

Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais - FCBA
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade - PPGECB

Devo ficar ou devo ir? Influência de pistas químicas na tomada de
decisão em formigas

Poliana Galvão dos Santos

Dourados-MS
Março 2020

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Poliana Galvão dos Santos

DEVO FICAR OU DEVO IR? INFLUÊNCIA DE PISTAS QUÍMICAS
NA TOMADA DE DECISÃO EM FORMIGAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal
da Grande Dourados (UFGD), como parte dos
requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM ENTOMOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.

Área de Concentração: Biodiversidade e
Conservação

Orientador: Dr. William Fernando Antonialli Junior

Dourados-MS
Março 2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S237p Santos, Poliana Galvao Dos

Devo ficar ou devo ir? Influência de pistas químicas na tomada de decisão em formigas [recursoeletrônico] / Poliana Galvao Dos Santos. -- 2020.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: William Fernando Antonialli Junior.

Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2020.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Ponerinae. 2. Myrmicinae. 3. Hidrocarbonetos cuticulares. 4. Hidrocarbonetos de pegadas. 5. Pistas químicas. I. Antonialli Junior, William Fernando . II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

**"DEVO FICAR OU DEVO IR? INFLUÊNCIA DE PISTAS QUÍMICAS NA TOMADA DE
DECISÃO EM FORMIGAS".**

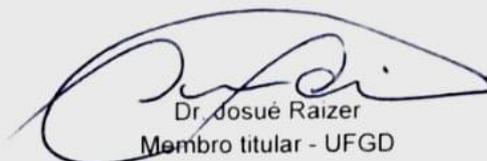
Por

POLIANA GALVÃO DOS SANTOS

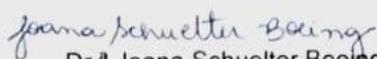
Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação



Dr. William Fernando Antonialli Junior
Orientador/Presidente - UEMS



Dr. Josué Raizer
Membro titular - UFGD



Dr.ª Joana Schuelter Boeing
Membro titular - UFGD

Aprovada em: 23 de março de 2020

Biografia da Acadêmica

Poliana Galvão dos Santos, natural de Tucumã – Pará, nascida no dia 25 de março de 1994, filha de Eleni Vieira Galvão e Joel Pereira dos Santos.

Cursou o ensino fundamental na Escola Municipal Pedro Domingos Cabral (1999 – 2003), e na Escola Municipal Madre Carolina de Jesus (2004 – 2007) em Ourilândia do Norte/PA. Cursou o ensino médio na Escola Estadual Dr. Romildo Veloso e Silva (2008), e no Colégio Pitágoras (2009 – 2010), em Ourilândia do Norte/PA. Fez curso técnico em Segurança do Trabalho, na escola técnica Vale dos Carajás (2011 – 2013) em Ourilândia do Norte/PA.

Graduada em Ciências Biológicas grau Bacharelado pela Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Unidade de Dourados (2014 – 2017), durante este período foi estagiária do Governo Estadual, exercendo atividades no Hemocentro Regional de Dourados (2014 – 2017).

Agradeço,

Primeiramente agradeço a Deus, como uma pessoa de fé, acredito que ele me ajudou em cada passo que dou em minha vida. Aos meus pais Eleni Vieira Galvão e Joel Pereira dos Santos que, mesmo sem nenhum grau acadêmico, sempre souberam que a educação era a única forma de transpor barreiras, e por isso investiram cada dia de suas vidas, desde o nascimento dos filhos para proporcionar a melhor educação que eles puderam. Sem esse amor, dedicação e cuidado meus sonhos não seriam possíveis.

Ao meu orientador, Prof Dr. William Fernando Antonialli Junior que mesmo sem nenhuma referência a meu respeito, me aceitou em seu laboratório e foi meu mentor desde então. Agradeço pela confiança, paciência por me atender aos sábados e feriados quando os experimentos não davam certo, por disponibilizar livros que me ajudaram a desenvolver o trabalho, e por contribuir com sua vasta experiência na minha formação acadêmica. Saiba que pode dormir tranquilo, porque como educador você fez total diferença na minha vida, se a educação transforma agradeço por você fazer parte dessa mudança que me tornei.

À minha irmã Elane Galvão dos Santos que me ajudou subindo em árvores para coletar formigas arborícolas, segurou a lanterna quando as coletas eram noturnas, comprava pizza quando as coletas não eram bem sucedidas. Muito obrigada por ser meu braço direito na vida, sem sombra de dúvidas este trabalho não seria concretizado sem a sua contribuição.

Ao meu namorado Luiz de Souza Silva que é uma das pessoas mais doces e amáveis que conheci, com sua leveza e parceria sempre se mostrou aberto para ouvir sobre o meu trabalho e arriscar algumas sugestões. Contribuiu muito para a minha saúde mental, obrigada por seu companheirismo e compreensão.

À Prof. Dra. Cláudia Andrea Lima Cardoso, por me ensinar a extrair e tratar os dados de cromatografia, e por sempre estar disposta a esclarecer minhas dúvidas durante todo o desenvolvimento do trabalho.

Ao prof. Dr. Josué Raizer e a Dra. Joana Shuelter Boeing pela participação em minha banca de qualificação, pelas sugestões feitas para melhora de minha dissertação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados pela oportunidade.

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul e ao Laboratório de Ecologia Comportamental- LABECO pelo apoio técnico.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

À Dra. Ingrid de Carvalho Guimarães e a Dra. Kamylla Balbuena Michelutti pela ajuda na realização das análises, além da disposição em gastar parte dos seus tempos para me ajudar, serei sempre grata.

A todos meus amigos e amigas de laboratório Michele, Dayana, Kléber, Vitória, Vinícius, Giovanna, Nathan e Paula pelos momentos bons de descontração em nossos almoços bem-humorados.

À minha amiga Geisa Alves da Silva que é minha irmã de graduação, compartilha e confia todos os “perrengues” que passamos nos últimos anos, o que nos fez mulheres fortes. Obrigada por todos as gargalhadas e também pelos momentos difíceis, que foram amenizados por ter você por perto.

Por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu desenvolvimento como ser humano.

Dedicatória
À Eleni e Joel, que acreditaram que
eu era capaz quando eu mesmo duvidei. Por
tudo que abdicaram, por vosso amor e
confiança em minha pessoa.
Dedico.

DEVO FICAR OU DEVO IR? INFLUÊNCIA DE PISTAS QUÍMICAS NA TOMADA DE DECISÃO EM FORMIGAS

RESUMO

Quando um inseto caminha, ele deixa pistas químicas derivadas do arólio, uma estrutura do tarso. Essas pistas podem conter informações importantes sobre outras espécies que ocorrem em sua comunidade e, assim, mediar interações de competição, predação e fornecer informações sobre recursos com formigas de sua própria colônia. Ainda são poucas as espécies estudadas e pouco se sabe sobre o comportamento das formigas por meio desses sinais e como são utilizadas para mediar suas interações. Portanto, aqui avaliamos qual estratégia comportamental de diferentes espécies de formigas (*Odontomachus brunneus*, *Neoponera villosa* e *Cephalotes borgmeieri*) foi adotada quando confrontados com pegadas químicas deixadas por outras formigas, bem como identificar seus compostos e sua relação com o perfil de hidrocarbonetos cuticulares. Os experimentos comportamentais foram realizados em um labirinto em Y, onde em um dos braços havia pegadas químicas de sua própria espécie ou de outras espécies; e o outro braço em Y não tinha pegadas. Os compostos químicos das pegadas e cutícula foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Aqui, mostramos que as formigas detectam e respondem às pistas químicas de outras formigas, seguindo coespecíficas e evitando as de outras espécies. Formigas de todas as espécies seguiram pegadas de indivíduos da mesma espécie, de companheiras de ninho e não companheiras de ninho, no entanto, *Neoponera villosa* evitou as pegadas de *Cephalotes borgmeieri*, possivelmente porque não tem nicho alimentar sobreposto e *C. borgmeieri* evitou as pegadas de todos os outros. espécie, por se tratar de uma formiga pequena e sem ferrão, deve evitar competidores com alto potencial de lesão. As composições químicas da cutícula e da pegada estão relacionadas entre si e são específicas de cada espécie.

PALAVRAS CHAVE

Ponerinae, Myrmicinae, hidrocarbonetos cuticulares, hidrocarbonetos de pegadas, pistas químicas.

ABSTRACT

When an insect walks, it leaves chemical clues derived from arolium, a structure of the tarsus. These clues can contain important information about other species that occur in your community and thus mediate interactions of competition, predation and provide information about resources with ants from your own colony. There are still few species studied and little is known about the behavior of ants through these signals and how they are used to measure their interactions. Therefore, here we evaluate which behavioral strategy of different species of ants (*Odontomachus brunneus*, *Neoponera villosa* and *Cephalotes borgmeieri*) was adopted when confronted with chemical footprints left by other ants, as well as to identify their compounds and their relationship with the cuticular hydrocarbon profile. The behavioral experiments were carried out using a Y maze, where in one of the arms there were chemical footprints of its own species or of other species; and the other Y arm was free of footprints. The chemical compounds of the footprints and cuticle were analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry. Here we show that ants detect and respond to the chemical trails of other ants, following conspecifics and avoiding those of other species. Ants of all species followed footprints of individuals of the same species, nest companions and non-nest companions, however, *Neoponera villosa* avoided the footprints of *Cephalotes borgmeieri* possibly because it does not have overlapping food niche and *C. borgmeieri* avoided the footprints of all other species, as this is a small and stingless ant, should avoid competitors with high potential for injury. Cuticle and footprint chemical compositions are related to each other and specific to each species.

KEYWORDS

Ponerinae, Myrmicinae, cuticular hydrocarbons, footprint hydrocarbons, chemical cues.

SUMÁRIO

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
1.1 Ecologia e comportamento de formigas.....	12
1.2 Pistas químicas em diferentes interações ecológicas entre os animais.....	13
1.3 Os hidrocarbonetos e sua função nas interações entre os insetos sociais.....	16
1.4 Pegadas químicas de insetos.....	17
2. DEVO FICAR OU DEVO IR? INFLUÊNCIA DE PISTAS QUÍMICAS NA TOMADA DE DECISÃO EM FORMIGAS	19
3. INTRODUÇÃO	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Coleta e espécies estudadas.....	23
4.2 Análises da tomada de decisão das formigas diante das pistas químicas deixadas pelas pegadas.....	24
4.3 Análises da composição química cuticular e dos rastros químicos deixados pelas pegadas.....	25
4.4 Análises estatísticas.....	26
5. RESULTADOS	27
5.1 Análises da tomada de decisão das formigas diante das pistas químicas deixadas pelas pegadas.....	27
5.2 Análises da composição química cuticular e das pistas químicas deixados por pegadas.....	29
6. DISCUSSÃO	34
7. REFERÊNCIAS	37

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Ecologia e comportamento de formigas

Formigas são insetos sociais e podem formar colônias pequenas ou grandes, dependendo da espécie. Uma colônia típica contém uma rainha que põe ovos e muitas operárias adultas, juntamente com sua ninhada (ovos, larvas e pupas). As operárias são os indivíduos mais numerosos do ninho e são responsáveis pela construção e manutenção do ninho, forrageamento, manutenção da ninhada e da rainha e defesa do ninho. Embora todas as operárias sejam fêmeas, na maioria dos casos elas são estéreis e não põem ovos. Rainhas e machos alados estão presentes no ninho por apenas um curto período. Logo após emergir, eles deixam o ninho para acasalar e estabelecer novos ninhos. As rainhas são geralmente semelhantes as operárias, diferindo principalmente em ter corpos maiores (Hölldobler e Wilson 1990).

As formigas mostram uma forte divisão de trabalho, onde diferentes operárias executam diferentes tarefas dentro do ninho e, em alguns casos, as tarefas específicas realizadas dependem da idade da formiga. Em muitas espécies dimórficas e polimórficas, o tamanho da operária influenciará suas atividades. Por exemplo, as operárias maiores são comumente encontradas perto da entrada dos ninhos para defesa, enquanto as operárias menores se afastam do ninho para buscar alimento (Traniello 1989). A cooperação e divisão do trabalho, combinadas com seus sistemas de comunicação bem desenvolvidos, e diferentes estratégias de sobrevivência permitiram que as formigas utilizassem seu ambiente ocupando nichos ecológicos ainda inexplorados, o que explica sua diversidade (Hölldobler e Wilson 1990).

As interações entre formigas da colônia são mediadas, entre outras coisas, por compostos químicos. As formigas se comunicam por meio de hidrocarbonetos cuticulares que são espalhados por todo o corpo, desta forma esses compostos são importantes para manter a coesão da colônia (Blomquist and Bagnères 2010).

