companhia de todos os dias.

Á todos os funcionários da biblioteca ‘Paulo de Carvalho Mattos’ e da seção de Pós Graduação, pela gentileza e dedicação nos serviços prestados.

Ao João Vitor de Queiroz, pelo auxílio na tradução dos resumos e títulos originais.

Á todos os meus familiares, pela torcida.

Aos senhores Nelson Carneiro e Antônio Marcos de Lima, pelos trabalhos prestados durante a escavação dos ninhos.

Á todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS CAPÍTULO I.....	VIII
LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO I.....	IX
LISTA DE TABELAS CAPÍTULO II.....	X
LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO II.....	XI
1. RESUMO	1
2. SUMMARY.....	3
3. INTRODUÇÃO GERAL.....	5
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	8
CAPÍTULO 1- PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL E ISCAS GRANULADAS POR OPERÁRIAS DE <i>Atta sexdens rubropilosa</i> FOREL 1908 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE).....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO.....	13
MATERIAL E MÉTODOS.....	15
RESULTADOS	17
DISCUSSÃO... ..	21
REFERÊNCIAS.....	26
CAPÍTULO 2- MANDÍBULAS DAS FORMIGAS CORTADEIRAS: MORFOFUNCIONALIDADE E ASPECTOS RELACIONADOS À PREFERÊNCIA AO TIPO DE FOLHAS.....	35
RESUMO	36
ABSTRACT	37
INTRODUÇÃO	38

MATERIAL E MÉTODOS	39
RESULTADOS	42
DISCUSSÃO.....	48
REFERÊNCIAS.....	53
5. CONCLUSÕES.....	66

LISTA DE TABELAS CAPÍTULO I

Página

Tabela 1. Resíduos padronizados no contingenciamento dos comportamentos efetuados por <i>Atta sexdens rubropilosa</i> , durante a preparação e incorporação do substrato composto por disco foliar.	31
Tabela 2. Resíduos padronizados no contingenciamento dos comportamentos efetuados por <i>Atta sexdens rubropilosa</i> , durante a preparação e incorporação do substrato composto por pellets de isca granulada.	32

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO I

Página

Figura 1: Porcentagem de cada ato comportamental em <i>Atta sexdens rubropilosa</i> durante a preparação e incorporação no jardim de fungo do substrato disco foliar.....	33
Figura 2. Porcentagem de cada ato comportamental em <i>Atta sexdens rubropilosa</i> durante a preparação e incorporação no jardim de fungo do substrato isca granulada.....	34
Figura 3 Número médio e desvio padrão da frequência dos comportamentos de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> , durante o cultivo do fungo simbionte em pellet de isca granulada e disco foliar.....	35

LISTA DE TABELAS CAPÍTULO II**Página**

Tabela 1. Medidas morfométricas (média e desvio padrão) (mm) das mandíbulas e dentes de <i>Atta</i>	
<i>sexdens</i>	
<i>rubropilosa</i>	
e	
<i>Atta</i>	
<i>bisphaerica</i>	57

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO II

Página

Figura 1. A análise de discriminação linear (LDA) das espécies de formigas.....	58
Figura 2-3. Face ântero-posterior da mandíbula direita de operárias jardineiras das espécies <i>Atta bisphaerica</i> (2) e <i>Atta sexdens rubropilosa</i> (3).....	59
Figura 4-5. Face ântero-posterior da mandíbula direita de operárias generalistas de <i>Atta bisphaerica</i> (4) e <i>Atta sexdens rubropilosa</i> (5).....	59
Figura 6-7. Face ântero-posterior da mandíbula direita de operárias forrageiras de <i>Atta bisphaerica</i> (6) e <i>Atta sexdens rubropilosa</i> (7).....	60
Figura 8-9. Face ântero-posterior da mandíbula direita de soldados de <i>Atta bisphaerica</i> (8) e <i>Atta sexdens rubropilosa</i> (9).....	60
Figura 10-11. Face ântero-posterior da mandíbula de operárias forrageiras de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> com diferentes idades. Adulta sem idade determinada (10) e adulta com 1 dia de emergência (11).....	61
Figura 12-18. Secções transversais do limbo foliar de <i>Acalypha</i> sp. (12-14) e <i>Gmelina</i> sp. (15-18) coradas com Safrablau.....	62
Figura 19-24. Secções transversais do limbo foliar de <i>Citrus</i> sp. coradas com Safrablau (19-21; 23-24) e sem coloração (22).....	63
Figura 25-30. Secções transversais do limbo foliar de <i>Eucalyptus</i> sp. coradas com Safrablau.....	64
Figura 31-37. Secções transversais do limbo foliar de <i>Ligustrum</i> sp. (31-33) e de <i>Paspalum</i> sp. (34-37) coradas com Safrablau.....	65

Figura 38. Teor médio (mg Kg^{-1}) e desvio padrão de silício encontrado no material vegetal
forrageado por espécies de
Atta.....66

PREPARAÇÃO E INCORPORAÇÃO DO SUBSTRATO EM *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) E MORFOFUNCIONALIDADE MANDIBULAR EM ESPÉCIES DE *Atta*. Botucatu, 2014. 68p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: LÁIS CRISTINA DA SIVA

Adviser: LUIZ CARLOS FORTI

1. RESUMO

As espécies de formigas cortadeiras do gênero *Atta* são consideradas importantes pragas da agricultura e silvicultura brasileira, pois utilizam material vegetal como substrato para o cultivo de seu fungo simbiote, exigindo assim métodos de controle para reduzir os danos causados por sua atividade forrageira, sendo o uso de iscas tóxicas um dos mais utilizados. A associação simbiótica fornece uma constituição nutricional adequada à colônia, sendo a principal fonte alimentar para as larvas e constituinte importante da alimentação das operárias adultas. Os objetivos deste estudo foi observar o repertório comportamental de *Atta sexdens rubropilosa* durante a preparação e incorporação de dois substratos diferentes, folhas e iscas granuladas, bem como a participação de cada casta envolvida nesse processo, destacando possíveis diferenças morfológicas entre as mandíbulas de formigas cortadeiras de gramíneas e dicotiledôneas. Para tanto uma descrição detalhada das mandíbulas das operárias, da anatomia e da composição química do material vegetal forrageado pelas espécies *Atta bisphaerica* e *A. s. rubropilosa* foi elaborada, assim como um etograma evidenciando os atos comportamentais executados pelas operárias jardineiras, generalistas e forrageiras da espécie *A. s. rubropilosa*, durante o processamento e incorporação de dois diferentes substratos. Verificou-se que as espécies de *Atta* apresentam morfologia da mandíbula semelhantes, sendo observada diferença apenas dentro das castas analisadas. Em relação à descrição morfológica do material vegetal forrageado os resultados indicam que as gramíneas apresentam mais pontos lignificados, permitindo inferir que seu forrageamento e processamento exige um maior esforço das operárias e poderia levar à diferenciação nos atos comportamentais na sua preparação e incorporação no jardim de fungo. Para as 3 castas encontradas foram registrados 8 atos comportamentais, independente do substrato processado pelas operárias. O ato comportamental observado com maior frequência foi o de lambar, sendo mais frequente no substrato isca. As castas mais engajadas na execução desse comportamento foram as operárias jardineiras e generalistas. Devido à demanda de indivíduos para a execução dessa tarefa, conclui-se que esse comportamento seja importante para a dispersão do ingrediente ativo dentro da colônia.

Palavras Chaves: Hymenoptera, Substrato, *Atta*, Mandíbulas, Silício.

SUBSTRATE PREPARATION AND INCORPORATION IN *Atta sexdens rubropilosa* FOREL, 1908 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) AND MANDIBLE MORPHOLOGICAL FUNCTION IN *Atta* SPECIES. Botucatu, 2014. 68p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas. Universidade Estadual Paulista.

AUTHOR: LAÍS CRISTINA DA SILVA

ADVISER: LUIZ CARLOS FORTI

2. SUMMARY

Species of leaf-cutting ants of the genus *Atta* are important pests of agriculture and forestry Brazilian because they use plant material as substrate for the cultivation of your symbiotic fungus, thus requiring control methods to reduce the damage caused by their foraging activities. The most used are the toxic baits. The symbiotic association provides adequate nutritional constitution to the colony, the main food source for the larvae and important constituent of the diet of adult workers. The objectives of this study was observe the behavioral repertoire of *Atta* leaf cutter during preparation and incorporation of two different substrates, leaves and ant poison baits, as well as the participation of each caste involved in this process, stressing possible morphological differences between the jaws of leaf-cutting ants grasses and dicots. For a detailed description of both jaws of the workers, anatomy and chemical composition of plant material species foraged by bisphaerica *Atta* and *A. s. rubropilosa* was prepared, as well as an ethogram showing behavioral acts performed by workers' overalls, and generalist foragers of *A. s. rubropilosa* during processing and incorporation of two different substrates. It has verified that *Atta* species have similar morphology jaw. The difference was observed just inside the grapes analyzed. Regarding the morphological description of the plant material foraged, results indicate that grasses have more lignified points, it can be inferred that their foraging and processing requires a greater effort of workers and could lead to differentiation in behavioral acts in their preparation and incorporation into the fungus garden . For the three castes found eight behavioral acts were recorded, regardless of substrate processed by workers. The behavioral act more frequently observed was the licking, occurring more frequently in the bait substrate. The more engaged in performing that behavior castes were the workers bib and generalists. Due to the demand of individuals for execution that task, its possible imply that behavior is important for the dispersion of the active ingredient inside the colony.

Key Words: Hymenoptera, Substrate, Atta, Jaws, Silicon.

3. INTRODUÇÃO GERAL

As formigas representam o auge evolutivo do comportamento social nos insetos, sendo o grupo mais bem organizado e geograficamente distribuído no ambiente terrestre. Representam aproximadamente 20% de toda a biomassa animal, tendo iniciado sua diversificação há cerca de 100 milhões de anos (GRIMALDI et al., 1997). São os organismos dominantes na maioria dos ecossistemas terrestres, apresentando importantes papéis no fluxo de energia e nutrientes (REBULA, 2003).

Englobam mais de 12.000 espécies e 200 gêneros em todo o mundo (GOMEZ e ESPADALER, 2009). Entre estas, as formigas cortadeiras que pertencem à tribo Attini, subfamília Myrmicinae compreendem cerca de 256 espécies, incluídas em 16 gêneros existentes e em um gênero fóssil (*Attaichnus* Laza) (SOSA-CALVO et al., 2013). Entretanto, no Brasil as formigas dos gêneros *Atta* (as saúvas) e *Acromyrmex* (as quenquéns) têm maior importância agrícola. As formigas desses gêneros são reconhecidas, principalmente por cortarem e carregarem folhas, flores, e outras partes vegetais, que após processadas, servirão de substrato para o crescimento do fungo com o qual estabelecem uma relação simbiótica (MUELLER, 2002).

As saúvas, popularmente conhecidas como saúva-limão (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908) e saúva mata-pasto (*Atta bisphaerica* Forel, 1908)

são consideradas pragas de grande importância na agricultura, silvicultura e pecuária brasileira. Em consequência dos prejuízos causados por essas espécies de saúvas, muitos trabalhos são desenvolvidos para se encontrar métodos de controle mais eficazes (FORTI et al., 2000; ZANETTI, et al., 2003).

A preocupação com o controle de formigas cortadeiras é constante, sendo que a principal técnica utilizada se dá através do emprego de formicidas em forma de iscas granuladas (BOARETTO e FORTI, 1997; FORTI et al., 2000). Entretanto, algumas barreiras dificultam o controle das formigas cortadeiras. Várias características biológicas e comportamentais tornam esses insetos eficientes no corte e transporte de folhas. Essas mesmas características, constituem uma barreira para a eficiência de seu controle, para a utilização de novas moléculas e de métodos alternativos afim de diminuir as perdas causadas pela sua atividade forrageira (MARINHO et al., 2006).

Uma dessas características é a associação simbiótica estabelecida, durante anos de coevolução, entre as formigas e o fungo *Leucoagaricus gongylophorus* (Möller) Singer (MUELLER et al., 2001). Onde, após a seleção e o forrageamento do material vegetal, as formigas estabeleceram comportamentos executados exclusivamente durante o processo de preparação e incorporação desse material no jardim de fungo.

O processo de preparação do substrato é complexo e consiste em um sistema de divisão do trabalho. Cada tarefa é executada por trabalhadores de diferentes tamanhos (polimorfismo). Em *Atta*, o polimorfismo das operárias conduz a uma distinta divisão de trabalho entre subcastas físicas, nas quais as maiores operárias são especializadas para a defesa da colônia, operárias médias forrageiam as espécies vegetais e as operárias menores são especializadas para trabalharem dentro do jardim de fungo (WILSON, 1983). Além disso, dentro de cada casta física, papéis são divididos com base na idade e estima-se que seis castas de operárias participam da preparação do substrato nas

formigas cortadeiras. Há também um porcionamento das tarefas que são realizados por diferentes operárias, de modo que o material de planta é passado de uma operária para outra até ser incorporado. Assim, o processo de preparação assemelha-se a uma linha de montagem, onde cada operária é responsável por uma parte do processo (HOLLDOBLE e WILSON, 1990; ANDRADE et al., 2002; DINIZ e BUENO, 2010).

Diante disso, afirma-se que a contaminação da colônia por inseticidas está intimamente relacionada com o processamento do substrato pelas operárias (ANDRADE et al., 2002). Sendo assim o principal objetivo dessa dissertação foi descrever e analisar o repertório comportamental executado por operárias de *A. sexdens rubropilosa* durante a preparação e incorporação de diferentes substratos e estudar possíveis diferenças na morfologia das mandíbulas de operárias das castas de formigas cortadeiras de gramíneas e dicotiledôneas.

Para tanto, algumas hipóteses que foram levantadas e testadas de acordo com cada capítulo dessa dissertação: *i)* Existem diferenças durante o processamento de folhas e iscas por operárias de *A. s. rubropilosa*, e nas classes de tamanho envolvidas nos comportamentos executados; *ii)* Existem diferenças morfológicas nas mandíbulas das operárias de formigas cortadeiras, e essas diferenças estariam relacionadas a sua função no interior do ninho.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, A. P. P. et al. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. *Sociobiology* 40(2): 293-306, 2002.
- BOARETTO, M.A.C. & FORTI, L.C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. *Série Técnica, IPEF* 11(30): 31-46. 1997.
- DINIZ, E. A.; BUENO, O. C. Evolution of Substrate Preparation Behaviors for Cultivation of Symbiotic Fungus in Attine Ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior* 23: 205-214, 2010.
- FORTI, L.C.; ANDRADE, A.P.P.; RAMOS, V.M. Biologia e comportamento de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera, Formicidae): implicações no seu controle. **Série Técnica IPEF**, v.13, p.103-114, 2000.
- FUJIHARA, R. T.; SILVA, M. S.; FORTI, L. C. Manejo de formigas cortadeiras. In: BALDIN, E. L. L et. al., (Org.). **Tópicos especiais em proteção de Plantas**. FEPAF, 2013. cap. 10, p 102-116.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The ants**. Cambridge, Harvard University Press, 733p., 1990.
- GOMEZ, K.; ESPADALER, X. **Família formicidae: introdução**. Disponível em: <http://www.hormigas.org/xSubfamilias/Famformicidae.htm>. Acesso em: 24 jun.
- GRIMALDI, D.A.; AGOSTI, D.; CARPENTER, J.M. 1997. New and rediscovered primitive ants (Hymenoptera: Formicidae) in Cretaceous amber from New Jersey, and their phylogenetic relationships. *American Museum Novitates*, 3208, 1-43.
- MARINHO, C. G. S.; DELLA LUCIA, T. M. C.; PICANÇO, M. C. Fatores que dificultam o controle das formigas cortadeiras. *Bahia Agrícola, Salvador*, 7(2): 18-21, 2006.
- MUELLER, U. G. Ant versus fungus versus mutualism: Ant-cultivar conflict and the deconstruction of the attine ant-fungus symbiosis. *American Naturalist* 160:67-98, 2002.
- MUELLER, U. G. et al. 2001. The origin of the attine ant-fungus symbiosis. *Quarterly Review of Biology* 76:169-197.
- REBULA, C. A.; MORAIS, H. C.; ALVES, F. S. Estudo de altas concentrações de alumínio na dieta de *Atta sexdens* aspectos da dinâmica colonial. In: **CONGRESSO DE Ecologia do Brasil**, 6, Fortaleza, **Resumos**, p.406-407, 2003.
- SOSA-CALVO, J. et al. *Cyatta abscondita*: Taxonomy, evolution, and natural history of a new fungus-farming ant genus from Brazil (2013) *PLoS ONE*, 8 (11), art. no. e80498
- ZANETTI, R. et al. Eficiência de isca formicida aplicada sobre o monte de terra solta de ninhos de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Revista Arvore* 27(3): 410-407. 2003

WILSON, E. O. (1983). Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera, Formicidae: *Atta*). IV: Colony ontogeny of *A. cephalotes*. Behavioral Ecology and Sociobiology 14: 55-60.

**CAPÍTULO 1- PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL E ISCAS
GRANULADAS POR OPERÁRIAS DE *Atta sexdens rubropilosa* FOREL 1908
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE)**

CAPÍTULO 1- PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL E ISCAS GRANULADAS POR OPERÁRIAS DE *Atta sexdens rubropilosa* FOREL 1908 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)

Sociobiology

Resumo

Formigas cortadeiras são insetos cultivadores obrigatórios de um fungo simbiote do qual se alimentam, *Leucoagaricus gongylophorus*, e a manutenção deste jardim de fungo é realizada preferencialmente com folhas verdes, mas também outras partes de origem vegetal. Esta associação simbiótica fornece uma constituição nutricional adequada à colônia, sendo a principal fonte alimentar para as larvas e constituinte importante da alimentação das operárias adultas. O objetivo deste estudo foi observar o repertório comportamental de *Atta sexdens rubropilosa* durante a preparação e incorporação de dois substratos diferentes, folhas e iscas granuladas, bem como a participação de cada casta envolvida nesse processo. O primeiro substrato oferecido para as colônias foram folhas de *Citrus* sp. cortadas em discos de 63,58mm², e o segundo foram pellets de isca a base de polpa cítrica formuladas sem o princípio ativo, com área padronizada em 62,86 mm². As observações foram realizadas sob estereomicroscópio e iniciaram-se quando a primeira porção do substrato oferecido foi carregado para o jardim de fungo. Para registrar os comportamentos executados na preparação e incorporação dos discos foliares e posteriormente dos pellets de isca foram utilizadas 3 colônias, com 6 repetições de 5 e 7 horas em cada uma, respectivamente. Para as 3 castas encontradas foram registrados 8 atos comportamentais, independente do substrato processado pelas operárias. O ato comportamental mais executado foi o de lamber, que ocorreu durante todo o período de observação, independente do substrato oferecido. As castas mais engajadas na execução desse comportamento foram as operárias jardineiras e generalistas. Devido à demanda de indivíduos para a execução dessa tarefa, conclui-se que esse comportamento seja importante para a dispersão do ingrediente ativo dentro da colônia.

