

LAILLA CRISTINA GANDRA

FORMIGAS-CORTADEIRAS *versus* CHAGUINHA (*Tropaeolum majus*): PERSONALIDADE, REDE SOCIAL E TOXICIDADE

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

Gandra, Lailla Cristina, 1989-
G196f Formigas-cortadeiras versus chaguinha (*Tropaeolum majus*)
2018 : personalidade, rede social e toxicidade / Lailla Cristina Gandra.
– Viçosa, MG, 2018.
xi, 91 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Terezinha Maria Castro Della Lucia.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Formiga-cortadeira - Controle. 2. Formiga-cortadeira -
Comportamento. 3. Formiga-cortadeira - Efeito do stress. 4. *Tropaeolum majus* - Toxicologia . I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de
Pós-Graduação em Entomologia. II. Título.

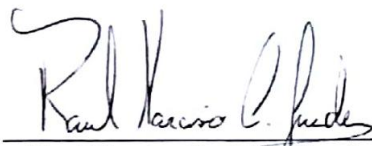
CDD 22. ed. 632.796

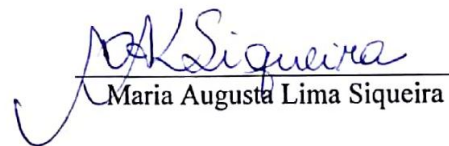
LAILLA CRISTINA GANDRA


FORMIGAS-CORTADEIRAS *versus* CHAGUINHA (*Tropaeolum majus*): PERSONALIDADE, REDE SOCIAL E TOXICIDADE

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 21 de fevereiro de 2018.


Raul Narciso Carvalho Guedes
(coorientador)


Maria Augusta Lima Siqueira


Cidália Gabriela Santos Marinho


Wagner Faria Barbosa


Terezinha Maria Castro Della Lucia
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, por todos os anos em que foi mais que escola. Por abrir as portas do conhecimento e permitir a criação de laços mais fortes do que eu poderia ter imaginado nesses 10 anos.

Ao Programa de Pós-graduação em Entomologia e seus professores por dividirem o conhecimento e oferecer recursos para o aperfeiçoamento tanto profissional quanto pessoal.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

À professora Terezinha Della Lucia, mais que uma orientadora um exemplo profissional e pessoal de excelência no trabalho, amizade, amor e dedicação. Agradeço imensamente todos os anos nos quais me acolheu além do laboratório com palavras de compreensão e incentivo. Por ser exemplo máximo da profissional que quero me tornar a partir de agora.

Ao professor Raul Guedes. Dono das grandes ideias. Agradeço por toda contribuição para a realização deste trabalho. Pelas ideias, disponibilidade, revisão estatística e discussão que sempre enriqueceram a mim e a tese.

Aos membros da banca pela disponibilidade e comentários que enriqueceram o trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Formigas-cortadeiras: Sr Manoel, Joel, Bressane e Karina pela ajuda nos experimentos, pelo companheirismo e boas risadas que deixaram mais leves os dias.

Ao *TeamRaul* por toda ajuda, por serem sempre prestativos para a realização dos experimentos, análises estatísticas e discussão. Aqui agradeço em especial ao Leonardo Turchen que muito contribuiu para meu conhecimento de personalidade e redes.

Ao laboratório de Bioinformática, nas pessoas do Professor Cosme Cruz e do pós-doutor Renato Rosado, pelo auxílio nas análises de partição da variância.

Aos amigos da pós-graduação que dividiram comigo os desesperos dos trabalhos e provas e que muito me ensinaram durante os momentos de estudos.

Aos amigos do Insetário, pelos almoços e momentos de descontração que aliviam as pressões do dia-dia.

Aos meus pais, Manoel e Maria das Graças, por acreditarem que eu chegaria até aqui. Agradeço pelo apoio e amor incondicional.

À minha avó, Maria Henriques, que finalmente verá sua primeira neta doutora, pelo exemplo de força e coragem a cada dia.

À família como um todo, especialmente minha prima-irmã Dulce, com quem compartilho todas as aventuras dessa vida, obrigada pela torcida, incentivo e a alegria da partilha.

À minha família viçosense Azevedo-Valente pelo acolhimento em todos esses anos de Viçosa. Sempre foram refúgio para bons cafés, grandes conversas e colo nas horas em que me vi sozinha.

Aos amigos da BIO2007 que faço questão de levar para a vida e espero revê-los a cada baile de ex-alunos.

Aos amigos que a vida aproximou, seja aqui em Viçosa ou espalhados por esse mundo.

À Ana Flávia, minha psicóloga, que talvez sem ela eu não teria forças para estar aqui hoje. Não tenho palavras para agradecer o quanto cresci nesses anos juntas.

E por fim, mas não menos importante, à “Tropa” pela presença mesmo na ausência. Pelo amor mesmo na distância. Pelas palavras de incentivo nos momentos ruins e pelas palavras de alegria nas vitórias. Pelas flores no aniversário, pelas problematizações chatas, pelas risadas de perder o fôlego... Pelos encontros e desencontros que nos fazem maiores a cada dia.

BIOGRAFIA

LAILLA CRISTINA GANDRA, filha de Manoel Gandra e Maria das Graças Miranda Gandra, nasceu em Rio Casca, em 15 de março de 1989.

Em 2007 iniciou o Curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais. Em março de 2008 iniciou um estágio em pesquisa no Laboratório de Formigas-Cortadeiras/Entomologia – Departamento de Biologia Animal da UFV, onde foi bolsista de iniciação científica FAPEMIG por dois anos consecutivos. De março a dezembro de 2008 foi monitora voluntária das disciplinas de Zoologia dos Invertebrados I e II do Departamento de Biologia Animal da UFV. De abril de 2011 a dezembro de 2011 foi monitora oficial da disciplina de Entomologia Geral do Departamento de Entomologia da UFV.

Em janeiro de 2012, graduou-se em Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Viçosa. Em março do mesmo ano, iniciou o Curso de Mestrado na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de biologia e controle de formigas-cortadeiras, terminando-o em fevereiro de 2014.

Iniciou o curso de Doutorado em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa em março de 2014, defendendo sua tese em fevereiro de 2018.

ÍNDICE

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
CAPÍTULO I – PERSONALIDADE EM FORMIGAS-CORTADEIRAS: HIERARQUIZAÇÃO E ESTRESSE MEDIADO POR RECURSO FORRAGEIRO.....	12
Resumo	12
Abstract.....	14
1. Introdução	15
2. Materiais e Métodos:.....	18
2.1. Manutenção das colônias em laboratório:.....	18
2.2. Bioensaios:.....	18
2.3. Análises estatísticas:.....	22
3. Resultados	23
3.1. Análise de partição da variância:	23
3.2. Análise de variância:	23
3.3. Correlações:.....	24
3.4. Análise de fator:	24
3.5. Adaptabilidade:	25
4. Discussão	25
5. Conclusões	32
CAPÍTULO II - REDE SOCIAL E FLUXO DE INFORMAÇÕES ENTRE CASTAS DE FORMIGAS-CORTADEIRAS MEDIADAS POR ESTRESSORES NATURAIS	42
Resumo	42
Abstract.....	44
1. Introdução	45
2. Materiais e métodos.....	48
2.1. Manutenção das colônias em laboratório	48
2.2. Bioensaios	48
3. Resultados	51
4. Discussão	52

5. Conclusão	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
CAPÍTULO III – TOXICIDADE DE QUERCETINA A OPERÁRIAS DE FORMIGAS-CORTADEIRAS E AO SEU FUNGO SIMBIONTE	68
Resumo	68
Abstract	69
1. Introdução	70
2. Materiais e métodos:	72
2.1 Isolamento do fungo simbiote:.....	72
2.2 Escolha da quercetina.....	73
2.3 Bioensaios de toxicidade da quercetina às operárias por ingestão.....	73
2.4 Bioensaios de toxicidade ao fungo simbiote.....	74
2.5 Análises estatísticas.....	75
3. Resultados	75
3.1 Toxicidade da quercetina às operárias por ingestão.....	75
3.2. Toxicidade da quercetina ao fungo simbiote.....	76
4. Discussão	76
5. Conclusão	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

RESUMO

GANDRA, Lailla Cristina, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Formigas-cortadeiras versus chaguinha (*Tropaeolum majus*): Personalidade, rede social e toxicidade.** Orientadora: Terezinha Maria Castro Della Lucia. Coorientador: Raul Narciso Carvalho Guedes.

A maioria das espécies vegetais cultivadas e utilizadas pelo homem é susceptível às formigas-cortadeiras, as quais cultivam o fungo *Leucoagaricus gongylophorus* como fonte de suprimento alimentar. Para manter o fungo viável, as formigas utilizam de uma gama de substratos que são constantemente renovados. No entanto, essas formigas são capazes de refinar a escolha dos vegetais, por que percebem diferenças mínimas nas folhas. O forrageamento é uma tarefa de grande importância na vida da colônia e envolve uma série de comportamentos que se diferem consistentemente e se moldam dependendo do contexto em que estão inseridas. Estas diferenças comportamentais, se consistentes ao longo do tempo, são definidas como personalidade e potencialmente afeta o forrageamento da colônia. Diferentes personalidades podem interferir também na rede de interação entre as operárias e suas redes sociais. Assim, estressores que modifiquem aspectos comportamentais da vida das colônias de formigas-cortadeiras potencialmente vertem-se em ferramentas alternativas para o manejo desses indivíduos. Neste cenário, o objetivo deste trabalho foi: 1) reconhecer e traçar a personalidade das colônias de formigas quenquéns das subespécies *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* e possíveis alterações desta após provimento de um substrato considerado danoso à colônia como as folhas de chaguinha (*Tropaeolum majus* L. Tropaeolaceae); 2) reconhecer as redes sociais nessas colônias, seus pontos centrais e contrastar as redes encontradas sob diferentes recursos alimentares; e 3) avaliar a toxicidade da quercetina, material advindo do fracionamento de folhas de chaguinha, às operárias dessas duas subespécies de cortadeiras e ao fungo simbionte. Para tanto, as colônias foram mantidas em laboratório a $25\pm 5^{\circ}\text{C}$, 75 ± 5 U.R. e 12:12 (L:E). Cinco dimensões da personalidade foram avaliadas, a saber: agressividade, atividade, atrevimento, exploração e sociabilidade. Estas dimensões foram avaliadas através do número de ações realizadas em bioensaios explorando cada uma das dimensões. A variação da personalidade foi determinada principalmente como resultado das colônias, não das subespécies. Verificou-se, ainda, sua alteração mediante o provimento de folhas de chaguinha, e redução da viabilidade do fungo simbionte. As redes sociais foram formadas a partir da contagem das interações dos indivíduos de cada

grupo de operárias após o encontro de dois estímulos: material vegetal e presença de indivíduos heteroespecíficos. As redes apontam as castas forrageadora e lixeira como as mais centrais nas redes e a casta das babás ou jardineiras como a mais periférica em ambos os tratamentos. Os números de interações entre as castas após o oferecimento de capuchinha foram menores. Sabendo da capacidade de chaguinha de alterar o comportamento das operárias e de reduzir a viabilidade do fungo, a quercetina, material obtido do fracionamento de suas folhas, foi diluída em dieta de água e mel na concentração de 5 mg/mL. A quantidade de 1mL de dieta acrescida com quercetina foi oferecida às operárias e alcançou mortalidade de 100% ao longo de três dias. O material ainda foi testado contra o fungo isolado em placa de Petri; no entanto, não apresentou efeitos significativos em sua inibição. Este trabalho mostrou que chaguinha é capaz de alterar a personalidade das colônias, interferir nas redes sociais e causar mortalidade de operárias, figurando, portanto, entre as espécies vegetais promissoras no controle de formigas-cortadeiras.

ABSTRACT

GANDRA, Lailla Cristina, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Leaf-cutting ants versus chaguinha (*Tropaeolum majus*): Personality, network and toxicity.** Advisor: Terezinha Maria Castro Della Lucia. Co-advisor: Raul Narciso Carvalho Guedes.

Most vegetal species used by humans are vulnerable to leaf-cutting ants. They cultivate the fungus *Leucoagaricus gongylophorus* as a food source and, to keep the fungus viable, the ants use a range of plant substrates that are regularly renewed. Furthermore, these ants are able to refine the vegetal choices by detecting minimum differences in the leaves. Foraging is a very important task in the colony's life and involves a series of behaviors that differ and adjust repeatedly, depending on the circumstances. Such consistent behavioral differences across time and/or scenarios are recognized as personality. Different personalities that may interfere in the construction of the interactions web involving workers are called social networks. As stressors that affect behavioral traits in the leaf-cutting ant colonies are potentially useful as alternatives pest management tools against this pest species, they were the focus of the present study. The objective of this work was: 1) to trace the colony personalities of the species *Acromyrmex subterraneus subterraneus* and *Acromyrmex subterraneus molestans*, as well as to assess their possible alterations after provision of leaves of *Tropaeolum majus*, a plant considered toxic to the colonies; 2) to recognize the social networks and their central points and to compare the founded networks under different food sources, including *T. majus*; and 3) to evaluate quercetin toxicity, a chemical obtained from *T. majus* leaf fractions, to the workers of these ants species and to the symbiotic fungus. For this, the colonies were maintained under laboratory conditions of $25\pm 5^{\circ}\text{C}$, $75\pm 5\%$ R.U. and 12:12 hours (L:D). Five dimensions (aspects) of personality were assessed through specific bioassays: aggressiveness, activity, boldness, exploration and sociability. Personality variation was found to come mainly from the individual colonies, not from the species; their change was confirmed when *T. majus* leaves were used and also because the fungus garden suffered reduction in viability. The social networks evolved after the release of two stimuli: the vegetable sources and the addition of a heterospecific; the interaction numbers between individuals after stimuli of each worker groups served as confirmation. The networks indicated that the foragers and waste workers are the most central points and the minima workers are the most secluded points in both treatments. The interaction numbers among castes were smaller after use

of *T. majus* leaves. Knowing the *T. majus* ability of triggering worker behavioral changes and of reducing the fungus viability, 5 mg of quercetin in 1 mL of water and honey solution (1:1) were offered to the workers via ingestion and resulted in 100% of mortality in three days. Quercetin was also tested against the isolated fungus but did not produce inhibitory effects. This work showed that leaves of *T. majus* are able to alter personalities, to interfere in social networks and to cause worker mortality, standing out among the promising plant species for the leaf-cutting ant control.

INTRODUÇÃO GERAL

A maioria das espécies vegetais cultivadas e utilizadas pelo homem é suscetível às formigas-cortadeiras, cultivadoras de fungo, que causam danos às raízes, caules, folhas, frutos ou sementes, interferindo no desenvolvimento e propagação de espécies cultivadas ou nativas. O fungo *Leucoagaricus gongylophorus* é parceiro simbiótico de formigas-cortadeiras (SCHIØTT *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2006) e o alto nível de vitalidade das colônias das cortadeiras depende das condições em que esse fungo se apresenta (MONTROYA-LERMA *et al.*, 2012). Para fornecer o suprimento adequado de nutrientes ao fungo, essas formigas necessitam manter a variedade de substratos e, por isso, renovam constantemente suas fontes vegetais (RIBEIRO; MARINHO, 2011).

As formigas-cortadeiras são consideradas polípagas. No entanto, muitas espécies de plantas não são cortadas. Esse fato indica que esses insetos fazem uma discriminação entre os vegetais (RIBEIRO; MARINHO, 2011; VIANA-BAILEZ *et al.*, 2011), sendo capazes de perceber ínfimas diferenças na qualidade da folha. Propriedades químicas, como presença de grupamentos químicos, e físicas tais como pilosidade e resistência da folha ao corte, podem estar associadas com a preferência (MONTROYA-LERMA *et al.*, 2012; RIBEIRO; MARINHO, 2011). Essa capacidade de avaliação permite às formigas identificarem quase que de imediato as substâncias que interferem no funcionamento da colônia, sejam elas tóxicas ou repelentes.

Uma espécie vegetal evitada pelas formigas provavelmente possui alguma característica nociva às colônias. O prejuízo pode ser consequência da toxicidade dos compostos da planta que agem sobre o fungo ou sobre as próprias formigas (GANDRA *et al.*, 2016). Entre as principais substâncias que podem ser prejudiciais às colônias das cortadeiras estão as que causam intoxicação e posterior morte como, alcaloides e

terpenos; e as modificadoras do comportamento como o β -eudesmol (MARINHO *et al.*, 2005; RIBEIRO *et al.*, 2007). Este último composto possui efeitos deletérios apenas para o gênero *Atta*. Há casos em que um composto é mais efetivo para uma espécie de formiga do que para outra. Uma substância que seja eficiente sobre as várias espécies de cortadeiras deveria ser buscada nas diversas investigações nessa área.

Plantas que não são alvo das formigas podem proteger as culturas do corte pelas cortadeiras através de sua repelência ou agindo como armadilhas para as forrageadoras, podendo ainda serem utilizadas no desenvolvimento de produtos tóxicos às operárias e provocar a extinção das colônias (BUENO; BUENO, 2011). Em muitas espécies de plantas, além das folhas, os frutos são uma reserva de material tóxico e a toxicidade de componentes químicos depende da espécie que recebe o composto e do modo como é absorvido e excretado pelos indivíduos (BUENO *et al.*, 1990).

Grande número de vegetais é considerado tóxico às cortadeiras. Dentre esses, *Sesamum indicum* (gergelim), *Azadirachta indica* (nim), *Ricinus communis* (mamona) e *Dimorphandra mollis* (favinha). O primeiro, quando oferecido às operárias eleva sua taxa de mortalidade (MORINI *et al.*, 2005). Já o segundo provoca alterações no comportamento, além de desorientação e prostração, sintomas estes que refletem toxicidade significativa (SANTOS-OLIVEIRA *et al.*, 2006). *Ricinus communis* possui efeito cumulativo causando redução ou perda total de locomoção, desorientação, falta de coordenação e morte (BIGI *et al.*, 2004). *Dimorphandra mollis* resulta na morte das formigas independentemente do modo de administração do vegetal (CINTRA *et al.*, 2005). Outros vegetais como a batata doce (*Ipomoea batatas*) (VIEIRA *et al.*, 1997), o feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) (TAKAHASHI-DEL-BIANCO, 2002), *Eucalyptus maculata* (MARSARO JR *et al.*, 2004; MARINHO *et al.*, 2005; MARINHO *et al.*, 2006), o cedro (*Cedrela fissilis*) (BUENO *et al.*, 2005), *Cipadessa fruticosa*

(LEITE *et al.*, 2005) e *Ageratum conyzoides* (mentrasto) (GANDRA *et al.*, 2011; MORAIS *et al.*, 2015) também são considerados vegetais inseticidas em potencial no controle das cortadeiras. Há ainda plantas que possuem pronunciada ação fungicida, como é o caso de *Tithonia diversifolia* (margaridão ou girassol mexicano) (RODRIGUEZ *et al.*, 2015).

É comum observar respostas distintas entre colônias de insetos sociais quando expostas a um mesmo substrato. Formigas-cortadeiras, assim como indivíduos de colônias de outros insetos sociais, diferem consistentemente no comportamento e essas diferenças não são incomuns. Isto é frequentemente interpretado como um efeito da alocação de operárias para realização de uma determinada tarefa (JANDT *et al.*, 2014). Uma diversidade de fatores ambientais pode influenciar a maneira como esses comportamentos se apresentam: fatores abióticos (ex.: temperatura), ambiente ecológico (ex.: disponibilidade de alimentos e competição) e o ambiente social (ex.: taxas de interação e comunicação) (JANDT *et al.*, 2014; PINTER-WOLLMAN, 2012). Também a nutrição dos indivíduos e a saúde do fungo simbiote costumam afetar o comportamento das operárias e por consequência da colônia. Algumas diferenças na maneira de se comportar das colônias se tornam evidentes e se moldam, seja devido ao ambiente em que estão inseridas, seja como resultado de uma pressão ecológica a que estão submetidas (RÉALE *et al.*, 2007; TREMMEL; MÜLLER, 2013).