Além da interação com indivíduos da colônia, formigas estão envolvidas em vários tipos de interações ecológicas, tal como mutualismo obrigatório com cochonilhas (e.g. Klein et al. 1992). Outro exemplo é o parasitismo social, este ocorre entre diferentes espécies de formigas e a interação pode ser obrigatória ou facultativa. A formiga parasita comumente mimetiza o perfil de hidrocarbonetos cuticulares para conseguir entrar na colônia hospedeira sem ser detectada (Uschinger 2009). Há também

algumas simbioses mutualísticas com plantas, na qual as formigas usam cavidades para estabelecer seus ninhos, bem como nectários e corpúsculos nutritivos como alimento, protegem seus hospedeiros dos herbívoros, distribuem suas sementes e as plantam em solos nutritivos (Holldobler e Wilson 1990).

Formigas tem sua importância ecológica evidenciada na dispersão de sementes em ambientes áridos, além de criarem bancos de sementes. São predadores de pequenos invertebrados tanto aquáticos quanto terrestres, ajudando no controle populacional destes. Os ninhos de formigas ajudam na aeração do solo, o que o torna mais saudável (Tschinkel 2003).

Pistas químicas em diferentes interações ecológicas entre os animais

Pistas químicas são difundidas em todo o reino animal, e são usadas em diversas interações entre os seres vivos, como na predação que é uma das pressões de seleção mais importantes (Lima e Dill 1990; Kats e Dill 1998) que molda o comportamento, a morfologia e as características da história de vida de uma espécie. O reconhecimento de predadores por meio de pistas químicas ocorre em uma variedade de presas e predadores vertebrados e invertebrados (Dodson et al. 1994). A capacidade de avaliar o risco de predação local é fundamental para a sobrevivência da presa (Mirza e Chivers 2000a), que pode ser vista como uma série de demandas conflitantes sensíveis à ameaça entre os benefícios de uma redução no risco de predação e ganhos de aptidão associados a outros padrões de comportamento (Lima e Bednekoff 1999).

A capacidade de avaliar o risco local de predação requer a presença de informações espacial e temporalmente confiáveis, sendo que de todos os sentidos em potencial capazes de transmitir essas informações, as pistas visuais e químicas foram as mais amplamente estudadas (Chivers e Smith 1998; Hartman e Abrahams 2000). Pistas visuais e químicas, no entanto, representam níveis muito diferentes de risco e informação. As pistas visuais são espacial e temporalmente confiáveis, mas podem ser consideradas muito arriscadas, pois a presa e o predador devem estar próximos (Kats e Dill 1998). A informação química, por outro lado, embora espacial e temporalmente menos confiável, pode ter um risco associado menor, pois a presa e o predador não precisam estar muito próximos para a presa adquirir informações (Kats e Dill 1998).

As pistas de alarme químico causadas por danos foram demonstradas em uma ampla variedade de peixes. Quando liberadas, normalmente após uma tentativa de

predação em que a presa é ferida ou capturada, provocam aumentos drásticos de curto prazo nos típicos comportamentos antipredação. Esses comportamentos incluem aumento da coesão do cardume, evasão de áreas, arrojo, congelamento e redução de forrageamento e acasalamento (Chivers e Smith 1998). As indicações de alarme químico também podem provocar uma variedade de respostas comportamentais, incluindo o reconhecimento adquirido de novos predadores, alterações morfológicas e do histórico de vida induzidas e também a avaliação do risco de predação local por meio do comportamento da inspeção de predadores (Chivers e Smith 1998).

Entre artrópodes existem alguns exemplos sobre a capacidade de avaliar riscos a partir de pistas químicas. Libélulas *Enallagma* sp., depois de serem expostas a pistas químicas de predadores, diminuem a frequência de sua atividade de forrageio (Wisenden et al. 1997). Essa estratégia também é vista em grilos de madeira mediante pistas químicas de aranhas que os predam (Binz et al. 2014a).

Por outro lado, os predadores também usam pistas químicas para encontrar suas presas, como aranhas Salticidae que distinguem presas e competidores por meio de pistas químicas. Contudo, esse tipo de ferramenta usada para buscar presas é menos comum entre os animais (Poulin et al. 2018; Harland et al. 1999).

As formigas são membros ecologicamente dominantes das comunidades terrestres e sua atividade de forrageamento é fortemente associada com às plantas e depende do aprendizado associativo de produtos químicos no ambiente (Lach et al. 2010). Os compostos químicos das plantas podem mediar o comportamento das formigas, por exemplo, quando plantas sofrem com a infestação por parasitas elas liberam sinais químicos no ar, que atraem as formigas que predam esses insetos parasitas, uma interação mutualística bastante conhecida (Nelson et al. 2019).

Um exemplo de mutualismo sustentado por meio de pistas químicas é o mutualismo obrigatório de dispersão de sementes por formigas das florestas tropicais. Esse mutualismo é essencial para a sobrevivência de diversas espécies de plantas em todo o mundo (Levey et al. 2002). Entre os invertebrados, formigas se destacam por ter um papel importante na dispersão de sementes, e milhares de espécies de plantas produzem sementes especializadas para dispersão por formigas em interações "difusas" de várias espécies (Beattie e Huhes 2002). As formigas e plantas são membros dominantes dos ecossistemas da planície amazônica, e sua interação é específica e obrigatória, e os meios pelos quais as formigas localizam, reconhecem e aceitam suas

sementes mutualistas são compostos químicos liberados pelas plantas (Youngsteadt et al. 2008).

Em um contexto de parasitismo, o parasita pode encontrar hospedeiros através de pistas químicas no ambiente. As operárias *Solenopsis invicta* são agressivas e liberam feromônios de alarme em interações com não-companheiros de ninho, e essa substância volátil é uma pista química importante que atrai moscas da espécie *Pseudacteon tricuspis*, um parasita dessa espécie. As larvas da borboleta parasitária *Maculinea rebeli* tem como hospedeiro formigas da espécie *Myrmica schencki*. Na natureza, lagartas de quarto ínstar que não têm contato prévio com formigas, são confundidas com larvas de formigas quando operárias de *M. schencki* saem para forragear, as lagartas mimetizam compostos químicos que atraem as formigas, e além disso as lagartas produzem produtos químicos de superfície que permitem que sejam tratados como larvas de formigas, e uma vez dentro do ninho essas lagartas posteriormente adquirem hidrocarbonetos adicionais (camuflagem química), tornando-os mímicos quase perfeitos do odor individual de suas colônias hospedeiras (Akino et al. 1999).

A competição é um dos fatores que impulsionam a diversidade biológica, se uma espécie coexiste com outra e há sobreposição de nicho entre ambas podem ocorrer duas coisas: as espécies adotam diferentes estratégias de forrageio (Silva et al. 2015; Ricklefs 2004) a fim de evitar competição direta, ou há exclusão competitiva da espécie subordinada pela espécie dominante (Ricklefs 2004). Neste contexto, vários animais usam pistas químicas deixadas na área de forrageamento a fim de evitar contato direto com espécies dominantes, essas sugestões também são usadas para seguir um recurso que anteriormente foi dominado por outra espécie (Binz et al. 2014b). As formigas exploram pistas de outras espécies de acordo com sua posição de domínio na comunidade, as espécies subordinadas evitam pistas químicas das espécies dominantes em contrapartida, espécies dominantes podem ignorar ou seguir pistas químicas de espécies subordinadas (Binz et al. 2014b)

Em diferentes contextos ecológicos, as pistas químicas são usadas em todo o reino animal, e as vantagens de usar essas pistas são o reconhecimento de predadores por meio de estímulos químicos que é particularmente importante quando a visão é limitada, como à noite, em habitats com vegetação densa ou em águas turvas (Wilson and Lefcort 1993). Além disso o uso de pistas químicas é importante na obtenção de alimento, pois predadores localizam suas presas por meio de compostos químicos

dispersos no ambiente (Binz et al. 2014a). Quando restringimos o conceito de pistas químicas a um grupo, os insetos, essas pistas são transmitidas por meio dos hidrocarbonetos (Blomquist e Bagnères 2010).

Os hidrocarbonetos e sua função nas interações entre os insetos sociais

Para manter a coesão de suas colônias formigas trocam vários tipos de sinais, contudo, os químicos são de fato predominantes (Jackson e Morgan 1993). Produzem e liberam compostos químicos que podem informar um indivíduo receptor a uma relativa distância e, neste caso, são compostos mais leves, produzidos por glândulas exócrinas (Attygalle e Morgan 1984). As formigas possuem mais de 50 glândulas exócrinas distintas, a maioria das quais é ativa na produção de feromônios (Billen e Morgan 1998). Devido a essa produção, quando as formigas são confrontadas com indivíduos de outra espécie ou outra colônia, no geral, elas têm comportamento altamente agressivo. Esse sistema de reconhecimento altamente eficiente garante a coesão social e proteção contra inimigos para defender seus territórios e ameaçar invasores que não sejam companheiros de ninho (Hölldobler e Wilson 1990).

Por outro lado, os sinais químicos trocados que informam a procedência da formiga, sua idade, função dentro das colônias, para outras formigas são encontrados em sua cutícula, sendo mais pesados que os primeiros e, estes impedem por exemplo que colônias sejam exploradas por membros de outras colônias, sejam da mesma espécie ou não (Holldobler e Wilson 1990). Esses compostos, os hidrocarbonetos cuticulares (HCs), estão na epicutícula dos insetos e surgiram primordialmente para a proteção contra dessecação, o que possibilitou que os artrópodes tivessem uma irradiação adaptativa sobre o ambiente terrestre, e ao longo do tempo evolutivo os hidrocarbonetos foram cooptados para comunicação entre os insetos sociais (Blomquist e Bagnères 2010).

As colônias de insetos sociais não possuem um centro de controle, cada inseto sabe exatamente qual papel desempenhar na colônia de acordo com as pistas químicas presentes no ambiente. Em resposta a tais estímulos, eles realizam tarefas como construção de novas câmaras nos ninhos, proteção contra invasores e forrageamento (Blomquist e Bagnères 2010). Além disso, a quantidade de HCs presentes no ambiente possibilita que os insetos sociais respondam a mudanças do meio, ajustando o número de operárias que executam cada tarefa (Greene e Gordon 2003). Encontros com outras formigas informam a decisão da operária de executar uma tarefa específica, isso porque

por meio do contato com diferentes indivíduos da colônia, várias informações são transmitidas (Blomquist e Bagnères 2010).

Os HCs facilitam a comunicação, transmitindo vários tipos de informações, e eles variam de acordo com a espécie (Antonialli-Junior et al. 2008), colônia (Ferreira et al. 2017), casta (Antonialli-Junior et al. 2007) e subcasta (Valadares e Nascimento 2016). Essa variação de HCs permite que o inseto identifique dentro da colônia seus companheiros de ninho e invasores (Blomquist e Bagnères et al. 2010). Além disso os HCs são importantes no encontro entre parceiros sexuais, o perfil intraespecífico impede que haja cópula entre insetos de diferentes espécies (Blomquist e Bagnères et al. 2010), e também funcionam como sinais de fertilidade (Smith et al. 2013).

Os HCs afetam uma grande variedade de outros comportamentos, incluindo aprendizado, agregação e dominância (Ferveur et al. 1996). Algumas espécies de formigas parasitas exploram esse sistema de reconhecimento de companheiros de ninho manipulando seus HCs durante a invasão do ninho para coincidir com o HCs de seu hospedeiro (Kleeberg et al. 2017). As formigas compõem o único grupo de insetos sociais que todas as espécies são eussociais, por isso os HCs são particularmente numerosos nesse grupo (Martin e Drijfhout 2009b).

Pegadas químicas de insetos

Além dos compostos descritos, atualmente sabe-se que quando as formigas caminham deixam um rastro químico por onde passam, e essas pegadas químicas contêm informações acerca da espécie que as deixou na área de forrageamento (Binz et al. 2014b; Wüst e Menzel 2017). A composição destas pegadas guarda relações com seus próprios perfis de HCs, assim formigas em forrageio podem se informar de quem ou não são as pegadas que detectaram (Wüst e Menzel 2017).

Insetos de um modo geral possuem uma estrutura tarsal chamada arólio, que é uma glândula com função de produzir substâncias cerosas (Chauvin 1962), inibição da formação de células reais pelas rainhas das abelhas (Lensky e Slabezki 1981), marcação da entrada de ninhos ou de fontes de alimento por abelhas forrageadoras (Goulson 2000) ou adesão a superfícies lisas em formigas (Orivel et al. 2001). A capacidade de adesão em superfícies lisas é essencial para pequenos animais que vivem em plantas. Alguns insetos podem produzir forças adesivas equivalentes a mais de 100 vezes o seu próprio peso em superfícies perfeitamente lisas (Eisner e Aneshansley 2000; Federle et al. 2002). No entanto, esses insetos são capazes não apenas de se aderir com firmeza,

mas também são capazes de correr rapidamente em um substrato suave, e para dominar essas diferentes tarefas os insetos tem controle eficaz sobre suas forças adesivas (Federle et al. 2001). A extensão do arólio pode ocorrer involuntariamente quando os insetos caminham, em formigas essa extensão também é mediada por um músculo acoplado as garras flexoras, e quando isso ocorre o arólio se estende ativamente (Federle et al. 2001).

