

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

**VARIAÇÃO DA TEMPERATURA E DA DIETA NA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA CUTICULAR, NO RECONHECIMENTO
INTRAESPECÍFICO E O ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE
RESGATE EM *Odontomachus bauri***

Luiz Carlos dos Santos Junior
Dourados-MS
Janeiro/2019

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e
Conservação da Biodiversidade
Luiz Carlos dos Santos Junior

**VARIAÇÃO DA TEMPERATURA E DA DIETA NA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA CUTICULAR, NO RECONHECIMENTO
INTRAESPECÍFICO E O ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE
RESGATE EM *Odontomachus bauri***

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

Orientador: Dr. William Fernando Antonialli Junior
Coorientadora: Dr^a Claudia Andrea Lima Cardoso

Dourados-MS
Janeiro/2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S237v Santos Junior, Luiz Carlos Dos
VARIÇÃO DA TEMPERATURA E DA DIETA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA
CUTICULAR, NO RECONHECIMENTO INTRAESPECÍFICO E O ESTUDO DO
COMPORTAMENTO DE RESGATE EM *Odontomachus bauri* [recurso eletrônico] / Luiz Carlos
Dos Santos Junior. -- 2019.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: William Fernando Antonialli Junior.
Coorientadora: Claudia Andrea Lima Cardoso.
Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade)-Universidade Federal da
Grande Dourados, 2019.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Hidrocarbonetos cuticulares. 2. Variação da temperatura. 3. Variação da dieta. 4.
Reconhecimento intraespecífico. 5. Comportamento de resgate. I. Antonialli Junior, William
Fernando . II. Cardoso, Claudia Andrea Lima. III. 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.

“VARIAÇÃO DA TEMPERATURA E DA DIETA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA CUTICULAR, NO RECONHECIMENTO INTRAESPECÍFICO E NO ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE RESGATE EM *Odontomachus bauri*”.

Por

LUIZ CARLOS DOS SANTOS JUNIOR

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



Dr. William Fernando Antonialli Junior
Orientador/Presidente – UEMS



Dr. Valter Vieira Alves Junior
Membro Titular – UFGD



Dr. Anderson Ferreira
Membro Titular – UFGD



Dr. Márton César Pereira
Membro Titular – UEMS



Dr. José Benedito Perrellá Balestieri
Membro Titular – UFGD

Aprovada em: 29 de janeiro de 2019.

Biografia do Acadêmico

Luiz Carlos dos Santos Junior, natural de Araçatuba-SP, nascido aos 26 de novembro de 1987, filho de Marli de Fátima Sabotto dos Santos e Luiz Carlos dos Santos.

Cursou o Ensino Fundamental na escola SESI-351 (1994 – 2002), e o Ensino Médio no Unicolégio Objetivo-Araçatuba (2003 – 2005). Posteriormente cursou graduação em Ciências Biológicas (licenciatura) na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (2005 - 2009), na cidade de Ivinhema – Mato Grosso do Sul. Durante a graduação realizou duas Iniciações Científicas.

Cursou mest

rado no Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)/Dourados-MS, no período de 2010 a 2012. Defendeu a dissertação sob orientação do professor Dr. William Fernando Antonialli-Junior, com o trabalho intitulado “Assembleia de formigas predadoras necrófagas sobre iscas simulando a decomposição de carcaças” no ano de 2012.

Em 2015 foi aprovado em 1º lugar no doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade – UFGD, no qual teve a oportunidade de continuar os estudos de formicidae, onde, no mesmo Programa de Pós-graduação desenvolveu a tese intitulada “Variação da temperatura e da dieta na composição química cuticular, no reconhecimento intraespecífico e o estudo do comportamento de resgate em *Odontomachus bauri*”(2015 - 2019).

Como oportunidade na docência, foi aprovado e contratado como professor pela Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), onde ministrou disciplinas de Ciências da Natureza na Faculdade Intercultural Indígena (FAIND) nos anos de 2012 e 2013. Em 2014 e 2015, ministrou disciplinas no curso de Ciências Biológicas na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS). Além disso, ministrou de 2016 à 2017, disciplinas como professor efetivo na Universidade Federal do Amapá (Unifap). Atualmente é professor substituto no Curso de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da UFGD desde setembro de 2018.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, por ter me proporcionado estar aqui e vencer mais esta fase de minha vida e alçar novos caminhos e desafios.

À minha família por sempre ter me apoiado nos estudos, mesmo que distante: ao meu querido pai Luiz Carlos dos Santos e minha amada mãe Marli de Fátima Sabotto dos Santos, meu irmão e cunhada: Helton Henrique Sabotto dos Santos e Tatiana Guimarães Sabotto. Obrigado por acreditarem e me apoiarem em todos os momentos, em especial nessa reta final que tanto me fez ausente.

Agradeço ao meu amigo e companheiro Emerson Pereira da Silva, que com muita paciência e compreensão jamais mediu esforços em me ajudar, auxiliando emocionalmente e contribuindo substancialmente para a construção do meu sonho.

Agradeço também ao meu orientador Dr. William Fernando Antonialli Junior. Este, que na verdade, me orientou não apenas no doutorado, mas também durante minha passagem na graduação e no mestrado, guiando-me pelos meandros do conhecimento científico. A ti, meu muito obrigado. Assim como também agradeço minha co-orientadora, professora Dr^a Claudia Andrea Lima Cardoso.

Aos amigos/irmão do grupo de pesquisa do LABECO, que carinhosamente considero-os como uma família e mesmo em momentos de muita pressão, sempre conseguíamos nos reunirmos para sustentar nosso vício: o café. Os levarei para sempre comigo como grandes amigos.

Agradeço à minha amiga Kamylla que muito colaborou com este trabalho.

Obrigado a UEMS e UFGD pelo suporte técnico.

Obrigado ao Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da UFGD pela oportunidade de fazer parte deste programa.

E obrigado a todos que direta ou indiretamente contribuíram com esta tese.

“Ando devagar porque já tive pressa
Levo esse sorriso porque já chorei demais
Hoje me sinto mais forte, mais feliz, quem sabe?
Só levo a certeza de que muito pouco eu sei
Eu nada sei

Conhecer as manhas e as manhãs,
O sabor das massas e das maçãs,
É preciso amor pra poder pulsar,
É preciso paz pra poder sorrir,
É preciso a chuva para florir.

Penso que cumprir a vida seja simplesmente
Compreender a marcha e ir tocando em frente
Como um velho boiadeiro levando a boiada
Eu vou tocando os dias pela longa estrada eu vou
Estrada eu sou.

Todo mundo ama um dia todo mundo chora,
Um dia a gente chega, no outro vai embora
Cada um de nós compõe a sua história
Cada ser em si carrega o dom de ser capaz
De ser feliz.

Conhecer as manhas e as manhãs,
O sabor das massas e das maçãs,
É preciso amor pra poder pulsar,
É preciso paz pra poder sorrir,
É preciso a chuva para florir.

Ando devagar porque já tive pressa
E levo esse sorriso porque já chorei demais
Cada um de nós compõe a sua história,
Cada ser em si carrega o dom de ser capaz
de ser feliz”

Tocando em frente
(Renato Teixeira e Almir Sater)

Dedicatória

Aos meus pais
Luiz Carlos e Marli Sabotto

Sumário

VARIAÇÃO DA TEMPERATURA E DA DIETA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA CUTICULAR, NO RECONHECIMENTO INTRAESPECÍFICO E O ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE RESGATE EM *Odontomachus bauri*

Resumo Geral.....	1
Introdução Geral.....	3
Referência.....	7
Revisão da Literatura.....	12
<i>Hidrocarbonetos cuticulares em insetos sociais</i>	12
<i>Variação da temperatura e os hidrocarbonetos cuticulares em formigas</i>	14
<i>A influência da dieta na composição química cuticular de formigas</i>	17
<i>Comportamento de resgate em formigas</i>	20
Objetivo geral.....	23
Hipóteses.....	23
Referências.....	23
Capítulo I: Você tem um cheiro diferente! A temperatura interfere no reconhecimento intracolônial em <i>Odontomachus bauri</i> (Emery, 1892).....	33
Resumo.....	35
Introdução.....	36
Resultados.....	38
Discussão.....	39
Conclusões.....	43
Materiais e Métodos.....	44
<i>Análise do nível de tolerância de diferentes grupos de tratamento durante encontros entre formigas</i>	45
<i>Análise do efeito da variação de temperatura na composição química cuticular</i>	46
Análises estatísticas.....	47
Figuras.....	49
Tabelas.....	51
Referências.....	52
Capítulo II. Efeito da dieta sobre o reconhecimento de companheiras de ninho e composição química cuticular da formiga <i>Odontomachus bauri</i> (Emery, 1892).....	56
Resumo.....	58
Introdução.....	59
Materiais e Métodos.....	60
<i>Análise do nível de tolerância durante os encontros entre formigas submetidas aos diferentes tratamentos</i>	62
<i>Análise dos efeitos da variação da dieta sobre a composição química cuticular</i>	63
Análises estatísticas.....	64
Resultados.....	64
Discussão.....	66
Conclusões.....	69
Figuras.....	71
Tabelas.....	73
Referências.....	74
Capítulo III: S.O.S: As companheiras de ninho de <i>Odontomachus bauri</i> (Emery, 1892) pedem ajuda e são socorridas quando são capturadas?.....	79
Resumo.....	80
Introdução.....	81
Materiais e Métodos.....	83
<i>Tempo de latência e pedido de ajuda da formiga socorrista companheira de ninho</i>	84
<i>Teste de tentativa de resgate de companheiras e não companheiras de ninho</i>	85
Análises estatísticas.....	86
Resultados.....	86
Discussão.....	87
Conclusões.....	90
Figuras.....	91
Tabelas.....	92
Referências.....	95

VARIAÇÃO DA TEMPERATURA E DA DIETA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA CUTICULAR, NO RECONHECIMENTO INTRAESPECÍFICO E O ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE RESGATE EM *Odontomachus bauri*

RESUMO GERAL

Uma das condições que favoreceram a evolução dos insetos sociais se deve as diversas maneiras de reconhecimento de companheiras e não companheiras de ninho, e a função de cada indivíduo na colônia. Um dos sistemas mais utilizado pelos insetos sociais neste reconhecimento é a comunicação química via hidrocarbonetos presentes na cutícula. Os hidrocarbonetos cuticulares (HC's) são os principais compostos que formam a cutícula, que pode ser característico da espécie, da colônia e entre as castas. Os HC's são essenciais na distinção entre companheiras de ninho, mas sua função primária é evitar a dessecação. Além dos fatores genéticos, os ambientais como a umidade, a temperatura e a dieta, podem influenciar na composição química dos HC's. A cutícula das formigas tende a reajustar conforme ocorre a variação da temperatura, evitando a dessecação. Por outro lado, este reajuste pode influenciar negativamente no reconhecimento de companheiras e não companheiras de ninho, podendo gerar estranhamento e comportamentos agressivos. Não obstante, o tipo de alimento que é consumido pelas formigas também influencia na composição dos HC's. Isto se deve ao fato de que os compostos existentes na dieta são assimilados por aquelas formigas que a consomem. Tanto a quantidade quanto a qualidade nutricional são importantes nesta composição. Devido a estas alterações nos HC's, as interações intraespecíficas em formigas podem ficar prejudicadas. De fato, a alteração da dieta pode interferir no reconhecimento entre as formigas, causando o estranhamento ou a fusão de colônias. Identificar sua companheira de ninho se faz fundamental para impedir a invasão de outros animais no ninho e também manter a coesão da colônia. Assim, esta distinção pode ser importante para comportamentos altruístas entre as formigas, como o resgate de indivíduos em perigo ou ferido. Este comportamento tem sido observado em formigas quando a companheira de ninho assimila e codifica o pedido de ajuda de sua companheira de ninho efetuando algum comportamento na tentativa de resgate. Este comportamento pode ser gerido por alguns fatores que envolvem a formiga capturada, como sua idade, função na colônia e/ou sua expectativa de vida após um combate. Em formigas poneromorfas, poucos trabalhos têm investigado o efeito da temperatura e da dieta na cutícula e no reconhecimento intraespecífico e também a existência do comportamento de resgate. Desta maneira, este trabalho teve como objetivo avaliar estes fatores na formiga *Odontomachus bauri*.

Palavras-chave: Hidrocarbonetos cuticulares; Fatores exógenos; Companheiras de ninho; Salvamento.

VARIATION OF TEMPERATURE AND DIET IN CUTICULAR CHEMICAL COMPOSITION, INTRA-SPECIFIC RECOGNITION AND STUDY OF RESCUE BEHAVIOR IN *Odontomachus bauri*

GENERAL ABSTRACT

One of the conditions that favored the evolution of the social insects is due to the diverse ways of recognizing companions and non-nestmate, and the function of each individual in the colony. One of the most common systems by social insects in this recognition is through chemical communication via hydrocarbons present in the cuticle of these insects. Thus, cuticular hydrocarbons (HC's) are the main compounds that form the cuticle, especially in ants, which may be specific to the species, the colony and between the breeds. HC's are essential in distinguishing nestmates, but their primary function is to avoid desiccation. In addition to the genetic factors, the environmental factors such as humidity, temperature and diet may influence the chemical composition of HC's. The cuticle of the ants tends to readjust as temperature variation occurs, avoiding desiccation. On the other hand, this readjustment may negatively influence the recognition of companions and non-nestmate, being able to generate estrangement and aggressive behaviors. Nevertheless, the type of food that is consumed by the ants also influences the composition of the HC's. This is due to the fact that the compounds in the diet are assimilated by those ants that consume it. Both quantity and nutritional quality are important in this composition. Due to these changes in HC's, intraspecific interactions in ants may be impaired. In fact, dietary alteration may interfere with recognition among ants, causing estrangement or fusion of distinct nests. Identifying your nestmate becomes essential to prevent the invasion of other animals in the nest and also maintain colony cohesion. Thus, this distinction may be important for altruistic behaviors among ants, such as the rescue of individuals in danger or injury. This behavior has been observed in ants in which the nestmate assimilates and encodes the request of help of its companion of nest executing some behavior in the rescue attempt. This behavior can be managed by some factors involving the captured ant, such as its age, function in the colony and/or its life expectancy after a combat. In the case of poneromorph ants, few studies have investigated the effect of temperature and diet on cuticle and intraspecific recognition, as well as the existence of rescue behavior. In this way, this work had as objective to evaluate these factors in the ant *Odontomachus bauri*.

Keywords: Cuticular hydrocarbons; Exogenous factors; Nestmate; Rescue.

INTRODUÇÃO GERAL

A comunicação entre os insetos sociais é essencial para coordenar atividades e identificar castas e indivíduos, e seus papéis na sociedade. Assim, a comunicação pode ocorrer independente e/ou associada na forma visual, tátil, acústica ou química, sendo esta última a mais comum. Desta forma, a comunicação química garante que a colônia de insetos sociais permaneça sempre coesa e evita a invasão de outros animais ou mesmo de coespecíficos (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990).

Este tipo de comunicação é o mais usual devido ao modo mais rápido e eficiente em disseminar as informações dentro da sociedade (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990). Em insetos sociais o número elevado de glândulas exócrinas garante a produção de diversas substâncias químicas conhecidas como feromônios, essenciais na comunicação (BILLEN & MORGAN, 1998; BILLEN, 2011). Estes feromônios são geralmente divididos em dois grupos, os que possuem substâncias leves e voláteis que são secretados por glândulas e os hidrocarbonetos encontrados na cutícula (HOWARD, 1993; LENOIR et al., 2001; SAINZ-BORGO et al., 2011; BILLEN, 2011). Os hidrocarbonetos cuticulares (HC's) são conhecidos como feromônios de superfície sendo compostos pouco voláteis submergidos na superfície cuticular do inseto, que são percebidos por outros indivíduos por meio de pequenas distâncias ou detectados por contato direto (BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010). Em sua estrutura, os hidrocarbonetos cuticulares são compostos basicamente de carbono e hidrogênio e são divididos em saturados, como os alcanos, e insaturados como os alcenos com dupla ligação e alcinos com tripla ligação (BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010).

Desta maneira, os hidrocarbonetos cuticulares são importantes mediadores no reconhecimento em insetos sociais, especialmente nas formigas (VANDER-MEER & MOREL, 1998; LIANG & SILVERMAN, 2000), agindo como uma assinatura química que pode ser específico da espécie, da colônia e entre as castas (ANTONIALI-JUNIOR et al., 2007; BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010). Assim, a discriminação entre companheiras e não companheiras de ninho ocorre por meio de uma comparação do odor do indivíduo com um modelo de odor da colônia, admitindo desta maneira apenas indivíduos com informações químicas familiares (VANDER-MEER & MOREL, 1998; GUERRIERI et al., 2009; LIANG & SILVERMAN, 2010; BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010).

Os hidrocarbonetos cuticulares possuem como função primária evitar a dessecação, contudo, o perfil químico pode ser influenciado por fatores genéticos e também exógenos como a dieta, umidade e a temperatura (GIBBS et al., 1997; BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010; BOULAY et al., 2017; MENZEL et al., 2017; MICHELUTTI et al., 2018). Formigas de climas diferentes, como seco e úmido, a temperatura e a umidade podem influenciar na quantidade de alcenos e alcanos lineares, isto se deve ao fato destes compostos responderem em diferentes capacidades de impermeabilização da cutícula (MENZEL et al., 2017).

Assim sendo, os hidrocarbonetos cuticulares tem a função de impermeabilização e também de sinalização (CHUNG & CARROLL, 2015; BOULAY et al., 2017). Quando em situação adversa, a cutícula pode reformular sua composição a fim de evitar ao máximo a perda de água por transpiração (GIBBS, 2007; CHOWN et al., 2011), que ocorre por meio da aproximação das moléculas de hidrocarbonetos cuticulares, provocando um aumentando na sua viscosidade. Quanto maior for a viscosidade, menor será a difusão das moléculas pela cutícula, evitando a perda de água (GIBBS & POMONIS, 1995). Em contrapartida, a sinalização no reconhecimento pode ficar comprometida, o que pode ocasionar um estranhamento maior entre companheiras de ninho (MENZEL et al., 2017).

A dieta também pode favorecer a alteração química cuticular em formigas (FOWLER et al., 1991; LAMBARDI et al., 2004; BUCZKOWSKI et al., 2005; SORVARI et al., 2008). A dieta neste grupo é especialmente composta de alimentos ricos em proteína, carboidrato e lipídeos que favorecem o desenvolvimento do indivíduo (PARRA, 1991; FOWLER et al., 1991). O equilíbrio destes nutrientes é de essencial importância para o desenvolvimento e a formação da camada cuticular nas formigas (WILLIAMS et al., 1987; SORVARI et al., 2008).

Desta forma, a composição cuticular das formigas pode ser modulada de acordo com a sua dieta (WAGNER et al., 1998, 2001). Em formigas, a partir do sequestro de compostos químicos advindo de sua dieta, podem ocasionar uma sutil, porém significativa, alteração em sua assinatura química cuticular (LIANG & SILVERMAN, 2000; BUCZKOWSKI et al., 2005; BERNARDI et al., 2014). Esta alteração pode influenciar no reconhecimento intraespecífico, e tanto a quantidade (LIANG & SILVERMAN, 2000; GROVER et al., 2007; SORVARI et al., 2008; WITTMAN et al.,

2018), quanto a qualidade do alimento disponível pode levar a comportamentos agressivos entre companheiras de ninho (LIANG & SILVERMAN, 2000; SILVERMAN & LIANG, 2001; BUCZKOWSKI et al., 2005; GROVER et al., 2007; WITTMAN et al., 2018).

Por outro lado, diferentes colônias de formigas quando submetidas à mesma dieta, podem tornar-se mais tolerantes (LAMBARDI et al., 2004), e em alguns casos ocorrer até a fusão de colônias (BUCZKOWSKI et al., 2005). Desta maneira, a quantidade e/ou a qualidade do alimento disponível no ambiente, tende a ser um fator preponderante não apenas no desenvolvimento das formigas, mas também na comunicação entre elas, como o reconhecimento entre companheiras e não companheiras de ninho.

Distinguir entre companheiras e não companheiras de ninho é uma estratégia de extrema importância entre os insetos sociais (ANDERSSON, 1984; GADAGKAR, 1985; CHARNOV, 1978; HÖLLDOBLER & WILSON, 1990). Em formigas, esta capacidade de distinção tem sido muito importante em comportamentos altruístas como, por exemplo, o cuidado da companheira de ninho após uma luta (FRANK et al., 2017), e a tentativa de salvamento quando uma companheira de ninho é capturada por um predador (CZECHOWSKI et al., 2002; HOLLIS & NOWBAHARI, 2013-a, b; MILER, 2016; NOWBAHARI et al., 2016; DUHOO et al., 2017; MILER & KUSZEWSKA, 2017).

O comportamento de resgate executado pela socorrista pode variar desde escavações simples ao redor da vítima até comportamentos mais agressivos como o ataque a um possível predador (TAYLOR et al., 2013; MILER, 2016). Estes comportamentos têm sido ostensivamente observados em formigas que co-ocorrem com formiga-leão (Ordem: Neuroptera, Família: Myrmeleontidae) (CZECHOWSKI et al., 2002; NOWBAHARI et al., 2009; TAYLOR et al., 2013; HOLLIS & NOWBAHARI, 2013-b; HOLLIS et al., 2015; MILER, 2016; DUHOO et al., 2017; HOLLIS, 2017), tendo em vista que muitos Myrmeleontidae, constroem armadilhas em forma de cova no solo arenoso e são utilizadas para captura de presas, principalmente de formigas. Assim, esta arquitetura das armadilhas dificulta a fuga da formiga (GUILLETTE et al., 2009; LUCAS, 1986) que tende a solicitar ajuda à suas companheiras de ninho (NOWBAHARI & HOLLIS, 2010).

A decisão no salvamento pode ser influenciada por alguns fatores, como, a expectativa de vida da formiga capturada (MILER, 2016), e/ou pela função ocupada no

ninho (NOWBAHARI et al., 2016). Além disso, na formiga poneromorfa *Megaponera analis* (Latreille, 1802), além do resgate (FRANK et al., 2018), o cuidado com as feridas das companheiras de ninho pode também aumentar significativamente sua expectativa de vida, que futuramente tem a contribuir com a proteção da colônia (FRANK et al., 2017). Formigas fortemente lesadas, não são resgatadas ou tratadas, o que parece ser regulado não pela socorrista, mas pela baixa sinalização do pedido de ajuda da formiga ferida. Já as formigas levemente feridas se comportam como "mais feridas" ao solicitar a ajuda de suas companheiras de ninho (FRANK et al., 2018).

O pedido de ajuda em formigas parece ter início através de compostos químicos voláteis na forma de feromônios, que são emitidos pela formiga como sinalização quando em situação de perigo (CZECHOWSKI et al., 2002; NOWBAHARI & HOLLIS, 2010). Estes sinais químicos são capturados e codificados pelas companheiras de ninho que podem responder a este sinal de diversas maneiras (WHEELER & BLUM, 1973; LAHAV et al., 1999; MORGAN et al., 1999; LENOIR et al., 2001; HERNÁNDEZ et al., 2002; SAINZ-BORGO et al., 2011), sendo um deles, a decisão de resgatar ou não um indivíduo em situação de captura por um predador (NOWBAHARI & HOLLIS, 2010). Além dos sinais químicos, os sonoros também parecem ser utilizados para a comunicação no pedido de ajuda intraespecífico, como a estridulação em formigas (MARKL, 1965, 1967, 1973).

De fato, a estridulação parece ser um comportamento que várias espécies de formigas utilizam para solicitar ajuda (MARKL & HÖLLDOBLER, 1978; CHIU et al., 2011; MARKL, 1965; GRASSO et al., 2000), também descrita para *Odontomachus bauri* (Emery, 1892) (MARKL, 1973; GOLDEN & HILL, 2016). Assim, solicitar ajuda via feromônios, sonoro ou uma associação de ambos pode ser uma estratégia para *O. bauri*. Infelizmente, poucos trabalhos têm investigado o comportamento de resgate em formigas poneromorfas (HOLLIS et al., 2015; FRANK et al., 2017, 2018).

Entretanto, apesar do exposto acima, são necessários mais estudos para compreender como os fatores ambientais influenciam nos hidrocarbonetos cuticulares de formigas poneromorfas, que são essenciais para a troca de informações entre as companheiras de ninho. Além disso, as estratégias de resgate de uma companheira de ninho têm sido substancialmente estudadas em grupos mais derivados como em Formicinae (GOTELLI, 1996; CZECHOWSKI et al., 2002; MORRISON, 2004; HOLLIS & NOWBAHARI, 2013-b; MILER, 2016; HOLLIS et al., 2015; HOLLIS, 2017), mesmo que em Ponerinae também pareça haver algum traço deste

comportamento (FRANK et al., 2017; 2018). Formigas consideradas menos derivadas, são assim denominadas por possuírem traços principalmente menos derivados em relação à estrutura da colônia e à organização social. Estes grupos de formigas possuem uma gama significativa de estratégias comportamentais e sistemas de comunicação, sendo desta maneira, um modelo relevante para estudos das influências desses fatores na evolução do comportamento social (CHÂLINE et al., 2015). Portanto este estudo irá contribuir para o conhecimento sobre aspectos químicos e comportamentais na formiga poneromorfa *O.bauri*, visto a importância destas estratégias na evolução do comportamento social em formigas.

REFERÊNCIAS

- ANDERSSON, M. The evolution of eusociality. **The Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 15, p. 165-189, 1984.
- ANTONIALLI-JUNIOR, W. F., LIMA, S. M., ANDRADE, L. H. C. E SÚAREZ, Y. R. Comparative study of the cuticular hydrocarbon in queens, workers and males of *Ectatomma vizottoi* (Hymenoptera, Formicidae) by Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. **Genetics and Molecular Research**, v. 6, n. 3, p. 492-499, 2007.
- BERNARDI, R. C.; FIRMINO, E. L. B.; PEREIRA, M. C.; ANDRADE, L. H. C.; CARDOSO, C. A. L.; SÚAREZ, Y. R.; ANTONIALLI-JUNIOR, W. F.; LIMA, S. M. Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy as a potential tool in assessing the role of diet in cuticular chemical composition of *Ectatomma brunneum*. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 4, p. 1035-1048, 2014.
- BILLEN, J. Exocrine glands and their key function in the communication system of social insects. **Formosan Entomologist**, v. 31, p. 75-84, 2011.
- BILLEN J.; MORGAN, E. D. Pheromone communication in social insects: 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**. Colorado, Westview Press, 3-33pp., 1998.
- BLOMQUIST, G. J.; BAGNÈRES, A. G. **Insect hydrocarbons biology, biochemistry, and chemical ecology**. New York, Cambridge University Press, 492pp., 2010.
- BOULAY, R.; ARON, S.; CERDÁ, X.; DOUMS, C.; GRAHAM, P.; HEFETZ, A. E.; MONNIN, T. Social life in arid environments: the case study of *Cataglyphis* Ants. **Annual Review of Entomology**, v. 62, p. 305-321, 2017.
- BUCZKOWSKI, G.; KUMAR, R.; SUIB, S. L.; SILVERMAN, J. Diet-related modification of cuticular hydrocarbon profiles of the Argentine ant, *Linepithema humile*, diminishes intercolony aggression. **Journal of Chemical Ecology**, n. 31, n. 4, p. 829-843, 2005.

CHÂLINE, N.; FERREIRA, R. S.; YAGOUND, B.; SILVA, J. P.; CHAMERON, S. Comunicação e comportamento de formigas poneromorfas. In: DELABIE, J. H. C.; FEITOSA, R. M.; SERRÃO, J. E.; MARIANO, C. S. F.; MAJER, J. D. **As formigas poneromorfas do Brasil**. Ilhéus, Editus, 203-236pp., 2015.

CHARNOV E. L. Evolution of eusocial behavior: Offspring choice or parental parasitism? **Journal of Theoretical Biology**, v. 75, n. 4, p. 451-465, 1978.

CHOWN, S. L., SØRENSEN, J. G. e TERBLANCHE, J. S. Water loss in insects: An environmental change perspective. **Journal of Insect Physiology**,v.57. p. 1070–1084. 2011.

CHUNG, H.& CARROLL, S. B. Wax, sex and the origin of species: dual roles of insect cuticular hydrocarbons in adaptation and mating. **Bioessays**, v. 37, n. 7, p. 822-830, 2015.

CHIU, Y. K.; MANKIN, R. W.; LIN, C.C. Context-dependent stridulatory responses of *Leptogenyskitteli* (Hymenoptera: Formicidae) to social, prey, and disturbance stimuli. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 104, n. 5, p. 1012–1020, 2011.

CZECHOWSKI, W.; GODZIŃSKA, E. J.; KOZŁOWSKI, M. W. Rescue behavior shown by workers of *Formica sanguinea* Latr., *F. fusca* L. and *F. cinerea* (Hymenoptera: Formicidae) in response to their nestmates caught by an ant lion larva. **Annales Zoologici**, v. 52, n. 3, p. 423–431, 2002.

DUHOO, T.; DURAND, J. L.; HOLLIS, K. L.; NOWBAHARI, E. Organization of rescue behaviour sequences in ants, *Cataglyphis cursor*, reflects goal-directedness, plasticity and memory. **Behavioral Processes**, v. 139, p. 12-18, 2017.

FOWLER, H. G.; FORTI, L. C.; BRANDÃO, C. R. F.; DELABIE, J. H. C.; VASCONCELOS, H. L. **Ecologia nutricional de formigas**. In: PANIZZU, A. R.; PARRA, J. R. P. (Eds.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo, Editora Manoele, 131-223pp., 1991.

FRANK, E. T.; SCHMITT, T.; HOVESTADT, T.; MITESSER, O.; STIEGLER, J.; LINSENMAIR, K. E. Saving the injured: rescue behavior in the termite-hunting ant *Megaponera analis*. **Science Advances**, v. 3, n. 4, p. e1602187, 2017.

FRANK, E. T.; WEHRHAHN, M.; LINSENMAIR, K. E. Wound treatment and selective help in a termite-hunting ant. **Proceedings of the Royal Society-B.**, v. 285, n. 1872, p. 1-8, 2018.

GADAGKAR R. Kin recognition in social insects and other animals-A review of recent findings and a consideration of their relevance for the theory of kin selection. **Proceedings of the Indian Academy Of Science**, v. 94, n. 6, p. 587-621, 1985.

GIBBS, A.; POMONIS, J. G. Physical properties of insect cuticular hydrocarbons: The effects of chain length, methyl-branching and unsaturation. **Comparative Biochemistry and Physiology. B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 112, n. 2, p. 243–249, 1995.