Diferenças comportamentais individuais consistentes temporariamente ao longo de um ou mais eixos ecológicos são definidas por MODLMEIER *et al.* (2015) como personalidade. De maneira simplificada seriam características que descrevem padrões consistentes que se repetem dentro um determinado conjunto de condições ambientais (RÉALE *et al.*, 2007) e que variam ao longo de contextos e tempo (GOSLING, 2001), por meio de correlações dentro das conjunturas ecológicas (PINTER-WOLLMAN,

2012). Assim, medidas empíricas inferidas referentes à integração de tendências comportamentais cunham o conceito de personalidade (MORALES *et al.*, 2013; RÉALE *et al.*, 2007)

Fortes correlações significativas entre as tarefas e/ou comportamentos e perfis sociais permitem rejeitar ou suportar hipóteses acerca do papel da estrutura social na organização e divisão de trabalho (MERSCH, 2016). Se as correlações entre os perfis sociais e comportamentos persistem ao longo do tempo, elas podem definir a personalidade das operárias (JANDT *et al.*, 2014). Múltiplas personalidades que coabitam a sociedade podem impactar o funcionamento social e a estrutura através do aumento da coordenação, diversificação na resolução de problemas e modulação das interações sociais na colônia que podem interferir na construção da “rede social” apresentada pelas colônias (MERSCH, 2016).

Rede ou *network*, em termos gerais, são as ligações entre indivíduos que propiciam troca de subsídios dentro dos grupos dos quais fazem parte. As redes sociais são uma ampla classe de redes que caracterizam sociedades humanas e animais (WATERS; FEWELL, 2012). Uma rede social é uma figura estática agregada ao tempo de uma dinâmica social que ocorreu em um dado intervalo de tempo (MERSCH, 2016). A auto-organização, por exemplo, é vista como uma rede de unidades interconectadas e conexões são fundamentais para a percepção dos estímulos ambientais, coordenando a ação de uma variedade de indivíduos, culminando em respostas efetivas necessárias para o funcionamento de uma colônia (NAUG, 2009). No caso das formigas-cortadeiras, essa rede entre os indivíduos é de grande importância para a colônia. Através dela são transmitidas alimentos, bem como elementos que auxiliam no reconhecimento de moléculas potencialmente tóxicas (SENDOVA-FRANKS *et al.*, 2010).

As redes sociais das cortadeiras envolvem a interação principalmente entre operárias. Portanto, pode-se pressupor que existam entre elas indivíduos ou grupos de indivíduos que podem ser considerados importantes na difusão de informações acerca dos ambientes interno e circundante das colônias. Isso porque operárias-chaves estariam sujeitas a um maior fluxo de elementos trazidos pelas companheiras de ninho sendo pontes diretas de transferência de conteúdo entre elas (SENDOVA-FRANKS *et al.*, 2010). A identificação de tais pontos-chaves da rede poderia auxiliar em um controle mais efetivo uma vez que esses indivíduos poderiam se tornar alvos diretos dos produtos utilizados no combate às formigas-cortadeiras.

O histórico do controle de formigas-cortadeiras envolve uma ampla variedade de métodos, que vão desde técnicas domésticas a métodos de controle químico, incluindo o uso de diversas moléculas químicas e compostos inorgânicos, a substâncias mais modernas, como a sulfluramida e o fipronil (DELLA LUCIA *et al.*, 2014). O controle químico é a técnica comumente usada, mas esses ingredientes ativos têm sido classificados pelas certificadoras nacionais e internacionais como poluentes e seu uso tem sido banido ou restrito (DELLA LUCIA *et al.*, 2014; MONTROYA-LERMA *et al.*, 2012). Portanto, para assegurar sua certificação, as grandes companhias de reflorestamento, principais consumidores de produtos para controle de formigas-cortadeiras, encontram-se em constante busca por alternativas aos compostos sintéticos em uso (DELLA LUCIA *et al.*, 2014).

A pressão pela descoberta de novas moléculas formicidas abriu caminho para o aprofundamento das pesquisas na área dos compostos naturais. Esta visa, fundamentalmente, a utilização de compostos advindos de plantas, que quando usado em acordo com a legislação pode vir a se tornar uma ferramenta útil no manejo das cortadeiras.

Uma família de plantas que conhecidamente tem potencial para ser utilizada como matéria prima nessas pesquisas é a família das Tropaeolaceae, a qual pertence a espécie *Tropaeolum majus*, uma planta originária do Peru, conhecida popularmente como chaguinha, que pode agir como repelente a insetos herbívoros. Esse vegetal é amplamente utilizado na medicina, como planta ornamental e hortaliça não convencional (SILVA *et al.*, 2011). No entanto, poucos trabalhos são encontrados mostrando a eficácia dessa planta como pesticida; muito se conhece sobre sua ação antibacteriana (BOULOGNE *et al.*, 2012). PIVOTO *et al.* (2010) mostraram eficiente ação carrapaticida do extrato etanólico de diversas partes aéreas de capuchinha. RIBEIRO (2008) observou mortalidade de colônias de *Acromyrmex subterraneus molestans* após oferecimento de folhas desse vegetal para forrageamento.

Diante do exposto, hipotetiza-se que a alimentação restrita às plantas que, aparentemente, se apresentam tóxicas às colônias poderia levar a uma modificação de comportamento, conseqüentemente alterando sua personalidade e sua rede de interações, o que pode interferir no desempenho da colônia, e também culminar em sua morte. Assim, considera-se de grande importância o estudo de novos compostos que possam ser uma alternativa no controle das formigas-cortadeiras, uma vez que o mercado carece de opções viáveis e funcionais para o combate dessa importante praga.

Esta tese está dividida em uma introdução geral e três capítulos.

- O objetivo no primeiro capítulo foi distinguir os traços da possível personalidade das colônias das formigas-cortadeiras *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans*, bem como investigar se essa personalidade é uma resposta global da espécie ou se cada colônia expressa sua personalidade de maneira independente.

Buscou-se ainda, encontrar alterações comportamentais relevantes por meio da inserção de diferentes substratos alimentares, que incluíram um possível agente de controle alternativo.

- No segundo capítulo, o objetivo foi reconhecer as conexões que perfazem as interações sociais, conhecidas como redes sociais, em colônias de formigas-cortadeiras *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans*, identificar possíveis indivíduos-chave para o fluxo de informações e obter o contraste entre redes encontradas sob diferentes recursos alimentares.
- Por fim, no terceiro capítulo avaliou-se a possível toxicidade da quercetina, material obtido a partir do fracionamento do extrato vegetal de chaguinha, usado como tratamento nos capítulos anteriores, às operárias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* e ao fungo simbiote das formigas-cortadeiras, *Leucoagaricus gongylophorus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIGI, Maria Fátima MA *et al.* Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. **Pest Management Science** v. 60, n. 9, p. 933–938 , set. 2004. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ps.892>>.1526-498X.
- BOULOGNE, Isabelle *et al.* Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. **Environmental Chemistry Letters** v. 10, n. 4, p. 325–347 , 11 dez. 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10311-012-0359-1>>.
- BUENO, Fabiana C *et al.* Toxicity of *Cedrela fissilis* to *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology** v. 45, n. 2, p. 389–399 , 2005.
- BUENO, Odair C *et al.* Toxic effect of plant on leaf-cutting ants and their symbiotic fungus. In: VAN DER MEER, R; JAFFE, Klaus; CEDENO, A (Orgs.). . **APPLIED MYRMECOLOGY: A WORLD PERSPECTIVE**. Boulder, Colorado, USA: Westview Press, 1990. p. 420–426.
- BUENO, Odair C; BUENO, Fabiana C. Plantas inseticidas: perspectivas de uso no controle de formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, Terezinha M C (Org.). . **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 359–372. 987-85-7269-430-8.
- CINTRA, Priscila *et al.* Plantas tóxicas para abelhas. **Arquivos do Instituto Biológico** v. 72, n. 4, p. 547–551 , 2005.
- DELLA LUCIA, Terezinha MC *et al.* Managing leaf-cutting ants: Peculiarities, trends and challenges. **Pest Management Science** v. 70, n. 1, p. 14–23 , 2014.1526-4998.
- GANDRA, Lailla C. **Mecanismo de supressão de colônias da formiga-cortadeira *Acromyrmex subterraneus subterraneus* por fipronil**. Universidade Federal de Viçosa, 2014. 48 p.
- GANDRA, Lailla C *et al.* Mechanism of leaf-cutting ant colony suppression by fipronil used in attractive toxic baits. **Pest Management Science** v. 72, n. 8, p. 1475–1481 , ago. 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ps.4239>>.
- GANDRA, Lailla C *et al.* Mortality and respiratory rate of *Atta bisphaerica* ant workers (Hymenoptera: Formicidae) after application of a plant (*Ageratum conyzoides*) extract. **Sociobiology** v. 57, n. 3, p. 487–494 , 2011.0361-6525.
- GOSLING, Samuel D. From mice to men: what can we learn about personality from animal research? **Psychological bulletin** v. 127, n. 1, p. 45–86 , 2001.0033-2909.
- JANDT, Jennifer M *et al.* Behavioural syndromes and social insects: personality at multiple levels. **Biological Reviews** v. 89, n. 1, p. 48–67 , fev. 2014. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/brv.12042>>.1469-185X.
- LEITE, Ana C. *et al.* Limonoids from *Cipadessa fruticosa* and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society** v. 16, n. 6b, p. 1391–1395 , nov. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-

50532005000800015&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

MARINHO, Cidália GS *et al.* Beta-eudesmol-induced aggression in the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomologia Experimentalis Et Applicata** v. 117, n. 1, p. 89–93 , 2005. Disponível em: <isi:000231799000009>.0013-8703.

MARINHO, Cidália GS *et al.* Fatores que dificultam o controle das formigas cortadeiras. **Bahia Agrícola** v. 7, p. 18–21 , 2006. Disponível em: <http://www2.seagri.ba.gov.br/pdf/comunicacao3_v7n2.pdf>.

MARSARO JR, Alberto L *et al.* Behavioral changes in workers of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* induced by chemical components of *Eucalyptus maculata* leaves. **Journal of Chemical Ecology** v. 30, n. 9, p. 1771–1780 , 2004.0098-0331 (Print)n0098-0331 (Linking).

MERSCH, Danielle P. The social mirror for division of labor: what network topology and dynamics can teach us about organization of work in insect societies. **Behavioral Ecology and Sociobiology** v. 70, n. 7, p. 1087–1099 , 30 jul. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00265-016-2104-4>>.

MODLMEIER, Andreas P *et al.* Integrating animal personality into insect population and community ecology. **Current Opinion in Insect Science** v. 9, p. 77–85 , jun. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cois.2015.03.008>>.2214-5745.

MONTOYA-LERMA, James *et al.* Leaf-cutting ants revisited: Towards rational management and control. **International Journal of Pest Management** v. 58, n. May 2013, p. 225–247 , 2012.0967-0874.

MORAIS, Wagner CC *et al.* Extracts of *Ageratum conyzoides*, *Coriandrum sativum* and *Mentha piperita* inhibit the growth of the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. **Industrial Crops and Products** v. 65, p. 463–466 , mar. 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669014006724>>.

MORALES, Juliana A *et al.* Weevil x Insecticide: Does “personality” matter? **PLoS ONE** v. 8, n. 6, p. e67283 , 26 jun. 2013. Disponível em: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0067283>>.1932-6203.

MORINI, Maria Santana C *et al.* Toxicity of sesame seed to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology** v. 45, n. 1, p. 195–204 , 2005.

NAUG, Dhruba. Structure and resilience of the social network in an insect colony as a function of colony size. **Behavioral Ecology and Sociobiology** v. 63, n. 7, p. 1023–1028 , 2 maio 2009. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00265-009-0721-x>>.0340-5443.

PINTER-WOLLMAN, Noa. Personality in social insects: How does worker personality determine colony personality? **Current Zoology** v. 58, n. 4, p. 580–588 , 2012.1674-5507.

PIVOTO, Felipe L *et al.* Ação acaricida in vitro de *Tropaeolum majus* sob teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Ciência Rural** v. 40, n. 10, p. 2141–2145 , 2010.

RÉALE, Denis *et al.* Integrating animal temperament within ecology and evolution.

Biological Reviews v. 82, n. 2, p. 291–318 , maio 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-185X.2007.00010.x>>.1464-7931.

RIBEIRO, Myriam MR. **Toxicidade de extratos botânicos a formigas cortadeiras**. Universidade Federal de Viçosa, 2008. 78 p.

RIBEIRO, Myriam MR *et al.* Seleção e forrageamento em formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, Terezinha M C (Org.). . **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 189–203. 978-85-7269-430-8.

RIBEIRO, Myriam MR *et al.* Interferência do β -eudesmol no comportamento de alarme de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*. **Biológico** v. 69, n. 2, p. 351–354 , 2007.

RODRIGUEZ, Jonathan *et al.* Effect of *Tithonia diversifolia* Mulch on *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) Nests. **Journal of Insect Science** v. 15, n. 1, p. 32–32 , 5 abr. 2015. Disponível em: <<http://jinsectscience.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/jisesa/iev015>>.1536-2442.

SANTOS-OLIVEIRA, Maria de Fátima S *et al.* Toxicity of *Azadirachta indica* to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology** v. 47, n. 2, p. 423–431 , 2006.

SCHIØTT, Morten *et al.* Towards a molecular understanding of symbiont function: identification of a fungal gene for the degradation of xylan in the fungus gardens of leaf-cutting ants. **BMC microbiology** v. 8, p. 40 , 2008.1471-2180 (Electronic)r1471-2180 (Linking).

SENDOVA-FRANKS, Ana B *et al.* Emergency networking: famine relief in ant colonies. **Animal Behaviour** v. 79, n. 2, p. 473–485 , fev. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.11.035>>.0003-3472.

SILVA, Aline *et al.* Starch metabolism in *Leucoagaricus gongylophorus*, the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. **Microbiological Research** v. 161, n. 4, p. 299–303 , nov. 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944501305001187>>.0944-5013.

SILVA, Maria Emília P F *et al.* Floral biology of *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae) and its relation with *Astylus variegatus* activity (Germar 1824) (Coleoptera: Melyridae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências** v. 83, n. 4, p. 1251–1258 , 2011.

TAKAHASHI-DEL-BIANCO, Mary. **Toxicidade de extratos foliares de *Canavalia ensiformes* (L.) D. C. e de alguns princípios ativos de inseticidas comerciais para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae)**. Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, 2002. 173 p.

TREMMEL, Martin; MÜLLER, Caroline. Insect personality depends on environmental conditions. **Behavioral Ecology** v. 24, n. 2, p. 386–392 , 2013.

VIANA-BAILEZ, Ana Maria *et al.* Comunicação química em formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, Terezinha M C (Org.). . **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 141–164. 987-85-7269-430-8.

VIEIRA, Paulo C *et al.* A utilização de plantas inseticidas no controle de saúvas. 1997, Ilhéus: [s.n.], 1997. p.121–123.

WATERS, James S; FEWELL, Jennifer H. Information processing in social insect networks. **PLoS ONE** v. 7, n. 7, p. e40337 , 16 jul. 2012. Disponível em: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0040337>>.9781450314626.

**CAPÍTULO I – PERSONALIDADE EM FORMIGAS-CORTADEIRAS:
HIERARQUIZAÇÃO E ESTRESSE MEDIADO POR RECURSO
FORRAGEIRO**

Resumo

Personalidade animal se refere a comportamentos consistentes e repetitivos ao longo de uma ou mais dimensões, também chamadas de propensão comportamental ou individualidade. Já a personalidade em nível de colônia é distinguível de personalidade individual, porém é análoga e importante em insetos sociais; no entanto, poucas espécies desses insetos têm sido estudadas sob tal contexto. Assim, neste trabalho o objetivo foi definir os traços da personalidade encontrados nas colônias das formigas-cortadeiras *Acromyrmex subteraneus subteraneus* e *Acromyrmex subteraneus molestans* e verificar sua permanência mediante o oferecimento de folhas de chaguinha (*Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae)), substrato considerado danoso às cortadeiras. Os bioensaios foram estabelecidos de forma a avaliar as cinco dimensões tradicionalmente reconhecidas em personalidade animal (i.e., agressividade, atividade, atrevimento, exploração e sociabilidade), antes e após o oferecimento do vegetal. Por meio da medida de volume do jardim de fungo, obteve-se sua relação com o desempenho da colônia. A diversidade comportamental no contexto de personalidade encontrada nos bioensaios se deveu principalmente a variação entre colônias e não entre as subespécies estudadas. As características comportamentais apresentaram diferenças significativas antes e depois da oferta de folhas de chaguinha para ambas as subespécies. As dimensões que mais contribuíram para a personalidade das colônias foram: atividade, agressividade e atrevimento. Tais dimensões estão envolvidas na busca e forrageamento de recursos para a conservação da colônia. No entanto, estas dimensões se distribuíram de maneiras diferentes nos eixos de ordenação formados na

análise de fator antes e após o provimento de chaguinha. Quanto ao desempenho, este se correlacionou significativamente com a dimensão atividade, que é responsável pelo fluxo de material vegetal para a manutenção do fungo simbiote. Uma vez conhecido o efeito desse vegetal sobre a personalidade das colônias, se faz necessário adentrar outros níveis das relações entre as cortadeiras, refinando seu efeito sobre as castas, as próprias operárias e ao fungo simbiote.

Palavras-chave: *Acromyrmex*, comportamento, *Tropaeolum majus*, viabilidade do fungo.

Abstract

Animal personality refers to consistent and repetitive behaviors across one or more dimensions, also called behavior propensity. Colony personality in general is distinguishable from individual personality, but it is treated as the same in social insects. However, few social insect species have been studied under such context. This work intended to define the personality traits found in the leaf-cutting ant colonies of *Acromyrmex subterraneus subterraneus* and *Acromyrmex subterraneus molestans* and to verify their preservation after offering *Tropaeolum majus* leaves, a substrate considered harmful to leaf-cutting ants. Tasks performed were used to discover the characteristics belonging to personality dimensions (aggressiveness, activity, exploration, boldness and sociability) before and after *T. majus* leaves were offered. The assessment of the volume of the fungus garden gave not only a value for personality but permitted obtaining its relation with the colony fitness. The personality found is mainly due to the effect of the colonies and not of the species. The behavioral characteristics presented significant differences before and after the supply of *T. majus* leaves for both species and the canonical pairs formed point to a total of 52% of the variance explained by the first pair. In the factor analysis obtained using the behaviors with greater contribution to the canonical axes, the first two factors explained 93% and 7% of the variance observed before the *T. majus* leaves and 80% and 20% of the variance after the offering. As for fitness, this correlated significantly with personality. Once the effect of *T. majus* on the personality of the colonies is understood, it is necessary to enter other levels of the relations between the cutters, refining their effect on the castes, the workers themselves and the symbiotic fungus.

Key words: *Acromyrmex*, behavior, *Tropaeolum majus*, fungus viability.

1. Introdução

Assim como nos humanos, o termo personalidade vem sendo usado na descrição do comportamento animal. Personalidade em animais se refere a grupos de comportamentos consistentes e repetitivos desempenhados por um indivíduo (CARTER *et al.*, 2012). A capacidade individual de uma colônia em realizar uma tarefa é utilizada para explorar as dimensões da personalidade (ou eixos, ou domínios ou propensão comportamental) (RODRIGUES *et al.*, 2016). MODLMEIER *et al.* (2015) definem personalidade de maneira aritmética como diferenças individuais e consistentes no comportamento ao longo de uma ou mais dimensões (propensão comportamental). Tais dimensões foram propostas inicialmente por RÉALE *et al.* (2007). Recentemente foram diferenciados os termos personalidade animal (consistência em comportamento único) e síndrome comportamental (consistência em dois ou mais comportamentos funcionalmente diferentes, porém relacionados ou associados) (JANDT *et al.*, 2014).

Ao contrário de personalidade, síndromes comportamentais se referem a comportamentos correlacionados que são expressos de maneira associada. Em outras palavras, síndrome comportamental se refere a correlações comportamentais expressas de forma consistente em contextos ecológicos distintos, enquanto personalidade se refere à expressão consistente de comportamento em contextos distintos (i.e., não havendo necessariamente correlações destes). Exemplos de contextos de comportamento podem incluir atividades de forrageamento, anti-predação ou comportamento reprodutivo. Em geral, a literatura descreve três mecanismos pelos quais a personalidade pode influenciar a ecologia: a média de tipos comportamentais dentro da população; o grau de variação ou variabilidade entre indivíduos e a intensidade e direção das correlações entre tais síndromes (MODLMEIER *et al.*, 2015).

A formação de uma sociedade com suas síndromes comportamentais ocorre quando indivíduos de uma mesma espécie se organizam de modo cooperativo, proporcionando a sustentabilidade (FORTI *et al.*, 2004). A composição do grupo é um fator crítico e fundamental para seu comportamento social, uma vez que pequenas mudanças no comportamento individual podem levar a grandes mudanças em níveis hierárquicos mais elevados, como população e espécie. O comportamento coletivo que caracteriza os organismos sociais é frequentemente dependente de um processo baseado em consenso, permitindo que a tomada de decisão sobre determinada ação ocorra de forma mutuamente exclusiva enquanto mantém a integridade do grupo (CRONIN, 2015).