Palavras chaves: Comportamento, Processamento do substrato, Castas, *Atta sexdens rubropilosa*, Jardim de fungo.

CHAPTER 1- PROCESSING OF PLANT MATERIAL AND GRANULAR BAITS FOR WORKERS OF *Atta sexdens rubropilosa* FOREL 1908 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)

Sociobiology

Abstract

Leaf cutting ants are required breeders insects of a symbiotic fungus which they feed, *Leucoagaris gongylophorus*, and maintenance of this fungus garden is rather carried out with green leaves, but also other parts of plants. This symbiotic association provides a suitable nutrition to the colony, being the main food source for larvae and very important to adult workers. The aim of this study was to observe the behavioral repertoire of *Atta sexdens rubropilosa* during the preparation and incorporation of two different substrates, leaves and ant baits, as well as involvement of each caste in the process. The first substrate offered to the colonies were leaves of Citrus sp. sliced in disks of 63.58 mm², and the second were bait pellets made basically with citrus pulp formulated without the active ingredient, with standardized area 62.86 mm². Observations were made with a stereomicroscope and began when the first portion of the substrate offered was uploaded to the fungus garden. Three colonies were used to record the behaviors performed in leaf discs and subsequently pellets of baits preparation and incorporation, with six replicates of 5 and 7 hours in each, respectively. It were recorded eight behavioral acts for the three castes found, regardless the substrate processed by workers. The behavioral act more frequently observed was the licking, which occurred throughout the period of observation, independent of the substrate offered. The more engaged castes performing this behavior were the gardeners and generalists workers. On the processing of substrate, workers ingest the sap that leaks from the leaf during the cutting act, and lick the substrate is effective behavioral act in removing harmful microorganisms to the symbiotic fungus, promoting the growth of hyphae and increasing its potential for inoculation. Due to the demand of individuals for execution that task, its possible imply that behavior is important for the dispersion of the active ingredient inside the colony.

Key-words: behavior, substrate preparation, castes, *Atta sexdens rubropilosa*, fungus garden.

Introdução

O gênero *Atta* se caracteriza por apresentar colônias com elevado número de operárias, e uma das maiores amplitudes de polimorfismo encontradas dentre as formigas cortadeiras (Fowler et al, 1986). Dentre as formigas desse gênero, a espécie *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908, a saúva-limão, encontra-se bem distribuída em vários estados brasileiros (Della Lucia, 2011), atacando diversas culturas de relevante importância agrícola e provocando perdas significativas, principalmente em cultivos florestais (Zanetti et al, 2003).

As espécies desse gênero forrageiam uma ampla gama de vegetais que servem como substrato para o cultivo do fungo simbiote, o qual é fonte primária de alimento para as larvas e também constitui parte da dieta dos adultos, que é complementada com a ingestão de exsudatos durante a atividade de corte e manipulação das folhas (Littledyke e Charret, 1976, Hubbell e Wiemer, 1983, Forti e Andrade, 1999; Mueller, 2002; Silva et al., 2003; Schneider, 2003).

De acordo com Quinlan e Cherret (1979) a ingestão de exsudatos representa cerca de 95% das necessidades alimentares das operárias, entretanto Silva et al., (2003) demonstraram que a importância do fungo na alimentação das operárias possa ser muito maior, quando observaram, que na ausência do fungo e mantidas somente com folhas frescas ou micélio, formigas da espécie *A. s. rubropilosa* tiveram redução na sobrevivência e quando supridas por pedaços do jardim de fungo elas sobreviveram por mais tempo, o

mesmo foi constatado por Benevides (2004) em operárias de *Acromyrmex subterraneus*. De qualquer modo, o fungo é fundamental na alimentação da colônia, seja ele diretamente consumido, ou através de seus exsudatos (Moreira et al., 2011)

Atribuem-se como função do fungo simbiote, a degradação de compostos secundários das plantas e sua transformação em substâncias palatáveis. Indícios de que o fungo é capaz de degradar celulose já foram reportados (Martin et al., 1969; Bacci et al., 1995; Nagamoto et al., 2011), todavia Abril e Bucher (2002) sugerem em seu estudo que o fungo, *Leucoagaricus gongylophorus* Müller (Singer), cuja reserva energética básica é o glicogênio, nos primeiros estágios de formação dos gongilídeos, e os polissacarídeos que se encontram numa forma prontamente assimilável pelas formigas (Quinlan e Cherrett, 1979) não seja capaz de exercer tal função.

O processamento e incorporação do material vegetal é uma atividade complexa e envolve uma série de tarefas distintas realizadas em função do tamanho do corpo das operárias, assim um alto grau de polimorfismo pode ser observado (Wilson, 1980a, 1983). O processamento e a incorporação do substrato podem ser divididos em etapas distintas. A primeira consiste na coleta do material vegetal, a segunda no tratamento físico dos fragmentos forrageados, a terceira o tratamento químico dos mesmos, e a quarta compreende a incorporação propriamente dita (Diniz e Bueno, 2009).

Após o forrageamento, as operárias generalistas (largura da cabeça entre 1,3 a 1,6 mm) lambem e repicam as folhas em pedaços de 1 a 2 mm de diâmetro. Em seguida operárias menores (cápsula cefálica entre 0,8 a 1,2 mm) mastigam ao longo das bordas até a redução das folhas em uma polpa úmida, e inserem tais fragmentos no jardim de fungo (Wilson, 1980a; Fowler, 1983; Andrade et al., 2002; Lopes et al., 2004; Camargo, 2007; Diniz e Bueno, 2009; 2010). Finalmente, tufos de hifas são inoculados na superfície dos fragmentos (Weber, 1956; Lopes et al., 2004).

É importante ressaltar que esses comportamentos são especializados para o cultivo do fungo simbiote, e que, de certa forma, uma grande quantidade de operárias está envolvida nesse processo. Essa grande demanda pode ser um fator importante para a contaminação desses organismos por inseticidas, demonstrando assim, que o processamento vegetal pode ser uma das principais formas de contaminação da colônia, pois ainda é uma questão discutível o papel da trofalaxia oral entre adultos em formigas cortadeiras (Andrade et al., 2002; Camargo, 2007). Dessa forma, com o objetivo de descrever e analisar o repertório comportamental executado por operárias de *A. s. rubropilosa* durante a preparação e incorporação dos substratos foi elaborado um estudo etológico comparando esses comportamentos durante o processamento de folhas e iscas granuladas.

2 Material e Métodos

As colônias utilizadas foram coletadas no município de Botucatu-SP e mantidas no Laboratório de Inseto Sociais-Praga (LISP) da faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP de Botucatu.

Para a realização das observações três colônias com aproximadamente 500 mL de fungo foram transferidas para caixas de vidro (comprimento: 20 cm; largura: 10 cm e altura: 2,5 cm) com uma camada de gesso para a manutenção da umidade e com conexões para recipientes destinados ao forrageamento e deposição do lixo exaurido nas extremidades opostas (Lopes, 2004). A temperatura ambiente foi mantida aproximadamente a $22^{\circ}\text{C} \pm 2$, com umidade relativa em torno de $70\% \pm 20$.

Anteriormente as observações, uma amostra com indivíduos de variados tamanhos foi retirada para medição da maior largura da cabeça, através de estereomicroscópio equipado com uma ocular micrométrica. A amostra foi classificada e as castas definidas de acordo com o proposto em Wilson (1980a), que as dividiu em quatro classes de tamanho:

as jardineiras, generalistas, forrageiras, e os soldados. Uma vez que soldados não foram encontrados, as observações foram efetuadas com base no comportamento das operárias jardineiras (largura da cabeça entre 0.8 a 1.2 mm), generalistas (largura da cabeça entre 1.3 a 1.6 mm) e forrageiras (largura da cabeça entre 1.7 a 2.2 mm).

Os substratos oferecidos às colônias para as observações constou de folhas de *Citrus* sp. e pellets de isca granulada a base de polpa cítrica e formulada sem princípio ativo, ambos com área padronizada em 63,58 mm² e 62,86 mm², respectivamente. As observações foram iniciadas a partir do momento em que o primeiro dos 15 discos de folhas ou pellets oferecidos, foi carregado para o jardim de fungo.

Todas as observações ad libitum, ou seja, sem intervalo de tempo para os registros, foram feitas sob estereomicroscópio, ad libitum, ou seja, sem intervalo de tempo para os registros. Sendo que, em cada uma das 3 colônias foram realizadas 6 repetições de 5 horas cada para registrar os comportamentos executados na preparação e incorporação dos discos foliares, totalizando 90 horas de observação. E devido à natureza física da isca granulada, 6 repetições de 7 horas cada foram realizadas em cada colônia, para registrar os comportamentos executados em sua preparação e incorporação, totalizando 105 horas de observação.

2.1 Análises estatísticas

Os principais comportamentos executados pelas operárias de *A. s. rubropilosa* durante a preparação e incorporação do diferentes substratos no jardim de fungo foram registrados e as porcentagens de indivíduos, que executaram os diferentes atos comportamentais foram calculados de acordo com a classe de tamanho das operárias. Os dados foram comparados pela análise dos resíduos padronizados em tabelas de contingência (Z) (Pereira, 1999). Para avaliação dos comportamentos comparados: isca

versus folha, foi utilizado o teste de Mann-Whitney ($P=0,05$) com auxílio do programa BioEstat 5.0.

3 Resultados

3.1 Processamento e incorporação dos discos foliares

No momento em que os discos foliares eram carregados pelas operárias forrageiras para o interior da câmara de fungo, outras operárias de classes de tamanho distintas, tocavam sua superfície e bordas com as antenas e o aparelho bucal, e em seguida começaram a lambê-los continuamente, ao mesmo tempo outras operárias transportavam e seguravam os discos para a superfície da cultura de fungo. Os discos eram reduzidos a fragmentos cada vez menores, que por sua vez tinham suas bordas pregueadas, esses fragmentos eram então mastigados pelas operárias que ocasionalmente depositavam fluido fecal sobre eles, induzindo seu amolecimento e umedecimento. Após essa sequência de comportamentos o substrato era finalmente incorporado na região externa da esponja fungíca e inoculado com uma pequena quantidade de fungo.

O comportamento mais frequentemente observado foi o de lambem a superfície e bordas do disco foliar, que representou 38,88% de todos os comportamentos executados (Fig. 1). Basicamente, todas as castas contribuíram para a execução deste ato comportamental, sendo que em proporções diferentes (Tabela 1). As operárias forrageiras exerceram 13,33% dessa atividade ($Z_{D.F.1}=5,311994$; $Z_{D.F.2}=-0,14412$; $Z_{D.F.3}=7,43419$), as generalistas 25,05% ($Z_{D.F.1}=28,65059$; $Z_{D.F.2}=19,27417$ $Z_{D.F.3}=21,34883$), e as operárias jardineiras executaram 61,62% desse comportamento ($Z_{D.F.1}=78,58434$; $Z_{D.F.2}=84,38611$; $Z_{D.F.3}=83,21173$).

O segundo comportamento mais observado foi o de pregar as bordas do disco foliar, o qual correspondeu à 17,70% dos atos executados pelas operárias (Fig. 1 e Tabela

1), sendo observado excesso de ocorrências significativas nos grupos das operárias jardineiras e generalistas, aonde as jardineiras foram efetivamente responsáveis por 54,94% de sua realização ($Z_{D.F1} = 22,68025$; $Z_{D.F2} = 25,2817$; $Z_{D.F3} = 25,56538$), seguidas pelas generalistas com 28,57% ($Z_{D.F1} = 0,185945$; $Z_{D.F2} = 5,377955$; $Z_{D.F3} = 5,506622$) e forrageiras com 14,49% ($Z_{D.F1} = -9,282169$; $Z_{D.F2} = -4,69528$; $Z_{D.F3} = -5,93832$).

Os comportamentos de picotar os discos em pedaços menores e o de incorporá-los no jardim de fungo representaram 12,47% e 12,14% dos atos efetuados, respectivamente, e foram desempenhados predominantemente por operárias jardineiras (Tabela 1). Segurar os discos e depositar hifas sobre os fragmentos incorporados representaram 6,58% e 5,98%, nesta ordem, do total de atos executados pelas operárias. Sendo o primeiro comportamento citado, executado, principalmente por operárias generalistas 40,02% e o segundo realizado predominantemente por operárias jardineiras, responsáveis por 91,58% de sua execução.

O comportamento com a segunda menor frequência observada foi o de transportar o disco para a superfície do jardim de fungo, correspondente a 3,39% do total de atos observados, onde se verificou uma maior participação das operárias forrageiras e das generalistas que representaram respectivamente, 52,37% e 41,46% da execução da atividade. Houve uma maior participação das operárias jardineiras no comportamento de deposição de fluido fecal, representando 86,78% em relação às outras duas castas. No entanto, a porcentagem desse comportamento em relação aos anteriormente citados foi baixa, representando apenas 2,87% das tarefas totais.

3.2 Processamento e incorporação dos pellets de isca granulada

O processamento dos pellets ocorreu de forma semelhante ao dos discos de *Citrus* sp. sendo que cada categoria de tamanho contribuiu em diferentes proporções, para a execução de tais atos. Não obstante, o tempo gasto para que a isca fosse totalmente

incorporada ao jardim de fungo, foi maior do que o gasto pelas operárias para que realizassem todo o processo com o substrato folha.

Após o oferecimento dos pellets de isca as operárias foram imediatamente atraídas e passaram a tocá-los com as antenas e palpos, carregando-os para o interior da câmara de fungo onde começaram a lambê-los continuamente, provocando a sua hidratação. Ao passo que algumas operárias lambiam os pellets, outras os carregavam e os seguravam na superfície do fungo. Após estarem bem hidratados, os pellets eram fracionados em porções diminutas e incorporados ao fungo.

O comportamento mais frequentemente observado, assim como no experimento anterior, foi o de lambar a superfície do pellet de isca, que representou 38,68% de todos os comportamentos executados (Fig. 2). A classe de tamanho mais registrada executando esse comportamento foi aquela representada pelas operárias jardineiras, responsáveis por 51,73% desse ato ($Z_{I1}= 97,2501$; $Z_{I2}= 72,1057$; $Z_{I3}= 51,4991$), seguidas das generalistas 24,54% ($Z_{I1}=36,6324$; $Z_{I2}= 14,7516$; $Z_{I3}=22,4027$) e, finalmente, pelas operárias forrageiras, que exerceram 23,73% dessa atividade ($Z_{I1}=23,8329$; $Z_{I2}= 18,6163$; $Z_{I3}= 4,95512$) (Tabela 2).

Observado com a segunda maior frequência, o comportamento de prensar o fragmento do pellet correspondeu a 14,37% dos atos executados pelas operárias. As jardineiras foram efetivamente responsáveis por 56,98% de sua realização ($Z_{I1}= 8,53995$; $Z_{I2}= 19,9605$; $Z_{I3}= 26,648$), as generalistas 26,18% ($Z_{I1}= -7,0855$; $Z_{I2}= -3,3956$; $Z_{I3}= 4,43739$) e as forrageiras 16,84% ($Z_{I1}= -13,845$; $Z_{I2}= -7,7084$; $Z_{I3}= -2,9662$).

Os comportamentos de fragmentar o pellet, incorporá-lo no jardim de fungo e segura-lo, foram registrados respectivamente, na seguinte frequência 13,01%, 9,81% e 9,57% (Fig. 2). Na atividade de fragmentação do pellet destaca-se a participação significativa das operárias jardineiras que executaram 45,37% ($Z_{I1}= 8,2629$; $Z_{I2}= 11,559$;

$Z_{13}= 4,48916$), assim como na incorporação no jardim de fungo, ato no qual foram as responsáveis por 74,87% da frequência observada ($Z_{11}=4,99376$; $Z_{12}= 15,5917$; $Z_{13}= 22,8168$). Segurar os pellets sobre o jardim de fungo foi um comportamento compartilhado entre as classes de tamanho, aonde as jardineiras executaram 40,44% do total observado ($Z_{11}= 8,09667$; $Z_{12}= -1,3232$; $Z_{13}= -10,266$), as generalistas, por sua vez, foram responsáveis por 29,66% ($Z_{11}= 2,88821$; $Z_{12}= -12,077$; $Z_{13}= -3,4839$) e as forrageiras 29,9% ($Z_{11}= -2,5419$; $Z_{12}= -12,301$; $Z_{13}= -3,4839$).

Os comportamentos de deposição de fluido fecal e deposição de hifas sobre os fragmentos incorporados representaram, nessa ordem 7,52% e 5,57% do total de comportamentos registrados. Em ambos, as operárias jardineiras foram as principais executoras, sua participação representou 83,3% ($Z_{11}=9,4265$; $Z_{12}= 14,6956$; $Z_{13}= 26,648$) no primeiro comportamento citado, e 96,62% no segundo ($Z_{11}= -8,6369$; $Z_{12}= 13,7434$; $Z_{13}= 11,4268$).

O ato comportamental menos observado foi o de transportar o pellet para a superfície do jardim de fungo, representando apenas 1,57% do total de atos observados, sendo que as forrageiras foram às principais responsáveis por sua execução 80,53% ($Z_{11}= -13,347$; $Z_{12}= -12,973$; $Z_{13}= -14,874$).

3.3 Comportamentos comparados: Isca *versus* Folha

De forma geral, as operárias desempenharam mais atos comportamentais durante o processamento da isca quando comparado ao processamento das folhas (Fig. 3). A frequência do comportamento de transportar o disco foliar/pellet foi maior em folhas ($39,22\pm7,38$) do que em iscas ($20,78\pm5,50$), diferindo estatisticamente entre si ($U=9,00$; p-valor (bilateral) $< 0,0001$).