Esses órgãos adesivos em formigas podem ter ou não cerdas (Beutel e Gorb 2001) e o contato superficial é mediado por um líquido adesivo (Eisner e Aneshansley 2000; Gorb et al. 2000). A composição deste líquido ainda não foi totalmente elucidada, mas sabe-se que parte dele é composta por hidrocarbonetos congruentes com os cuticulares. Trabalhos recentes têm abordado a influência dessas pistas de pegadas no comportamento durante interações intra e interespecificas das formigas, num contexto de dominância, subordinação, competição e ou predação de espécies em suas comunidades.

Devo ficar ou devo ir? Influência de pistas químicas na tomada de decisão em formigas

Santos, PG^{1,2}; Santos, EG³; Guimarães, IC²; Carsoso, CAL⁴; Antonialli-Junior, WF^{2,4}

¹ Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, Brasil.

² Laboratório de Ecologia Comportamental, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados-MS, Brasil.

³ Programa de Pós-graduação Ciências e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, Brasil.

⁴ Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados-MS, Brasil.

INTRODUÇÃO

Muitos animais são capazes de detectar a presença de outros por meio de pistas olfativas (Zöttl et al. 2013; Cisterne et al. 2014). A detecção química é possivelmente a forma mais utilizada pela qual os organismos obtêm informações sobre a ameaça de um predador e a função dessas pistas no modelo predador-presa tem sido amplamente estudada (Weissburg et al. 2014).

A percepção do perigo é uma habilidade essencial para que a presa possa obter uma vantagem sobre seus inimigos naturais (Poulin et al. 2018). Em ambientes com muitas barreiras, ou à noite, a quimiorrecepção permite o animal reconhecer o perigo por meio de pistas químicas aumentando as chances de sobrevivência das presas (Kaliszewicz e Uchmański 2009). As presas usam pistas químicas de predadores para evita-los, mudando seu comportamento em função das informações contidas nelas (Shaffery e Relyea 2015). Também executam algum comportamento de defesa quando detectam essas pistas no ambiente, incluindo mudança na atividade de forrageamento (Smee and Weissburg 2006) e/ou a emigração para um local com baixo risco de predação (Flynn e Smee 2010; Large et al. 2011), além de acelerar ou atrasar a reprodução.

As pistas químicas também podem ser emitidas mesmo durante os eventos de predação, incluindo substancias químicas emitidas pelo predador, e também produtos

químicos emitidos pelas presas que podem servir de alarme para coespecíficos (Wisenden 2000; Ferrero et al. 2011). Quando um predador se alimenta da presa pode haver liberação de substâncias químicas durante este processo que servem como alerta para outras presas, sinalizando que há um predador no local (Chivers et al. 1996; Jacobsen e Stabell 2004).

Por outro lado, insetos que possuem nichos sobrepostos utilizam essas pistas para evitar as sobreposições de territórios com competidores pelo mesmo recurso (Chesson 2000). A competição interespecífica é um importante mecanismo ecológico que molda os traços das espécies que interagem e estrutura suas comunidades. As espécies menos competitivas se beneficiam da evasão de encontros diretos com dominantes agressivos, enquanto as espécies dominantes podem usar pistas deixadas pelos subordinados para roubar seus recursos ou persegui-los (Savolainen et al. 1988). Além disso, espécies co-ocorrentes geralmente tem sobreposição parcial de nichos, levando à concorrência (Vonshak et al. 2012). Espécies com as melhores habilidades de luta dominam os recursos e deslocam agressivamente espécies subordinadas (Rowland 1983). Para neutralizar os custos energéticos os subordinados tem estratégias alternativas para poder co-ocorrer com dominantes, usando pistas indiretas como pistas químicas deixados no ambiente, essas pistas têm a vantagem de serem mais persistente e, pode indicar a presença prévia de concorrentes (Kats e Dill 1998).

Essas pistas químicas são pequenas gotículas de hidrocarbonetos deixadas involuntariamente, que derivam do arólio, uma estrutura tarsal coberta por uma fina camada de líquido que gera uma força de ligação quando o inseto caminha (Drechsler and Federle 2006) e deixa um rastro químico por onde ele passa (Federle et al. 2001). Muitos estudos mostram que o perfil de hidrocarbonetos de pegadas é relacionado quimicamente com os lipídios epicuticulares que cobrem o corpo dos insetos (Akino e Yamaoka 2005; Geiselhardt et al. 2010; Geiselhardt et al. 2011; Wüst e Menzel 2017).

Os hidrocarbonetos cuticulares são moléculas que possuem apenas carbono e hidrogênio em sua composição, podendo ser saturados como os alcanos e insaturados como os alcenos e alcinos (Blomquist e Bagnères 2010). Os alcanos lineares parecem ser mais importantes na proteção contra parasitas e dessecação (Blomquist e Bagnères 2010), enquanto os alcanos ramificados provavelmente são compostos mais envolvidos no reconhecimento de companheiras de ninho em insetos sociais (Martin e Drijfhout 2009a). Os insetos sociais usam hidrocarbonetos cuticulares para distinguir companheiros de ninho de não ninhos, mas eles também podem reconhecer outras

espécies com base em seus perfis químicos (Lang e Menzel 2011), colônias e frequentemente até castas (Bagnères et al. 1998).

Estudos sobre o efeito desses sinais químicos são importantes para entender qual o papel desses compostos, nas interações entre espécies que co-ocorrem. Devido ao sistema de comunicação química diversificado nas formigas, elas são ideais para investigar o papel das pistas químicas na competição intra e interespecífica (Hölldobler e Wilson 1990), além disso, porque são consideradas agressivas que, de uma forma geral, entram em combate físico com outras formigas para deslocá-las da fonte de alimento (Binz et al. 2014b; Cerdá et al. 2013). Espécies competidoras de formigas devem ter diferentes estratégias para obtenção de recurso, caso contrário, haveria exclusão competitiva (Carroll e Janzen 1973). As pistas químicas presentes nas pegadas fornecem informações sobre os competidores e predadores (Binz et al. 2014b; Wüst e Menzel 2017).

Estudos teóricos mostram que características específicas da vida podem desempenhar um papel considerável na ecologia e diversidade das comunidades naturais (Chesson e Huntly 1988; Sevenster e Alphen 1993; Fénéron e Billen 1996). Traços de vida das espécies, que incluem propriedades morfológicas, fisiológicas, características ecológicas e comportamentais que determinam a seleção de habitat ou recurso (Futuyma e Moreno 1988; Thygesen et al. 2005). A presença de certas espécies e sua abundância relativa depende das relações bióticas entre elas e, principalmente, das interações competitivas (Hölldobler e Wilson 1990). As espécies de formigas são agrupadas em diferentes níveis de espécies que interagem dentro das hierarquias (Bestelmeyer 2000; Arnan et al. 2011; Binz et al. 2014b). As hierarquias de dominância entre as espécies de formigas são um fenômeno bem conhecido (Hölldobler e Wilson 1990) e são baseadas principalmente em diferenças comportamentais (Savolainen et al. 1988).

Nessas hierarquias, as espécies de formigas se enquadram em duas categorias principais: espécies altamente agressivas e dominantes e espécies menos agressivas e subordinadas. Uma espécie dominante é aquela que é capaz de exercer uma forte influência sobre outras espécies: uma espécie de formiga é dominante se inicia um ataque e, por sua mera presença, provoca comportamento de esquiva em um encontro com outra espécie (Cerdá et al. 1997). As espécies agressivas e dominantes usam a interferência para excluir subordinados dos recursos (Savolainen et al. 1988; Cerdá et al. 1998). As espécies dominantes pertencem a grupos taxonômicos e/ou ecológicos diferentes (Hölldobler e Wilson 1990). Algumas espécies dominantes exercem fortes

interações competitivas e regulam a estrutura e a composição da comunidade (Bernstein 1975). As espécies subordinadas podem ser divididas em dois grupos: aqueles que evitam a competição com os dominantes, reduzindo a sobreposição espacial ou temporal (Human and Gordon 1996) e aquelas que coexistem espacial e / ou temporalmente com os dominantes, mas limitam suas interações com essas espécies agressoras tanto quanto possível (Traniello 1989).

Espécies dominantes e subordinadas diferem quanto a sua estratégia de forrageamento. As dominantes exploram e defendem recursos de forma mais eficiente que as subordinadas, porque têm colônias mais populosas que as subordinadas e forrageiam e recrutam por meio de trilhas químicas, chegando primeiro ao recurso e dominando-o pelo número (Binz et al. 2014b). Portanto, espécies subordinadas ajustam seu comportamento para evitar confronto com espécies dominantes como, por exemplo, forragear em momentos do dia, no qual as dominantes evitam sair (Binz et al. 2014b). Neste processo, pistas olfativas devem ser usadas para mediar estas interações (Wüst e Menzel 2017).

No entanto, o papel dessas pistas no processo de forrageamento tem sido pouco estudado, embora sabe-se que as formigas usam sinais quimiotáteis para identificar e buscar presas (Chivers et al. 1996), pouco se sabe como as usam para interagir com outras espécies. De fato, a detecção desses sinais otimiza o sucesso do forrageamento desses insetos e conseqüentemente, a aptidão da colônia (Binz et al. 2014b). A grande concentração de pegadas em um determinado local pode ser interpretada como marcação de território, e segundo Menzel et al. (2010), pode influenciar a decisão de busca de recursos por operárias de uma espécie de formiga. Algumas espécies consideradas subordinadas evitam pistas químicas de espécies consideradas dominantes (Binz et al. 2014b). Por exemplo, formigas da espécie *Lasius niger* evitam pegadas de outras espécies, provavelmente para evitar lutas dispendiosas. Em contrapartida, espécies como *Formica polyctena* e *Formica rufibarbis* respondem de forma diferente às pegadas químicas, seguindo pistas de indivíduos de outras espécies, o que pode ser interpretado como “espionagem”, que é o comportamento do indivíduo seguir pistas para obter informações sobre a fonte e/ou qualidade do recurso que outro indivíduo está explorando (Wüst e Menzel 2017).

As relações de interações, como competição e predação estruturam as comunidades naturais de formigas e as pistas químicas parecem, de fato, ter papel importante nisso. Contudo, ainda são poucos estudos que exploram a função das pegadas químicas como

mediadoras de decisões em relações intra e interespecíficas. Aqui estudamos a importância das pistas químicas de pegadas nas tomadas de decisões de formigas. Testamos qual a estratégia comportamental de diferentes espécies de formigas quando são confrontadas com pegadas químicas deixadas por outras formigas. As hipóteses por nós levantada é de que a) as formigas devem seguir as pegadas de companheiras de ninho e evitar de outras espécies que podem ser competidoras e ou predadoras potenciais. b) formigas com diferentes formas de forrageamento e ou recrutamento podem diferir em suas respostas. c) a composição química de pegadas é similar a composição química cuticular, e difere significativamente entre as três espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e espécies estudadas

Os experimentos foram desenvolvidos com três espécies de formigas: duas Ponerinae, *Odontomachus brunneus* e *Neoponera villosa*, e uma Myrmicinae *Cephalotes borgmeieri*. As duas espécies de Ponerinae ocorrem em todos os biomas brasileiros e seus habitats e fontes de alimentação são sobrepostos (Delabie et al. 2015).

As formigas *Odontomachus* são conhecidas “mandíbulas armadilha” por causa de suas mandíbulas que são adaptadas para captura de presas e defesa contra predadores, e quando pelos sensoriais são estimulados, as mandíbulas se fecham em um movimento conhecido como um dos mais rápidos do reino animal (Larabee e Suarez 2015). Na Flórida (EUA), o perfil de hidrocarbonetos cuticulares de *Odontomachus* é variável entre as espécies (Smith et al. 2016) e altos níveis de variação no perfil populacional são encontrados em *O. brunneus* (Smith et al. 2013). Pensa-se que a variação intraespecífica no perfil de hidrocarbonetos da população, como em *O. brunneus*, seja incomum entre formigas (Smith et al. 2012). Essa espécie é encontrada tanto em área de floresta quanto em zona urbana, e nidificam no solo sob o tronco das árvores. São predadoras generalistas de artrópodes, o forrageamento é solitário (Delabie et al. 2015), e tem preferência por predação cupins (Ehmer e Hölldobler 1995). Além disso, também podem se associar a hemípteros (Styrsky e Eubanks 2006) para obter substância açucarada, e é encontrada em plantas explorando nectários extraflorais (Blüthgen et al. 2003; Gibernau et al. 2007).