Indivíduos de colônias de insetos sociais comumente diferem consistentemente no comportamento. Isto é frequentemente interpretado como um efeito de sua alocação para realização de uma determinada tarefa (JANDT *et al.*, 2014). Uma variedade de fatores ambientais pode influenciar os tipos comportamentais: fatores abióticos (ex.: temperatura), ambiente ecológico (ex.: disponibilidade de alimentos e competição) e o ambiente social (ex.: taxas de interação e comunicação) (JANDT *et al.*, 2014; PINTER-WOLLMAN, 2012).

Testes realizados em laboratório reduzem as variações causadas pelo ambiente. Mediante a variabilidade ambiental, como o tipo de recurso foliar utilizado, as respostas podem ser discretamente e precisamente testadas. Uma vantagem desse método é que todas as colônias são testadas no mesmo ambiente e a hipótese relacionada com a composição da colônia pode ser testada sem se confundir com efeitos da heterogeneidade ambiental (PINTER-WOLLMAN, 2012).

A unidade reprodutiva dos insetos sociais sobre a qual a seleção natural age é a colônia. Portanto, diferenças consistentes entre colônias podem ter importantes implicações no sucesso de certos fenótipos. A variação entre colônias em um certo comportamento pode em si ter consequências ecológicas importantes (JANDT *et al.*, 2014). Se o comportamento da colônia é consistente nos contextos de interesse, pode-se encontrar uma relação importante entre o sucesso da colônia em uma situação e seu sucesso ou falha em outra (JANDT *et al.*, 2014; PINTER-WOLLMAN, 2012).

Notavelmente, personalidade em nível de colônia é distinguível de personalidade individual na maioria dos elementos/mecanismos que a formam, no entanto podem ser consideradas análogas quando se trata de insetos sociais (PRUITT *et al.*, 2013). Relativamente poucas espécies eussociais têm sido estudadas no contexto de personalidade. Isso provavelmente se deve ao fato de se assumir que as forças de seleção podem agir mais em nível de colônia do que de indivíduo (KRALJ-FIŠER; SCHUETT, 2014), levando o pesquisador a explorar a personalidade da colônia como um todo, ao invés de centrar em seus indivíduos. No entanto, estudos sobre a personalidade das operárias também vêm sendo conduzidos (UDINO *et al.*, 2016).

A verificação dos possíveis padrões comportamentais (personalidade) encontrados nas colônias pode auxiliar na compreensão dos processos ecológicos como a captação de recursos e a exploração de novos ambientes. Assim, este trabalho teve como objetivo identificar possíveis traços da personalidade de colônias de duas subespécies de formigas-cortadeiras, *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans*. Verificou-se ainda se tais traços permanecem mesmo diante de uma fonte alimentar considerada potencialmente tóxica, ou são afetados por esta e assim se podem subsidiar o desenvolvimento de novas táticas de manejo desses insetos.

2. Materiais e Métodos:

2.1. Manutenção das colônias em laboratório:

Os experimentos foram realizados em dez colônias de formigas-cortadeiras, sendo cinco de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e cinco de *Acromyrmex subterraneus molestans*. Essas colônias foram coletadas na região de Viçosa, MG, Brasil (20°45'14" S e 42°52'54" O) e trazidas para o laboratório onde foram mantidas a 25±5 °C, 75±5% UR e 12 horas de escotofase (DELLA LUCIA *et al.*, 1993). As colônias possuíam aproximadamente um litro de fungo e exibiam atividade de forrageamento semelhantes.

2.2. Bioensaios:

Neste trabalho as dimensões utilizadas foram: agressividade, atividade, atrevimento (ousadia/timidez), exploração e sociabilidade. A agressividade foi determinada como o tempo gasto pelas formigas para encontrar uma nova fonte alimentar (tempo de percepção). A atividade foi dada por um conjunto de tarefas que são: latência para o primeiro corte (tempo para o primeiro corte), tempo de transporte de recurso (transporte do primeiro fragmento foliar), carga carregada (número de fragmentos transportados), massa de folhas cortadas (corte) e massa de lixo produzida (produção de lixo). Para atrevimento considerou-se a atitude de busca de novo ambiente (ousadia). A exploração foi medida através do número de operárias inspecionando o recurso oferecido (número de operárias envolvidas na inspeção). A sociabilidade foi dada pelo tempo transcorrido para que houvesse o recrutamento de operárias para o forrageamento (tempo para início do recrutamento).

Os comportamentos e atividades listados foram determinados colocando-se as colônias em potes plásticos de 3 litros e acondicionando-as sobre suporte de 15 cm de

altura e ligados a uma arena também suspensa por suporte (ponte de vidro transparente de 30 cm de comprimento e 5 cm de largura) (Figura 1.1). Em um primeiro momento as colônias não estavam ligadas às suas respectivas arenas evitando qualquer contato prévio com as fontes alimentares que foram oferecidas. Quando da ligação, foi medido o tempo para que as formigas atravessassem a ponte e iniciassem a exploração da arena.



Figura 1.1: Colônia mantida sobre suporte ligada a uma arena de forrageamento por uma ponte de vidro transparente.

Além das duas espécies, dois tratamentos foram considerados neste experimento:

- Testemunha – colônias alimentadas com folhas de acalifa (*Acalypha wilkesiana*, Euphorbiaceae), substrato cotidiano oferecido no laboratório;
- Tratamento – colônias alimentadas com folhas de chaguinha (*Tropaeolum majus* L., (Tropaeolaceae)), substrato considerado potencialmente tóxico às colônias de acordo com os trabalhos de RIBEIRO (2011).

A massa de folhas de ambos os tratamentos foi pesada em balança analítica (BIOPRECISA® - modelo JA3003N – Curitiba/PR – Brasil) antes de ser oferecida às colônias. A massa de *A. wilkesiana* era de aproximadamente 5 gramas recém-colhidas e disponibilizadas na arena de forrageamento. Já as folhas frescas de chaguinha eram oferecidas em quantidades de aproximadamente 3 gramas e a oferta foi feita de maneira intercalada com a mesma quantidade de folhas de acalifa, sendo oferecidas folhas de chaguinha em um dia e de acalifa no dia seguinte até o sétimo dia (final da avaliação). Isso foi feito porque as colônias de formigas-cortadeiras costumam perecer frente ao corte contínuo de chaguinha (RIBEIRO, 2011).

Uma quantidade de três gramas de ambas as folhas foi colocada sob as mesmas condições na sala de testes com o intuito de estabelecer o valor de perda de água frente ao ambiente sob o qual as colônias foram mantidas. O valor de perda d'água serviu como fator de correção para as folhas restantes. Esse valor era obtido pesando a quantidade inicial (gramas) e subtraindo desse o valor a quantidade de folhas (g) após 24 horas. Esse valor gerou uma porcentagem de perda d'água que foi subtraída da diferença entre as quantidades inicial e final de folhas oferecidas nos tratamentos (ANTUNES; DELLA LUCIA, 1999; GANDRA, 2014):

A atividade de forrageamento é complexa e envolve a exploração ou busca de vegetais para seu corte em fragmentos e seu transporte. Primeiramente têm-se operárias exploradoras que encontram a fonte de recurso e recrutam as forrageadoras para a realização do corte (RIBEIRO; MARINHO, 2011). Com o auxílio de um cronômetro foi obtido o tempo gasto para que a fonte alimentar fosse percebida (antenação do material vegetal e provas com rápidas mordidas nas folhas), bem como o tempo gasto para que começasse o recrutamento das operárias (saída organizada da colônia em

forma de fila). O número de operárias envolvidas na exploração do recurso foi obtido com auxílio de contador manual.

Dados referentes ao tempo necessário para que as colônias iniciassem o corte e o transporte de fragmentos vegetais foram obtidos com auxílio de cronômetro. O início do corte foi definido quando era possível identificar o movimento característico de abertura e fechamento da mandíbula das operárias em volta do vegetal. O início do transporte foi definido como tempo necessário para que a primeira operária atravessasse a ponte levando o fragmento foliar. O número de fragmentos transportados foi contabilizado com contador manual por uma hora a partir da oferta das folhas; foram considerados transportados aqueles fragmentos carregados pelas operárias através da ponte de ligação até a chegada próxima à colônia definida como dois centímetros da abertura de entrada do ninho.

Com o intuito de avaliar a capacidade de exploração da colônia, diariamente ao início da avaliação, uma arena adicional era ligada às colônias. O tempo para a exploração do novo ambiente foi considerado como o intervalo de tempo transcorrido desde a ligação da ponte até a completa travessia de operárias para a nova arena.

Durante o tempo de experimento, sete dias para cada espécie sob cada tratamento, a massa de lixo produzida pelas colônias também foi pesada em balança analítica (BIOPRECISA® - modelo JA3003N – Curitiba/PR – Brasil). O volume do fungo simbiote foi medido (crescimento ou diminuição). Este último representa a capacidade do fungo de continuar como fonte de alimento para manter viável a colônia, sendo, aqui, considerado como sinônimo de desempenho da colônia. O volume do jardim de fungo foi medido através da marcação de suas dimensões no pote plástico transparente onde fora acondicionado. A marcação foi feita com marcador permanente

(Sharpie® - Illinois – EUA). As medidas das dimensões geraram o volume através da fórmula da elipse ($v = \pi \cdot r \cdot r \cdot h$).

2.3. Análises estatísticas:

A hierarquização da contribuição relativa de cada colônia e subespécie sujeitas aos tratamentos foram reconhecidas determinando-se a distribuição da variabilidade dos dados de resposta que foram obtidos, que foram submetidos a análise de variância modificada proposta por Excoffier (EXCOFFIER *et al.*, 1992; MORALES *et al.*, 2013). Com os valores médios de cada variável procedeu-se a análise de correlação entre as medidas de dissimilaridade fornecidas entre pares de matrizes e a significância do valor obtido, pelo teste de Mantel. Os testes de partição da variância foram feitos no software GENES®.

Os resultados obtidos nos parâmetros comportamentais avaliados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se procedimento de análise de variância ($\alpha=5\%$) (SigmaPlot 12; Systat, San Jose, CA, USA).

A consistência dos ensaios comportamentais nas colônias antes e após a oferta das folhas de chaguinha foi testada através da análise de correlação canônica por meio do procedimento CANCORR (SAS Institute, 2009). Correlações simples entre cada comportamento avaliado foram subsequentemente conduzidas (PROC CORR; SAS Institute, 2009).

Os parâmetros comportamentais que mostraram consistência antes e após provimento de folhas de acalifa e/ou folhas de capuchinha foram submetidos à análise de fator (PROC FACTOR, com rotação ortogonal (Varimax); SAS Institute, 2009). A adequação da amostragem foi estimada usando a medida de Kaiser para o propósito, que

deve exceder significativamente 0,50 se a matriz de correlação gerada fosse adequada. A análise fatorial foi preferida em vez da análise de componentes principais, pois a primeira explica a diferença nas variáveis medidas construindo eixos (isto é, fatores), possibilitando comparações e generalizações em bioensaios ao invés de se concentrar apenas na redução de dados (MORALES *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2016).

Ainda tratando-se dos parâmetros comportamentais mais consistentes, estes foram utilizados como variáveis independentes em uma análise de correlação canônica parcial para modelar o incremento do jardim de fungo das colônias (CANCORR SAS Institute, 2009) com o intuito de verificar se há correlação entre a personalidade exibida pelas colônias com o seu desempenho.

3. Resultados

3.1. Análise de partição da variância:

A análise de variância modificada proposta por Excoffier (1992) indicou que 12,46% de variação total observada nos experimentos era devido a variação entre as subespécies *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* e 87,54% era devida a variação entre as colônias dentro das subespécies (Tabela 1.1). Ou seja, a variação comportamental observada deve-se principalmente a diferença entre colônias, não subespécies, sendo as colônias os determinantes mais importantes de personalidade em formigas-cortadeiras das subespécies estudadas.

3.2. Análise de variância:

Análises multivariadas foram realizadas e os comportamentos e atividades observados apresentaram diferenças significativas, indicando diferenças entre os tratamentos ($P < 0,05$). Procedeu-se então a análises de variância individuais das

características comportamentais das colônias que apontaram diferenças significativas nas características avaliadas antes e após o provimento de folhas de chaguinha nas duas subespécies testadas ($P < 0,05$) (Tabela 1.2).

3.3. Correlações:

Correlações canônicas foram realizadas com o intuito de verificar a existência de consistências comportamentais nas colônias nos contextos apresentados (antes e após a oferta de folhas de chaguinha). A consistência comportamental é reconhecida quando as correlações encontradas são significativas. Neste trabalho, foi realizada uma correlação geral (i.e., correlação canônica) entre os parâmetros comportamentais das colônias. Esta correlação foi significativa (Wilks' lambda = 0,32, $F = 1,50$, $df_{num/den} = 49/288,5$, $P = 0,022$), sendo que o primeiro par canônico gerado explica 52% da variância total (Tabela 1.3). Esse resultado confirma a existência de consistência comportamental nas colônias nos dois contextos, podendo-se, portanto, concluir que houve personalidade entre colônias.

3.4. Análise de fator:

Utilizando-se os comportamentos que apresentaram maior contribuição na composição dos eixos canônicos, análises de fator foram executadas para representar o comportamento ao nível de espécies nos tratamentos antes e após o oferecimento de folhas de capuchinha. Na análise de fator dos comportamentos das colônias antes do oferecimento desse vegetal, a medida de adequabilidade do modelo ultrapassou o limite desejado de 0,50 (Kaiser msa = 0,87). Além disso, os dois primeiros fatores gerados explicaram 93% e 7% da variância total observada (Tabela 1.4). As características comportamentais que explicaram a maior parte da divergência entre as colônias foram

pertencentes à dimensão atividade e sociabilidade no 1º fator e atividade e agressividade no 2º fator.

No tocante às colônias após o oferecimento de folhas de chaguinha, a análise de fator forneceu medida de adequabilidade do modelo ultrapassando o limite desejado (Kaiser msa = 0,72). Os dois primeiros fatores explicaram 80% e 20% da variância total encontrada (Tabela 1.4). O 1º fator teve a dimensão atividade explicando a maior parte da divergência entre colônias. Agressividade, sociabilidade e atrevimento explicaram a divergência encontrada no 2º fator.

Ambas as análises de fator permitiram a confecção de diagramas de ordenação. Esses diagramas representam a diversidade das características comportamentais individuais por meio da distribuição espacial (Figura 1.2). A comparação desses diagramas possibilitou visualizar maior divergência comportamental antes e após o oferecimento de folhas de chaguinha para as subespécies. A maior divergência foi encontrada após o provimento das folhas, isto porque as características avaliadas se distribuem mais uniformemente ao longo dos eixos de ordenação gerados, o que indica maior número de tarefas sendo simultaneamente realizadas nas colônias.

3.5. Adaptabilidade:

Quanto aos parâmetros de adaptabilidade da colônia (i.e., desempenho da colônia), existiu correlação significativa destes com os parâmetros de personalidade e adaptabilidade da colônia (Wilks' lambda = 0,61, $F = 12,20$, $df_{num/den} = 7/132$, $P < 0,001$). A dimensão que se relacionou com o desempenho das colônias foi a atividade, que, neste trabalho, caracteriza a obtenção de recursos para a manutenção do fungo simbiote (Tabela 1.5).

4. Discussão

As folhas de chaguinha oferecidas às colônias alteraram significativamente a realização das tarefas tanto em *Acromyrmex subterraneus subterraneus* quanto em *Acromyrmex subterraneus molestans*. No entanto, a variação se deu principalmente entre as colônias e bem menos entre as espécies envolvidas. Todas as tarefas tiveram um aumento no seu tempo de execução e redução na quantidade de recurso obtido após a intoxicação por chaguinha. O papel da colônia como fonte de variação também foi verificado por BLIGHT *et al.* (2017).

Para que um comportamento seja executado com sucesso é necessário que a comunicação entre os indivíduos seja clara e precisa. Grande parte da comunicação dentro de uma colônia se dá quimicamente pelo uso de feromônios (VIANA-BAILEZ; *et al.*, 2011; YEW; CHUNG, 2015). Esses feromônios são responsáveis, entre outras coisas, pelas etapas que compõem o forrageamento (MARINHO *et al.*, 2006; VIANA-BAILEZ *et al.*, 2011). Por meio dessas ações, o material vegetal é percebido como recurso viável e levado ao fungo simbiote para que seja metabolizado (VIANA-BAILEZ *et al.*, 2011).

Alterações na maneira que as colônias executam seu repertório comportamental frente a compostos tóxicos não são uma novidade. Dados de trabalhos como os de RICHARD *et al.* (2004) sugerem uma fina interação entre dieta e pistas envolvidas no reconhecimento de companheiras de ninho. Compostos químicos isolados de plantas quando usados, como por exemplo, o β -eudesmol (isolado de folhas de *Eucalyptus* sp.) (MARINHO *et al.*, 2005) e o epóxido de cariofileno (isolado de *Hymenaea courbaril* – Leguminosae) (NORTH *et al.*, 2000), são capazes de interferir no reconhecimento entre companheiras de ninho. Outras substâncias químicas como a abamectina e o fipronil também modificam a realização das tarefas reduzindo comportamentos de autolimpeza e forrageamento (ANTUNES *et al.*, 2000; GANDRA *et al.*, 2016).

O forrageamento é uma das principais tarefas de manutenção da colônia, sendo composto de várias ações comportamentais que têm início na procura do recurso, sua inspeção, recrutamento das companheiras de ninho, corte e transporte (RIBEIRO; MARINHO, 2011). A maneira como procuram recursos alimentares, cortam e transportam os vegetais, como interagem com o ambiente e com outras colônias geralmente determina se a colônia irá ou não permanecer e se expandir (PINTER-WOLLMAN, 2012).

Antes do oferecimento das folhas de chaguinha, as dimensões que compuseram significativamente o par canônico foram atividade e sociabilidade. Personalidade da colônia se refere às diferenças individuais consistentes entre colônias na forma como elas se comportam em diferentes situações (PINTER-WOLLMAN, 2012) e pares canônicos explicam as divergências entre as características que, como um todo, se correlacionaram com a personalidade das colônias. Em nosso trabalho, as tarefas que compuseram o repertório podem ser englobadas dentro das dimensões comumente consideradas para se estudar a personalidade (JANDT *et al.*, 2014). Isso significa que ambas as dimensões, atividade e sociabilidade foram responsáveis pelas diferenças na personalidade. Após a oferta das folhas o par canônico formado teve como pontos de divergência além da dimensão atividade, as dimensões de exploração e ousadia. Essas atividades são relacionadas com a procura de novos recursos alimentares e a exploração de novos possíveis ambientes. Geralmente são realizadas, durante um tempo, por um número reduzido de operárias “escoteiras”, que influenciam na seleção de sítios de forrageamento e na escolha dos recursos utilizados (CAMARGO *et al.*, 2006). Neste trabalho ocorreu uma variação, entre as colônias, de tempo transcorrido, sendo maior o tempo gasto para que as atividades fossem iniciadas. Durante o processo, foi possível notar maior antenação na arena e nas pontes, bem como uma intensa autolimpeza. Uma

possível explicação seria o reconhecimento de compostos potencialmente tóxicos através de odores exalados pelas folhas e a procura por um novo substrato de maior valor nutricional e atóxico.

Já a dimensão sociabilidade deixou de fazer parte das dimensões contribuidoras para a divergência entre as colônias após o provimento de folhas de capuchinha. O maior tempo transcorrido para o encontro da fonte de alimentos e o reconhecimento das folhas desse vegetal diminuiu e/ou praticamente eliminou o recrutamento das operárias, uma vez que a qualidade nutricional do recurso influencia no recrutamento e coleta de material pelas formigas (MONTROYA-LERMA *et al.*, 2012). Portanto, a socialização vista na arena de forrageamento foi reduzida, sendo que a maioria das formigas permaneceu no interior do jardim de fungo. Assim, a personalidade exibida pelas colônias foi afetada negativamente com as alterações nas atividades avaliadas. As operárias se apresentaram mais “cautelosas”, menos “afoitas” no corte e menos ativas em relação ao forrageamento.