GIBBS, A. G. Waterproof cockroaches: the early work of J. A. Ramsay. **Journal of Experimental Biology**,v. 210, p. 921-922, 2007.

- GIBBS, A. G.; CHIPPINDALE, A. K. E.; ROSE, M. R. Physiological mechanisms of evolved desiccation resistance in *Drosophila melanogaster*. **The Journal Experimental Biology**, v. 200, 1821–1832, 1997.
- GOLDEN, T. M. J.; HILL, P. S. M. The evolution of stridulatory communication in ants, revisited. **Insectes Sociaux**, v. 63, n. 2, p. 309–319, 2016.
- GRASSO, D. A.; PRIANO, M.; PAVAN, G.; MORI, A.; LE-MOLI, F. Stridulation in four species of *Messor* ants (Hymenoptera Formicidae). **Italian Journal of Zoology**, v. 67, n. 3, p. 281–285, 2000.
- GROVER, C. D.; KAY, A. D.; MONSON, J. A.; MARSH, T. C.; HOLWAY, D. A. Linking nutrition and behavioural dominance: carbohydrate scarcity limits aggression and activity in argentine ants. **Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences**, v. 274, n. 1628, p. 2951–2957, 2007.
- GUERRIERI, F. J.; NEHRING, V.; JORGENSEN, C. G.; NIELSEN, J.; GIOVANNI, GALIZIA, C.; D’ETTORRE, P. Ants recognize foes and not friends. **proceedings of the royal society b: biological sciences**, v. 276, n.1666, p. 2461-2468, 2009.
- GUILLETTE, L.; HOLLIS, K. L.; MARKARIAN, A. Learning in a sedentary insect predator: Antlions (Neuroptera: Myrmeleontidae) anticipate a long wait. **Behavioural Processes**, v. 87, n. 3, p. 224–232, 2009.
- HERNÁNDEZ, J. V.; LOPEZ, H.; JAFFÉ, K. Nestmate recognition signals of the leaf cutting ant *Atta laevigata*. **Journal of Insect Physiology**, v. 48, n. 3, p. 287-295, 2002.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The ants**. Cambridge, Harvard University Press, 746 p., 1990.
- HOLLIS, K. L. Ants and antlions: the impact of ecology, coevolution and learning on an insect predatory prey relationship. **Behavioural Processes**, v. 139, p. 4–11, 2017.
- HOLLIS, K. L.; HARRSCH, F. A.; NOWBAHARI, E. Ants vs. antlions: an insect model for studying the role of learned and hard-wired behavior in coevolution. **Learning Motivation**, v. 50, p. 69-82, 2015.
- HOLLIS, K. L.; NOWBAHARI, E. Toward a behavioral ecology of rescue behavior. **Evolutionary Psychology**, v. 11, n. 3, p. 647–664, 2013-a.
- HOLLIS, K. L.; NOWBAHARI, E. A comparative analysis of precision rescue behavior in sand-dwelling ants. **Animal Behaviour**, v. 85, n. 3, p. 537–544, 2013-b.
- HOWARD, R. W. Cuticular hydrocarbon and chemical communication. In: Stanley-Samuelson, D. W.; Nelson, D. R. (Eds.). **Insect lipids: chemistry, biochemistry and biology**. Lincoln, University of Nebraska Press, 179-226pp., 1993.
- 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.
- LAMBARDI, D.; CHEGIA, B.; TURILAZZI, S.; BOOMSMA, J. J. Diet-induced aggression among colonies of the leafcutter ant *Acromyrmex echinator* Forel (Hymenoptera Formicidae). **Redia**, v. 21, p. 219-221, 2004.

- LENOIR, A.; HEFETZ, A.; SIMON, T.; SOROKER, V. Comparative dynamics of gestalt odour formation in two ant species *Camponotus fellah* and *Aphaenogaster senilis* (Hymenoptera: Formicidae). **Physiological Entomology**, v. 26, p. 275-283, 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.
- LUCAS, J. R. Antlion pit construction and kleptoparasitic prey. **Florida Entomologist**, v. 69, n. 4, p. 702-710, 1986.
- MARKL, H. Stridulation in leaf-cutting ants. **Science**, v. 149, n. 149, p. 1392–1393, 1965.
- MARKL, H. Die Verständigung durch Stridulationssignale bei Blattschneiderameisen. **Zeitschrift für vergleichende Physiologie**, v. 57, n. 3, p. 299-330, 1967.
- MARKL, H. The evolution of stridulatory communication in ants. In: **Proceedings of the International Congress IUSSI**, London, 7th, p. 258-265, 1973.
- MARKL, H.; HÖLLDOBLER, B. Recruitment and food-retrieving behavior in *Novomessor* (Formicidae, Hymenoptera): II Vibration signals. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 4, n. 2, p. 183–216, 1978.
- MENZEL, F.; BLAIMER, B. B.; SCHMITT, T. How do cuticular hydrocarbons evolve? Physiological constraints and climatic and biotic selection pressures act on a complex functional trait. **Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences**, v. 284, n. 1850, p. 1-10, 2017.
- MICHELUTTI, K. B.; SOARES, E. R. P.; SGUARIZI-ANTONIO, D.; PIVA, R. C.; SÚAREZ, Y. R.; CARDOSO, C. A. L.; ANTONIALI-JUNIOR, W. F. Influence of temperature on survival and cuticular chemical profile of social wasps. **Journal of Thermal Biology**, v. 71, p. 221-231, 2018.
- MILER, K. Moribund ants do not call for help. **Plos One**, v. 11, n. 3, p. e0151925, 2016.
- MILER, K.; KUSZEWSKA, K. Secretions of mandibular glands are not involved in the elicitation of rescue behaviour in *Formica cinerea* ants. **Insectes Sociaux**, v. 64, n. 2, p. 303–305, 2017.
- MORGAN, E. D.; NASCIMENTO, R. R.; KEEGANS, S. J.; BILLEN, J. Comparative study of the mandibular gland secretion of workers of ponerine ants (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, n. 6, p. 1395–1410, 1999.
- MORRISON, L.W. Spatiotemporal variation in antlion (Neuroptera: Myrmeleontidae) density and impacts on ant (Hymenoptera: Formicidae) and generalized arthropod foraging. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 97, n. 5, p. 913-922, 2004.
- NOWBAHARI, E.; AMIRALTA, C.; HOLLIS, K. L. Rescue of newborn ants by older *Cataglyphis cursor* adult workers. **Animal Cognition**, v. 19, n. 3, p. 543–553, 2016.

- NOWBAHARI, E.; HOLLIS, K. L. Rescue behavior: Distinguishing between rescue, cooperation, and other forms of altruistic behavior. **Communicative and Integrative Biology**, v. 3, n. 2, p. 77-79, 2010.
- NOWBAHARI, E.; SCOHIER, A.; DURAND, J. L.; HOLLIS, K. L. Ants, *Cataglyphis cursor*, use precisely directed rescue behavior to free entrapped relatives. **Plos One**, v. 4, n. 8, p. e6573, 2009.
- PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Eds.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo, Manole, 9-66pp., 1991.
- SAINZ-BORGO, C., CABRERA, A. E HERNÁNDEZ, J. V. Nestmate recognition in the ant *Odontomachus bauri* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 58, n. 3, p. 1-18, 2011.
- SILVERMAN, J.; LIANG, D. Colony disassociation following diet partitioning in a unicolonial ant. **Naturwissenschaften**, v. 88, p. 73–77, 2001.
- SORVARI, J.; THEODORA, P.; TURILLAZZI, S.; HAKKARAINEN, H.; SUNDSTRÖM, L. Food resources, chemical signaling, and nestmate recognition in the ant *Formica aquilonia*. **Behavioral Ecology**, v. 19, n. 2, p. 441-447, 2008.
- TAYLOR, K.; VISVADER, A.; NOWBAHARI, E.; HOLLIS, K. L. Precision rescue behavior in North American ants. **Evolutionary Psychology**, v. 11, n. 3, p. 665–677, 2013.
- VANDER-MEER, R. K.; MOREL, L. **Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees, and termites**. Colorado, Westview Press, 1998.
- WAGNER, D.; N, M. J. F.; BROUN, P.; CUEVAS, W.; MOSES, L. E.; CHAO, D. L.; GORDON, D. M. Task-related differences in the cuticular hydrocarbon composition of harvester ants, *Pogonomyrmex barbatus*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n. 12, p. 2021-2037, 1998.
- WAGNER, D.; TISSOT, M.; GORDON, D. Task-related environment alters the cuticular hydrocarbon composition of harvester ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, n. 9, p.1805-1819, 2001.
- WHEELER, J. W.; BLUM, M. S. Alkylpyrazine alarm pheromones in ponerine ants. **Science**, v. 182, n. 4111, p. 501-503, 1973.
- WILLIAMS, D. F.; VANDER-MEER, R. K.; LOFGREN, C. S. Diet-Induced Nonmelanized Cuticle in Workers of the Imported Fire Ant *Solenopsis invicta* Buren. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 4, n. 4, p. 251-259, 1987.
- WITTMAN, S. E.; O'DOWD, D. J.; GREEN, P. T. Carbohydrate supply drives colony size, aggression, and impacts of an invasive ant. **Ecosphere**, v. 9, n. 9, p. e02403, 2018.

REVISÃO DA LITERATURA

Hidrocarbonetos cuticulares em insetos sociais

Os insetos sociais evoluíram devido aos mecanismos eficientes de reconhecimento entre eles que permitem que atos altruístas sejam direcionados aos indivíduos aparentados que formam uma colônia (TURILLAZZI 2012; HOLLIS & NOWBAHARI, 2013a). Desta forma, a comunicação entre os insetos sociais pode ser realizada a partir de contato tátil, como em partes do corpo, visual, sonoro, químico (SHERMAN et al., 1997; STARKS, 2004; TURILLAZZI 2012), ou uma associação de pelo menos dois deles (D'ETTORRE & HEINZE, 2005).

Nos insetos sociais a forma de comunicação mais utilizada é a química (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990; BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010), primeiro pelo fato deste tipo de comunicação alcançar um maior número de receptores, segundo por ter um amplo raio de alcance e terceiro pelo fato de persistir por um período relativamente longo (TURILLAZZI, 2012). A comunicação química é mediada por compostos químicos denominados de semioquímicos que quando mediadores da comunicação intraespecífica são classificados como feromônios (RATNIEKS, 1991; LEAL, 2005; ZARBIN et al., 2009; BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010).

Os feromônios apresentam uma grande diversidade na sua composição química, função e origem biossintética (D'ETTORRE & MOORE, 2008). Podem ser divididos em dois tipos basicamente, sendo o primeiro, denominados de feromônios voláteis, pois possuem um peso molecular relativamente baixo. Esses sinais químicos são tipicamente voláteis e podem ser constituídos por um único componente ativo ou um complexo de substâncias produzidas em uma ou mais glândulas exócrinas e liberados para o exterior, e então podem ser detectados por outros indivíduos, na qual induzem uma resposta específica (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990; BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010).

Um segundo tipo de feromônio, os superficiais, são compostos de cadeias mais longas (HOWARD, 1993; HOWARD & BLOMQUIST, 2005; BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010) e encontram-se dispostos na camada mais superficial da cutícula do inseto, denominada de camada epicuticular (SINGER, 1998). Essa camada é constituída principalmente por hidrocarbonetos (LOCKEY, 1988), que são sintetizados por células

epidérmicas denominadas enócitos (LOCKEY, 1965), com acetil-CoA e malonil-CoA como precursores, iniciando um processo de descarboxilação (BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010). Mesmo que pouco conhecida a maneira pela qual os HCs são transferidos até a cutícula (BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010), CHINO et al. (1981) sugeriram que na hemolinfa do inseto, a lipoforina seja responsável pelo transporte dos hidrocarbonetos recém sintetizados dos enócitos até o local onde serão depositados. Dessa forma, a cutícula do inseto é marcada pela presença de minúsculos poros, que auxiliam no deslocamento dos produtos de secreção para a região exterior do corpo do inseto (BILLEN & MORGAN, 1998; BILLEN, 2011).

A impermeabilização da cutícula e a barreira contra microorganismos são as principais funções dos hidrocarbonetos nos insetos. Não obstante, estes compostos atuam também como sinais trocados durante as interações entre companheiras e não companheiras de ninho (BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010). Desta forma, este reconhecimento confere à colônia proteção contra invasores (HEFETZ, 2007). O indivíduo é capaz de decodificar o sinal químico de outro indivíduo e compará-lo com seu *template*, ou seja, o odor referencial de sua colônia (HEFETZ, 2007). Esta capacidade de discriminação é de extrema importância para garantir a coesão da colônia (DANI et al., 2004).

Estruturalmente, os hidrocarbonetos são compostos apolares constituídos apenas de carbono e hidrogênio, sendo separados em lineares ou ramificados, saturados ou insaturados (LOCKEY, 1988), alcanos lineares, alcanos ramificados e alcenos (BROWN et al., 1991; LORENZI et al., 2004; MARTIN et al., 2004; HOWARD & BLOMQUIST, 2005; ZHU et al., 2006). Os ésteres, alcoóis, ácidos graxos, glicerídeos, esteróis e aldeídos são considerados secundários (COTONESCHI et al., 2007) podendo variar em quantidade e qualidade entre as espécies, idade, sexo e as colônias (HOWARD & BLOMQUIST, 2005).

Os alcanos ramificados apresentam uma alta complexidade molecular, exibindo um elevado potencial para codificar informações (BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010). Esta classe parece estar mais envolvida com a sinalização durante interações intraespecíficas, sendo a principal classe mediadora das interações químicas entre companheiras de ninho (DANI et al., 1996; LORENZI et al., 1997). Os alcenos, mesmo em menores proporções que os demais compostos, parecem estar também relacionados

com a troca de sinais durante a comunicação química (GIBBS, 2002; MENZEL et al., 2017). Em contrapartida, os alcanos lineares parecem estar envolvidos na impermeabilidade da cutícula a partir da construção de uma barreira para evitar a perda de água (ARMOLD & REGNIER, 1975; MENZEL et al., 2017).

Os hidrocarbonetos por estarem associados a fatores genéticos (BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010) e ambientais, como a temperatura, umidade do ambiente (WAGNER et al., 2001; MENZEL et al., 2017; MICHELUTTI et al., 2018) e, a dieta (CROSLAND, 1989; LIANG & SILVERMAN, 2000; SILVERMAN & LIANG, 2001; BUCZKOWSKI & SILVERMAN, 2006; BERNARDI et al., 2014), podem influenciar na composição cuticular e conseqüentemente, interferir na capacidade de reconhecimento intraespecífico (BUCZKOWSKI & SILVERMAN, 2006; CHUNG & CARROLL, 2015).

Variação da temperatura e os hidrocarbonetos cuticulares em formigas

Animais ectotérmicos, como as formigas, por exemplo, dependem do ambiente externo para manter sua homeostase, e garantir sua sobrevivência (GULLAN & CRANSTON, 2008). Desta maneira, as variações dos fatores climáticos como a temperatura e a umidade têm estimulado nestes animais um mecanismo de curto prazo para lidar com estas condições. Desse modo a plasticidade fenotípica em formigas, têm possibilitado respostas às condições impostas, modificando seu comportamento, sua morfologia e fisiologia (JAYATILAKA et al., 2011; LONDE et al., 2015; OMS et al., 2017; DIAMOND et al., 2017; MENZEL et al., 2018). Assim, a plasticidade fenotípica pode aumentar a resistência das formigas em relação as mudanças climáticas (LONDE et al., 2015; MENZEL et al., 2018; SPRENGER et al., 2018). Para responder a estas variações, a plasticidade fenotípica permite que genótipos produzam vários fenótipos baseados na expressão de caracteres morfológicos, comportamentais ou fisiológicos (WEST-EBERHARD, 2003).

Uma grande variedade de animais tem exibido diferentes habilidades em responder à aclimação para diferentes temperaturas (ANGILLETTA, 2009). A aclimação reversível, que é considerada como a capacidade dos animais em adaptar-se às pequenas mudanças de temperatura ao longo do dia (PROSSER, 1958), é extremamente importante para animais ectotérmicos, sobretudo de clima tropical que

precisam lidar com a variação climática diária e sazonal (ANGILLETTA, 2009; TERBLANCHE & KLEYNHANS, 2009; CHOWN et al., 2011).

De modo geral, as formigas desenvolvem estratégias para lidar com esta amplitude térmica. No ninho, algumas espécies de formigas utilizam gradientes de umidade e temperatura para construí-los e distribuir espacialmente os imaturos ao longo dele (THOMÉ, 1972; BRIAN, 1983; CEUSTERS, 1986). Algumas espécies de formigas de regiões temperadas como em *Formica rufa* (Linnaeus, 1761), mantém a menor amplitude térmica possível dentro do ninho através do aquecimento corpóreo expondo-se ao sol, ao retornar ao ninho este calor é dissipado nas câmaras, sobretudo naquelas com imaturos, mantendo a menor oscilação possível da temperatura dentro destas câmaras (ROSENGREN et al., 1987). Em formigas cortadeiras, como no gênero *Atta*, o ninho possui inúmeras entradas e saídas que são utilizadas para circulação do ar dentro das câmaras e são controladas pelas operárias (WEBER, 1972; QUINLAN & CHERRETT, 1978; POWELL & STRADLING, 1986; HÖLLDOBLER & WILSON, 1990; KLEINEIDAM et al., 2001).

A tolerância térmica de um animal delimita os limites térmicos de exposição à temperatura, e é correlacionada com seus efeitos subletais como a alta perda de água por transpiração (SINERVO et al., 2010). Assim, os limites de tolerância térmica em formigas tende a limitar, por exemplo, as atividades fora do ninho, sua distribuição, abundância e sobrevivência (JAYATILAKA et al., 2011; VERBLE-PEARSON et al., 2015; OMS et al., 2017). Entretanto, algumas formigas podem ser forçadas a aproximar destes limites para evitar a predação ou competição (WEHNER et al., 1992; MCCONNACHIE et al., 2007). Em ambientes extremamente quentes como em desertos, por exemplo, algumas espécies de formigas empregam a estratégia de forragear dentro do seu limite térmico, evitando a predação de lagartos que não suportam esta temperatura (WEHNER et al., 1992).

No entanto, estar susceptível a variações na temperatura e evitar a perda de água é extremamente importante para as formigas que tendem a perdê-la através da cutícula (EDNEY, 1977; HADLEY, 1994; HÖLLDOBLER & WILSON, 1990). De fato, a cutícula dos insetos é a principal via de perda de água (RAMSAY, 1935), especialmente em formigas, o ajuste é importante para minimizar ao máximo a transpiração (GIBBS & POMONIS, 1995; MENZEL et al., 2017).

Desta maneira, a impermeabilização em formigas é alcançada graças à camada de hidrocarbonetos cuticulares que diferem no comprimento da cadeia de carbono e no grupo metil e/ou ligações duplas (BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010; MENZEL et al., 2017). Estes hidrocarbonetos compreendem em uma mistura de n-alcanos, alcanos ramificados com metil e hidrocarbonetos insaturados (alcenos) (BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010). A função de impermeabilização da cutícula é fortemente influenciada pela temperatura que causa um derretimento dos hidrocarbonetos cuticulares (GIBBS & POMONIS, 1995; GIBBS, 1998). Desta maneira é possível que a evaporação da água através dos hidrocarbonetos cuticulares possa aumentar conforme a temperatura ambiente é elevada atingindo uma temperatura crítica (RAMSAY, 1935; WIGGLESWORTH, 1945; BEAMENT, 1945, 1958, 1959; ROURKE e GIBBS, 1999; GIBBS, 2002).

Assim, o ponto de fusão da camada de hidrocarbonetos cuticulares tende a aumentar quando suas moléculas alinham e agregam-se. Isto ocorre mais fortemente devido à força de van-der-Waals e o aumento do comprimento de cadeia (BROOKS et al., 2015). Neste sentido, os n-alcanos proporcionam a melhor impermeabilidade tendo em vista o elevado número de cadeia, por outro lado, grupos metil e ligações duplas tendem a quebrar esta linearidade impedindo a agregação molecular. GIBBS (1998), e GIBBS & POMONIS (1995), ressaltam que a temperatura de fusão de um hidrocarboneto tende a diminuir seguindo a seguinte ordem: n-alcanos para monometilalcanos, dimetilalcanos, alcenos e alcadienos.

O derretimento da mistura de hidrocarbonetos ocorre em uma faixa de temperatura mais ampla (GIBBS & POMONIS, 1995) o que provoca a proximidade das moléculas dos hidrocarbonetos cuticulares e aumenta sua viscosidade. Desta maneira, quanto maior a viscosidade da camada de hidrocarbonetos menor será a difusão das moléculas de hidrocarbonetos na cutícula evitando a perda de água por ela (MENZEL et al., 2017). Por outro lado, melhorar a impermeabilização através da produção de hidrocarbonetos com uma coesão molecular mais forte e pontos de fusão mais elevados pode comprometer várias outras funções da camada de hidrocarbonetos em formigas (GIBBS & POMONIS, 1995; MENZEL et al., 2017), como por exemplo os sinais de comunicação, que neste caso, quanto mais fluida for a camada de hidrocarbonetos, melhor será a difusão das moléculas (GIBBS & POMONIS, 1995; MAITANI et al., 2010; BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010; MENZEL et al., 2017).

Desta maneira, tendo em vista que os hidrocarbonetos cuticulares em formigas é a principal via de comunicação entre elas, e os fatores exógenos como a temperatura modelam estes compostos com a finalidade primária de prevenir a dessecação, esta via de comunicação pode ficar prejudicada e conseqüentemente interferir no reconhecimento intraespecífico de formigas, resultando no estranhamento entre companheiras de ninho e a comportamentos agressivos (MENZEL et al., 2017; SPRENGER et al., 2018).

A influência da dieta na composição química cuticular de formigas

As formigas possuem um hábito alimentar bastante diversificado o que possibilita que explorem os mais diversos ecossistemas terrestres, podendo atuar como predadoras, detritívoras, granívoras, necrófagas e herbívoras (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990). Neste sentido existem grupos de formigas que se alimentam de exsudatos de nectários florais e extraflorais, fungos, “*honeydew*” (fluido açucarado) de hemípteros (DELABIE et al., 2003; FERNÁNDEZ, 2003; DEL-VAL & DIZO, 2004), sementes (GORDON, 2002), além de outros grupos que são predadores, ou onívoros (FOWLER et al., 1991).

A despeito da variedade alimentar das formigas, suas castas e estágios de desenvolvimento podem possuir dietas diferenciadas (PARRA, 1991; FOWLER et al., 1991). Neste sentido, os adultos alimentam-se apenas de líquidos, e os imaturos recebem alimentos sólidos e/ou líquidos, isto se deve a adaptações de sua morfologia e do sistema digestório (EISNER & HAPP, 1962; MARKING, 1970; PETRALIA & VINSON, 1978; FOWLER et al., 1991). De forma geral, as formigas utilizam alimentos ricos em proteínas, carboidratos e lipídeos, dado a importância da dieta em conter substâncias básicas para o crescimento e desenvolvimento dos imaturos, e manutenção dos adultos (PARRA, 1991; FOWLER et al., 1991). Assim, os carboidratos são comumente consumidos pelos adultos e são usados como fonte de energia, enquanto que as proteínas são consumidas mais frequentemente pelos imaturos (BRIAN, 1983; PORTER 1989).

É previsto que tanto a quantidade de alimento quanto o equilíbrio entre o carboidrato e a proteína disponíveis para as formigas, mudam em um ambiente ao longo de um dado período ou quando sob perturbação antrópica (SORVARI et al., 2008). Este desequilíbrio na dieta parece provocar um estranhamento entre as companheiras de

ninho (BUCZKOWSKI & SILVERMAN, 2006; SORVARI et al., 2008) podendo haver desde comportamentos agressivos (GROVER et al., 2007; SORVARI et al., 2008;) até a tolerância entre não companheiras de ninho provocando inclusive a fusão de colônias (LAMBARDI et al., 2004; BUCZKOWSKI et al., 2005).

Isto ocorre pelo fato de que em formigas o principal meio de identificação entre companheiras e não companheiras de ninho é através dos hidrocarbonetos cuticulares (HEFETZ, 2007; BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010) que conferem à colônia um odor específico em forma de assinatura química, permitindo assim a distinção de membros pertencentes ou não da colônia (BUCZKOWSKI & SILVERMAN, 2006). Em muitas espécies de formigas, os indivíduos adquirem esta assinatura química durante as primeiras horas após a eclosão (HÖLLDOBLER & WILSON 1990; LENOIR et al., 1999), entretanto pode ser modificado durante a vida de um indivíduo em função da dieta (WAGNER et al., 1998, 2001).

Grover et al. (2007), ao alterar a quantidade de carboidratos entre os membros da mesma colônia de *Linepithema humile* (Mayr, 1868) perceberam um expressivo aumento na agressividade entre as companheiras de ninho, sugerindo que a quantidade de carboidratos disponível no ambiente pode influenciar no reconhecimento entre companheiras e não companheiras de ninho. Vários autores ressaltam ainda que o carboidrato possui um papel importante no metabolismo de formigas adultas por disponibilizar mais energia para suas tarefas diárias (DAVIDSON, 1997; GROVER et al., 2007; DUSSUTOUR & SIMPSON, 2008; HORN et al., 2013; WITTMAN et al., 2018).

De fato, o carboidrato parece ter grande influência não apenas no comportamento agressivo entre as formigas, mas também no aumento das atividades das operárias, aumento no tamanho da colônia e na reprodução quando estas formigas estão expostas à níveis elevados de carboidratos (WITTMAN et al., 2018).

Por outro lado, a dieta em algumas espécies de formigas, pode favorecer a tolerância entre indivíduos de colônias diferentes. Este fato foi comprovado por Lambardi et al. (2004), ao submeter colônias diferentes da formiga *Acromyrmex echinator* (Forel, 1889) a mesma dieta, que passou a tolerar mais os indivíduos não companheiros de ninho. Na espécie *Linepithema humile* (Mayr, 1868), além da tolerância entre companheiras e não companheiras de ninho também foi observada a fusão de colônias (BUCZKOWSKI et al., 2005).

Estes trabalhos demonstram que de fato a dieta em formigas pode ser um fator preponderante na composição química cuticular nestes insetos. Uma das maneiras pela qual a assinatura química das formigas pode ser alterada é através do sequestro de compostos químicos a partir daquilo que ela se alimenta. Estes compostos, especificamente os hidrocarbonetos, são assimilados pelas formigas e conferem distinções sutis entre as colônias (LIANG & SILVERMAN, 2000; SILVERMAN & LIANG, 2001; BUCZKOWSKI et al., 2005).

Liang & Silverman (2000), ao manterem 2 grupos da mesma colônias da espécie *Linepithema humile* (Mayr, 1868) sob várias dietas proteicas da barata *Blattella germanica* e *Supella longipalpa*, mostraram que a assinatura química foi alterada pelos compostos dietéticos. Além disso, os compostos presentes nas presas apresentaram a mesma mudança em seus perfis químicos cuticulares. Contudo, além da composição, a quantidade de alimento também parece afetar a assinatura química e conseqüentemente o reconhecimento entre as companheiras de ninho (SORVARI et al., 2008).

Resultados semelhantes, nos quais a dieta mostrou-se um fator decisivo na construção da composição de hidrocarbonetos cuticular, foram encontrados também na formiga *Ectatomma brunneum* (Smith, 1858) por Bernardi et al. (2014). Os autores ao comparar o perfil cuticular de formigas submetidas à alimentação restrita de *Tenebrio molitor* como fonte protéica, e mel como fonte de carboidrato com aquelas em campo, ressaltam que os compostos cuticulares sofreram influência da alimentação.

Em suma, a dieta têm demonstrado grande influência na composição química cuticular de formigas, o que conseqüentemente parece resultar em um estranhamento entre companheiras de ninho. Assim, é importante ressaltar que a disponibilidade de alimento para as formigas no ambiente pode variar de inúmeras maneiras e em diferentes intensidades (COOK et al., 2011). Esta sazonalidade na disponibilidade de certos nutrientes pode gerar conseqüências no desenvolvimento e crescimento de uma colônia, tendo em vista que as necessidades nutricionais dos indivíduos como os adultos, imaturos e a rainha, são muito diferentes (BRIAN & ABBOTT, 1977; SORENSEN et al., 1985; HÖLLDOBLER & WILSON, 1990; CASSILL & TSCHINKEL, 1999). De fato, o déficit nutricional em uma colônia pode influenciar negativamente, entre outros fatores, na formação cuticular do inseto (WILLIAMS et al., 1987). Assim, a qualidade e/ou a quantidade de alimento que é consumido pela formiga,

pode gerar significativas mudanças fisiológicas e comportamentais no indivíduo, causando desta maneira um conflito intraespecífico que leva desde o não reconhecimento de sua companheira de ninho até a fusão de colônias distintas.

Comportamento de resgate em formigas

Em insetos sociais, defender a colônia de um invasor é extremamente importante para mantê-la íntegra e assim garantir que seus genes serão repassados (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990). Os tipos de defesas desenvolvidos são diversos, como a coloração, emissão sonora e química, construção de estruturas físicas na entrada do ninho, e até comportamentos agressivos contra o possível invasor (HERMANN, 1984). Assim, as defesas comportamentais são geralmente específicas para tipos específicos de inimigos (HERMANN, 1984). O comportamento defensivo pode ser realizado por um indivíduo ou por um grupo, que normalmente se correlaciona com a diferença de tamanho corporal e a relação numérica entre eles (BATCHELOR & BRIFFA, 2011).

Desta maneira, é comum que indivíduos morram em defesa de sua colônia (WILSON, 1975), por outro lado, a perda de operárias pode prejudicar a colônia como um todo. Assim, o altruísmo, que são ações voluntárias de um indivíduo em benefício de outros, é a base da cooperação e coesão em grupos eussociais (HAMILTON, 1964; OSTER & WILSON, 1978; O'GORMAN et al., 2005; RATNIEKS & WENSELEERS, 2008). Nestes insetos, são facilmente observados comportamentos altruístas como a isenção na capacidade reprodutiva, recursos alimentares e até mesmo o sacrifício de sua vida para o benefício de seus companheiros de ninho. Esta forma de altruísmo é essencial para aumentar a aptidão dos indivíduos reprodutivos da colônia, e garantir que seus genes serão repassados às gerações futuras (DELIGNE & CONINCK, 2006).

