

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

EFEITO INIMIGO ÍNTIMO EM *ECTATOMMA BRUNNEUM*
SMITH 1858 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)

Márlon César Pereira

Dourados/MS
Fevereiro de 2013

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

Márlon César Pereira

EFEITO INIMIGO ÍNTIMO EM *ECTATOMMA BRUNNEUM* SMITH 1858
(HYMENOPTERA, FORMICIDAE)

Defesa de Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Entomologia e Conservação da Biodiversidade.

Orientador: Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior

Dourados/MS
Fevereiro de 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil

P436e Pereira, Márlon César.
Efeito inimigo íntimo em *Ectatomma brunneum*
Smith 1858 (Hymenoptera, Formicidae) / Márlon César
Pereira. – Dourados, MS: UFGD, 2013.
35 f.

Orientador: Prof. Dr. William Fernando Antonialli
Junior.

Dissertação (Mestrado em Entomologia e
Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal
da Grande Dourados.

1. Formigas. 2. Hidrocarbonetos. I. Antonialli Junior,
William Fernando II. Título.

CDD: 595.796

Biografia do Acadêmico

Márlon César Pereira nasceu em Iguatemi/MS no dia 15 de janeiro de 1990, filho de Júlio Cesar Pereira e Izabel Quadros da Rocha Pereira.

Cursou a 1ª e 2ª Série do ensino fundamental na Escola Estadual de 1º e 2º Grau 8 de Maio em Iguatemi/MS nos anos de 1996 e 1997 respectivamente, cursou a 3ª Série do ensino fundamental na Escola Ativa em Iguatemi/MS no ano de 1998, cursou da 4ª a 8ª Série do ensino fundamental na Escola Estadual de 1º e 2º Grau 8 de Maio em Iguatemi/MS entre os anos de 1999 e 2003.

Cursou o 1º e 2º ano do ensino médio na Escola Estadual de 1º e 2º Grau 8 de Maio em Iguatemi/MS nos anos de 2004 e 2005 respectivamente, após isso concluiu o 3º ano do ensino médio na Escola Estadual de 1º e 2º Graus Joaquim Murtinho em Ponta Porã/MS no ano de 2006.

Possui graduação em Ciências Biológicas modalidade Licenciatura Plena pela Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul campus de Dourados/MS em 2011. Foi bolsista de iniciação científica CNPq no período de 2009/2010, com o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado “Assembléias de formigas associada à macrófitas aquáticas no Pantanal do Nabileque, Porto Murtinho-MS”.

Agradecimentos

Neste momento tão importante da minha vida, consigo olhar para trás e perceber quem sempre esteve ao meu lado, nos momentos bons ou ruins, de alegrias ou de tristezas e sendo assim agradeço aqui a todos que marcaram esta etapa importante na minha caminhada ao futuro, sei que posso falhar e me esquecer de alguém, mas sempre que recebi algum tipo de apoio retribui de alguma forma e creio que todos que me ajudaram mesmo não estando marcados aqui sabem de sua importância neste momento.

Agradeço primeiramente a Deus, nossa fonte de vida, aquele que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, me dando força para suportar as dificuldades e os desafios assim me ensinando sempre seguir seus passos com muita fé.

À minha família, principalmente meus pais Júlio e Izabel e meu irmão Rodrigo, que sempre estiveram comigo, e foram e sempre serão meus pilares verdadeiros, minha força, minha esperança, minha confiança, meus amigos, meu ontem, meu hoje e meu amanhã. Agradeço a meus pais que sempre que preciso se sacrificavam, visando sempre meu bem e almejando que eu tivesse um futuro excelente.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior, que desde o começo da minha caminhada na pesquisa científica se propôs a me guiar neste caminho para me tornar um verdadeiro cientista, também agradeço pelos diversos conselhos e ensinamentos, além da amizade que sempre levarei comigo, e um dia espero ter a mesma sabedoria e assim poder seguir seus passos.

Aos Professores que fizeram parte de minha caminhada de mestrado, em especial ao Prof. Dr. Sandro Márcio Lima e o Prof. Dr. Yzel Rondon Suarez, pelo suporte e ajuda em minha dissertação.

Aos Professores Dr. Valter Alves Vieira Junior, Dr. José Benedito Perella Balestiere e Dr. Sandro Márcio Lima, pela disponibilidade e gentileza para participar de minhas bancas examinadoras, além dos conselhos para melhorar a qualidade de minha dissertação.

Agradeço do fundo do coração a Ingrid de Carvalho Guimarães pela ajuda em todos os momentos, principalmente pela compreensão em momentos tensos que só a pós-graduação proporciona, enfim agradeço pelo companheirismo e por ser muito importante para minha história.

A todos meus amigos de laboratório, principalmente a Ellen Liciane Barbosa Firmino e Rafaella Caroline Bernardi, pela ajuda que foi de fundamental importância para conclusão da minha dissertação.

A todos meus amigos, ressaltando “meus brothers”, Marcelo Fruto, Paulo Ramos e Cesar Adriano, que sempre estiveram ao meu lado, me fazendo confiar que sempre é possível alcançar minhas metas e sempre estiveram comigo nos momentos de descontração e futebol.

Ao Programa de Pós Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pela oportunidade de fazer parte do corpo discente do curso de mestrado e pelo suporte sempre que necessário.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo incentivo financeiro na modalidade de bolsa de estudo.

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, pelo apoio técnico.

Enfim, agradeço a todos que sempre estiveram ao meu lado na minha vida de mestrando, ajudando direta ou indiretamente, só tenho que dizer um simples porém sincero Muito Obrigado!!!

Dedicatória

*“Dedico esta minha vitória a meus pais,
Júlio e Izabel,
que sempre estiveram ao meu lado para
me dar carinho e amor além de me
ensinar que mesmo a vida sendo difícil
ela é uma dádiva divina”.*

Sumário

EFEITO INIMIGO ÍNTIMO EM <i>ECTATOMMA BRUNNEUM</i> SMITH 1858 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)	
Resumo	1
Introdução	2
Materiais e Métodos	
Estudo Comportamental	6
Análises dos Perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares	7
Análises Estatísticas	8
Resultados	9
Discussão	10
Referências Bibliográficas	13
Anexos	
Tabela 1	20
Tabela 2	21
Tabela 3	22
Figura 1	23
Figura 2	24
Figura 3	25
Figura 4	26

Efeito Inimigo Íntimo em *Ectatomma brunneum* Smith 1858 (Hymenoptera, Formicidae)

RESUMO

A integridade de uma colônia de formigas depende exclusivamente das relações sociais entre seus indivíduos e, portanto, de sua capacidade de reconhecimento entre companheiras de mesmo ninho, principalmente através do reconhecimento via feromônio cuticular. Assim, a fim de investigar os mecanismos de reconhecimento durante interações intraespecíficas com base no “Efeito Inimigo Íntimo” na espécie *Ectatomma brunneum*, foram coletadas 10 colônias que foram alocadas em ninhos artificiais em laboratório. Sempre aos pares, os ninhos distintos foram conectados a uma única arena de forrageamento, na qual era possível membros de duas colônias interagirem durante a busca por recursos. Para avaliar o nível de agressividade durante os encontros os comportamentos agonísticos exibidos receberam uma escala de pontuação. Essa análise comportamental foi relacionada com a composição de feromônios superficiais da cutícula dos insetos, realizadas por meio das técnicas de absorção no infravermelho médio e cromatografia gasosa. Os resultados mostraram que as forrageadoras de *E. brunneum* sempre apresentavam um determinado nível de agressividade durante as interações, sendo menor entre colônias nidificadas mais próximas. As análises dos perfis de hidrocarbonetos cuticulares demonstram, pelas duas técnicas, que apesar de cada colônia ter sua assinatura própria há uma sobreposição maior de colônias nidificadas em sítios próximos. Assim é possível afirmar que o Efeito Inimigo Íntimo é aplicável à espécie de formiga *E. brunneum*, e um dos mecanismos utilizados para o reconhecimento entre as colônias deve ser a variação química do perfil de hidrocarbonetos cuticulares.

Palavras chave: Agressividade, Comportamento, Formigas, Hidrocarbonetos Cuticulares

INTRODUÇÃO

Assim como nas demais sociedades de insetos, as formigas são caracterizadas pelo alto grau de cooperação entre os diferentes indivíduos que integram a colônia. Os membros de uma colônia exibem comportamentos sociais individuais que, no entanto, se complementam, resultando em um desenvolvimento global da colônia (ZINCK et al., 2008). As operárias, por exemplo, agem de modo ativo na construção de ninhos, na proteção da colônia contra predadores, no forrageio e no cuidado com a prole (RATNIEKS et al., 2006). É bem sabido que a integridade de uma colônia depende exclusivamente das relações sociais entre seus indivíduos e, portanto, de sua capacidade de comunicação entre membros do grupo (CROZIER & PAMILO, 1996).