A formação do par canônico permitiu analisar os fatores que contribuíram mais significativamente para a personalidade da colônia através da formação dos eixos. A análise mostrou a formação de dois fatores principais que explicaram a variação da personalidade entre as colônias. Antes da presença de chaguinha, o 1º fator foi explicado pela dimensão atividade (tempo para o primeiro corte, tempo para transporte, folhas cortadas e número de fragmentos), exploração e sociabilidade; e o 2º fator pela atividade (tempo para o primeiro corte, tempo para transporte) e exploração. Isso porque as colônias se apresentavam mais ativas, realizando as atividades ligadas ao forrageamento com mais eficiência, tornando essa característica a maior responsável pela personalidade. A dimensão exploração foi a segunda dimensão que mais contribuiu para a personalidade, o que é característico de colônias saudáveis que estão à procura de

novas fontes alimentares para sustentar todos seus componentes, operárias, prole e fungo simbiote. Estudos como este, que buscam aliar personalidade e uso de recursos alimentares estão cada vez mais em foco (TOSCANO *et al.*, 2016).

Folhas de chaguinha foram capazes de alterar as dimensões que formam os principais fatores. Aqui, outras dimensões além da atividade se tornam protagonistas na formação da personalidade, uma vez que há a necessidade de busca por recursos e novos ambientes de exploração. O 1º fator foi composto apenas pela dimensão atividade (tempo para o primeiro corte, tempo para transporte e número de fragmentos). Já o 2º fator englobou as outras dimensões: exploração, sociabilidade e ousadia. A análise dos fatores principais mostrou, assim como os pares canônicos, mudança nos traços da personalidade das colônias.

Sabe-se que variações do ambiente através do tempo e das situações podem resultar em diferenças comportamentais consistentes entre as colônias (PINTER-WOLLMAN, 2012). Fontes alimentares e inseticidas são interferentes não permanentes no ambiente e sua presença ou ausência pode alterar a personalidade exibida pelas colônias (JANDT *et al.*, 2014). Trabalhos utilizando inseticidas com insetos não sociais, por exemplo, a deltametrina, já foram realizados, porém os eixos e fatores construídos apresentaram resultados significativos (MORALES *et al.*, 2013). No entanto, estudos sobre alteração da personalidade frente a compostos naturais ainda são novidade em estudos com insetos solitários e sociais.

Mudanças na personalidade podem afetar o desempenho da colônia uma vez que foi mostrado que personalidade e desempenho possuem correlação. A maneira como as tarefas avaliadas neste trabalho foram executadas se correlacionou positiva ou negativamente com o crescimento do fungo simbiote. A realização das atividades de

uma colônia pode refletir seu estado de estresse e vitalidade. A refinada escolha do material cortado e o envolvimento das operárias no forrageamento são indícios de que a colônia está em pleno funcionamento e é capaz de se manter no ambiente. Em laboratório, uma colônia saudável tem alta capacidade de corte e apresenta visível crescimento do jardim de fungo (medida escolhida para representar o desempenho). Um exemplo disso é o papel do corte e do transporte de fragmentos foliares posteriormente incorporados pelo fungo, o qual manteve sua viabilidade com folhas de acalifa e não apresentou o mesmo resultado com folhas de chaguinha. Um vegetal não tóxico geralmente é muito cortado, sendo fonte de recurso alimentar que é aproveitado ao máximo. Esse material é, portanto, revertido em crescimento do fungo (desempenho) que se mantém como alimento para as operárias. O contrário, redução no corte pela presença de compostos tóxicos, também é válido, uma vez que se tem uma diminuição do volume do jardim de fungo e uma redução da sua capacidade de crescimento.

Folhas de chaguinha interferiram na execução de grande parte das tarefas associadas ao forrageamento e, conseqüentemente, com a manutenção das colônias. Isso pode ser visto como uma mudança consistente nos traços comportamentais ao longo dos dias, ou seja, uma alteração na personalidade exibida pelas colônias, o que, por fim, resultou em uma queda em seu desempenho. Nesse caso, a dimensão atividade foi a responsável pela divergência, pois é a que compreende as tarefas de corte e transporte de fragmentos foliares para o interior da colônia. Neste trabalho, o jardim de fungo que se mostrou saudável fazendo uso de seu substrato comum pereceu após o oferecimento das folhas de chaguinha e a mudança comportamental apresentada pelas operárias. Tal fato se deu pela redução da quantidade de fragmentos foliares cortados e transportados pelas operárias para o jardim de fungo, bem como pela potencial presença de um composto tóxico presente nas folhas que foram incorporadas.

A mudança na coloração é uma característica facilmente observada quando da inviabilidade do fungo (HEBLING *et al.*, 2000; RIBEIRO, 2011). Neste trabalho a alteração na aparência (amarelamento) do jardim de fungo foi averiguada, sendo seguida de um decaimento em seu volume total. Tal redução do jardim de fungo foi resultado da supressão de várias atividades comumente realizadas pelas operárias durante o forrageamento como o corte e o transporte de fragmentos, e da incorporação, mesmo que em menor quantidade, dos fragmentos de folhas de chaguinha. Tal efeito também foi observado por RIBEIRO (2011) em colônias de *Atta sexdens*. Todavia, os caminhos que levaram a essa redução não foram explorados por essa autora, uma vez que as operárias dessa espécie não rejeitaram as folhas ao longo do tempo e permaneceram cortando o material oferecido.

Possíveis relações entre personalidade e desempenho são assunto de pesquisas que vêm se desenvolvendo ao longo dos anos (SMITH; BLUMSTEIN, 2007), porém essas ainda são pouco comuns com insetos sociais. Em insetos não sociais as medidas de desempenho, como as saídas reprodutivas, podem estar associadas às interações entre indivíduos coespecíficos (escolha de parceiros) e heteroespecíficos (potencial competição) (VIEIRA, 2017). A associação entre desempenho reprodutivo e personalidade foi vista em larvas de joaninhas *Eriopsis connexa* (Germar) de populações resistentes que foram mais ativas e sociáveis que as larvas populações susceptíveis apresentando maior fertilidade e menor tempo de geração (RODRIGUES *et al.*, 2016). Já o desempenho associado à sobrevivência em indivíduos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky se baseia em sua capacidade de movimentação (MORALES *et al.*, 2013; TURCHEN; COSME; GUEDES, 2018). O desempenho obtido por esses autores é consequência de sua personalidade frente ao inseticida deltametrina, e medida essa pela capacidade de sobreviver à presença desse inseticida.

Personalidade e desempenho tiveram sua relação comprovada ao longo desse trabalho. As mudanças na execução das tarefas, principalmente a redução daquelas associadas ao forrageamento refletiram sobre a viabilidade do fungo simbiote e culminaram em seu enfraquecimento e posterior esgotamento da fonte alimentar.

5. Conclusões

As formigas-cortadeiras apresentaram traços comportamentais consistentes que foram reconhecidos como personalidade. Demonstrou-se que essa personalidade se dá principalmente pela variação entre as colônias e em menor escala nas respectivas espécies.

A utilização de folhas de chaguinha pelas colônias de *Acromyrmex* influenciou negativamente na execução das tarefas pelas operárias, reduzindo até a completa paralisação do forrageamento e culminou em uma queda da vitalidade do fungo simbiote importante para a manutenção da colônia.

Este trabalho reafirma a inserção de capuchinha no grupo das plantas que têm potencial para utilização no controle das cortadeiras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, Eduardo C *et al.* Sub-lethal effects of abamectin suppressing colonies of the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. **Pest Management Science** v. 56, n. 12, p. 1059–1064 , dez. 2000. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/1526-4998%28200012%2956%3A12%3C1059%3A%3AAID-PS246%3E3.0.CO%3B2-M>>.

ANTUNES, Eduardo C; DELLA LUCIA, Terezinha M C. Consumo foliar em *Eucalyptus urophylla* por *Acromyrmex laticeps nigrosetosus* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Ciência e Agrotecnologia** v. 23, n. 1, p. 208–211 , 1999.

BLIGHT, Olivier *et al.* Differences in behavioural traits among native and introduced colonies of an invasive ant. **Biological Invasions** v. 19, n. 5, p. 1389–1398 , 2017.

CAMARGO, Roberto S *et al.* Studies on leaf-cutting ants, *Acromyrmex* spp. (Formicidae, Attini): behavior, reproduction and control. In: BONDARI, K (Org.). . **Recent Research Development in Entomology**. [S.l: s.n.], 2006. 5 v. p. 1–21. 8177362461.

CARTER, Alecia J. *et al.* Evaluating animal personalities: do observer assessments and experimental tests measure the same thing? **Behavioral Ecology and Sociobiology** v. 66, n. 1, p. 153–160 , 29 jan. 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00265-011-1263-6>>.0340-5443.

CRONIN, Adam L. Individual and group personalities characterise consensus decision-making in an ant. **Ethology** v. 121, n. 7, p. 703–713 , jul. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/eth.12386>>.

DELLA LUCIA, Terezinha M C *et al.* Criação de formigas cortadeiras em laboratório. In: DELLA LUCIA, Terezinha M C (Org.). . **As Formigas Cortadeiras**. Volume único. Viçosa: Folha de Viçosa, 1993. p. 151–162.

EXCOFFIER, Laurent; SMOUSE, Peter E; QUATTRO, Joseph M. Analysis of molecular variance inferred from meric distance among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics** v. 131, n. 2, p. 479–491 , 19 jan. 1992.

FORTI, Luiz C *et al.* Aloetismo em *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel (Hymenoptera, Formicidae), durante o forrageamento, cultivo do jardim de fungo e devolução dos materiais forrageados. **Revista Brasileira de Entomologia** v. 48, n. 1, p. 59–63 , mar. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0085-56262004000100011&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

GANDRA, Lailla C. **Mecanismo de supressão de colônias da formiga-cortadeira *Acromyrmex subterraneus subterraneus* por fipronil**. Universidade Federal de Viçosa, 2014. 48 p.

GANDRA, Lailla C *et al.* Mechanism of leaf-cutting ant colony suppression by fipronil used in attractive toxic baits. **Pest Management Science** v. 72, n. 8, p. 1475–1481 , ago. 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ps.4239>>.

GENES - "Programa GENES - Aplicativo Computacional em Genética e Estatística,

442. 1997"

HEBLING, Maria José A *et al.* Effects of leaves of *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ants *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). **Journal of Applied Entomology** v. 124, n. 5–6, p. 249–252 , set. 2000. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1439-0418.2000.00471.x>>.

JANDT, Jennifer M *et al.* Behavioural syndromes and social insects: personality at multiple levels. **Biological Reviews** v. 89, n. 1, p. 48–67 , fev. 2014. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/brv.12042>>.1469-185X.

KRALJ-FIŠER, Simona; SCHUETT, Wiebke. Studying personality variation in invertebrates: why bother? **Animal Behaviour** v. 91, p. 41–52 , maio 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003347214001018>>.0003-3472; 1095-8282.

MARINHO, Cidália G S *et al.* Beta-eudesmol-induced aggression in the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomologia Experimentalis Et Applicata** v. 117, n. 1, p. 89–93 , 2005. Disponível em: <isi:000231799000009>.0013-8703.

MARINHO, Cidália G S; DELLA LUCIA, Terezinha M C; PICANÇO, Marcelo C. Fatores que dificultam o controle das formigas cortadeiras. **Bahia Agrícola** v. 7, p. 18–21 , 2006. Disponível em: <http://www2.seagri.ba.gov.br/pdf/comunicacao3_v7n2.pdf>.

MODLMEIER, Andreas P *et al.* Integrating animal personality into insect population and community ecology. **Current Opinion in Insect Science** v. 9, p. 77–85 , jun. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cois.2015.03.008>>.2214-5745.

MONTOYA-LERMA, James *et al.* Leaf-cutting ants revisited: Towards rational management and control. **International Journal of Pest Management** v. 58, n. May 2013, p. 225–247 , 2012.0967-0874.

MORALES, Juliana A *et al.* Weevil x Insecticide: Does “personality” matter? **PLoS ONE** v. 8, n. 6, p. e67283 , 26 jun. 2013. Disponível em: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0067283>>.1932-6203.

NORTH, R D; HOWSE, P E; JACKSON, C W. Agonistic behavior of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* elicited by caryophyllene. **Journal of Insect Behavior** v. 13, n. 1, p. 1–13 , 2000. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1023/A:1007749723868>>.

PINTER-WOLLMAN, Noa. Personality in social insects: How does worker personality determine colony personality? **Current Zoology** v. 58, n. 4, p. 580–588 , 2012.1674-5507.

PRUITT, Jonathan N; GRINSTED, Lena; SETTEPANI, Virginia. Linking levels of personality: personalities of the “average” and “most extreme” group members predict colony-level personality. **Animal Behaviour** v. 86, n. 2, p. 391–399 , ago. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2013.05.030>>.0003-3472.

RÉALE, Denis *et al.* Integrating animal temperament within ecology and evolution. **Biological Reviews** v. 82, n. 2, p. 291–318 , maio 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-185X.2007.00010.x>>.1464-7931.

RIBEIRO, Myriam M R. **Atividade formicida de IB 151239 em *Atta sexdens rubropilosa***. Universidade Federal de Viçosa, 2011. 77 p.

RIBEIRO, Myriam M R; MARINHO, Cidália G S. Seleção e forrageamento em formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, Terezinha M C (Org.). . **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 189–203. 978-85-7269-430-8.

RICHARD, Freddie-Jeanne *et al.* Food influence on colonial recognition and chemical signature between nestmates in the fungus-growing ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. **Chemoecology** v. 14, n. 1, p. 9–16 , 1 mar. 2004. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00049-003-0251-3>>.0937-7409.

RODRIGUES, Alice S *et al.* Ontogenic behavioral consistency, individual variation and fitness consequences among lady beetles. **Behavioural Processes** NULL, v. 131, p. 32–39 , out. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.beproc.2016.08.003>>.

SAS Institute Inc., SAS Campus Drive, Cary, North Carolina 27513, USA. All rights reserved. Copyright ©

SMITH, Brian R.; BLUMSTEIN, Daniel T. Fitness consequences of personality: a meta-analysis. **Behavioral Ecology** v. 19, n. 2, p. 448–455 , 18 dez. 2007. Disponível em: <<https://academic.oup.com/beheco/article-lookup/doi/10.1093/beheco/arm144>>.1045-2249.

SYSTAT SOFTWARE INC. - All rights reserved. 1735 Technology Drive Suite 430 San Jose, CA 95110 U.S.A. Copyright © 2018

TOSCANO, Benjamin J *et al.* Personality, foraging behavior and specialization: integrating behavioral and food web ecology at the individual level. **Oecologia** v. 182, n. 1, p. 55–69 , 11 set. 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00442-016-3648-8>>.1432-1939.

TURCHEN, Leonardo Moraes; COSME, Lírio; GUEDES, Raul Narciso C. Bidirectional selection of walking velocity, associated behavioral syndrome and reproductive output in the maize weevil *Sitophilus zeamais*. **Journal of Pest Science** n. 123456789, p. 28 , 19 mar. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10340-018-0970-4>>.1034001809.

UDINO, Eve *et al.* Active explorers show low learning performance in a social insect. **Current Zoology** v. 63, n. 5, p. 555–560 , 23 out. 2016. Disponível em: <<http://cz.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/cz/zow101>>.

VIANA-BAILEZ, Ana Maria; BAILEZ, Omar; MALAQUIAS, Karla da Silva. Comunicação química em formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, Terezinha M C (Org.). . **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 141–164. 987-85-7269-430-8.

VIEIRA, Juliana Livia. **Carga endossimbionte e personalidade do caruncho do milho (*Sitophilus zeamais*)**. Universidade Federal de Viçosa, 2017. 38 p.

YEW, Joanne Y.; CHUNG, Henry. Insect pheromones: An overview of function, form, and discovery. **Progress in Lipid Research** v. 59, p. 88–105 , 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2015.06.001>>.1873-2194

Tabela 1.1: Análise da diversidade entre e dentro de colônias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* pela metodologia proposta por Excoffier *et al.* (1992).

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Estimativa do componente de variância	% de variação	<i>P</i>
Entre subespécies	1	1,53	0,13	12,46	0,01**
Dentro das subespécies (colônias)	8	7,13	0,89	87,54	0,01**
Total	9	8,66	1,02	100,00	
Estatística ØST ¹			0,13		0,01**

¹ Estatística ØST reflete a correlação da diversidade de colônias em diferentes níveis de subdivisão hierárquica, para o caso em que se consideram dois níveis hierárquicos (subespécies e colônias).

Tabela 1.2: Características comportamentais (média \pm erro padrão) colônias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* antes e depois do tratamento com folhas de chaguinha (*Tropaeolum majus*), submetidas às análises (uni-variadas) de variância (ANOVA).

Dimensões da personalidade	Variáveis comportamentais	<i>Acromyrmex subterraneus subterraneus</i>				<i>Acromyrmex subterraneus molestans</i>			
		Antes	Depois	F _{cal}	P	Antes	Depois	F _{cal}	P
Atividade	Inspeção (N° de operárias)	4,08 \pm 2,24	3,74 \pm 3,81	0,21	0,65	5,66 \pm 0,56	4,83 \pm 0,41	1,41	0,24
	Primeiro corte (min)	18,73 \pm 3,73	40,81 \pm 4,08	15,98	<0,01	10,53 \pm 1,81	43,97 \pm 3,20	82,51	<0,01
	Transporte (min)	20,89 \pm 3,57	44,07 \pm 3,71	20,30	<0,01	14,55 \pm 1,79	49,22 \pm 2,78	110,01	<0,01
	Folhas cortadas (g)	5,07 \pm 0,03	2,98 \pm 0,03	2444,00	<0,00	5,12 \pm 0,01	3,06 \pm 0,04	2433,20	<0,01
	Lixo (g)	0,63 \pm 0,08	0,70 \pm 0,06	0,47	0,49	0,60 \pm 0,06	1,23 \pm 0,08	40,78	<0,01
	N° de fragmentos	127,2 \pm 20,59	14,51 \pm 4,75	28,43	<0,01	197,77 \pm 25,08	13,46 \pm 5,71	51,33	<0,01
Agressividade	Percepção (min)	3,84 \pm 1,78	22,15 \pm 4,76	12,96	<0,01	1,33 \pm 0,63	4,69 \pm 0,84	2,83	0,10
Sociabilidade	Recrutamento (min)	23,17 \pm 4,45	33,37 \pm 4,73	2,46	0,12	5,56 \pm 1,80	24,33 \pm 4,39	15,623	<0,01
Atrevimento	Ousadia (min)	2,18 \pm 0,52	4,72 \pm 0,75	7,71	<0,01	0,84 \pm 0,17	4,38 \pm 0,69	24,676	<0,01

Tabela 1.3: Par canônico, cargas canônicas (coeficientes) e correlações entre as características comportamentais das colônias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* antes e depois do tratamento com folhas de chaguinha (*Tropaeolum majus*). Os números em negrito indicam os principais contribuintes do eixo. As colônias foram suprimidas devido ao tipo de teste realizado.

Dimensões da <i>personalidade</i>	Variáveis comportamentais	Par canônico significativo (1º par)			
		Antes		Depois	
		Coeficiente	Correlação	Coeficiente	Correlação
Atividade	Primeiro corte (min)	-0,26	-0,67	-0,76	0,41
	Transporte (min)	0,67	-0,59	2,53	0,45
	Folhas cortadas (g)	0,10	0,69	0,14	0,28
	Nº de fragmentos	-0,11	0,73	1,48	-0,20
Agressividade	Percepção (min)	-0,31	0,33	1,02	0,07
Sociabilidade	Recrutamento (min)	-1,36	-0,91	0,49	0,18
Atrevimento	Ousadia (min)	-0,22	-0,42	0,68	0,41
Estatística	<i>R</i>	0,31			
	F_{appr}	1,50			
	$df_{\text{num/den}}$	49/288,5			
	<i>P</i>	0,022			

Tabela 1.4: Principais fatores e cargas das características comportamentais mais relevantes das colônias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* antes e depois do tratamento com folhas de chaguinha (*Tropaeolum majus*). Os números em negrito indicam os principais contribuintes de cada fator. As colônias foram suprimidas devido ao tipo de teste realizado.