O comportamento de resgate em formigas, tem sido discutido na literatura como sendo altruísta (HOLLIS & NOWBAHARI, 2013-a), contudo, este comportamento deve ser observado com algumas ressalvas. Identificar o comportamento de resgate requer uma “definição de trabalho” como preconiza Nowbahari & Hollis (2010). Primeiro a vítima deve estar “em perigo”, ou seja, em uma situação que represente um risco físico imediato para si mesma. Segundo, um ato de extremo altruísmo devido aos riscos especialmente grandes envolvidos ocorre quando a socorrista se expõe a um perigo eminente colocando-se em uma tentativa de resgate. Terceiro, o comportamento da socorrista é geralmente adequado às circunstâncias de perigo ou perigo da vítima, ou

seja, nem todas as tentativas de resgate são bem-sucedidas, assim, o comportamento de resgate deve ser definido sem referência ao seu resultado (NOWBAHARI & HOLLIS, 2010).

Deste modo, os comportamentos de resgate podem variar desde pequenas escavações ao redor do indivíduo, até comportamentos agressivos direcionados ao predador ou aquilo que provoca o aprisionamento da companheira de ninho (TAYLOR et al., 2013). Normalmente, a socorrista executa o comportamento de resgate para sua companheira de ninho quando ela solicita (NOWBAHARI & HOLLIS, 2010; HOLLIS & NOWBAHARI, 2013-b; TAYLOR et al., 2013; MILER 2016; MILER & KUSZEWSKA, 2017), contudo, a decisão entre resgatar uma companheira ou não companheira de ninho, tende a ser influenciada por alguns fatores. Por exemplo, a proximidade entre as colônias pode levar a um “erro” de reconhecimento de uma não companheira de ninho, isto pode ocorrer devido as colônias possuírem alta similaridade nos modelos de odor que é ocasionada pela baixa variabilidade genética, levando as formigas a resgatar não companheiras de ninho (ERRARD et al. 2006; NEWHEY et al. 2010; UY et al. 2018).

Vários estudos com a co-ocorrência de formigas e seu principal predador, as larvas de formiga-leão (*Myrmeleon bore*), têm elucidado sobre como estes grupos de formigas evitam serem capturadas e predadas pelo Myrmeleontidae (CZECHOWSKI et al., 2002; NOWBAHARI et al., 2009; HOLLIS & NOWBHARI, 2013-a, b; HOLLIS et al., 2015; MILER 2016; MILER et al., 2017). As larvas de formiga leão constroem na areia uma típica armadilha em forma de cone, facilitando a captura de qualquer inseto que por ali passar. Assim, a formiga, sua principal presa, que por ventura vier a cair nesta armadilha, pode ser imobilizada impedindo-a de conseguir escapar sozinha (HOLLIS et al., 2015). Nesta situação de perigo iminente, a formiga capturada tende a solicitar ajuda através de sinais químico emitidos pela glândula mandibular (MILER & KUSZEWSKA, 2017), de Dufor e do veneno que são específicos da colônia. Estes sinais são então codificados pelas companheiras de ninho que agem como potenciais socorristas (NOWBAHARI et al., 2012).

A intensidade no pedido de ajuda tende a ser determinado pela própria formiga que solicita, ou seja, a formiga quando capturada pode emitir sinais de ajuda mais ou menos intensos a depender de sua expectativa de vida (MILER, 2016; MILER et al., 2017). Por exemplo, Miler (2016), observaram que em *Formica cinerea* (Mayr, 1853) as companheiras de ninho com maior expectativa de vida, quando capturadas por

formiga leão, são mais resgatadas em detrimento daquelas com baixa expectativa de vida. Esta diferença no salvamento está relacionada aos sinais emitidos pela formiga capturada, que, de fato tendem a ser mais intensos quando sua expectativa de vida é maior. Os autores concluem ainda, que as operárias moribundas podem não pedir socorro para poupar que uma companheira de ninho tente resgatá-la, e assim possa vir a ser também capturada, ou pelo fato de estarem incapacitadas para efetuar o pedido de ajuda (MILER, 2016). Na formiga *Megaponera analis* (Latreille, 1802) os indivíduos machucados após um combate, podem solicitar ajuda com intensidades diferentes dependendo da gravidade da ferida. Indivíduos menos feridos se comportaram como muito feridos e são assim mais resgatados (FRANK et al., 2018). Além disso, formigas quando capturadas por um predador podem, em algumas circunstâncias, serem anestesiadas pela ação da substância química que é injetada pelo predador. Isto pode diminuir a emissão de sinais de ajuda e diminuir a expectativa de salvamento (NOWBAHARI et al., 2009; NOWBAHARI et al., 2012).

Pedidos de ajuda também podem ser observados a partir de emissões sonoras, que em formigas são produzidos a partir de movimentos dorso-ventrais do gáster por fricção da porção postero-distal do terceiro segmento abdominal, que funciona como uma raspadeira, ou *plectrum*, sobre a placa estridulatória ou *pars stridens* (SPANGLER, 1967; KERMARREC et al., 1976), que ao atritarem, provocam uma vibração sonora chamada de estridulação podendo ser transmitida pelo substrato, pelo ar ou contato físico (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990).

Estes sinais acústicos parecem ser um meio de comunicação menor entre as formigas, sendo confinado a atividades fora do ninho, mas, sobretudo sinalizando alarme ou pedidos de resgate, por exemplo quando partes dos ninhos colapsam (MARKL, 1965, 1967). Devido ao fato destas vibrações serem transportadas à distâncias maiores em detrimento dos produtos químicos voláteis, acredita-se que os pedidos de resgate via estridulação em formigas, possa ser de certa forma, uma estratégia secundária e, em algumas situações eficientes para a comunicação entre as companheiras de ninho (MARKL, 1973).

Esta capacidade parece ter evoluído várias vezes de forma independente e pode ser encontrada em um grande número de espécies de cinco subfamílias (Myrmicinae Pseudomyrmecinae, Ponerinae, Ectatomminae, Nothomyrmecinae) (MARKL, 1973; TAYLOR, 1978). Markl, (1973) e Golden & Hill, (2016) já observaram em particular no gênero *Odontomachus*, a estridulação como um mecanismo em alertar as

companheiras de ninho para algo perturbador. Desta maneira é provável que este sinal e/ou uma associação dele com os compostos químicos voláteis, possa contribuir para o pedido de ajuda em *O. bauri* quando em situação de perigo.

OBJETIVO GERAL

Investigar a influência da temperatura e da dieta nos compostos químicos cuticulares e no reconhecimento intraespecífico de *O. bauri*, bem como no comportamento de resgate nesta espécie.

HIPÓTESES

- Há variação qualitativa e quantitativa na composição do perfil químico cuticular da formiga *O. bauri* quando submetida à variação de temperatura, que pode prejudicar o reconhecimento intraespecífico.

- Há variação qualitativa e quantitativa na composição do perfil químico cuticular da formiga *O. bauri* quando submetida à variação da dieta, que pode prejudicar o reconhecimento intraespecífico.

- Assim como em outras taxa, em *O. bauri* há algum comportamento de resgate de sua companheira de ninho quando capturada por um predador.

REFERÊNCIAS

ANGILLETTA, M. **Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis**. New York, Oxford Univ. Press, 302 pp., 2009.

ARMOLD, M.T.; REGNIER, F.E. Stimulation of hydrocarbon biosynthesis by ecdysone in the flesh fly *Sarcophaga bullata* **Journal of Insect Physiology**, v. 21, n. 9, p. 1581-1586, 1975.

BATCHELOR, T. P.; BRIFFA, M. Fight tactics in wood ants: individuals in smaller groups fight harder but die faster. **Proceedings of the Royal Society B: Biological sciences**, v. 278, n. 1722, p. 3243–3250, 2011.

BERNARDI, R. C.; FIRMINO, E. L. B.; PEREIRA, M. C.; ANDRADE, L. H. C.; CARDOSO, C. A. L.; SÚAREZ, Y. R.; ANTONIALLI-JUNIOR, W. F.; LIMA, S. M. Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy as a potential tool in assessing

the role of diet in cuticular chemical composition of *Ectatomma brunneum*. **Genetics Molecular Research**, v. 13, n. 4, p. 10035-10048, 2014.

BILLEN J.; MORGAN, E. D. Pheromone communication in social insects: 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**. Colorado, Westview Press, 3-33pp., 1998.

BILLEN, J. Exocrine glands and their key function in the communication system of social insects. **Formosan Entomologist**, v. 31, p. 75-84, 2011.

BLOMQUIST, G. J.; BAGNÈRES, A. G. **Insect hydrocarbons biology, biochemistry, and chemical ecology**. New York, Cambridge University Press, 492pp., 2010.

BRIAN, M. V. **Social insects: ecology and behavioural biology**. London, Chapman and Hall, 360pp., 1983.

BRIAN, M. V.; ABBOTT, A. The control of food flow in a society of the ant *Myrmica rubra* L. **Animal Behaviour**, v. 25, n. 4, p. 1047-1055, 1977.

BROWN, W.V., SPRADBERRY, J.P., LACEY, M.J. Changes in the epicuticular hydrocarbon composition during development of the social wasp, *Vespula germanica* (F) (hymenoptera: vespidae). **Comparative Biochemistry and Physiology B**, v. 99, n. 3, p. 553-562, 1991.

BUCZKOWSKI, G.; KUMAR, R.; SUIB, S. L.; SILVERMAN, J. Diet-related modification of cuticular hydrocarbon profiles of the Argentine ant, *Linepithema humile*, diminishes intercolony aggression. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 4, p. 829-843, 2005.

BUCZKOWSKI, G.; SILVERMAN, J. Geographic variation in Argentine ant aggression behaviour mediated by environmentally-derived nestmate recognition cues. **Animal Behaviour**, v. 71, n. 2, p. 327-335, 2006.

CASSILL, D. L.; TSCHINKEL, W. R. Task selection by workers of the fire ant, *Solenopsis invicta*. **Behavioral Ecology Sociobiology**, v. 45, p. 301–310, 1999.

CEUSTERS, R. Simulation du nid naturel des fourmis par des nids artificiels placés sur un gradient de temperature. **Actes des Colloques Insectes Sociaux**, v. 3, p. 235-241, 1986.

CHINO, H.; DOWNER, R. G. H., WYATT, G. R.; GILBERT, L. I. Lipophorins, a major class of lipoproteins of insect haemolymph. **Insect Biochemistry**, v. 11, n. 4, p. 491, 1981.

CHOWN, S. L.; SØRENSEN, J. G.; TERBLANCHE, J. S. Water loss in insects: An environmental change perspective. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, n. 8, p. 1070–1084, 2011.

CHUNG, H. & CARROLL, S. B. Wax, sex and the origin of species: dual roles of insect cuticular hydrocarbons in adaptation and mating. **Bioessays**, v. 37, n. 7, p. 822-830, 2015.

- COOK, S. C.; EUBANKS, M. D.; GOLD, R. E.; BEHMER, S. T. Seasonality directs contrasting food collection behavior and nutrient regulation strategies in ants. **Plos One**, v. 6, n. 9, e25407, 2011.
- COTONESCHI, C.; DANI, F.R.B.; CERVO, R.; SLEDGE, M.F.; TURILLAZZI, S. *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae) larvae possess their own chemical signatures. **Journal of Insect Physiology**, v. 53, n. 9, p. 954–963, 2007.
- CROSLAND, M. W. J. Kin recognition in the ant *Rhytidoponera confusa* I. environmental odour. **Animal Behaviour**, v. 37, p. 912-919, 1989.
- CZECHOWSKI, W.; GODZIŃSKA, E. J.; KOZŁOWSKI, M. W. Rescue behavior shown by workers of *Formica sanguinea* Latr., *F. fusca* L. and *F. cinerea* (Hymenoptera: Formicidae) in response to their nestmates caught by an ant lion larva. **Annales Zoologici**, v. 52, n. 3, p. 423–431, 2002.
- D’ETTORRE, P.; HEINZE, J. Individual recognition in ant queens. **Current Biology**, v. 15, n. 23, p. 2170–2174, 2005.
- D’ETTORRE, P.; MOORE, A.J. Sociobiology of communication: an interdisciplinary perspective. In: D’ETTORRE, P.; HUGHES, D.P. (Eds). **Chemical communication and the coordination of social interactions in insects**. Oxford, Oxford University Press, 81-96 pp., 2008.
- DANI, F.R., MORGAN, E.D., TURILLAZZI, S., Dufour gland secretion of *Polistes* wasp: chemical composition and possible involvement in nestmate recognition (Hymenoptera: Vespidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 42, n. 6, p. 541-548, 1996.
- DANI, F.R.; FOSTER, K.R.; ZACCHI, F.; SEPPA, P.; MASSOLO, A.; CARELLI, A.; ARÉVALO, E.; QUELLER, D.C.; STRASSMANN, J.E.; TURILLAZZI, S. Can cuticular lipids provide sufficient information for within-colony nepotism in wasps? **Proceedings of the Royal Society of London. Series B**, v. 271, n. 1540, p. 745–753, 2004.
- DAVIDSON, D. W. The role of resource imbalances in the evolutionary ecology of tropical arboreal ants. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 61, n. 2, p. 153-181, 1997.
- DELABIE, J. H. C.; OSPINA, M.; ZABALA, G. Relaciones entre hormigas y plantas: una introducción. In: FERNÁNDEZ, F. (Ed.). **Introducción a las hormigas de la región neotropical**. Bogotá, Instituto de investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, 167-180 pp., 2003.
- DELIGNE, J.; CONINCK D. E. Suicidal defence through a dehiscent frontal weapon in *Apilitermes longiceps* soldiers (Isoptera: Termitidae). **Belgian Journal of Entomology**, v. 8, p.3–10, 2006.
- DEL-VAL, E.; DIZO, R. Mirmecofilia: las plantas con ejército propio. **Interciencia**, v. 29, n. 12, p. 673-679, 2004.

DIAMOND, S. E.; CHICK, L.; PEREZ, A.; STRICKLER, S. A.; MARTIN, R. A. Rapid evolution of ant thermal tolerance across an urban-rural temperature cline. *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 121, n. 2, p. 248-257, 2017.

DUSSUTOUR, A.; SIMPSON, S.J. Description of a simple synthetic diet for studying nutritional responses in ants. *Insectes Sociaux*, v. 55, n.3, p. 329-333, 2008.

EDNEY, E. B. **Water balance in land arthropods**. Berlin, Zoophysiology and Ecology, 1977.

EISNER, T.; HAPP, G. M. The infrabuccal pocket of a formicine ant: a social filtration device. *Psyche*, v. 69, n. 3, p. 107-116, 1962.

ERRARD, C.; HEFETZ, A.; JAISSON, P. Social discrimination tuning in ants: template formation and chemical similarity. *Behavioral Ecology Sociobiology*, v. 59, n. 3, 353–363, 2006.

FERNÁNDEZ, F. Subfamília Formicinae. In: FERNÁNDEZ, F. (Ed.). **Introducción a las hormigas de la región Neotropical**. Bogotá, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, 299-306 pp., 2003.

FOWLER, H. G.; FORTI, L. C.; BRANDÃO, C. R. F.; DELABIE, J. H. C.; VASCONCELOS, H. L. **Ecologia nutricional de formigas**. In: PANIZZU, A. R.; PARRA, J. R. P. (Eds.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo, Editora Manoele, 131-223 pp., 1991.

FRANK, E. T.; WEHRHAHN, M.; LINSENMAIR, K. E. Wound treatment and selective help in a termite-hunting ant. *Proceedings of the Royal Society B, Biological sciences*, v. 285, n. 1872, p. 1-8, 2018.

GIBBS, A. G. Water-proofing properties of cuticular lipids. *American Zoologist*, v. 38, p. 471–482, 1998.

GIBBS, A.; POMONIS, J. G. Physical properties of insect cuticular hydrocarbons: The effects of chain length, methyl-branching and unsaturation. *Comparative Biochemistry and Physiology, part B: Biochemistry and Molecular Biology*, v. 112, n. 2, p. 243–249, 1995.

GIBBS, A.G. Lipid melting and cuticular permeability: new insights into an old problem. *Journal of Insect Physiology*, v. 48, n. 4, p. 391-400, 2002.

GOLDEN, T. M. J.; HILL, P. S. M. The evolution of stridulatory communication in ants, revisited. *Insectes Sociaux*, v. 63, n. 2, p. 309–319, 2016.

GORDON, D. **Formigas em ação: como se organiza uma sociedade de insetos**. Rio de Janeiro, Jorge Zahar, 144pp., 2002.

GROVER, C. D.; KAY, A. D.; MONSON, J. A.; MARSH, T. C.; HOLWAY, D. A. Linking nutrition and behavioural dominance: carbohydrate scarcity limits aggression and activity in argentine ants. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, v. 274, p. 2951–2957, 2007.

GULLAN, P.J.; CRANSTON. P.S. **Os insetos: um resumo de entomologia**. São Paulo: Rocca, 2008.

- HADLEY, N. F. **Water Relations of Terrestrial Arthropods**. San Diego, Academic Press, 356pp., 1994.
- HAMILTON, W. D. Genetical evolution of social behaviour. **Journal of Theoretical Biology**, v. 7, p. 1–16, 1964.
- HEFETZ, A. The evolution of hydrocarbon pheromone parsimony in ants (Hymenoptera: Formicidae) – interplay of colony odor uniformity and odor idiosyncrasy. A review. **Myrmecological News**, v. 10, p. 59-68, 2007.
- HERMANN, H. R. Defensive mechanisms: general considerations. In: **Defensive Mechanisms in Social Insects**. Hermann, H. R.(Ed.), New York, Praeger, 1–31pp., 1984.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The ants**. Cambridge, Harvard University Press, 746pp., 1990.
- HOLLIS, K. L.; HARRSCH, F. A.; NOWBAHARI, E. Ants vs. antlions: an insect model for studying the role of learned and hard-wired behavior in coevolution. **Learning Motivation**, v. 50, p. 68–82, 2015.
- HOLLIS, K. L.; NOWBAHARI, E. Toward a behavioral ecology of rescue behavior. **Evolutionary Psychology**, v. 11, n. 3, p. 647–664, 2013a.
- HOLLIS, K. L.; NOWBAHARI, E. A comparative analysis of precision rescue behavior in sand dwelling ants. **Animal Behaviour**, v. 85, n. 3, p. 537–544, 2013-b.
- HORN, K. C.; EUBANKS, M. D.; SIEMANN, E. The effect of diet and opponent size on aggressive interactions involving caribbean crazy ants (*Nylanderia fulva*). **Plos one**, v. 8, n 6, 2013.
- HOWARD, R. W. Cuticular hydrocarbon and chemical communication. In: Stanley-Samuelson, D. W.; Nelson, D. R. (Eds.). **Insect lipids: chemistry, biochemistry and biology**. Lincoln, University of Nebraska Press, 179-226pp., 1993.
- HOWARD, R. W.; BLOMQUIST, G. J. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. **Annual Review Entomology**, v. 50, p. 371–393, 2005.
- JAYATILAKA, P.; NARENDRA, A.; REID, S. F.; COOPER, P.; ZEIL, J. Different effects of temperature on foraging activity schedules in sympatric *Myrmecia* ants. **The Journal of Experimental Biology**, v. 214, p. 2730–2738, 2011.
- KERMARREC, A.; MAULÉON, H.; ANTUN, A. A. La stridulation de *Acromyrmex octospinosus* Reich. (Formicidae, Attini): biométrie de l'appareil stridulateur et analyse du signal produit. **Insectes Sociaux**, v. 23, n. 1, p. 29-47, 1976.
- KLEINEIDAM, C.; ERNST, R.; ROCES, F. Wind-induced ventilation of the giant nests of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri*. **Naturwissenschaften**, v. 88, n. 7, p. 301-305, 2001.
- LAMBARDI, D.; CHEGIA, B.; TURILAZZI, S.; BOOMSMA, J. J. Diet-induced aggression among colonies of the leafcutter ant *Acromyrmex echinator* Forel (Hymenoptera Formicidae). **Redia**, v. 87, p. 219-221, 2004.

- LEAL, W. S. Pheromone Reception. In: S. SCHULZ (ed.). **The chemistry of pheromones and other semiochemicals II**. Berlin, Springer, 1-36pp., 2005.
- LENOIR, A.; FRESNEAU, D.; ERRARD, C.; HEFETZ, A.; DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J. L.; PASTEELS, J. M. Individuality and colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept. In: DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J. L.; PASTEELS, J. M. **Information Processing in Social Insects**. Basel, Birkhäuser, 219-237pp., 1999.
- LIANG, D. & SILVERMAN, J. "You are what you eat": Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. **Naturwissenschaften**, v. 87, n.9, p. 412-416, 2000.
- LOCKEY, K.H. Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part B**, v. 89, n. 2.p. 595–645, 1988.
- LOCKEY, M. Permeability of insect cuticle to water and lipids. **Science**, v. 147, n. 3655, p.295–298, 1965.
- LONDE, S.; MONNIN, T.; CORNETTE, R.; DEBAT, V.; FISHER, B. L.; MOLET, M. Phenotypic plasticity and modularity allow for the production of novel mosaic phenotypes in ants. **EvoDevo**, v. 6, n. 36, p. 1-15, 2015.
- LORENZI, M.C.; BAGNÈRES, A.G.; CLÉMENT, J.L.; TURILLAZZI, S. *Polistes biglumis bimaculatus* epicuticular hydrocarbons and nestmate recognition (Hymenoptera, Vespidae). **Insectes Sociaux**, v. 44, n. 2, p. 123–138. 1997.
- LORENZI, M.C.; SLEDGE, M.F.; LAIOLO, P.; STURLINI, E.; TURILLAZZI, S. Cuticular hydrocarbon dynamics in young adult *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae) and the role of linear hydrocarbons in nestmate recognition systems. **Journal of Insect Physiology**, v.50, n. 10, p. 935–941, 2004.
- MAITANI, M. M.; ALLARA, D. L.; PARK, K. C.; LEE, S. G.; BAKER, T. C. Moth olfactory trichoid sensilla exhibit nanoscale-level heterogeneity in surface lipid properties. **Arthropod Structure & Development**, v. 39, n.1, p. 1–16, 2010.
- MARKIN, G. P. Food distribution within laboratory colonies of the argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Mayr), **Insectes Sociaux**, v. 17, n. 2, p. 127-158, 1970.
- MARKL, H. Die Verständigung durch Stridulationssignale bei Blattschneiderameisen. **Zeitschrift für vergleichende Physiologie**, v. 57, n. 3, p. 299-330, 1967.
- MARKL, H. Stridulation in leaf-cutting ants. **Science**, v. 149, n. 149, p. 1392–1393, 1965.
- MARKL, H. The evolution of stridulatory communication in ants. In: **Proceedings of the International Congress IUSSI**, London, 7th, p. 258-265, 1973.
- MARTIN, S.J.; JONES, G.R.; CHÂLINE, N.; RATNIEKS, F.L.W. Role of hydrocarbons in egg recognition in the honeybee. **Physiological Entomology**, v. 29, p. 395–399, 2004.

- MCCONNACHIE, S.; ALEXANDER, G. J.; WHITING, M. J. Lower temperature tolerance in the temperate, ambush foraging lizard *Pseuocordylus melanotusmelanotus*. **Journal of Thermal Biology**, v. 32, n. 2, p. 66-71, 2007.
- MENZEL, F.; BLAIMER, B. B.; SCHMITT, T. How do cuticular hydrocarbons evolve? Physiological constraints and climatic and biotic selection pressures act on a complex functional trait. **Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences**, v. 284, n. 1850, p. 1-10, 2017.
- MENZEL, F.; ZUMBUSCH, M.; FELDMEYER, B. How ants acclimate: impact of climatic conditions on the cuticular hydrocarbon profile. **Functional Ecology**, v. 32, n. 3, p. 657-666, 2018.
- MICHELUTTI, K. B.; SOARES, E. R. P.; SGUARIZI-ANTONIO, D.; PIVA, R. C.; SÚAREZ, Y. R.; CARDOSO, C. A. L.; ANTONIALLI-JUNIOR, W. F. Influence of temperature on survival and cuticular chemical profile of social wasps. **Journal of Thermal Biology**, v. 71, p. 221–231, 2018.
- MILER, K. Moribund ants do not call for help. **Plos One**, v. 11, n. 3, p. e0151925, 2016.
- MILER, K.; KUSZEWSKA, K. Secretions of mandibular glands are not involved in the elicitation of rescue behaviour in *Formica cinerea* ants. **Insectes Sociaux**, v. 64, n. 2, p. 303–305, 2017.
- MILER, K.; SYMONOWICZ, B.; GODZIŃSKA, E. J. Increased risk proneness or social withdrawal? the effects of shortened life expectancy on the expression of rescue behavior in workers of the ant *Formica cinerea* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Insect Behaviour**, v. 30, n. 6, p. 632–644, 2017.
- NEWAY, P. S.; ROBSON, S. K.; CROZIER, R. H. Weaver ants *Oecophylla smaragdina* encounter nasty neighbors rather than dear enemies. **Ecology**, v. 91, n. 8, p. 2366–2372, 2010.
- NOWBAHARI, E.; HOLLIS, K. L.; DURAND, J. Division of labor regulates precision rescue behavior in sand-dwelling *Cataglyphis cursor* ants: to give is to receive. **Plos One**, v. 7, n. 11, p. 1–6, 2012.
- NOWBAHARI, E.; HOLLIS, K. L. Rescue behavior: Distinguishing between rescue, cooperation, and other forms of altruistic behavior. **Communicative and Integrative Biology**, v. 3, n. 2, p. 77-79, 2010.
- NOWBAHARI, E.; SCOHIER, A.; DURAND, J-L.; HOLLIS, K. L. Ants, *Cataglyphis cursor*, use precisely directed rescue behavior to free entrapped relatives. **Plos One**, v. 4, n. 8, p. e6573, 2009.
- O’GORMAN, R.; WILSON, D.S.; MILLER, R.R. Altruistic punishing and helping differ in sensitivity to relatedness, friendship, and future interactions. **Evolution and Human Behavior**, v. 26, n. 5, p. 375–387, 2005.

- OMS, C. S.; CERDÁ, X.; BOULAY, R. Is phenotypic plasticity a key mechanism for responding to thermal stress in ants? **Naturwissenschaften**, v. 104, n. 42, p. 1-7, 2017.
- OSTER, G. F.; WILSON, E.O. **Caste and Ecology in the Social Insects**. Princeton, Princeton University Press, 1978.
- PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Eds.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo, Manole, 9-66pp., 1991.
- PETRALIA, R. S.; VINSON, S. B. Feeding in larvae of imported fire ant, *Solenopsis invicta*: behavior and morphological adaptations. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 71, n. 4, p. 643-648, 1978.
- PORTER, S. D. Effects of diet on the growth of laboratory fire ant colonies (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 62, n. 2, p. 288-291, 1989.
- POWELL, R. J.; STRADLING, D. J. Factors influencing the growth of the *Attamyces bromatificus*, a symbiont of Attine ants. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 87, n. 2, p. 205-213, 1986.
- PROSSER, C. L. "General summary: the nature of physiological adaptation: In: PROSSER, C. L. (Ed.). **Physiological adaptation**, Washington, D. C., American Physiological Society, 167-180pp., 1958.
- QUINLAN, R. J.; CHERRETT, J. M. Aspects of the symbiosis of the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) and its food fungus. **Ecological Entomology**, v. 3, n. 3, p. 221-230, 1978.
- RAMSAY, J.A. Methods of measuring the evaporation of water from animals. **Journal of Experimental Biology**, v. 12, p. 355-372, 1935.
- RATNIEKS, F.L.W. Facultative sex allocation biasing by workers in social Hymenoptera. **Evolution**, v. 45, n. 2, p. 281-292, 1991.
- RATNIEKS, F.L.W.; WENSELEERS, T. Altruism in insect societies and beyond: voluntary or enforced? **Trends in Ecology & Evolution**, v. 23, n. 1, p. 45-52, 2008.
- ROSENGREN, R.; FORTELIUS, W.; LINDSTRÖM, K.; LUTHER, A. Phenology and causation of nest heating and thermoregulation in red wood ants of the *Formica rufa* group studied in coniferous forest habitats in southern Finland. **Annales Zoologici Fennici**, v. 24, n. 2, p. 147-155, 1987.
- SHERMAN, P. W.; REEVE, H. K.; PFENNIG, D. W. "Recognition systems," in KREBS J. R.; Davies, N. B. (Eds). **Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach**. Oxford, Blackwell Science, 69-96 pp., 1997.
- SILVERMAN, J.; LIANG, D. Colony disassociation following diet partitioning in a unicolonial ant. **Naturwissenschaften**, v. 88, p. 73-77, 2001.
- SINERVO, B., MENDEZ-DE-LA-CRUZ, F., MILES, D.B., HEULIN, B., BASTIAANS, E., VILLAGRAN-SANTA, CRUZ M. *et al.* Erosion of lizard diversity

by climate change and altered thermal niches. **Science**, v. 328, n. 5980, p. 894–899, 2010.

SINGER, T.L. Roles of hydrocarbons in the recognition systems of insects. **American Zoologist**, v. 38, n. 2, p. 394-405, 1998.

SORENSEN, A. A.; BUSCH, T. M.; VINSON, S. B. Control of food influx by temporal subcastes in the fire ant, *Solenopsis invicta*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 17, n. 3, p. 191-198, 1985.

SORVARI, J.; THEODORA, P.; TURILLAZZI, S.; HAKKARAINEN, H.; SUNDSTRÖM, L. Food resources, chemical signaling, and nestmate recognition in the ant *Formica aquilonia*. **Behavioral Ecology**, v. 19, n. 2, p. 441-447, 2008.

SPANGLER, H. G. Ant stridulations and their synchronization with abdominal movement. **Science**, v. 155, n. 3770, p. 1687-1689, 1967.

SPRENGER, P. P.; BURKERT, L. H.; ABOU, B.; FEDERLE, W.; MENZEL, F. Coping with the climate: Cuticular hydrocarbon acclimation of ants under constant and fluctuating conditions. **Journal of Experimental Biology**, 2018.

STARKS, P. T. Recognition systems: from components to conservation. **Annales Zoologici Fennici**, v. 41, p. 689–690, 2004.

TAYLOR, K.; VISVADER, A.; NOWBAHARI, E.; HOLLIS, K. L. Precision Rescue behavior in North American ants. **Evolutionary Psychology**, v. 11, n. 3, p. 665–677, 2013.

TAYLOR, R. W. *Nothomyrmecia macrops*: a living-fossil ant rediscovered. **Science**, v. 201, n. 4360, p. 979-985, 1978.

TERBLANCHE, J. S.; KLEYNHANS, E. Phenotypic plasticity of desiccation resistance in *Glossina puparia*: are there ecotype constraints on acclimation responses? **Journal of Evolutionary Biology**, v. 22 n. 8, p. 1636–1648, 2009.

THOMÉ, G. Le nid et le comportement de construction de la fourmi *Messor ebenius*, Forel (Hymenoptera, Formicoidea). **Insectes Sociaux**, v. 19, n. 2, p. 95–103, 1972.