Entre as características comuns dos insetos sociais está a grande diversidade de glândulas exócrinas distribuídas por todo o corpo dos indivíduos. O alto número e a diversidade dessas glândulas acompanham as várias funções dentro de uma colônia, sobretudo, na comunicação (NOIROT, 1969; HÖLLDOBLER & WILSON, 1990; BILLEN & MORGAN, 1998). Entre os exemplos mais conhecidos de secreções das glândulas exócrinas estão os feromônios, que desempenham funções na comunicação entre companheiras de ninho. Estes feromônios são geralmente misturas de multicomponentes, o que gera um alto potencial de especificidade às mensagens (SILVERSTEIN & YOUNG, 1976; HÖLLDOBLER & CARLIN, 1987).

Os feromônios superficiais, também chamados de hidrocarbonetos cuticulares (HCs), são casos especiais de assinatura química usado na comunicação e na identificação de indivíduos da mesma colônia (GAMBOA et al., 1996; LAHAV et al., 1999; WAGNER et al., 2000; LENOIR et al., 2001). Estes podem ser geneticamente determinados (BEYE et al., 1998; SUAREZ et al., 2002; GUERRIERI & D'ETTORRE, 2007), adquiridos do ambiente (CARLIN & HÖLLDOBLER, 1983; LIANG & SILVERMAN, 2000; BUCZKOWSKI & SILVERMAN, 2006; SORVARI et al., 2008) ou pela combinação dos dois componentes (JUTSUM et al., 1979; CROSLAND, 1989; PIRK et al., 2001; SUAREZ et al., 2002).

O papel dos HCs como feromônios tem se tornado cada vez mais evidente (BREED, 1998; LAHAV et al., 1999) e, em muitas espécies de insetos sociais, podem variar com a colônia e também com a fisiologia do adulto (“oogenesis”) (BLOMQUIST et al., 1998; LENOIR et al., 1999). Além disto, estudos recentes têm mostrado que o perfil de HC varia com a casta e ou de acordo com a função que o indivíduo desempenha na colônia (ABDALLA et al., 2003; ANTONIALLI-JÚNIOR et al., 2007).

Os HCs têm perfis, em parte, geneticamente determinados e, portanto, podem ser utilizados pelas operárias como "assinaturas" para o reconhecimento intra e interespecífico (ARNOLD et al., 2000). A existência destes mecanismos de reconhecimento é de grande valia, sobretudo em interações intra-específicas durante as quais não pode ser excluída a existência de conflitos (RATNIEKS et al., 2006). Estudos têm demonstrado conflitos de interesses até mesmo entre indivíduos de uma mesma colônia (RATNIEKS et al., 2006). Isto ocorre provavelmente porque os insetos na realidade não são clones, mas grupo de indivíduos com elevado grau de parentesco, apresentando diferentes interesses na maioria dos casos (RATNIEKS et al., 2006). Fatores como número de rainhas e número de acasalamentos podem intensificar os conflitos entre os indivíduos devido à diluição do parentesco (BOURKE & FRANKS, 1995). Portanto, espera-se que os conflitos entre colônias sejam freqüentes.

As formigas, de modo geral, controlam e defendem seus territórios, de onde extraem recursos para alimentar o grande número de larvas, machos e fêmeas reprodutores de suas colônias (NEWAY et al., 2010). No entanto, na maioria das espécies, encontros entre forrageadoras de colônias distintas podem gerar conflitos que, dependendo do grau de competição, podem se transformar em embates com contatos físicos resultando na morte de indivíduos (MATTHEWS & MATTHEWS, 2010). Os conflitos podem ser gerados por indivíduos de várias colônias ou espécies no acesso à fonte de alimentos, território ou parceiros reprodutivos. Tais conflitos, de fato, geralmente envolvem comportamentos agressivos (HUNTINGFORD & TURNER, 1987). Por outro lado, algumas espécies respondem menos agressivamente à entrada de vizinhos em seus territórios do que a entrada de um não vizinho (estranho). Essa diferença na intensidade da resposta agressiva é conhecida por "Efeito Inimigo Íntimo" (Dear Enemy Effect), descrito em várias espécies de vertebrados e invertebrados (YDENBERG et al., 1988; TEMELES, 1994; HEINZE et al., 1996; KNADEN & WEHNER, 2003; HUSAK & FOX, 2003; VELÁSQUEZ et al., 2006; BOOKSMYTHE et al., 2010; DIMARCO et al., 2010). Em formigas, a baixa tolerância entre vizinhos foi descrita em espécies como *Acromyrmex octospinosus* (JUTSUM et al., 1979), *Leptothorax nylanderi* (HEINZE et al., 1996), *Pheidole tucsonica* e *Pheidole gilvescens* (LANGEN et al., 2000), *Formica pratensis* (PIRK et al., 2001) e *Cataglyphis fortis* (KNADEN & WEHNER, 2003). Uma explicação para este fenômeno baseia-se na familiaridade entre os vizinhos, e uma vez que as fronteiras do território estão estabelecidas, estes vizinhos representam pouca ou nenhuma ameaça, enquanto um indivíduo de território distante corresponde a um estranho que pode estar à procura de um novo território

(TEMELES, 1994). Outra hipótese baseia-se na redução dos custos energéticos de uma interação agressiva e na prevenção de lutas com vizinhos, já que são frequentes os encontros durante o forrageio (YDENBERG et al., 1988).

Em teoria, dois mecanismos podem explicar o “Efeito Inimigo Intimo”: primeiro pode derivar da própria habituação entre as colônias próximas, explicado pelos encontros frequentes durante o forrageio e, embora estudos laboratoriais suportem este mecanismo (LANGEN et al., 2000), pouco se sabe sobre como esta informação é passada ao restante da colônia; o segundo mecanismo seria a presença de sinais de reconhecimento, que estão certamente vinculados a composição de HCs (VANDER MEER & MOREL, 1998; LAHAV et al., 1999; LENOIR et al., 1999; WAGNER et al., 2000; OZAKI et al., 2005). Contradizendo o primeiro mecanismo, a teoria de habituação, temos alguns exemplos em que encontros repetidos entre colônias podem aumentar a agressividade e não diminuir, como por exemplo, em *Pogonomyrmex barbatus* (GORDON, 1989), *Iridomyrmex purpureus* (THOMAS et al., 1999), *Pristomyrmex pungens* (SANADA-MORIMURA et al., 2003) e *Solenopsis invicta* (THOMAS et al., 2006). Investigações em várias espécies como *Cataglyphis niger*, *Pachycondyla apicalis*, *Camponotus fellah* e *Aphaenogaster senilis* têm mostrado que os hidrocarbonetos sofrem uma homogeneização entre os membros da colônia através de interações sociais (SOROKER et al., 1995; SOROKER et al., 1998; BOULAY et al., 2000; LENOIR et al., 2001; BOULAY et al., 2004). Portanto, reduções nas diferenças genéticas entre colônias vizinhas, juntamente com similaridade de uso de recurso no mesmo ambiente, podem aumentar a similaridade química e assim diminuir o nível de agressividade entre elas.

Dessa maneira, muitos autores já avaliaram os níveis de agressão durante interações intra e interespecíficas para investigar a origem dos sinais de reconhecimento individual em espécies de formigas, pois membros da mesma colônia geralmente ignoram uns aos outros durante os encontros, mas demonstram diferentes níveis de agressividade aos indivíduos de colônias ou espécies diferentes (STUART & HERBERS, 2000; BOULAY & LENOIR, 2001; ROULSTON et al., 2003; BUCZKOWSKI & SILVERMAN, 2005; MENZEL et al., 2009).

Para o propósito de comparação de diferentes graus de evolução do comportamento social em Formicidae, a importância de uma melhor compreensão deste grupo tem sido enfatizada em estudos do gênero *Ectatomma*. Formigas deste grupo se destacam por possuírem traços intermediários entre as mais derivadas e as ancestrais, além das inconclusivas questões filogenéticas e moleculares sobre o parentesco mais próximo do grupo

Ectatomminae, tornando-as ideais para o estudo de como foi a evolução do comportamento social em formigas (WARD, 2011).

A *Ectatomma brunneum* Smith 1858 é uma formiga com ampla distribuição na América Latina, ocorrendo do Panamá até a Argentina (BROWN, 1958), além de todo Brasil. Geralmente se localiza em áreas abertas, tais como bordas de florestas ou clareiras, culturas, pastagens e matas secundárias (KEMPF, 1972) e é predadora de artrópodes terrestres em geral (MILL, 1982; OVERAL, 1986; GIANNOTTI & MACHADO, 1992; MARQUES et al., 1995). Apesar de ser uma espécie de ampla ocorrência, pouco se sabe sobre vários aspectos de sua biologia.

Como se sabe da literatura, poucos trabalhos foram realizados sobre o “Efeito Inimigo Intimo” em formigas, sobretudo explorando os mecanismos químicos por trás das respostas comportamentais. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar os mecanismos de reconhecimento durante interações intraespecíficas da formiga *Ectatomma brunneum*, com base no “Efeito Inimigo Íntimo”, e relacionar com o nível químico de HCs dos indivíduos através de análises independentes de cromatografia e de espectroscopia de absorção no infravermelho médio.

MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo comportamental

Foram coletadas 10 colônias de *E. brunneum*, sendo que 5 estavam nidificadas no entorno do campus da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (22°11'53.32" S e 54°55'50.90" O), em região de pastagem, e outras 5 colônias estavam próximas à mata da Fazenda Coqueiro (22°12'45.78"S e 54°54'43.15" O). No entorno do campus predomina-se gramínea e espécies arbustivas, e por isso foi denominada região de “pastagem” no contexto desse trabalho. As colônias das formigas oriundas da Fazenda estavam nidificadas a poucos metros de borda de mata estacional semidecídua, de acordo com o sistema de classificação do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (VELOSO et al., 1991), e por isso no trabalho será chamada de área de “mata”. Na Tabela 1 estão enumeradas as colônias analisadas por área de mata e de pastagem, além do quantitativo de indivíduos adultos, imaturos e rainhas usadas na pesquisa.

Após coleta as colônias foram alocadas em ninhos artificiais no laboratório para controle das condições ambientais e de alimentação. Os indivíduos de cada colônia foram marcados com tinta atóxica na região do pronoto para sua identificação, e ninhos de duas colônias distintas foram conectados a uma única arena de forrageamento, na qual era possível a interação das colônias durante a busca por recursos alimentares. Nesta arena foram introduzidas fontes de água em placas de Petri, além de larvas de *Tenebrio molitor* e melão.

Durante a interação entre colônias foram observados e anotados os comportamentos das formigas por meio do método *ad libitum* (ALTMAN, 1974). Cada dupla de colônias avaliadas foi observada a cada dois dias, por um tempo de 1,5 horas por dia, totalizando 15 horas de observação. Os comportamentos avaliados durante as interações foram: ignorar (THOMAS et al., 2004), toque, fuga (SUAREZ et al., 1999), tentativa de apreensão, apreensão (MERCIER et al., 1997), boxe antenal, elevação do corpo, exibição do abdômen (MONNIN & PEETERS, 1999) e luta (MERCIER et al., 1997). Para avaliar a intensidade da agressão entre as forrageadoras, os comportamentos exibidos receberam uma escala de pontuação modificada de Suarez et al. (1999) de 0 a 2, sendo: 0 para toque, fuga e ignorar; 1 para tentativa de apreensão, apreensão, boxe antenal, elevação do corpo e elevação do abdômen; e 2 para luta. Para cada encontro foi compilada uma média aritmética da pontuação relativa aos níveis de agressão.

Análise dos perfis de hidrocarbonetos cuticulares (HCs)

Na tentativa de avaliar se os níveis de agressividade apresentados durante as interações estão correlacionados com a similaridade ou dissimilaridade dos feromônios superficiais, os perfis de HCs dos gásteres de operárias das colônias que interagiram na arena foram analisados por duas técnicas: espectroscopia óptica de absorção fotoacústica por transformada de Fourier (FTIR-PAS, *Fourier Transform Infrared Photoacoustic Spectroscopy*); e Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama (CG-DIC). A região do gáster foi escolhida para análise por ser a de maior concentração dos HCs nos insetos (CUVILLIER-HOT et al., 2001). Eles foram extraídos de no mínimo nove indivíduos por colônia, com auxílio de pinça e tesoura microcirúrgica. A quantidade de indivíduos foi variada pelo tamanho populacional de cada colônia, tomando o cuidado para a quantidade não interferir no resultado.

O material foi avaliado primeiramente pela técnica FTIR-PAS, principalmente por ela não ser destrutiva (GREENE et al., 1992) e por não requerer qualquer preparo prévio da amostra. Nesse método tem-se uma medida indireta da radiação infravermelha absorvida pela amostra e que é transformada em energia vibracional molecular. Por ser um método com baixa intensidade da radiação, torna-se vantajoso seu uso no estudo de materiais de grande fragilidade, como materiais biológicos, bem como em materiais com dimensões reduzidas (GREENE et al., 1992). A FTIR-PAS foi realizada na região espectral do infravermelho médio que compreende a faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} (SKOOG et al., 2002; SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000). Esta região é sensível às vibrações e rotações de grupos químicos moleculares e, sendo assim, é capaz de identificar e distinguir radicais moleculares e os tipos de ligações químicas envolvidas nos gásteres (SMITH, 1999). Para reduzir a contribuição da umidade relativa do ar na leitura do espectro, as amostras foram colocadas em uma estufa à vácuo por 48 horas e em seguida, os gásteres foram colocados no suporte da célula fotoacústica, que foi purgada com gás Hélio. Foi obtido a curva resultante da média de 64 espectros com resolução de 8 cm^{-1} , para cada gáster estudado. Os principais picos de absorção entre 400 e 4000 cm^{-1} , relacionados às vibrações de HCs, foram selecionados para posterior análise estatística.

Na técnica de CG-DIC os HCs dos gásteres foram extraídos em banho ultrassônico por 60 min e em 5 mL de hexano (grau HPLC – VETEC). Este processo foi realizado em triplicata e as três frações foram unidas e o solvente eliminado em capela. O extrato seco foi dissolvido em 100 μL de hexano para análise com detector de ionização em chama (marca

Shimadzu). O CG-DIC foi equipado com uma coluna capilar OV-5 da marca Ohio, com composição de 5% fenil-dimetilpolisiloxano em sílica fundida capilar tendo as dimensões (comprimento x diâmetro x espessura) 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm. O nitrogênio foi usado como gás carregador à pressão constante de 0,8 bar. As análises foram realizadas em modo splitless com injeção de 1 µL e temperaturas do injetor e detector de 280°C. A taxa de variação de temperatura foi programada da seguinte maneira: início em 50°C aumentando de 5° C min⁻¹ até 85°C; depois com 8°C min⁻¹ até 280°C, mantendo por 15 min nessa temperatura, depois até 300°C a 10°C min⁻¹, mantendo nessa temperatura final por 35 min. Os cromatogramas foram registrados pelo programa GC Solution e os compostos químicos foram identificados baseados no padrão de hidrocarbonetos lineares de C20 a C31 (10 µg mL⁻¹ em hexano) por comparação de tempos de retenção.

Análises estatísticas

Para avaliar a correlação entre o nível de agressividade e a distância das colônias foi utilizada a análise de correlação com o coeficiente de Pearson, no programa R Development Core Team (2010).

Os dados de FTIR e CD-DIC foram interpretados por meio de análise discriminante *stepwise*, no programa Systat 10.2, a qual pode revelar o conjunto de variáveis que melhor explica a diferença entre os grupos avaliados, sendo indicada pela Wilk's Lambda (QUINN & KEOUGH, 2002).

Para analisar a relação entre as diferenças na composição dos hidrocarbonetos com a distância das colônias foi realizado o teste de Mantel no programa NTSYS-pc 2.1.

RESULTADOS

Na Figura 1 é mostrada a análise de correlação entre o nível de agressividade e a distância entre as colônias obtidas pela Correlação de Pearson. Ao lado de cada marcador na figura estão representadas as colônias que foram postas em contato. Esse diagrama de dispersão apresentou $r^2 = 0.87$ e $p < 0.001$, indicando ser significativa a separação entre os pontos. Independente do local e distância em que as colônias foram coletadas, em todas as interações coloniais foi possível observar agressividade.

Na Figura 2 são mostrados os espectros de absorção médios obtidos dos gásteres de operárias de *E. brunneum* coletadas nas áreas de pastagem e de mata. Os principais picos de absorção referentes aos HCs estão indicados na figura e suas frequências de vibração juntamente com seus modos vibracionais e grupos funcionais estão listados na Tabela 2. Por uma inspeção visual é muito difícil notar as diferenças entre os espectros, por isso decidiu-se montar uma matriz com as intensidades de absorção dessas frequências para realização de uma análise estatística multivariada. As duas primeiras raízes canônicas obtidas pela análise estão mostradas na Figura 3. A primeira raiz canônica explicou a separação entre as colônias em 84% e a segunda 11%, indicando que as duas raízes juntas explicaram aproximadamente 95% dos resultados. A análise discriminante detectou diferenças significativas entre as colônias, com Wilks's Lambda = 0.048; F=5.012; P<0.0001. Dos 17 picos analisados, 9 foram significativos para separação dos grupos (895 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} , 1157 cm^{-1} , 1376 cm^{-1} , 1523 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} , 2877 cm^{-1} , 2962 cm^{-1} e 3290 cm^{-1}). Os valores obtidos para cada uma das raízes canônicas dos picos mais relevantes podem ser vistos na Tabela 2.

Pela análise cromatográfica foram detectados HCs lineares de C20 a C31 de acordo com o padrão dos HCs listados na Tabela 3. Os valores das áreas relativas dos HCs foram usados na análise estatística multivariada, e os resultados mostrados na Figura 4 demonstram que a primeira raiz canônica explica 82% e a segunda 12%, e as duas explicam 94% dos resultados. Esta análise apontou diferenças significativas entre os grupos com Wilks's Lambda = 0.000; F = 43.875; P < 0.0001, na qual dos 12 picos analisados, 11 foram significativos para separação dos grupos.