Dimensões da <i>personalidade</i>	Variáveis comportamentais	Fatores			
		Antes <i>T. majus</i>		Depois <i>T. majus</i>	
		1º	2º	1º	2º
Atividade	Primeiro corte (min)	0,63	0,67	0,88	0,38
	Transporte (min)	0,62	0,64	0,91	0,28
	Folhas cortadas (g)	-0,70	-0,15	-0,12	0,01
	Nº de fragmentos	-0,77	-0,49	-0,80	-0,26
Agressividade	Percepção (min)	-0,22	-0,70	-0,22	-0,84
Sociabilidade	Recrutamento (min)	0,77	0,53	0,36	0,75
Atrevimento	Ousadia (min)	0,23	0,56	0,17	0,70
Autovalor		4,61	0,39	3,81	0,96
Proporção da variância explicada		0,93	0,07	0,80	0,20
Adequação da amostra (Kaiser's msa)			0,87		0,72

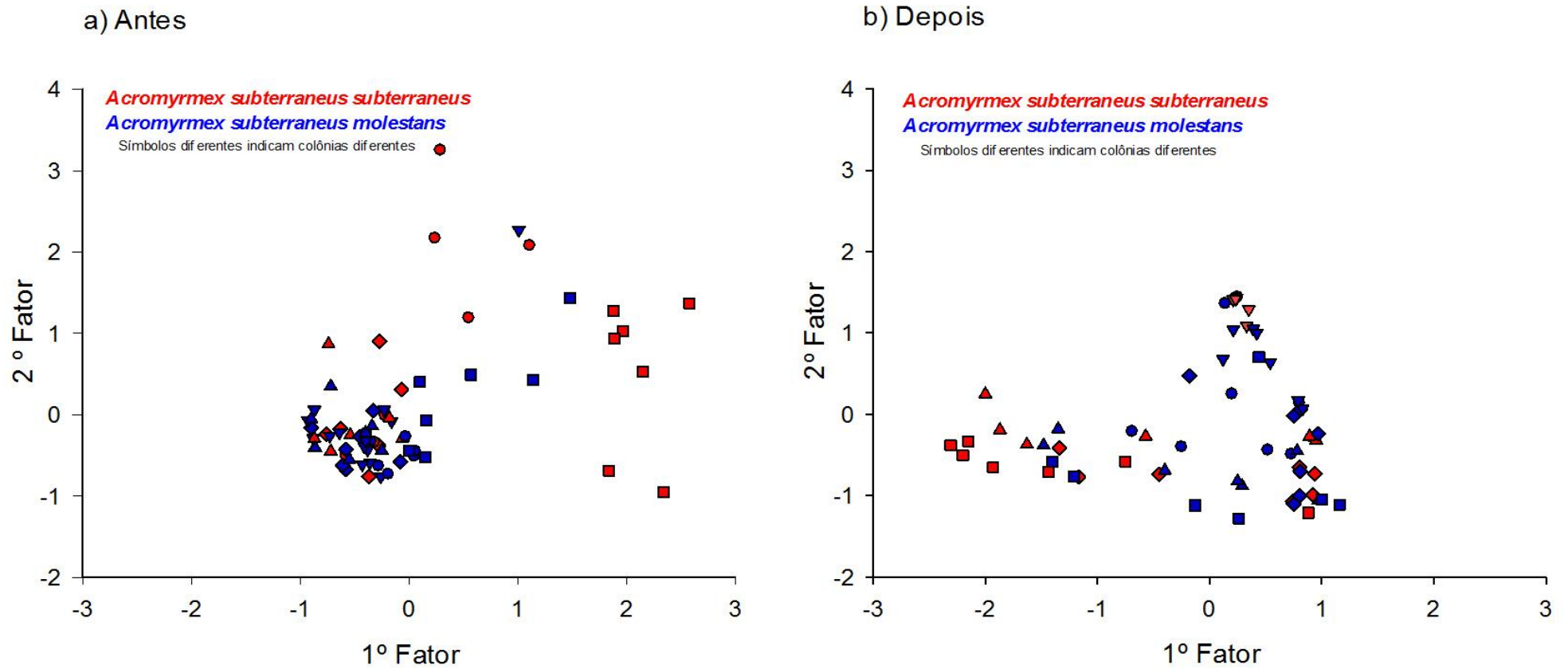


Figura 1.2: Diagrama de fator gerado a partir da tabela 1.4 e que representa a divergência comportamental antes e após o oferecimento de folhas de chaguinha (*Tropaeolum majus*) em *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans*. Símbolos diferentes indicam colônias diferentes.

Tabela 1.5: Correlação canônica parcial entre o crescimento do jardim de fungo das colônias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* com os principais comportamentos que compõem a personalidade dessas colônias. Os números em negrito indicam os principais contribuintes da correlação. As colônias foram suprimidas devido ao tipo de teste realizado.

Dimensões da <i>personalidade</i>	Variáveis comportamentais	Crescimento do jardim de fungo (Desempenho)	
		Coefficiente	Correlação
Atividade	Primeiro corte (min)	0,82	-0,69
	Transporte (min)	-1,36	-0,79
	Folhas cortadas (g)	0,51	0,88
	Nº de fragmentos	-0,03	0,77
Agressividade	Percepção (min)	-0,24	0,22
Sociabilidade	Recrutamento (min)	0,22	-0,24
Atrevimento	Ousadia (min)	-0,32	0,54
Estatística	<i>R</i>	0,61	
	F_{appr}	12,20	
	$df_{\text{num/den}}$	7/132	
	<i>P</i>	<0,001	

CAPÍTULO II - REDE SOCIAL E FLUXO DE INFORMAÇÕES ENTRE CASTAS DE FORMIGAS-CORTADEIRAS MEDIADAS POR ESTRESSORES NATURAIS

Resumo

Redes sociais são uma ampla classe de interconexões que descrevem as interações entre os indivíduos ou grupo de indivíduos que formam uma sociedade. As conexões nas redes sociais são dinâmicas e podem mudar constantemente e evoluírem com o tempo. A integração das experiências e a transmissão de informações contidas nessas redes são de grande importância em insetos sociais para a manutenção das colônias, o que se imagina ser verdadeiro também para formigas-cortadeiras. Portanto, o objetivo deste trabalho foi descrever as redes sociais exibidas pelas operárias das formigas-cortadeiras *Acromyrmex subteraneus subteraneus* e *Acromyrmex subteraneus molestans* e verificar sua dinâmica mediante o oferecimento de folhas de chaguinha (*Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae)), substrato considerado danoso às cortadeiras. Para isso, quatro castas operárias foram definidas e marcadas com tinta no abdome: babás e jardineiras, forrageadoras, generalistas internas e lixeiras. Na arena foram liberados dois estímulos, recursos foliares e um indivíduo heteroespecífico, e o tempo para encontrar o estímulo e as interações que se seguiram foram contabilizados. A presença de folhas de chaguinha como estímulo apresentou menor tempo para sua descoberta que a liberação de heteroespecífico. Independentemente do agente de estresse, as redes geradas indicaram papel central das castas forrageadora e lixeira no número de interações apresentadas, bem como a posição periférica das babás/jardineiras em ambos. O fornecimento de folhas de chaguinha para forrageamento pode reduzir a zero as interações sociais. O reconhecimento desse efeito sobre as interações entre as castas de

formigas-cortadeiras abre precedentes para a busca dos efeitos dessa planta sobre as operárias em si e ao fungo simbiote.

Palavras-chave: *Acromyrmex*, rede de interações, grau de centralidade, plantas tóxicas.

Abstract

Social networks are an ample class of interconnections that describe the interactions between individuals or groups that compose a society. The connections in such a network are dynamic and may change constantly and evolve with time. The integration of the experiences and the transmission of information existing in the networks are important to social insects in preserving their colonies; this is believed to be important also for leaf-cutters. The objective of this work was, therefore, that of describing the social networks exhibited by the leaf-cutting ants *Acromyrmex subterraneus subterraneus* and *Acromyrmex subterraneus molestans* and of verifying their dynamics after they were offered leaves of chaguinha (*Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae)), a substrate considered harmful to leaf-cutters. Four worker castes were recognized and marked with ink on their gaster: nurses (or gardeners), foragers, internal generalists and garbage-workers. Two stimuli were released inside an arena: leaf sources and a heterospecific (an *Atta* soldier). The time spent to find the resource and the subsequent exchanges were detected and annotated. The presence of *Tropaeolum* leaves as a stimulus demanded less time for its detection than did the release of the heterospecific. Independently of the stress agent, the network indicated a major role of the forager and waste worker castes in the number of the interactions, as well as by a peripheral positioning of nurses and generalists. *Tropaeolum* may, in fact, reduce to naught the social interactions. The detection of this effect on the interactions between castes opens new rationales for the search for the insecticidal effects of plants and plant parts on leaf-cutter workers and on their symbiotic fungus.

Keywords: *Acromyrmex*, interaction network, centrality degree, toxic plants.

1. Introdução

A teoria de redes (ou *networks*) trata da quantificação das propriedades locais e globais que caracterizam a estrutura e o comportamento de um conjunto de unidades interconectadas (NAUG, 2009). Os elementos essenciais de uma rede são os nós e as pontes que a compõem. Em uma representação gráfica de uma rede cada nó é representado por um símbolo e cada interação entre dois nós é representada por uma linha (ponte) desenhada entre eles. No contexto de rede social, cada nó normalmente é um indivíduo e cada ponte pode representar uma medida de interação social ou associação entre dois ou mais indivíduos (CROFT *et al.*, 2008; MERSCH, 2016). As pontes indicam o número, a duração ou a intensidade da interação entre o par e podem ser direcionadas indicando quem iniciou a interação ou a direção do fluxo da informação (MERSCH, 2016).

A construção de redes é frequentemente dependente da identificação dos indivíduos, ou de uma categoria de indivíduos como no caso dos insetos sociais (CROFT *et al.*, 2008). Redes sociais são representações úteis da sociedade, porque elas descrevem as ligações entre os indivíduos que formam a sociedade e também as vias potenciais através das quais a retroalimentação (ou *feedback*) das colônias pode ser associada aos comportamentos individuais (JEANSON, 2012; MERSCH, 2016). Redes agregam interações de diferentes tipos, direções e intensidades. Interações entre dois indivíduos podem ser positivas (trofalaxia, *grooming*) ou negativas (agressões), com ou sem contato físico. Cada interação tem ainda uma direção inerente porque um indivíduo é o iniciador enquanto o outro é o alvo (MERSCH, 2016; WATERS; FEWELL, 2012).

Quando as pontes entre os indivíduos são fortes ou direcionadas, o comprimento e direção dessas pontes definem a rota pela qual a informação, alimento ou patógenos

podem circular (MERSCH, 2016), e podem determinar quão rápido a colônia responde ao estímulo, resultando em uma decisão coletiva (PINTER-WOLLMAN *et al.*, 2011). Assim, restrições de configurações na dinâmica do comportamento individual podem influenciar no comportamento dos companheiros de ninho (MERSCH, 2016).

Redes sociais são, ainda, uma ampla classe de interações que caracterizam grupos sociais humanos e animais; são tipicamente pensadas para exibir uma estrutura global consistente com a previsão de modelos de redes gerados (WATERS; FEWELL, 2012). São figuras estáticas agregadas ao tempo de uma dinâmica social que ocorreu em um dado intervalo de tempo (MERSCH, 2016). Em redes sociais as pontes são dinâmicas; novas pontes se formam e pontes existentes desaparecem. (MERSCH, 2016).

A função das interações dentro dos grupos sociais pode variar com os contextos evolutivos e ecológicos nos quais o grupo está inserido (WATERS; FEWELL, 2012). Essas dinâmicas podem ser estocásticas (i.e., aleatórias), refletindo uma mudança gradual na conectividade, ou representarem uma resposta a estressores e/ou perturbações. Por exemplo, colônias de formigas que são mantidas em jejum e então são alimentadas compensam o jejum pela criação de padrões de rede diagramaticamente semelhantes a estrelas nas quais as formigas transferem alimentos a múltiplas receptoras simultaneamente (MERSCH, 2016).

Perfis sociais provêm um meio de estimar o impacto individual na organização social da colônia. O impacto de um dado perfil social corresponde às contribuições de um nó específico e pode ser medido pela remoção do nó de interesse da rede social e seu estabelecimento *de novo*, determinando o quanto elas mudaram quando da remoção do estressor ou perturbação (MERSCH, 2016).

Interações entre operárias definem a conectividade dessas redes, as quais são não aleatórias e evoluem com o tempo. Essas redes biológicas são de interesse especial porque acomodam comportamentos coletivos robustos e finamente regulados (GREENWALD *et al.*, 2015), tendo papel central na definição das vias de propagação de diversos sinais (JEANSON, 2012; PINTER-WOLLMAN *et al.*, 2011). Um exemplo de rede finamente regulada é a distribuição de alimento, um comportamento fundamental nos insetos eussociais (GREENWALD *et al.*, 2015), que envolve primariamente trofalaxia e é regulado por uma cadeia de demanda (SENDOVA-FRANKS *et al.*, 2010).

A auto-organização é vista como uma rede de unidades interconectadas e suas conexões são fundamentais para a percepção dos estímulos ambientais coordenando a ação de uma variedade de indivíduos (NAUG, 2009). Assim, operárias dentro de cada câmara ou ninho podem estar mais propensas a interagirem com operárias de dentro dessa câmara ou ninho do que com outras (PINTER-WOLLMAN *et al.*, 2011; SENDOVA-FRANKS *et al.*, 2010).

Sabe-se que algumas plantas e seus componentes quando em contato com operárias de uma colônia, promovem disruptura no comportamento social (MARINHO *et al.*, 2005). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi delinear as redes de interação (*networks*) entre operárias de diferentes castas de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* e identificar a(s) casta(s) que seria(m) a mais atuante(s) dentro do contexto de rede. Buscou-se ainda comparar as redes formadas sob diferentes fontes alimentares, onde uma delas é considerada possível agente alternativo de controle das cortadeiras. Hipotetiza-se que estressores naturais advindo de plantas causem alterações nas conexões estabelecidas pelas castas de operárias, gerando um padrão de rede que seria diferente do encontrado em colônias

testemunhas. Isso porque, como visto no capítulo anterior, diferentes recursos modificam respostas comportamentais e isso pode vir a refletir sobre as redes de interações encontradas.

2. Materiais e métodos

2.1. Manutenção das colônias em laboratório

Os experimentos foram realizados em dez colônias de formigas-cortadeiras, sendo cinco de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e cinco de *Acromyrmex subterraneus molestans*, coletadas na região de Viçosa, MG, Brasil (20°45'14" S e 42°52'54" O) e mantidas a 25±5 °C, 75±5% UR e 12 horas de escotofase (DELLA LUCIA, TEREZINHA M C *et al.*, 1993). As colônias possuíam aproximadamente quatro litros de fungo e exibiam atividade de forrageamento semelhante.

2.2. Bioensaios

De modo semelhante ao de LACERDA *et al.* (2013), foram retirados 250 mL de fungo de cada colônia para a formação das minicolônias utilizadas nos experimentos. O jardim de fungo foi subtraído de todas as operárias de todas as castas, jovens e adultas, com o auxílio de pinça entomológica maleável. Os miniformigueiros foram alocados em bandejas e receberam um chumaço de algodão umedecido com água. Cada um deles recebeu 30 operárias de cada casta, totalizando 120 operárias. Receberam ainda a rainha e imaturos para que as condições se assemelhassem o máximo possível.

Baseado no trabalho de CAMARGO *et al.* (2006), de acordo com o tamanho, as tarefas e locais onde são encontradas no ninho, quatro castas operárias foram determinadas:

- Babás/jardineiras (largura máxima da cápsula cefálica: ~1 mm) – operárias mínimas restritas ao interior do jardim de fungo, geralmente envolvidas no cuidado com a prole e com o jardim de fungo;
- Forrageadoras (largura máxima da cápsula cefálica: ~2 mm) – operárias envolvidas no corte e transporte de fragmentos dentro da arena de forrageamento e na defesa da colônia;
- Generalistas internas (largura máxima da cápsula cefálica: ~1,8 mm) – operárias maiores presentes no interior do jardim de fungo;
- Lixeiras (largura máxima da cápsula cefálica: ~1,8 mm) – operárias que retiram e manipulam o lixo da colônia que, neste trabalho, foram retiradas da área destinada ao lixo na colônia original.

As operárias tiveram o abdome pintado com tinta Testors® (Rockford, IL, EUA), inofensiva para insetos (LACERDA *et al.*, 2013). A definição das cores foi a seguinte: azul (lixadeiras), dourado (forrageadoras), rosa (generalistas internas). As babás não receberam marcação, pois não eram confundidas com indivíduos pertencentes a outras castas, em razão do seu tamanho diminuto.

Dois estímulos foram definidos com o intuito de verificar a transmissão da informação dentro da colônia. O primeiro estímulo foi a introdução de um indivíduo heteroespecífico, soldado de *Atta sexdens* (cápsula cefálica: ~3 mm), imobilizado por resfriamento, porém vivo. O heteroespecífico era introduzido na arena e retirado logo após o contato com os indivíduos pertencentes às colônias. Isso porque heteroespecíficos geralmente quando em campo evitam combate e evadem do local de encontro, sendo um estímulo dinâmico. Outro motivo para a retirada do heteroespecífico foi a manutenção de apenas um elemento inicial de perturbação.

O segundo estímulo foi o oferecimento de folhas, recurso estático na natureza. Cada colônia recebeu 3,0 gramas de acalifa (*Acalypha wilkesiana* Müll.Arg. (Malpighiales: Euphorbiaceae) (testemunha)) por dia durante três dias consecutivos e a mesma quantidade de folhas de chaguinha (*Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae)) (tratamento)) diariamente também durante três dias. Esses recursos não foram retirados das colônias objetivando-se o seu uso para manutenção do jardim de fungo.

Em cada avaliação foi medido o tempo para o encontro do estímulo e verificada qual casta esteve envolvida no reconhecimento do estímulo, se tornando o primeiro nó da rede social. Sabe-se que os indivíduos reconhecem suas companheiras de ninho e as discriminam por meio de toques de antenas (VIANA-BAILEZ *et al.*, 2011). Portanto, a partir daí foram contabilizados os comportamentos de antenação e *allogrooming* realizados pelas operárias. Esses comportamentos são formas conhecidas de transmissão de informações entre indivíduos (WATERS; FEWELL, 2012) e são aqui considerados como pontes da rede.

O tempo total de avaliação foi de cinco minutos para o estímulo heteroespecífico e de dez minutos para o estímulo folha. Os dados de tempo e número de interações foram analisados no programa Statistica 10.0® por meio de teste *t* a 5% de probabilidade.

Sabe-se que o grau de centralidade representa o papel de um indivíduo numa rede (JEANSON, 2012), ou seja é uma medida de quão ativa/interativa é a casta nas vias de comunicação das colônias. Assim, as redes foram geradas no programa Visone® (University of Konstanz & Karlsruhe Institute of Technology - Alemanha, 2001), o qual também determinou o grau de centralidade de cada nó (casta) bem como a densidade local apresentada por eles.

3. Resultados

O tempo gasto para que as operárias entrassem em contato com os estímulos oferecidos apresentou diferenças significativas apenas para o encontro das folhas em *Acromyrmex subterraneus subterraneus* ($P < 0,001$). Neste caso, o menor tempo foi transcorrido na presença de folhas de chaguinha (Tabela 2.1). A utilização dessa planta como recurso não produziu diferenças significativas para a percepção de indivíduo heteroespecífico. *Acromyrmex subterraneus molestans* não apresentou diferenças significativas quanto ao tempo para nenhum dos dois estímulos ($P = 0,43$ e $P = 0,42$, folhas e heteroespecífico, respectivamente). Quanto às operárias envolvidas nesse primeiro contato, destacaram-se as operárias forrageadoras (45% das vezes) e as lixeiras (37,5% das vezes); poucas vezes as generalistas internas (17,5% das vezes). Não se registrou a presença das babás (operárias mínimas).

O número de interações (pontes) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos durante a oferta de recursos foliares para ambas as espécies. Já a presença de um heteroespecífico em colônias providas com folhas de chaguinha modificou o número de interações (Tabela 2.2), sendo que, interações envolvendo operárias lixeiras foram reduzidas em *A. subterraneus subterraneus*. Em *A. subterraneus molestans* as interações que apresentaram redução no número de interação envolveram a casta forrageadora. As redes geradas a partir das castas (nós) e suas interações (pontes) estão representadas nas figuras 2.2 e 2.3, que se referem, respectivamente, ao estímulo folhas e estímulo heteroespecífico.

Em geral, as castas forrageadora e lixeira foram as que exibiram maiores graus de centralidade, enquanto a casta das babás apresentou menores graus de centralidade, podendo chegar a zero quando não houve interação (Tabela 2.3). Esse padrão de

centralidade foi comum em ambas as subespécies, tratamentos e estímulos e não foi alterado na presença de folhas de chaguinha, mantendo assim, as mesmas castas como principais atores nas redes (Tabela 2.4). A densidade local também não apresentou variação significativa entre os tratamentos (Tabela 2.4).