Por outro lado, o comportamento de segurar o disco foliar/pellet foi mais freqüente em isca ($133,50 \pm 69,32$) do que em folhas ($67,94 \pm 22,83$), com diferença significativa entre eles ($U = 59,50$; p-valor (bilateral) $= 0,0012$). A freqüência do comportamento de lambr foi maior em isca ($546,22 \pm 87,76$) do que em folhas ($444,72 \pm 145,76$), com diferença significativa entre eles ($U = 91,50$; p-valor (bilateral) $= 0,0257$). O mesmo ocorreu com o comportamento de picotar os pedaços de folha em fragmentos menores/fragmentação do pellet, com uma freqüência em isca ($184,22 \pm 60,58$) maior do que na folha ($142,67 \pm 36,77$), diferindo significativamente entre si ($U = 94,00$; p-valor (bilateral) $= 0,0314$). Já o comportamento de pregar as bordas das folhas /prestar os fragmentos do pellet apresentou uma freqüência similar nas folhas ($202,44 \pm 66,00$) e na isca ($194,61 \pm 102,01$), não diferindo entre si ($U = 157,50$; p-valor (bilateral) $= 0,8868$).

Porém, o comportamento de deposição de fluido fecal apresentou uma maior freqüência na isca ($106,44 \pm 30,53$) do que na folha ($32,78 \pm 12,53$), com diferença significativa entre eles ($U = 0,00$; p-valor (bilateral) $< 0,0001$). O contrário ocorreu para o comportamento de incorporação no jardim de fungos com freqüências similares entre isca ($138,83 \pm 57,85$) e folha ($138,83 \pm 54,79$), sem diferença significativa entre si ($U = 160,00$; p-valor (bilateral) $= 0,9495$). O mesmo ocorreu em relação ao comportamento de depositar hifas sobre os fragmentos incorporados com freqüências similares entre isca ($78,67 \pm 41,39$) e folha ($75,22 \pm 29,27$) sem diferença significativa ($U = 148,50$; p-valor (bilateral) $= 0,9495$).

4 Discussão

4.1 Processamento e incorporação dos discos foliares

Os resultados encontrados neste estudo demonstram que o ato de lambr o substrato, de forma geral, independentemente das classes de tamanho é o mais executado. Ao lambr as bordas e a superfície do substrato as operárias removem impurezas

deletérias, garantindo assim a integridade do jardim de fungo (Stahel, 1943; Andrade et al., 2002; Andrade, 2002; Mueller, 2002; Diniz e Bueno, 2009, 2010). Além disso, quando lambem as folhas as operárias removem a camada de cera existente, o que acaba facilitando o crescimento das hifas do fungo simbiote aumentando o seu potencial de inoculação, à semelhança do observado para *Acromyrmex octospinosus* (Quinlan e Cherret, 1977).

A atuação das operárias jardineiras e generalistas é indiscutivelmente essencial durante a execução desse comportamento e a demanda por indivíduos dessas classes de tamanho para a execução do mesmo é alta. Andrade et al., (2002) estudando os comportamentos de operárias de *A. s. rubropilosa* durante a preparação do substrato, relataram que a casta predominantemente envolvida no comportamento de lamber as folhas foi a de operárias jardineiras, que foram responsáveis por 52% dessa tarefa, seguidas pelas generalistas 38%. Em estudo semelhante Diniz e Bueno (2009) constataram que na espécie cortadeira de gramínea *A. bisphaerica*, as operárias jardineiras e generalistas foram responsáveis por 49% e 48% dessa tarefa, respectivamente. No mesmo estudo, mas agora para *A. laevigata*, os referidos autores ofereceram folhas de plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas, e verificaram que independente do substrato as jardineiras foram preponderantemente as executoras desse comportamento.

O ato de lamber além de ser o mais frequente foi o que mais demandou tempo das operárias envolvidas, visto que as mesmas começavam a executá-lo assim que os discos eram carregados para a câmara de fungo, semelhante ao verificado por Andrade et al., (2002). Durante todo o período de observações, as menores classes de tamanho foram registradas executando esse comportamento. As menores castas, operárias jardineiras e generalistas, são as principais responsáveis pela preparação do substrato e são respectivamente, maioria dentro de uma colônia, Weber (1972) demonstrou que os

operárias jardineiras representam 60-67 % das formigas presentes no jardim de fungo, as generalistas 30-33 %, as forrageiras 1-2%, e os soldados, (limitado ao gênero *Atta*), menos de 1% de uma colônia. Diante disso é possível afirmar que, a quebra do equilíbrio existente na simbiose, se dá quando as operárias diretamente envolvidas no processamento são de alguma forma afetadas, ao ponto de comprometer o cuidado e a manutenção da principal fonte energética da colônia.

É fato conhecido que durante o processamento do substrato ocorre ingestão de seiva pelas operárias (Peregrine e Mudd, 1975; Littlelike e Cherret, 1976; Forti e Andrade 1999). Assim, operárias podem, simultaneamente, se alimentar e eliminar microorganismos indesejáveis, tanto para si quanto para o fungo simbionte. A forma como a troca de substâncias ocorre em formigas cortadeiras é bastante discutida. A trofalaxia, além de ser uma troca nutricional é uma importante e complexa forma de comunicação entre as companheiras de ninho (Hölldobler e Wilson, 1990), podendo ocorrer na forma abdominal ou proctodeal, quando a forma jovem excreta via ânus, o alimento, já digerido para as operárias adultas (Jaffé, 1993; Schneider, 2003; Lopes et al., 2005) e de forma oral ('boca a boca'), e entre operárias adultas, quando o alimento líquido estocado no papo é transferido para companheiras de ninho, sendo então denominada trofalaxia oral. No entanto, alguns autores argumentam que a trofalaxia oral, ocorra em baixa frequência ou, seja até mesmo ausente neste grupo (Andrade et al., 2002; Paul e Roces, 2003; Camargo, 2007), sugerindo ainda que a importância funcional da trofalaxia oral na alimentação e comunicação química deste grupo de insetos é uma questão que merece um estudo adicional. Assim, pode-se conjecturar que a transferência de substâncias entre as castas na colônia, deva ocorrer durante a limpeza mútua e autolimpeza.

4.2 Processamento e incorporação dos pellets de isca granulada

Durante o processamento dos pellets, notou-se, assim como no experimento anterior, que lambar o substrato foi a tarefa mais executada durante todo o período de observação. Assim como no substrato folha, as operárias jardineiras e generalistas participaram mais efetivamente desse comportamento. Sendo que nos pellets uma maior quantidade de formigas exerceu essa função. Como o observado por Andrade (2002), ao analisar os atos comportamentais durante o processamento da isca, em subespécies e espécies do gênero *Acromyrmex*. A referida autora, também observou que as classes de tamanho envolvidas no processo, assim como neste trabalho foram as menores da colônia.

Pode-se atribuir o maior número de operárias observadas realizando essa tarefa, ao fato de que a polpa cítrica presente na formulação dos pellets, exerça grande atratividade sobre as formigas (Carlos et al., 2009). Assim, um grande número de operárias são atraídas e se expõe ao contato direto com o ingrediente ativo, se contaminam, morrem deixando de exercer as funções que lhe são atribuídas dentro da colônia, desencadeando um desequilíbrio na relação simbiótica.

Dentre os métodos de controle de formigas cortadeiras, a utilização de iscas formicidas destaca-se devido, principalmente, à sua eficiência. Neste método, as iscas são compostas por uma mistura de polpa cítrica desidratada (veículo) e o ingrediente ativo dissolvido em óleo de soja, formuladas em pellets (Robinson, 1979; Forti et al., 1998). A polpa cítrica utilizada como veículo e atrativo nas iscas tóxicas, é apropriada para o crescimento do fungo cultivado pelas formigas cortadeiras de dicotiledôneas, por apresentar características como: ser levemente ácida, possuir alto conteúdo de carboidrato, constituída por nitrogênio, vitaminas e microelementos que fornecem subsídios para o desenvolvimento do fungo simbiote (Boaretto e Forti, 1997).

Outros fatores como contaminação e umidade, são muito importante para a eficiência desse método de controle, mas a atratividade é o ponto vital na eficiência das iscas granuladas, que devem ser atrativa mesmo distante do ninho (Etheridge e Phillips 1976, Forti et al., 1998, Nagamoto et al., 2004; Verza et al., 2006), garantindo que as iscas sejam carregadas para o ninho pelas operárias.

4.3 Comportamentos comparados: Isca *versus* Folha

Ao estabelecer uma comparação entre os comportamentos efetuados durante a preparação dos substratos oferecidos, pode-se inferir que fatores físicos influenciaram tanto no tempo, quanto na quantidade de operárias envolvidas neste processo.

A influência dos fatores físicos do substrato, é um fator conhecido na seleção de plantas, na pós-seleção quando da incorporação dos materiais forrageados no jardim de fungo por formigas cortadeiras (Camargo et al., 2004). Quando se compara a aceitação de folhas novas ou velhas por formigas cortadeiras, por exemplo, nota-se maior frequência de trabalhos que demonstram a preferência por folhas jovens (Cherrett e Seaforth, 1970; Barrer e Cherrett, 1972; Cherrett, 1972; Rockwood, 1976; Littledyke e Cherrett, 1978, Waller, 1982).

Os procedimentos envolvidos na preparação do substrato para o cultivo de fungo simbionte, implicam na manipulação deste pelas operárias. Lamber, mastigar, ingerir exudados e etc., e durante a execução desses comportamentos, as formigas são capazes de perceber a composição do material (Camargo et al., 2004). Os pellets de isca são obviamente mais resistentes que os discos foliares, assim seu processamento pelas operárias, foi mais laborioso. Isso provavelmente tenha ocorrido porque para ser incorporada ao jardim de fungo, a isca deve passar por um processo de hidratação. Em razão disso pode-se dizer que, no caso dos pellets, além da assepsia, a hidratação dos

mesmos é realizada durante a lambida e complementada, posteriormente com a deposição de fluido fecal.

Mesmo considerando a tentativa de se padronizar a área dos substratos oferecidos para forrageamento (vide material e métodos), após a hidratação, observou-se visualmente um aumento no tamanho dos pellets, o que provavelmente pode ser a explicação do elevado número de formigas envolvidas em seu processamento. Contudo um estudo complementar deverá ser efetuado para testar essa hipótese. Com base no repertório comportamental obtido conclui-se que, mesmo com demanda de operárias e com frequência diferentes, os atos comportamentais executados no processamento de material vegetal e iscas granuladas foram semelhantes, como por exemplo, lambar e reduzir à frações diminutas os substratos testados.

5 Referências bibliográficas

- Abril, A.B. & Bucher, E. H. (2002). Evidence that the fungus cultured by leaf-cutting ants does not metabolize cellulose. *Ecology Letters*, 5: 325-328.
- Andrade, A. P. P.; Forti, L. C.; Moreira, A. A.; Boaretto, M. A. C.; Ramos, V. M. & Matos, C.A.O. (2002). Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. *Sociobiology* 40(2): 293-306.
- Andrade A.P.P. (2002) Biologia e taxonomia comparada das subespécies de *Acromyrmex subterraneus* Forel, 1893 (Hymenoptera, Formicidae) e contaminação das operárias por iscas tóxicas. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Botucatu – SP, Universidade Estadual Paulista, 168p.
- Ayres, M.; Ayres Júnior, M.; Ayres, D.L. & Santos, A.A. (2007). BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Ong Mamiraua. Belém, PA.
- Bacci, M.; Anversa, M.M. & Pagnocca, F.C. (1995). Cellulose degradation by *Leucocoprinus gonglyphorus*, the fungus cultured by the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Antonie van Leeuwenhoek* 67: 385-386.
- Barrer, P.M. & Cherrett, J.M. (1972). Some factors affecting the site and pattern of leaf-cutting activity in the ant *Atta cephalotes* L. *Journal Entomology* 47: 15-27.
- Benevides, C. R. (2004). Distribuição de enzimas digestivas entre castas da formiga cortadeira *Acromyrmex subterraneus* Forel, 1893 (Hymenoptera: Formicidae). Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense. 32p.

- Boaretto, M.A.C. & Forti, L.C. (1997). Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. Série Técnica, IPEF 11(30): 31-46.
- Camargo, R. S.; Forti, L.C.; Matos, C.A.O.; Lopes, J.F. & Andrade, A.P.P. (2004). Physical resistance as a criterion in the selection of foraging material by *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel 1911 (Hym., Formicidae). Journal of Applied Entomology 5: 329- 331.
- Camargo, R. S. (2007). Polietismo etário e produção de machos em colônia sem rainha da formiga cortadeira, *Acromyrmex subterraneus brunneus* forel, 1911 (Hymenoptera: Formicidae). Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Botucatu – SP, Universidade Estadual Paulista, 113p.
- Carlos, A. A.; Forti, L. C.; Rodrigues, A.; Verza, S. S.; Nagamoto, N. S. & Camargo, R. S. (2009). Influence of Fungal Contamination on Substrate Carrying by the Leafcutter *Ant Atta sexdens rubropilosa*. Sociobiology 53: 785-794.
- Cherrett, J.M. & Seaforth, C.E. (1970). Phytochemical arrestants for the leaf-cutting ants, *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich), with some notes on the ants response. Bulletin of Entomological Research 59: 615-625.
- Cherrett, J. M. (1972). Some factors involved in the selection of vegetable substrate by *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae), in tropical rain forest. Journal of Animal Ecology, 41: 647-660.
- Della Lucia, T. M. C. (2011). Formigas Cortadeiras: da bioecologia ao manejo. Viçosa, MG: Editora UFV, 421p.
- Diniz, E. A. & Bueno, O. C. (2009). Substrate Preparation Behaviors for the Cultivation of the Symbiotic Fungus in Leaf-Cutting ants of the Genus *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). Sociobiology 53: 651-666.
- Diniz, E. A. & Bueno, O. C. (2010). Evolution of Substrate Preparation Behaviors for Cultivation of Symbiotic Fungus in Attine Ants (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Insect Behavior 23: 205-214.
- Etheridge, P. & Phillips, F.T. (1976). Laboratory evaluation of new insecticides and bait matrices for the control of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae). Bulletin of Entomological Research 66: 569-578.
- Forti, L. C. & Andrade, A. P. P. (1999). Ingestão de líquidos por *Atta sexdens* (L.) (Hymenoptera: Formicidae) durante a atividade forrageira e na preparação do substrato em condições de laboratório. Naturalia 24: 61-63.
- Forti, L.C.; Nagamoto, N.S. & Pretto D.R. (1998). Controle de formigas cortadeiras com isca granulada. In: Anais do Simpósio sobre formigas cortadeiras dos países do Mercosul, Anais. Piracicaba: FEALQ, 113-132.
- Fowler, H.G.; Silva, P.; Forti, L.C.; Pereira da Silva, V. & SAES, N.B. (1986) Economics of grass-cutting ants. In: Lofgren, C.S. & Vander Meer, R.K. Fire ants and leaf-cutting ants: Biology and management. Westview Press, Boulder, 18-35p.
- Fowler, H.G. & Stiles, E.W. (1980). Conservative foraging by leaf-cutting ant? The role of foraging territories and trails and environmental patchiness. Sociobiology 5: 25-41.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. (1990). The ants. Cambridge, Harvard University Press, 733p.

- Hubbell, S.P. & Wiemer, D.F. (1983). Host plant selection by an attine ant. In: Jaisson, P. (ed.) *Socials insects of the tropics*. Paris: Université Paris-Nord 2: 133-154.
- Jaffé, K. (1993). *El mundo de las hormigas*. Universidad Simon Bolivar. Venezuela: Equinoccio. 183p.
- Littledyke, M. & Cherrett, J. M. (1976). Direct ingestion of plant sap from cut leaves by leaf-cuttings ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae, Attini). *Bulletin of Entomological Research* 66: 205-217.
- Littledyke, M. & Cherrett, J.M. (1978). Olfactory responses of the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera: Formicidae) in the laboratory. *Bulletin of Entomological Research* 68: 273-282.
- Lopes, J.F.S.; Forti, L.C. & Camargo, R.S. (2004). The influence of the scout upon the decision-making process of recruited workers in three *Acromyrmex* species (Formicidae: Attini). *Behavioural Processes*, 67: 471–476.
- Lopes, J.F.S. (2004). Diferenciação comportamental de espécies de *Acromyrmex* spp. (Mayr, 1865) (hymenoptera, Formicidae) cortadeiras de monocotiledôneas e dicotiledôneas. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Botucatu – SP, Universidade Estadual Paulista, 93p.
- Lopes, J. F. S.; Hughes, W. O. H.; Camargo, R. S. & Forti, L. C. (2005). Larval isolation and brood care in *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Insectes Sociaux* 52: 333-338.
- Martin, M.M.; Carman R.M. & MacConnell, J.G. (1969). Nutrients derived from the fungus cultured by the fungus growing ant *Atta colombica* tonsipes. *Annals of Entomological Society of America* 62: 11-13.
- Moreira, D. D. O.; Erthal Jr, M.; Samuels, R. I. (2011). Alimentação e digestão em formigas-cortadeiras. p.205-225, In: Della Lucia, T.M.C. *Formigas-Cortadeiras da Bioecologia ao Manejo*. Viçosa: Ed. UFV.
- Müller, U. G. (2002). Ant versus fungus versus mutualism: Ant-cultivar conflict and the deconstruction of the attine ant-fungus symbiosis. *American Naturalist* 60: 67-98.
- Nagamoto, N.S.; Forti, L.C.; Andrade, A.P.P.; Boaretto, M.A.C. & Wilcken, C.F. (2004). Method for the evaluation of insecticidal activity over time in *Atta sexdens rubropilosa* workers (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 44(2): 413 – 432.
- Nagamoto, N. S.; Garcia, M G; Forti, L. C.; Verza, S S; Noronha Jr, N C & Rodella, R. A. (2011). Microscopic evidence supports the hypothesis of high cellulose degradation capacity by the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. *Journal of Biological Research* 16: 308-312.
- Paul, J. & Roces, F. (2003). Fluid intake rates in ants correlate with their feeding habitats. *Journal of Insect Physiology* 49: 347-357.
- Peregrine, D.J. & A. Mudd. (1975). The effects of diet on the composition of post-pharyngeal glands of *Acromyrmex octospinosus* (Reich). *Insectes Sociaux* 21: 417-424.
- Pereira, J.C.R. 1999. *Análise de dados qualitativos: estratégias metodológicas para as ciências da saúde, humanas e sociais*. São Paulo: Edusp, 157p.