O teste de Mantel ($t = 4.13$, $p < 0.005$) mostra que colônias mais próximas entre si, sobretudo as nidificadas em uma mesma área, são aquelas em que os perfis de HCs das colônias são mais similares entre si.

DISCUSSÃO

A análise de correlação (Fig. 1) demonstra que de fato, quanto maior a distância entre as colônias, maior o nível de agressividade entre elas. Além disso, o nível de agressividade foi maior nas interações entre colônias de mata com as de pastagem (#3 x #8, #4 e #9 e #4 x #10). As interações com menor nível de agressividade foram observadas entre as colônias de região de pastagem com menor distância entre si (#6 x #7 e #9 x #10). Já as colônias de mata apresentaram maior nível de agressividade que os de pastagem, embora a distância entre elas tenha sido pequena (#4 x #5 e #2 x #3). A análise apresentada na Figura 1 mostra uma lacuna entre dois agrupamentos mais nítidos, um com maior agressividade e mais distante entre si e outro com menor nível de agressividade e de menores distâncias entre si. Não foi possível avaliar colônias nidificadas em distâncias intermediárias entre as duas áreas analisadas.

Os resultados obtidos durante as observações demonstram que a capacidade de discriminação e ou tolerância entre colônias é maior na *E. brunneum* do que na *E. tuberculatum*, uma vez que os níveis de agressividade durante os encontros foram aparentemente maiores do que aqueles descritos por Zinck *et al* (ZINCK *et al.*, 2008). Esta capacidade de discriminação, provavelmente, está relacionada à maior variação do perfil de HCs entre as diferentes colônias desta espécie, conforme observado nos diagramas de dispersão tanto dos dados cromatográficos quanto do FTIR-PAS, os quais mostram resultados muito semelhantes (Figs. 3 e 4). No diagrama de dispersão obtido com os dados do FTIR é possível notar que a segunda raiz canônica separa as colônias de mata (#2 x #3, #4 x #5) dos de pastagem (#6 x #7 e #9 x #10), formando então quatro grupos muito bem definidos no diagrama. Comportamento semelhante se nota no diagrama obtido com os dados de cromatografica, sendo que a raiz 1 é a responsável pela separação dos grupos entre mata e pastagem. A separação observada por ambos os métodos mostra, conseqüentemente, que há uma relação direta entre o nível de agressividade e a nidificação das colônias. Apesar de cada colônia ter sua assinatura química própria (Fig. 3 e 4) como sugerido por trabalhos com HC de *Melipona bicolor* (ABDALLA *et al.*, 2003) e em *Ectatomma vizottoi* (ANTONIALLI-JUNIOR *et al.*, 2007), há uma sobreposição maior de colônias nidificadas em sítios próximos. Uma das explicações para isto é o alto nível de parentesco entre as colônias que poderia ser entendido pela capacidade de dispersão restrita e/ou por um fenômeno de fissão de colônias já documentado para *E. turberculatum* (ZINCK *et al.*, 2008). Os resultados dos perfis de HCs então, corroboram com os testes de agressividade entre as colônias: as mais próximas apresentam perfis de HCs similares (Figs. 3 e 4) e são mais tolerantes entre si (Fig. 1).

No caso particular da interação entre #6 e #7, coletadas em sítios próximos, estas apresentaram um nível de agressividade baixo comparado aos outros encontros de colônias. Estas colônias estavam nidificadas há 3m uma da outra e após 10 horas em que estavam conectadas pela arena, se fundiram formando uma única colônia. Este fato sugere que estas duas colônias poderiam ser uma só, que tenha se dividido em sítios distintos de nidificação, constituindo, portanto, um ninho polidômico como sugerido por Lapola et al. (2003) e Vieira e Antonialli-Junior (2007) para esta mesma espécie. Um dos indícios relatados pelos autores para essa afirmação, é que na maioria de suas coletas as colônias eram coletadas sem rainha, justamente como vários casos em nosso trabalho (Tab. 1).

Por outro lado, a maior tolerância entre colônias mais próximas pode ser explicada pela similaridade ambiental, sobretudo micro-habitas que elas compartilham. Isto deve fazer com que os perfis de HCs sejam semelhantes tanto por conta do nível de parentesco entre elas como também pelos mesmos tipos de recursos alimentares utilizados (PIRK et al., 2001). De fato, sabe-se que a composição de HCs é determinada por dois componentes principais, o genético e o ambiental (JUTSUM et al., 1979; BEYE et al., 1998; LIANG & SILVERMAN, 2000; SORVARI et al., 2008).

Com respeito aos recursos alimentares disponíveis às colônias, é possível explicar o comportamento observado nas análises de dispersão estatística para as colônias #9 e #10. Embora estivessem nidificadas em área de pastagem, possuíam algumas árvores ao redor de seus ninhos. Provavelmente essa seja a razão pela qual estas colônias se separaram das demais provenientes de pastagem, tanto na análise por FTIR quanto pela cromatografia. Fica claro portanto que, colônias provenientes de ambientes próximos a mata apresentaram perfis de HCs similares, assim como aquelas coletadas em área de pastagem (Fig. 3 e 4). Heinze *et al.* (1996) descrevem que quando colônias compartilham o mesmo micro-habitat pode haver semelhança de odor produzido pelas colônias e como consequência as operárias diminuem a resposta agressiva aos vizinhos. Alguns autores sugerem que a dieta é um dos fatores que influencia a formação do odor, sendo que colônias que usam recursos similares devem apresentar odores coloniais parecidos e, portanto, apresentam níveis de tolerância maior quando em situações de interação (JUTSUM et al., 1979; LIANG & SILVERMAN, 2000; SORVARI et al., 2008). Por outro lado, foi constatado que em *Formica pratensis* as colônias nidificadas em sítios mais próximos apresentam maior similaridade genética e como consequência apresentam baixos níveis de agressão comparando a colônias nidificadas em áreas mais distantes umas das outras (BEYE et al., 1998).

O baixo nível de tolerância, sobretudo entre aquelas colônias de áreas distantes entre si, deve-se a defesa do território, o que é comum em qualquer outro animal, invertebrado ou vertebrado. Temeles (1994) argumenta que quando animais defendem seu território da entrada de um vizinho da mesma espécie ou não, estão avaliando isto como um risco de perda de recursos e mesmo espaço físico. Este tipo de disputa já foi descrito em cupins *Nasutitermes corniger* (DUNN & MESSIER, 1999), nas formigas *Pogomyrmex barbatus* (GORDON, 1989), *Pristomyrmex punctatus* (SANADA-MORIMURA et al., 2003), e em *Linepithema humile* (THOMAS et al., 2004). Além disso, quando o ambiente é estável e os recursos são variáveis, a competição entre vizinhos pode ser por novos recursos (DUNN & MESSIER, 1999).

Outro fator que pode influenciar a resposta agressiva é o tamanho das colônias, pois colônias grandes possuem maior probabilidade de encontros (GORDON, 2010) e também, quanto maior a colônia maior a necessidade de recursos e provavelmente maior será seu grau de intolerância para intrusos em sua área de forrageamento. No caso de *E. brunneum* isto não pode ser avaliado, pois as colônias são relativamente pequenas e todas tinham aproximadamente o mesmo número populacional (Tab. 1).

Assim é possível afirmar que o Efeito Inimigo Intimo é aplicável a *E. brunneum*, já que foi observado maior nível de tolerância entre colônias nidificadas em sítios mais próximos (YDENBERG, 1988; TEMELES, 1994) do que entre aquelas mais distantes entre si, e um dos mecanismos utilizados para o reconhecimento entre as colônias deve ser a variação química do perfil de HCs. Essa análise química do nível de HCs foi feita pela cromatografia a fim de comprovar o estudo comportamental, mas vale destacar que a FTIR-PAS, que fora usada pela primeira vez para esse propósito, forneceu resultados extremamente coerentes, reforçando a importância de seu uso em sistemas biológicos com alto grau de complexidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, F.C.; JONES, G.R.; MORGAN, E.D.; CRUZ-LANDIM, C. Comparative study of the cuticular hydrocarbon composition of *Melipona bicolor* Lapeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini) workers and queens. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, p. 191-199, 2003.
- ALTMAN, J. Observational study of behavior: sampling methods. **Behavior**, v.49, p. 227-267, 1974.
- ANTONIALLI- JUNIOR, W.F.; LIMA, S.M.; ANDRADE, L.H.C.; SÚAREZ, Y.R. Comparative study of the cuticular hydrocarbon in queens, workers and males of *Ectatomma vizottoi* (Hymenoptera, Formicidae) by Fourier transform infrared photoacousticspectroscopy. **Genetics and Molecular Research**, v. 6, p. 492-499, 2007.
- ANTONIALLI- JUNIOR, W.F.; SUAREZ, Y.R.; IZIDA, T.; ANDRADE, L.H.C.; LIMA, S.M. Intra- and interspecific variation of cuticular hydrocarbon composition in two *Ectatomma* species (Hymenoptera: Formicidae) based on Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, p. 559–66, 2008.
- ARNOLD, G.; QUENET, B.; MASSON, C. Influence of social environment on genetically based subfamily signature in the honeybee. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p. 2321-2333, 2000.
- BEYE, M.; NEUMANN, P.; CHAPUISAT, M.; PAMILO, P.; MORITZ, R.F.A. Nestmate recognition and the genetic relatedness of nests in the ant *Formica pratensis*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 43, p. 67-72, 1998.
- BILLEN, J.; MORGAN, E.D. Pheromone communication in socialinsects – sources and secretions. In: VANDER MEER, R.K.; BREED, M.D.; ESPELIE, K.E.; WINSTON, M.L. (Eds) **Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees, and termites**. Boulder, Colorado:West-view Press, 1998, p. 3-33.
- BLOMQUIST, G.J.; TILLMAN, J.A.; MPURU, S.; SEYBOLD, S.J. The cuticle and cuticular hydrocarbons of insects: structure, function, and biochemistry. In:VANDER MEER,R.K.;BREED,M.D.;ESPELIE, K.;WINSTON, M.L. (Eds)**Pheromone communication in social insects. Ants, wasps, bees and termites**. Boulder, Colorado:West-view Press, 1998, p. 34-54.
- BOOKSMYTHE, I.; JENNIONS, M.D.; BACKWELL, P.R.Y. Investigating the “dear enemy” phenomenon in the territory defense of the fiddler crab, *Uca mjoebergi*. **Animal Behaviour**, v. 79, p. 419-423, 2010.
- BOULAY, R.; LENOIR, A. Social isolation of mature workers affects nestmate recognition in the ant *Camponotus fellah*. **Behavioral Processes**, v. 55, p. 67-73, 2001.
- BOULAY, R.; SOROKER, V.; HEFETZ, A.; LENOIR, A. Individuality in hydrocarbon production obliges *Camponotus fellah* workers frequent exchanges for colony integration. **Animal Behaviour**, v. 59, p. 1127-1133, 2000.