4. Discussão

As operárias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* apresentaram menor tempo para encontrar as folhas de chaguinha do que o tempo gasto para encontrar as folhas de acalifa. As colônias de *Acromyrmex subterraneus molestans* não apresentaram diferenças significativas no tempo de encontro das fontes alimentares oferecidas. Folhas de chaguinha geralmente não compõem a gama de plantas selecionadas pelas operárias para o corte (RIBEIRO, 2011), enquanto acalifa é facilmente encontrada sendo cortada por essas formigas, e utilizada na manutenção dos ninhos em laboratório (DELLA LUCIA *et al.*, 1993).

O menor tempo de reconhecimento das folhas pode ser resultado da percepção de compostos não benéficos ao fungo; isso porque as formigas tendem a evitar folhas que possam ser prejudiciais à colônia (ARENAS; ROCES, 2016; MONTOYA-LERMA *et al.*, 2012). Chaguinha apresenta uma variedade de compostos que podem ser potencialmente tóxicos. Em sua composição estão presentes constituintes químicos pertencentes às famílias dos glicosinolatos, flavonoides, ácidos fenólicos, antocianidinas, polissacarídeos, pigmentos, compostos voláteis, enzimas e vitaminas. Os três primeiros representam a maior parte de sua constituição (GHEDIRA; GOETZ, 2013). Os glicosinolatos se consumidos em alta concentração podem desencadear efeitos deletérios (GRIFFITHS *et al.*, 2001), enquanto a toxicidade de flavonoides se origina de diversos modos de ação, incluindo a formação de radicais livres (PERIĆ-

MATARUGA *et al.*, 2014), tendo sido reportado na literatura inibindo o crescimento micobacteriano (SHUKLA *et al.*, 2015). A redução da microbiota, como visto no capítulo anterior, reduz o desempenho da colônia ao reduzir o volume do jardim de fungo, fato que também foi constatado por RIBEIRO (2011) em colônias de *Atta sexdens rubropilosa*.

Forrageadoras e lixeiras foram as castas mais presentes na descoberta dos recursos, mesmo sem as diferenças significativas entre os tratamentos. Após o reconhecimento dos recursos a próxima etapa no forrageamento é sua exploração (RIBEIRO; MARINHO, 2011). Essa empreitada depende da divisão de tarefas que, marcadamente, é um dos comportamentos mais bem regulados apresentados pelos insetos sociais e que se baseia em polimorfismo e polietismo (DE SOUZA *et al.*, 2011; DELLA LUCIA *et al.*, 2014). O forrageamento é crucial para a colônia, pois é através dele que os recursos foliares, tão importantes à manutenção do fungo simbiote, são obtidos (ARENAS; ROCES, 2016; RIBEIRO; MARINHO, 2011). Ele é fruto de comportamentos como a antenação (SUMANA; STARKS, 2004) e liberação de feromônios (CAMARGO *et al.*, 2006; VIANA-BAILEZ *et al.*, 2011).

A utilização de folhas de chaguinha reduziu o número de interações inter e intracastas com o estímulo provido pela presença de um indivíduo heteroespecífico. Nas *Acromyrmex*, as operárias forrageadoras também são responsáveis pela defesa das colônias através de expulsão e agressão de um agente invasor, ou devolução de fragmentos indesejados (FORTI *et al.*, 2004). Colônias do gênero *Acromyrmex* apresentam menor polimorfismo e com isso a separação das tarefas baseada na morfologia das operárias não é tão evidente (MUSCEDERE *et al.*, 2011). Quando isso ocorre aumenta-se o repertório de tarefas que cada indivíduo pode realizar dentro das colônias (OSTER; WILSON, 1978) e ocorre uma maior distribuição das tarefas entre as

operárias (MUSCEDERE *et al.*, 2011). Colônias de *Acromyrmex* apresentam um rico repertório comportamental que é composto de 29 atos comportamentais descritos (CAMARGO *et al.*, 2007). Essa sobreposição de tarefas pode ser afetada mediante estresse como a presença de um vegetal potencialmente tóxico. Outro caso de alteração na rede por estresse é visto em situação de jejum, onde algumas operárias podem se tornar reservatório alimentar deixando de executar outras tarefas para manter a alimentação dos outros membros da colônia (SENDOVA-FRANKS *et al.*, 2010).

Os graus de centralidade e a densidade confirmaram a maior participação das castas forrageadora e lixeira a integração da rede social da colônia. Isso significa que essas operárias, além de responsáveis pelas tarefas externas do ninho, são responsáveis pela criação das pontes de transmissão de informação. Podem assim ser classificadas como organismos “organizadores” e/ou “catalisadores” regulando a coesão da colônia e estimulando a realização das atividades (MERSCH, 2016). No entanto, ao mesmo tempo em que isso pode ser favorável à colônia, pode também ser prejudicial, uma vez que as redes sociais podem variar mediante perturbações e alteração dos contextos em que estão inseridas (CROFT *et al.*, 2008; GRÜTER; LEADBEATER, 2014; JEANSON, 2012); por exemplo, frente à disseminação de patógenos e inseticidas (SILVA *et al.*, 2015; WADDINGTON; HUGHES, 2010). Um estresse direcionado a essas castas poderia indiretamente acometer toda a colônia, uma vez que causaria a diluição dos efeitos individuais através da redistribuição das partículas infecciosas entre os membros centrais da rede social (NOVAK; CREMER, 2015). Um caso de rompimento das interações sociais frente a exposição a compostos químicos é o do composto β -eudesmol, o qual interfere no reconhecimento entre as operárias culminando em um estado de agressão mútua entre elas (MARINHO *et al.*, 2005; RIBEIRO *et al.*, 2007).

Ao contrário das forrageadoras e lixeiras, as babás foram as operárias com o menor grau de centralidade, interagindo bem menos que as outras castas. Essa menor interação pode ser resultado da localização espacial dentro do ninho que é muitas vezes determinante para o padrão de interações exibidas (PINTER-WOLLMAN *et al.*, 2011). Indivíduos mais isolados nas redes, chamados “realizadores”, geralmente são o núcleo mais externo da rede e realizam quase inteiramente suas tarefas, ou seja, sem interações (MERSCH, 2016). A posição periférica pode acarretar numa concentração de uma infecção dizimando inicialmente as operárias da casta e matando posteriormente os outros membros da colônia. Uma dificuldade encontrada pelas operárias mínimas é a de rejeitar e retirar fragmentos maiores de fungos invasores podendo potencializar uma contaminação (IVENS *et al.*, 2009). Operárias mínimas e babás são o alvo inicial de formicidas à base de fipronil e a ausência dessa casta possibilita a tomada do jardim de fungo por fungos oportunistas e em última instância a morte de todos os indivíduos pela inviabilidade da fonte alimentar (GANDRA *et al.*, 2016).

Essas respostas apontam para duas estratégias para o futuro do manejo de formigas-cortadeiras: a disrupção da rede baseada na quebra das pontes ao focar as técnicas de controle em operárias forrageadoras, ou a extinção de uma casta mais periférica, mas de grande importância para a manutenção da colônia como as babás e jardineiras. Iscas formicidas atuam principalmente da segunda forma, enquanto a utilização de plantas contra formigas- cortadeiras exemplificam a primeira estratégia.

5. Conclusão

As folhas de chaguinha (*Tropaeolum majus*) interferiram no tempo de exploração e encontro dos recursos foliares oferecidos. Essas folhas levaram menos

tempo para serem encontradas provavelmente devido à presença de compostos tóxicos. No entanto, não interferiram no tempo de encontro de heteroespecíficos.

A presença das folhas de acalifa, recurso conhecido no cotidiano, não influencia o número de interações entre as operárias. Já na presença de um heteroespecífico e após a alimentação com folhas de chaguinha, as operárias apresentaram redução no número de interações.

As redes construídas a partir das interações expuseram as castas forrageadora e lixeira como os nós centrais, apresentando maior grau de centralidade, sendo responsáveis pelo maior fluxo de informações dentro da colônia. Já operárias mínimas (babás e jardineiras) se mostraram como um nó periférico de menor interação, muito provavelmente devido à sua localização espacial na colônia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARENAS, Andrés; ROCES, Flavio. Gardeners and midden workers in leaf-cutting ants learn to avoid plants unsuitable for the fungus at their worksites. **Animal Behaviour** v. 115, p. 167–174, maio 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003347216000919>>.

CAMARGO, Roberto S *et al.* Age polyethism in the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel, 1911 (Hym., Formicidae). **Journal of Applied Entomology** v. 131, n. 2, p. 139–145, 23 fev. 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0418.2006.01129.x>>.0931-2048.

CAMARGO, Roberto S *et al.* Studies on leaf-cutting ants, *Acromyrmex* spp. (Formicidae, Attini): behavior, reproduction and control. In: BONDARI, K (Org.). **Recent Research Development in Entomology**. [S.l.: s.n.], 2006. 5 v. p. 1–21. 8177362461.

CROFT, Darren P; JAMES, Richard; KRAUSE, Jens. Introduction to social networks - Huisman e van Duijn 2005. In: CROFT, Darren P; JAMES, Richard; KRAUSE, Jens (Orgs.). **Exploring Animal Social Networks**. [S.l.]: Princeton University Press, 2008. 1 v. p. 1–18. 978-0-691-12751-4.

DE SOUZA, Danival José; LOPES, Juliane Floriano Santos; DELLA LUCIA, Terezinha Maria Castro. Organização social das formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, Terezinha Maria Castro (Org.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 126–140. 978-85-7269-430-8.

DELLA LUCIA, Terezinha M C *et al.* Criação de formigas cortadeiras em laboratório. In: DELLA LUCIA, Terezinha M C (Org.). **As Formigas Cortadeiras**. Volume único. Viçosa: Folha de Viçosa, 1993. p. 151–162.

DELLA LUCIA, Terezinha M C; GANDRA, Lailla C; GUEDES, Raul N C. Managing leaf-cutting ants: Peculiarities, trends and challenges. **Pest Management Science** v. 70, n. 1, p. 14–23, 2014.1526-4998.

FORTI, Luiz C *et al.* Aloetismo em *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel (Hymenoptera, Formicidae), durante o forrageamento, cultivo do jardim de fungo e devolução dos materiais forrageados. **Revista Brasileira de Entomologia** v. 48, n. 1, p. 59–63, mar. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0085-56262004000100011&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

GANDRA, Lailla C *et al.* Mechanism of leaf-cutting ant colony suppression by fipronil used in attractive toxic baits. **Pest Management Science** v. 72, n. 8, p. 1475–1481, ago. 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ps.4239>>.

GHEDIRA, K; GOETZ, P. *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae). **Phytothérapie** v. 11, n. 5, p. 316–319, 26 out. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10298-013-0808-4>>.1029801308084.

GREENWALD, Efrat; SEGRE, Enrico; FEINERMAN, Ofer. Ant trophallactic networks: simultaneous measurement of interaction patterns and food dissemination. **Scientific Reports** v. 5, n. February, p. 12496, 30 jul. 2015. Disponível em:

<<http://www.nature.com/srep/2015/150730/srep12496/full/srep12496.html>>.

GRIFFITHS, D. Wynne *et al.* Identification of glucosinolates on the leaf surface of plants from the Cruciferae and other closely related species. **Phytochemistry** v. 57, n. 5, p. 693–700 , jul. 2001. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942201001388>>.0031-9422.

GRÜTER, Christoph; LEADBEATER, Ellouise. Insights from insects about adaptive social information use. **Trends in Ecology & Evolution** v. 29, n. 3, p. 177–184 , mar. 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169534714000172>>.

IVENS, Aniek B F *et al.* Caste-specific symbiont policing by workers of *Acromyrmex* fungus-growing ants. **Behavioral Ecology** v. 20, n. 2, p. 378–384 , 1 mar. 2009. Disponível em: <<http://beheco.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/beheco/arn150>>.1045-2249.

JEANSON, Raphaël. Long-term dynamics in proximity networks in ants. **Animal Behaviour** v. 83, n. 4, p. 915–923 , abr. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2012.01.009>>.0003-3472.

LACERDA, Fabrícia G. *et al.* Task Performance of Midden Workers of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Insect Behavior** v. 26, n. 6, p. 873–880 , 12 nov. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10905-013-9403-7>>.0892-7553.

MARINHO, Cidália G S *et al.* Beta-eudesmol-induced aggression in the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomologia Experimentalis Et Applicata** v. 117, n. 1, p. 89–93 , 2005. Disponível em: <isi:000231799000009>.0013-8703.

MERSCH, Danielle P. The social mirror for division of labor: what network topology and dynamics can teach us about organization of work in insect societies. **Behavioral Ecology and Sociobiology** v. 70, n. 7, p. 1087–1099 , 30 jul. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00265-016-2104-4>>.

MONTOYA-LERMA, James *et al.* Leaf-cutting ants revisited: Towards rational management and control. **International Journal of Pest Management** v. 58, n. May 2013, p. 225–247 , 2012.0967-0874.

MUSCEDERE, Mario L.; BERGLUND, Jennifer L.; TRANIELLO, James F A. Polymorphism and division of labor during foraging cycles in the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Formicidae; Attini). **Journal of Insect Behavior** v. 24, n. 2, p. 94–105 , 2011.0892-7553.

NAUG, Dhruva. Structure and resilience of the social network in an insect colony as a function of colony size. **Behavioral Ecology and Sociobiology** v. 63, n. 7, p. 1023–1028 , 2 maio 2009. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00265-009-0721-x>>.0340-5443.

NOVAK, Sebastian; CREMER, Sylvia. Fungal disease dynamics in insect societies: Optimal killing rates and the ambivalent effect of high social interaction rates. **Journal of Theoretical Biology** v. 372, p. 54–64 , maio 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtbi.2015.02.018>>.0022-5193.

OSTER, George F.; WILSON, Edward O. **Caste and ecology in the social insects**. Princeton: Princeton University Press, 1978. 352 p. .

PERIĆ-MATARUGA, Vesna *et al.* Potential improvement of *Lymantria dispar* L. management by quercetin. **Archives of Biological Sciences** v. 66, n. 3, p. 1125–1129 , 2014.

PINTER-WOLLMAN, Noa *et al.* The effect of individual variation on the structure and function of interaction networks in harvester ants. **Journal of The Royal Society Interface** v. 8, n. 64, p. 1562–1573 , 7 nov. 2011. Disponível em: <<http://rsif.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rsif.2011.0059>>.1742-5689.

RIBEIRO, Myriam M R. **Atividade formicida de IB 151239 em *Atta sexdens rubropilosa***. Universidade Federal de Viçosa, 2011. 77 p.

RIBEIRO, Myriam M R; MARINHO, Cidália G S. Seleção e forrageamento em formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, Terezinha M C (Org.). . **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 189–203. 978-85-7269-430-8.

RIBEIRO, Myriam M R; MARINHO, Cidália G S; DELLA LUCIA, Terezinha M C. Interferência do β -eudesmol no comportamento de alarme de operárias de *Atta sexdens rubropilosa*. **Biológico** v. 69, n. 2, p. 351–354 , 2007.

SENDOVA-FRANKS, Ana B *et al.* Emergency networking: famine relief in ant colonies. **Animal Behaviour** v. 79, n. 2, p. 473–485 , fev. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.11.035>>.0003-3472.

SHUKLA, Harish *et al.* Isocitrate lyase of *Mycobacterium tuberculosis* is inhibited by quercetin through binding at N-terminus. **International Journal of Biological Macromolecules** v. 78, p. 137–141 , jul. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.04.005>>.5222612414.

SILVA, Laís C *et al.* Do *Atta sexdens rubropilosa* workers prepare leaves and bait pellets in similar ways to their symbiotic fungus? **Sociobiology** v. 62, n. 4, p. 484–493 , 2015.

STATISTICA 10.0 - TIBCO Software Inc. Attention: Legal Department/Privacy Committee 3303 Hillview Avenue Palo Alto, CA 94304.

SUMANA, Annagiri; STARKS, Philip T. Grooming patterns in the primitively eusocial wasp *Polistes dominulus*. **Ethology** v. 110, n. 10, p. 825–833 , out. 2004. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0310.2004.01024.x>>.0179-1613.

VIANA-BAILEZ, Ana Maria; BAILEZ, Omar; MALAQUIAS, Karla da Silva. Comunicação química em formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, Terezinha M C (Org.). . **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 141–164. 987-85-7269-430-8.

VISONE software (“software”) - Copyrighted by the Visone Project Team, University of Konstanz and Karlsruhe Institute of Technology - Germany. all rights reserved

WADDINGTON, Sarah J; HUGHES, William O H. Waste management in the leaf-cutting ant *Acromyrmex echinator*: The role of worker size, age and plasticity.

Behavioral Ecology and Sociobiology v. 64, n. 8, p. 1219–1228 , 2010.0340-5443.

WATERS, James S; FEWELL, Jennifer H. Information processing in social insect networks. **PLoS ONE** v. 7, n. 7, p. e40337 , 16 jul. 2012. Disponível em: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0040337>>.9781450314626.

Tabela 2.1: Teste t para o tempo médio gasto para encontrar o estímulo folhas.

Estímulo: Folhas	Espécie	Tratamento	Média do tempo (s)	t	Gl	P
	<i>Acromyrmex subterraneus subterraneus</i>	Acalifa	9,03±4,09	3,60	20	<0,00
		Chaguinha	4,22±2,22			
	<i>Acromyrmex subterraneus molestans</i>	Acalifa	3,46±2,68	0,79	28	0,43
		Chaguinha	2,84±1,47			

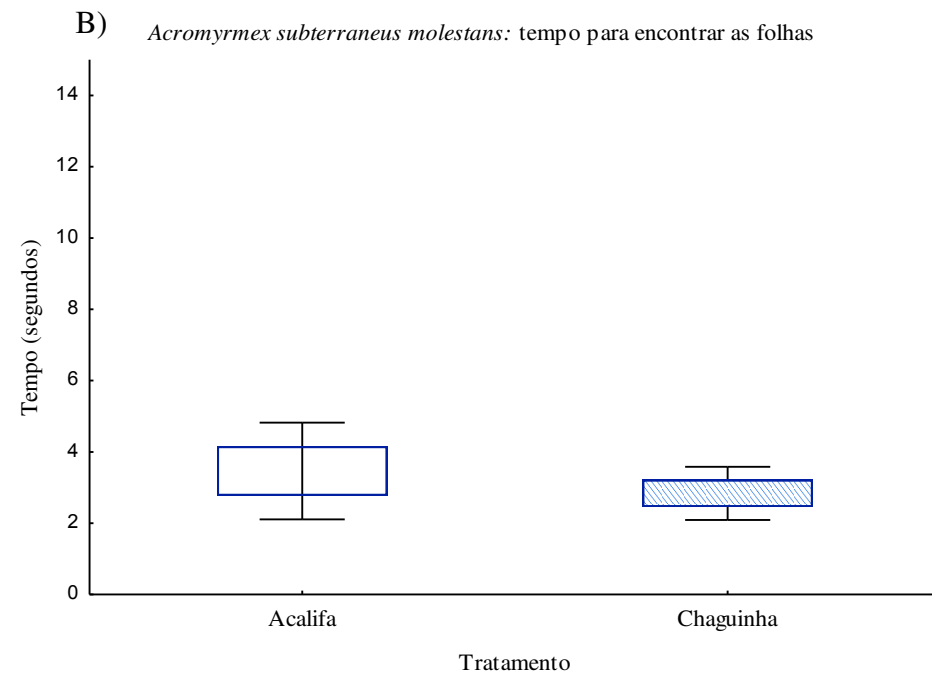
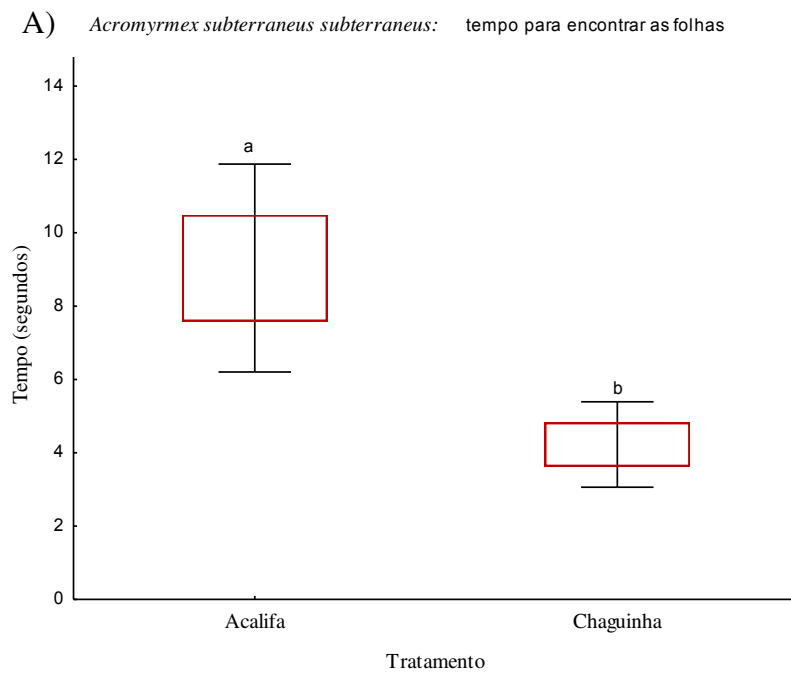


Figura 2.1: Tempo gasto até a primeira operária encontrar os recursos foliares. a) *Acromyrmex subterraneus subterraneus*; b) *Acromyrmex subterraneus molestans*.