- Quinlan, R.J. & Cherrett, J.M. (1977). The role of substrate preparation in the symbiosis between the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) and its food fungus. *Ecological Entomology* 2: 161-170.
- Quinlan, R.J. & Cherrett, J.M. (1979). The role of fungus in the diet of the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L). *Ecological Entomology* 4: 151-160.
- Robinson, S.W. (1979). Leaf-cutting ant control schemes in Paraguay, 1961-1977. Some failures and some lessons. *PANS Pest Articles & News Summaries* 25:386-390.
- Rockwood, L.L. (1976). Plant selection and foraging patterns in two species of leaf cutting ants (*Atta*). *Ecology* 57: 48-61.
- Silva, A.; Bacci Jr. M.; Gomes de Siqueira, C.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C. & Hebling, M.J.A. (2003). Survival of *Atta sexdens* on different food sources. *Journal of Insect Physiology* 49:307-313.
- Stahel, G. (1943). The fungus gardens of the leaf cutting ants. *Journal of the New York Botanical Garden* 44: 245-25.
- Shepherd, J.D. (1982). Trunk trail and the searching strategy of a leaf-cutter ant, *Atta colombica*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 11:77-84.
- Schneider, M.O. (2003). Comportamento de cuidado com a prole da saúva-limão *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Rio Claro – SP. Universidade Estadual Paulista. 80p.
- Verza, S.S.; Forti, L.C.; Matos, C.A.O.; Garcia, M.G., & Nagamoto, N.S. (2006). Attractiveness of citrus pulp and orange albedo extracts to *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 47(2): 391-399.
- Zanetti, R.; Zanuncio, J. C.; Souza-Silva, A. & Abreu, L. G. (2003). Eficiência de isca formicida aplicada sobre o monte de terra solta de ninhos de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Revista Arvore* 27(3): 410-407.
- Waller, D.A.(1982). Leaf-cutting ants and live oak: the role of leaf toughness in seasonal and intraspecific choice. *Entomologia Experimentalis et Applicara* 32: 146-50, 1982.
- Weber, N.A. (1956). Treatment of substrate by fungus-growing ants. *Anatomical Record*, 125(3): 604-605.
- Weber, N.A. (1972). The fungus-culturing behavior of ants. *American Zoologist* 12: 577-587.
- Wilson, E.O. (1980a). Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera, Formicidae). I: The overall pattern in *A. sexdens*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 7: 143-156.
- Wilson, E.O. (1980). Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera, Formicidae). II: The ergonomic optimization of leaf-cutting. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 7: 157-65.
- Wilson, E. O. (1983). Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera, Formicidae: *Atta*). IV: Colony ontogeny of *A. cephalotes*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 14: 55-60.

Tabela 1. Resíduos padronizados no contingenciamento dos comportamentos efetuados por *Atta sexdens rubropilosa*, durante a preparação e incorporação do substrato composto por disco foliar.

Comportamento	Cápsula cefálica (mm)	Frequência Observada	% no comportamento	Substrato Disco Foliar ($Z_{D.F}$)		
				$Z_{D.F} 1$	$Z_{D.F} 2$	$Z_{D.F} 3$
Transportando o disco para a superfície do jardim de fungo	0.8 - 1.2	43	6,17	-16,94109	-15,8001	-16,4797
	1.3 - 1.6	289	41,46	-12,77994	-10,096	-11,4801
	1.7 - 2.2	365	52,37	-8,679104	-10,5815	-10,5163
Total		697	100,00			
Segurando o disco	0.8 - 1.2	465	32,05	-5,121023	-10,3994	-8,2273
	1.3 - 1.6	493	33,98	-8,618798	-7,30461	-6,11903
	1.7 - 2.2	274	33,98	-11,21198	-14,5258	-9,55251
Total		1232	100,00			
Lambendo superfície e bordas	0.8 - 1.2	4933	61,62	78,58434	84,38611	83,21173
	1.3 - 1.6	2005	25,05	28,65059	19,27417	21,34883
	1.7 - 2.2	1067	13,33	5,311994	-0,14412	7,43419
Total		8005	100,00			
Picotando os pedaços de folha em fragmentos menores	0.8 - 1.2	980	38,16	4,648623	0,766112	1,952667
	1.3 - 1.6	903	35,16	4,829542	-0,44753	-1,66152
	1.7 - 2.2	685	26,67	-6,447765	-1,53981	-2,44460
Total		2568	100,00			
Pregueando as bordas	0.8 - 1.2	2075	56,94	22,68025	25,2817	25,56538
	1.3 - 1.6	1041	28,57	0,185945	5,377955	5,506622
	1.7 - 2.2	528	14,49	-9,282169	-4,69528	-5,93832
Total		3644	100,00			
Deposição de fluido fecal	0.8 - 1.2	512	86,78	-3,975201	-8,39689	-8,52849
	1.3 - 1.6	64	10,85	-15,91588	-15,8001	-16,2388
	1.7 - 2.2	14	2,37	-16,94109	-16,8924	-17,1423
Total		590	100,00			
Incorporação no jardim de fungos	0.8 - 1.2	1926	77,07	24,36883	20,30576	19,84291
	1.3 - 1.6	469	18,77	-7,412669	-7,48666	-8,58872
	1.7 - 2.2	104	4,16	-14,89067	-14,5865	-16,0581
Total		2499	100,00			
Deposição de hifas sobre os fragmentos incorporados	0.8 - 1.2	1240	91,58	1,693606	14,29823	7,133007
	1.3 - 1.6	93	6,87	-15,91588	-14,101	-16,1785
	1.7 - 2.2	21	1,55	-16,82048	-16,8924	-16,8411
Total		1354	100,00			
Total Geral	0.8 - 1.2	12174	59,13			
	1.3 - 1.6	5357	26,02			
	1.7 - 2.2	3058	14,85			
Total		20589	100,00			

(Z)-Resíduos padronizados em tabelas de contingência Z

(*) $Z > 1.96$ excesso de ocorrências significativas (alfa = 0.005); $Z < -1.96$ escassez de ocorrências significativas (alfa = 0.005).

Tabela 2. Resíduos padronizados no contingenciamento dos comportamentos efetuados por *Atta sexdens rubropilosa*, durante a preparação e incorporação do substrato composto por pellets de isca.

Comportamento	Cápsula cefálica (mm)	Frequência Observada	% no comportamento	Substrato Isca (Z _i)		
				Z _{i1}	Z _{i2}	Z _{i3}
Transportando o pellet para a superfície do jardim de fungo	0.8 - 1.2	4	1,07	-18,721	-18,518	-20,155
	1.3 - 1.6	69	18,4	-18,001	-16,614	-19,223
	1.7 - 2.2	302	80,53	-13,347	-12,973	-14,874
	Total	375	100			
Segurando o Pellet	0.8 - 1.2	986	40,44	8,09667	-1,3232	-10,266
	1.3 - 1.6	723	29,66	2,88821	-12,077	-9,0754
	1.7 - 2.2	729	29,9	-2,5419	-12,301	-3,4839
	Total	2438	100			
Lambendo superfície	0.8 - 1.2	5099	51,73	97,2501	72,1057	51,4991
	1.3 - 1.6	2419	24,54	36,6324	14,7516	22,4027
	1.7 - 2.2	2339	23,73	23,8329	18,6163	4,95512
	Total	9857	100			
Fragmentação do pellet	0.8 - 1.2	1504	45,37	8,2629	11,559	4,48916
	1.3 - 1.6	873	26,34	-5,257	-3,6756	-1,4647
	1.7 - 2.2	938	28,3	-10,909	-1,2672	4,95512
	Total	3315	100,01			
Prensar o fragmento do pellet	0.8 - 1.2	2087	56,98	8,53995	19,9605	26,648
	1.3 - 1.6	959	26,18	-7,0855	-3,3956	4,43739
	1.7 - 2.2	617	16,84	-13,845	-7,7084	-2,9662
	Total	3663	100			
Deposição de fluido fecal	0.8 - 1.2	1596	83,3	9,4265	14,6956	5,26576
	1.3 - 1.6	179	9,34	-15,674	-14,934	-17,256
	1.7 - 2.2	141	7,36	-17,281	-16,278	-16,479
	Total	1916	100			
Incorporação no jardim de fungos	0.8 - 1.2	1871	74,87	4,99376	15,5917	22,8168
	1.3 - 1.6	423	16,93	-13,5129	-11,181	-10,1109
	1.7 - 2.2	205	8,2	-17,5024	-12,5812	-16,3754
	Total	2499	100			
Deposição de hifas sobre os fragmentos incorporados	0.8 - 1.2	1372	96,62	-8,6369	13,7434	11,4268
	1.3 - 1.6	41	2,89	-18,777	-17,678	-18,964
	1.7 - 2.2	7	0,49	-18,832	-18,518	-19,896
	Total	1420	100			
Total Geral	0.8 - 1.2	14519	56,98			
	1.3 - 1.6	5686	22,31			
	1.7 - 2.2	5278	20,71			
Total		25483	100,00			

(Z)-Resíduos padronizados em tabelas de contingência Z

(*) Z > 1.96 excesso de ocorrências significativas (alfa = 0.005); Z < -1.96 escassez de ocorrências significativas (alfa = 0.005).

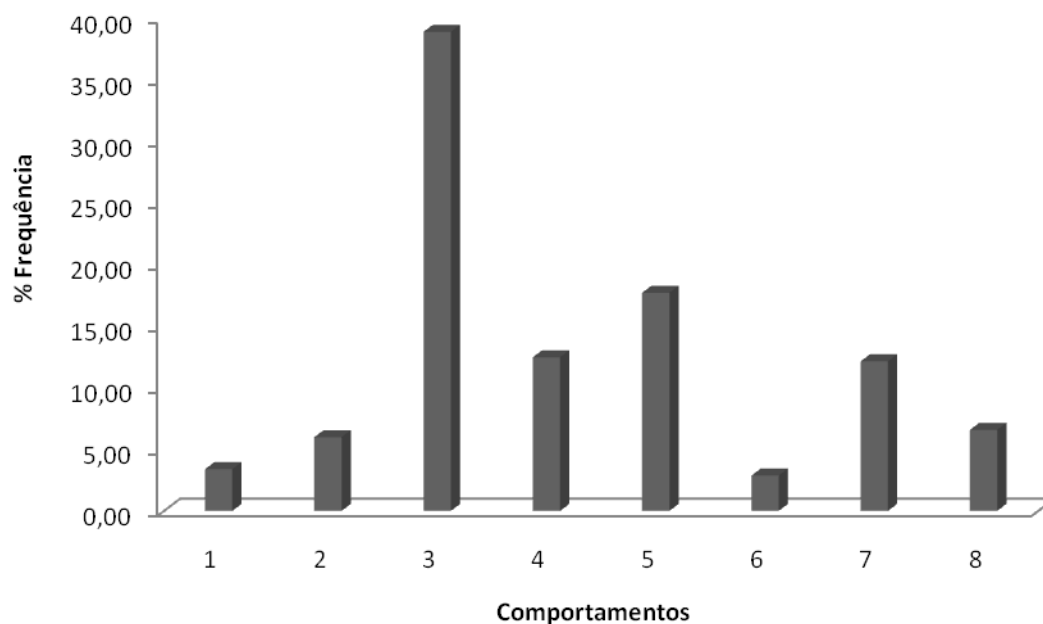


Figura 1: Porcentagem de cada ato comportamental de *Atta sexdens rubropilosa* durante a preparação e incorporação no jardim de fungo do substrato disco foliar (1:Transportar o disco para a superfície do jardim de fungo; 2: Segurando o disco na superfície da cultura de fungos; 3: Lamber superfície e bordas do disco foliar; 4: Picotar o disco foliar em fragmentos menores; 5: Preguear as bordas; 6: Deposição de fluido fecal; 7: Incorporação no jardim de fungos; 8: Deposição de hifas sobre os fragmentos incorporados).

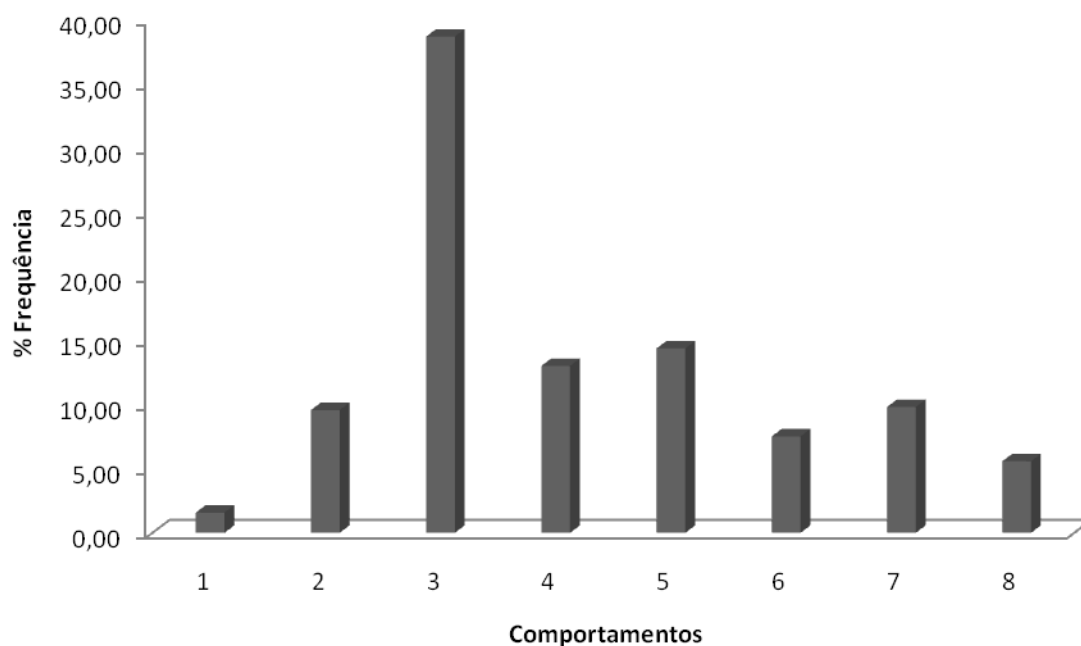


Figura 2: Porcentagem de cada ato comportamental de *Atta sexdens rubropilosa* durante a preparação e incorporação no jardim de fungo do substrato isca (1: Transportando o pellet para a superfície do jardim de fungo; 2: Segurando o Pellet; 3: Lambendo superfície; 4: Fragmentação do pellet; 5: Prensar o fragmento do pellet; 6: Depositar fluido fecal; 7: Incorporação no jardim de fungos; 8: Deposição de hifas sobre os fragmentos incorporados).

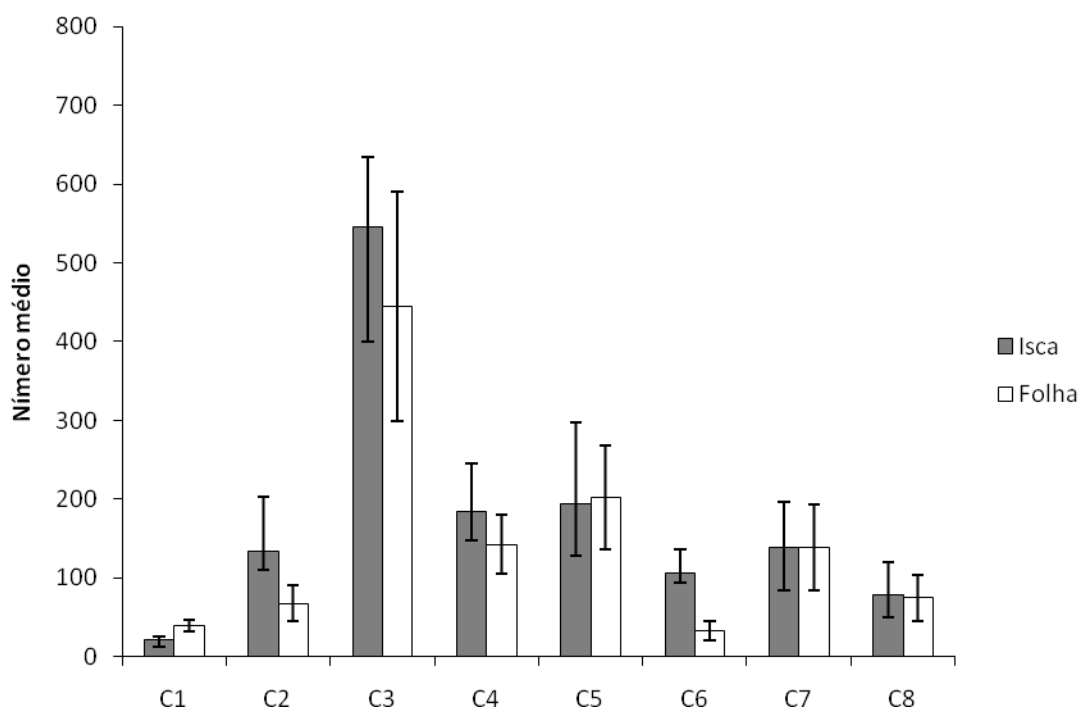


Figura 3. Número médio e desvio padrão da frequência dos comportamentos de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*, durante o cultivo do fungo simbionte em pellet de isca granulada e disco foliar. C1: Transportar o disco/pellet para a superfície do jardim de fungo; C2: Segurar o disco/pellet; C3: Lamber a superfície e bordas do disco/pellet; C4: Picotar o disco foliar em fragmentos menores/Fragmentar o pellet; C5: Preguear as bordas/Prensar os fragmentos do pellet; C6: Deposição de fluido fecal; C7: Incorporação no jardim de fungo; C8: Deposição de hifas sobre os fragmentos incorporados.