BOULAY, R.; KATZAV-GOZANSKY, T.; HEFETZ, A.; LENOIR, A. Odour convergence and tolerance between nestmates through trophallaxis and grooming in the ant *Camponotus fellah* (Dalla Torre). **Insectes Sociaux**, v. 51, p. 55-61, 2004.

BOURKE, A.F.B.; FRANKS, N.R. **Social evolution in ants**. New Jersey: Princeton University Press, 1995. 550 p.

BREED, M.D. Chemical cues in kin recognition: criteria for identification, experimental approaches, and the honey bee as an example. In: VANDER MEER, R.K.; BREED, M.D.; ESPELIE, K.; WINSTON, M.L. (Eds) **Pheromone communication in social insects. Ants, wasps, bees and termites**. Boulder, Colorado: West-view Press, 1998, p. 57-78.

BREED, M.D.; ABEL, P.; BLEUZE, T.J.; DENTON, S.E. Thievery, home ranges, and nestmate recognition in *Ectatomma ruidum*. **Oecologia**, v. 84, p. 117-121, 1990.

BREED, M.D.; MCGLYNN, T.P.; STOCKER, E.M.; KLEIN, A.N. Thief workers and variation in nestmate recognition behavior in a Ponerinae ant, *Ectatomma ruidum*. **Insectes Sociaux**, v. 46, p. 327-331, 1999.

BROWN, W.R. Jr. Contributions toward a reclassification of the Formicidae. II Tribe Ectatomminae (Hymenoptera). **Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard**, v. 118, p. 175-362, 1958.

BUCZKOWSKI, G.; SILVERMAN, J. Context-dependent nestmate discrimination and the effect of action thresholds on exogenous cue recognition in the Argentine ant. **Animal Behaviour**, v. 69, p. 741-749, 2005.

BUCZKOWSKI, G.; SILVERMAN, J. Geographical variation in Argentine ant aggression behavior mediated by environmentally derived nestmate recognition cues. **Animal Behaviour**, v. 71, p. 327-335, 2006.

CARLIN, N.F.; HÖLLDOBLER, B. Nestmate and kin recognition in interspecific mixed colonies of ants. **Science**, v. 222, p. 1027-1029, 1983.

CROSLAND, M.W.J. Kin recognition in the ant *Rhytidoponera confusa* I. Environmental odour. **Animal Behaviour**, v. 37, p. 912-919, 1989.

CROZIER, R.H.; DIX, M.W. Analysis of two genetic models for the innate components of colony odor in social Hymenoptera. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 4, p. 217-224, 1979.

CROZIER, R.H.; PAMILO, P. **Evolution of Social Insect Colonies: Sex Allocation and Kin-Selection**. Oxford, UK: Oxford University Press, 1996. 320 p.

CUVILLIER-HOT V.; COBB, M.; MALOSSE, C.; PEETERS, C. 2001. Sex, age and ovarian activity affect cuticular hydrocarbons in *Diacamma ceylonense*, a queenless ant. **Journal of Insect Physiology**, v. 47: 485-493.

DIMARCO, R.D.; FARJI-BRENER, A.G.; PREMOLI, A.C. Dear enemy phenomenon in the leaf-cutting ant *Acromyrmex lobicornis*: behavioral and genetic evidence. **Behavioral Ecology**, v. 21, p. 304-310, 2010.

DUNN, R.; MESSIER, S. Evidence for the opposite of the dear enemy phenomenon in termites. **Journal of Insect Behavior**, v. 12, p. 461-464, 1999.

GAMBOA, G.F.; GRUDZIEN, T.A.; ESPELIE, K.E.; BURA, E.A. Kin recognition pheromones in social wasps: combining chemical and behavioral evidence. **Animal Behaviour**, v. 51, p. 625-629, 1996.

GIANNOTTI, E.; MACHADO, V.L.L. Notes on the foraging of two species of Ponerinae ants: Food and resources and daily hunting activities (Hymenoptera: Formicidae). **Bioikos**, v. 6, p. 7-17, 1992.

GORDON, D.M. Ants distinguish neighbor from strangers. **Oecologia**, v. 81, p. 198-200, 1989.

GORDON, D.M. **Ants encounters. Interaction, networks and colony behavior**. Princeton: Princeton University Press, 2010. 184 p.

GREENE, R.V.; GORDON, S.H.; JACKSON, M.A.; BENNETT, G.A. Detection of fungal contamination in corn: potential of PAS-FTIR and DRS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 1144-1149, 1992.

GUERRIERI, F.J.; D'ETORRE, P. The mandible opening response: quantifying aggression elicited by chemical cues in ants. **The Journal of Experimental Biology**, v. 211, p. 1109-1113, 2007.

HEINZE, J.; FOITZIK, S.; HIPPERT, A.; HÖLLDOBLER, B. Apparent dear-enemy phenomenon and environment-based recognition cues in the ant *Leptothorax nylanderi*. **Ethology**, v. 102, p. 510-522, 1996.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E.O. **The Ants**. Cambridge: Belknap Press, 1990. 732p.

HÖLLDOBLER, B.; CARLIN, N.F. Anonymity and specificity in the chemical communication signals of social insects. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 161, p. 567-581, 1987.

HORA, R.R.; DOUMS, C.; POTEAUX, C.; FÉNÉRON, R.; VALENZUELA, J. Small queens in the ant *Ectatomma tuberculatum*: a New case of social parasitism. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 59, p. 285-292, 2005.

HUSAK, J.F.; FOX, S.F. Adult male collared lizard, *Crotaphytus collaris*, increase aggression towards displace neighbours. **Animal Behaviour**, v. 65, p. 391-396, 2003.

HUNTINGFORD, F.A.; TURNER, A.K. **Animal Conflict**. New York: Chapman and Hall Ltd., 1987. 460 p.

JUTSUM, A.R.; SAUNDERS, T.S.; CHERRETT, J.M. Intraspecific aggression in the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus*. **Animal Behaviour**, v. 27, p. 839-844, 1979.

KEMPF, W.W. Catálogo abreviado das formigas da região neotropical (Hymenoptera: Formicidae). **Studia Entomologica**, v. 15, p. 1-344, 1972.

KNADEN, M.; WEHNER, R. Nest defense and conspecific enemy recognition in the desert ant *Cataglyphis fortis*. **Journal of Insect Behavior**, v. 16, p. 717-729, 2003.

LAPOLA, D.M.; ANTONIALLI-JUNIOR, W.F.; GIANNOTTI, E. Arquitetura de ninhos da formiga neotropical *Ectatomma brunneum* F. Smith, 1858 (Formicidae, Ponerinae) em ambientes alterados. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 5, p. 177-188, 2003.

LAHAV, S.; SOROKER, V.; HEFETZ, A.; VANDER MEER, R.K. Direct behavioral evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. **Naturwissenschaften**, v. 86, p. 246-249, 1999.

LANGEN, T.A.; TRIPET, F.; NONACS, P. The red and black: habituation and the dear-enemy phenomenon in two desert *Pheidole* ants. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 48, p. 285-292, 2000.

LENOIR, A.; FRESNEAU, D.; ERRARD, C.; HEFETZ, A. Individuality and colonial identity in ants. In: DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J.L.; PASTEELS, J. (Eds.) **Information Processing in Social Insects**, Basel, Switzerland: Birkhauser-Verlag, 1999, p. 219-237.