TURILLAZZI, S. The evolution of social behaviour in insects and the hover wasps. In: TURILLAZZI, S. (Ed.). **The biology of hover wasps**. Berlin, Verlag Berlin Heidelberg, 233-263pp., 2012.

UY, F. M. K.; ADCOCK, J. D.; JEFFRIES, S. F.; PEPERE, E. Intercolony distance predicts the decision to rescue or attack conspecifics in weaver ants. **Insectes Sociaux**, p. 1-8, 2018.

VERBLE-PEARSON, R. M.; GIFFORD, M. E.; YANOVIK, S. P. **Variation in thermal tolerance of north American ants**. **Journal of Thermal Biology**, v. 48, p. 65-68, 2015.

WAGNER, D.; BROWN, M. J. F.; BROUN, P.; CUEVAS, W.; MOSES, L. E.; CHAO, D. L.; GORDON, D. M. Task-related differences in the cuticular hydrocarbon composition of harvester ants, *Pogonomyrmex barbatus*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n. 12, p. 2021-2037, 1998.

- WAGNER, D.; TISSOT, M.; GORDON, D. Task-related environment alters the cuticular hydrocarbon composition of harvester ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, n. 9, p. 1805-1819, 2001.
- WEBER, N. A. Gardening ants: the Attines. **The American Philosophical Society**, v. 178, n. 4063, p. 856, 1972.
- WEHNER, R.; MARSH, A. C.; WEHNER, S. Desert ants on a thermal tightrope. **Nature**, v. 357, p. 586-587, 1992.
- WEST-EBERHARD, M. J. **Developmental Plasticity and Evolution**. New York, Oxford Univ. Press, 816pp., 2003.
- WILLIAMS, D. F.; VANDER-MEER, R. K.; LOFGREN, C. S. Diet-induced nonmelanized cuticle in workers of the imported fire ant *Solenopsis invicta* Buren. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 4, n. 4, p. 251-259, 1987.
- WILSON, E. O. **Sociobiology**. Cambridge, Belknap Press of Harvard University Press, 1975.
- WITTMAN, S. E.; O'DOWD, D. J.; GREEN, P. T. Carbohydrate supply drives colony size, aggression, and impacts of an invasive ant. **Ecosphere**, v. 9, n. 9, e02403, 2018.
- ZARBIN, P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, p. 722-731, 2009.
- ZHU, G.H.; YE, G.Y.; HU, C.; XU, X.H.; LI, K. Development changes of cuticular hydrocarbons in *Chrysomya rufifacies* larvae: potential for determining larval age. **Medical and Veterinary Entomology**. v. 20, n. 4, p. 438-444, 2006.

CAPÍTULO 1

VOCÊ TEM UM CHEIRO DIFERENTE! A TEMPERATURA INTERFERE NO RECONHECIMENTO INTRA-COLONIAL EM *Odontomachus bauri*

Formatado nas normas da revista Biology Open ISSN:2046-6390.

Você tem um cheiro diferente! A temperatura interfere no reconhecimento intra-colonial em *Odontomachus bauri*

Luiz Carlos dos Santos-Junior^{1,2*}, Kamylla Balbuena Michelutti^{2,3}, Rafaella Caroline Bernardi^{2,3}, Emerson Pereira da Silva⁴, Claudia Andrea Lima Cardoso³, William Fernando Antonialli-Junior^{1,2,3}

¹Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) – Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil, 79804-970.

²Centro de Estudos em Recursos Naturais (CERNA), Laboratório de Ecologia Comportamental (LABECO), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil, 79804-970.

³Centro de Estudos em Recursos Naturais (CERNA), Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil, 79804-970.

⁴Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) – Museu da Biodiversidade (MuBio), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil, 79804-970.

*Correspondencia: Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul 79804-970, Brazil. E-mail addresses: lc.santosjunior@yahoo.com.br

RESUMO

O reconhecimento intra-colonial entre insetos sociais é realizado principalmente por meio de hidrocarbonetos cuticulares (HCs), que embora atuem na comunicação química, tem como principal função evitar a dessecação. Assim, a capacidade de se ajustar às variações climáticas pode estar relacionada com a composição de HCs. A hipótese testada neste estudo é de que operárias da formiga *Odontomachus bauri*, quando expostas a variações de temperatura, alteram a composição de HCs como um reajuste às novas condições e que isso, por sua vez, leva a uma alteração na capacidade de reconhecimento intra-específico. Para testar esta hipótese, colônias de *O. bauri* foram habituadas em laboratório e subdivididas em quatro subgrupos, um isolamento, um controle, outro de temperatura mais alta e outro de temperatura mais baixa do que a do controle. A colônia controle foi mantida a 25°C sem outras condições impostas. Posteriormente, encontros foram induzidos entre operárias dos grupos de tratamentos e controle, seguido pela extração de seus HCs. Os resultados indicam diferença significativa no tempo de reconhecimento e composição de HCs entre os grupos de tratamento e o controle. O tempo de antenação em encontros entre companheiras de ninho dos grupos submetidos a tratamentos de temperatura e controle foi significativamente maior, sugerindo estranhamento. Para ajustar à mudança nas condições de temperatura, *O. bauri* sofre mudanças na composição de HCs e capacidade de reconhecimento intra-específico.

Palavras-chave: Hidrocarbonetos cuticulares; Variação de temperatura; Comprimento de cadeia; Reconhecimento intra-específico.

INTRODUÇÃO

O reconhecimento intra-específico envolve a capacidade de insetos sociais de distinguir seus companheiros de ninho. Este mecanismo garante a coesão da colônia, bem como proteção contra intrusos (Oliveira e Hölldobler, 1989). Este reconhecimento é mediado por compostos químicos chamados feromônios de superfície, compostos voláteis de massa molecular relativamente baixa, ou cadeias mais longas (Lenoir et al., 2001; Sainz-Borgo et al., 2011). Estes compostos primariamente tem a função de proteger contra a perda de água, porém em virtude da sua complexidade estrutural, eles evoluíram para formar feromônios de reconhecimento que transmitem uma identidade individual para membros da sociedade de insetos (Blomquist e Bagnères, 2010).

Feromônios de superfície, portanto codificam os sinais químicos de reconhecimento e são conhecidos como hidrocarbonetos cuticulares (HCs), que atuam como uma assinatura química característica de cada espécie, cada colônia e até mesmo casta (Antoniali-Junior et al., 2007; Blomquist e Bagnères, 2010). Os HCs são considerados importantes mediadores de reconhecimento intra-específicos, especialmente em formigas (Vander-Meer e Morel, 1998; Liang e Silverman, 2000). HCs são compostos apolares que apresentam apenas carbono e hidrogênio em sua estrutura separados em hidrocarbonetos saturados (alcanos) e hidrocarbonetos insaturados (alcenos, muito comuns e ocorrem em 40-50% de todos os insetos, e alcinos muito raros, que apresentam dupla e tripla ligação, respectivamente) (Blomquist e Bagnères, 2010).

A formação da assinatura química colonial, especialmente em formigas poneromorfas, é o resultado de uma complexa gama de compostos químicos cuticulares que são homogeneizados entre indivíduos com base em comportamentos, tais como *allogrooming*, que envolve limpeza social resultando na homogeneização dos compostos químicos entre os membros da colônia (Lenoir et al., 2001; Soroker et al., 2003). A formiga *Odontomachus bauri*, por exemplo, defende e identifica suas companheiras de ninho com base nestes perfis químicos específicos, que são constantemente reforçados entre elas por *allogrooming* (Jaffé e Marcuse, 1983).

O perfil químico de insetos é influenciado por fatores genéticos e ambientais (Blomquist e Bagnères, 2010). Portanto, como uma das funções dos HCs é criar uma barreira contra a dessecação, espera-se que a variação de fatores físicos, tais como

temperatura e umidade relativa do ar, possam afetar a sua composição (Gibbs et al., 1997; Boulay et al., 2017; Menzel et al., 2017; Michelutti et al., 2018). Por exemplo, espécies em climas úmidos tendem a ter mais alcenos e menos alcanos lineares comparados àquelas em habitats mais secos, o que pode ser explicado pela diferença na capacidade de impermeabilização destes compostos na cutícula (Menzel et al., 2017). Por outro lado, composições de HCs particulares também podem afetar propriedades de sinalização durante interações intra-específicas (Chung e Carroll, 2015).

Estudos discutem a dupla função dos HCs (Gibbs, 2007; Chung e Carroll, 2015; Boulay et al., 2017). Um mecanismo que as formigas usam para se ajustar às novas condições ambientais envolve a modificação da composição cuticular (Menzel et al., 2017). Assim, a necessidade do inseto de se proteger contra a dessecação pode influenciar negativamente a necessidade de transmitir informação e vice-versa (Gibbs, 2007; Chown et al., 2011; Menzel et al., 2017). Por exemplo, fortes evidências sugerem que compostos com pontos de fusão e volatilidade intermediários, tais como alcenos e alcanos ramificados, estão envolvidos tanto na resistência à dessecação quanto na comunicação química (Chung e Carrol, 2015). Algumas espécies produzem outros compostos responsáveis pela comunicação, tais como alcanos insaturados ou ramificados que acabam aumentando o risco de desidratação. Ou seja, o aumento da permeabilidade da superfície lipídica à alta temperatura ambiente também pode ser uma consequência da necessidade de interagir com companheiras de ninho (Chown et al., 2011).

Até o momento, nenhum estudo investigou a interdependência entre essas duas funções dos HCs. Portanto, no presente trabalho, testamos a hipótese de que operárias da formiga *O. bauri*, quando expostas a variação de temperatura, podem sofrer alterações na composição de HCs em um esforço para se reajustar às novas condições ambientais que poderiam, por sua vez, levar a alterações na sua capacidade de reconhecimento intra-específica.

RESULTADOS

Durante todos os encontros induzidos, apenas os comportamentos de "tocar o corpo de outra operária" e "ignorar" foram observados, representando baixo nível de agressividade. Foram observadas diferenças significativas entre o tempo médio de

antenação de uma operária sob os tratamentos de alta e baixa temperatura e do controle (Figura 1). No entanto, não houve diferença significativa nos tempos de formigas sob tratamento entre formigas em isolamento e formigas controle.

Um total de 17 picos foram identificados na cutícula de operárias controle (Tabela 1). Destes, 8 foram alcanos lineares, 7 alcanos ramificados e 2 alcenos (Figura 2). Alcanos lineares foram os mais representativos com 68,55% da área, seguidos por 18,09% de alcanos ramificados e alcenos com 13,36% (Figura 3). Três compostos foram considerados majoritários: dois alcanos lineares, octadecano (39,25%) e heptacosano (12,09%), e um alceno, eicoseno (11,39%) (Tabela 1). Os compostos cuticulares variaram de C₁₈ a C₃₂. Os compostos de cadeia curta foram considerados aqueles de C₁₈ a C₂₁, intermediária de C₂₂ a C₂₇ e longa de C₂₈ a C₃₂.

Nas amostras de operárias em isolamento, foram identificados 16 compostos, incluindo 7 alcanos lineares, 7 alcanos ramificados e 2 alcenos (Figura 2). Os alcanos lineares representaram 67,27% da área, alcanos ramificados 22,87%, e alcenos 9,86% (Figura 3). Os compostos majoritários foram octadecano (37,90%) e heptacosano (17,24%) (Tabela 1).

Nas amostras de operárias de temperatura baixa, foram identificados 19 compostos, incluindo 10 alcanos lineares, 7 alcanos ramificados e 2 alcenos (Figura 2). Os alcanos lineares representaram 57,81% da área, alcanos ramificados 33,19% e alcenos 9,00% (Figura 3). Os compostos majoritários foram octadecano (14,57%), heptacosano (25,32%) e 12,16-dimetildotriacontano (11,85%) (Tabela 1).

Nas amostras de operárias de temperatura alta, foram identificados 19 compostos, incluindo 10 alcanos lineares, 7 alcanos ramificados e 2 alcenos (Figura 2). Os alcanos lineares representaram 65,71% da área, alcanos ramificados 26,68%, e alcenos 7,61% (Figura 3). Os compostos majoritários foram octadecano (25,50%) e heptacosano (23,75%) (Tabela 1).

Na cutícula das operárias submetidas à temperatura alta e baixa, houve um aumento no número de alcanos lineares em relação às amostras controle (Figura 2). Por outro lado, na cutícula de ambas operárias de temperatura alta e baixa, também houve redução na porcentagem de alcanos lineares e alcenos, mas um aumento de alcanos ramificados em relação ao controle (Figura 3). Os compostos hexacosano, octacosano e

3-metildotriacontano ocorreram apenas em amostras de formigas que sofreram variação de temperatura. Por outro lado, o 5-metilheptacosano ocorreu apenas na cutícula de formigas controle. O pentacosano não ocorreu apenas em formigas em isolamento (Tabela 1).

Foram encontradas diferenças qualitativas e quantitativas entre amostras dos diferentes tratamentos comparadas ao controle. Amostras tanto de formigas de alta quanto baixa temperatura revelaram uma redução na porcentagem de compostos de cadeia curta e aumento dos compostos de cadeia longa em relação ao controle (Tabela 1). A análise discriminante mostra diferenças significativas na composição química cuticular entre todos os compostos, bem como quando separados em três categorias por comprimento de cadeia (Figura 4; Tabela 2). Por outro lado, o valor de F da análise discriminante e análise de distância de Mahalanobis mostram que a cutícula de formigas sob variação de temperatura apresentou maior diferença significativa quando comparado com o grupo isolamento em relação ao controle (Tabela 2 e 3).

DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que os efeitos da exposição tanto à baixa quanto à alta temperatura são significativos em relação ao grupo controle. Houve mudança na capacidade de reconhecimento intra-específico que parece estar relacionada à alteração da composição química da cutícula, em função do reajuste a diferentes temperaturas. Por outro lado, formigas isoladas não mostraram qualquer mudança no reconhecimento intra-específico.

Não houve agressividade durante todos os encontros, mas houve diferença significativa no tempo de antenação, indicando um maior grau de estranhamento entre formigas durante os encontros induzidos. De fato, o comportamento de antenação permite que esses insetos capturem sinais químicos que os identificam como membros, ou não, da mesma colônia (Hefetz, 2007). Assim, é possível inferir que o tempo mais longo de antenação pode estar relacionado com o aumento da dificuldade de reconhecimento de companheiras de ninho, que, por outro lado, pode estar relacionado a qualquer mudança no que Howard e Blomquist (2005) chamam de uma assinatura química da colônia. Este reconhecimento é fundamental para que insetos sociais

garantam a proteção de sua colônia contra invasão por outros insetos, em especial, por membros de outras colônias (Hefetz, 2007). Os encontros entre operárias dos grupos em isolamento e controle reforçam nossa hipótese já que o tempo de contato entre elas não sugere qualquer grau de estranhamento.

Nossos resultados demonstram que a variação de temperatura pode, de fato, estar relacionada a alteração do nível de reconhecimento entre companheiras de ninho. Além disso, é importante notar que a variação de temperatura pode ter causado algum “stress”, já que as condições de manipulação, exceto aquelas envolvendo aumento ou diminuição da temperatura, podem ter levado a um desconforto para as formigas que pode também ter influenciado os níveis de reconhecimento. No entanto, a análise química da cutícula de formigas de baixa e alta temperatura revelou diferenças significativas em relação ao controle. Portanto, é possível que esta alteração da composição cuticular atue como um mecanismo cuticular pelo qual formigas se reajustam às novas condições de temperatura (Menzel et al., 2017).

A Tabela 3 mostra que os desvios-padrão gerados a partir da média das áreas percentuais relativas dos compostos de *O. bauri* são relativamente altos, devido ao fato de que as operárias são provenientes de colônias diferentes. Assim, estudos mostram diferenças individuais entre membros de uma colônia (Cuvillier-Hot et al., 2001) e entre membros de colônias diferentes (Wagner et al., 2001). Estas diferenças podem resultar de fatores genéticos (Wagner et al., 2001; Howard e Blomquist, 2005), ou podem resultar de fatores ambientais (Howard e Blomquist, 2005; Buczkowski et al., 2005).

Os efeitos da temperatura levaram a uma mudança significativa na composição química cuticular, e tanto mudanças qualitativas quanto quantitativas foram observadas neste estudo. Qualitativamente, houve um aumento no número de alcanos lineares em ambos os grupos de formigas expostas à temperatura baixa e alta em relação ao controle. Por outro lado, houve um aumento na porcentagem de alcanos ramificados, mas uma diminuição de alcanos lineares e alcenos. Wagner et al. (2001), no entanto, encontraram variação apenas na abundância relativa dos compostos da cutícula de *Pogonomyrmex barbatus* quando submetidas ao calor e baixa umidade.

Os compostos hexacosano, octacosano e 3-metildotriacontano ocorreram apenas em amostras submetidas a tratamentos de temperatura, enquanto o 5-metilheptacosano ocorreu apenas em amostras controle. Portanto, aparentemente a cutícula de formigas

tem a capacidade de responder a variação de temperatura, por vezes sintetizando novos compostos, ou deixando de fazê-lo. Michelutti et al. (2018) também identificaram alterações qualitativas e quantitativas nos HCs de três espécies de vespas submetidas a temperaturas diferentes em relação ao controle.

Na literatura, encontramos estudos relatando sobre a capacidade da cutícula de responder ao tipo de condições ambientais em que o animal se encontra (Wagner et al., 2001; Menzel et al., 2017; Michelutti et al., 2018). Assim, a ocorrência, ou não, de certos compostos pode estar relacionada com a sua resposta às mudanças no ambiente em que o animal se encontra.

Em insetos, essa capacidade de reajuste da cutícula envolve tornar a camada de HCs mais viscosa para evitar a perda de água quando a temperatura média é mais elevada e a umidade relativa é baixa, mas, por outro lado, tornar a camada mais fluida para permitir o intercâmbio de informações entre indivíduos (Menzel et al., 2017). Sob condições de baixa temperatura, a cutícula tende a tornar-se menos fluida e para compensar isto, o aumento da percentagem dos alcanos ramificados era esperado uma vez que esses compostos tornam a camada mais fluida. A maior mobilidade torna a transferência de informações pela cutícula mais eficiente (Menzel et al., 2017). Por outro lado, a altas temperaturas, uma redução na porcentagem de alcenos era esperada uma vez que estes são compostos que se liquefazem a uma temperatura mais baixa do que os alcanos lineares correspondentes (Gibbs e Pomonis, 1995).

Embora o número de alcanos lineares tenha aumentado sob temperatura mais alta, suas porcentagens foram reduzidas, juntamente com o aumento da porcentagem de alcanos ramificados. Alcanos lineares são os principais compostos necessários para evitar a dessecação em insetos sociais (Gibbs, 1998; Wagner et al., 2001; Hefetz, 2007) uma vez que alcanos ramificados, sejam mono ou dimetil, são os principais compostos necessários para mediar a comunicação entre companheiras de ninho (Howard e Blomquist, 2005). Neste sentido, sabe-se que metil alcanos e, em particular, alcenos se liquefazem a temperaturas mais baixas em comparação com alcanos lineares (Gibbs, 1998). Ou seja, metil alcanos e alcenos tem ponto de fusão mais baixo do que alcanos lineares (Gibbs e Pomonis, 1995). Assim, segundo Menzel et al. (2017), a crescente necessidade de impermeabilização deve aumentar o percentual de alcanos lineares e reduzir a necessidade de alcanos ramificados e alcenos.

Wagner et al. (2001) encontraram que operárias de formigas cortadeiras *P. barbatus* passam mais tempo fora do ninho e, conseqüentemente, têm uma maior proporção de alcanos lineares e uma menor proporção de alcanos ramificados do que aquelas que passam mais tempo realizando tarefas dentro do ninho. Neste sentido, formigas que realizam tarefas que implicam em diferenças na exposição aos fatores físicos apresentam variações na composição de HCs (Wagner et al., 2001). Espécies dos gêneros *Crematogaster* e *Camponotus*, formigas que vivem em regiões de temperaturas relativamente mais altas, também têm maiores porcentagens de alcanos lineares (Menzel et al., 2017).

Além disso, muitos estudos destacam os alcanos lineares como os principais compostos para impermeabilização (Gibbs, 1998; Wagner et al., 2001; Hefetz, 2007) e alcanos ramificados e alcanos como os principais compostos para mediar a comunicação (Bonavita-Cougourdan et al., 1991). Por outro lado, Conte e Hefetz, (2008) afirmam que as classes de compostos podem desenvolver várias funções, sugerindo que os HCs desempenham um papel multifacetado. Assim, alcanos e alcanos ramificados podem fornecer resistência à dessecação e participar na comunicação química (Gibbs, 1998; Boulay et al., 2017; Gibbs, 2007; Chown et al., 2011; Chung e Carroll, 2015). Esta característica, reforça Menzel et al. (2017), que também destacaram a importância de metil ramificados na impermeabilização da cutícula. O comprimento de cadeia destes compostos também é importante em relação à impermeabilização e comunicação. De fato, compostos com cadeias relativamente mais longas atuam principalmente como impermeabilizantes para a cutícula (Gibbs et al., 1997).

Nas amostras de tratamento de temperatura, tanto baixa quanto alta, houve uma redução na porcentagem de compostos com comprimento de cadeia mais curto e um aumento na porcentagem de compostos com um comprimento de cadeia mais longo. Além disso, as análises usando compostos de comprimento de cadeia curto, intermediário e longo indicam diferença significativa entre as formigas de ambos os tratamentos, de baixa e alta temperatura, em relação ao controle (Tabela 2). Esses resultados corroboram os de Gibbs et al. (1997) que encontraram que *Drosophila melanogaster* sob condição de dessecação, apresenta HCs com comprimentos de cadeia mais longos. Neste sentido, Gibbs (1998) mostra em sua revisão que as cadeias mais longas de HCs de artrópodes tendem a se liquefazer a temperaturas mais altas. Além disso, em seus experimentos com os hidrocarbonetos de insetos sociais, Gibbs e

Pomonis (1995) descobriram que o aumento no comprimento de cadeia ocasiona um aumento correspondente na temperatura de fusão e que a posição da ramificação do alcano também pode influenciar na temperatura de fusão. Ou seja, a presença de compostos com cadeias mais longas pode indicar uma maior capacidade da cutícula para suportar altas temperaturas. Em contraste, Menzel et al. (2017) não encontraram qualquer diferença no tamanho dos comprimentos de cadeia de HCs de espécies de formigas de diferentes populações dos gêneros *Crematogaster* e *Camponotus*.

Vale ressaltar que compostos superficiais de insetos consistem em mais do que um único composto puro, não somente hidrocarbonetos (Gibbs e Pomonis, 1995). A fusão de misturas naturais de lipídios ocorre ao longo da temperatura de fusão dos compostos cuticulares e nesse sentido, as interações entre HCs saturados e insaturados resultam em efeitos não-lineares de temperatura de fusão (Gibbs, 1998). Além disso, Chung e Carroll (2015) indicam que compostos com temperaturas de fusão e volatilidade intermediárias, tais como alcenos e metil alcanos, poderiam afetar diretamente a resistência a dessecação e comunicação química.

CONCLUSÕES

Os resultados nos permitem inferir que a cutícula de operárias expostas a uma temperatura constante sofre alterações na sua composição de maneira que algumas classes de compostos podem diminuir em níveis, enquanto outras aumentam como um meio de compensar as condições impostas. Por outro lado, embora o isolamento em si tenha causado alteração na composição química cuticular, provavelmente devido à ausência de homogeneização por meio de interações sociais, não foi suficiente durante o tempo avaliado para levar a diferenças significativas na capacidade de reconhecimento de companheiras de ninho. Portanto, nossa hipótese foi confirmada, ou seja, *O. bauri* sofre alterações na composição de HC's para se ajustar às novas condições de temperatura, mas esta mudança na composição de HC's também tem consequências alterando a capacidade de reconhecimento intra-específico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Três colônias de *O. bauri* foram coletadas no perímetro urbano da cidade de Dourados – Mato Grosso do Sul/Brasil (22°13'16'' S; 54°48'20'' O) em Setembro de 2016. Todas as três colônias foram coletadas em troncos ocos de *Caesalpinia pluviosa*(Fabaceae) com pinças e potes plásticos e posteriormente transferidas para o laboratório em ninhos artificiais. Estes ninhos foram feitos com bandejas de plástico e moldes de gesso que simulavam as câmaras do ninho e foram conectadas a uma arena de forrageamento onde o alimento era oferecido às colônias. A espécie foi confirmada por comparação com espécimes padrões a partir da Coleção de Referência de Formicidae do Museu de Mirmecologia CEPEC/CEPLAC – Ilhéus - Bahia/Brazil. Os espécimes deste estudo foram depositados nesta coleção sob o número 5822.

As colônias permaneceram sob temperatura constante de 25°C por um período de sete dias de habituação, e foram alimentadas com água e mel *ad libitum* em algodão umedecido dentro de um Eppendorf. Como fonte proteica, quatro larvas de *Tenebrio molitor* de último instar foram oferecidas a cada quatro dias.

Após o período de habituação, quatro subgrupos de 50 operárias cada foram separados de cada uma das três colônias (adaptado de Sorvari et al., 2008). Dois subgrupos foram mantidos sob a mesma dieta e temperatura constante de 25°C sem nenhum tipo de manipulação, para avaliar o efeito do isolamento por si só. Um subgrupo foi usado para avaliar o efeito da variação de temperatura, portanto foi chamado de subgrupo controle. Para avaliar o efeito da exposição à temperaturas mais alta e mais baixa com relação ao controle, dois subgrupos foram mantidos em câmara incubadora para Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) (Fanem, Modelo 347 CD, São Paulo-SP-Brasil), por 30 dias, um a 35°C ± 2, chamado de tratamento de alta temperatura, e outro subgrupo foi mantido a 15°C ± 2, chamado de tratamento de baixa temperatura. Estes dois subgrupos foram mantidos durante este período com o mesmo tipo de alimentação recebida pelo subgrupo controle, e logo em seguida, foram submetidos a testes comportamentais e as análises químicas.

As temperaturas foram escolhidas com base nas médias do ano anterior durante as duas principais estações do ano na cidade de Dourados - Mato Grosso do Sul, de acordo com Zavatini (1992). Assim, foi possível avaliar o efeito da variação da temperatura em valores acima da média de temperatura da estação quente e úmida, que foi de 31.2°C ± 3.2 e abaixo da temperatura média da estação fria e seca, que foi de

20.1°C ± 5.0 (dados da estação climática da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa/Oeste).

Para avaliar se a variação dos compostos químicos poderia afetar o nível de reconhecimento entre companheiras de ninho em detrimento de quaisquer outros fatores estressantes durante a interação entre duas companheiras de ninho, testes preliminares foram realizados entre uma formiga viva e uma recém-congelada. Como os resultados não foram diferentes daqueles encontrados quando os encontros foram realizados entre duas formigas vivas, os testes restantes foram realizados apenas com formigas vivas, já que isso representaria melhor uma situação natural.

Análise do nível de tolerância de diferentes grupos de tratamento durante encontros entre formigas

Para avaliar se a variação de temperatura e / ou isolamento por si só afetaria o nível de reconhecimento intraespecífico, o nível de tolerância sempre foi avaliado durante encontros induzidos entre uma formiga do subgrupo controle com outra formiga dos outros subgrupos. Esses encontros foram realizados em uma placa de Petri (9,5 cm x 2 cm) onde uma operária foi mantida isolada em um recipiente de vidro com a região de abertura virada para baixo no centro da placa e em seguida uma segunda operária foi colocada do lado de fora. Após um minuto, o recipiente de vidro foi removido do centro da placa de Petri, permitindo o encontro entre as duas operárias que foram avaliadas por 15 minutos sem interrupção. Um total de 30 encontros foram realizados entre operárias dos diferentes tratamentos e operárias do controle. Antes de cada encontro induzido, a arena foi esterilizada com uma toalha embebida em álcool.

Durante os 15 minutos de observações às cegas, os seguintes comportamentos foram avaliados: ignorar (Thomas et al., 2004), tocar o corpo de outra operária, fuga (Suarez et al., 1999), tentativa de apreensão, apreensão (Mercier et al., 1997), boxe antenal, elevação do corpo, exibição do abdômen (Monnin, 1999) e luta (Mercier et al., 1997). O tempo de cada um desses comportamentos foi anotado a partir do primeiro contato entre as formigas.

Para avaliar o nível de tolerância durante encontros entre formigas de diferentes tratamentos, uma pontuação foi atribuída aos comportamentos exibidos baseado em

Suarez et al. (1999): 0: para toque, fuga e ignorar; 1: para a tentativa de apreensão, apreensão, boxe antenal, elevação do corpo e exibição do abdômen e 2 para luta. Para cada encontro, foi compilada uma média aritmética dos escores relacionados aos níveis de agressividade apresentados.

Análise do efeito da variação de temperatura na composição química cuticular

Para avaliar se diferentes tratamentos mudariam a composição cuticular de formigas, todas foram sacrificadas por congelamento, seguido de extração dos compostos químicos cuticulares das 30 operárias de cada grupo experimental usado nos encontros comportamentais. Cada operária foi imersa em um recipiente de vidro com 2mL de hexano (Tedia, grau HPLC) por 3 minutos. Em seguida os extratos foram secos em capela de exaustão e armazenados em freezer (-20°C) por no máximo 30 dias. Para as análises cromatográficas, cada extrato foi solubilizado em 400 μL de hexano. As amostras foram analisadas usando um cromatógrafo gasoso (GC-2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) com detector de massas (GC-MS Ultra 2010, Shimadzu, Kyoto, Japão), usando uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (J e W, Folsom, CA, EUA) revestida com 5% fenil-dimetilpolisiloxano (30 m de comprimento \times 0.25 mm diâmetro \times 0.25 μm espessura de filme). As condições de análise foram as seguintes: volume de injeção 1 μL em modo *splitless*; rampa de aquecimento com temperatura inicial de 150°C , alcançando 290°C a uma taxa de $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e permanecendo na temperatura final por 10 min; e temperatura do injetor de 220°C . As temperaturas do detector e linha de transferência foram 300 e 290°C , respectivamente. Os parâmetros de varredura do EM incluíram voltagem de ionização de impacto de elétron de 70 e V, na faixa de massa de 45 a 600 m/z e com intervalo de varredura de 0,3 s.

Os compostos foram identificados a partir dos índices de retenção, comparação com bases de dados e interpretação dos espectros de massas. O índice de retenção foi calculado empregando uma mistura de alcanos lineares ($\text{C}_7\text{-C}_{40}$, Sigma Aldrich com pureza $\geq 95\%$) como referência externa e para identificação os valores obtidos foram comparados com índices de retenção relatados na literatura (Bernier et al., 1998; Howard et al., 2001; Moore et al., 2014; Soares et al., 2017; Smith et al., 2012; Weiss et al., 2014). Os espectros de massas obtidos para as amostras foram comparados com a base de dados NIST 21.