**CAPÍTULO 2- MANDÍBULAS DAS FORMIGAS CORTADEIRAS:
MORFOFUNCIONALIDADE E ASPECTOS RELACIONADOS À PREFERÊNCIA
AO TIPO DE FOLHAS.**

CAPÍTULO 2- MANDÍBULAS DAS FORMIGAS CORTADEIRAS: MORFOFUNCIONALIDADE E ASPECTOS RELACIONADOS À PREFERÊNCIA NO TIPO DE FOLHAS.

Revista Brasileira de Entomologia

Resumo

O objetivo deste estudo foi destacar possíveis diferenças morfológicas entre as mandíbulas de formigas cortadeiras do gênero *Atta*. Para tanto foi realizada uma descrição detalhada, das mandíbulas de operárias, da anatomia e da composição química do material vegetal forrageado pelas espécies *Atta bisphaerica* e *Atta sexdens rubropilosa*. Para a análise morfométrica realizou-se a dissecação de 50 indivíduos de cada classe de tamanho para a retirada da mandíbula direita, e uma amostra de cada casta foi processada e submetida a microscopia eletrônica de varredura. O estudo anatômico foi realizado em fragmentos vegetais coletados próximos aos orifícios de entrada dos ninhos. Verificou-se que as espécies de *Atta* apresentam morfologia da mandíbula semelhantes, sendo observada diferença apenas dentro das castas analisadas, demonstrando a clara especialização das operárias. Em relação à descrição morfológica do material vegetal forrageado os resultados indicam que as gramíneas apresentam mais pontos lignificados, permitindo inferir que seu forrageamento e processamento poderiam levar à diferenciação nos atos comportamentais na sua preparação e incorporação no jardim de fungos.

Palavras chaves: Hymenoptera, *Atta*, Morfometria, Silício, Formigas Cortadeiras

CHAPTER 2 MANDIBLE OF LEAF CUTTING ANTS: MORPHOLOGICAL FUNCTION AND ASPECTS RELATED TO PREFERENCE IN TYPE LEAVES.

Revista Brasileira de Entomologia

Abstract

The aim of this study was to highlight possible morphological differences between the jaws of leaf-cutting ants of the genus *Atta*. For such a detailed description, the jaws of workers, anatomy and chemical composition of plant material species foraged by *Atta bisphaerica* and *Atta* leaf cutter was drawn. It was found that the *Atta* species have similar morphology of the mandible, only difference being observed within the varieties analyzed, demonstrating a clear specialization of workers. Regarding the morphological description of the plant material foraged results indicate that the grasses have more lignified points, allowing infer that their foraging and processing demands of the workers a greater energy expenditure and could lead to differentiation in behavioral acts in its preparation and incorporation into the garden fungus.

Key words: Hymenoptera, *Atta*, Morphometry, Silicon, Leaf Cutting Ants

1 Introdução

As formigas cortadeiras (*Atta* e *Acromyrmex*) utilizam diversas partes de vegetais para o cultivo do fungo simbiote, fonte de alimento para os indivíduos das colônias. Durante o forrageamento e processamento vegetal, as operárias se dividem em diversas tarefas de acordo com o seu polimorfismo. Tal processo envolve uma série de tarefas específicas realizadas em função do tamanho do corpo delas (Wilson 1980, 1983).

Por exemplo, em *Atta sexdens rubropilosa*, após o forrageamento, as operárias generalistas (largura da cabeça entre 1,3 a 1,6 mm) lambem e repicam as folhas em pedaços de 1 a 2 mm de diâmetro. Em seguida, operárias menores (largura da cabeça entre 0,8 a 1,2 mm) mastigam ao longo das bordas até a redução das folhas em uma polpa úmida, e inserem tais fragmentos no jardim de fungo (Wilson, 1980; Fowler, 1983; Andrade 2002; Lopes 2004; Camargo 2007; Diniz & Bueno 2009; 2010). Finalmente, tufo de hifas são transplantados na superfície dos fragmentos (Weber 1956, Lopes et al. 2004). Esse repertório promove uma adequação do material vegetal forrageado para o desenvolvimento do fungo simbiote.

Tanto as cortadeiras de gramíneas (por exemplo, *Atta capiguara*), quanto às de folhas de dicotiledôneas (por exemplo, *Atta sexdens*) apresentam um drástico tratamento vegetal desde o corte das folhas até a incorporação dessas no jardim de fungo (Lopes et al., 2004; Forti et al., 2004; Camargo et al., 2007). Entretanto, mudanças comportamentais ocorrem em decorrência das diferenças morfológicas das espécies de formigas. As

formigas cortadeiras de gramíneas tendem ter as mandíbulas mais maciças e curtas, enquanto as cortadeiras de dicotiledôneas, tendem a ter uma mandíbula mais longa e menos maciça (Fowler et al., 1986). Provavelmente, essas diferenças morfológicas possam estar relacionadas com a natureza física do material vegetal que ambas forrageiam, as gramíneas (poecea) estão entre as plantas que mais acumulam silício; a maior parte deste elemento se deposita nas partes aéreas na forma de partículas sólidas de sílica hidratada ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) (Motomura et al., 2002). É conhecido que o silício ocorre em todas as plantas, entretanto apresenta sua concentração variando de 0,1-10% de peso seco (Epstein, 1999; Müller 2003).

O acúmulo de sílica tem sido associado com uma variedade de funções, incluindo a proteção contra ataques de fungos, a resistência à perda de água, a estimulação da fotossíntese e apoio estrutural (Lux & Luxová et al., 2003; Müller 2003; Hattori & Inanaga et al., 2005), além disso, a sílica tem um papel importante nas interações de herbivoria das plantas. Massey et al. (2006a, 2006b, 2007, 2008, 2009) mostraram em seus estudos, que o acúmulo de sílica em gramíneas proporciona um aumento de abrasividade na folha, causando o desgaste e deterioração das mandíbulas e impedimento a alimentação de insetos.

Direcionados por esse conhecimento prévio, foi estudada a morfologia das mandíbulas das operárias entre as castas de formigas cortadeiras de gramíneas e dicotiledôneas, *Atta bisphaerica* e *Atta sexdens rubropilosa* testando a hipótese de que existem diferenças morfológicas e essas diferenças estariam relacionadas com as tarefas que lhes são atribuídas, bem como os aspectos morfológico e químico das plantas forrageadas por essas espécies de formigas.

2 Material e Métodos

2.1 Morfometria mandibular

Para este estudo 2 espécies de formigas cortadeiras, *A. s. rubropilosa* e *A. bisphaerica*, foram utilizadas.

As colônias utilizadas foram provenientes do campo e de laboratório. Para coleta das operárias de *A. bisphaerica*, uma única câmara de fungo de um ninho adulto foi escavada, na Fazenda Santana, localizada nas proximidades da Fazenda Experimental Lageado da UNESP, no município de Botucatu-SP, cujas coordenadas geográficas são (22°50'46" S e 48°26'02" W). Sendo a vegetação predominante composta, principalmente por *Paspalum* sp. As operárias de *A. s. rubropilosa* foram oriundas de uma colônia adulta de laboratório. A classificação das operárias em castas foi realizada tomando-se por base o proposto por Wilson (1980a).

Para análise morfométrica realizou-se a dissecação de 50 indivíduos de cada classe de tamanho para retirada da mandíbula direita sob estereomicroscópio: jardineira (largura cabeça 0,8-1,2mm; n=50), generalistas (largura da cabeça 1,3-1,6mm; n=50), forrageiras (largura da cabeça 1,7-2,2mm; n=50) e soldados largura da cabeça $\geq 3,3$ mm; n=50).

Para montagem das lâminas foi utilizado esmalte incolor para unhas e as mandíbulas foram arranjadas antero-posteriormente nas lâminas, que após a montagem foram mantidas em temperatura ambiente até a secagem do esmalte.

As medidas foram feitas usando uma ocular micrométrica acoplada a um estereomicroscópio: (1) comprimento da mandíbula; (2) largura da mandíbula; (3) comprimento do primeiro dente; (4) comprimento do segundo dente; (5) número de dentes e (6) largura da cabeça (mm).

Para detectarmos diferenças na morfologia entre as mandíbulas de diferentes espécies de formigas, amostras constituídas da mandíbula direita das operárias de todas as classes de tamanho foram fixadas em glutaraldeído e enviadas ao Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da Unesp de Botucatu-SP (CME-IBB), para que

então fossem processadas e submetidas a microscopia eletrônica de varredura (MEV). E para detectar a ocorrência do desgaste a mandíbula de uma operária forrageira de *A. s. rubropilosa* com 1 dia de emergência também foi submetida a fixação e MEV.

Os dados obtidos com a morfometria das mandíbulas foram submetidos a análise de discriminação linear (LDA) através do programa R Studio.

2.2 Descrição morfológica do material vegetal forrageado

O estudo anatômico foi realizado no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Unesp de Botucatu-SP. Foram selecionados os materiais vegetais forrageados por 2 espécies de formigas cortadeiras: *A. bisphaerica* e *A. s. rubropilosa*.

Para a espécie *A. bisphaerica*, as amostras utilizadas foram coletadas a campo, junto à trilha de forrageamento próximo aos orifícios de entrada do ninho. Os ninhos ficam localizados em uma área de pastagem, sendo assim apenas uma espécie, *Paspalum* sp. vegetal foi coletada. Para *A. s. rubropilosa* as amostras foram coletadas em uma colônia de laboratório. O forrageamento foi realizado abrindo-se uma das conexões da colônia, dando acesso à uma bandeja onde as espécies vegetais, *Acalypha* sp., *Ligustrum* sp., *Eucalyptus* sp., *Citrus* sp., *Gmelina* sp. foram dispostas. À medida que eram cortados pelas operárias, os fragmentos eram então recolhidos.

Após serem coletados, os fragmentos foram fixados em FAA 50% por 24h e depois colocados em etanol 70%. Para os estudos morfológicos foram confeccionados, à mão livre e em micrótomo de ranvier, cortes transversais, que posteriormente foram clarificados com hipoclorito de sódio 20% por 1-5 minutos, lavados em água destilada, submetidos à coloração com safrablau (5 mL de solução aquosa de safranina 1% - 95 mL de solução aquosa de azul de Astra 1% - duas gotas de ácido acético glacial), montados em gelatina

glicerizada (Kraus e Arduin 1997) examinados ao microscópio de luz, onde os melhores cortes foram selecionados e fotografados.

2.3 Quantificação de silício no material vegetal forrageado

Para este estudo amostras das plantas forrageadas foram coletadas, secas em estufa com circulação de ar forçado (65 °C), moídas e encaminhadas ao laboratório de Relação Solo Planta do Departamento de Agricultura da Faculdade de Ciências Agronômicas - FCA-Unesp de Botucatu-SP. O procedimento de análise e determinação de silício no tecido vegetal foi realizado de acordo com o descrito por Elliott e Snyder (1991). As médias foram então submetidas a análise de variância (ANOVA One way), realizado pelo programa estatístico BioEstat 5.0.

3. Resultados

3.1 Morfometria das mandíbulas

Não foram encontradas diferenças na morfometria das mandíbulas entre as espécies estudadas. Sendo que dentro das espécies verificaram-se diferenças nas diferentes classes de tamanho. Os soldados (largura da cabeça $\geq 3,3$ mm) de ambas as espécies, apresentam mandíbulas maiores e mais robustas em relação às demais castas. As operárias forrageiras (largura da cabeça entre 1,7-2,2 mm) possuem mandíbulas com morfologia semelhante à dos soldados, menos robustas e menores, apresentando desgaste nos dentes (Figura 6-7), com um número médio de dentes de 7.78 ± 0.79 para *A. bisphaerica* e 8.36 ± 1.05 para *A. s. rubropilosa*. O desgaste nos dentes foi observado ao se comparar forrageiras adulta com idade não determinada (Figura 10) e adulta com 1 dia de emergência (Figura 11), onde claramente observa-se na figura 10 dentes levemente mais arredondados, provavelmente devido ao desgaste, em relação à figura 11, onde também é possível observar dentes mais pontiagudos e em maior número.

As generalistas (largura da cabeça entre 1,3- 1,6 mm) de *A. bisphaerica* apresentam mandíbulas mais alongadas em relação às de *A. s. rubropilosa* (Figura 4-5), sem apresentar desgaste nos dentes, embora a figura 4 o evidencie na espécie *A. bisphaerica*, a maioria das mandíbulas analisadas neste estudo não apresentava desgaste, atribui-se esse fato à provável erro durante o processamento para realização da microscopia eletrônica de varredura (MEV).

O padrão alongado nas mandíbulas de *A. bisphaerica* também foi observado nas jardineiras (largura da cabeça entre 0,8-1,2 mm) desta espécie (Figura 2-3). Não se observou desgaste nos dentes dessa classe de tamanho em ambas as espécies, sendo estes em maior número e mais pontiagudos em relação as outras castas analisadas (Tabela 1). Em todas as classes de ambas as espécies os dentes se apresentam com aspecto serrilhado, caracterizado pela progressiva redução de seu tamanho. A principal diferença entre eles é relacionada ao dente distal sendo maior que os demais.

A análise de discriminação linear explica mais de 94% da variabilidade entre os grupos (espécies e castas), sendo adequada para esses dados. Dessa forma, os coeficientes lineares foram extraídos de cada variável (a posição de cada variável no espaço multidimensional – 6 dimensões), posteriormente, aplicando-se uma função genérica para prever as probabilidades baseado nestes valores. As probabilidades foram para *A. bisphaerica* B_S (soldado de *A. bisphaerica*) =0.94; B_F (forrageiras de *A. bisphaerica*) =0.96; B_G (generalistas de *A. bisphaerica*) =0.86; B_J (jardineiras de *A. bisphaerica*) =0.68, e para *A. s. rubropilosa* S_S (soldados de *A. s. rubropilosa*) =1.00; S_F (forrageiras de *A. s. rubropilosa*) =0.92; S_G (generalistas de *A. s. rubropilosa*) =0.86, S_J (jardineiras de *A. s. rubropilosa*) =0.70. Portanto, as medidas do comprimento da mandíbula (CM), largura da capsula cefálica (CC) e largura da mandíbula (LM) foram, por exemplo, 100%

na identificação de S_S e 94% para B_S. Seguido das forrageiras de ambas as espécies (B_F = 96% e S_F = 92%). Posteriormente por generalistas, e por último as jardineiras.

Assim, evidencia-se que não há aparentemente diferenças entre espécies. Mas há, aparentemente, diferenças entre castas que se mantêm entre as espécies. O gráfico de LDA ilustra as probabilidades previstas no modelo, por exemplo, 100% dos valores de S_S são da mesma cor, porém, alguns valores de B_S estão dentro de S_S (em cinza) (Figura 1).

3.2 Descrição morfológica do material vegetal forrageado

1. *Acalypha* sp.

O limbo foliar de *Acalypha* sp. apresenta epiderme unisseriada revestida por cutícula moderadamente espessa. Os estômatos ocorrem na face abaxial da folha e estão dispostos no mesmo nível das demais células epidérmicas (Figuras 12).

O mesofilo é dorsiventral constituído por uma a duas camadas de parênquima paliádico e três a quatro camadas de parênquima lacunoso (Figura 13). Idioblastos com cristais de cálcio são observados no mesofilo (Figura 13). Pequenos feixes vasculares distantes um do outro são observados no mesofilo.

Na região da nervura principal (Figuras 14), o córtex é constituído por quatro a cinco camadas de colênquima do tipo angular e seis a sete camadas de parênquima. O sistema vascular é constituído por floema e xilema, não tendo sido observada zona cambial instalada. Chama atenção a escassez de lignificação, sendo os elementos de vaso do xilema as únicas células com paredes lignificadas.

2. *Gmelina* sp.

O limbo foliar de *Gmelina* sp. apresenta epiderme unisseriada (Figuras 15-16) revestida por cutícula pouco espessa. Os estômatos ocorrem na face abaxial da folha e estão dispostos no mesmo nível das demais células epidérmicas. Tricomas tectores e

glandulares são observados em ambas as faces do limbo foliar (Figura 17), sendo mais abundantes na face abaxial da folha. Chama atenção a escassez de lignificação, sendo os elementos de vaso do xilema as únicas células com paredes lignificadas.

O mesofilo é dorsiventral e constituído por uma a duas camadas de parênquima paliádico e por três a quatro camadas de parênquima lacunoso com espaços intercelulares reduzidos (Figura 16). Os feixes vasculares são envoltos externamente pela bainha do feixe (Figura 17) que se estende em direção às faces abaxial e adaxial do limbo foliar.

Na região da nervura principal (Figura 18), muitos tricomas tectores e glandulares são observados em ambas as faces da folha. O córtex é constituído por cerca de quatro camadas de células de colênquima do tipo angular e quatro a cinco camadas de células de parênquima. O sistema vascular é constituído por floema e xilema. Chama atenção a escassez de lignificação, sendo os elementos de vaso do xilema as únicas células com paredes lignificadas.

3. *Citrus* sp.

O limbo foliar de *Citrus* sp. apresenta epiderme unisseriada (Figura 19) revestida por cutícula espessa. Os estômatos ocorrem na face abaxial da folha e estão dispostos no mesmo nível das demais células epidérmicas. Idioblastos contendo cristais prismáticos de oxalato de cálcio são observados na epiderme em ambas as faces da folha (Figuras 21-22).

O mesofilo é dorsiventral com duas a três camadas de parênquima paliádico e de dez a onze camadas de parênquima lacunoso (Figura 20). Cavidades secretoras de óleo são observadas subjacentes à epiderme, sendo mais comuns na face adaxial da folha (Figura 20). Células contendo ráfides são observadas no mesofilo em cortes sem coloração (Figura 22). Os feixes vasculares imersos no mesofilo são envoltos por calotas de fibras lignificadas.

Na região da nervura principal (Figuras 23-24), córtex é constituído por cerca de cinco camadas de colênquima e cinco camadas de parênquima. O sistema vascular é envolto externamente por uma calota constituída por quatro a cinco camadas de fibras lignificadas. Observa-se zona cambial instalada entre o xilema e floema (Figuras 24).

4. *Eucalyptus* sp.

O limbo foliar de *Eucalyptus* sp. apresenta epiderme unisseriada revestida por cutícula espessa. Os estômatos ocorrem em ambas as faces do limbo foliar e estão dispostos no mesmo nível das demais células epidérmicas (Figuras 25-26).