LENOIR, A.; CUISSET, D.; HEFETZ, A. Effects of social isolation on hydrocarbon pattern and nestmate recognition in the ant *Aphaenogaster senilis* (Hymenoptera, Formicidae). **Insectes Sociaux**, v. 48, p. 101-109, 2001.

LIANG, D.; SILVERMAN, J. "You are what you eat": Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. **Naturwissenschaften**, v. 897, p. 412-416, 2000.

MARQUES, O.M.; VIANA, C.H.P.; KAMOSHIDA, M.; CARVALHO, C.A.L.; SANTOS, G.M.M. Hábitos de nidificação e alimentares de *Ectatomma quadridens* (Fabricius, 1793) (Hymenoptera, Formicidae) em Cruz das Almas – Bahia. **Insecta**, v. 4, p. 1-9, 1995.

MATTHEWS, R.W.; MATTHEWS, J.R. **Insect Behaviour**, London: Springer, 2010. 514 p.

MENZEL, F.; SCHMITT, T.; BLÜTHGEN, N. Intraspecific nestmate recognition in two parabiotic ant species: acquired recognition cues and low inter-colony discrimination. **Insectes Sociaux**, v. 56, p. 251-260, 2009.

MERCIER, J.L.; LENOIR, A.; DJEAN, A. Ritualised versus aggressive behaviours displayed by *Polyrhachis laboriosa* (F. Smith) during intraspecific competition. **Behavioral Processes**, v. 41, p. 39-50, 1997.

MILL, A.E. Faunal studies on termites (Isoptera) and observation on their ants predator (Hymenoptera: Formicidae) in the Amazon Basin. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 26, p. 253-256, 1982.

MONNIN, T.; PEETERS, C. Dominance hierarchy and reproductive conflicts among subordinates in a monogynous queenless ant. **Behavioral Ecology**, v. 10, p. 323-332, 1999.

NEVES, E.F.; ANDRADE, L.H.C.; SUAREZ, Y.R.; LIMA, S.M.; ANTONIALLI-JUNIOR, W. F. Age-related changes in the surface pheromones of the wasp *Mischocyttarus consimilis* (Hymenoptera: Vespidae). *Genetics and Molecular Research*, v. 11, p. 1891-1898, 2012.

NEWAY, P.S. ; ROBSON, K.S.K.A.; CROZIER, R.H. Weaver ants *Oecophylla smaragdina* encounter nasty neighbors rather than dear enemies. **Ecology**,v. 9, p. 2366-2372, 2010.

NOIROT, C. Formation of castes in the higher termites. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F.M. (Eds) **Biology of termites**, New York: Academic Press, 1969, p. 311-350.

OZAKI, M.; WADA-KATSUMATA, A.; FUJIKAWA, K.; IWASAKI, M.; YOKOHARI, F.; SATOJI, Y.; NISIMURA, T.; YAMAOKA, R. Ant nestmate and non-nestmate discrimination by a chemosensory sensillum. **Science**, v. 309, p. 311-314, 2005.

OVERAL, W.L. Recrutamento e divisão de trabalho em colônias naturais da formiga *Ectatomma quadridens* (Fabr.) (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi (Zoologia)**,v. 2, p. 113-135,1986.

PERFECTO, I.; VANDERMEER, J.H. Cleptobiosis in the ant *Ectatomma ruidum* in Nicaragua. **Insectes Sociaux**,v. 40, p. 295-299, 1993.

PIRK, C.W.W.; NEUMANN, P.; MORITZ, R.F.A.; PAMILO, P. Intranest relatedness and nestmate recognition in the meadow ant *Formica pratensis* (R.). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 49, p. 366-374,2001.

QUINN, G.P.; KEOUGH, M.J.**Experimental design and data analysis for biologists**. Cambridge: Cambridge University Press,2002.537p.

RATNIEKS, F.L.W.; FOSTER, K.R.; WENSELEERS, T. Conflict resolution in insect societies. **Annual Review Entomology**,v. 51, p. 581-608,2006.

ROULSTON, T.H.; BUCZKOWSKI, G.; SILVERMAN, J. Nestmate discrimination in ants: effect of bioassay on aggressive behavior. **Insectes Sociaux**, v. 50, p. 151-159,2003.

SANADA-MORIMURA, S.; MINAI, M.; YOKOYAMA, M.; HIROTA, T.; SATOH, T.; OBARA, Y. Encounter-induced hostility to neighbors in the ant *Pristomyrmex pungens*. **Behavioral Ecology**, v. 14, p. 713-718, 2003.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. **Princípios de análise instrumental**. Porto Alegre: Editora Bookman, 2002. 1056 p.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos,2000. 508 p.

SMITH, B.C. **Infrared spectral interpretation: a systematic approach**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1999. 288 p.

SILVERSTEIN, R.M.; YOUNG, J.C. Insects generally use multicomponent pheromones. In:BEROZA,M.(Ed.) **Pest Management with Insect Sex Attractants**. Washington, DC: A.C.S. Symposium Series, 1976. 192 p.

SOROKER, V.; VIENNE, C.; HEFETZ, A.; NOWBAHARI, E. The postpharyngeal gland as a 'gestalt' organ for nestmate recognition in the ant *Cataglyphis niger*. **Naturwissenschaften**,v. 81, p. 510-513,1994.

SOROKER, V.; VIENNE, C.; HEFETZ, A. Hydrocarbon dynamics within and between nestmates in *Cataglyphis niger* (Hymenoptera:Formicidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, p. 365-378, 1995.

SOROKER, V.; FRESNEAU, D.; HEFETZ, A. Formation of colony odor in Ponerinae ant *Pachycondyla apicalis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, p. 1077-1090, 1998.

SORVARI, J.; THEODORA, P.; TURILLAZZI, S.; HAKKARAINEN, H.; SUNDSTEÖM, L. Food resources, chemical signaling, and nestmate recognition in the ant *Formica aquilonia*. **Behavioral Ecology**, v. 19, p. 441-447,2008.

STUART, R.J.; HERBERS, J.M. Nestmate recognition in ants with complex colonies: within and between population variation. **Behavioral Ecology**, v. 11, p. 676-685,2000.

SUAREZ, A.V.; TSUITSUI, N.D.; HOLWAY, D.A.; CASE, T.J. Behavioral and genetic differentiation between native and introduced populations of the Argentine ant. **Biological Invasions**, v. 1, p. 43-53,1999.

SUAREZ, A.V.; HOLWAY, D.A.; LIANG, D.; TSUITSUI, N.D.; CASE, T.J. Spatiotemporal patterns of intraspecific aggression in the invasive Argentine ant. **Animal Behaviour**, v. 64, p. 697-708, 2002.

TANNURE-NASCIMENTO, I.C.; NASCIMENTO, F.S.; DANTAS, J.O.; ZUCCHI, R. Decision rules for egg recognition are related to functional roles and chemical cues in the queenless ant *Dinoponera quadriceps*. **Naturwissenschaften**,v. 96, p. 857-861, 2009.

TEMELES, E.J. The role of neighbours in territorial systems: when are they "dear enemies"? **Animal Behaviour**, v. 47, p. 339-350,1994.

THOMAS, M.L.; PARRY, L.J.; ALLAN, R.A.; ELGAR, M.A. Geographic affinity, cuticular hydrocarbons and colony recognition in the Australian meat ant *Iridomyrmex purpureus*. **Naturwissenschaften**, v. 86, p. 87-92,1999.

THOMAS, M.L.; TSUITSUI, N.D.; HOLWAY, D.A. Intraspecific competition influences the symmetry and intensity of aggression in the Argentine ant. **Behavioral Ecology**, v. 16, p. 472-481,2004.

THOMAS, M.L.; PAYNE-MAKRISA, C.M.; SUAREZ, A.V.; TSUITSUI, N.D.; HOLWAY, D.A. When supercolonies collide: territorial aggression on an invasive and unicolonial social insect. **Molecular Ecology**, v. 15, p. 4303-4315, 2006.

VANDER MEER, R.K.; MOREL, L. Nestmate recognition in ants. In: VANDER MEER, R.K.; BREED, M.D.; ESPELIE, K.E.; WINSTON, M.L. (Eds) **Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees, and termites**. Boulder, Colorado: West-view Press, 1998, p. 79-103.

VELÁSQUEZ, N.; GÓMEZ, M.; GONZÁLEZ, J.; VÁSQUEZ, R.A. Nestmate recognition and the effect of distance from the nest on the aggressive behavior of *Camponotus chilensis* (Hymenoptera: Formicidae). **Behaviour**, v.143, p.811-824, 2006.

VELOSO, H. P.; RANGEL FILHO, A. L. R.; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: IBGE, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, 1991. 124 p.

VIEIRA, A.S.; ANTONIALLI-JUNIOR, W.F. Populational fluctuation and nest architecture of *Ectatomma brunneum* (Hymenoptera, Formicidae) in remaining areas of pasture, Dourados-MS, Brasil. **Sociobiology**, v. 47, p. 275-287, 2006.

WAGNER, D.; TISSOT, M.; CUEVAS, W.; GORDON, D.M. Harvester ants utilize cuticular hydrocarbons in nestmate recognition. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p. 2245-2257, 2000.