Neoponera villosa é encontrada em todo o território nacional, são formigas grandes e predadoras generalistas, que possuem um ferrão potente usado para imobilizar as

presas. Apesar de nidificar em árvores *N. villosa* é comumente encontrada forrageando no solo, elas forrageiam solitariamente, mas ocorre recrutamento por tandem-running. Elas predam uma variedade de artrópodes, especialmente cupins, também foram encontradas visitando nectários extraflorais (Dejean e Corbara 1998). Esta espécie também pode ser encontrada em bromeliáceas onde predam invertebrados aquáticos (Dejean et al. 2018).

As formigas do gênero *Cephalotes* são arborícolas e exclusivamente da região neotropical, a maioria polimórfica. Os soldados tem um disco cefálico especializado para bloquear a entrada do ninho (fragmose). A maioria das espécies é onívora, estudos indicam que o pólen é importante item alimentar, como essas formigas não possuem ferrão, outras estratégias de defesa são empregadas, como a presença de espinhos pelo corpo, camuflagem e tanatose (Dornhaus e Powell 2010). São encontradas forrageando na serapilheira e fazem recrutamento através de trilhas químicas. Pouco se sabe sobre *C. borgmeieri*, elas são consideradas bioindicadores de áreas preservadas (Tibcherani et al. 2018), porém elas foram encontradas em áreas antropizadas (informação pessoal).

Há co-ocorrência de todas as três espécies no Bioma Cerrado no Brasil, e, sobretudo, nos locais em que coletamos. Foram coletadas 60 forrageadoras de dez colônias de cada uma das espécies, no município de Dourados/MS, Brasil (22°13'16"S; 54°48'20"W), em sítios de nidificação, onde havia co-ocorrência das três espécies. As coletas de forrageadoras foram feitas de forma ativa, com auxílio de pinças, quando elas chegavam próximo dos olheiros dos ninhos retornando de suas atividades.

Análise da tomada de decisão das formigas diante das pistas químicas deixadas pelas pegadas

Após a coleta, as operárias foram mantidas em laboratório em ninhos artificiais conectados a arena de forrageamento, onde foram fornecidos água e melaço *ad libitum*. Após período de habituação de 24h às condições laboratoriais, os rastros químicos das pegadas de cada espécie foram obtidos permitindo que 20 operárias andassem durante 30 minutos sobre um papel filtro colocado sobre uma placa de Petri de 6x6 cm que serviu como uma arena para este fim. Em seguida, as formigas foram retiradas da placa de Petri, e o papel filtro foi retirado da placa e colocado em um dos braços de uma estrutura em formato de Y. Nesta estrutura cada braço tinha 25 cm de comprimento, e em um braço havia o papel com as pistas químicas e no outro não havia marcação química (modificado de Wüst e Menzel 2017).

Para avaliar se operárias forrageadoras seguem pegadas de outras espécies, ou preferem áreas livres de sinalização avaliamos a tomada de decisão das operárias de uma espécie frente às pegadas das outras duas espécies. Também avaliamos qual a resposta comportamental de formigas frente a pegadas químicas de companheiros de ninho, e forrageadoras de colônias diferentes conforme metodologia modificada de Wüst e Menzel (2017).

O braço único do Y foi acoplado a um recipiente de plástico, no qual 15 formigas de uma espécie foram colocadas uma de cada vez. Para ter certeza de que não haveria qualquer tipo de tendência das formigas em relação a própria estrutura, o braço do tubo em Y contendo pegadas foi alternado após cada teste. A estrutura permitiu que as formigas entrassem no labirinto, mas elas não foram forçadas a fazê-lo. Quando uma formiga andava mais da metade do braço com ou sem marcação química o comportamento foi contabilizado como preferência da formiga. As formigas que se mantiveram imóveis por mais de cinco minutos foram retiradas do experimento, e o comportamento não foi contabilizado. Cada formiga foi usada apenas uma vez durante os testes.

Como forma de controle, para avaliar se as formigas tinham algum tipo de preferência pré-estabelecida por algum braço do Y, antes dos experimentos nós colocamos 15 forrageadoras de cada colônia para andar na estrutura com os dois braços livres de qualquer tipo de marcação química.

Análises da composição química cuticular e dos rastros químicos deixados pelas pegadas

Os perfis químicos cuticulares e das pistas químicas deixadas pelas pegadas das três espécies utilizadas nos experimentos foram avaliados por meio da técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM). Logo após os experimentos comportamentais, dez formigas de cada colônia, e de cada espécie foram mortas por congelamento para extração dos compostos químicos cuticulares, que foram extraídos de todo corpo do inseto utilizando 2 ml de hexano (grau HPLC), por 10 minutos.

Os extratos dos rastros das pegadas foram coletados a partir de 20 formigas de cada colônia, que foram colocadas em uma placa de petri de vidro para caminharem por 10 minutos para adesão desses compostos na placa (Wüst e Menzel 2017). Após a retirada das formigas, os compostos presentes na placa foram extraídos utilizando 2 ml

de hexano (grau HPLC), por 10 minutos. Em seguida, todos os extratos, tanto cuticulares quanto de pegadas, foram secos em capela de exaustão para evaporação do solvente. Depois de secos esses extratos foram solubilizados em 400 µl de hexano, e as análises foram realizadas utilizando um cromatógrafo gasoso (GC- 2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) com detector de massas (GC-MS Ultra 2010, Shimadzu, Kyoto, Japão), com coluna capilar de sílica fundida DB-5 (J e W, Folsom, California, USA) 5% fenil-dimetilpolisiloxano (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro x 0,25 µm de espessura de filme).

As condições de análise foram: gás hélio como carregador (99,999 % e taxa de fluxo de 1 ml min⁻¹), volume de injeção de 1 µl no modo *splitless*. A taxa de variação da temperatura foi programada da seguinte maneira: temperatura inicial de 150°C aumentando a uma taxa de 3°C min⁻¹ até 300°C e permanecendo na temperatura final por 10 min. As temperaturas de linha de injeção, detecção e transferência foram 220°C, 250°C e 200°C, respectivamente. Os cromatogramas foram registrados pelo programa GCMS Real Time Analysis. Os parâmetros de varredura do EM incluirão voltagem de ionização de impacto de elétron de 70 eV, na faixa de massa de 45 a 600 m/z e com intervalo de varredura de 0,3 s.

A área do pico de cada composto foi determinada por integração manual de cada cromatograma de íons totais (CIT). Em seguida todas as áreas foram transformadas em áreas percentuais relativas. Para identificação dos compostos analisados foram empregados os índices de retenção calculados (Van den Dool e Kratz 1963) usando uma mistura de alcanos lineares (≥ 90% pureza, C₁₄-C₃₆ Sigma Aldrich) como referência externa em relação ao índice de retenção da literatura (Smith et al. 2012, 2016) associado à interpretação dos espectros de massas obtidos a partir das amostras e comparados com as bases de dados NIST21 e WILEY229.

Análises estatísticas

Para avaliar se houve diferenças entre a tomada de decisões das formigas pelo braço do Y com ou sem pistas químicas de formigas da mesma espécie e de espécies diferentes, nós calculamos o número de formigas que entravam no braço com marcação química, e das formigas que entravam no braço sem marcação química. Para cada característica comportamental e para ambas as espécies separadamente, e a combinação desses dois números foi usada como variável dependente modelos de efeitos mistos lineares construídos (LME), a colônia foi usada como variável dependente. Para analisar

se as formigas preferiam um braço do Y independente de marcação nós realizamos um teste qui-quadrado e o valor de P foi obtido com correção de Yates.

Para avaliar se houve diferenças significativas entre os perfis químicos das cutículas e das pegadas das 3 espécies foi realizada uma Análise de Função Discriminante, a qual indica o conjunto de variáveis que melhor diferencia os grupos analisados (Quinn e Keough 2002). Para os dados obtidos por CG-EM, foi utilizada a área percentual relativa de todos os compostos identificados nas amostras. Nesta análise, a estatística Wilk's Lambda é usada como uma medida de diferença entre os grupos, na qual valores próximos a 0 indicam que os grupos não se sobrepõem, enquanto valores próximos a 1 indicam que há alta sobreposição entre os grupos, e que as diferenças entre eles não devem ser significativas.

RESULTADOS

Análise da tomada de decisão das formigas diante das pistas químicas deixadas pelas pegadas

O resultado do teste controle mostrou que o papel filtro não interfere na preferência das formigas por um lado do Y, para *O. brunneus* o teste $X^2 = 4.507$ com 1 grau de liberdade, o valor de P foi obtido com correção de Yates $p = 0.4126$. As operárias de *N. villosa* não seguiram significativamente um braço do Y mais que o outro $X^2 = 0.667$; $p = 0.4624$. *C. borgmeieri* também não apresentou um padrão em seguir um dos braços do Y, $X^2 = 1.150$; $p = 0.3223$.

O número de operárias de *O. brunneus* que optaram por seguir pegadas, tanto de formigas da mesma espécie como das duas outras espécies foi significativamente maior do que aquelas que as evitaram $p < 0,001$ (Figura 1).

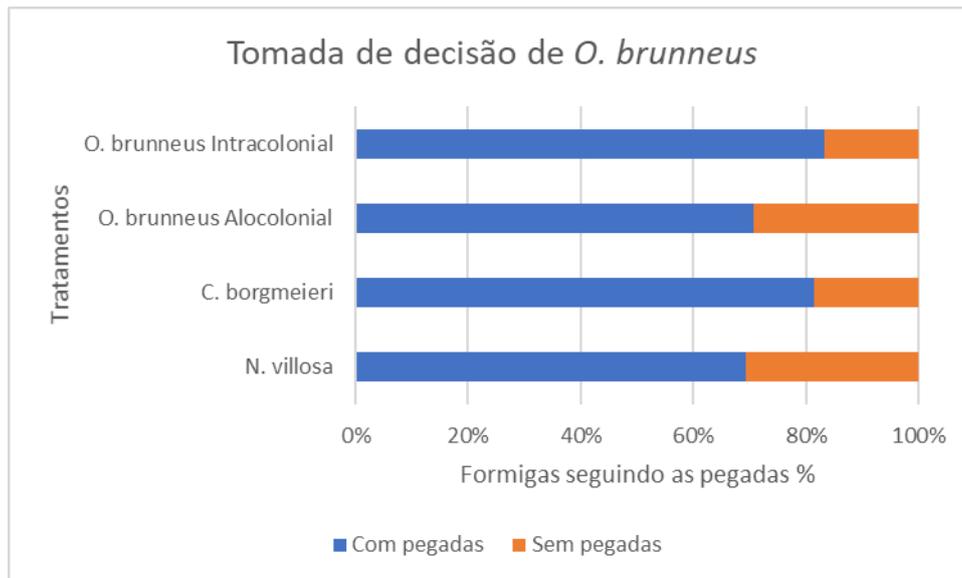


Figura 1: Tomada de decisão de operárias de *O. brunneus* frente a pegadas químicas de coespecíficos e aloespecíficos. O gráfico mostra número de formigas (%) que escolheram o braço com ou sem pegadas do Y, em cada tratamento.

O número de operárias de *Neoponera villosa* que optaram por seguir pegadas de companheiras de ninho, operárias de outras colônias e de operárias de *O. brunneus* foi significativamente maior do que aquelas que as evitaram. Por outro lado, o número de operárias que evitaram pegadas de *C. borgmeieri* foi significativamente maior do que aquelas que seguiram (Figura 2).

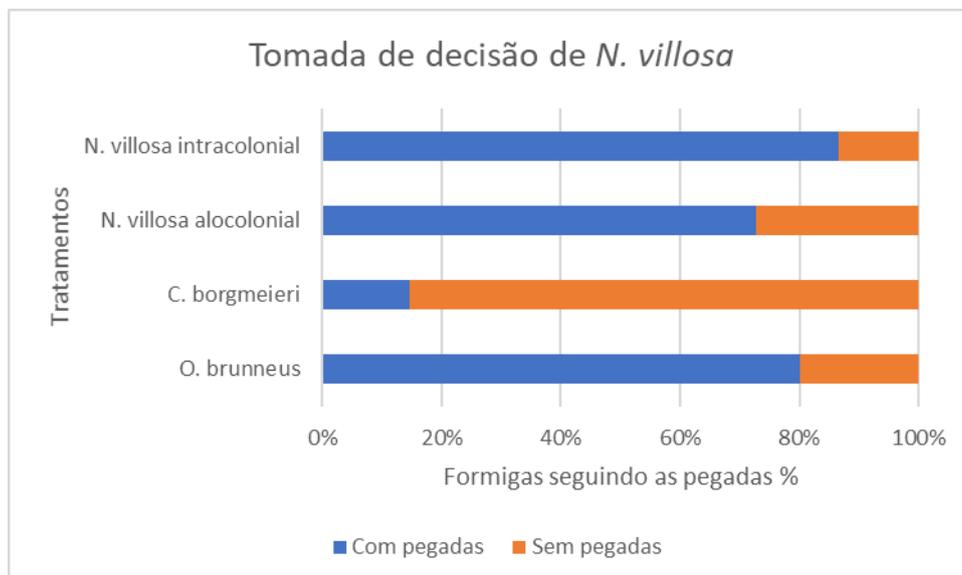


Figura 2: Tomada de decisão de operárias de *Neoponera villosa* frente a pegadas químicas de coespecíficos e aloespecíficos. O gráfico mostra o número de formigas (%) que escolheram o braço com ou sem pegadas do Y, em cada tratamento.