Todos os compostos identificados foram usados nas análises estatísticas, e os compostos majoritários dos diferentes grupos de formigas foram considerados aqueles que representaram pelo menos 10% do total da área relativa. Como base para comparação, foram utilizados os HC's do controle porque eles não haviam sofrido nenhuma manipulação. Os controles das respectivas colônias foram utilizados para comparação com os tratamentos.

Análises Estatísticas

Para todos os encontros comportamentais, a análise de normalidade das amostras foi feita usando a média do tempo de interação entre as operárias de cada tratamento. Após comprovada a não-normalidade da distribuição de dados, o teste de Kruskal-Wallis foi aplicado; assim, foi possível avaliar se foram observadas diferenças significativas entre as médias dos tempos gastos durante a realização dos comportamentos avaliados nos encontros.

Para avaliar se os diferentes tratamentos causaram diferenças significativas na composição química cuticular das formigas em relação ao controle, uma análise discriminante foi aplicada usando a área percentual relativa de todos os compostos da cutícula de formigas dos diferentes grupos. Além disso, para avaliar o efeito da variação da temperatura sobre o comprimento de cadeia dos HCs, análises discriminantes foram aplicadas separadamente para os diferentes grupos de compostos (cadeias curtas, intermediárias e longas) de grupos diferentes de formiga em relação ao controle. Os compostos foram separados em cadeias curtas, intermediárias e longas com base na metodologia adaptada de Menzel et al. (2017). Nestas análises, valores de “p” igual ou menores que 0,05 foram considerados significativos. A análise da distância de Mahalanobis foi aplicada para avaliar a distância entre os diferentes grupos em relação ao controle no modo pareado.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (FUNDECT); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) Código 001, pelo

oferecimento de bolsa de doutorado ao primeiro autor e bolsa de estudos de mestrado ao segundo autor; autores CALC(outorga número 310801 / 2015-0) e WFAJ (outorga número 307998 / 2014-2) reconhecem bolsas de pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

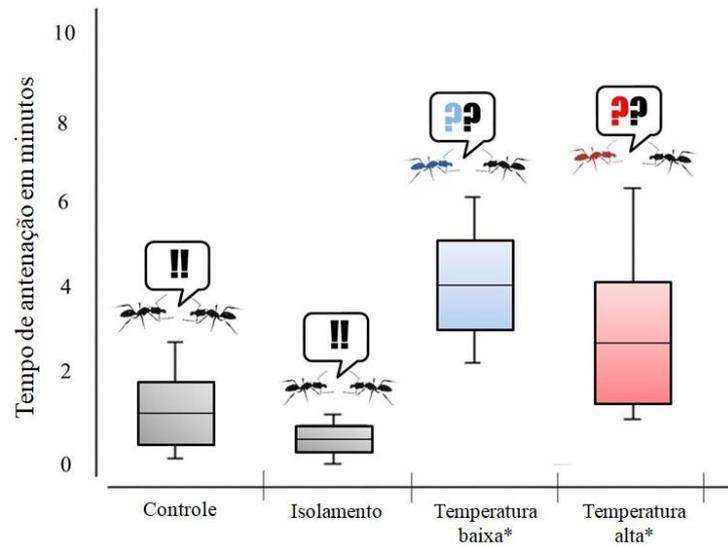
Contribuição dos autores

LCS-J, KBM, RCB, CALC e WFA-J projetaram o estudo. LCS-J e EPS coletaram os dados. LCS-J, KBM, CALC, EPS e WFA-J realizaram a análise comportamental e auxiliaram na interpretação dos dados. LCS-J, KBM e CALC realizaram a análise química e ajudaram na interpretação dos dados. Todos os autores (LCS-J, KBM, RCB, EPS, CALC, e WFA-J) contribuíram para a interpretação dos resultados, escreveram o manuscrito e melhoraram este trabalho.

Conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesse

FIGURAS



*Valores significativos ($P < 0.05$; Kruskal-Wallis = 85.69)

Figura 1. Média e desvio padrão do tempo de antenação durante encontros entre operárias de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos com o grupo controle.

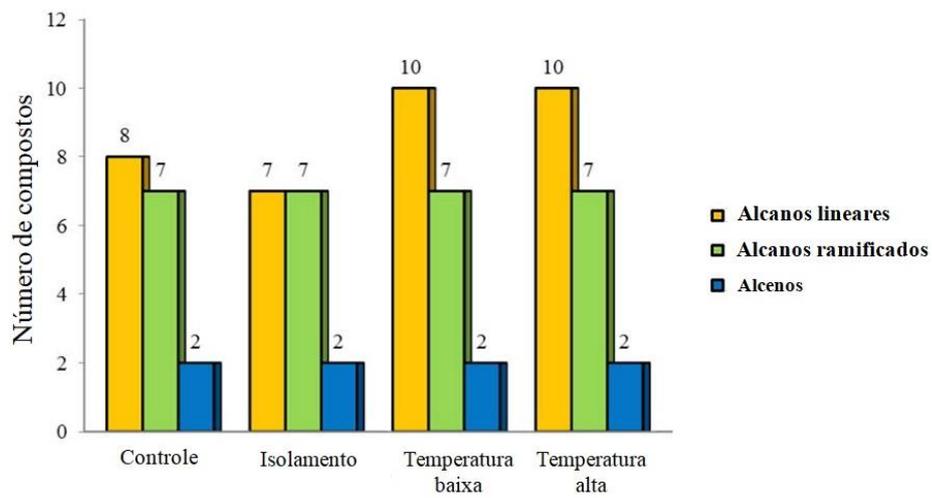


Figura 2. Número de compostos de cada classe presente na cutícula de operárias de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos e controle.

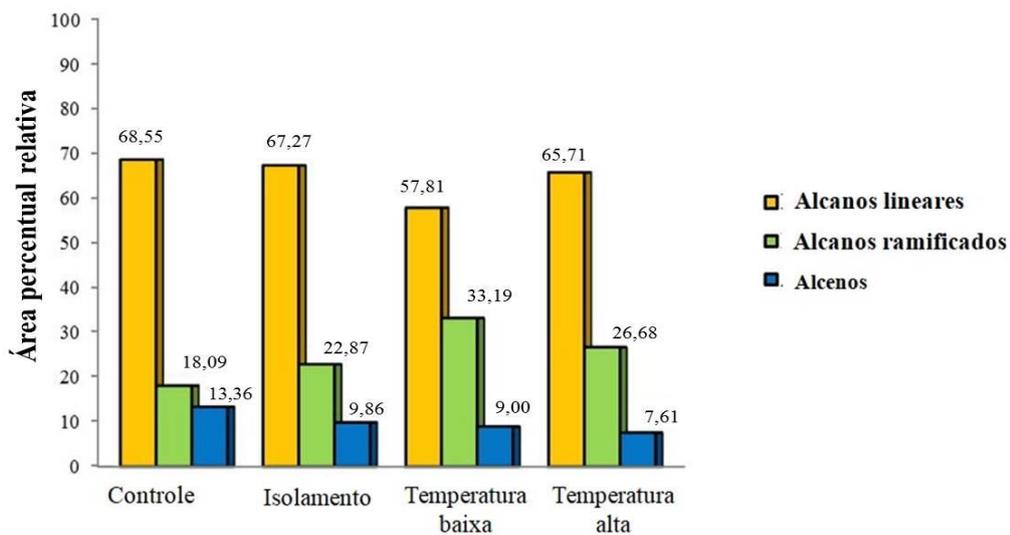


Figura 3. Porcentagem de compostos de cada classe presente na cutícula de operárias de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos e controle.

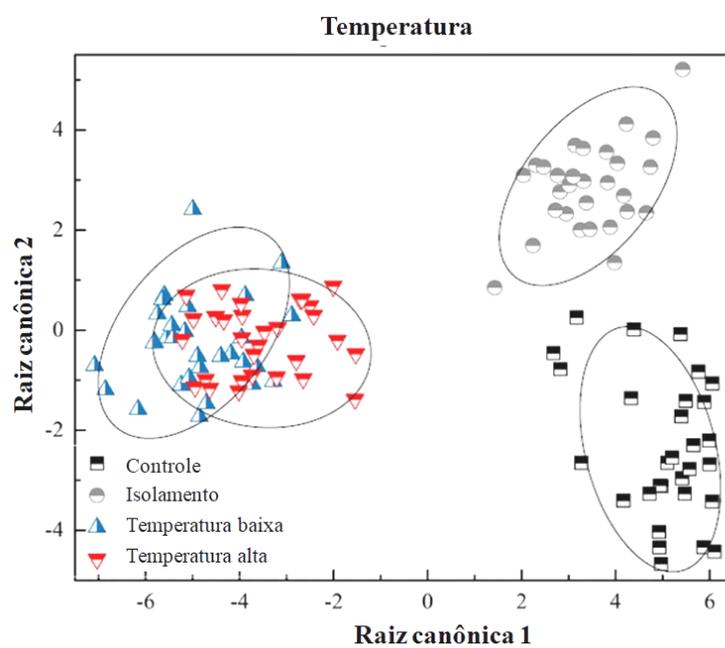


Figura 4. Diagrama de dispersão mostrando as duas raízes canônicas para a diferenciação dos compostos presentes na cutícula de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos e controle, com base nas áreas percentuais relativas dos compostos cuticulares.

TABELAS

Tabela 1. Área percentual relativa dos compostos detectados na cutícula de operárias de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos e controle.

Tempo	IRC	IRL	Composto	Porcentagem (% ± desvio padrão)				
				Controle	Isolamento	Temperatura alta	Temperatura baixa	
10,77	1800	1800	Octadecano *	39,25 ± 11,32	37,90 ± 8,77	25,50 ± 14,58	14,57 ± 6,39	
13,25	1900	1900	Nonadecano	3,79 ± 5,24	1,71 ± 0,48	1,40 ± 0,73	1,50 ± 0,75	
15,71	1990	1990	Eicoseno *	11,39 ± 1,54	8,78 ± 1,85	6,04 ± 3,64	7,75 ± 4,62	
15,88	2000	2000	Eicosano	4,27 ± 0,76	2,99 ± 0,68	2,21 ± 1,24	2,82 ± 1,62	
19,01	2119	-	x-Metilheneicosano	1,67 ± 2,10	1,01 ± 0,23	0,71 ± 0,39	0,91 ± 0,50	
21,12	2200	2200	Docosano	5,79 ± 1,03	4,24 ± 1,12	3,03 ± 1,84	4,54 ± 2,78	
24,53	2318	-	x-Metiltricosano	1,14 ± 0,37	0,92 ± 0,18	0,53 ± 0,37	0,78 ± 0,51	
26,39	2400	2400	Tetracosano	1,43 ± 0,31	0,98 ± 0,33	0,76 ± 0,58	1,35 ± 0,89	
29,07	2500	2500	Pentacosano	0,50 ± 0,58	-	1,79 ± 1,97	1,19 ± 1,66	
31,51	2600	2600	Hexacosano	-	-	0,73 ± 1,52	0,47 ± 0,37	
33,91	2700	2700	Heptacosano *	12,09 ± 5,08	17,24 ± 5,83	23,75 ± 14,40	25,32 ± 12,72	
35,05	2750	2751	5-Metilheptacosano	0,61 ± 0,38	-	-	-	
36,21	2800	2800	Octacosano	-	-	0,44 ± 0,32	0,53 ± 0,26	
38,45	2900	2900	Nonacosano	1,42 ± 0,57	2,21 ± 0,97	6,10 ± 4,72	5,53 ± 4,80	
42,25	3070	3070	3-Metiltriacontano	3,24 ± 2,51	4,48 ± 3,37	6,43 ± 1,37	8,25 ± 2,72	
42,33	3078	3078	13,17-Dimetiltriacontano	2,53 ± 2,18	2,22 ± 1,73	1,40 ± 1,63	2,02 ± 1,96	
45,85	3253	3254	12,16-Dimetildotriacontano	5,81 ± 4,98	7,56 ± 5,98	7,82 ± 3,60	11,85 ± 6,08	
45,94	3259	3260	2-Metildotriacontano	3,08 ± 2,81	3,37 ± 3,06	1,62 ± 1,18	2,88 ± 1,74	
46,28	3274	3275	3-Metildotriacontano	-	3,31 ± 3,01	8,17 ± 3,62	6,50 ± 3,41	
46,31	3271	3271	Tritriaconteno	1,97 ± 1,93	1,08 ± 1,18	1,57 ± 1,60	1,25 ± 1,62	

*= Compostos majoritários. IRC= Índice de Retenção Calculado. IRL= Índice de Retenção da Literatura.

Tabela 2. Valores de "p" e "F" resultantes da distância de Mahalanobis usando os hidrocarbonetos da cutícula de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos.

Tratamentos	Todos os compostos		Cadeia curta		Cadeia intermediária		Cadeia longa	
	F	P	F	P	F	P	F	P
Controle – Isolamento	18,655	<0,001	5,869	<0,001	26,472	<0,001	4,272	<0,001
Controle – Temperatura alta	38,537	<0,001	12,830	<0,001	34,136	<0,001	35,600	<0,001
Controle – Temperatura baixa	52,150	<0,001	30,782	<0,001	41,891	<0,001	49,258	<0,001
Discriminante	24,121	<0,001	13,547	<0,001	17,948	<0,001	19,101	<0,001
<i>Wilks' Lambda</i>	0,004		0,248		0,105		0,074	

Tabela 3. Distância de Mahalanobis usando as classes de hidrocarbonetos cuticulares de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos.

Tratamentos	Controle	Isolamento	Temperatura alta	Temperatura baixa
Controle	-	29,746*	81,207	102,772
Isolamento	29,746*	-	61,448	83,153
Temperatura alta	81,207	61,448	-	11,081
Temperatura baixa	102,772	83,153	11,081	-

Wilks' Lambda = 0,004; *Distâncias menores.

REFERÊNCIAS

- Antonialli-Junior, W. F., Lima, S. M., Andrade, L. H. C. e Suárez, Y. R. (2007). Comparative study of the cuticular hydrocarbon in queens, workers and males of *Ectatomma vizottoi* (Hymenoptera, Formicidae) by Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. *Gen. Mol. Res.* **6**, 492- 499.
- Bernier, U. R., Carlson, D. A. e Geden, C. J. (1998). Gas chromatography/mass spectrometry analysis of the cuticular hydrocarbons from parasitic wasps of the genus *Muscidifurax*. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **9**, 320–332.
- Blomquist, G. J. e Bagnères, A. G. (2010). Introduction: history and overview of insect hydrocarbons. In *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology* (eds Blomquist, G. J., Bagnères, A. G.), pp. 3–18. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Bonavita-Cougourdan, A., Theraulaz, G., Bagnères, A. G., Roux, M., Pratte, M., Provost, E. e Clément, J. L. (1991). Cuticular hydrocarbons, social organization and ovarian development in a polistine wasp: *Polistes dominulus* christ. *Comp. Biochem. Physiol. B: Comp. Biochem.* **100**, 667–680.

- Boulay, R., Aron, S., Cerdá, X., Doums, C., Graham, P., Hefetz, A. e Monnin, T. (2017). Social life in arid environments: the case study of *Cataglyphis* Ants. *Annu. Rev. Entomol.* **62**, 305–321.
- Buczowski, G., Kumar, R., Suib, S. L. e Silverman J. (2005). Diet-related modification of cuticular hydrocarbon profiles of the argentine ant, *Linepithema humile*, diminishes intercolony Aggression. *J. Chem. Ecol.* **31**, 829–843.
- Chown, S. L., Sørensen, J. G. e Terblanche, J. S. (2011). Water loss in insects: An environmental change perspective. *J. Insect. Physiol.* **57**, 1070–1084.
- Chung, H. e Carroll, S. B. (2015). Wax, sex and the origin of species: Dual roles of insect cuticular hydrocarbons in adaptation and mating. *BioEssays* **37**, 822–830.
- Conte, Y. L. e Hefetz, A. (2008). Primer pheromones in social Hymenoptera. *Ann. Rev. Entomol.* **53**, 523–542.
- Cuvillier-Hot, V., Cobb, M., Malosse, C. e Peeters, C. (2001). Sex, age and ovarian activity affect cuticular hydrocarbons in *Diacamma ceylonense*, a queenless Ant. *J. Insect Physiol.* **47**, 485–493.
- Gibbs, A. e Pomonis, J. G. (1995). Physical properties of insect cuticular hydrocarbons: The effects of chain length, methyl-branching and unsaturation. *Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol.* **112**, 243–249.
- Gibbs, A. G. (1998). Water-proofing properties of cuticular lipids. *Amer. Zool.* **38**, 471–482.
- Gibbs, A. G., Chippindale, A. K. e Rose, M. R. (1997). Physiological mechanisms of evolved desiccation resistance in *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Biol.* **200**, 1821–1832.
- Gibbs, A. G. (2007). Waterproof cockroaches: the early work of J. A. Ramsay. *J. Exp. Biol.* **210**, 921–922.
- Hefetz, A. (2007). The evolution of hydrocarbon pheromone parsimony in ants (Hymenoptera: Formicidae): interplay of colony odor uniformity and odor idiosyncrasy. *Myrmecol. News* **10**, 59–68.
- Howard, R. W. e Blomquist, G. J. (2005). Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.* **50**, 371–393.
- Howard, R. W., Pérez-Lachaud, G. e Lachaud, J. P. (2001). Cuticular hydrocarbons of *Kapala sulcifacies* (Hymenoptera: Eucharitidae) and its host, the Ponerine Ant *Ectatomma ruidum* (Hymenoptera: Formicidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **94**, 707–716.
- Jaffé, K. e Marcuse, M. (1983). Nestmate recognition and territorial behaviour in the ant *Odontomachus bauri* emery (Formicidae: Ponerinae). *Insectes Soc.* **30**, 466–481.
- Lenoir, A., Hefetz, A., Simon, T. e Soroker, V. (2001). Comparative dynamics of gestalt odour formation in two ant species *Camponotus fellah* and *Aphaenogaster senilis* (Hymenoptera: Formicidae). *Physiol. Entomol.* **26**, 275–283.

- Liang, D. e Silverman, J. (2000). “You are what you eat”: Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften* **87**, 412–416.
- Menzel, F., Blaimer, B. B. e Schmitt, T. (2017). How do cuticular hydrocarbons evolve? Physiological constraints and climatic and biotic selection pressures act on a complex functional trait. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.* **284**, 1-10.
- Mercier, J., Lenoir, A. e Dejean, A. (1997). Ritualised versus aggressive behaviours displayed by *Polyrhachis laboriosa* (F. Smith) during intraspecific competition. *Behav. Process.* **41**, 39–50.
- Michelutti, K. B., Soares, E. R. P., Sguarizi-Antonio, D., Piva, R. C., Suárez, Y. R., Cardoso, C. A. L. e Antonialli-Junior, W. F. (2018). Influence of temperature on survival and cuticular chemical profile of social wasps. *J. Thermal Biol.* **71**, 221–231.
- Monnin, T. (1999). Dominance hierarchy and reproductive conflicts among subordinates in a monogynous queenless ant. *Behav. Ecol.* **10**, 323–332.
- Moore, H. E., Adam, C. D. e Drijfhout, F. P. (2014). Identifying 1st instar larvae for three forensically important blowfly species using “fingerprint” cuticular hydrocarbon analysis. *Forensic Sci. Int.* **240**, 48–53.
- Oliveira, P. S. e Hölldobler, B. (1989). Orientation and communication in the neotropical ant *Odontomachus bauri* Emery (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). *Ethol.* **83**, 154–166.
- Sainz-Borgo, C., Cabrera, A. e Hernández, J. V. (2011). Nestmate recognition in the ant *Odontomachus bauri* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiol.* **58**, 1-18.
- Smith, A. A., Millar, J. G., Hanks, L. M. e Suarez, A. V. (2012). Experimental evidence that workers recognize reproductives through cuticular hydrocarbons in the ant *Odontomachus brunneus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **66**, 1267–1276.
- Soares, E. R. P., Batista, N. R., Souza, R. S., Torres, V. O., Cardoso, C. A. L., Nascimento, F. S. e Antonialli-Junior, W. F. (2017). Variation of cuticular chemical compounds in three species of *Mischocyttarus* (Hymenoptera: Vespidae) eusocial wasps. *Rev. Bras. Entomol.* **61**, 224–231.
- Soroker, V., Lucas, C., Simon, T., Hefetz, A., Fresneau, D. e Durand, J. L. (2003). Hydrocarbon distribution and colony odour homogenisation in *Pachycondyla apicalis*. *Insectes Soc.* **50**, 212–217.
- Sorvari, J., Theodora, P., Turillazzi, S., Hakkarainen, H. e Sundström, L. (2008). Food resources, chemical signaling, and nest mate recognition in the ant *Formica aquilonia*. *Behav. Ecol.* **19**, 441–447.
- Suarez, A. V., Tsutsui, N. D., Holway, D. A. e Case, T. J. (1999). Behavioral and genetic differentiation between native and introduced populations of the Argentine ant. *Biol. Invasions.* **1**, 43–53.
- Thomas, M. L., Tsutsui, N. D., Holway, D. A. 2004. Intraspecific competition influences the symmetry and intensity of aggression in the Argentine ant. **Behavioral Ecology** **16**: 472-481.

Vander-Meer, R. K. e Morel, L. (1998). *Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees, and termites*. Colorado, CO: Westview Press.

Wagner, D., Tissot, M. e Gordon, D. (2001). Task-related environment alters the cuticular hydrocarbon composition of harvester ants. *J. Chem. Ecol.* **27**, 1805–1819.

Weiss, K., Parzefall, C. e Herzner, G. (2014). Multifaceted defense against antagonistic microbes in developing offspring of the parasitoid wasp *Ampulex compressa* (Hymenoptera, Ampulicidae). *PLoS ONE* **9**, 1-14.

Zavatini, J. A. (1992). Dinâmica atmosférica no Mato Grosso do Sul. Geografia (Rio Claro). *Ageteo*. **17**, 65-91.

CAPÍTULO 2

EFEITO DA DIETA SOBRE O RECONHECIMENTO DE COMPANHEIRAS DE NINHO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA CUTICULAR DA FORMIGA *Odontomachus bauri*

Formatado nas normas da Revista Brasileira de Entomologia (RBE), ISSN 0085-5626.

Efeito da dieta sobre o reconhecimento de companheiras de ninho e composição química cuticular da formiga *Odontomachus bauri*

^{1,2} Luiz Carlos dos Santos-Junior; ^{2,3}Kamylla Balbuena Michelutti; ^{2,3}Rafaella Caroline Bernardi; ⁴Emerson Pereira da Silva; ³Claudia Andrea Lima Cardoso^{1,2,3}; William Fernando Antonialli-Junior^{1,2,3}

¹Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) – Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Mato Grosso do Sul, Brasil, 79804-970

²Laboratório de Ecologia Comportamental (LABECO), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 79804-970

³Centro de Estudos em Recursos Naturais (CERNA), Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 79804-970.

⁴Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) – Museu da Biodiversidade (MuBio), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, 79804-970.

Correspondência: Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul 79804-970, Brasil. E-mail: lc.santosjunior@yahoo.com.br

Efeito da dieta sobre o reconhecimento de companheiras de ninho e composição química cuticular da formiga *Odontomachus bauri*

RESUMO

O tipo de recurso alimentar disponível no ambiente pode influenciar no comportamento das colônias de formigas. Os hidrocarbonetos cuticulares (HC's) são compostos importantes para o reconhecimento de companheiras de ninho e sua composição pode ser influenciada por fatores genéticos e ambientais, como por exemplo, a dieta. Ainda que se tenha na literatura estudos que investigaram os efeitos da dieta sobre a composição química cuticular de formigas e também sobre o seu padrão de reconhecimento intraespecífico, é necessário testar se esta resposta é similar entre as companheiras de ninho. Desta forma, nossa hipótese é de que operárias de uma mesma colônia de *Odontomachus bauri*, quando submetidas à variação de dieta, podem sofrer mudança na composição de HC's de sua cutícula, que por sua vez, levaria a uma mudança em seu padrão de reconhecimento de companheiras de ninho. Foram utilizadas três colônias de *O. bauri*, cada uma delas subdividida em um grupo controle, outros dois grupos foram mantidos sob dieta distinta do controle, e para testar o efeito do isolamento um grupo foi mantido sob a mesma dieta do controle. Nos testes comportamentais não houve nenhum comportamento agressivo. Os testes de reconhecimento mostram que há diferença significativa entre os tempos médios de antenação entre as formigas dos diferentes tratamentos com o controle. Por outro lado não houve diferenças significativas entre o controle e o isolamento. O perfil de HC's provenientes dos diferentes tratamentos sofreu variação significativa em relação ao controle, entretanto, a diferença significativa no perfil de HC's pôde ser observada nas amostras dos tratamentos de carboidrato. Assim, é possível concluir que a variação da dieta influencia no perfil de HC's de *O. bauri*, provocando estranhamento entre as companheiras de ninho. Este efeito está relacionado à assimilação de compostos pela cutícula, e fica mais evidente quando analisados os resultados das formigas do grupo de isolamento. Assim, nossos resultados comprovam a capacidade da dieta, em interferir no perfil químico e comportamental da formiga *O. bauri*.

Palavras-Chave: Hidrocarbonetos Cuticulares; Recursos alimentares, Interação intraespecífica.

INTRODUÇÃO

Um dos tipos de comunicação mais importantes entre os insetos sociais ocorre por meio dos compostos químicos encontrados em sua cutícula (Blomquist & Bagnères 2010). Quando estes compostos são mediadores de comunicação intraespecífica são denominados de feromônios (Leal 2005). Os feromônios não voláteis, de cadeias longas que são encontrados na epicutícula dos insetos (Howard 1993) são denominados de feromônios superficiais ou de contato (Blomquist & Bagnères 2010).

Estes feromônios, que em sua maioria são constituídos de hidrocarbonetos são denominados de hidrocarbonetos cuticulares (HC's) (Hefetz 2007), possuem a função primária de impermeabilização da cutícula e também atuam como uma barreira contra microrganismos. E não menos importante, atuam como sinais trocados durante as interações intraespecíficas (Blomquist & Bagnères 2010).

O reconhecimento de companheiras de ninho, ou a capacidade de discriminar companheiras e não companheiras de ninho é baseado em um rótulo, que são os HC's usados para identificar a origem colonial do indivíduo, que cada um possui, e um modelo de representação neural do odor colonial, ao qual as formigas enquanto interagem umas com as outras, comparam este rótulo (Hefetz 2007).

Este perfil de HC's dos insetos é influenciado por fatores genéticos (Blomquist & Bagnères 2010) e ambientais, como a temperatura, a umidade do ambiente (Wagner *et al.* 2001; Menzel *et al.* 2017) e, sobretudo, a dieta (Crosland 1989; Liang & Silverman 2000; Buczkowski & Silverman 2006). Portanto, os fatores ambientais podem influenciar a composição cuticular e conseqüentemente, isto pode interferir na capacidade de reconhecimento, especialmente entre companheiras de ninho (Buczkowski & Silverman 2006). Neste sentido, mudanças no recurso alimentar disponível, podem induzir a uma alteração no perfil de HC's (Liang & Silverman 2000; Bernardi *et al.* 2014) que pode afetar as propriedades de sinalização durante interações intraespecíficas (Chung & Carroll 2015).

Um dos fatores ambientais mais preponderantes na composição de HC's é a dieta. Os HC's da formiga sofrem modificações de acordo com o tipo de recurso consumido (Liang & Silverman 2000). A alteração da composição química cuticular em função da variação da dieta, por outro lado, pode levar a mudança no padrão de reconhecimento de companheiras de ninhos, como descrito por Liang & Silverman (2000), Buczkowski & Silverman (2006) e Sorvari *et al.* (2008). Liang e Silverman (2000), alteraram a fonte proteica da formiga *Linepithema humile* (Mayr, 1868) e

Sorvari *et al.* (2008) alteraram a quantidade de proteína disponível para *Formica aquilonia* (Yarrow, 1955), ambos observaram mudança dos HC's da colônia e aumento no nível de agressividade entre companheiras de ninho. A qualidade energética da dieta, por exemplo, a quantidade de açúcar disponível também pode influenciar o padrão de reconhecimento entre companheiras de ninho (Holway *et al.* 2002; Grover *et al.* 2007; Sorvari *et al.* 2008; Horn *et al.* 2013). Neste sentido, Liang & Silverman (2000) observaram maior agressividade entre formigas *Linepithema humile* quando alimentadas com duas espécies de barata, *Supella longipalpa* (Fabricius, 1798) em detrimento daquelas alimentadas com *Blattella germanica* (Linnaeus, 1767) (87% e 30%, respectivamente). Desse modo, a variação da dieta pode levar ao estranhamento entre companheiras de ninho e sua homogeneização ao não estranhamento e/ou tolerância entre não companheiras de ninho (Liang & Silverman 2000, Buczkowski & Silverman 2006, Sorvari *et al.* 2008). No entanto, em formigas Ponerinae, até então, estudos testando os efeitos da dieta sobre a composição química cuticular e o nível de estranhamento até o momento nunca foi testado.

Visto que formigas de diferentes subfamílias podem variar quanto ao grau de complexidade da organização de suas colônias (Hölldobler & Wilson 1990), e também quanto ao nível de complexidade com que os compostos cuticulares são usados como sinais trocados durante as interações entre companheiras de ninho, estudos que avaliem a relação entre a variação de fatores ambientais e a composição química cuticular que pode afetar o nível de reconhecimento intraespecífico são importantes, contudo escassos na literatura (Liang & Silverman 2000; Buczkowski & Silverman 2006). Otte *et al.* (2018) em sua revisão sobre HC's de insetos, concluem que ainda há muitas questões a serem respondidas sobre como os fatores ambientais, sobretudo os nutricionais, influenciam a biossíntese e a dinâmica de HC's. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi testar a hipótese de que a variação da dieta pode levar a alteração nos compostos químicos cuticulares e por consequência, afetar o nível de reconhecimento entre companheiras de ninho da formiga Ponerine *Odontomachus bauri* (Emery 1892).