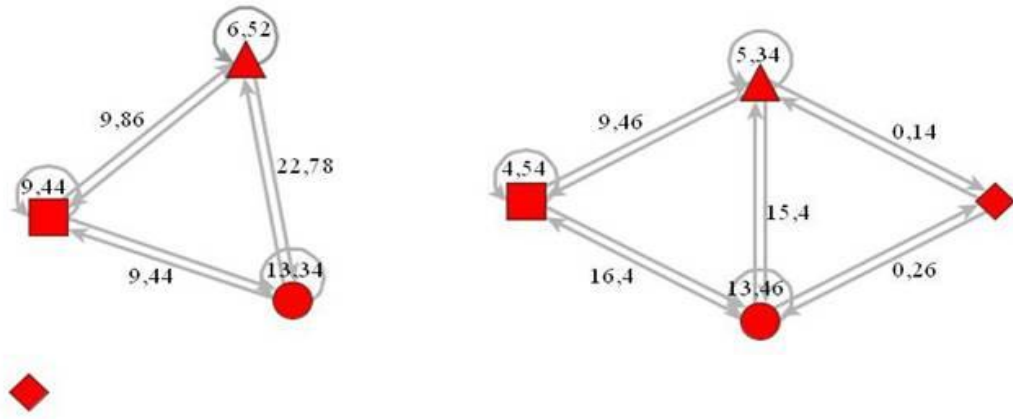
Tabela 2.2: Interações entre indivíduos das diferentes castas de colônias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* antes e depois do tratamento com folhas de chaguinha estimuladas pela presença de um indivíduo heteroespecífico, submetidas à teste *t*-pareado.

Interações entre castas	Estímulo heteroespecífico									
	<i>Acromyrmex subterraneus subterraneus</i>					<i>Acromyrmex subterraneus molestans</i>				
	Antes	Depois	<i>t</i>	GI	<i>P</i>	Antes	Depois	<i>t</i>	GI	<i>P</i>
Forageadora/Forageadora	16,00±2,02	12,28±3,27	1,07	4	0,34	6,26±0,90	3,20±0,54	4,79	4	<0,05
Forageadora/Generalista interna	9,44±1,42	13,08±2,42	-1,49	4	0,21	3,22±0,87	2,56±0,65	0,95	4	0,40
Generalista interna/Generalista interna	2,00±0,55	5,88±1,51	-1,94	4	0,12	0,42±0,17	0,68±0,36	-0,76	4	0,49
Lixeira/Forageadora	26,68±2,42	14,28±2,64	3,26	4	<0,05	11,08±1,48	6,8±0,65	2,62	4	0,06
Lixeira/Generalista interna	9,86±1,81	10,14±0,93	-0,13	4	0,90	4,54±1,62	3,88±0,89	0,63	4	0,56
Lixeira/Lixeira	8,92±0,70	4,12±1,01	5,10	4	<0,05	8,40±1,67	5,48±2,29	2,67	4	0,06

Estímulo – folhas

A) *A. subterraneus subterraneus* – antes

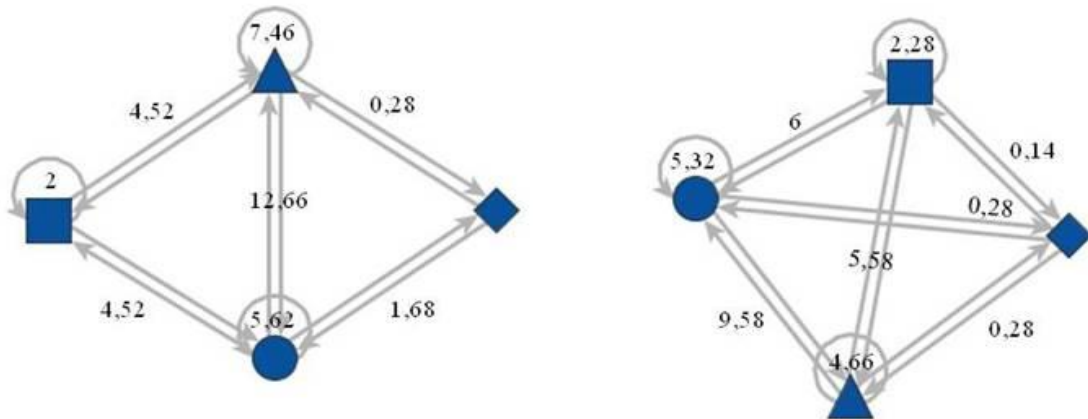
B) *A. subterraneus subterraneus* – depois



Estímulo – folhas

C) *A. subterraneus molestans* – antes

D) *A. subterraneus molestans* – depois



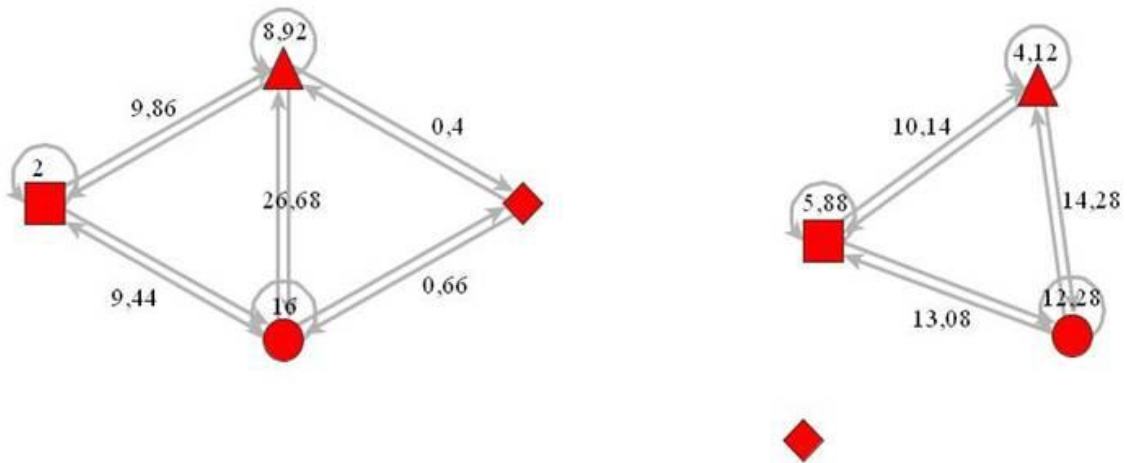
- Generalistas
- △ Lixeiras
- Forrageadoras
- ◇ Babás ou jardineiras

Figura 2.2: Redes de interações entre as castas operárias (*network*) de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* após encontrar o recurso foliar. A e C antes e B e D depois da presença de folhas de chaguinha. Setas representam as interações formadas entre operárias da mesma casta (*looping*) ou de castas diferentes. Os valores apresentados são as médias dos números de interações encontrados.

Estímulo – heteroespecífico

A) *A. subterraneus subterraneus* – antes

B) *A. subterraneus subterraneus* – depois



Estímulo – heteroespecífico

C) *A. subterraneus molestans* – antes

D) *A. subterraneus molestans* – depois

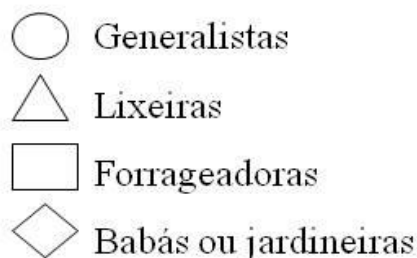
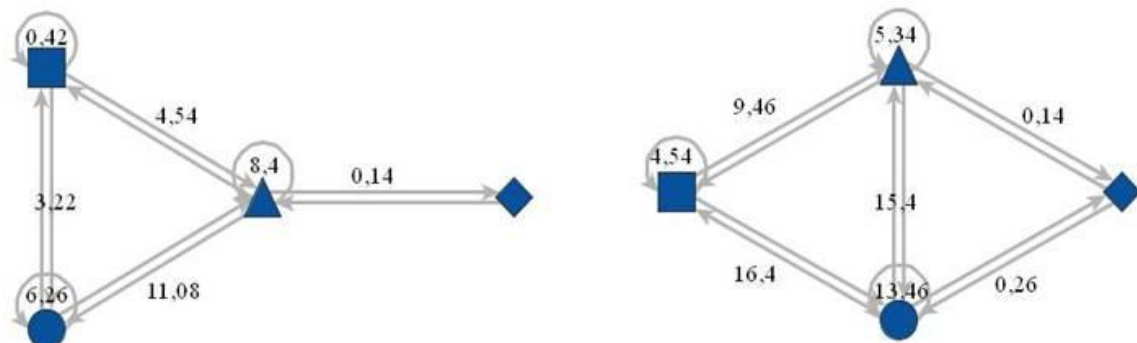


Figura 2.3: Redes de interações entre as castas operárias (*network*) de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* após percepção de um indivíduo heteroespecífico e sob provimento de folhas de chaguinha. A e C antes e B e D depois da oferta de folhas de chaguinha. Setas representam as interações formadas entre operárias da mesma casta (*looping*) ou de castas diferentes. Os valores apresentados são as médias dos números de interações encontrados.

Tabela 2.3: Grau de centralidade (%) apresentado pelas castas de operárias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e *Acromyrmex subterraneus molestans* nas diferentes redes antes e depois do tratamento com folhas de chaguinha.

Casta	Grau de Centralidade (%)			
	<i>A. subterraneus subterraneus</i>		<i>A. subterraneus molestans</i>	
Estímulo: Folha	Antes	Depois	Antes	Depois
Babá/jardineira	0	9,09	7,14	10,71
Forrageadora	13,64	18,18	14,29	14,29
Generalista interna	13,64	13,64	10,71	14,29
Lixeira	13,64	18,18	14,29	14,29
Estímulo: Heteroespecífico				
Babá/jardineira	4,17	8,33	9,09	0±0
Forrageadora	12,50	16,67	18,18	13,64
Generalista interna	2,50	12,50	13,64	13,64
Lixeira	16,67	16,67	18,18	13,64

Tabela 2.4: Centralidade e densidade local (média \pm erro padrão), parâmetros que compõem as redes de interação, antes e após o oferecimento de folhas de chaguinha comparados por teste *t*-pareado.

		Estímulo: folhas									
		<i>Acromyrmex subterraneus subterraneus</i>					<i>Acromyrmex subterraneus molestans</i>				
		Antes	Depois	<i>t</i>	Gl	<i>P</i>	Antes	Depois	<i>t</i>	Gl	<i>P</i>
Centralidade		1,50 \pm 1,00	2,17 \pm 0,64	-2,46	3	0,09	2,17 \pm 0,64	2,50 \pm 0,33	-1,73	3	0,18
Densidade local		1,00 \pm 0,00	0,83 \pm 0,19	1,73	3	0,18	0,83 \pm 0,19	1,00 \pm 0,00	-1,73	3	0,18
		Estímulo: heteroespecífico									
		<i>Acromyrmex subterraneus subterraneus</i>					<i>Acromyrmex subterraneus molestans</i>				
		Antes	Depois	<i>t</i>	Gl	<i>P</i>	Antes	Depois	<i>t</i>	Gl	<i>P</i>
Centralidade		2,17 \pm 0,64	1,50 \pm 1,00	2,46	3	0,09	1,83 \pm 0,84	2,17 \pm 0,64	-1,73	3	0,18
Densidade local		0,83 \pm 0,19	1,00 \pm 0,00	-1,73	3	0,18	0,83 \pm 0,33	0,83 \pm 0,19	-0,02	3	0,99

CAPÍTULO III – TOXICIDADE DE QUERCETINA A OPERÁRIAS DE FORMIGAS-CORTADEIRAS E AO SEU FUNGO SIMBIONTE

Resumo

As formigas-cortadeiras se destacam entre as principais pragas de grande importância no Brasil devido ao seu potencial de causar danos em diversas culturas, principalmente em áreas de reflorestamento. Os formicidas atualmente usados no manejo dessas formigas estão sob forte pressão das certificadoras internacionais e eventualmente sairão de circulação. A busca por alternativas que possam ser efetivas e ambientalmente aceitas tem sido o norte das pesquisas voltadas para o controle das cortadeiras. Assim, o objetivo deste trabalho foi testar a toxicidade da quercetina, substância isolada de folhas de chaguinha (*Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae)), às operárias de *Acromyrmex subteraneus subteraneus* e *Acromyrmex subteraneus molestans* e ao seu fungo simbionte. As operárias tratadas receberam 5 mg quercetina diluída em 1 mL de dieta artificial de água e mel (1:1). As testemunhas receberam apenas a solução de água e mel. As operárias de ambas as espécies tratadas com a quercetina morreram ao final do terceiro dia. O fungo simbionte isolado em placa de Petri recebeu diferentes concentrações de quercetina (1mg/mL, 5mg/mL e 10 mg/mL) sobre o meio de cultura. Nenhuma delas foi capaz de inibir seu crescimento. O efeito da quercetina sobre as operárias sugere que deva ser realizada uma maior averiguação acerca desse composto para um possível uso no MIP dessas formigas.

Palavras-chave: *Acromyrmex*, compostos naturais, mortalidade, controle alternativo

Abstract

Leaf-cutting ants are among the most important pests in Brazil due to their potential to cause damage to different crops, especially to forests. Formicides currently used to control these ants are under heavy pressure from international certifiers and will eventually be prohibited. The quest for alternatives that are effective and, also environmental friendly, has been the aim of the research focused on the leaf-cutting ant control. Thus, the objective of this work was to test the toxicity of a compound isolated from *Tropaeolum majus* leaves, the quercetin, to *Acromyrmex subterraneus subterraneus* and to *Acromyrmex subterraneus molestans* workers and to their symbiotic fungus. Treated workers received 5 mg of quercetin diluted in 1 mL of artificial diet of water and honey (1:1), while the witness received only the artificial solution. Treated workers of both species died at the end of three days. Isolated symbiotic fungus received different quercetin concentrations (1 mg/mL, 5 mg/mL and 10 mg/mL) with the culture medium; however, none of them was able to inhibit their growth. The quercetin effects on the workers suggest that more investigation should be carried out on this compound for a possible use in the integrated management of these ants.

Key words: *Acromyrmex*, natural compounds, mortality, alternative control.

1. Introdução

A fungivoria é um hábito raro entre os animais, mesmo que fungos sejam recurso abundante, crescendo principalmente em florestas úmidas tropicais (DELLA LUCIA, TEREZINHA M C; DE SOUZA, 2011). As formigas da subtribo Attina além da simples fungivoria também cultivam o fungo simbiote e asseguram a sua reprodução clonal (AUTUORI 1956). Para tanto, os gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, considerados como as verdadeiras formigas-cortadeiras, utilizam partes verdes das plantas como substrato para a manutenção do jardim de fungo (DELLA LUCIA, TEREZINHA M C; DE SOUZA, 2011; MOREIRA; ERTHAL; SAMUELS, 2011; PAGNOCCA; RODRIGUES; BACCI JR, 2011).

Essa atividade de alocação de fragmentos vegetais, também conhecida por forrageamento, é de grande importância para a colônia, visto que é através dela que há a captação de recursos para a colônia. Esta tarefa geralmente é associada às operárias maiores que cortam e transportam o recurso; já o processamento desse material é feito por operárias menores (WILSON, 1980). HOWARD (1987), em estudos sobre a seleção de plantas pelas formigas-cortadeiras, já apontava que a presença de compostos secundários exerce um papel relevante na escolha do material a ser cortado pelas operárias. Compostos fenólicos como taninos e flavonoides estão entre as principais defesas das plantas contra desfolhadores e estão presentes, primariamente, nas ceras das cutículas das folhas e nos vacúolos celulares (DE FINE LICHT *et al.*, 2013).

Essas substâncias podem atuar nas formigas de duas maneiras. Causando mortalidade ou promovendo alterações de seu comportamento. Essas alterações podem ser mediadas por substâncias encontradas em plantas. Exemplos dessas alterações

comportamentais mediadas por substâncias vegetais são relatados por NORTH; HOWSE; JACKSON, (2000), MARSARO JR *et al.* (2004) e MARINHO *et al.* (2005).

A relação estabelecida entre as formigas-cortadeiras e o seu fungo simbiote é outro fator de grande relevância dentro da vida da colônia. Isto porque é conhecido que o fungo atua inibindo a ação de substâncias de defesa das plantas. Descrito inicialmente por Möller (1983) como *Rozites gongylophora*, o fungo simbiote das formigas-cortadeiras passou por diversas classificações até Singer (1986) e Fischer (1994) chegarem à classificação como *Leucoagaricus gongylophorus*. A dificuldade nessa identificação foi devida, em grande parte, pela infrequência da estrutura conhecida como basidiocarpo ou corpo de frutificação, nos jardins das cortadeiras (PAGNOCCA; RODRIGUES; BACCI JR, 2011).

Segundo MOREIRA; ERTHAL; SAMUELS (2011) essa associação tem evoluído até um nível tão complexo que as formigas e os fungos não podem mais sobreviver isoladamente. Tanto que, é importante entender as características nutricionais do fungo cultivado, pois elas refletem a seletividade das formigas (ABRIL; BUCHER, 2004). Essa interação mutualística provê às formigas uma fonte rica de nutrientes de fácil digestão (SCHIØTT *et al.*, 2008). Além disso, tem sido proposto que as formigas pararam de produzir suas próprias enzimas digestivas, uma vez que o fungo lhes fornece não somente uma gama de enzimas hidrolíticas, mas também nutrientes facilmente assimiláveis (ERTHAL *et al.*, 2009; MOREIRA; ERTHAL; SAMUELS, 2011; SCHIØTT *et al.*, 2010).

Plantas de chguinha (*Tropaeolum majus* L.), bem como seus extratos e subfrações, apresentam grande toxicidade ao jardim de fungo das formigas (RIBEIRO, 2011). A maior parte de sua composição química advém de glicosinolatos, flavonoides e ácidos

fenólicos. Um resumo desses constituintes pode ser encontrado em GHEDIRA; GOETZ (2013).

Os flavonoides são compostos polifenólicos caracterizados por dois anéis aromáticos ligados por um heterociclo (GOŁAWSKA *et al.*, 2014). Segundo PERIĆ-MATARUGA *et al.*, (2014), a toxicidade de flavonoides se origina de diversos modos de ação, incluindo a formação de radicais livres. Entre os flavonoides, destaca-se a quercetina, um flavonoide natural, que tem sido reportada por inibir o crescimento micobacteriano (SHUKLA *et al.*, 2015).

O presente trabalho buscou isolar substâncias a partir de extratos de folhas de *T. majus* e avaliar a possível toxicidade dessas às operárias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e de *Acromyrmex subterraneus molestans* e ao fungo *L. gongylophorus*.

2. Materiais e métodos:

2.1 Isolamento do fungo simbiote:

Das colônias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* mantidas no Laboratório de Formigas-cortadeiras/Insetário da Universidade Federal de Viçosa foram retiradas pequenas quantidades de fungo simbiote. Essas foram colocadas assepticamente em placas de Petri contendo meio de cultura preparado à base de peptona, cloreto de sódio, extrato de malte, glicose, aveia em flocos, ágar e água destilada. O meio foi submetido à esterilização em autoclave a 120°C, 1,1 atm por 30 minutos. Antes de ser vertido em placa, o meio recebeu o antibiótico cloranfenicol (100 µL de antibiótico a cada 100 mL de meio) (PAGNOCCA *et al.*, 1990).

As placas contendo fungo foram mantidas em câmara bioclimatizadoras tipo BOD (25±2°C). Pequenas porções de fungo foram transferidas assepticamente para novas placas a cada um mês com o intuito de evitar contaminações e proliferar a cultura.