O número de operárias de *C. borgmeieri* que optaram por seguir pegadas tanto de companheiras de ninho como de outras colônias foi significativamente maior do que aquelas que evitaram. Por outro lado, o número de operárias que evitaram pegadas das duas outras espécies também foi significativamente maior do que aquelas que as seguiram (Figura 3).

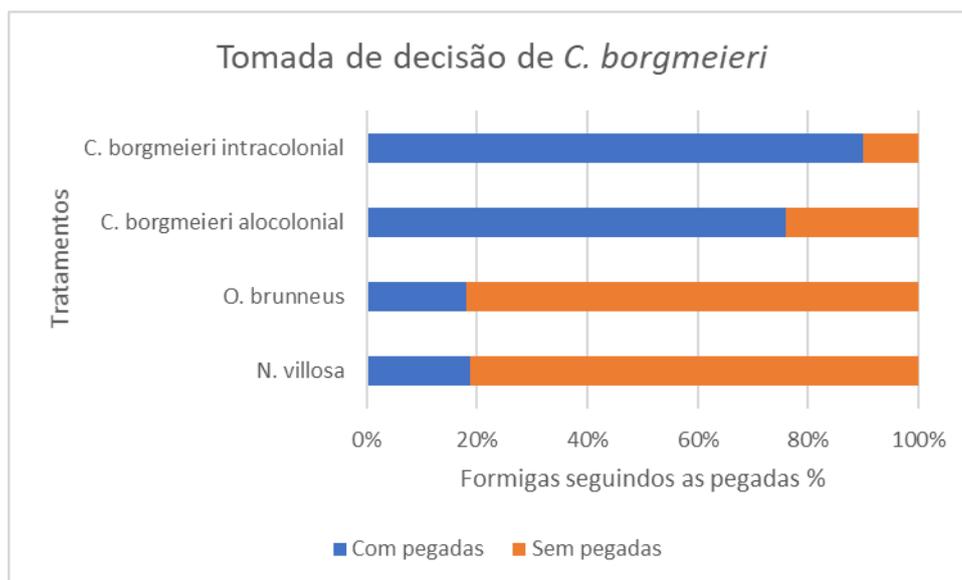


Figura 3: Resposta de escolha de *Cephalotes borgmeieri* por caminho marcado com pegadas químicas de coespecíficos e aloespecíficos. O gráfico mostra o número de formigas (%) que escolheram o braço com ou sem pegadas do Y, em cada tratamento.

Análises da composição química cuticular e das pistas químicas deixados por pegadas

Foram identificados, no total 43 compostos na cutícula das 3 espécies (Tabela 1.), sendo que nas amostras de *N. villosa* foram identificados 20 compostos, nas de *O. brunneus* 12, enquanto *C. borgmeieri* 11 compostos. Destes compostos, 3 são comuns a todas as espécies. 17 ocorreram exclusivamente nas amostras de *N. villosa*, 9 de *O. brunneus*, e 8 compostos ocorreram exclusivamente nas amostras de *C. borgmeieri* (Tabela 4)

Análise de Função Discriminante mostrou que a composição de hidrocarbonetos cuticulares, de fato, diferiu significativamente entre as três espécies com Wilk's

Lambda < 0,001; F = 6610,673; p < 0,05. A primeira raiz canônica explica 83,9% da variação dos dados e a segunda 16,1%, totalizando 100% (Figura 4).

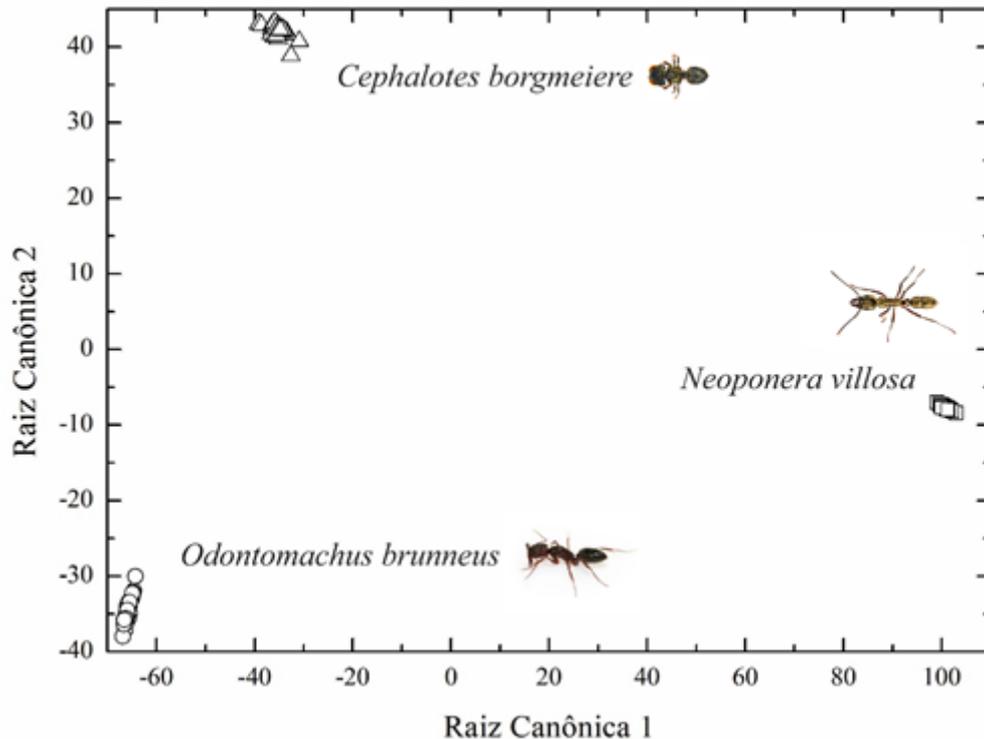


Fig. 4 Diagrama de dispersão mostrando as diferenças no perfil químico cuticular entre as espécies *Cephalotes borgmeiere*, *Odontomachus brunneus* e *Neoponera villosa*. Wilk's Lambda = 0,000; F= 6610,673; p < 0,05.

Foram identificados, no total 16 compostos nas pegadas químicas das 3 espécies. Nas amostras de *N. villosa* há 11 compostos, nas de *O. brunneus* 5, e de *C. borgmeiere* também 5 compostos. Destes compostos, 2 são comuns a todas as espécies, 9 só ocorrem na espécie *N. villosa*, 3 em *O. brunneus* e 3 na espécie *C. borgmeiere* (tabela 1). A análise discriminante mostra que a composição química das pegadas diferiu significativamente entre as três espécies com Wilks's lambda: 0,000; F: 2721,011 p<0,05. A primeira raiz canônica explica 90,9% da variação dos dados e a segunda 9,1%, totalizando 100% (figura 5).

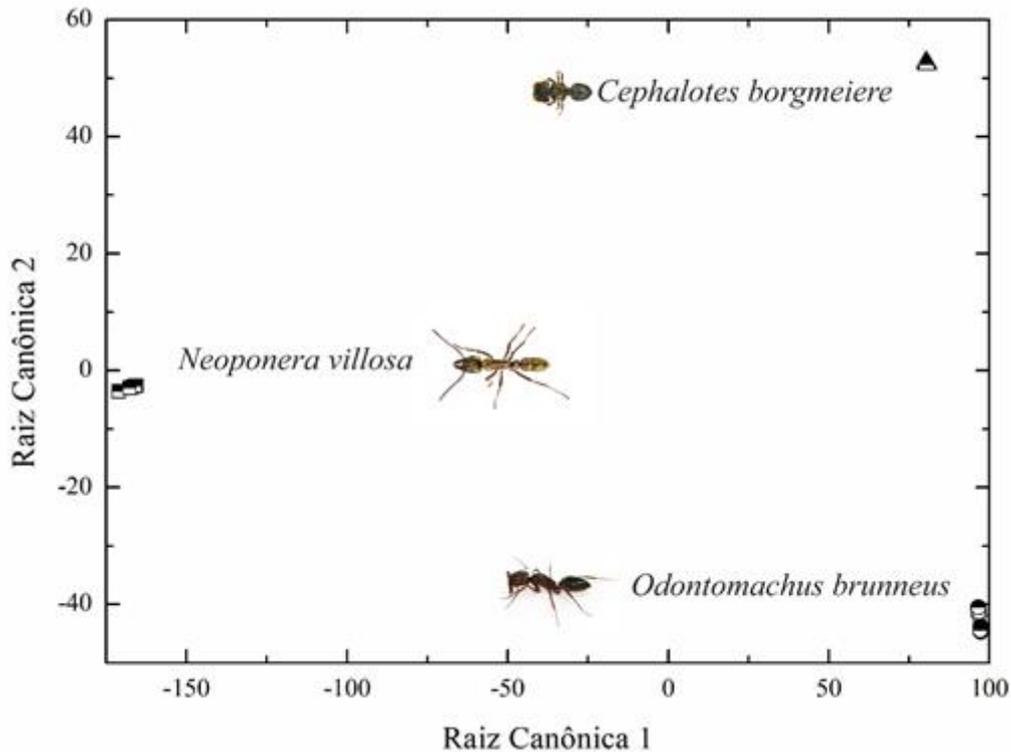


Fig. 5 Diagrama de dispersão mostrando as diferenças no perfil químico de pegadas entre as espécies *Cephalotes borgmeiere*, *Odontomachus brunneus* e *Neoponera villosa*. Wilks's lambda: 0,000; F: 2721,011; $p < 0,05$. Primeira raiz canônica explica 90,9% da variação dos dados e a segunda 9,1%, totalizando 100%.

A análise discriminante com os valores de área percentuais dos compostos da cutícula e das pegadas químicas juntos, mostra que cada tipo de compostos das 3 espécies se sobrepõe uns aos outros, ou seja, os compostos da cutícula de uma espécie são similares aos compostos de suas pegadas químicas, com Wilks's lambda: 0,000; F: 166,675; $p < 0,05$. A primeira raiz canônica explica 85,7% da variação dos dados e a segunda 14%, totalizando 99,7%. (Figura 6).

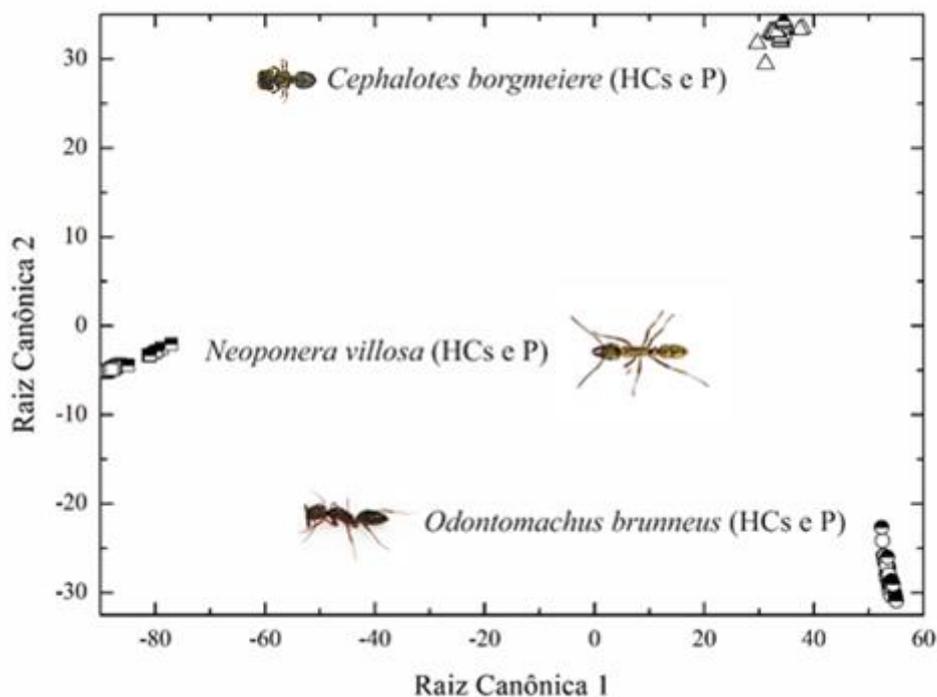


Fig. 6 Diagrama de dispersão mostrando as diferenças no perfil químico cuticular e de pegadas químicas entre as espécies *Cephalotes borgmeiere*, *Odontomachus brunneus* e *Neoponera villosa*. Wilks's lambda: 0,000; F: 166,675; $p < 0,05$. Figuras preenchidas representam os hidrocarbonetos de pegadas (■ ● ▲), figuras sem preenchimento representam hidrocarbonetos cuticulares (□ ○ △).