WARD, P.S. Taxonomy, Phylogenetics, and Evolution. In: LACH, L.; PARR, C.L.; ABBOTT, K.L. (Eds). **Ant Ecology**, 2011, p. 3-17.

YDENBERG, R.C.; GIRALDEAU, L.A.; FALLS, J.B. Neighbours, strangers, and asymmetric war of attrition. **Animal Behaviour**, v. 36, p. 343-347, 1988.

ZINCK, L.; HORA, R.R.; CHALINE, N.; JAISSON, P. Low intraspecific aggression level in the polydomous and facultative polygynous ant *Ectatomma tuberculatum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 126, p. 211-216, 2008.

Tabela 1. Número de indivíduos analisados por colônia e área de nidificação dos ninhos de 10 colônias de *E. brunneum*.

Área	Colônia	Adultos	Imaturos	Rainha
Mata	#1	98	23	0
	#2	121	65	1
	#3	113	125	0
	#4	112	98	0
	#5	128	8	0
Pastagem	#6	192	127	1
	#7	156	4	0
	#8	101	139	1
	#9	65	55	1
	#10	129	2	0

Tabela 2. Número de onda, grupo funcional dos compostos e tipos de vibração dos principais picos do espectro da Espectroscopia Fotoacústica (FTIR) identificados de HCs presentes na cutícula de operárias *E. brunneum*.

Pico	Numero de onda (cm ⁻¹)	Grupo Funcional	Tipo de Vibração	Coeficientes Canônicos	
				Raiz 1	Raiz 2
1	3290	-N-H	Alongamento	-2.566	4.640
2	3082	-N-H	Dobra		
3	2962	-C-H(CH ₃)	Alongamento assimétrico	8.381	-4.355
4	2877	-C-H(CH ₃)	Estiramento simétrico	-5.084	0.273
5	2634	-C-N e -N-H	Dobra de Sobreposição		
6	1650	-C=O	Estiramento	-1.198	-0.266
7	1523	-N-H	Dobra	2.436	-1.496
8	1450	-C-CH ₃ -C-CH ₂	Dobra assimétrica		
9	1376	-C-CH ₃	Dobra simétrica	-3.360	5.399
10	1238	-C-N	Alongamento		
11	1157	No plano C-H (benzeno)	Dobra	0.406	10.303
12	1115	No plano C-H (benzeno)	Dobra		
13	1076	No plano C-H (benzeno)	Dobra		
14	1030	No plano C-H (benzeno)	Dobra	3.106	-3.786
15	953	Fora do plano C-H (benzeno)	Dobra		
16	895	Fora do plano C-H (benzeno)	Dobra	2.055	0.866
17	667	Fora do plano C-H (benzeno)	Dobra		

Tabela 3. Valores estatísticos da análise discriminante para os alcanos, determinados por CG-DIC, presentes nas cutículas das formigas *E. brunneum*.

HC	Nomenclatura	Tempo de Retenção (min.)	Coeficientes Canônicos	
			Raiz 1	Raiz 2
C20	n-eicosano	27,87	0.550	0.057
C21	n-heneicosano	29,32	-0.154	-0.037
C22	n-docosano	30,47	-0.154	-0.056
C23	n-tricosano	31,73	-0.024	0.769
C24	n-tetracosano	32,19	0.252	0.485
C25	n-pentacosano	33,93	-0.496	-0.853
C26	n-hexacosano	34,96	0.469	-0.516
C27	n-heptacosano	36,18	0.593	-0.043
C28	n-octacosano	37,52	0.123	-0.313
C29	n-nonacosano	39,08	0.026	0.496
C30	n-triacontano	40,87		
C31	n-hentriacontano	43,01	-0.056	-0.234

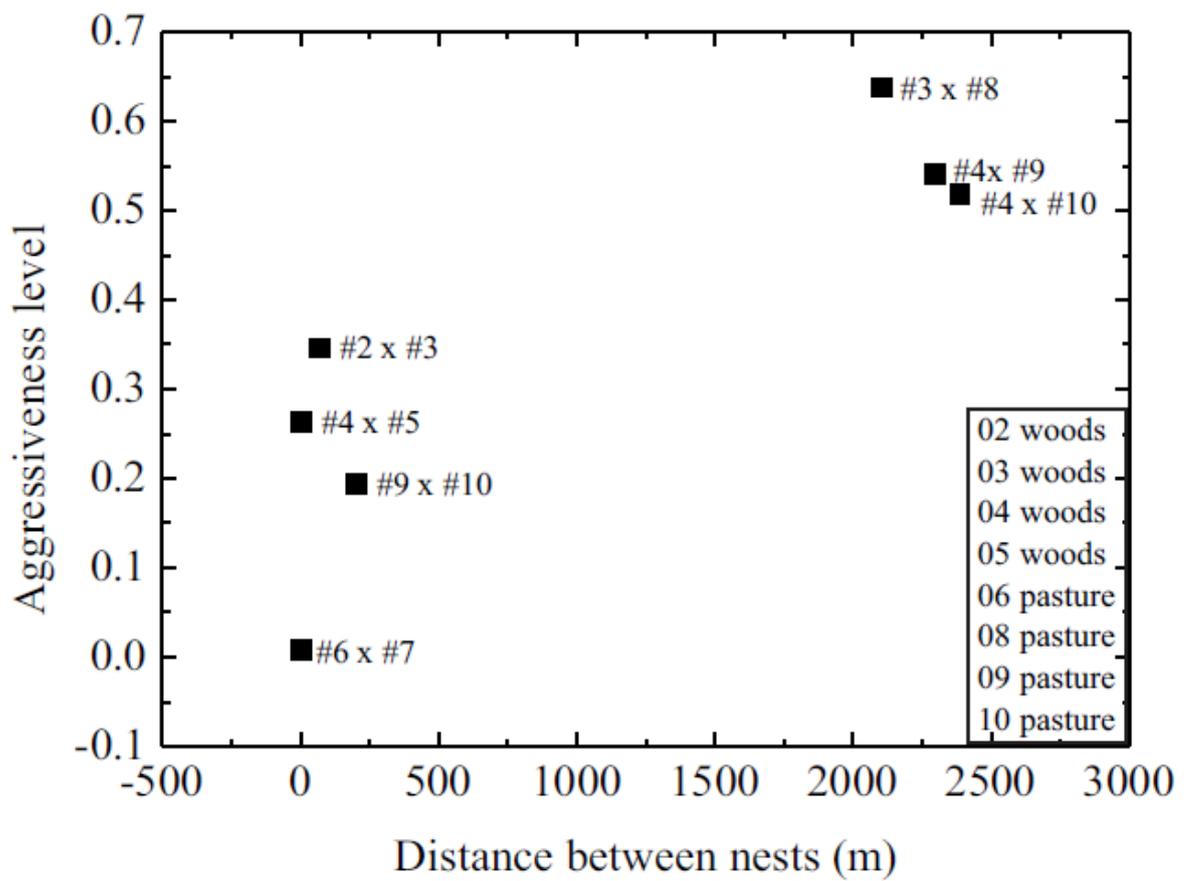


Figura 1. Correlação de Pearson entre o nível de agressividade e as distâncias de colônias de *E. brunneum*. Os marcadores (■) correspondem aos dados obtidos pelas interações representadas pelos números das colônias ao lado.