MATERIAIS E MÉTODOS

Três colônias de *O. bauri* foram coletadas no perímetro urbano da cidade de Dourados, Mato Grosso do Sul - Brasil (22°13'16'' S; 54°48'20'' W) em setembro de 2016. Todas as colônias foram coletadas em troncos ocos de *Caesalpinia pluviosa* DC. (Fabaceae) com auxílio de pinças e potes plásticos e, em seguida foram transferidas para

o laboratório em ninhos artificiais. Estes ninhos foram confeccionados com bandejas de plástico e moldes de gesso que simulavam as câmaras do ninho, conectadas a uma arena de forrageamento, onde era oferecido recurso alimentar para as colônias. A espécie foi confirmada por meio de comparação com espécimes padrão da Coleção de Referência Formicidae do Museu de Mirmecologia CEPEC/CEPLAC - Ilhéus, Bahia. Os exemplares deste estudo foram depositados nesta coleção sob o número 5822.

As colônias, após a coleta permaneceram por um período de sete dias de habituação nos ninhos artificiais, mantidas com água *ad libitum* em um algodão umedecido dentro de um eppendorf. Tendo em vista que *O. bauri* preda uma variedade de invertebrados, mas tem predileção por térmitas (Jaffé & Marcuse 1983), determinamos como dieta padrão, mel como fonte de carboidrato e soldados vivos de térmitas (Kollar 1832) como fonte proteica.

Após o período de habituação, foram separados de cada colônia, quatro subgrupos com 50 operárias cada (adaptado de Sorvari *et al.* 2008). O primeiro subgrupo foi considerado como controle e nele as formigas foram mantidas sob uma dieta cuja fonte proteica foi de *C. cumulans* e a de carboidrato foi utilizado mel de abelha. Para testar o efeito do próprio isolamento, um segundo subgrupo foi mantido sob esta mesma dieta, uma vez que o contato social é essencial para homogeneizar a assinatura química colonial (Boulay *et al.* 2000). O terceiro subgrupo foi mantido sob dieta de *C. cumulans* modificando a fonte de carboidrato, que neste caso foi o melaço, cuja origem é a cana de açúcar. O quarto subgrupo foi mantido com uma dieta na qual variou-se a fonte proteica, neste caso larvas de último instar de *Tenebrio molitor* (Lannaenus, 1758) e mel. Os testes de encontros induzidos sempre foram feitos entre formigas de cada um dos subgrupos com formigas do grupo controle.

Cada subgrupo foi mantido sob sua dieta específica por 30 dias como descrito por Bernardi *et al.* (2014). Todo o experimento foi mantido em biochemical oxygen demand (BOD) chamber (Fanem, Model 347 CD, São Paulo - SP – Brazil), a uma temperatura constante de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$.

Para avaliar as diferenças de níveis de açúcar na fonte de carboidrato, que segundo Grover *et al.* (2007), pode influenciar o nível de tolerância durante encontros de co-específicos, foi determinado a quantidade de sólidos solúveis totais (sacarose) no mel e no melaço. Foi utilizado um refratômetro do tipo Abbè, termostaticado a 20°C . As amostras não sofreram nenhum pré-tratamento. Os índices de refração de solução aquosa de sacarose foram correlacionadas com o seu teor de sacarose, obtendo-se então

uma correlação entre o índice de refração e a porcentagem de sacarose (Graus de Brix) (Instituto Adolfo Lutz 2008).

Análise do nível de tolerância durante os encontros entre formigas submetidas aos diferentes tratamentos

Para verificar se a variação da dieta e/ou o próprio isolamento afetam o nível de reconhecimento entre companheiras de ninho, foi avaliado o nível de tolerância entre as operárias dos diferentes tipos de tratamento com as operárias do subgrupo controle. Antes dos encontros, sempre era realizado encontro entre duas formigas do próprio grupo controle. Os encontros foram realizados em placa de petri (9.5cm x 2cm), onde uma operária era mantida presa dentro de um recipiente de vidro emborcado para baixo no centro da placa e, em seguida, era colocada uma segunda operária do lado de fora. Após 1 minuto de habituação era retirado o recipiente de vidro do centro da placa de petri, possibilitando desta maneira o encontro entre as duas operárias que foram avaliados durante 15 minutos sem interrupção. Foram realizados no total, 30 encontros entre as operárias de cada tipo de tratamento com operárias do grupo controle. Ao término de cada encontro, cada uma das formigas era separada para que se tivesse certeza que todos os encontros fossem realizados sempre entre pares diferentes de formigas. Antes de cada encontro induzido, a arena era esterilizada com uma toalha embebida em álcool.

As observações foram realizadas às cegas durante os 15 minutos de interações, sendo avaliados os seguintes comportamentos que podem nos fornecer o grau de tolerância entre as formigas: ignorar (Thomas *et al.* 2004), antenar o corpo da outra operária, 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). O tempo de cada um destes comportamentos foi contabilizado a partir do primeiro contato entre as formigas.

Sabe-se que o tempo de antenação entre as operárias é um comportamento utilizado tanto em contexto de dominância quanto de agressividade entre companheiras e não companheiras de ninho, sobretudo em espécies do gênero *Odontomachus*, e que, portanto pode fornecer pistas sobre o nível de estranhamento entre as formigas (Medeiros *et al.* 1992; Van Walsum *et al.* 1998; Powell & Tschinkel 1999; Smith *et al.* 2012, 2013; O'Fallon *et al.* 2016). Portanto, quando duas formigas antenavam-se durante um tempo relativamente mais longo do que aquele em que as formigas

antenas e logo na sequência se afastavam uma da outra sem desenvolver qualquer tipo de ato agressivo, foi considerado como um período de tempo em que as formigas demoraram mais tempo para se reconhecerem como companheiras de ninho. Por outro lado, nestes tipos de encontros, é possível que o tempo de antenação seja relativamente curto e, imediatamente após a antenação desenvolveram atos agressivos.

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 apresentados.

Análise dos efeitos da variação da dieta sobre a composição química cuticular

Para avaliar se os diferentes tipos de tratamentos levam a alteração da composição cuticular das formigas, todas as formigas que participaram dos encontros, de todos os tratamentos e do controle, foram sacrificadas por congelamento e, em seguida, os extratos de suas cutículas foram avaliados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Foram extraídos compostos químicos cuticulares das 30 operárias de cada um dos conjuntos que foram utilizados nos encontros comportamentais. Cada operária foi imersa em um recipiente de vidro com 2mL de hexano (Tedia, grau HPLC) por 3 minutos. Em seguida os extratos foram secos em capela de exaustão e armazenados em freezer (-20°C) por no máximo 30 dias. Para as análises cromatográficas, cada extrato foi solubilizado em 400 μL de hexano. As amostras foram analisadas usando um cromatógrafo a gás (GC-2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) com detector de massas (GC-MS Ultra 2010, Shimadzu, Kyoto, Japão), usando uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (J e W, Folsom, CA, EUA) revestida com 5% fenil-dimetilpolisiloxano (30 m de comprimento \times 0.25 mm diâmetro \times 0.25 μm espessura de filme). As condições de análise foram as seguintes: volume de injeção 1 μL em modo *splitless*; rampa de aquecimento com temperatura inicial de 150°C , alcançando 290°C a uma taxa de $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e permanecendo na temperatura final por 10 min; e temperatura do injetor de 220°C . As temperaturas do detector e linha de transferência foram 300 e 290°C , respectivamente. Os parâmetros de varredura do EM incluíram voltagem de ionização de impacto de elétron de 70 e V, na faixa de massa de 45 a 600 m/z e com intervalo de varredura de 0,3 s.

As identificações dos compostos foram realizadas empregando o índice de retenção calculado, usando uma mistura de alcanos lineares (C₇-C₄₀, Sigma Aldrich com pureza $\geq 95\%$) como referência externa em relação ao índice de retenção da literatura (Bernier *et al.* 1998; Howard, *et al.* 2001; Smith *et al.* 2012; Moore *et al.* 2014; Weiss *et al.* 2014; Soares *et al.* 2017) e associado à interpretação dos espectros de massas obtidos com as amostras e comparados com as bases de dados NIST21.

Os compostos majoritários foram considerados aqueles que representam a média da área relativa maior ou igual a 10%. Como representativo para a espécie, consideramos a amostra controle tanto para majoritários como para selecionar as outras variáveis da espécie, já que estes não sofreram manipulação experimental. Para comparações químicas entre os controles e os tratamentos, utilizamos o controle de cada colônia.

Análises estatísticas

Para avaliar se existem diferenças significativas entre as médias dos tempos de antenação avaliados durante os encontros, foi aplicado um teste de *Kruskal-Wallis*.

Para avaliar se os diferentes tratamentos causaram diferenças significativas na composição química cuticular das formigas em relação ao controle, foi aplicada uma análise discriminante utilizando a área percentual relativa de todos os compostos detectados na cutícula das formigas dos diferentes grupos. Nestas análises o valor de “p” é considerado significativo quando apresenta valor igual ou inferior a 0,05. Em seguida, foi aplicada a análise de distância de Mahalanobis para avaliar a distância entre os diferentes tratamentos em relação ao controle, par a par.

RESULTADOS

No total, foram observados, 30h de interações entre as operárias dos diferentes tratamentos com as do grupo controle. Durante todos os encontros induzidos não foi observado nenhum comportamento considerado agressivo, após o ato de “antenação do corpo da outra operária” e na sequência o ato de “ignorar”, que aqui foi interpretado como o ato de se afastarem após terem se reconhecido como companheiras de ninho. Portanto, em todos eles o nível de agressividade foi de “0”. O teste de *Kruskal-Wallis* mostra que há diferenças significativas entre os tempos médios de antenação do corpo

durante os encontros entre formigas dos diferentes tratamentos com formigas do grupo controle, comparado ao tempo médio de antenação durante encontros entre as formigas do grupo controle. Entretanto, não há diferenças significativas entre os tempos médios de antenação durante os encontros entre formigas do grupo controle e aquelas do grupo considerado de isolamento (Figura 1).

A quantidade de sólidos solúveis totais (sacarose) nas amostras de mel e no melaço foi de 80% e 79%, respectivamente.

Na cutícula das operárias do subgrupo controle, foram detectados e identificados 17 picos (Tabela 1), 8 deles são da classe dos alcanos lineares, 7 alcanos ramificados e 2 alcenos (Figura 2). Quanto ao teor, os alcanos lineares representaram 68,55%, alcanos ramificados com 18,09% e os alcenos com 13,36% (Figura 3). Três compostos foram considerados majoritários, dois alcanos lineares, o octadecano (39,25%) e o heptacosano (12,09%) e um alceno, o eicoseno (11,39%) (Tabela 1).

Nas amostras das operárias do subgrupo de isolamento foram detectados e identificados 16 compostos. Sendo 7 alcanos lineares, 7 alcanos ramificados e 2 alcenos (Figura 2). Os alcanos lineares representaram 67,27%, alcanos ramificados 22,87% e alcenos 9,86% (Figura 3). Os compostos majoritários foram o octadecano (37,90%) e o heptacosano (17,24%) (Tabela 1).

Nas amostras das operárias do subgrupo em que foi alterada a fonte de carboidrato, foram detectados e identificados 16 compostos. Sendo 7 alcanos lineares, 7 alcanos ramificados e 2 alcenos (Figura 2). Em relação à porcentagem, os alcanos lineares representaram 66,66%, alcanos ramificados 25,04%, alcenos 8,27%, (Figura 3). Os compostos majoritários foram o octadecano (42,37%) e o heptacosano (15,55%) (Tabela 1).

Nas amostras das operárias do subgrupo em que foi variada a fonte de proteína, foram detectados e identificados 17 compostos. Sendo 8 alcanos lineares, 7 alcanos ramificados e 2 alcenos (Figura 2). Os alcanos lineares nestas amostras representaram 66,08%, alcanos ramificados 22,87% e alcenos 11,05% (Figura 3). Os compostos majoritários foram o octadecano (37,25%) e o heptacosano (15,76%) (Tabela 1).

Somente nas amostras do subgrupo controle foi encontrado o composto 5-Methylheptacosane. O pentacosano só ocorre nas amostras do subgrupo controle e no que foi variado a fonte de proteína, e o 3-Methyldotriacontano só não ocorre nas amostras do subgrupo controle (Tabela 1).

De acordo com a análise discriminante há diferenças significativas entre a composição química cuticular das amostras submetidas aos diferentes tratamentos e do controle (Wilks's Lambda= 0,005; F=26,56, e $p < 0,001$) (Figura 4).

Os resultados da análise da distância de Mahalanobis encontram-se na tabela 2.

DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que os efeitos da variação da dieta alteraram a capacidade de reconhecimento de companheiras de ninho e isto provavelmente é um efeito da alteração da composição química em função da variação da dieta em relação ao grupo controle. Por outro lado, o isolamento por si só não foi suficiente para gerar qualquer grau de estranhamento, ao menos durante o período de tempo avaliado aqui, embora se saiba que o contato frequente entre companheiras de ninho é importante para homogeneizar os compostos que constituem a assinatura química da colônia (Soroker *et al.* 2003).

Embora, não tenha ocorrido nenhum tipo de ato agressivo entre formigas dos diferentes tratamentos com aquelas do subgrupo controle, o tempo de antenação foi significativamente maior nestes encontros do que nos encontros entre formigas do próprio grupo controle. Hefetz (2007) já propôs que a antenação, é um comportamento pelo qual as formigas avaliam por meio dos sinais químicos presentes na cutícula com quem estão interagindo, e de acordo com Howard & Blomquist (2005), um maior tempo de antenação pode de fato ser traduzido como uma dificuldade para se reconhecer com quem estão interagindo. Portanto, é possível que o maior tempo encontrado entre as formigas nestes encontros seja traduzido como uma maior dificuldade em reconhecer suas próprias companheiras de ninho. Por outro lado, é possível que com um nível de estranhamento maior, o tempo de antenação será relativamente mais curto, pois após o primeiro contato entre as formigas, estas podem responder com agressão. Como este não foi o caso aqui e, durante os encontros entre as formigas do grupo controle o tempo de antenação foi significativamente menor, assumimos que durante os encontros entre formigas controle com aquelas submetidas aos diferentes tratamentos houve um estranhamento.

O efeito da variação da dieta fica ainda mais evidente quando se observa que as formigas que foram submetidas ao isolamento, mas com a mesma dieta, não tiveram o mesmo nível de estranhamento que aquelas formigas do subgrupo controle, que

interagiram com as que foram submetidas à dieta diferente. Por outro lado, o isolamento poderia ter interferido nos resultados, uma vez que pelo *allogrooming*, há troca dos compostos químicos entre as operárias de formigas (Soroker *et al.* 1995; Boulay *et al.* 2000; Lenoir *et al.* 2001; Soroker *et al.* 2003), o que reforça a assinatura química específica da colônia. Esse comportamento acelera e homogeneiza a distribuição de novas substâncias entre os membros da colônia, ativando parte do sistema de reconhecimento entre elas (Crozier & Dix 1979; Lenoir *et al.* 1999; Soroker *et al.* 2003). Assim, pelos resultados fica evidente que o isolamento por si só não foi suficiente para gerar algum tipo de modificação que tenha levado a algum grau de estranhamento entre as formigas durante as interações.

Estudos como os de Liang & Silverman (2000), Silverman & Liang (2001) e Sorvari *et al.* (2008) observaram em outras espécies de formigas que a variação da dieta pode levar a mudança no grau de reconhecimento entre companheiras de ninhos. Contudo, nestes estudos a variação da dieta levou a níveis de estranhamento suficientemente altos para gerar algum grau de agressividade entre companheiras de ninho. Como o tempo em que os subgrupos foram submetidos aos diferentes tratamentos foi similar ao testado em vários estudos, a diferença entre os níveis de estranhamento encontrados neste estudo pode estar relacionada ao nível de organização social das diferentes espécies, uma vez que *O. bauri* pertence à subfamília Ponerinae, considerado um grupo menos derivado, (Hölldobler & Wilson 1990) e que, portanto, pode ter mecanismos menos sensíveis para detectar pequenas diferenças entre a composição de suas cutículas.

A dieta afeta diretamente a composição da assinatura química das formigas e pode, com isto, interferir no comportamento de reconhecimento entre as companheiras de ninho, que é fundamental para manter a coesão da colônia e a proteção contra invasão por outros insetos, bem como por membros de outra colônia (Hefetz 2007). Lambardi *et al.* (2004) observaram, que formigas *Acromyrmex echinator* (Forel, 1899) de colônias diferentes, quando submetidas a mesma dieta, passam a se tolerar mais em detrimento daquelas que receberam uma fonte alimentar diferente, destacando a influência da dieta na composição química cuticular e, por consequência seu efeito sobre o reconhecimento entre companheiras e não companheiras de ninhos. De fato, Buczkowski *et al.* (2005) demonstraram que a dieta compartilhada entre colônias da espécie *Linepithema humile* reduziu a agressão entre elas a ponto de promover a fusão entre suas colônias.

Outro fator importante que poderia ter colaborado com o maior grau de estranhamento entre as formigas do subgrupo controle e aquelas que foram submetidas a dietas diferentes, seria o maior teor de carboidrato de uma dieta em relação à outra. De fato, o maior tempo de antenação, e a maior distância de mahalanobis encontrada, foi entre as formigas submetidas a variação da fonte de carboidrato com aquelas do grupo controle. Esses resultados corroboram os de Grover *et al.* (2007) que observaram que a concentração de carboidratos influencia diretamente na agressividade e competitividade em *Linepithema humile*.

Por mais que as fontes de carboidratos aqui utilizados foram diferentes, uma de mel e outra de melaço, a quantidade de sacarose dissolvida em ambas as amostras não diferiram. Alguns trabalhos sugerem, que a quantidade de açúcar que a formiga consome pode influenciar no comportamento de interação entre as companheiras de ninho (Grover *et al.* 2007; Sorvari *et al.* 2008; Horn *et al.* 2013). Os efeitos do carboidrato sobre o comportamento de formigas, ainda não estão claros na literatura, contudo, os carboidratos tem mostrado ter uma influência nos níveis de agressividade e um aumento nas atividades em formigas (Grover *et al.* 2007; Arganda *et al.* 2014; Wittman *et al.* 2018). De fato os carboidratos produzem efeitos metabólicos em formigas, sobretudo nas adultas que dependem principalmente dos carboidratos como fonte energética (Davidson 1997; Grover *et al.* 2007; Dussutour & Simpson 2008, 2009; Horn *et al.* 2013; Wittman *et al.* 2018), resultando em elevação do metabolismo, produzindo um comportamento frenético e mais agressivo (Davidson 1997; Grover *et al.* 2007; Wittman *et al.* 2018)

Ainda, a mudança do recurso proteico na dieta também pode levar a mudanças significativas no perfil de HC's e no padrão de reconhecimento entre companheiras de ninho, como descrito por Liang & Silverman (2000) e Sorvari *et al.* (2008).

A variação da dieta, afetou qualitativamente e quantitativamente a composição química cuticular, e a análise estatística indica que estas diferenças são significativas. No entanto, os altos desvios padrões observados entre as médias dos compostos pode ser em decorrência das próprias variações individuais entre a composição cuticular de cada operária (Cuvillier-Hot *et al.* 2001) e entre as amostras das três colônias (Wagner *et al.* 2001).

Foi possível observar que a composição da cutícula das formigas cuja fonte de carboidrato variou, apresentaram diferenças qualitativas e quantitativas em relação aquelas do subgrupo controle. Por outro lado, as formigas sob efeito de variação de

proteína sofreram apenas variação quantitativa. De fato, operárias adultas se alimentam mais de fontes de carboidratos em detrimento de proteínas (Wilson & Eisner 1957; Markin 1970; Schneider 1972;).

A composição química da cutícula das amostras das formigas sob efeito da variação de carboidrato se sobrepuseram menos em relação as outras. A distância de Mahalanobis, comprova que as maiores distâncias, portanto, as diferenças estão, entre estes subgrupos, em relação as outras. Grover *et al.* (2007) ao comparar a variação de carboidrato e do tipo de presa na dieta de *Linepithema humile* detectou que o carboidrato influencia diretamente o comportamento das formigas.

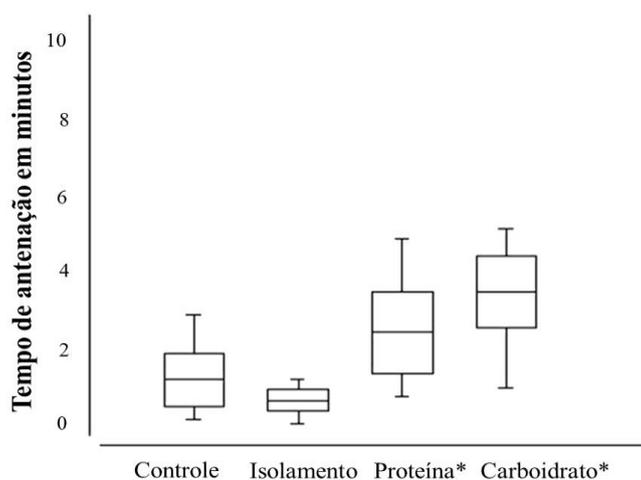
Na cutícula das formigas de todos os tratamentos, houve um pequeno aumento na porcentagem dos alcanos ramificados e uma pequena redução dos alcanos lineares e alcenos em relação à cutícula das formigas do subgrupo controle. Esta variação, sobretudo dos teores pode ter influenciado no grau de reconhecimento durante os encontros. De fato, os alcanos ramificados, sejam eles, mono ou dimetil, são os principais compostos responsáveis por intermediar a comunicação entre companheiras de ninho (Bonavita-Cougourdan *et al.* 1991). Além disso, vários estudos discutem a importância não somente destes compostos, mas também dos alcenos como importantes intermediadores na comunicação (Bonavita-Cougourdan *et al.* 1991; Gibbs 1998, 2007; Chown *et al.* 2011; Chung & Carroll 2015; Boulay *et al.* 2017; Sano *et al.* 2018).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados aqui apresentados, é possível concluir que a variação da dieta durante o período avaliado gerou certo grau de estranhamento entre companheiras de ninho. Este efeito está relacionado à assimilação de compostos pela cutícula uma vez que a composição química foi significativamente diferente das amostras do grupo controle. O fato de formigas que permaneceram isoladas pelo mesmo período mantidas sob a mesma dieta não apresentarem este grau de estranhamento, reforçam esta interpretação. Por outro lado, ainda que os resultados comprovem nossa hipótese, outros experimentos realizados com formigas de outras subfamílias demonstram que a variação de dieta pode levar a um maior grau de estranhamento, inclusive podendo exibir comportamentos agressivos entre formigas que foram mantidas sob dieta diferente durante o mesmo período testado neste estudo. O efeito da dieta pode variar entre espécies com diferentes níveis de organização social, que podem variar quanto a capacidade de distinguir pequenas variações na composição química da

cutícula de suas companheiras de ninho. Portanto, fatores ambientais, em particular a dieta, devem ser mais explorados para entendermos melhor o papel destes compostos na evolução do comportamento social nestes insetos.

FIGURAS



*Valores significativos ($P < 0,05$; Kruskal-Wallis = 79,97)

Figura 1. Média e desvio padrão do tempo de antenação durante os encontros entre companheiras de ninho de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos e no grupo controle e entre duas formigas do grupo controle.

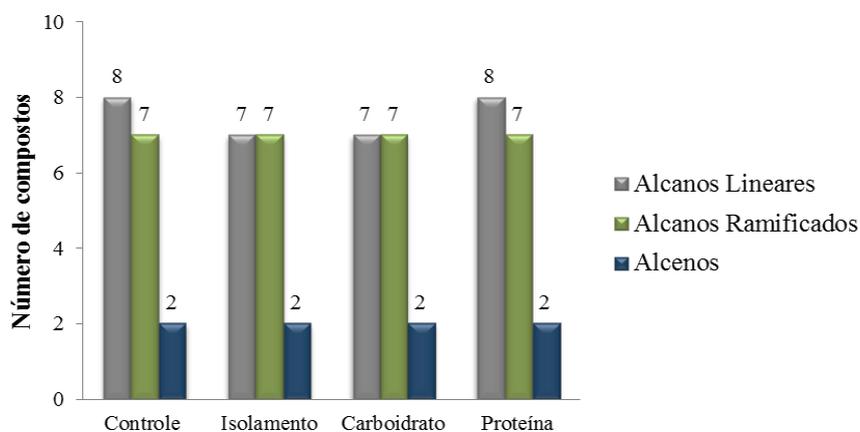


Figura 2. Número de compostos de cada classe de compostos presentes na cutícula de operárias de ninho de *Odontomachus bauri* submetidas aos diferentes tratamentos e no grupo controle.

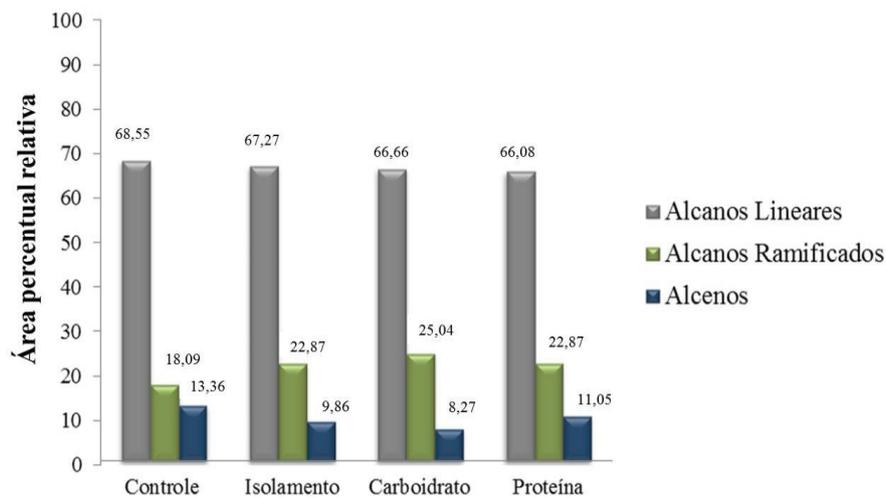


Figura 3. Porcentagem de compostos de cada de compostos presentes na cutícula de operárias de *Odontomachus bauri* submetidas aos diferentes tratamentos e no grupo controle.

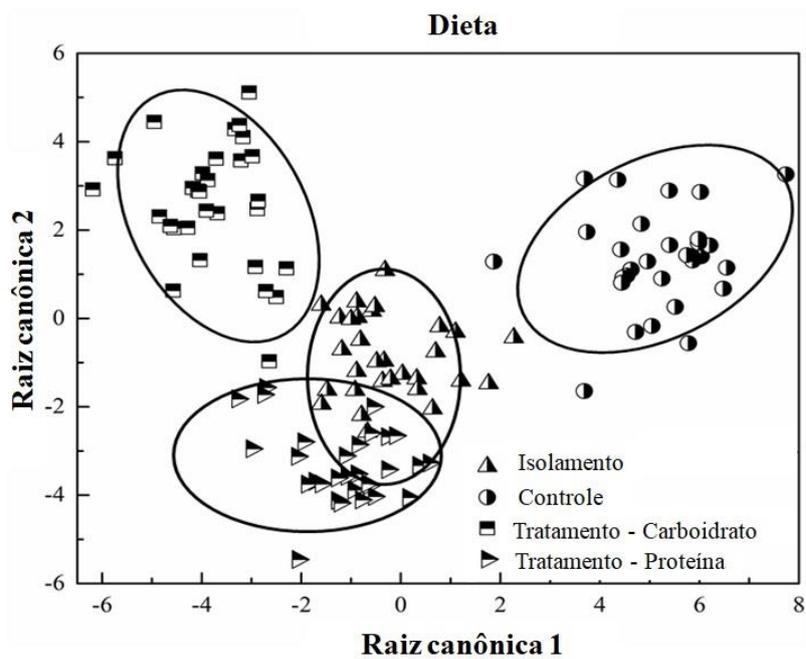


Figura 4. Diagrama de dispersão mostrando as duas raízes canônicas para a diferenciação dos compostos presentes nas amostras de operárias de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos e no grupo controle, com base nas áreas percentuais relativas dos compostos cuticulares.

TABELAS

Tabela 1. Área percentual relativa dos compostos detectados na cutícula de operárias de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos e no grupo controle.

Tempo	IRC	IRL	Composto	Tratamentos			
				Controle	Isolamento	Carboidrato	Proteína
10,76	1800	1800	Octadecano*	39,25 ± 11,32	37,90 ± 8,77	42,37 ± 12,94	37,25 ± 4,22
13,25	1901	1900	Nonadecano	3,79 ± 5,24	1,71 ± 0,48	1,18 ± 0,26	1,72 ± 0,31
15,71	1998	1990	Eicoseno*	11,39 ± 1,54	8,78 ± 1,85	6,73 ± 1,02	7,80 ± 2,00
15,88	2000	2000	Eicosano	4,27 ± 0,76	2,99 ± 0,68	2,26 ± 0,30	2,90 ± 0,44
19,01	2119	-	x-Metilheicosano	1,67 ± 2,10	1,01 ± 0,23	0,95 ± 0,16	0,99 ± 0,16
21,12	2199	2200	Docosano	5,79 ± 1,03	4,24 ± 1,12	2,25 ± 0,52	4,32 ± 0,55
24,53	2334	2338	9-metiltricosano	1,14 ± 0,37	0,92 ± 0,18	1,00 ± 0,18	0,89 ± 0,29
26,39	2399	2400	Tetracosano	1,43 ± 0,31	0,98 ± 0,33	0,27 ± 0,16	1,20 ± 0,17
29,07	2501	2500	Pentacosano	0,50 ± 0,58	-	-	0,34 ± 0,76
33,91	2701	2700	Heptacosano*	12,09 ± 5,08	17,24 ± 5,83	15,55 ± 9,68	15,76 ± 5,01
35,05	2750	2751	5-Metilheptacosano	0,61 ± 0,38	-	-	-
38,45	2900	2900	Nonacosano	1,42 ± 0,57	2,21 ± 0,97	2,77 ± 4,39	2,59 ± 0,68
42,25	3077	3070	3-Metiltriacontano	3,24 ± 2,51	4,48 ± 3,37	4,35 ± 1,63	4,96 ± 4,22
42,33	3078	3078	13,17-Dimetiltriacontano	2,53 ± 2,18	2,22 ± 1,73	3,74 ± 3,65	2,84 ± 2,13
45,85	3253	3254	12,16-Dimetildotriacontano	5,81 ± 4,98	7,56 ± 5,98	8,24 ± 5,20	7,01 ± 6,09
45,94	3258	3260	2-metildotriacontano	3,08 ± 2,81	3,37 ± 3,06	3,39 ± 3,40	3,11 ± 2,58
46,28	3274	-	3-Metildotriacontano	-	3,31 ± 3,01	3,38 ± 1,88	3,06 ± 3,43
46,31	3276	3276	Tritriaconteno	1,97 ± 1,93	1,08 ± 1,18	1,53 ± 1,91	3,25 ± 2,54

*=Compostos majoritários. IRC= Índice de Retenção Calculado. IRL= Índice de Retenção da literatura.