Tabela 1. Área percentual relativa de hidrocarbonetos cuticulares e hidrocarbonetos de pegadas químicas de *O. brunneus*, *N. villosa* e *C. borgmeieri*.

RI = Índice de retenção;
 - Não detectado.

Tempo	IR	Composto	<i>Odontomachus brunneus</i>		<i>Neoponera villosa</i>		<i>Cephalotes borgmeieri</i>	
			HC	HP	HC	HP	HC	HP
15,490	1990	x-Eicoseno	-	-	-	-	18.11±7.51	-
18,149	2087	Heneicoseno	-	-	1.44±3.85	-	-	-
18,548	2100	Heneicosano	-	-	1.44±3.85	-	10.2±4.52	-
20,079	2158	2-Metilheneicosano	-	-	0.48±1.63	-	-	-
20,816	2185	x-Docoseno	-	-	2.71±3.93	1.76±0.71	9.09±5.08	-
22,749	2267	2- Metildocosano	-	-	1.07±2.85	-	-	-
23,318	2279	x-Tricoseno	-	-	2.56±5.16	0.82±0.84	-	-
23,483	2300	Tricosano	-	-	27.58±12.92	38.14±3.12	4.97±2.45	-
24,023	2305	2-Tricoseno (E)	-	-	9.5±6.73	-	-	-
24,266	2314	5-Etil-5-metilhenicosano	-	-	9.5±6.73	24.52±7.23	-	-
24,395	2319	7-Metiltricosano	-	-	7.06±11.47	-	-	-
25,349	2356	5-Metiltricosano	-	-	9.69±3.45	13.43±2.35	-	-
25,922	2378	3-Metiltricosano	-	-	1.16±3.46	1.33±0.29	-	-
26,052	2400	Tetracosano	-	-	4.01±6.36	-	-	-
26,819	2412	3,7-/3,9-Dimetiltricosano	-	-	1.17±3.36	0.64±0.13	-	-
26,932	2432	11-Metiltetracosano	-	-	2.2±2.92	-	-	-
27,813	2452	5-Metiltetracosano	-	-	0.73±2.34	-	-	-
28,451	2470	2-Metiltetracosano	-	-	0.39±1.07	-	-	-
28,578	2482	x-Pentacoseno	0.09±0.13	-	2.89±4.35	1.39±0.36	-	-
29,331	2512	Pentacosano	-	-	11.6±5.83	15.07±4.43	-	-
30,366	2554	7-Metilpentacosane	-	-	1.11±3.1	-	-	-
31,068	2582	5,9-;5,11-;5,13-Dimetilpentacosano	0.23±1.12	-	-	-	-	-
33,404	2679	x-Heptacoseno	9.15±3.1	6±1.98	1.11±2.86	0.98±0.46	5.13±4.51	-
35,706	2779	3-Metilheptacosano	0.3±0.3	-	-	-	0.12±0.3	-
37,935	2878	x-Nonacoseno	2.77±1.05	3.69±2.81	0.61±1.04	1.93±1.21	28.58±12.39	36.61±16
40,065	2975	5,17-Dimetilnonacosano	-	-	-	-	0.22±0.53	-
41,552	3045	7-Metiltriacontano	0.04±0.11	-	-	-	-	-
41,747	3054	8,14-Dimetiltriacontano	19.81±4.36	19.38±2.03	-	-	-	-
42,189	3075	7-Hentriaconteno	0.22±0.26	0±0	-	-	11.18±4.88	27.37±8.14
43,815	3154	13,17-Dimetilhentriacontano	0.02±0.06	0±0	-	-	-	-
44,215	3174	3-Metilhentriacontano	-	0±0	-	-	1.09±1.47	4.7±2.83
45,342	3229	11-Metildotriacontano	44.37±6.46	49.38±3.45	-	-	-	-
45,813	3252	12.16-; 13.17-; 14.18-Dimetildotriacontano	23.01±4.24	21.55±2.26	-	-	-	-
46,191	3270	3-Metildotriacontano	-	-	-	-	11.32±5.5	31.33±11.16

DISCUSSÃO

Os resultados mostram que as forrageadoras de todas as espécies detectam e respondem a presença de pistas químicas na forma de pegadas deixadas por outras formigas. As forrageadoras de todas as espécies, seguiram pegadas de indivíduos da mesma espécie tanto companheiras de ninho quanto indivíduos de outras colônias, contudo, forrageadoras de *N. villosa* evitaram as pegadas de *C. borgmeieri* e as forrageadoras de *C. borgmeieri* evitaram as pegadas de todas as outras espécies.

As composições químicas de hidrocarbonetos da cutícula e das pegadas químicas guardam relação entre elas e são específicos de cada espécie. O número de compostos das pegadas químicas das três espécies é menor do que o da cutícula, o que corrobora os resultados de Wüst e Menzel (2017). Apesar do número de compostos presentes nas pegadas ser relativamente pequeno, é suficiente para que as pistas químicas deixadas no ambiente sejam detectadas (Wüst e Menzel 2017).

O fato de formigas seguirem pegadas de outras formigas da mesma colônia indica que as marcações de companheiras de ninho estimulam outras forrageadoras a deixarem o ninho (Devigne e Detrain 2002; Devigne et al. 2004; Lenoir et al. 2009). Devigne e Detrain (2002) sugerem que essas marcações foram selecionadas através da evolução, decorrente de um trade-off entre formigas agregadoras para melhorar a eficiência de forrageamento das colônias por meio da cooperação e dispersão de “batedores” para aumentar potenciais descobertas de alimentos por meio do aumento da área de residência explorada. De fato, em *Lasius niger*, a marcação química deixada próxima ao ninho, é uma dica relevante para as forrageadoras avaliarem indiretamente a distância do ninho em relação ao alimento, e também o nível de atividade local ou os riscos de forrageamento, a fim de sincronizar o recrutamento e a dinâmica de colônia (Devigne e Detrain 2006).

Hidrocarbonetos cuticulares podem variar entre espécies, colônias e diferentes subcastas (Nielsen et al. 1999; Nowbahari et al. 1990; Valadares e Nascimento 2016), contudo a especificidade dos hidrocarbonetos de pegadas entre indivíduos da mesma espécie permanece desconhecida. As forrageadoras das três espécies aqui estudadas seguiram pegadas químicas de formigas da mesma espécie de outras colônias. Sabe-se que formigas usam pistas químicas de outras colônias, como feromônios de marcação de trilha, para obter informações acerca do recurso encontrado (Hölldobler e Wilson 1990). Além disso espécies intimamente relacionadas tem sobreposição de nichos. Portanto, nós sugerimos que as formigas seguiram pegadas de não companheiras de

ninho da mesma espécie para obter informações acerca do recurso encontrado por outra colônia.

Formigas *Dolichoderus cuspidatus*, *P. ypsilon* e *C. saundersi* foram capazes de distinguir companheiras de ninhos de formigas de colônias diferentes, de acordo com pistas químicas deixadas no ambiente (Menzel et al. 2010). Estas formigas são mais agressivas em relação a formigas de colônias distantes, sugerindo que elas haviam se habituado às colônias próximas. A habituação e maior tolerância para com formigas de colônias vizinhas tem sido observada em vários táxons, incluindo formigas, e é denominado “efeito inimigo íntimo” (Jutsum et al. 1979; Knaden e Wehner 2003).

Forageadoras de *O. brunneus* seguiram pegadas tanto de indivíduos da mesma espécie como de formigas das duas outras espécies. Como são predadoras generalistas, podem fazer uso deste tipo de informação para detectar potenciais presas, tais como outras formigas. De fato, algumas formigas como *Ectatomma vizottoi* predam frequentemente formigas de outras espécies (Lima e Antonialli-Junior 2013). Formigas *Formica polyctena* e *Formica rufibarbis* seguem pistas químicas de formigas de outras espécies quando essas marcações estão em grande concentração no meio, possivelmente por indicar que outras espécies encontraram um recurso vantajoso (Wüst e Menzel 2017). As abelhas, por exemplo, detectam pegadas químicas de outros insetos em flores para avaliar se as flores podem estar esgotadas de recursos ou ainda merecem ser visitadas (Eltz 2006; Wilms e Eltz 2008). Além disso, pistas químicas de pegadas podem ser usadas por formigas para localizar recursos descobertos anteriormente por outras espécies, um método descrito como “espionagem” (Binz et al. 2014b; Wüst e Menzel 2017).

O. brunneus e *N. villosa* não apresentam um sistema de recrutamento massal, por isto são consideradas subordinadas por aquelas que executam este tipo de recrutamento e, assim, deveriam evitar competição por recurso nos mesmos horários de atividades das dominantes. Contudo, em comunidades de formigas, espécies dominantes podem tolerar submissas, e atacar outras dominantes (Holldobler 1983) e isso muitas vezes resulta na formação de mosaicos de formigas (Blüthgen e Stork 2007).

Em contrapartida, apesar de correrem o risco de confrontarem formigas grandes que também são predadoras generalistas como *N. villosa* e formigas que dominam recursos pelos seus sistemas de recrutamento como *C. borgimeieri*, *O. brunneus* possui mandíbulas especializadas para captura de presas, que foram cooptadas para defesa (Larabee e Suarez 2015). Estas estruturas têm pelos sensoriais que ao entrar em contato

com outro inseto acionam um mecanismo de fechamento das mandíbulas. Este movimento de fechamento é um dos mais rápidos encontrados entre os animais e ao executar este movimento a formiga é impulsionada num salto de defesa, afastando-as da ameaça (Larabee and Suarez 2015).

N. villosa é uma espécie relativamente grande (1,5–2 cm de comprimento) e alimenta-se de pequenos artrópodes (Orivel and Dejean 2001), utilizando o ferrão para abater presas e também para se defender, mas elas não seguiram as pegadas de *C. borgmeieri* que são formigas relativamente menores. Possivelmente, porque *N. villosa* é subordinada em relação a espécies dominantes (Bernstein 1975; Hölldobler e Lumsden 1980; Traniello 1989), como *Cephalotes* que forma colônias populosas, recrutam por meio de trilhas químicas e dominam o recurso em número (Hölldobler e Wilson 1990). Um outro fator relevante, é que várias espécies de *Cephalotes* se alimentam de pólen, um recurso que não é explorado por *N. villosa* e possivelmente essa espécie não despertou o comportamento de espionagem, já que ambas obtêm fontes de alimentos diferentes (Dejean e Corbara 1998). Além disso, as espécies submissas frequentemente evitam a agressão simplesmente evitando o contato (Menzel et al. 2010) ou pelo comportamento de apaziguamento (Hölldobler 1999). Assim, uma espécie de formiga dominante como *C. borgmeieri* pode se habituar e, eventualmente, ignorar uma espécie submissa como *N. villosa*, que está em menor número próximo ao recurso.

Forrageadoras de *C. borgmeieri* evitaram pegadas químicas de formigas das outras espécies. Esta pode ser uma estratégia para evitar competição ou mesmo predação. Assim como as abelhas que detectam pistas químicas de outras espécies para obter informações sobre os recursos, as formigas forrageadoras podem usar pistas de outras colônias ou espécies para evitar a competição, evitando áreas frequentadas por outras formigas (Wüst e Menzel 2017). Por outro lado, suas colônias são numerosas e elas fazem recrutamento em massa por meio de feromônios de trilha que desempenham um papel fundamental na busca por alimentos. Formigas que tem este tipo de estratégia em geral têm mais possibilidades de dominar uma fonte de recurso (Traniello 1989).

Em sociedades auto organizadas, grupo, tamanho e, mais especificamente, o número de forrageadoras na vizinhança governam a dinâmica de recrutamento (Jaffe e Deneubourg 1992). O tamanho das colônias influencia a seleção de recursos melhores (Nicolis and Deneubourg 1999) e previne apropriação pelos concorrentes (Traniello 1989). A este respeito, a exploração coletiva permite que formigas *Cephalotes* acessem novas áreas, uma vez que as colônias numerosas podem gerar respostas de

forrageamento mais eficientes. Além de possibilitar que as forrageadoras se desloquem em diferentes áreas a fim de evitar a competição com outras espécies e a predação.