O mesofilo é isolateral constituído por cinco a seis camadas de parênquima paliádico (Figuras 27-28). Cavidades secretoras de óleo são observadas subjacentes à epiderme e são mais abundantes na porção adaxial do limbo foliar (Figuras 25-26). Os feixes vasculares apresentam calotas de fibras lignificadas. Nos feixes de médio calibre, observa-se um prolongamento da bainha dos feixes vasculares em direção às faces abaxial e adaxial do limbo foliar, chegando até as células epidérmicas (Figura 28).

Na região da nervura principal (Figuras 29-30) o córtex é constituído por três a quatro camadas de colênquima e quatro a cinco camadas de parênquima. Entre o xilema e o floema observa-se zona cambial instalada.

5. *Ligustrum* sp.

O limbo foliar de *Ligustrum* sp. apresenta epiderme unisseriada revestida por cutícula delgada (Figura 31). Os estômatos ocorrem na face abaxial da folha e estão dispostos no mesmo nível das demais células epidérmicas (Figura 32). Tricomas glandulares sésseis são observados em ambas as faces do limbo foliar e estão inseridos em pequenas reentrâncias da epiderme (Figura 31).

O mesofilo é dorsiventral com uma a duas camadas de parênquima paliádico e de cinco camadas de parênquima lacunoso constituído por células de formato regular (Figura 32). Os feixes vasculares imersos no mesofilo são pequenos e próximos entre si.

Na região da nervura principal (Figura 33), córtex é constituído por duas a três camadas de colênquima e cerca de oito camadas de parênquima. Entre floema e xilema observa-se zona cambial instalada.

6. *Paspalum* sp.

A lâmina foliar de *Paspalum* sp. apresenta epiderme unisseriada (Figura 34), constituída por células epidérmicas comuns com paredes lignificadas. Na face adaxial do limbo foliar, ocorrem agrupamentos de células buliformes. Os estômatos estão presentes em ambas às superfícies do limbo foliar (Figura 34).

No mesofilo, as células do parênquima clorofiliano dispõem-se radialmente ao redor dos feixes vasculares, caracterizando anatomia Kranz. A endoderme é bem delimitada ao redor dos feixes vasculares. Grupos de fibras com paredes lignificadas envolvem xilema e floema. Os feixes vasculares estão próximos entre si. Nas regiões mais salientes do limbo foliar, onde se localizam os feixes vasculares de médio e grande calibre, grupos de fibras ocorrem subjacentes à epiderme.

3.3 Quantificação de silício no material vegetal forrageado

Foi detectado diferença significativa no teor médio de silício entre as espécies vegetais (ANOVA, $F_{6,14} = 16.6624$, $p < 0.0001$). A espécie *Paspalum* sp. (10515.6 ± 863.2 mg Kg⁻¹) não diferiu da espécie *Gmelina* sp. (9601.0 ± 686.0 mg Kg⁻¹) e *Saccharum officinarum* (9601.3 ± 1028.5 mg Kg⁻¹), porém diferiu das espécies *Ligustrum* sp. (6515.0 ± 343.0 mgKg⁻¹), *Citrus* sp. (7887.0 ± 686.0 mgKg⁻¹), *Acalypha* sp. (6858.0 ± 343.0 mgKg⁻¹) e *Eucalyptus* sp. (6972.3 ± 523.9 mgKg⁻¹) (Tukey pos test, $p < 0.001$). A espécie

vegetal *Gmelina* sp. diferiu das espécies *Ligustrum* sp., *Acalypha* sp. e *Eucalyptus* (Tukey pos test, $p < 0.001$), mas não das espécies *Citrus* sp. e *Saccharum officinarum*. A espécie vegetal *Ligustrum* sp. diferiu da espécie *Saccharum officinarum*, (Tukey pos test, $p < 0.001$), sendo que a *Saccharum officinarum* diferiu das espécies *Acalypha* sp. e *Eucalyptus* sp. (Tukey pos test, $p < 0.001$).

4 Discussão

Com base nos resultados obtidos, refuta-se parcialmente a hipótese da morfofuncionalidade das mandíbulas das cortadeiras de folhas largas (*A. s. rubropilosa*) e gramíneas (*A. bisphaerica*), ou seja, diferenças morfológicas associadas às diferenças comportamentais das espécies. Essa hipótese foi aventada por Fowler *et al.* (1986), baseando-se em diferenças morfológicas desses grupos, ou seja, espécies que cortam preferencialmente gramíneas, as forrageiras tendem a ser mais robustas (pernas metatorácicas menores) com mandíbulas mais curtas, em relação as forrageiras de folhas largas, as quais tendem a ser maiores (pernas metatorácicas mais longas) com mandíbulas menos maciça. Dessa forma, as forrageiras cortam a vegetação diferentemente. Por exemplo, durante o forrageamento, *Atta capiguara* orienta-se na posição descendente durante o corte da lamina foliar de gramíneas, realizando o corte, e imediatamente retornando ao ninho. Já as cortadeiras de folhas largas, as pernas metatorácicas servem como um pivô durante o corte, e suas mandíbulas deslizam na lamina foliar realizando o corte. Durante o cultivo do fungo simbiote, também observa-se uma diferenciação comportamental entre as cortadeiras de gramíneas e folhas largas (Lopes, 2004), ou seja, as cortadeiras de folhas largas apresentam um maior grau de processamento do material forrageado, como se fosse uma trituração antes de incorporar o fungo simbiote. As

cortadeiras de gramíneas apresentam um menor grau de processamento vegetal, ou seja, as lâminas foliares são dispostas sob o jardim de fungo, com posterior incorporação do fungo simbiote.

No presente estudo não foi observado uma diferenciação morfológica entre as espécies, suportado pela análise de discriminante linear, que não detectou variação entre os caracteres avaliados, apenas entre as castas (Figura 1). Provavelmente, esses resultados estão relacionados ao passado evolutivo recente de ambas espécies. Sabe-se que o gênero *Atta* é monofilético (Bacci et al. 2009), com a radiação adaptativa relativamente recente, há cerca de 8 a 13 milhões de anos atrás (Brady *et al.*, 2006). Entretanto, radiação adaptativa é baseada nas relações filogenéticas das espécies e não da datação de fósseis conhecidos de *Atta*, o qual é escasso para o gênero, sendo apenas conhecido um traçado fóssil do ninho de *Atta* do Mioceno, localizado na Patagônia, Argentina (Laza, 1982).

Apesar dessa relação filogenética íntima das espécies estudadas (*A. s. rubropilosa* e *A. bisphaerica*) e seu recente passado evolutivo, refletindo em uma similaridade morfológica das mandíbulas, ao menos, pelos caracteres avaliados (Tabela 1), essas espécies apresentam uma ampla distribuição pelo Neotrópico, diferenciação na nidificação, preferência alimentar e comportamento. A cortadeira de gramínea *A. bisphaerica* está restrita apenas ao Brasil (Wilson, 1986), em especial nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Mato Grosso do Sul (Forti & Boaretto, 1997), já *Atta sexdens* e suas subespécies estão distribuídas desde a Costa Rica à Argentina e Paraguai (Wilson, 1986), sendo a *A. s. rubropilosa* com ocorrência nas regiões Centro Oeste e Sudeste (Forti & Boaretto, 1997). Pode-se dizer que a nidificação é um resultado do bioma em que se encontram, sendo que os ninhos de *A. bisphaerica* são pouco profundos e geralmente em áreas abertas, como por exemplo em pastagens, e com grande incidência de insolação, já

em *A. s. rubropilosa* a nidificação ocorre somente em áreas sombreadas, como bosques nativos e florestas de eucalipto, sendo relativamente mais profundos (Forti et al., 2011).

A preferência alimentar é distinta entre as espécies, sendo que *A. s. rubropilosa* forrageiam preferencialmente plantas dicotiledôneas, e *A. bisphaerica* preferencialmente gramíneas (Fowler, et al. 1986), um resultado do Bioma em que se encontram. A estrutura morfológica das lamina foliares das plantas preferidas sustenta a diferenciação no comportamento de corte e cultivo do fungo simbiote pelas operárias. As plantas de gramíneas são extremamente vascularizadas e lignificadas, já as folhas das plantas dicotiledôneas apresentam uma disposição não agrupada dos feixes (anatomia Kranz) e com uma menor lignificação. A descrição morfológica detalhada pode ser encontrada nas figuras 12-18, 19-24, 25-30, 31-37, das folhas de maior preferência das operárias de formigas cortadeiras *A. s. rubropilosa* e *A. bisphaerica*. Esses resultados corroboram com o fato das cortadeiras de gramíneas apresentarem um processamento menos minucioso do material vegetal em comparação as cortadeiras de folhas largas, visto a maior dureza e resistência ao corte das mesmas.

Adicionalmente, um estudo do teor de silício das plantas preferidas, em que claramente as gramíneas apresentaram um maior teor de silício do que a maior parte das dicotiledôneas (Figura 38). O silício é conhecido por estar presente nos tecidos vegetais das plantas como um mecanismo de reduzir herbivoria pelos vertebrados (McNaughton & Tarrants, 1983) e invertebrados (Vicari & Bazely, 1993), por meio do aumento de resistência ao corte e seu efeito abrasivo nas mandíbulas, atuando como deterrente alimentar (Massey et al. 2006a). Esse efeito abrasivo foi observado nas mandíbulas das forrageiras de *A. bisphaerica* e *A. s. rubropilosa*, as quais apresentaram um severo desgaste nos dentes mandibulares, quando comparadas as demais castas (Figura 6-7) e a uma

forrageira recém emergida (Figura 10-11). Uma forma de reduzir o efeito abrasivo das mandíbulas é a incorporação de componentes inorgânicos nas mandíbulas, tornando-as mais resistentes ao interagir com o ambiente. Por exemplo, *A. s. rubropilosa* apresenta uma alta correlação entre a dureza da mandíbula e o conteúdo de Zinco (Schofield, 2002), porém esse enriquecimento mineral é desconhecido para as espécies que cortam gramíneas, as quais forrageiam plantas com alto teor de Silício.

A diferenciação morfológica entre as castas é notório em ambas espécies estudadas (Figura 2-3, 4-5, 6-7, 8-9, 10-11), como suportado pela análise de discriminante linear. As jardineiras são as menores operárias e sempre estão no interior do ninho, apresentam-se em maior quantidade, as tarefas típicas atribuídas a esse conjunto de operárias ocorrem exclusivamente dentro dos ninhos, como por exemplo o cuidado com a prole e tratamento final do substrato e inoculação de hifas nos fragmentos incorporados no jardim de fungos (Wilson, 1983), e suas mandíbulas são diminutas e menos esclerotizadas, e em *A. bisphaerica* são mais alongadas em relação as outras castas, visto que suas tarefas são as mais laboriosas e minuciosas e seus dentes não apresentam desgaste (Figuras 2-3). As generalistas executam um número relativamente maior tarefas, que incluem desde a eliminação de resíduos da colônia, cuidado com a prole e rainha até tarefas relacionadas ao cultivo do fungo simbiote (Wilson, 1983). A mandíbula das generalistas de *A. bisphaerica* são visivelmente mais alongadas que as de *A. s. rubropilosa* (Figura 4-5). Essas duas classes de tamanho são predominantes dentro da população de uma colônia de formigas cortadeiras e durante o processo de incorporação de vegetais são responsáveis por um grande número de tarefas relacionadas com a preparação do vegetal (Peregrine & Cherrett, 1974, 1976, Littleddyke & Cherrett, 1976). O referido alongamento na morfologia das mandíbulas, observado apenas nas jardineiras e generalistas de *A. bisphaerica* pode

estar relacionado com a forma de processamento das gramíneas. As lâminas de gramíneas não são repicadas e processadas antes da incorporação, como é observado com fragmentos de folhas de dicotiledôneas, que após processadas pelas operárias ficam com aspecto de polpa, o que segundo Lopez *et al* (2004), facilitaria a implantação de tufos de hifas. As forrageiras são as operárias cuja função é explorar, escavar, recrutar outras formigas e principalmente o corte da nova vegetação (Wilson, 1983), ou seja, em ambas as espécies estudadas, essas operárias não estão envolvidas nas atividades mais laboriosas do processamento vegetal e sim na exploração e corte do mesmo. Podendo-se inferir que a mandíbula dessas operárias apresentam tão acentuado desgaste em seus dentes (Figura 6-7) devido às funções que lhe são atribuídas. O que fica explícito quando se compara mandíbulas de operárias com diferentes idades (Figura 10-11). Aos soldados atribui-se como tarefa a defesa do ninho (Wilson, 1983), o que exige mandíbulas maiores e mais robustas (Figura 8-9) e assim como as forrageiras, este grupo não está envolvido no processamento vegetal, não havendo então diferenciação morfológica entre as espécies.

Mandíbulas de formigas e as suas estruturas acessórias formar um sistema simples capaz de gerar uma vasta gama de movimentos. As formigas em geral, usam as mandíbulas para praticamente qualquer tarefa, incluindo-captura de presas, luta, de corte de folha, cuidado ninhada e comunicação. Mesmo sendo ferramentas importantes para muitas tarefas (Hölldobler & Wilson, 1990; Paul, 2001), poucas informações sobre sua morfologia estão descritas, e não fornecem informações quantitativas sobre como elas diferem. A especialização da mandíbula não é dependente apenas da morfologia, mas também está relacionada com a velocidade de movimento e na força que as mandíbulas podem gerar. Por exemplo, capturar uma presa, obviamente, requer diferentes características de movimento das exigidas para quebrar sementes (Paul, 2001). Assim, os padrões de nervura

exibidos por gramíneas e dicotiledôneas também devem influenciar a especialização da mandíbula. Apesar de refutar a hipótese de morfofuncionalidade das mandíbulas, baseado nos dados de morfometria mandibular, anatomia e quantificação do silício do material vegetal forrageado, um estudo adicional deverá ser realizado levando em consideração: o tamanho corporal das forrageiras, a robustez e resistência (teor de Zn) das mandíbulas, força empregada no corte e o biomecânica das mandíbulas.

5. Referências Bibliográficas

- Andrade, A. P. P.; Forti, L. C.; Moreira, A. A.; Boaretto, M. A. C.; Ramos, V. M. & Matos, C.A.O. (2002). Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. *Sociobiology* 40(2): 293-306.
- Bacci, M.; Solomon, S. E.; Mueller, U. G.; Martins, V. G.; Carvalho, A. O. R.; Vieira, L. G. E.; Silva-Pinhati, A. C. O. (2009). Phylogeny of leafcutter ants in the genus *Atta Fabricius* (Formicidae: Attini) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 51: 427-437.
- Brady, S.G.; Schultz, T.R.; Fisher, B.L.; Ward, P.S. (2006). Evaluating alternative hypotheses for the early evolution and diversification of ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:18172– 18177.
- Camargo, R. S.; Forti, L. C.; Lopes, J. F.; Andrade, A. P. P.; Ottati, A. L. T. (2007). Age polyethism in the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel, 1911 (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Applied Entomology* 131:139 – 145.
- Diniz, E. A. & Bueno, O. C. (2009). Substrate Preparation Behaviors for the Cultivation of the Symbiotic Fungus in Leaf-Cutting ants of the Genus *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 53: 651-666.
- Diniz, E. A. & Bueno, O. C. (2010). Evolution of Substrate Preparation Behaviors for Cultivation of Symbiotic Fungus in Attine Ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior* 23: 205-214.
- Elliott, C.L. & Snyder, G.H. (1991). Autoclave-induced digestion for the colorimetric determination of silicon in rice straw. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, Washington 39:1118-1119.
- Epstein, E. (1999). "SILICON." *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50(1): 641-664.
- Forti, L.C., & Boaretto, M.A.C. (1997). Formigas cortadeiras: biologia, ecologia, danos e controle. Botucatu: Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Estadual Paulista, 61p.
- Forti, L.C.; Camargo, R.S.; Matos, C.A.O.; Andrade, A.P.P. & Lopes, J.F. (2004). Aloetismo em *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel (Hymenoptera, Formicidae), durante o forrageamento, cultivo do jardim de fungo e devolução dos materiais

forrageados. *Revista Brasileira de Entomologia* 48 (1): 59-63.

Forti, L.C., A.A. Moreira, A.P.P. Andrade, M.A. Castellani & N. Caldato. (2011). Nidificação e Arquitetura de Ninhos de Formigas-Cortadeiras. p.102-125, In: Della Lucia, T.M.C. Formigas-Cortadeiras da Bioecologia ao Manejo. Viçosa: Ed. UFV.

Fowler, H.G.; Silva, P.; Forti, L.C.; Pereira da Silva, V. & SAES, N.B. (1986) Economics of grass-cutting ants. In: Lofgren, C.S. & Vander Meer, R.K. Fire ants and leaf-cutting ants: Biology and management. Westview Press, Boulder, 18-35p.

Fowler, H.G. (1983). Distribution patterns of Paraguayan leaf-cutting ants (*Atta* and *Acromyrmex*) (Formicidae: Attini). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 18: 121-138

Hattori, T.; Inanaga, S.; Araki, H.; An, P.; Morita, S.; Luxová, M. & Lux, A. (2005). Application of silicon enhanced drought tolerance in *Sorghum bicolor*. *Physiologia Plantarum* 123(4): 459-466.

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

Kraus, J. E. & Arduin, A. (1997). Manual básico de métodos em morfologia vegetal.

Rio de Janeiro, Seropédica.

Laza, J.H., (1982). Signos de actividad atribuibles a *Atta* (Myrmicidae, Hymenoptera) en el Mioceno de la provincia de La Pampa, Republica Argentina. *Ameghiniana* 19:109–124.

Littleddyke, M. & Cherrett, J.M. (1976). Direct ingestion of plant sap from cut leaves by the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae, Attini). *Bulletin of Entomological Research* 66:205-217.

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

Lopes, J.F.S. (2004). Diferenciação comportamental de espécies de *Acromyrmex* spp. (Mayr, 1865) (hymenoptera, Formicidae) cortadeiras de monocotiledôneas e dicotiledôneas. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Botucatu – SP, Universidade Estadual Paulista, 93p.

Lux, A.; Luxová, M.; Abe, J.; Tanimoto, E.; Hattori, T. & Inanaga, S. (2003). The dynamics of silicon deposition in the sorghum root endodermis. *New Phytologist* 158: 437–441.