Tabela 2. Distância de Mahalanobis utilizando as classes de hidrocarbonetos cuticulares de operárias de *Odontomachus bauri*, submetidas a diferentes tratamentos e controle.

Tratamentos	Controle	Isolamento	Carboidrato	Proteína
Controle	0	16,2103	84,9098*	61,8639*
Isolamento	16,2103	0	33,3313	40,2047
Carboidrato	84,9098*	33,3313	0	46,6463
Proteína	61,8639*	40,2047	46,6463	0

Wilks' Lambda: 0,005; *Maiores distâncias ocorridas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (FUNDECT); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) Código 001, pelo oferecimento de bolsa de doutorado ao primeiro autor e bolsa de estudos de mestrado ao segundo autor; autores CALC(outorga número 310801 / 2015-0) e WFAJ (outorga número 307998 / 2014-2) reconhecem bolsas de pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- Arganda, S., Nicolis, S. C., Perochain, A., Péchabadens, C., Latil, G., Dussutour, A. 2014. Collective choice in ants: The role of protein and carbohydrates ratios. **Journal of Insect Physiology** **69**: 19-26.
- Bernardi, R. C., Firmino, E. L. B., Pereira, M. C., Andrade, L. H. C., Cardoso, C. A. L., Suárez, Y. R., Antonialli-Junior, W. F., Lima, S. M. 2014. Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy as a potential tool in assessing the role of diet in cuticular chemical composition of *Ectatomma brunneum*. **Genetics and Molecular Research****13**: 1035-1048.
- Bernier, U. R., Carlson, D. A., Geden, C. J. 1998. Gas chromatography/mass spectrometry analysis of the cuticular hydrocarbons from parasitic wasps of the genus *Muscidifurax*. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry** **8**: 320-332.
- Blomquist, G. J. & Bagnères, A. G. 2010. **Insect hydrocarbons, biology, biochemistry, and chemical ecology**. New York, Cambridge University Press, 492 p.
- Bonavita-Cougourdan, A., Theraulaz, G., Bagnères, A. G., Roux, M., Pratte, M., Provost, E., Clement, J. L. 1991. Cuticular hydrocarbons, social organization and ovarian development in a Polistine wasp: *Polistes dominulus* Christ. **Comparative Biochemistry and Physiology** **B100**: 667–680.
- Boulay, R., Aron, S., Cerdá, X., Doums, C., Graham, P., Hefetz, A., Monnin, T. 2017. Social life in arid environments: the case study of *Cataglyphis* ants. **Annual Review of Entomology** **62**: 305–321.
- Boulay, R., Hefetz, A., Soroker, V., Lenoir, A. 2000, *Camponotus fellah* colony integration: worker individuality necessitates frequent hydrocarbon exchanges. **Animal Behaviour** **59**: 1127-1133.
- Buczkowski, G. & Silverman, J. 2006. Geographic variation in Argentine ant aggression behaviour mediated by environmentally-derived nestmate recognition cues. **Animal Behaviour** **71**: 327-335.

- Buczowski, G., Kumar, R., Suib, S. L., Silverman, J. 2005. Diet-related modification of cuticular hydrocarbon profiles of the Argentine ant, *Linepithema humile*, diminishes intercolony aggression. **Journal of Chemical Ecology** **31**: 829-843.
- Chown, S. L., Sorensen, J. G., Terblanche, J. S. 2011. Water loss in insects: an environmental change perspective. **Journal of Insect Physiology** **57**: 1070-1084.
- Chung, H. & Carroll, S. B. 2015. Wax, sex and the origin of species: dual roles of insect cuticular hydrocarbons in adaptation and mating. **Bioessays** **37**: 822-830.
- Crosland, M. W. J. 1989. Kin recognition in the ant *Rhytidoponera confusa* I. environmental odour. **Animal Behaviour** **37**: 912-919.
- Crozier, R. & Dix, M. 1979. Analysis of two genetic models for innate components of odor in social Hymenoptera. **Behavior, Ecology and Sociobiology** **4**: 217-224.
- 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** **47**: 485-493.
- Davidson, D. W. 1997. The role of resource imbalances in the evolutionary ecology of tropical arboreal ants. **Biological Journal of the Linnean Society** **61**: 153-181.
- Dussutour, A. & Simpson, S. J. 2009. Communal nutrition in ants. **Current Biology** **19**: 740-744.
- Dussutour, A. & Simpson, S. J. 2008. Description of a simple synthetic diet for studying nutritional responses in ants. **Insectes Sociaux** **55**: 329-333.
- Gibbs, A. G. 1998. Water-proofing properties of cuticular lipids. **American Zoologist** **38**: 471-482.
- Gibbs, G. A. 2007. Waterproof cockroaches: The early work of J. A. Ramsay. **The Journal of Experimental Biology** **210**: 921-922.
- Grover, C. D., Kay, A. D., Monson, J. A., Marsh, T. C., Holway, D. A. 2007. Linking nutrition and behavioural dominance: carbohydrate scarcity limits aggression and activity in argentine ants. **Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences** **274**: 2951-2957.
- Hefetz, A. 2007. The evolution of hydrocarbon pheromone parsimony in ants (Hymenoptera: Formicidae) – interplay of colony odor uniformity and odor idiosyncrasy. A review. **Myrmecological News** **10**: 59-68.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. 1990. **The ants**. Harvard University Press, Cambridge, UK, 746 p.
- Holway, D. A., Lach, L., Suarez, A. V., Tsutsui, N. D., Case, T. J. 2002. The causes and consequences of ant invasions. **Annual Review of Ecology and Systematics** **33**: 181-233.
- Horn, K. C., Eubanks, M. D., Siemann, E. 2013. The effect of diet and opponent size on aggressive interactions involving caribbean crazy ants (*Nylanderia fulva*). **Plos one**, v. **8**, n. 6, e66912.

- Howard, R. W. 1993. Cuticular hydrocarbons and chemical communication, p. 179-226. In: Stanley-Samuelson, D. W. & Nelson, D. R. (ed.) **Insect Lipids: Chemistry, biochemistry and biology**. Nebraska, University of Nebraska Press, 467 p.
- Howard, R.W. & Blomquist, G. J. 2005. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. **Annual Review of Entomology** **50**: 371–393.
- Howard, R. W., Pérez-Lachaud, G., Lachaud, J. P. 2001. Cuticular hydrocarbons of *Kapala sulcifacies* (Hymenoptera: Eucharitidae) and its host, the Ponerine ant *Ectatomma ruidum* (Hymenoptera: Formicidae) **Annals of the Entomological Society of America** **94**: 707–716.
- Instituto Adolfo Lutz. 2008. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 1020 p.
- Jaffé, K. & Marcuse, M. 1983. Nestmate recognition and territorial behaviour in the ant *Odontomachus bauri* emery (Formicidae: Ponerinae). **Insectes Sociaux** **30**: 466–481.
- Lambardi, D., Chegia, B., Turilazzi, S., Boomsma, J. J. 2004. Diet-induced aggression among colonies of the leafcutter ant *Acromyrmex echinator* Forel (Hymenoptera Formicidae). **Redia** **87**: 219-221.
- Leal, W. S. 2005. Pheromone reception, p. 341-360. In: Schulz, S. (ed.). **The Chemistry of Pheromones and other semiochemicals II**. Berlin, Springer Berlin, 333 p.
- Lenoir, A, Fresneau, D., Errard, C., Hefetz, A. 1999. Individuality and colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept. In: Detrain, C., Deneubourg, J. L., Pasteels, J. M. (ed.). **Information Processing in Social Insects**. Birkhäuser Basil, 219–236.
- Lenoir, A., Hefetz, A., Simon, T. Soroker, V. 2001. Comparative dynamics of gestalt odour formation in two ant species *Camponotus fellah* and *Aphaenogaster senilis* (Hymenoptera: Formicidae). **Physiological Entomology** **26**: 275–283.
- Liang, D. & Silverman, J. 2000. “You are what you eat”: Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. **Naturwissenschaften** **897**: 412-416.
- Markin, G. P. 1970. Food distribution within laboratory colonies of the argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Mayr). **Insectes Sociaux** **17**:127 -158.
- Medeiros, F. N. S., Lopes, L. E., Moutinho, P. R. S., Oliveira, P. S., Hölldobler, B. 1992. Functional polygyny, agonistic interactions and reproductive dominance in the neotropical ant *Odontomachus chelifer* (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). **Ethology** **91**: 134-146.
- Menzel, F., Blaimer, B. B., Schmitt, T. 2017. How do cuticular hydrocarbons evolve? Physiological constraints and climatic and biotic selection pressures act on a complex functional trait. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B** **284**: 1-10.
- Mercier, J. L., Lenoir, A., Djean, A. 1997. Ritualised versus aggressive behaviours displayed by *Polyrhachis laboriosa* (F. Smith) during intraspecific competition. **Behavioral Processes** **41**: 39-50.

- Monnin, T. & Peeters, C. 1999. Dominance hierarchy and reproductive conflicts among subordinates in a monogynous queenless ant. **Behavioral Ecology** **10**: 323 - 332.
- Moore, H. E., Adam, C. D., Drijfhout, F. P. 2014. Identifying 1st instar larvae for three forensically important blowfly species using “fingerprint” cuticular hydrocarbon analysis. **Forensic Science International** **240**: 48–53.
- O’Fallon, S., Suarez, A. V., Smith, A. A. 2016. A comparative analysis of rapid antennation behavior in four species of *Odontomachus* trap-jaw ants. **Insectes Sociaux** **63**: 265-270.
- Otte, T., Hilker, M., Geiselhardt, S. 2018. Phenotypic plasticity of cuticular hydrocarbon profiles in insects. **Journal of Chemical Ecology** **44**: 235–247.
- Powell, S. & Tschinkel, W. R. 1999. Ritualized conflict in *Odontomachus brunneus* and the generation of interaction-based task allocation: a new organizational mechanism in ants. **Animal Behaviour** **58**: 965–972.
- Sano, K., Bannon, N., Greene, M. J. 2018. Pavement ant workers (*Tetramorium caespitum*) assess cues coded in cuticular hydrocarbons to recognize conspecific and heterospecific non-nestmate ants. **Journal of Insect Behavior** **31**: 186-199.
- Schneider, P. 1972. Versuche zur frage der individuellen futterverteilung bei der Kleinen roten Waldameise (*Formica polyctena* Foerst.). **Insectes Sociaux** **19**: 279 -299.
- Silverman, J. & Liang, D. 2001. Colony disassociation following diet partitioning in a unicolonial ant. **Naturwissenschaften** **88**: 73–77.
- Smith, A. A., Millar, J. G., Hanks, L. M., Suarez, A. V. 2012. Experimental evidence that workers recognize reproductives through cuticular hydrocarbons in the ant *Odontomachus brunneus*. **Behavioral Ecology and Sociobiology** **66**: 1267–1276.
- Smith, A. A., Millar, J. G., Hanks, L. M., Suarez, A. V. 2013. A conserved fertility signal despite population variation in the cuticular chemical profile of the trap-jaw ant *Odontomachus brunneus*. **Journal of Experimental Biology** **216**: 3917–3924.
- Soares, E. R. P., Batista, N. R., Souza, R. S., Torres, V. O., Cardoso, C. A. L., Nascimento, F. S. e Antonialli-Junior, W. F. 2017. Variation of cuticular chemical compounds in three species of *Mischocyttarus* (Hymenoptera: Vespidae) eusocial wasps. **Revista Brasileira de Entomologia** **61**: 224–231.
- Soroker, V., Lucas, C., Simon, T., Hefetz, A., Fresneau, D., Durand, J. L. 2003. Hydrocarbon distribution and colony odour homogenization in *Pachycondyla apicalis*. **Insectes Sociaux** **50**: 212-217.
- Sorvari, J., Theodora, P., Turillazzi, S., Hakkarainen, H., Sundstrom, L. 2008. Food resources, chemical signaling, and nest mate recognition in the ant *Formica aquilonia*. **Behavioral Ecology** **19**: 441–447.
- Soroker, V., Vienne, C., Hefetz, A. 1995. Hydrocarbon dynamics within and between nestmates in *Cataglyphis niger* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Chemical Ecology** **21**: 365-378.

- Suarez, A. V., Tsutsui, N. D., Holway, D. A., Case, T. J. 1999. Behavioral and genetic differentiation between native and introduced populations of the Argentine ant. **Biological Invasions** 1: p. 43-53.
- Thomas, M. L., Tsutsui, N. D., Holway, D. A. 2004. Intraspecific competition influences the symmetry and intensity of aggression in the Argentine ant. **Behavioral Ecology** 16: 472-481.
- Van Walsum, E., Gobin, B., Ito, F., Billen, J. 1998. Worker reproduction in the ponerine ant *Odontomachus simillimus* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology** 32: 427-440.
- Wagner, D., Tissot, M., Gordon, D. M. 2001. Task-related environment alters the cuticular hydrocarbon composition of harvester ants. **Journal of Chemical Ecology** 27: 1805-1819.
- Weiss, K., Parzefall, C., Herzner, G. 2014. Multifaceted defence against ant agonistic microbes in developing offspring of the parasitoid wasp *Ampulex compressa* (Hymenoptera, Ampulicidae). **PLoS One** 9: 1-14.
- Wilson, E. O. & Eisner, T. 1957. Quantitative studies of liquid food transmission in ants. **Insectes Sociaux** 4: 157-166.
- Wittman, S. E., O'dowd, D. J., Green, P. T. 2018. Carbohydrate supply drives colony size, aggression, and impacts of an invasive ant. **Ecosphere** 9: e02403.

CAPÍTULO 3

S.O.S: AS COMPANHEIRAS DE NINHO DE *Odontomachus bauri* PEDEM AJUDA E SÃO ATENDIDAS EM SITUAÇÃO DE CAPTURA?

Formatado nas normas da revista Insectes Sociaux ISSN: 0020-1812.

S.O.S: As companheiras de ninho de *Odontomachus bauripedem* ajuda e são atendidas em situação de captura?

^{1,2}Luiz Carlos dos Santos-Junior; ³Emerson Pereira da Silva & ^{1,2}William Fernando Antonialli-Junior

¹Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) – Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Rodovia: Dourados-Itahun, Km 12.

²Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS) – Centro de Estudos em Recursos Naturais (CERNA)/Laboratório de Ecologia Comportamental (LABECO), Rodovia Dourados-Itahun, S/N, Km 12.

³Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) – Museu da Biodiversidade (MuBio), Rodovia: Dourados-Itahun, Km 12.

Correspondência do primeiro autor: lc.santosjunior@yahoo.com.br

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (FUNDECT); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) Código zero, zero, um, pelo oferecimento de bolsa de doutorado ao primeiro autor e WFAJ (outorga número 307998 / 2014-2) reconhecem bolsas de pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

Em insetos sociais, qualquer situação ameaçadora é a chave para as respostas comportamentais que são enviadas e codificadas a partir de sinais químicos e/ou sonoros, como para sinalizar uma possível ameaça ou um pedido de ajuda de uma companheira de ninho. Em formigas, este pedido pode gerar, uma resposta como o comportamento de resgate por parte da operária que o recebe. Pouco se sabe sobre a evolução deste comportamento e em qual grupo de formigas ele está presente. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar se operárias socorristas de *Odontomachus bauris* são capazes de reconhecer o pedido de ajuda de sua companheira de ninho, deflagrando nela uma resposta de resgate. Para isto foi utilizada uma arena contendo operárias socorristas de *O. bauri* e, uma câmara de aprisionamento contendo uma formiga presa por fita adesiva simulando sua captura por um predador. Os resultados confirmaram que o maior número de socorristas e o menor tempo de latência para atender ao pedido de ajuda ocorreram apenas na menor distância. No teste de decisão, as socorristas não diferiram os sinais de ajuda em relação à origem colonial de *O. bauri*, entretanto, o mesmo não ocorreu para a formiga de outra espécie. Em todos os testes, as formigas presas emitiram sinal sonoro audível. Assim, é possível concluir que a uma distância relativamente próxima, as socorristas de *O. bauri* respondem de forma significativa aos sinais emitidos pela operária. Este sinal parece ser espécie-específico e, ao menos nesta espécie, além dos sinais químicos, os sonoros também podem estar envolvidos no pedido de ajuda.

Palavras-chave: Poneromorfa; Reconhecimento intraespecífico; Resgate.

INTRODUÇÃO

Um dos benefícios de se viver em grupos sociais é melhorar a capacidade de se defender, e uma das maneiras eficientes de defesa em grupo é contra atacando o pretenso predador (Siebenaler e Caldwell 1956; Vogel e Fuentes-Jiménez 2006). Por exemplo, colônias de vespas e abelhas podem atacar em grupo um potencial predador, geralmente, mobilizadas por substâncias químicas voláteis como o feromônio de alarme (Morse e Laigo 1969; Breed et al. 1990; Breed et al. 2004). Este feromônio pode ser utilizado nestes grupos para recrutar companheiras de ninho em prol da defesa da colônia (Boch e Shearer 1971; Roubik 1989; Breed et al. 2004; Bruschiniet al. 2008), ou evitar que suas companheiras de ninho sejam predadas, sinalizando os locais de forrageamento com possíveis predadores (Li et al. 2014; Wang et al. 2016).

Em algumas espécies de vespas sociais e abelhas a própria fundação por enxameamento é uma estratégia importante para o sucesso da colônia, sobretudo na defesa contra predadores, pois, um número maior de operárias na colônia garante que as tarefas no ninho sejam divididas entre as operárias, assim, a defesa da colônia pode ser realizada por mais de um indivíduo (Jeanne 1991).

Em alguns grupos de formigas, a casta de operárias maiores, que são morfologicamente modificadas, possui entre outras funções, o papel de defesa em grupo quando a colônia é posta sob possível ameaça de um invasor (Wilson 1976; Holldobler e Wilson 1990; Powell e Clark 2004; Pepper e Herron 2008; Powell 2008; Hou et al. 2010; Strassmann e Queller 2010). De fato, as formigas defendem suas colônias utilizando diversas estruturas quando são ameaçadas por um indivíduo alheio à colônia. Desta forma, mordidas e ferroadas são comumente utilizadas em ataques coordenados (Hölldobler e Wilson 1990). Estas estratégias de defesa em grupo são essenciais para assegurar a integridade da colônia e assim garantir o sucesso da espécie e a sucessão de seus genes (Deligne e Coninck 2006).

Algumas espécies de formigas desenvolveram um meio peculiar de se defender, sobretudo de predadores (Beponis et al. 2014). No caso de uma formiga ser capturada, as companheiras de ninho, podem exibir um comportamento de resgate para salvá-la (Czechowskiet al. 2002; Nowbahari et al. 2009; Nowbahari e Hollis 2010; Miler 2016). Este comportamento pode ser exibido por uma ou mais operárias que são conhecidas como socorristas e é direcionado para outra, ou seja, a vítima, com o objetivo de

resgatá-la diante de uma situação em que foi capturada por um predador (Nowbahari e Hollis 2010; Miler 2016).

O comportamento de resgate da formiga capturada pode assumir várias categorias comportamentais, desde escavações relativamente simples ao redor da vítima e puxando seus membros até comportamentos mais precisos como atacar diretamente o animal ou o objeto que a está aprisionando, além de ferroá-lo (Taylor e Visvader 2013; Miler 2016). Por outro lado, a decisão no salvamento pela socorrista parece ser influenciada, sobretudo, pela expectativa de vida do indivíduo capturado e/ou pela função ocupada no ninho (Miler 2016; Nowbahari et al. 2016), neste caso, o comportamento não seria direcionado para formigas mais velhas, possivelmente pelo fato de que estas tem relativamente pouco a colaborar com a colônia.

Independentemente da espécie que possa vir a executar este tipo de comportamento, deve haver alguma troca de sinais entre a formiga que está pedindo ajuda e as socorristas. Formigas e outros himenópteros sociais podem produzir e liberar substâncias voláteis, na forma de feromônios (Wheeler e Blum 1973; Jafé e Marcuse 1983; Lahav et al. 1999; Morgan et al. 1999; Lenoir et al. 2001; Hernández et al. 2002; Howard e Blomquist 2005; Blomquist e Bagnères 2010; Sainz-Borgo et al. 2011). Contudo, Markl (1973), sugere que pode haver outro meio, ou complementar para recrutar ajuda como, por exemplo, a produção de sinais acústicos. Um destes sinais em formigas é produzido pelo órgão estridulatório situado entre o pecíolo e o gáster (Markl 1973; Taylor 1978; Stuart e Bell 1980; Hölldobler e Wilson 1990), que ao entrar em atrito produz uma sinalização sonora com diferentes papéis no funcionamento da colônia (Markl e Hölldobler 1978; Chiu et al. 2011).

No gênero *Odontomachus*, em particular, já tem descrito a estridulação quando perturbada por algum motivo (Markl 1973; Golden e Hill, 2016). Assim sendo, é provável que as formigas da espécie *Odontomachus bauri* possam recrutar suas companheiras de ninho, quando expostas a alguma situação de perigo, seja por sinais químicos, sonoros ou a associação destes.

De fato, as formigas são os táxons mais estudados quanto à ocorrência de comportamentos de resgate (Hollis et al. 2015; 2016; Frank et al. 2017, 2018), contudo, a maioria dos estudos sobre este comportamento tem sido realizado em formigas que habitam áreas arenosas, e estão expostas a larvas de formiga leão (Neuroptera:

Myrmeleontidae). Esta relação parece ter contribuído para a evolução dos padrões comportamentais de resgate, prevalecendo em formigas, sobretudo em espécies dos gêneros *Cataglyphis*, *Formica* e *Lasius*, todas pertencentes à subfamília Formicinae (Gotelli 1996; Czechowskiet al. 2002; Hollis e Nowbahari 2013a; Miler 2016; Hollis et al. 2017).

Contudo, estudos demonstram que formigas de outras subfamílias, como, Myrmicinae e Ponerinae, também são capazes de exibir algum tipo de comportamento de resgate (Hollis e Nowbahari 2013a; Frank et al. 2017, 2018). Assim, a ocorrência do comportamento de resgate em espécies de formigas relativamente não relacionadas sugere que esse comportamento não é restrito filogeneticamente e que muitos fatores podem contribuir para sua ocorrência. Infelizmente, sabe-se pouco sobre o comportamento de resgate em formigas poneromorfas.

Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar se operárias de *Odontomachus bauri*, quando em situação de aprisionamento podem receber algum tipo de ajuda, na forma de tentativa de resgate por suas companheiras de ninho.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seis colônias de *O. bauri* foram coletadas na área urbana da cidade de Dourados – Mato Grosso do Sul/Brasil (22°13'16'' S; 54°48'20'' W) entre setembro de 2016 à setembro de 2017. A espécie foi confirmada por meio de comparação com espécimes padrão da Coleção de Referência Formicidae do Museu de Micromecologia CEPEC/CEPLAC - Ilhéus, Bahia. Os exemplares deste estudo foram depositados nesta coleção sob o número 5822.

Todas as formigas foram coletadas em troncos ocos de *Caesalpinia pluviosa* DC (Fabaceae) com auxílio de pinças e potes plásticos e, em seguida foram transferidas para o laboratório e acomodadas em ninhos artificiais, confeccionados com bandejas de plástico e moldes de gesso que simulavam as câmaras do ninho, conectadas a uma arena de forrageamento, onde era oferecido recurso alimentar para as colônias.

As colônias permaneceram sob temperatura e umidade controlada por um período de sete dias para habituação, alimentadas com água e mel *ad libitum* em um

algodão umedecido dentro de um eppendorf. Como fonte proteica, foram oferecidas larvas de *Tenebrio molitor* de último instar a cada cinco dias. Após o período de habituação, foram realizados os testes comportamentais.

Tempo de latência e pedido de ajuda de formiga socorrista companheira de ninho

Os testes foram conduzidos com o intuito de responder se as operárias socorristas de *O. bauri* são capazes de atender ao pedido de ajuda de sua companheira de ninho a diferentes distâncias.

Foi criado um sistema de câmaras e conectores de plástico composto de arena (15 cm x 10 cm x 8 cm), onde foram inseridas as socorristas, e câmara de aprisionamento (5 cm x 5 cm x 10 cm), onde havia a formiga presa. Estes dois locais foram interligados por tubo conector de 2 cm de diâmetro, que variou em comprimento para avaliar se, o pedido de ajuda via emissão de sinais, o alcance e a resposta, medida aqui, pelo número de socorristas possa variar em função disto. O comprimento do tubo conector foi de 30, 60 e 90 cm (Fig.1).

Na arena foram inseridas dez forrageadoras, que seriam as pretensas socorristas, as quais foram mantidas presas pelas pernas posteriores dentro de um recipiente de vidro de 10 cm x 10 cm x 2 cm, emborcado para baixo, no centro da arena. Na câmara de aprisionamento uma forrageadora foi presa por meio de uma fita adesiva, seguindo assim a metodologia modificada utilizada em estudos de comportamento de resgate por meio de aprisionamento artificial em formigas (Nowbahari et al. 2009, 2012, 2016; Hollis e Nowbahari 2013a; Duhoo et al. 2017). Antes de cada teste a arena, a câmara de aprisionamento e o tubo conector eram esterilizados com uma toalha embebida em álcool. Os testes foram conduzidos sob condições de laboratório (Temperatura: $25,0 \pm 3^{\circ}\text{C}$).

Em cada uma das três diferentes distâncias de conectores foram testados 30 grupos diferentes de operárias, sempre com formigas distintas um do outro. Nestes grupos haviam 10 operárias na arena de um lado do sistema e 1 operária que foi presa com fita adesiva na câmara de aprisionamento do outro.

O tempo de observação foi de 15 minutos em cada teste a partir do momento em que a formiga foi presa na câmara de aprisionamento e todas as socorristas eram liberadas na arena. Ao final de cada teste, eram contabilizadas quantas socorristas entravam na câmara de aprisionamento, assim foi possível avaliar se a distância poderia influenciar no número de formigas recrutadas para a tentativa de salvamento.

A latência das socorristas em responder ao pedido de ajuda foi calculada de acordo com Nowbahari et al. (2016), que é definida como o tempo entre a entrada da primeira socorrista no tubo conector e a primeira instância da tentativa de resgate da formiga presa por aquela socorrista.

Como controle, os mesmos parâmetros foram medidos, nas mesmas condições e com o mesmo grupo de formigas utilizado em cada teste, entretanto, sem a formiga na câmara de aprisionamento.

Teste de tentativa de resgate de companheiras e não companheiras de ninho

Este teste teve como objetivo avaliar se as operárias socorristas respondem de forma específica ao pedido de ajuda de suas companheiras de ninho (Nowbahari e Hollis, 2010; Miler 2016; Uy et al. 2018). Para isto, foram simuladas três situações de pedidos de ajuda.

O sistema de câmara e conectores neste teste foi adaptado de Yusuf et al. (2014). O sistema compreende em uma arena onde foram inseridas 10 operárias socorristas, que foi conectada a um tubo de 15 cm de comprimento e 2 cm de diâmetro, cuja extremidade havia um conector que permitia a bifurcação em dois outros tubos cada um com 5 cm de comprimento e mesmo diâmetro. Cada um dava acesso a uma câmara de aprisionamento de plástico de 5 cm x 5 cm x 8 cm, onde em pelo menos uma delas havia uma companheira de ninho presa por fita adesiva e na outra, ou não era inserida nenhuma formiga, ou uma formiga de outra colônia e/ou outra espécie (Fig. 2).

O tempo de observação foi de 15 minutos em cada teste a partir do momento em que as formigas foram presas nas câmaras de aprisionamento e todas as socorristas eram liberadas na arena.

Foram conduzidos três séries de experimentos. O primeiro foi para testar se as socorristas eram capazes de reconhecer o pedido de ajuda e direcionar o resgate para sua

companheira de ninho. Desta forma, foi fixada uma operária de *O. bauri* apenas em uma das câmaras de aprisionamento (Fig. 3-A) e a outra permaneceu vazia. Assim foi possível testar se as socorristas atendiam com menor tempo de latência ao pedido de ajuda de sua companheira de ninho. No segundo experimento foi testado se as socorristas de *O. bauri* eram capazes de distinguir o pedido de ajuda entre sua companheira de ninho em detrimento de uma não companheira de ninho. Para este teste, foi fixada em uma câmara de aprisionamento uma companheira de ninho e na outra câmara uma não companheira de ninho (Fig. 3-B). No terceiro experimento em uma câmara de aprisionamento foi fixada uma companheira de ninho e na outra uma operária de outra espécie, neste caso de *Odontomachus chelifer* (Fig. 3-C).

Foram observados e descritos todos os comportamentos desenvolvidos pelas socorristas ao entrar na câmara de aprisionamento, com base naqueles descritos por Nowbahariet al. (2016). Para obter a frequência média de cada ato comportamental executado pelas socorristas, os comportamentos ao final de todos os testes foram somados e divididos pela soma de execução de todos os atos comportamentais.

Análises estatísticas

Foi aplicado o teste *T-student* com os valores médio do número de operárias socorristas que permaneceram na câmara de aprisionamento nos testes executados com os conectores das três distâncias entre os tratamentos e seus respectivos controles. O mesmo teste foi utilizado com o tempo médio de latência das operárias socorristas em atender ao pedido de ajuda nos testes realizados com os conectores das três distâncias entre os tratamentos e seus respectivos controles.

Foi aplicado o teste de *Kruskal-Wallis* utilizando o tempo médio de latência comparando entre as três distâncias dos tratamentos.

O teste *T-student* foi aplicado com os valores médio do número de operárias socorristas que permaneceram na câmara de aprisionamento dos testes executados em cada tubo de decisão.

RESULTADOS

Em todos os testes as socorristas foram até sua companheira de ninho e realizaram comportamentos de resgate proferindo mordidas e ferroadas contra a fita adesiva. O número de socorristas que chegaram até a câmara de aprisionamento foi

maior na distância de 30 cm. Os números médios de formigas na câmara de aprisionamento com a formiga presa e na situação controle estão descritos na tabela 1.

O tempo de latência demonstra que as socorristas demoraram menos para atender ao pedido de ajuda na distância de 30 cm, no qual ocorreu diferença significativa nos testes com e sem formiga. O tempo de latência na câmara de aprisionamento com a formiga presa e na situação controle estão na tabela 2. As diferenças entre o tempo médio de latência das socorristas em atender ao pedido de ajuda da companheira de ninho nos tratamentos nas três distâncias foram significativos apenas na distância de 30 cm (Tabela 3).

Todas as operárias socorristas optaram por pelo menos um dos lados do tubo conector, sendo que o lado em que havia uma formiga da mesma espécie foi o mais escolhido pelas socorristas (Tabela 4). Os comportamentos executados pelas socorristas quando chegavam à câmara de aprisionamento demonstram que as operárias socorristas desenvolveram comportamentos de ajuda apenas para as formigas da mesma espécie, o que não ocorreu com *O. chelifera* (Tabela 5).

DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que as operárias de *O. bauri* são capazes de reconhecer o pedido de ajuda de uma companheira de ninho em situação de aprisionamento. Contudo, conforme aumentou a distância do local, onde a formiga estava presa, para onde as operárias socorristas estavam, houve uma significativa diminuição no número de operárias socorristas que permaneceram na câmara de aprisionamento no final do experimento. O tempo de latência foi significativamente maior quando a distância entre as operárias socorristas e a formiga presa também era maior. O fato de haver um sinal ou sinais emitidos pela formiga presa que poderia ser específico da própria espécie ou mesmo da própria colônia fica mais claro quando analisados os testes de decisão, em que as formigas atenderam sempre ao pedido de ajuda das operárias companheiras e não companheira de ninho, mas não ao pedido de ajuda de uma formiga de outra espécie.

Os sinais envolvidos no pedido de ajuda deve ter um limite de alcance, pois o número de socorristas foi significativamente menor e o tempo de latência maior a medida que a distância entre elas aumentou. Isto fica ainda mais evidente quando

analisadas as diferenças significativas no tempo de latência entre as distâncias. É sabido na literatura que os feromônios de alarme são compostos químicos voláteis utilizados para comunicação por vários insetos sociais (Crewe et al. 1972; Traniello 1982; Blomquist e Bagnères 2010) dentre eles várias espécies de formigas menos derivadas (Robertson 1971; Hölldobler e Taylor 1983; Hölldobler e Wilson 1990), como *O. bauri* (Sainz-Borgo et al. 2011). Hölldobler e Wilson (1990) discutem que estes feromônios de alarme são transmitidos a curtas distâncias e são codificados pelas operárias, as quais podem responder de diversas maneiras, como com o ataque. Neste sentido, o modelo de difusão de Bossert e Wilson (1963) prevê que o feromônio de alarme emitido pelas formigas pode atingir um raio de aproximadamente 20 cm sem corrente de ar. Portanto, neste estudo se as formigas responderam somente aos sinais químicos o alcance destes compostos é relativamente maior, porque mesmo a 90 cm de distância houve alguma resposta. No entanto, deve-se levar em consideração que os testes foram feitos em sistemas de câmaras e tubos o que pode ter ajudado com o fator dispersão e direcionamento dos compostos voláteis.

Por outro lado, as operárias de *O. bauri*, sempre que presas, emitiam um som audível produzido por estridulação. Aqui estamos levantando uma hipótese de que, ainda que necessite ser testada, operárias podem emitir este sinal complementar para recrutar ajuda. Este tipo de sinal é por produção de sinais acústicos com estridulação que é provocada a partir do atrito entre o pecíolo e o gáster (Markl 1965; Taylor 1978; Hölldobler e Wilson 1990; Grasso et al. 2000), já foi observada inclusive em formigas deste gênero (Markl 1973; Golden e Hill 2016). De fato, estes sinais emitidos pelas formigas podem ser entre outros, um pedido de ajuda, como ressaltam vários estudos de comportamento de resgate em formigas (Czechowski et al. 2002; Nowbahari et al. 2009; Nowbahari e Hollis 2010; Miler 2016; Frank et al. 2017, 2018). Desta forma, é possível que as companheiras de ninho possam ter emitido algum sinal químico e/ou sonoro que foi codificado pelas socorristas, e assim, estas foram capazes de direcionar o comportamento de resgate para suas companheiras de ninho. Talvez por isto, as operárias socorristas tenham respondido ao pedido de ajuda mesmo em distâncias maiores do que aquelas em que são relatadas na literatura (Bossert e Wilson 1963).

Em contrapartida, o número de operárias socorristas que atenderam ao pedido de ajuda na câmara de aprisionamento diminuiu significativamente conforme a distância aumentou. Apesar de alguns trabalhos recentes evidenciarem o comportamento de resgate entre companheiras de ninho em formigas poneromorfas (Frank et al. 2017,

2018), não há dados descrevendo qual a distância máxima em que os sinais envolvidos neste comportamento podem alcançar. O comportamento de resgate em formigas como discutido por Hollis e Nowbahari (2013b), demonstra que o número de operárias envolvidas na tentativa de resgate pode garantir maior sucesso. De fato, em insetos sociais, sobretudo em formigas, o comportamento de defesa em grupo (Hölldobler e Wilson 1990), e o comportamentos de resgate (Czechowskiet al. 2002; Hollis e Nowbahari 2013a; Hollis et al. 2015; Frank et al. 2017) já são bem conhecidos e descritos na literatura. Desta forma, nossos resultados sugerem que a distância pode ser um fator preponderante no número de formigas que serão recrutadas para o salvamento, podendo ser desta maneira o fator chave no sucesso de resgate. Neste caso, parece que o pedido será melhor atendido se a formiga capturada não estiver numa distância maior do que 30 cm, ou seja, relativamente próxima à entrada do ninho.

A emissão de sinais por parte da formiga capturada é mesmo preponderante, uma vez que Miler (2016), ao avaliar o comportamento de resgate entre companheiras de ninho de *Formica cinerea*, capturada por formiga leão (*Myrmeleon bore*), em detrimento daquelas que eram presas artificialmente, concluíram que o menor tempo de latência ocorre em formigas que estavam presas artificialmente. Por outro lado, formigas capturadas por formiga leão, são anestesiadas pela ação do composto químico injetado pelo Myrmeleontidae. Por este motivo, as formigas demoram a emitir um sinal de ajuda, resultando em um maior tempo de latência para o resgate (Miler 2016). Os autores concluem ainda que este maior tempo de latência no pedido de ajuda resultou em uma menor expectativa de salvamento em detrimento daqueles que emitiram o pedido de ajuda rapidamente.

Os resultados sugerem que os sinais envolvidos são similares entre colônias da própria espécie. De fato, as operárias socorristas de *O. bauri* atenderam sem diferença significativa tanto aos pedidos de ajuda de companheiras como o de não companheiras de ninho. Alguns trabalhos com formigas têm relatado este comportamento de resgate também para não companheiras de ninho (Taylor et al. 2013; Uy et al. 2018). Uy et al. (2018), ao estudarem este comportamento na formiga *Oecophylla smaragdina*, concluem que colônias com maior similaridade nos modelos de odor podem provocar um “erro” de reconhecimento, podendo ser mais provavelmente confundidas com companheiras de ninho e, portanto, resgatadas. Isto se deve ao fato de que colônias mais próximas possuem maior probabilidade de serem geneticamente aparentadas, resultando em uma maior tolerância entre as colônias mais próximas e aumentando assim a

possibilidade de resgate de não companheiras de ninho (Errard et al. 2006; Newey et al. 2010; Uy et al. 2018). Isto explica o fato das operárias socorristas de *O. bauri* responderem aos pedidos de ajuda também de não companheiras de ninho, haja vista que as colônias foram coletadas a uma distância relativamente próxima o que talvez não tenha possibilitado uma maior diferenciação genética entre elas.

Por outro lado, as operárias socorristas de *O. bauri* quando responderam ao pedido de ajuda de formigas *O. chelifera*, responderam com comportamentos agressivos, ferroando e mordendo a formiga presa (Tab. 5). Nossos resultados corroboram os de Hollis e Nowbahari (2013), que ao testar o pedido de ajuda de cinco diferentes espécies de formigas, avaliaram que, todas elas resgatam suas coespecíficas, mas não formigas de outras espécies, nestes caso também sendo agressivas com estas últimas. Isto então sugere que os sinais envolvidos neste tipo de comportamento são, de fato, específicos no mínimo ao nível de espécie, embora mais análises sejam necessárias para se avaliar qual o nível de especificidade, uma vez que é um comportamento oneroso para quem o executa e resgatar uma formiga de outra colônia sem relativo nível de parentesco não faria sentido do ponto de vista evolutivo.

CONCLUSÕES

Nossos resultados permitem concluir que operárias desta espécie respondem a sinais emitidos por operária que possa ter sido capturada por potencial predador e executam comportamentos na tentativa de resgate. Os sinais envolvidos parecem ter um alcance ótimo, além de ser específico da espécie. Esta espécie emite sinais sonoros por estridulação quando exposta a situação de captura, portanto é possível que além de sinais químicos este tipo de sinal possa estar envolvido, no entanto, serão necessários experimentos para testar especificamente isto.

FIGURAS

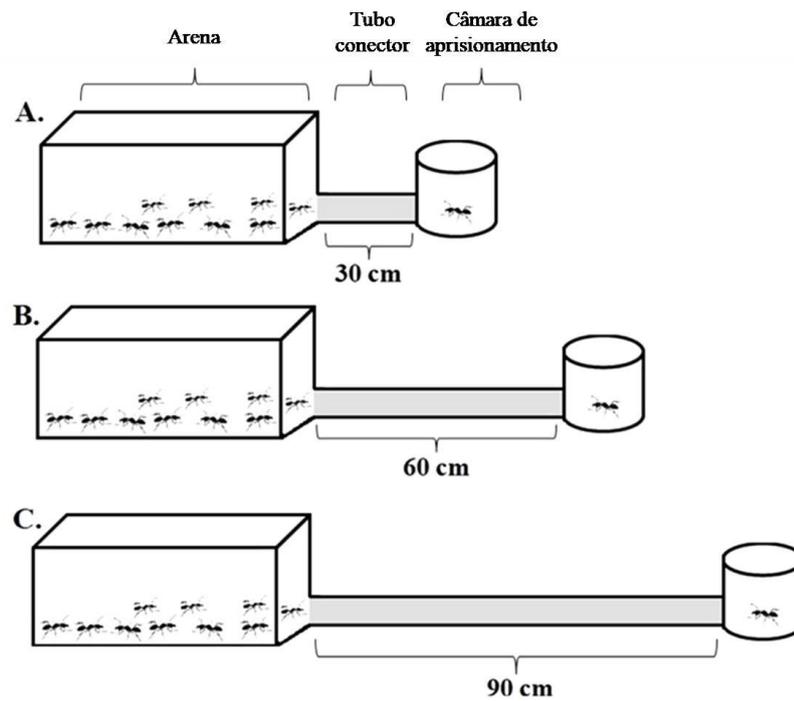


Fig. 1 Esquema utilizado para os testes de latência do comportamento de resgate entre companheiras e não companheiras de ninho de *O. bauri*. **A:** Arena conectada à câmara de aprisionamento através do tubo conector de 30 cm; **B:** Arena conectada à câmara de aprisionamento através do tubo conector de 60 cm; **C:** Arena conectada à câmara de aprisionamento através do tubo conector de 90 cm

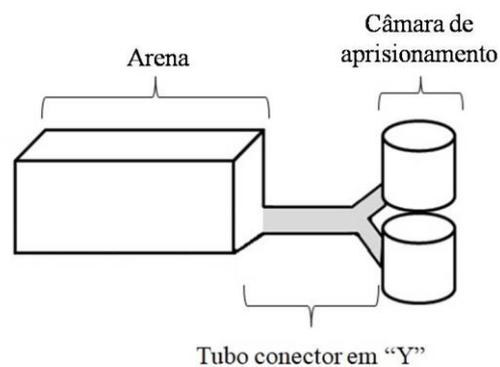


Fig. 2 Esquema utilizado para os testes de tubo de decisão em "Y" do comportamento de resgate entre companheiras e não companheiras de ninho de *O. bauri*

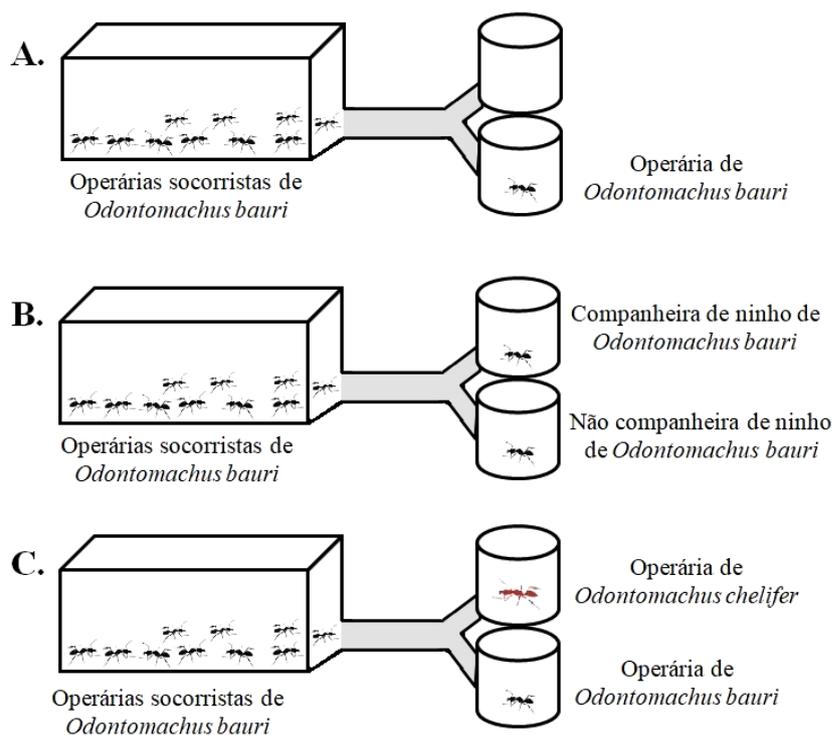


Fig.3 Esquema utilizado para os testes de tubo de decisão em “Y” contendo as operárias socorristas na arena e as operárias na câmara de aprisionamento. **A:** Representa o teste com uma companheira de ninho em uma das câmaras de aprisionamento; **B:** Representa o teste com uma companheira de ninho em uma câmara de aprisionamento e na outra câmara uma não companheira de ninho; **C:** Representa o teste com uma companheira de ninho em uma das câmaras de aprisionamento e uma operária de *O. chelififer* na outra câmara de aprisionamento

TABELAS

Tabela 1. Número médio de formigas socorristas presentes na câmara de aprisionamento quando havia uma formiga presa e quando não havia (controle), e os valores de “p” do teste *T-student*, dos testes executados com a câmara de aprisionamento posicionada em diferentes distâncias da arena.

	Distâncias					
	30 cm		60 cm		90 cm	
	Com formiga	Sem formiga	Com formiga	Sem formiga	Com formiga	Sem formiga
Média de socorristas	8,73 ± 1,05	1,53 ± 1,66	3,53 ± 1,31	3,33 ± 1,49	3,03 ± 1,27	2,06 ± 1,54
Valor de “p”	<0,001		0,54		0,16	
<i>T-student</i>	21,81		0,61		1,43	

Tabela 2. Tempo médio de latência das formigas socorristas presentes na câmara de aprisionamento quando havia uma formiga presa e quando não havia (controle), e os valores de “p” do teste *T-student*, dos testes executados com a câmara de aprisionamento posicionada em diferentes distâncias da arena.

	Distância					
	30 cm		60 cm		90 cm	
	Com formiga	Sem formiga	Com formiga	Sem formiga	Com formiga	Sem formiga
Latência (minutos)	0:29 ± 0,01	2:43 ± 0,01	3:00 ± 0,02	3:03 ± 0,02	9:27 ± 0,21	8:52 ± 0,20
Valor de “p”	<0,0001		0,732		0,955	
<i>T-student</i>	-2,5		0,34		0,05	

Tabela 3. Valores de “p” do teste *Kruskal-Wallis*, comparando entre as distâncias e o tempo médio de latência das formigas socorristas.

Distâncias	Valor de "p"		
	30 cm	60 cm	90 cm
30 cm	-	<0,005	<0,005
60 cm	<0,005	-	NS*
90 cm	<0,005	NS*	-

Kruskal-Wallis= 24,00*Valores não significativos

Tabela 4. Número médio de formigas socorristas presentes na câmara de aprisionamento quando havia uma companheira de ninho presa em um dos lados do tubo conector, e os valores de p do teste *T-student*, dos testes executados com a arena de forrageamento posicionada sob duas câmaras de aprisionamento com diferentes escolhas.

	Testes de decisão					
	Companheira de ninho	Sem formiga	Companheira de ninho	Não companheira de ninho	Companheira de ninho	<i>O. chelifer</i>
Média de socorristas	8,1 ± 1,24	1,00 ± 1,31	5,33 ± 3,45	4,13 ± 3,61	7,60 ± 1,67	1,06 ± 1,17
Valor de "p"	<0,001		0,35		<0,001	
<i>T-student</i>	0,80		0,93		1,31	

Tabela 5. Frequências de comportamentos executados em interações entre as operárias socorristas e a formiga presa durante os experimentos de tomada de decisão em *O. bauri*.

Comportamentos das operárias socorrista	Frequência durante o encontro (%)					
	Sem companheira de ninho	Com companheira de ninho	Companheira de ninho	Não companheira de ninho	<i>O. bauri</i>	<i>O. chelifer</i>
Reconhecimento do indivíduo preso com frequente antenação	0	67,3	61	63,6	70,6	4,3
Puxar com auxílio das mandíbulas o indivíduo preso	0	0	0	0	0	0

Morder ou puxar a fita adesiva com as mandíbulas	0	22,3	24,3	22	27	1
Ferroar ou morder o indivíduo preso	0	0	0	0	0	3,3
Ferroar a fita adesiva	0	70,6	77,3	66,3	67	0,6

REFERÊNCIAS

- Boch, R. Shearer, D.A. (1971) Chemical releasers of alarm behaviour in the honey-bee, *Apis mellifera*. J. Insect Physiol 17: 2277-2285. [https://doi: 10.1016/0022-1910\(71\)90077-1](https://doi.org/10.1016/0022-1910(71)90077-1)
- Breed MD, Guzmán-Novoa E, Hunt GJ. (2004) Defensive Behavior of Honey Bees: Organisation, Genetics, and Comparison with Other Bees. Ann Rev Entomol 49: 271–298. [https://doi:10.1146/annurev.ento.49.061802.123155](https://doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123155)
- Breed MD, Robinson GE, Page RE-Jr. (1990) Division of labor during honeybee colony defense. Behav Ecol Sociobiol 27: 395–401. <https://www.jstor.org/stable/4600497>
- Beponis LM, O'Dea RE, Ohl VA, Ryan MP, Backwell PRY, Binning SA, Haff TM. (2014) Cleaning up after a meal: the consequences of prey disposal for pit-building antlion larvae. Ethology 120: 873–880. <https://doi.org/10.1111/eth.12257>
- Bossert Wh, Wilson Eo. (1963) The analysis of olfactory communication among animals. J. Theor. Biol 5: 443-469. [https://doi.org/10,101/0022-5193\(63\)90089-4](https://doi.org/10.1016/0022-5193(63)90089-4)
- Blomquist GJ, Bagnères AG. (2010) Insect hydrocarbons biology, biochemistry, and chemical ecology. Cambridge University Press, New York.
- Bruschini C, Cervo R, Turillazzi S. (2008) Nesting habit and alarm pheromones in *Polistes gallicus* (Hymenoptera, Vespidae). J Insect Behav 21: 123-129. <https://doi.org/10.1007/s10905-007-9111-2>
- Chiu YK, Mankin RW, Lin CC. (2011) Context-dependent stridulatory responses of *Leptogenys kitteli* (Hymenoptera: Formicidae) to social, prey, and disturbance stimuli. Ann Entomol Soc Am 104: 1012–1020. <https://doi.org/10.1603/an11027>
- Czechowski W, Godzińska EJ, Kozłowski MW. (2002) Rescue behavior shown by workers of *Formica sanguinea* Latr., *F. fusca* L. and *F. cinerea* (Hymenoptera: Formicidae) in response to their nestmates caught by an ant lion larva. Ann Zool 52: 423–431.
- Crewe RM, Blum MS, Collingwood, CA. (1972) Comparative analysis of alarm pheromones in the ant genus *Crematogaster*. Comp. Biochem. Physiol 43: 703-716. [https://doi: 10.1016/0305-0491\(72\)90155-1](https://doi.org/10.1016/0305-0491(72)90155-1)
- Duhoo T, Durand J-L, Hollis KL, Nowbahari E. (2017) Organization of rescue behaviour sequences in ants, *Cataglyphis cursor*, reflects goal-directedness, plasticity and memory. BehavProc 139: 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2017.02.006>
- Deligne J, Coninck E. (2006) Suicidal defence through a dehiscent frontal weapon in *Apilitermes longiceps* soldiers (Isoptera: Termitidae). Belg. J. Entomol 8: 3–10.
- Errard C, Hefetz A, Jaisson P. (2006) Social discrimination tuning in ants: template formation and chemical similarity. Behav Ecol Sociobiol 59: 353–363. [https://doi10.1007/s00265-005-0058-z](https://doi.org/10.1007/s00265-005-0058-z)
- Frank ET, Schmitt T, Hovestadt T, Mitesser O, Stiegler J, Linsenmair KE. (2017) Saving the injured: rescue behavior in the termite-hunting ant *Megaponera analis*. SciAdv 3: e1602187. [https://doi10.1126/sciadv.1602187](https://doi.org/10.1126/sciadv.1602187)

Frank ET, Wehrhahn M, Linsenmair KE. 2018. Wound treatment and selective help in a termite-hunting ant. *Proc. R. Soc. B* 285: 20172457. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2017.2457>

Grasso DAT, Wenseleers T, Mori A, Moli F, Billen J. (2000) Thelytokous worker reproduction and lack of *Wolbachia* infection in the harvesting ant *Messor capitatus*. *Ethol Ecol Evol* 12: 309–314. <http://doi: 10.1080/08927014.2000.9522803>

Golden TMJ, Hill PS. (2016) The evolution of stridulatory communication in ants, revisited. *Insectes Soc*, 63, 309-319. <http:// DOI 10.1007/s00040-016-0470-6>

Gotelli NJ. (1996) Ant community structure: effects of predatory ant lions. *Ecology* 77: 630–638. doi: 10.2307/2265636

Hernández JV, Lopez H, Jaffé k. (2002) Nestmate recognition signals of the leaf cutting ant *Atta laevigata*. *J Insect Physi* 48: 287-295. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(01\)00173-1](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(01)00173-1)

Hölldobler B, Taylor RW. (1983) A behavioral study of the primitive ant, *Nothomyrmecia macrops* Clark. *Insectes Coc* 30: 384-401. <https://doi.org/10.1007/BF02223970>

Hölldobler B, Wilson EO. (1990) *The ants*. Harvard University Press, Cambridge.

Hollis KL, (2017) Ants and antlions: the impact of ecology, coevolution and learning on an insect predatory prey relationship. *Behav Proc* 139: 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2016.12.002>

Hollis KL, Harrsch FA, Nowbahari E. (2015) Ants vs. antlions: an insect model for studying the role of learned and hard-wired behavior in coevolution. *Learn Motiv* 50: 69–82. <https://doi.org/10.1016/j.lmot.2014.11.003>

Hollis KL, Nowbahari E. (2013-a) A comparative analysis of precision rescue behavior in sand-dwelling ants. *Anim Behav* 85: 537–544. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2012.12.005>

Hollis KL, Nowbahari E. (2013-b) Toward a behavioral ecology of rescue behavior. *Evol Psychol* 11: 647–664. <https://doi.org/10.1177/147470491301100311>

Howard RW, Blomquist GJ. (2005). Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu Rev Entomol* 50: 371–393. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.50.071803.130359>

Hollis KL, Harrsch FA, Nowbahari E. (2015) Ants vs. antlions: an insect model for studying the role of learned and hard-wired behavior in coevolution. *Learning Motivation* 50: 68–82, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.lmot.2014.11.003>

Hou C, Kaspari M, Zanden HBV, Gillooly J.F. (2010). Energetic basis of colonial living in social insects. *Proc. Natl Acad. Sci* 107: 3634-3638. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908071107>

Jaffé K, Marcuse M. (1983) Nestmate recognition and territorial behaviour in the ant *Odontornachus bauri* Emery (Formicidae: Ponerinae). *Ins. Soc* 30: 466-481.

- Jeanne RL. (1991) The swarm-founding Polistinae,. In: Ross KG, Mathews R.W. (eds) The social biology of wasps. Itaca, Comstock, pp 191-231.
- Lahav S, Soroker V, Hefetz A, Vander Meer RK. (1999) Direct behavioral evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. *Naturwissenschaften* 86: 246–249. DOI: 10.1007/s001140050609
- Li J, Wang Z, Tan K, Qu Y, Nieh JC. (2014) Effects of natural and synthetic alarm pheromone and individual pheromone components on foraging behaviour of the giant Asian honey bee, *Apis dorsata*. *J Exp Biol* 217: 3512-3518. <https://doi.org/10.1242/jeb.110171>
- Lenoir A, Hefetz A, Simon T, Soroker V. (2001) Comparative dynamics of gestalt odour formation in two ant species *Camponotus fellah* and *Aphaenogaster senilis* (Hymenoptera: Formicidae). *Physiol Entomol* 26: 275–283. <https://doi.org/10.1046/j.0307-6962.2001.00244.x>
- Markl H, Hölldobler B. (1978) Recruitment and food-retrieving behavior in *Novomessor* (Formicidae, Hymenoptera): II vibration signals. *Behav Ecol Sociobiol* 4: 183–216. <https://doi.org/10.1007%2FBF00354978>
- Markl, H. 1965. Stridulation in leaf-cutting ants. *Science* 149: 1392-1393. <https://doi.org/10.1126/science.149.3690.1392>
- Markl H. (1973) The evolution of stridulatory communication in ants. *P Int Cong IUSSI, London*, 7: 258-265.
- Miler K. (2016) Moribund ants do not call for help. *PLoS One* 11: e0151925. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151925>
- Morse RA, Laigo FM. (1969) *Apis dorsata* in the Philippines. *Assoc Entomol, Phillip*.
- Morgan ED, Nascimento RR, Keegans SJ, Billen J. (1999) Comparative study of mandibular gland secretions of workers of ponerine ants. *J. Chem. Ecol* 25: 1395–1409. <http://doi.org/10.1023/A:1020987028163>
- Nowbahari E, Amirault C, Hollis KL. (2016) Rescue of newborn ants by older *Cataglyphis cursor* adult workers. *Anim Cogn* 19: 543–553. <http://doi.org/10.1007/s10071-016-0955-8>
- Nowbahari E, Hollis KL, Durand J-L. (2012) Division of labor regulates precision rescue behavior in sand dwelling *Cataglyphis cursor* ants: to give is to receive. *PLoS One* 7: e48516. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048516>
- Nowbahari E, Scohier A, Durand J, Hollis KL. (2009) Ants, *Cataglyphis cursor*, use precisely directed rescue behavior to free entrapped relatives. *PLOS One* 4: e6573. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006573> PMID: 19672292
- Nowbahari E, Hollis KL. (2010) Rescue behavior. Distinguishing between rescue, cooperation and other forms of altruistic behavior. *Commun Integr Biol* 3: 77–79. <https://doi.org/10.4161/cib.3.2.10018> PMID: 20585494

- Newey PS, Robson SKA, Crozier RH. (2010) Weaver ants *Oecophylla smaragdina* encounter nasty neighbors rather than dear enemies. *Ecology* 91: 2366–2372. <https://doi.org/10.1890/09-0561.1>
- Powell S, Clark E. (2004) Combat between large derived societies: A subterranean army ant established as a predator of mature leaf-cutting ant colonies. *Insectes Soc* 51: 342–351. <https://doi.org/10.1007/s00040-004-0752-2>
- Powell S. (2008) Ecological specialization and the evolution of a specialized caste in *Cephalotes* ants. *Funct Ecol* 22: 902–911. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01436.x>
- Pepper JW, Herron MD. (2008) Does biology need an organism concept? *Biol Rev* 83: 621–627. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00057.x>
- Robertson PL. (1971) Pheromones involved in aggressive behaviour in the ant *Myrmecia gulosa*, ft. *Insect Physiol.* 17: 691–715. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(71\)90117-X](https://doi.org/10.1016/0022-1910(71)90117-X).
- Roubik DW. (1989) *Ecology and natural history of tropical bees.* University, Cambridge, Cambridge.
- Siebenaler JB, Caldwell DK. (1956). Cooperation among adult dolphins. *J. Mamm* 37: 126–128. <https://doi.org/10.2307/1375558>
- Stuart RJ, Bell PD. (1980) Stridulation by workers of the ant *Leptothorax muscorum* (Nylander) (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche* 87: 199–210. <http://dx.doi.org/10.1155/1980/46583>
- Strassmann, JE, Queller DC. (2010) The social organism: congresses, parties, and committees. *Evolution* 64, 605–616. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00929.x>
- Sainz-Borgo C, Cabrera AE, Hernández JV. (2011) Nestmate recognition in the ant *Odontomachus bauri* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiol* 58: 1–18. <https://doi.org/10.1007/BF02223978>
- Taylor K, Visvader A, Nowbahari E, Hollis KL. (2013) Precision rescue behavior in North American ants. *Evol Psychol* 11: 665–677. <https://doi.org/10.1177/147470491301100312>
- Taylor F. (1978) Foraging behavior of ants: theoretical considerations. *J Theo Biol* 71: 541–565. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(78\)90324-7](https://doi.org/10.1016/0022-5193(78)90324-7)
- Traniello JFA, (1982) Population structure and social organization in the primitive ant *Amblyopone pallipes* (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche* 89: 65–80. <http://dx.doi.org/10.1155/1982/79349>
- Uy FMK, Adcock JD, Jeffries SF, Pepere E. (2018) Intercolony distance predicts the decision to rescue or attack conspecifics in weaver ants. *Insec Soc* 1–8, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00040-018-0674-z>

Vogel ER, Fuentes-Jiménez A. (2006). Rescue behavior in white-faced capuchin monkeys during an intergroup attack: Support for the infanticide avoidance hypothesis. *J Primat* 68: 1012-1016. <https://doi.org/10.1002/ajp.20286>

Wang Z, Wen P, Qu Y, Dong S, Li J, Tan K, Nieh JC. (2016). Bees eavesdrop upon informative and persistent signal compounds in alarm pheromones. *Scientific Reports* 6: e25693. <https://doi.org/10.1038/srep25693>

Wheeler JW, Blum MS. (1973) Alkylpyrazine alarm pheromones in ponerine ants. *Science* 182: 501-503. <https://doi.org/10.1126/science.182.4111.501>

Wilson EO. (1976) A social ethogram of the neotropical arboreal ant, *Zacryptocerus varians* (Fr. Smith). *Anim. Behav* 24: 354–363. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(76\)80043-7](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(76)80043-7)

Yusuf AA., Crewe RM, Pirk CW. (2014) Olfactory detection of prey by the termite-raiding ant *Pachycondyla analis*. *J Insect Sci* 14: 53. <https://doi.org/10.1093/jis/14.1.53>