Por outro lado, as operárias de *C. borgmeieri* de todas as subcastas são relativamente menores do que as operárias das outras duas espécies e evitaram, assim suas pegadas. Estas formigas também têm mandíbulas relativamente pequenas, o que limita suas estratégias de defesa caso ocorra encontros diretos com forrageadoras de *N. villosa* ou *O. brunneus*, o que pode tornar encontros com possíveis confrontos físicos ser muito danosos para uma formiga menor, conforme previsto pela hipótese de evasão sensível à ameaça (Helfman 1989), mesmo considerando que executam recrutamento em massa.

Diferenças interespecíficas nas tomadas de decisão em formigas quando confrontadas com pegadas podem se traduzir em diferenças de aptidão entre as espécies, tornando possível que algumas explorem recursos ou evitem concorrentes de forma mais eficaz que outras (Binz et al. 2014b; Wüst e Menzel 2017).

Das três hipóteses por nós levantadas, foi confirmado que as formigas seguiram as pegadas de companheiras e também de formigas de outras colônias da mesma espécie. Contudo, algumas seguiram e, não evitaram pegadas de formigas de outras espécies, provavelmente como estratégia ecológica para predação ou explorar recursos de outras formigas. Formigas com diferentes formas de forrageamento e ou recrutamento, diferiram em suas estratégias, como esperado, uma vez que podem ter papéis ecológicos diferentes em sua comunidade. Por fim, a composição química das pegadas é congruente com a composição química cuticular de cada espécie. Por outro lado, tanto uma, quanto outra são significativamente diferentes entre as espécies e, sugerem que de fato, sejam usadas como sinais para mediar as interações intra e interespecíficas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akino T, Knapp JJ, Thomas JA, Elmes GW (1999) Chemical mimicry and host specificity in the butterfly *Maculinea rebeli*, a social parasite of *Myrmica* ant colonies. *Proc R Soc London Ser B Biol Sci* 266:1419–1426. <https://doi.org/10.1098/rspb.1999.0796>
- Akino T, Yamaoka R (2005) Trail discrimination signal of *Lasius japonicus* (Hymenoptera: Formicidae). *Chemoecology* 15:21–30. <https://doi.org/10.1007/s00049-005-0288-6>
- Antoniali Junior WF, Suárez YR, Izida T, et al (2008) Intra- and interspecific variation

- of cuticular hydrocarbon composition in two *Ectatomma* species (Hymenoptera: Formicidae) based on Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. *Genet Mol Res* 7:559–566. <https://doi.org/10.4238/vol7-2gmr454>
- Antoniali WF, Lima SM, Andrade LHC, Suárez YR (2007) Comparative study of the cuticular hydrocarbon in queens, workers and males of *Ectatomma vizottoi* (Hymenoptera, Formicidae) by Fourier transform-infrared photoacoustic spectroscopy. *Genet Mol Res* 6:492–9
- Arnan X, Gaucherel C, Andersen AN (2011) Dominance and species co-occurrence in highly diverse ant communities: a test of the interstitial hypothesis and discovery of a three-tiered competition cascade. *Oecologia* 166:783–794. <https://doi.org/10.1007/s00442-011-1919-y>
- Attygalle AB, Morgan ED (1984) Chemicals from the glands of ants. *Chem Soc Rev* 13:245–278. <https://doi.org/10.1039/CS9841300245>
- Bagnères A-G, Rivière G, Clément J-L (1998) Artificial neural network modeling of caste odor discrimination based on cuticular hydrocarbons in termites. *Chemoecology* 8:201–209. <https://doi.org/10.1007/s000490050026>
- Beattie AJ, Huhes L (2002) Ant-plant interactions. In: *Plant–animal interactions: an evolutionary approach*. pp 211–236
- Bernstein RA (1975) Foraging strategies of ants in response to variable food density. *Ecology* 56:213–219. <https://doi.org/10.2307/1935314>
- Bestelmeyer BT (2000) The trade-off between thermal tolerance and behavioural dominance in a subtropical South American ant community. *J Anim Ecol* 69:998–1009. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2000.00455.x>
- Beutel RG, Gorb SN (2001) Ultrastructure of attachment specializations of hexapods (Arthropoda): evolutionary patterns inferred from a revised ordinal phylogeny. *J Zool Syst Evol Res* 39:177–207. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0469.2001.00155.x>
- Billen J, Morgan D (1998) Pheromone communication in social insects: Sources and secretions. In: *Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees, and termites*. pp 3–33
- Binz H, Bucher R, Entling MH, Menzel F (2014a) Knowing the risk: Crickets distinguish between spider predators of different size and commonness. *Ethology* 120:99–110. <https://doi.org/10.1111/eth.12183>
- Binz H, Foitzik S, Staab F, Menzel F (2014b) The chemistry of competition: exploitation of heterospecific cues depends on the dominance rank in the

- community. *Anim Behav* 94:45–53. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2014.05.024>
- Blomquist GJ, Bagnères A-G (2010) *Insect hydrocarbons: Biology, biochemistry, and chemical ecology*. Cambridge University Press, Cambridge
- Blüthgen N, Gebauer G, Fiedler K (2003) Disentangling a rainforest food web using stable isotopes: Dietary diversity in a species-rich ant community. *Oecologia* 137:426–435. <https://doi.org/10.1007/s00442-003-1347-8>
- Blüthgen N, Stork NE (2007) Ant mosaics in a tropical rainforest in Australia and elsewhere: A critical review. *Austral Ecol* 32:93–104. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2007.01744.x>
- Carroll CR, Janzen DH (1973) Ecology of foraging by ants. *Annu Rev Ecol Syst* 4:231–257. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.04.110173.001311>
- Cerdá X, Arnan X, Retana J (2013) Is competition a significant hallmark of ant (Hymenoptera: Formicidae) ecology? *Myrmecological News* 18:131–147
- Cerda X, Retana J, Cros S (1997) Thermal disruption of transitive hierarchies in mediterranean ant communities. *J Anim Ecol* 66:363. <https://doi.org/10.2307/5982>
- Cerdá X, Retana J, Manzaneda A (1998) The role of competition by dominants and temperature in the foraging of subordinate species in mediterranean ant communities. *Oecologia* 117:404–412. <https://doi.org/10.1007/s004420050674>
- Chauvin R (1962) Sur l'épagine ϵ et sur les glandes tarsales d'Arnhart. *Insectes Soc* 9:1–5. <https://doi.org/10.1007/BF02224577>
- Chesson P (2000) Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annu Rev Ecol Syst* 31:343–366. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.31.1.343>
- Chesson PL, Huntly N (1988) Community consequences of life-history traits in a variable environment. *Ann Zool Fennici* 25:5–16
- Chivers DP, Smith RJF (1998) Chemical alarm signalling in aquatic predator-prey systems: A review and prospectus. *Ecoscience* 5:338–352. <https://doi.org/10.1080/11956860.1998.11682471>
- Chivers DP, Wisenden BD, Smith RJF (1996) Damselfly larvae learn to recognize predators from chemical cues in the predator's diet. *Anim Behav* 52:315–320. <https://doi.org/10.1006/anbe.1996.0177>
- Cisterne A, Vanderduys EP, Pike DA, Schwarzkopf L (2014) Wary invaders and clever natives: sympatric house geckos show disparate responses to predator scent. *Behav Ecol* 25:604–611. <https://doi.org/10.1093/beheco/aru031>
- Dejean A, Compin A, Leponce M, et al (2018) Ants impact the composition of the

- aquatic macroinvertebrate communities of a myrmecophytic tank bromeliad. *C R Biol* 341:200–207. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2018.02.003>
- Dejean A, Corbara B (1998) Study of different foraging paths of the predatory neotropical ponerine ant *Pachycondyla* (= *Neoponera*) *villosa* (Hymenoptera, Formicidae). *Sociobiology* 32:409–426
- Devigne C, Detrain C (2002) Collective exploration and area marking in the ant *Lasius niger*. *Insectes Soc* 49:357–362. <https://doi.org/10.1007/PL00012659>
- Devigne C, Detrain C (2006) How does food distance influence foraging in the ant *Lasius niger*: The importance of home-range marking. *Insectes Soc* 53:46–55. <https://doi.org/10.1007/s00040-005-0834-9>
- Devigne C, Renon AJ, Detrain C (2004) Out of sight but not out of mind: modulation of recruitment according to home range marking in ants. *Anim Behav* 67:1023–1029. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2003.09.012>
- Dodson SI, Crowl TA, Peckarsky BL, et al (1994) Non-visual Communication in freshwater benthos: An overview. *J North Am Benthol Soc* 13:268–282. <https://doi.org/10.2307/1467245>
- Drechsler P, Federle W (2006) Biomechanics of smooth adhesive pads in insects: influence of tarsal secretion on attachment performance. *J Comp Physiol A* 192:1213–1222. <https://doi.org/10.1007/s00359-006-0150-5>
- Ehmer B, Hölldobler B (1995) Foraging Behavior of *Odontomachus bauri* on Barro Colorado Island, Panama. *Psyche A J Entomol* 102:215–224. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/1995/27197>
- Eisner T, Aneshansley DJ (2000) Defense by foot adhesion in a beetle (*Hemisphaerota cyanea*). *Proc Natl Acad Sci* 97:6568–6573. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.12.6568>
- Eltz T (2006) Tracing pollinator footprints on natural flowers. *J Chem Ecol* 32:907–915. <https://doi.org/10.1007/s10886-006-9055-6>
- Federle W, Brainerd EL, McMahon TA, Holldobler B (2001) Biomechanics of the movable pretarsal adhesive organ in ants and bees. *Proc Natl Acad Sci* 98:6215–6220. <https://doi.org/10.1073/pnas.111139298>
- Federle W, Riehle M, Curtis ASG, Full RJ (2002) An Integrative study of insect adhesion: Mechanics and wet adhesion of pretarsal pads in ants. *Integr Comp Biol* 42:1100–1106. <https://doi.org/10.1093/icb/42.6.1100>
- Fénéron R, Billen J (1996) Ovarian cycle in *Ectatomma tuberculatum* workers

- (formicidae, ponerinae). *Invertebr Reprod Dev* 29:79–85.
<https://doi.org/10.1080/07924259.1996.9672497>
- Ferreira AC, Neves EF, Montagna TS, et al (2017) Intraspecific variation of the composition of linear alkanes in social wasp *Mischocyttarus consimilis*. *Sociobiology* 64:442–450. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v64i4.1857>
- Ferrero DM, Lemon JK, Fluegge D, et al (2011) Detection and avoidance of a carnivore odor by prey. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:11235–11240. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103317108>
- Ferveur J-F, Cobb M, Boukella H, Jallon J-M (1996) World-wide variation in *Drosophila melanogaster* sex pheromone : Behavioural effects , genetic bases and potential evolutionary consequences. *Genetica* 97:73–80. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF00132583>
- Flynn AM, Smee DL (2010) Behavioral plasticity of the soft-shell clam, *Mya arenaria* (L.), in the presence of predators increases survival in the field. *J Exp Mar Bio Ecol* 383:32–38. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2009.10.017>
- Futuyma DJ, Moreno G (1988) The Evolution of Ecological Specialization. *Annu Rev Ecol Syst* 19:207–233. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.19.110188.001231>
- Geiselhardt SF, Geiselhardt S, Peschke K (2011) Congruence of epicuticular hydrocarbons and tarsal secretions as a principle in beetles. *Chemoecology* 21:181–186. <https://doi.org/10.1007/s00049-011-0077-3>
- Geiselhardt SF, Lamm S, Gack C, Peschke K (2010) Interaction of liquid epicuticular hydrocarbons and tarsal adhesive secretion in *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). *J Comp Physiol A* 196:369–378. <https://doi.org/10.1007/s00359-010-0522-8>
- Gibernau M, Orivel J, Delabie JHC, et al (2007) An asymmetrical relationship between an arboreal ponerine ant and a trash-basket epiphyte (Araceae). *Biol J Linn Soc* 91:341–346. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2007.00799.x>
- Gorb S, Jiao Y, Scherge M (2000) Ultrastructural architecture and mechanical properties of attachment pads in *Tettigonia viridissima* (Orthoptera: Tettigoniidae). *J Comp Physiol A Sensory, Neural, Behav Physiol* 186:821–831. <https://doi.org/10.1007/s003590000135>
- Goulson D (2000) Why do pollinators visit proportionally fewer flowers in large patches? *Oikos* 91:485–492. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.910309.x>
- Greene MJ, Gordon DM (2003) Cuticular hydrocarbons inform task decisions. *Nature*