Massey, F.P.; Ennos, A.R.; Hartley, S.E. (2006a). Silica in grasses as a defence against insect herbivores: contrasting effects on folivores and phloem feeder. *Journal of Animal Ecology* 75: 595-603.

Massey, F. P. & S. E. Hartley (2006b). Experimental Demonstration of the Anti-herbivore Effects of Silica in Grasses: Impacts on Foliage Digestibility and Vole Growth Rates. *Proceedings: Biological Sciences* 273(1599): 2299-2304.

Massey, F.P.; Ennos, R. & Hartley S.E. (2007). Herbivore specific induction of silica-based plant defences. *Oecologia* 152: 677-683

- Massey, F. P.; Smith, M. J.; Lambin, X. & Hartley, S. E. (2008). Are silica defences in grasses driving vole population cycles? *Biology Letters* 4:419–422.
- Massey, F. P. & S. E. Hartley (2009). Physical defences wear you down: progressive and irreversible impacts of silica on insect herbivores. *Journal of Animal Ecology* 78(1):281–291.
- Motomura, H.; Mita, N.; Suzuki M. (2002). Silica accumulation in long-lived leaves of *Sasa veitchii* (Carriere) Rehder (Poaceae-Bambusoideae). *Annals of Botany* 90(1):149 – 152.
- McCune B, & Mefford MJ. (2006). PC-ORD: multivariate analysis of ecological data. Version 5.14. Gleneden Beach, Oregon: MJM Software.
- McNaughton, S.J. & Tarrant, J.L. (1983). Grass leaf silicification natural selection for an inducible defense against herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA, Biological Sciences* 80:790–791.
- Müller, W. E. G. (2003). Silicon biomineralization: biology, biochemistry, molecular biology, biotechnology. Berlin, Springer.
- Peregrine, D.J. & Cherrett, J.M. (1974). A field comparison of the modes of action of aldrin and mirex for controlling colonies of the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae, Attini). *Bulletin of Entomological Research* 63:609–613.
- Peregrine, D.J. & Cherrett, J.M. (1976). Toxicant spread in laboratory colonies of the leaf-cutting ant. *Annals of Applied Biologists*, 84: 609–618.
- Paul, J. (2001). Comparative of Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology. *Science* 131(1): 7–20.
- Schofield, R. M.; Nesson, M. H.; Richardson, K. A. (2002) Tooth hardness increases with zinc-content in the mandibles of young adult leaf-cutter ants. *Naturwissenschaften*, 89(12): 579–83.
- Vicari, M. & Bazely, D. R. (1993). Do grasses fight back? the case for antiherbivore defenses. *Trends in Ecology & Evolution* 8(4): 137–141.
- Weber, N.A. (1956). Treatment of substrate by fungus-growing ants. *Anatomical Record* 125(3) 604–605.
- Wilson, E.O. (1980a). Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera, Formicidae). I: The overall pattern in *A. sexdens*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 7: 143–156.
- Wilson, E. O. (1983). Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera, Formicidae: *Atta*). IV: Colony ontogeny of *A. cephalotes*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 14: 55–60.

Tabela 1: Medidas morfométricas (média e desvio padrão) (mm) das mandíbulas e dentes de *Atta bisphaerica* e *Atta sexdens rubropilosa*.

Espécies de Formigas	Castas	Cápsula Cefálica	Comp. da Mandíbula	Largura da Mandíbula	Comp. 1º Dente	Comp. 2º Dente	Número de Dentes
<i>Atta bisphaerica</i>	Jardineiras	0.76±0.20	0.40±0.10	0.25±0.09	0.08±0.06	0.04±0.02	10.14±2.12
	Generalistas	1.29±0.10	0.67±0.06	0.46±0.04	0.20±0.04	0.09±0.03	7.92±0.73
	Forrageiras	2.13±0.19	0.99±0.08	0.70±0.06	0.26±0.05	0.13±0.04	7.78±0.79
	Soldados	4.79±0.43	1.58±0.08	1.11±0.07	0.49±0.07	0.14±0.03	7.78±0.68
<i>Atta sexdens rubropilosa</i>	Jardineiras	0.89±0.13	0.51±0.10	0.30±0.06	0.10±0.03	0.05±0.02	9.46±1.15
	Generalistas	1.32±0.08	0.65±0.06	0.40±0.05	0.13±0.03	0.07±0.02	8.84±1.08
	Forrageiras	2.02±0.18	0.88±0.11	0.52±0.07	0.17±0.05	0.09±0.03	8.36±1.05
	Soldados	3.79±0.23	1.54±0.07	0.94±0.05	0.41±0.04	0.17±0.03	8.64±0.80

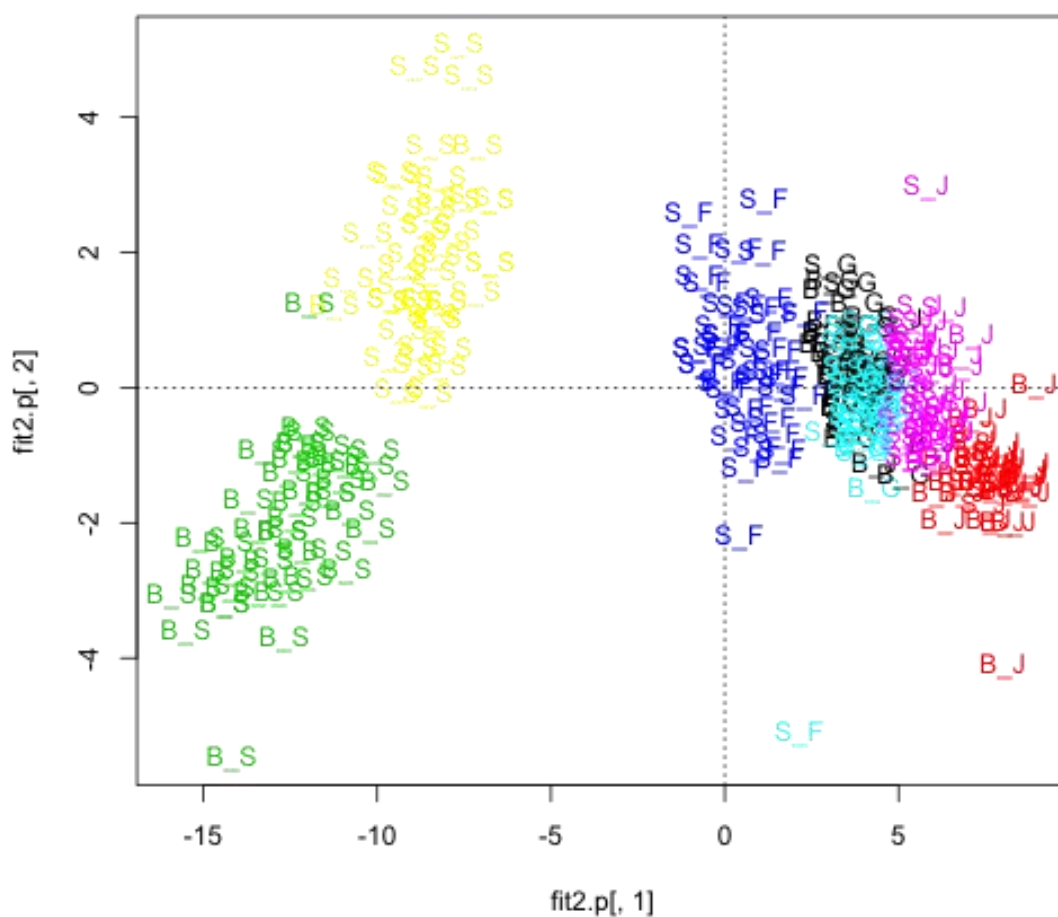


Figura 1. A análise de discriminação linear (LDA) das espécies de formigas. S_S: Soldados de *A. s. rubopilosa*; S_F: Forrageiras de *A. s. rubopilosa*; S_G: Generalistas de *A. s. rubopilosa*; S_J: Jardineiras de *A. s. rubopilosa*; B_G: Generalistas de *Atta bisphaerica*; B_F: Forrageiras de *A. bisphaerica*; B_J: Jardineiras de *A. bisphaerica*; B_S: Soldados de *A. bisphaerica*.

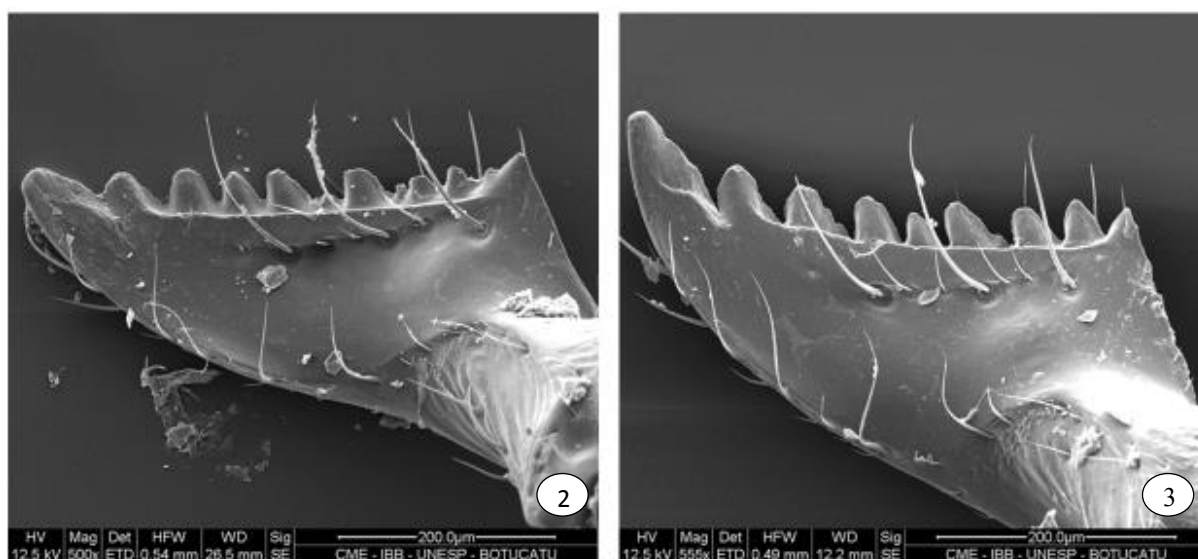


Figura 2-3. Face ântero-posterior da mandíbula direita de operárias jardineiras das espécies *Atta bisphaerica* (2) e *Atta sexdens rubropilosa* (3).

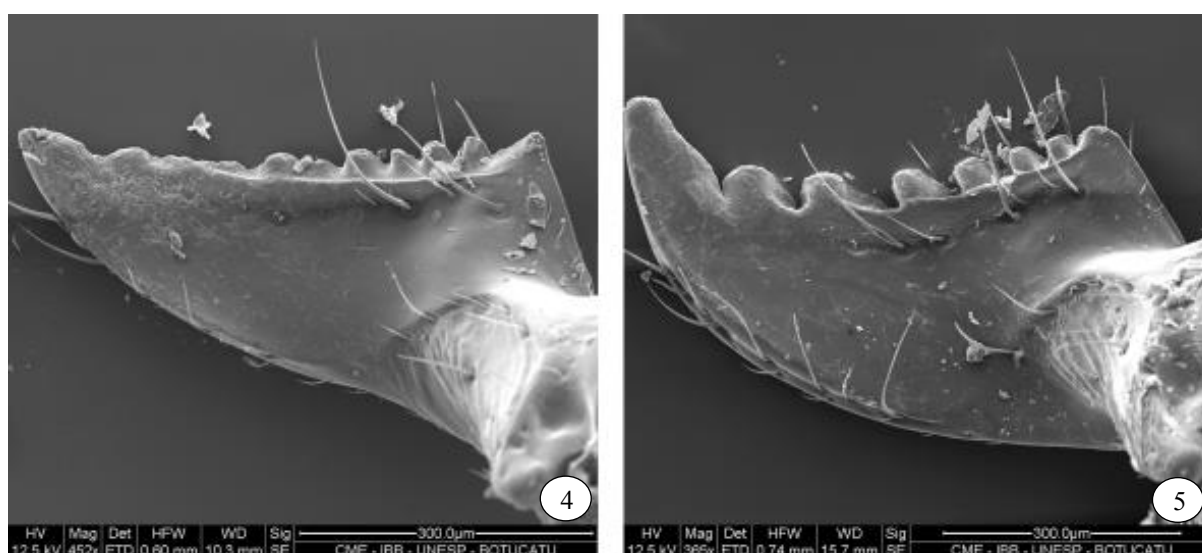


Figura 4-5. Face ântero-posterior da mandíbula direita de operárias generalistas de *A. bisphaerica* (4) e *A. s. rubropilosa* (5).

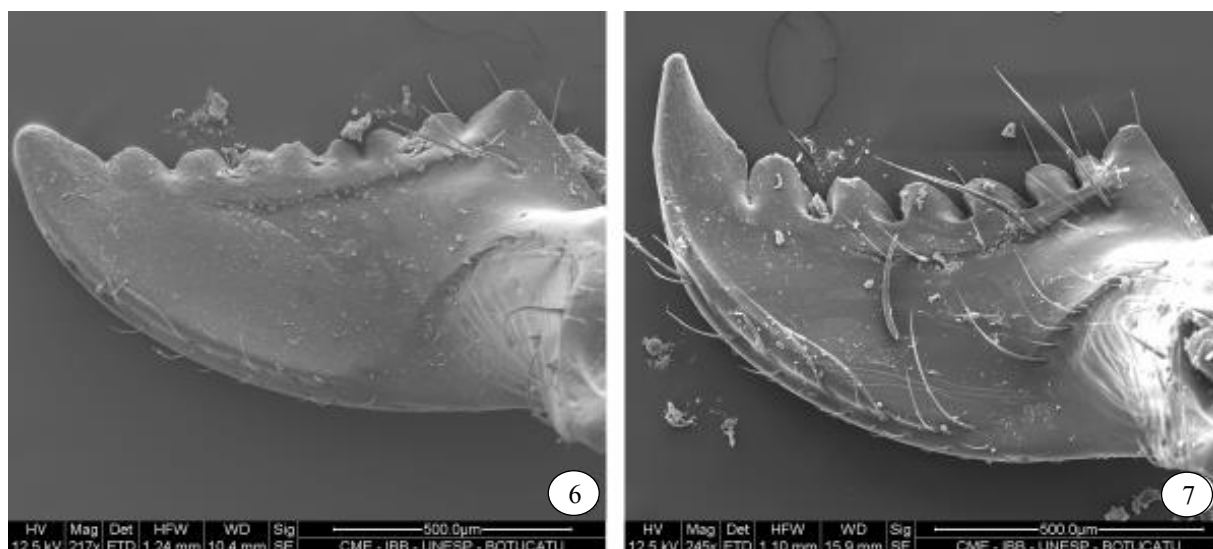


Figura 6-7. Face ântero-posterior da mandíbula direita de operárias forrageiras de *A. bisphaerica* (6) e *A. s. rubropilosa* (7).

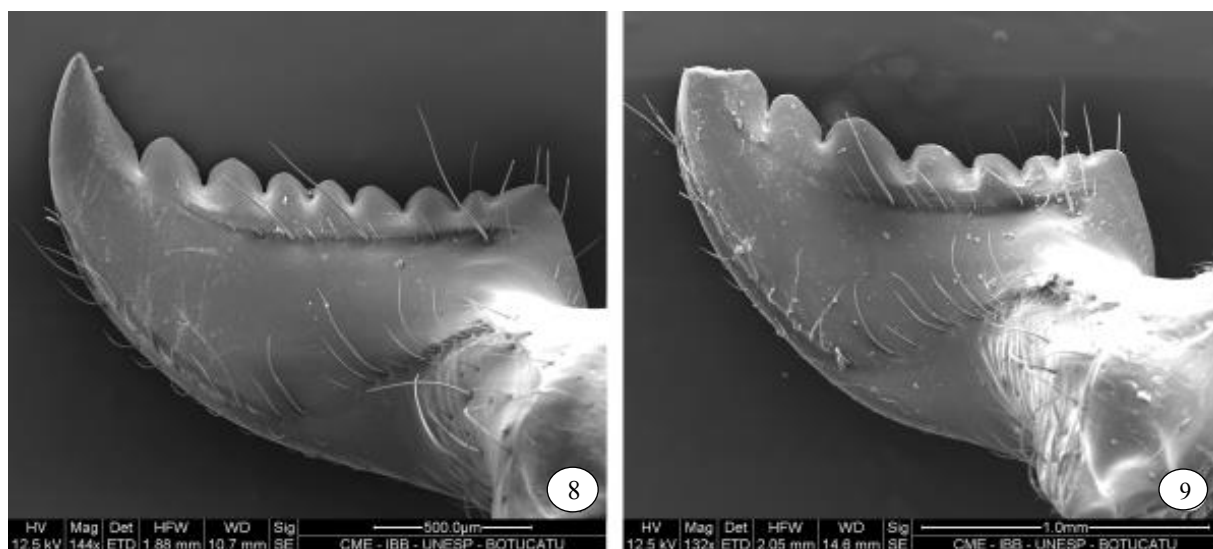


Figura 8-9. Face ântero-posterior da mandíbula direita de soldados de *A. bisphaerica* (8) e *A. s. rubropilosa* (9).