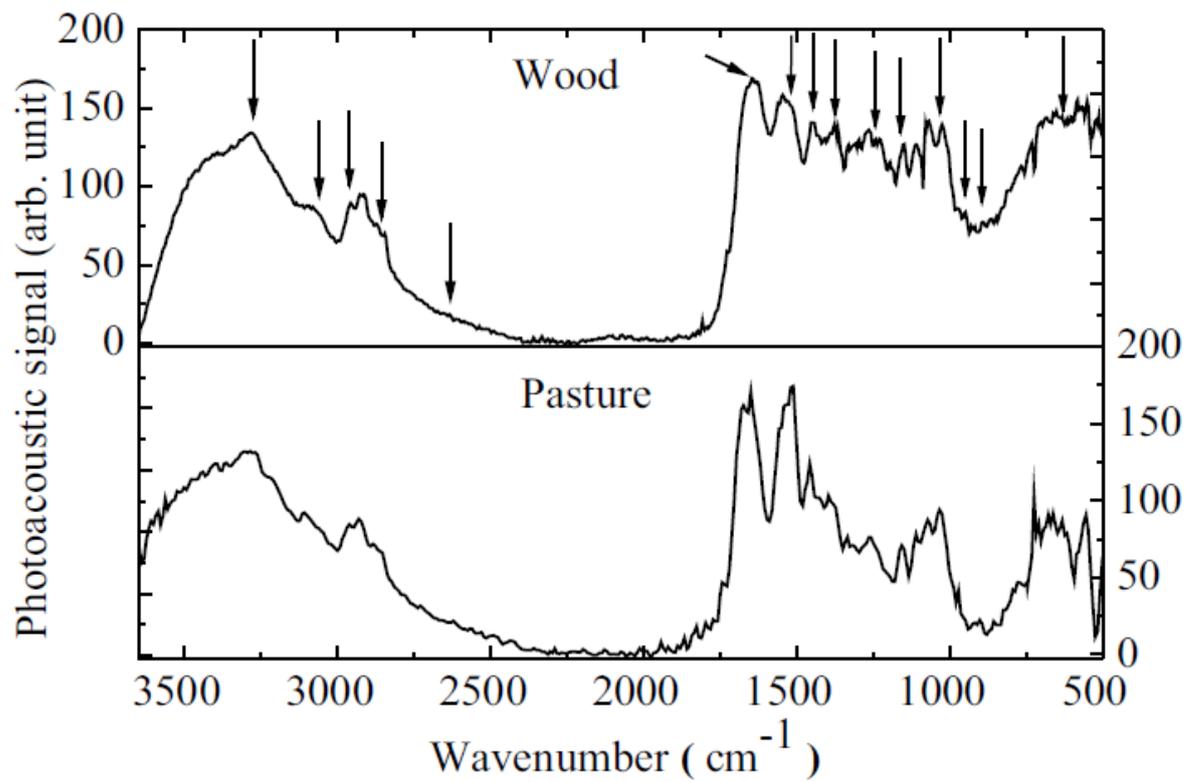
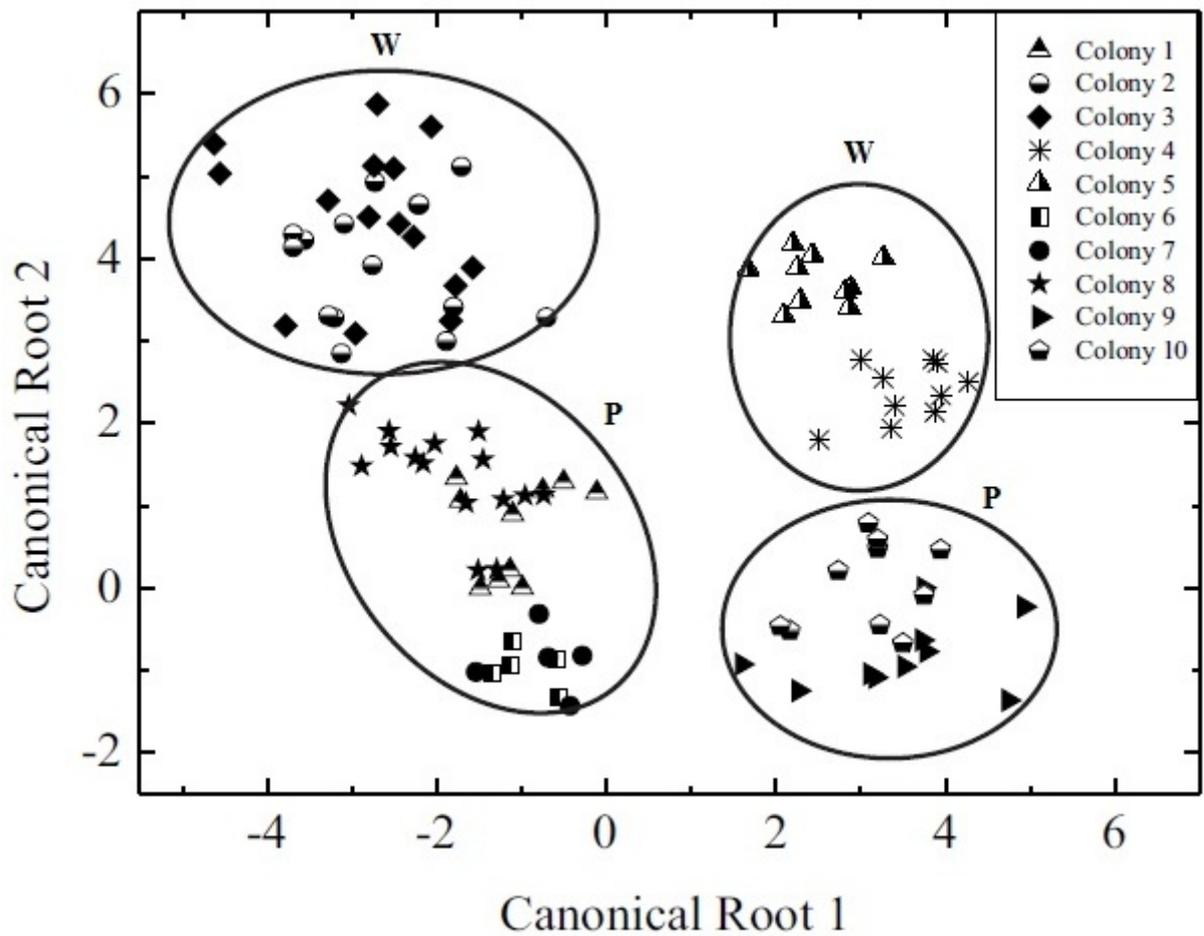
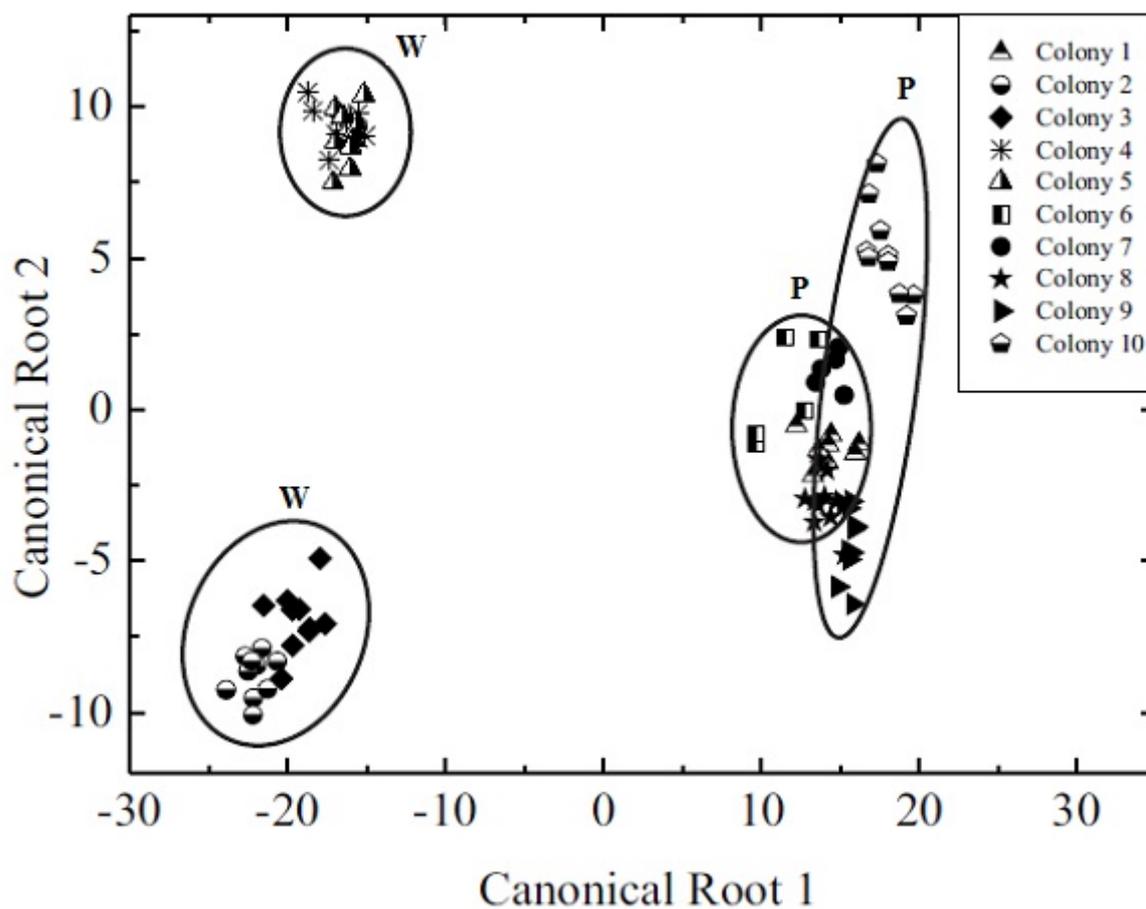


Figura 2. Curva média para cada grupo de espectros de absorção no infravermelho médio dos gásteres de operárias de colônias de *E. brunneum* coletadas em mata semidecídua e em área de pastagem. Na curva de cima estão indicados os picos cujas intensidades de absorção usados para análise estatística.



*W: Wood (Mata), P: Pasture (Pastagem).

Figura 3. Diagrama de dispersão dos resultados da análise multivariada discriminante mostrando as duas raízes canônicas de diferenciação dos HCs das colônias, resultado na análise das diferentes absorções obtidas por FTIR-PAS.



*W: Wood (Mata), P: Pasture (Pastagem).

Figura 4. Diagrama de dispersão dos resultados da análise multivariada discriminante mostrando as duas raízes canônicas de diferenciação dos HCs das colônias resultado das áreas dos picos dos alcanos lineares obtidas por CG-DIC.