- 423:32. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/423032a>
- Harland DP, Jackson RR, Macnab AM (1999) Distances at which jumping spiders (Araneae: Salticidae) distinguish between prey and conspecific rivals. *J Zool* 247:357–364. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1999.tb00998.x>
- Hartman EJ, Abrahams M V. (2000) Sensory compensation and the detection of predators: The interaction between chemical and visual information. *Proc R Soc B Biol Sci* 267:571–575. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1039>
- Helfman GS (1989) Behavioral ecology and sociobiology threat-sensitive predator avoidance in damselfish-trumpetfish interactions. *Behav Ecol Sociobiol* 24:47–58
- Hölldobler B (1983) Territorial behavior in the green tree ant (*Oecophylla smaragdina*). *Biotropica* 15:241. <https://doi.org/10.2307/2387648>
- Hölldobler B (1999) Multimodal signals in ant communication. *J Comp Physiol A Sensory, Neural, Behav Physiol* 184:129–141. <https://doi.org/10.1007/s003590050313>
- Hölldobler B, Lumsden CJ (1980) Territorial strategies in ants. *Science* (80-) 210:732–739. <https://doi.org/10.1126/science.210.4471.732>
- Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The ants*. Cambridge: Harvard University Press
- Human KG, Gordon DM (1996) Exploitation and interference competition between the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*, and native ant species. *Oecologia* 105:405–412. <https://doi.org/10.1007/BF00328744>
- Jackson BD, Morgan ED (1993) Insect chemical communication: Pheromones and exocrine glands of ants. *Chemoecology* 4:125–144. <https://doi.org/10.1007/BF01256548>
- Jacobsen HP, Stabell OB (2004) Antipredator behaviour mediated by chemical cues: The role of conspecific alarm signalling and predator labelling in the avoidance response of a marine gastropod. *Oikos* 104:43–50. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2004.12369.x>
- Jaffe K, Deneubourg JL (1992) On foraging, recruitment systems and optimum number of scouts in eusocial colonies. *Insectes Soc* 39:201–213. <https://doi.org/10.1007/BF01249295>
- Kaliszewicz A, Uchmański J (2009) A cross-phyla response to *Daphnia* chemical alarm substances by an aquatic oligochaete. *Ecol Res* 24:461–466. <https://doi.org/10.1007/s11284-008-0522-0>
- Kats LB, Dill LM (1998) The scent of death: chemosensory assessment of predation

- risk by prey animals. *Ecoscience* 5:361–394.
<https://doi.org/10.1080/11956860.1998.11682468>
- Kleeberg I, Menzel F, Foitzik S (2017) The influence of slavemaking lifestyle, caste and sex on chemical profiles in *Temnothorax* ants: insights into the evolution of cuticular hydrocarbons. *Proc R Soc B Biol Sci* 284:20162249.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2016.2249>
- Klein RW, Kovac D, Schellerich A, Maschwitz U (1992) Mealybug-carrying by swarming queens of a Southeast Asian bamboo-inhabiting ant. *Naturwissenschaften* 79:422–423. <https://doi.org/10.1007/BF01138577>
- Knaden M, Wehner R (2003) Nest defense and conspecific enemy recognition in the desert ant *Cataglyphis fortis*. *J Insect Behav* 16:717–730.
<https://doi.org/10.1023/B:JOIR.0000007706.38674.73>
- Lang C, Menzel F (2011) *Lasius niger* ants discriminate aphids based on their cuticular hydrocarbons. *Anim Behav* 82:1245–1254.
<https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.08.020>
- Larabee FJ, Suarez A V. (2015) Mandible-powered escape jumps in trap-jaw ants increase survival rates during predator-prey encounters. *PLoS One* 10:1–10.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124871>
- Large S, Smee D, Trussell G (2011) Environmental conditions influence the frequency of prey responses to predation risk. *Mar Ecol Prog Ser* 422:41–49.
<https://doi.org/10.3354/meps08930>
- Lenoir A, Depickère S, Devers S, et al (2009) Hydrocarbons in the ant *Lasius niger*: From the cuticle to the nest and home range marking. *J Chem Ecol* 35:913–921.
<https://doi.org/10.1007/s10886-009-9669-6>
- Lensky Y, Slabezki Y (1981) The inhibiting effect of the queen bee (*Apis mellifera* L.) foot-print pheromone on the construction of swarming queen cups. *J Insect Physiol* 27:313–323. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(81\)90077-9](https://doi.org/10.1016/0022-1910(81)90077-9)
- Levey DJ, Silva W, Galetti M (2002) Seed dispersal and frugivory: Ecology, evolution, and conservation, 1st edn. CABI
- Lima LD, Antonialli-Junior WF (2013) Foraging strategies of the ant *Ectatomma vizottoi* (Hymenoptera, Formicidae). *Rev Bras Entomol* 57:392–396.
<https://doi.org/10.1590/S0085-56262013005000038>
- Lima SL, Bednekoff PA (1999) Temporal variation in danger drives antipredator behavior: The predation risk allocation hypothesis. *Am Nat* 153:649–659.

<https://doi.org/10.1086/303202>

- Lima SL, Dill LM (1990) Behavioral decisions made under the risk of predation: A review and prospectus. *Can J Zool* 68:619–640. <https://doi.org/10.1139/z90-092>
- Martin S, Drijfhout F (2009a) A review of ant cuticular hydrocarbons. *J Chem Ecol* 35:1151–1161. <https://doi.org/10.1007/s10886-009-9695-4>
- Martin SJ, Drijfhout FP (2009b) Nestmate and task cues are influenced and encoded differently within ant cuticular hydrocarbon profiles. *J Chem Ecol* 35:368–374. <https://doi.org/10.1007/s10886-009-9612-x>
- Menzel F, Woywod M, Blüthgen N, Schmitt T (2010) Behavioural and chemical mechanisms behind a Mediterranean ant-ant association. *Ecol Entomol* 35:711–720. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2010.01231.x>
- Mirza RS, Chivers DP (2000) Predator-recognition training enhances survival of brook trout: Evidence from laboratory and field enclosure studies. *Can J Zool* 78:2198–2207. <https://doi.org/10.1139/cjz-78-12-2198>
- Nelson AS, Carvajal Acosta N, Mooney KA (2019) Plant chemical mediation of ant behavior. *Curr Opin Insect Sci* 32:98–103. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.12.003>
- Nicolis SC, Deneubourg JL (1999) Emerging patterns and food recruitment in ants: An analytical study. *J Theor Biol* 198:575–592. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1999.0934>
- Nielsen J, Boomsma JJ, Oldham NJ, et al (1999) Colony-level and season-specific variation in cuticular hydrocarbon profiles of individual workers in the ant *Formica truncorum*. *Insectes Soc* 46:58–65. <https://doi.org/10.1007/s000400050113>
- Nowbahari E, Lenoir A, Clément JL, et al (1990) Individual, geographical and experimental variation of cuticular hydrocarbons of the ant *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera: Formicidae): Their use in nest and subspecies recognition. *Biochem Syst Ecol* 18:63–73. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(90\)90036-F](https://doi.org/10.1016/0305-1978(90)90036-F)
- Orivel J, Dejean A (2001) Comparative effect of the venoms of ants of the genus *Pachycondyla* (Hymenoptera: Ponerinae). *Toxicon* 39:195–201. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(00\)00113-6](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(00)00113-6)
- Orivel J, Malherbe MC, Dejean A (2001) Relationships between pretarsus morphology and arboreal life in Ponerine ants of the genus *Pachycondyla* (Formicidae: Ponerinae). *Ann Entomol Soc Am* 94:449–456. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2001\)094\[0449:RBPMAA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2001)094[0449:RBPMAA]2.0.CO;2)

- Poulin RX, Lavoie S, Siegel K, et al (2018) Chemical encoding of risk perception and predator detection among estuarine invertebrates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115:662–667. <https://doi.org/10.1073/pnas.1713901115>
- Ricklefs RE (2004) A comprehensive framework for global patterns in biodiversity. *Ecol Lett* 7:1–15. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00554.x>
- Rowland WJ (1983) Interspecific aggression in sticklebacks: *Gasterosteus aculeatus* displaces *Apeltes quadracus*. *Copeia* 1983:541. <https://doi.org/10.2307/1444406>
- Savolainen R, Vepsäläinen K, Vepsäläinen K (1988) A Competition hierarchy among boreal ants: Impact on resource partitioning and community structure. *Oikos* 51:135. <https://doi.org/10.2307/3565636>
- Sevenster JG, Alphen JJM Van (1993) A life history trade-off in *Drosophila* species and community structure in variable environments. *J Anim Ecol* 62:720. <https://doi.org/10.2307/5392>
- Shaffery HM, Relyea RA (2015) Predator-induced defenses in five species of larval *Ambystoma*. *Copeia* 103:552–562. <https://doi.org/10.1643/ce-14-043>
- Silva GS, Demétrio MF, Da Silva PSD, Silvestre R (2015) Estratégias de competição entre espécies de formigas em um fragmento de vegetação de caatinga, Bahia, Brasil. *Entomotropica* 30:218–223
- Smee DL, Weissburg MJ (2006) Hard clams (*Mercenaria mercenaria*) evaluate predation risk using chemical signals from predators and injured conspecifics. *J Chem Ecol* 32:605–619. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-9021-8>
- Smith AA, Millar JG, Hanks LM, Suarez A V. (2013) A conserved fertility signal despite population variation in the cuticular chemical profile of the trap-jaw ant *Odontomachus brunneus*. *J Exp Biol* 216:3917–3924. <https://doi.org/10.1242/jeb.089482>
- Smith AA, Millar JG, Hanks LM, Suarez A V. (2012) Experimental evidence that workers recognize reproductives through cuticular hydrocarbons in the ant *Odontomachus brunneus*. *Behav Ecol Sociobiol* 66:1267–1276. <https://doi.org/10.1007/s00265-012-1380-x>
- Smith AA, Millar JG, Suarez A V. (2016) Comparative analysis of fertility signals and sex-specific cuticular chemical profiles of *Odontomachus* trap-jaw ants. *J Exp Biol* 219:419–430. <https://doi.org/10.1242/jeb.128850>
- Styrsky JD, Eubanks MD (2006) Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. *Proc R Soc B* 274:151–164.

<https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3701>

- Thygesen UH, Farnsworth KD, Andersen KH, Beyer JE (2005) How optimal life history changes with the community size-spectrum. *Proc R Soc B Biol Sci* 272:1323–1331. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3094>
- Tibcherani M, Nacagava VAF, Aranda R, Mello RL (2018) Review of ants (Hymenoptera: Formicidae) as bioindicators in the Brazilian Savanna. *Sociobiology* 65:112–129. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v65i2.2048>
- Traniello J (1989) Foraging strategies of ants. *Annu Rev Entomol* 34:191–210. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.34.1.191>
- Tschinkel WR (2003) Subterranean ant nests: trace fossils past and future? *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol* 192:321–333. [https://doi.org/10.1016/S0031-0182\(02\)00690-9](https://doi.org/10.1016/S0031-0182(02)00690-9)
- Uschinger AB (2009) Social parasitism among ants: a review (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 12:219–235
- Valadares L, Nascimento FS do (2016) Chemical cuticular signature of leafcutter ant *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae) worker subcastes. *Rev Bras Entomol* 60:308–311. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2016.06.008>
- Vonshak M, Dayan T, Hefetz A (2012) Interspecific displacement mechanisms by the invasive little fire ant *Wasmannia auropunctata*. *Biol Invasions* 14:851–861. <https://doi.org/10.1007/s10530-011-0122-8>
- Weissburg M, Smee DL, Ferner MC (2014) The sensory ecology of nonconsumptive predator effects. *Am Nat* 184:141–157. <https://doi.org/10.1086/676644>
- Wilms J, Eltz T (2008) Foraging scent marks of bumblebees: footprint cues rather than pheromone signals. *Naturwissenschaften* 95:149–153. <https://doi.org/10.1007/s00114-007-0298-z>
- Wilson DJ, Lefcort H (1993) The effect of predator diet on the alarm response of red-legged frog, *Rana aurora*, tadpoles. *Anim Behav* 46:1017–1019. <https://doi.org/10.1006/anbe.1993.1285>
- Wisenden BD (2000) Olfactory assessment of predation risk in the aquatic environment. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 355:1205–1208. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0668>
- Wisenden BD, Chivers DP, Smith RJF (1997) Learned recognition of predation risk by *Enallagma damselfly* larvae (Odonata, Zygoptera) on the basis of chemical cues. *J Chem Ecol* 23:137–151. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000006350.66424.3d>

- Wüst M, Menzel F (2017) I smell where you walked - how chemical cues influence movement decisions in ants. *Oikos* 126:149–160. <https://doi.org/10.1111/oik.03332>
- Youngsteadt E, Nojima S, Häberlein C, et al (2008) Seed odor mediates an obligate ant-plant mutualism in Amazonian rainforests. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:4571–4575. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708643105>
- Zötzel M, Lienert R, Clutton-Brock T, et al (2013) The effects of recruitment to direct predator cues on predator responses in meerkats. *Behav Ecol* 24:198–204. <https://doi.org/10.1093/beheco/ars154>