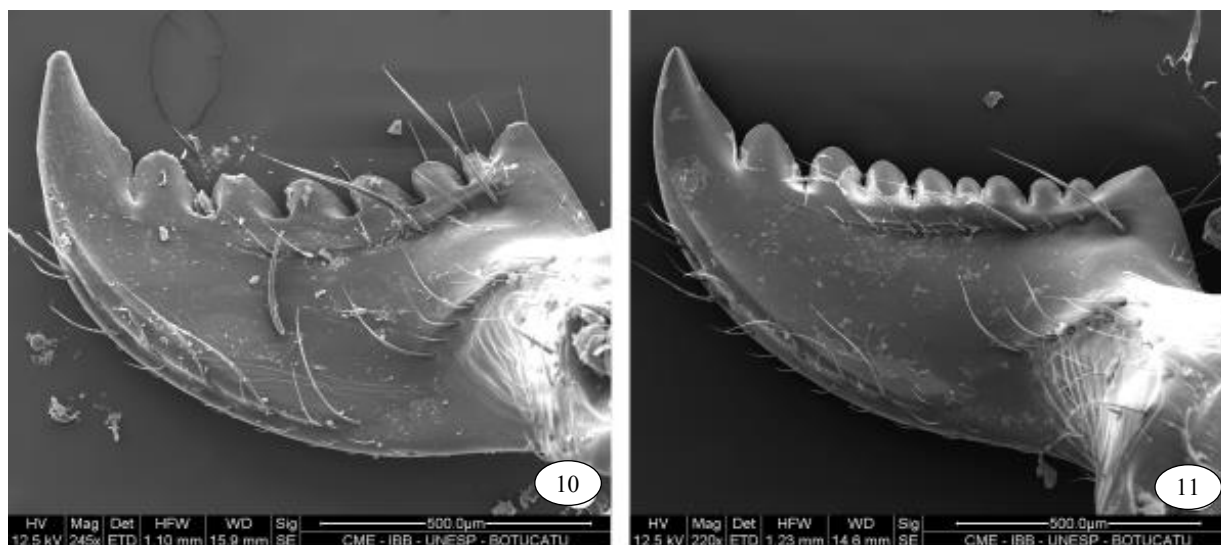


Figura 10-11. Face ântero-posterior da mandíbula de operárias forrageiras de *A. s. rubropilosa* com diferentes idades, evidenciando desgaste natural devido a atividade forrageira: Adulta sem idade determinada (10) e adulta com 1 dia de emergência (11).

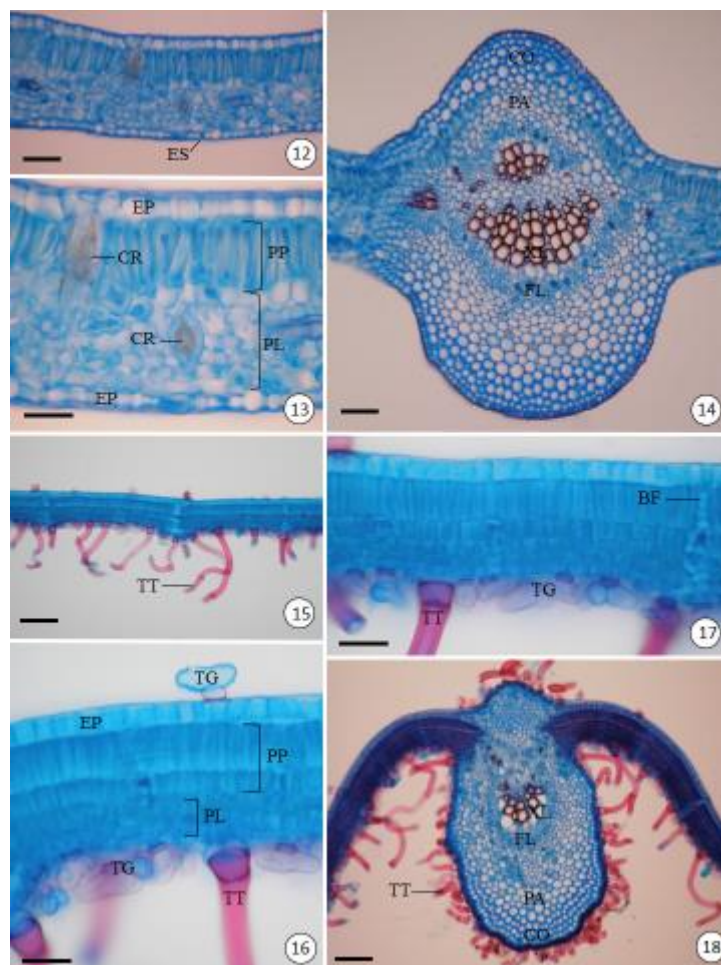


Figura 12-18. Seções transversais do limbo foliar de *Acalypha* sp (12-14) e *Gmelina* sp (15-18) coradas com Safrablau. 12. Aspecto geral mostrando epiderme unisseriada com estômatos (ES) na face abaxial e mesofilo dorsiventral. 13. Detalhe da figura anterior mostrando idioblastos com cristais no mesofilo. 14. Nervura principal mostrando tecidos vasculares e córtex constituído por colênquima e parênquima. 15. Aspecto geral mostrando onde se nota abundância de tricomas no limbo foliar. 16. Detalhe mostrando epiderme unisseriada e mesofilo dorsiventral. Observar abundância de tricomas tectores e glandulares. 17. Secção mostrando extensão da bainha do feixe vascular. 18. Nervura principal mostrando tecidos vasculares e córtex constituído por colênquima e parênquima. BF: bainha do feixe; CR: cristais; EP: epiderme; ES: estômato; FL: floema; PA: parênquima; PP: parênquima paliçádico; PL: parênquima lacunoso; TG: tricoma glandular; TT: tricoma tector; XL: xilema. Escalas: 12, 14, 15, 18= 150µm; 13= 50µm; 16, 17 = 150µm.

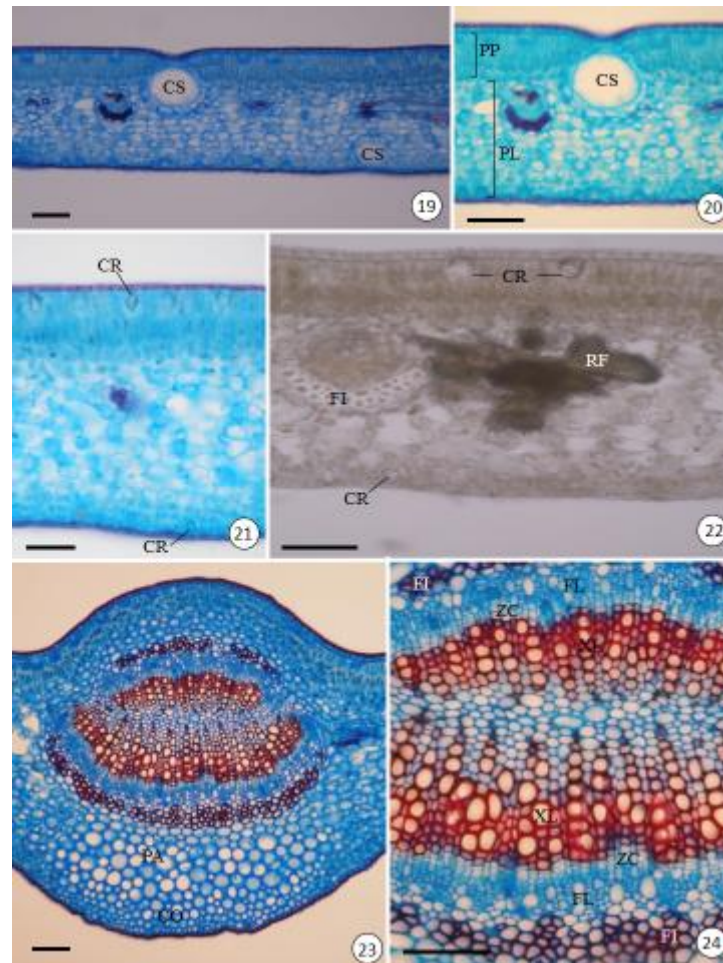


Figura 19-24. Secções transversais do limbo foliar de *Citrus* sp. coradas com Safrablau (19-21; 23-24) e sem coloração (22). 19. Aspecto geral mostrando mesófilo dorsiventral e cavidades de óleo. 20. Detalhe da figura anterior. 21. Secção mostrando cutícula espessa e idioblastos com cristais na epiderme. 22. Secção sem coloração mostrando idioblastos com cristais prismáticos na epiderme, cristais na forma de ráfides nas células do mesófilo e feixe vascular com calota de fibras. 23. Secção transversal da nervura central mostrando colênquima, parênquima e calota de fibras ao redor dos tecidos vasculares. 24. Detalhe da figura anterior mostrando zona cambial entre xilema e floema. CO: colênquima; CR: cristais prismáticos; CS: cavidade secretora; FI: fibras; FL: floema; PA: parênquima; PL: parênquima lacunoso; PP: parênquima paliçádico; RF: ráfides; XL: xilema; ZC: zona cambial. Escalas: 19, 23= 150µm; 20, 21, 22 ,24=100µm

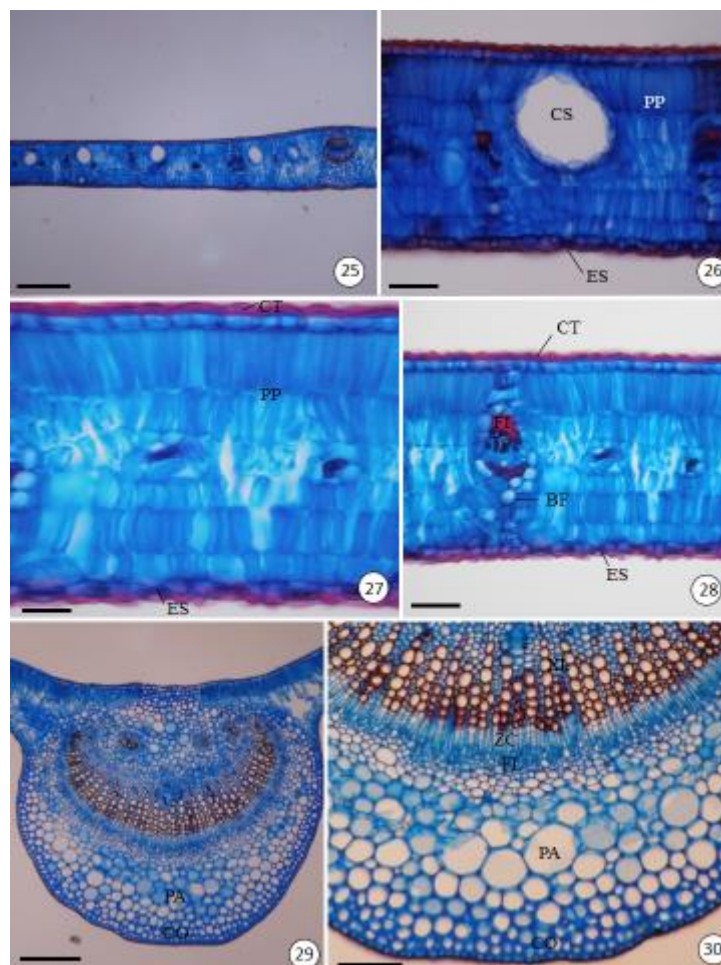


Figura 25-30. Secções transversais do limbo foliar de *Eucalyptus* sp. coradas com Safrablau. 25. Aspecto geral mostrando mesofilo isofacial, feixes vasculares e cavidades secretoras de óleo. 26. Detalhe da figura anterior mostrando epiderme unisseriada revestida por cutícula espessa, mesofilo isofacial e cavidade secretora de óleo. 27. Observar epiderme com cutícula espessa e células do parênquima paliçádico. 28. Detalhe mostrando feixe vascular com calota de fibras. Observar extensão da bainha do feixe. 29. Aspecto geral da nervura principal mostrando colênquima, parênquima e tecidos vasculares. 30. Detalhe da figura anterior mostrando zona cambial entre xilema e floema. BF: bainha do feixe vascular; CO: colênquima; CS: cavidade secretora; CT: cutícula; ES: estômato; FI: fibras; FL: floema; PA: parênquima; PP: parênquima paliçádico; XL: xilema; ZC: zona cambial. Escalas: 25, 29= 100µm; 26, 28= 100µm; 27, 30= 50µm.

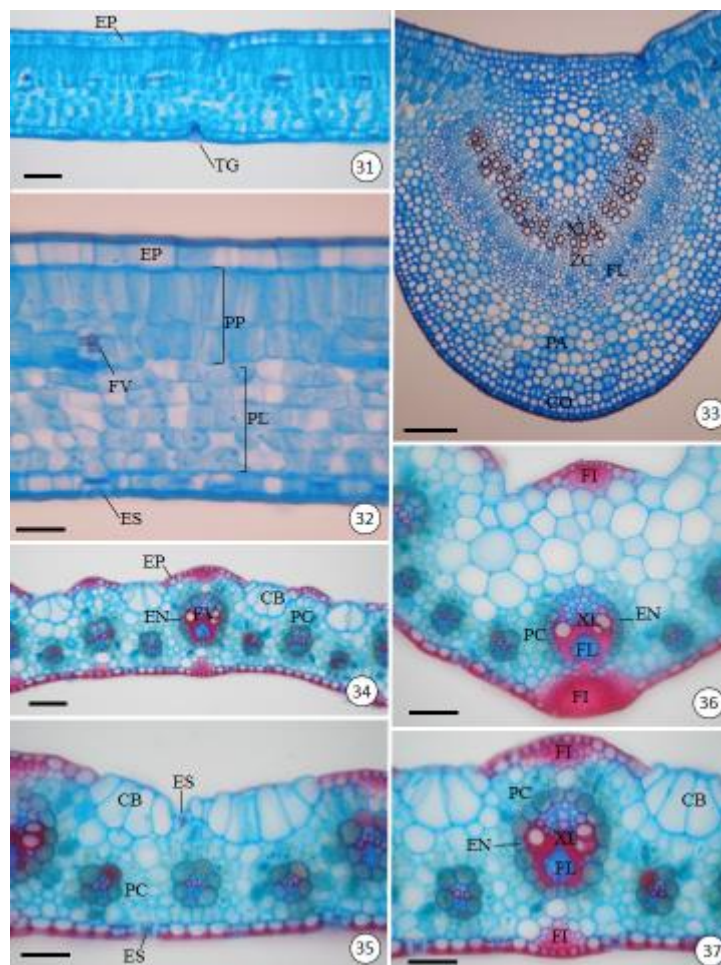


Figura 31-37. Seções transversais do limbo foliar de *Ligustrum* sp. (31-33) e de *Paspalum* sp. (34-37) coradas com Safrablau. 31. Aspecto geral da lâmina foliar mostrando epiderme unisseriada contendo tricomas glandulares e mesofilo dorsiventral. 32. Detalhe mostrando epiderme com estômato, parênquima paliçádico, parênquima lacunoso e feixe vascular de pequeno calibre. 33. Secção da nervura central mostrando colênquima, parênquima, floema, zona cambial e xilema. 34. Aspecto geral do limbo foliar mostrando epiderme com células comuns com paredes lignificadas e células buliformes volumosas e a organização radial do parênquima clorofiliano ao redor dos feixes vasculares. Observar a disposição dos feixes vasculares próximos entre si. 35-37. Detalhes mostrando epiderme com células comuns, estômatos e células buliformes; parênquima clorofiliano em disposição radiada ao redor dos feixes vasculares e endoderme bem delimitada. Observar grupos de fibras subjacentes à epiderme. CB: células buliformes; CO: colênquima; EN: endoderme; EP: epiderme; ES: estômato; FI: fibras; FL: floema; FV: feixe vascular; PA: parênquima; PC: parênquima clorofiliano; PL: parênquima lacunoso; PP: parênquima paliçádico; TG: tricoma glandular; XL: xilema; ZC: zona cambial. Escalas: 31, 33, 34= 150µm; 32, 35, 37= 100µm; 36= 50µm.

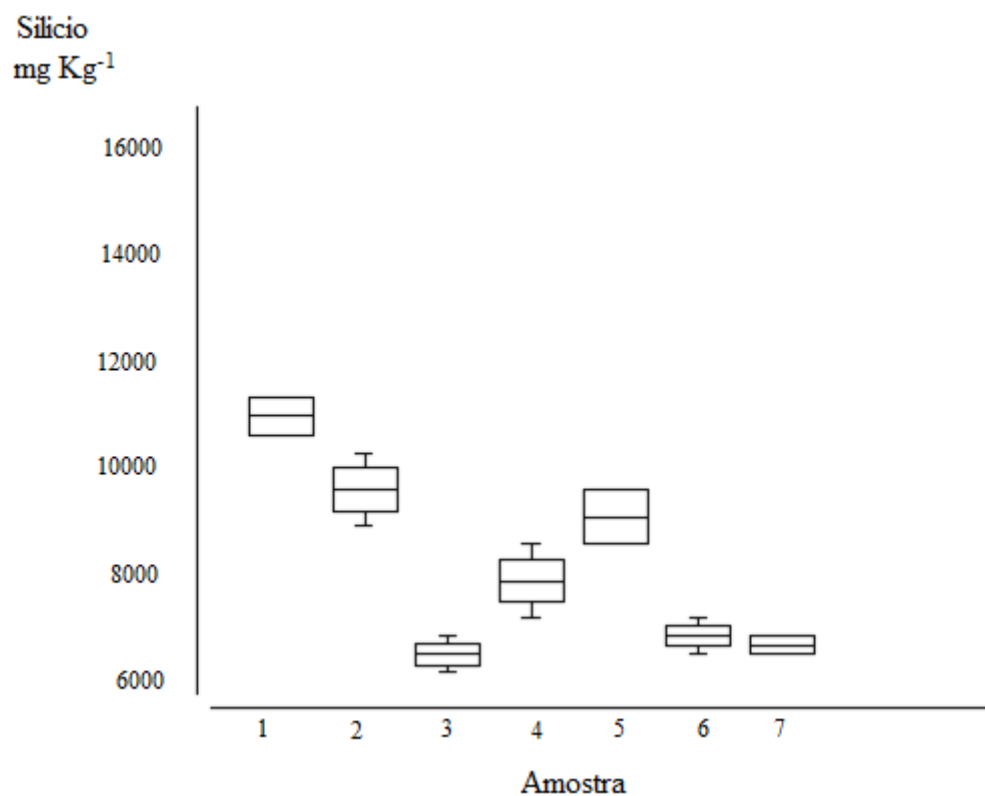


Figura 38. Teor médio (mg Kg⁻¹) e desvio padrão de silício encontrado no material vegetal forrageado por espécies de *Atta*. Amostra 1: *Paspalum* sp.; Amostra 2: *Citrus* sp.; Amostra 3: *Ligustrum* sp.; Amostra 4: *Gmelina* sp.; Amostra 5: *Saccharum officinarum*; Amostra 6: *Eucalyptos* sp.; Amostra 7: *Acalypha* sp.

5. CONCLUSÕES

As jardineiras e generalistas são os principais responsáveis pelo processamento dos substratos.

Não existem diferenças morfológicas entre as mandíbulas das espécies de formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa* e *Atta bisphaerica*.