2.2 Escolha da quercetina

O trabalho de RIBEIRO (2011) destacou a ação inibitória do extrato etanólico de folhas de chaguinha em isolados do fungo simbionte das cortadeiras. A fração clorofórmica do extrato etanólico foi a que apresentou maior média de inibição naquele trabalho (RIBEIRO, 2011). Portanto, o presente estudo iniciou com a fração etanólica do extrato. A quercetina é conhecidamente um constituinte das folhas desse vegetal. Em fracionamento do extrato etanólico dessas folhas realizado no Laboratório de Produtos Naturais – UFSCar/São Carlos – SP essa substância foi a primeira a ser isolada em coluna cromatográfica de fase de retenção sílica tipo Sephadex e fase móvel de metanol-água.

Somando-se o isolamento da substância de maneira pura e os trabalhos onde a quercetina tem apresentado diversas funções na medicina como antibacteriano e antifúngico (BOULOGNE *et al.*, 2012), sua escolha para os testes de toxicidades se torna justificável.

2.3 Bioensaios de toxicidade da quercetina às operárias por ingestão

Para a realização dos bioensaios utilizou-se a quercetina que foi obtida pela Sigma-Aldrich® em estado sólido em embalagens de 10mg. Foram realizados dois tratamentos: testemunha, onde era oferecida solução mel e água na proporção 1:1; e tratamento que consistiu de um mL de solução de água e mel acrescida de 5 mg de quercetina diluídos na solução.

Utilizou-se cinco colônias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* e cinco colônias de *Acromyrmex subterraneus molestans* sendo que de cada subespécie foi separado um total de 200 formigas, sendo 20 formigas de cada colônia, 10 delas

servindo de testemunhas e as outras 10 constituindo o tratamento. Para o oferecimento da dieta, utilizou-se um recipiente plástico de 0,3 mL de capacidade colocado no interior de cada placa de Petri e cada recipiente recebeu 0,1 mL de solução. Em cada placa foram colocadas 10 operárias e o número de formigas mortas foi contabilizado diariamente até o total de sete dias. As formigas foram consideradas mortas e contadas como tal quando se encontravam totalmente imóveis.

2.4 Bioensaios de toxicidade ao fungo simbiote

Uma solução estoque de 10 mg/mL foi preparada diluindo-se o conteúdo de um frasco em um volume de um mL de acetona. A partir dessa solução, diluições foram realizadas até a obtenção das concentrações de 1mg/mL e 5mg/mL.

Um volume de 0,1mL de solução foi aplicado com auxílio de pipeta graduada em placa de Petri sobre meio de cultura contendo também o antibiótico rifamicina. O volume foi espalhado com auxílio de uma alça de Drigalski de forma que ficasse o mais uniforme possível.

Em seguida, cada placa recebeu um “plug” de fungo de diâmetro igual a um cm que foi retirado das placas de Petri usadas para o isolamento. Esse “plug” foi colocado no centro da placa e essas foram vedadas com filme plástico de PVC e parafilme. Um total de cinco placas foi usado para cada diluição (1mg/mL, 5mg/mL e 10mg/mL). Um adicional de cinco placas foi utilizado como testemunha que não receberam nenhuma diluição. As placas foram acondicionadas em câmara bioclimatizadora tipo BOD ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) por um mês. Semanalmente o crescimento do fungo foi medido com régua até completar o tempo previsto de experimentação com o objetivo de se calcular a área tomada pelo crescimento do fungo. Após esse tempo, os “plugs” de fungo e o suas hifas, advindas de sua expansão no meio de cultura, foram retirados da placa e

colocados em copos confeccionados com papel alumínio. Os copos foram levados à estufa, onde permaneceram sob temperatura de 28°C até estabilização do peso seco.

2.5 Análises estatísticas

Os dados de sobrevivência das operárias foram submetidos à análise de sobrevivência para a obtenção de curvas de sobrevivência através do estimador de Kaplan-Meier. A similaridade das curvas foi averiguada pelo teste de Log-Rank a 5% de probabilidade utilizando o software Statistica 10.0®.

Os dados de crescimento e massa de fungo obtidos foram submetidos à análise de regressão, seguida pelo teste de Shapiro-Wilk a 5% de probabilidade no programa Sigmaplot 12.0®.

3. Resultados

3.1 Toxicidade da quercetina às operárias por ingestão

Em *Acromyrmex subterraneus subterraneus* houve diferença significativa na sobrevivência entre as operárias que ingeriram apenas solução de água com mel e as operárias que ingeriram a solução acrescida com quercetina ($P < 0,001$). A quercetina foi tóxica às operárias logo nos primeiros dias, matando todos os indivíduos até o terceiro dia (Figura 3.1).

De maneira semelhante, a quercetina apresentou toxicidade significativa às operárias de *A. subterraneus molestans* ($P < 0,001$), atingindo a totalidade de formigas mortas em três dias (Figura 3.1).

3.2. Toxicidade da quercetina ao fungo simbiote

O fungo *L. gongylophorus* não foi afetado negativamente pela presença da quercetina em nenhuma das diluições aplicadas sobre o meio de cultura, apresentando crescimento aparente em todas as concentrações (Figura 3.2).

A área de crescimento aparente dos “plugs” de fungo apresentou diferenças significativas quando os tratamentos foram comparados entre si, sendo iguais ou maiores que a área obtida na testemunha, dependendo da concentração de quercetina utilizada ($F_{(1,23)} = 20,24$; $P < 0,001$) (Figura 3.3).

Os resultados de massa de fungo obtida não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($F_{(1,231)} = 0,78$; $P < 0,39$) (Figura 3.4). A massa de fungo produzida pelos tratamentos foi maior ou similar à massa referente à testemunha dependendo da concentração de quercetina utilizada.

A área de crescimento do fungo e a massa (peso seco) produzida pelo fungo não apresentam concordância. A área de crescimento aumentou frente ao aumento na concentração de quercetina aplicada. O mesmo não ocorreu com a massa (peso seco), que apresentou maior valor na menor concentração, seguida de decaimento nas concentrações superiores tornando-se estatisticamente semelhante à testemunha.

4. Discussão

A quercetina apresentou resultados significativos na mortalidade de operárias tanto de *Acromyrmex subterraneus subterraneus*, quanto de *Acromyrmex subterraneus molestans*. Este é o primeiro relato da utilização desse composto como possível agente no controle de formigas-cortadeiras.

No entanto, sua ação como possível inseticida já foi testada com diversos outros insetos. A quercetina provoca efeitos antialimentares e tóxicos a *Spodoptera frugiperda* J.E. (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (DIAZ NAPAL; PALACIOS, 2015), em *Phaedon cochleariae* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae) (KÜHNLE; MÜLLER 2009) e em *Acyrtosiphon pisum* Harris (Hemiptera: Aphididae) (GOŁAWSKA *et al.*, 2014). Efeitos da quercetina na reprodução foram relatados em afídeos da espécie *A. pisum*; tendo prolongado o período pré-reprodutivo, diminuindo a fecundidade e aumentando a mortalidade dos adultos (GOŁAWSKA *et al.*, 2014). Para *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), houve efeitos deletérios no crescimento, sobrevivência, pupação e emergência de adultos (LIU *et al.*, 2015). Em *Bactrocera curcubitae* (Diptera: Tephritidae) o composto afeta a eclosão de ovos, além de reduzir seu período larval, inibir a pupação e reduzir a emergência de adultos de acordo com o aumento na sua concentração (SHARMA; SOHAL, 2013).

A quercetina, somada a outros compostos pro-oxidantes, pode ser metabolicamente ativada gerando radicais livres. Esses radicais livres podem resultar em toxicidade celular direta ou originar espécies tóxicas de oxigênio ou hidroxil por reações em cascata (NENAAH, 2013). Essa susceptibilidade a compostos prooxidativos foi apresentada por PERIĆ-MATARUGA *et al.* (2014) que encontraram efeito larvicida da quercetina em mariposas *Lymantria dispar* L e por JÚNIOR *et al.* (2016) em *Drosophila melanogaster*, que relataram alterações no sistema locomotor e aumento na mortalidade desses insetos.

Quanto à aplicação da quercetina sobre o meio de cultura, viu-se que o composto não afetou o crescimento do fungo simbionte *L. gongylophorus*. O desenvolvimento do “pellet” fúngico ocorreu tanto em diâmetro quanto em massa mediante aplicação de diferentes concentrações de quercetina. Tais medidas foram iguais ou superiores às

encontradas no meio de cultura testemunha, ou seja, sem aplicação do produto. Portanto, os resultados apontam para a não ação do composto, ou até mesmo ação estimulante para o crescimento do fungo simbiote.

A capacidade de produzir enzimas que sejam capazes de interagir e degradar a quercetina pode ser o caminho para a resistência apresentada pelo fungo simbiote, uma vez que as operárias, que em tese obtêm tais enzimas pela alimentação, pereceram quando alimentadas com a quercetina.

Entre as competências do fungo simbiote na relação mutualística existente entre ele e as cortadeiras, a sua produção de enzimas é de fundamental importância para a colônia. Tanto que, segundo ABRIL; BUCHER (2004), é importante entender as características nutricionais do fungo cultivado, pois elas refletem a seletividade das formigas. Essa interação mutualística provê às formigas uma fonte rica de nutrientes de fácil digestão (SCHIØTT *et al.*, 2008). BOYD; MARTIN (1975) encontraram atividade proteolítica nas enzimas do fluido fecal de duas espécies do gênero *Atta* e sugeriram que essas enzimas seriam de origem microbiana e entre as conclusões obtidas, tem-se a de que o fungo fornece às operárias enzimas proteolíticas. Essas enzimas estão presentes nos gongilídeos (estruturas fúngicas das quais as formigas se alimentam) e também no fluido fecal (DE FINE LICHT *et al.*, 2013; RØNHEDE; BOOMSMA; ROSENDAHL, 2004). Diante disso, tem sido proposto que as formigas param de produzir suas próprias enzimas digestivas, uma vez que o fungo lhes fornece uma gama de enzimas hidrolíticas (ERTHAL *et al.*, 2009; MOREIRA; ERTHAL; SAMUELS, 2011; SCHIØTT *et al.*, 2010). As enzimas detectadas no intestino dos insetos, produzidas pelo fungo, além de estar envolvidas no processo digestivo, podem estar atuando na detoxificação e neutralização de metabólitos de plantas, contribuindo na degradação de polímeros de plantas através da defecação sobre o material vegetal e, possivelmente,

sobre a supressão de microrganismos no interior do ninho (MOREIRA; ERTHAL; SAMUELS, 2011; NYGAARD *et al.*, 2011).

Outros microrganismos se mostraram resistentes a quercetina (AHMED *et al.*, 2015), por exemplo o fungo *Aspergillus niger*, bem como o fungo *Beauveria bassiana* que ao entrarem em contato com a quercetina foram capazes de metabolizá-la, realizando sua biotransformação em 24-96 horas (COSTA *et al.*, 2008). Isso foi contrário ao encontrado por RIBEIRO (2011) para o extrato bruto e suas frações e subfrações, provavelmente devido à falta de outro composto sinérgico que possui efeito fungicida. O trabalho de OLIVEIRA *et al.* (2016) demonstrou que a quercetina sozinha não é capaz de exibir efeitos antifúngicos contra o fungo *Candida neoformans*, entretanto, quando associada com antibióticos, a combinação apresenta um incremento na atividade antifúngica, reduzindo significativamente o número de unidades formadoras de colônia. Este fato também foi observado por DA SILVA *et al.* (2014) que relatam que a associação entre esses compostos antibióticos e a quercetina exibe aumento na eficiência do antibiótico em cepas resistentes causando morte celular por apoptose. De maneira semelhante, a quercetina, juntamente com a luteolina, outro composto de fonte vegetal, produzem juntas efeito sinérgico à antibióticos tradicionais aumentando seu efeito contra cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes, por exemplo, a metaciclina (MRSA) (USMAN AMIN *et al.*, 2016).

Assim como neste trabalho, diversos estudos buscam alternativas para o controle de microrganismos através do isolamento de substâncias advindas de fontes vegetais, inclusive da quercetina, isolada de plantas de chaguinha. Por exemplo, o Bacilo de Koch (*Mycobacterium tuberculosis*) teve sua sobrevivência comprometida pela ação quercetina que inibe a ação da enzima isocitrato liase (MtbICL), crucial para a manutenção da bactéria (SHUKLA *et al.*, 2015). O efeito da quercetina sobre essa

bactéria e outras do mesmo gênero foi reportado também por SURIYANARAYANAN; SAROJINI SANTHOSH, (2015). *Micrococcus luteus* (LI *et al.*, 2015) e cepas de *Streptococcus* (BARRIENTOS *et al.*, 2013) também se mostraram susceptíveis a quercetina.

Diversos outros microrganismos, bactérias e fungos foram expostos à quercetina. Entre eles a bactéria *Escherichia coli* e o fungo *Candida albicans* (AHMED *et al.*, 2015) foram as espécies mais susceptíveis encontradas por esses autores. A susceptibilidade de *E. coli*, no entanto, não foi encontrada por LI *et al.* (2015).

A utilização de produtos naturais associados a agentes antifúngicos ou antibióticos pode promover um efeito sinérgico entre eles (OLIVEIRA *et al.*, 2016) ou ainda reduzir a resistência causada pelo seu uso indiscriminado (USMAN AMIN *et al.*, 2016). Uma vez que a quercetina e outros flavonoides naturais podem apresentar efeitos inibitórios, pesquisas têm reportado atividade antifúngica sinérgica desses compostos (WANG *et al.*, 2016).

O efeito promissor da quercetina sobre as operárias de formigas-cortadeiras mostra um grande potencial de seu uso no controle dessa praga. No entanto, ausência de efeito tóxico contra o fungo simbiote das cortadeiras limita a utilização desse composto sozinho. Isso porque há uma elevada taxa de mortalidade de operárias em baixo intervalo de tempo, o que inviabilizaria a sua entrada na colônia, além de não haver danos ao jardim de fungo caso o composto adentre a colônia.

Assim, sabendo-se que essa planta ainda apresenta diversos compostos secundários a serem testados, como fonte de possíveis formicidas e /ou fungicidas, a utilização de algum outro componente aliado a quercetina poderia vir a ser mais efetiva no controle das cortadeiras. Entre os outros compostos secundários encontrados em plantas de *T.*

majus, destaca-se a presença de glicosinolato e ácidos fenólicos (GHEDIRA; GOETZ, 2013). Os glicosinolatos são um grupo diverso de produtos secundários de plantas que se consumidos em alta concentração pode apresentar efeitos deletérios (GRIFFITHS *et al.*, 2001). O aumento na concentração de glicosinolatos em plantas é de especial interesse devido ao grande interesse científico no uso desses como parte da dieta humana, para quimioproteção contra o câncer, em biofumigação para a proteção de culturas e como aditivo alimentar alternativo para a pecuária (BLOEM *et al.*, 2014). A glicotropaeolina, um glicosinolato aromático, é o único glicosinolato encontrado em *T. majus* (BLOEM; HANEKLAUS; SCHNUG, 2007).

Já compostos fenólicos, por sua vez, são substâncias bioativas amplamente distribuídas em plantas e são importantes constituintes da alimentação humana (CHIRINOS *et al.*, 2008). O ácido clorogênico é o principal ácido fenólico encontrado em plantas de capuchinha, e apresenta fortes efeitos anti-oxidativos, anti-hipertensos, antitumoral e analgésico (GUO *et al.*, 2015; KASSIM *et al.*, 2010). Reconhecendo suas possíveis atividades inibidoras de microrganismos, já se encontram trabalhos que utilizam ácido clorogênico e glicotropaeolina (GUO *et al.*, (2015); KOZYRA *et al.*, (2015); REN *et al.*, (2015)). A glicotropaeolina, por exemplo, apresenta inibição para uma gama de microrganismos associados com a saúde humana (BAZYLKO *et al.*, (2013); RADULOVIĆ; DEKIĆ; STOJANOVIĆ-RADIĆ, (2012); ZANETTI *et al.*, (2003)).

Uma vez que a ação sinérgica já é reconhecida para a quercetina, pode-se extrapolar para a existência de um sinérgico em relação à sua ação inibitória juntamente com o ácido clorogênico ou com a glicotropaeolina ou com ambos. Tais situações ainda não foram testadas para o fungo *L. gongylophorus*. No entanto, pode se mostrar como

alternativa promissora na busca pela inibição desse fungo e seu posterior efeito sobre as colônias de formigas-cortadeiras.

5. Conclusão

A quercetina apresentou efeito significativo na mortalidade de operárias das duas subespécies de *Acromyrmex* utilizadas neste trabalho, porém não foi efetiva contra o fungo simbionte dessas formigas. Esses resultados sugerem a manutenção desse composto na lista dos possíveis agentes alternativos do controle dessas formigas, pois sua maior exploração no futuro pode gerar ação efetiva no MIP de cortadeiras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRIL, Adriana B.; BUCHER, Enrique H. Nutritional sources of the fungus cultured by leaf-cutting ants. **Applied Soil Ecology** v. 26, n. 3, p. 243–247 , jul. 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092913930400006X>>.0929-1393.

AHMED, Dildar *et al.* Antimicrobial activities of methanolic extract of *Carissa opaca* roots and its fractions and compounds isolated from the most active ethyl acetate fraction. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine** ., v. 5, n. 7, p. 541–545 , 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.006>>.

BARRIENTOS, Leticia *et al.* Chemical and botanical characterization of chilean propolis and biological activity on cariogenic bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 44, n. 2, p. 577–585 , 2013.1517-8382.

BAZYLKO, Agnieszka *et al.* Comparison of antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activity and chemical composition of aqueous and hydroethanolic extracts of the herb of *Tropaeolum majus* L. **Industrial Crops and Products** v. 50, p. 88–94 , 2013.

BLOEM, Elke *et al.* Stress-induced changes of bioactive compounds in *Tropaeolum majus* L . **Industrial Crops & Products** v. 60, p. 349–359 , 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.040>>.5315962199.

BLOEM, Elke; HANEKLAUS, Silvia; SCHNUG, Ewald. Comparative effects of sulfur and nitrogen fertilization and post-harvest processing parameters on the glucotropaeolin content of *Tropaeolum majus* L. **Journal of the Science of Food and Agriculture** v. 87, n. 8, p. 1576–1585 , jun. 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.2895>>.

BOULOGNE, Isabelle *et al.* Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. **Environmental Chemistry Letters** v. 10, n. 4, p. 325–347 , 11 dez. 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10311-012-0359-1>>.

BOYD, Norman D.; MARTIN, Michael M. Faecal proteinases of the fungus-growing ant, *Atta texana*: properties, significance and possible origin. **Insect Biochem.** v. 5, p. 619–635 , 1975.

CHIRINOS, Rosana *et al.* Phenolic profiles of andean mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers: Identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. **Food Chemistry** v. 106, n. 3, p. 1285–1298 , 2008.

COSTA, Eula Maria De M B *et al.* Selection of filamentous fungi of the *Beauveria* genus able to metabolize quercetin like mammalian cells. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 39, n. 2, p. 405–408 , 2008.1517-8382.

DA SILVA, C. R. *et al.* Synergistic effect of the flavonoid catechin, quercetin, or epigallocatechin gallate with fluconazole induces apoptosis in *Candida tropicalis* resistant to fluconazole. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** v. 58, n. 3, p. 1468–1478 , 1 mar. 2014. Disponível em: <<http://aac.asm.org/cgi/doi/10.1128/AAC.00651-13>>.0066-4804.

DE FINE LICHT, Henrik H *et al.* Laccase detoxification mediates the nutritional alliance between leaf-cutting ants and fungus-garden symbionts. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** v. 110, n. 2, p. 583–7, 2013. Disponível em: <<http://www.pnas.org/content/110/2/583.full>>.1091-6490 (Electronic)r0027-8424 (Linking).

DELLA LUCIA, Terezinha M C; DE SOUZA, Danival José. Importância e história de vida das formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, Terezinha Maria C (Org.). **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 13–26. 987-85-7269-430-8.

DIAZ NAPAL, Georgina N; PALACIOS, Sara M. Bioinsecticidal effect of the flavonoids pinocembrin and quercetin against *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Pest Science** v. 88, n. 3, p. 629–635, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10340-014-0641-z>>.

ERTHAL, Milton *et al.* Hydrolytic enzymes of leaf-cutting ant fungi. **Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology** v. 152, n. 1, p. 54–59, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpb.2008.09.086>>.1879-1107 (Electronic)\$r1096-4959 (Linking).

GHEDIRA, K.; GOETZ, P. *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae). **Phytotherapie** v. 11, n. 5, p. 316–319, 2013.1029801308084.

GOŁAWSKA, Sylwia *et al.* Are naringenin and quercetin useful chemicals in pest-management strategies? **Journal of Pest Science** v. 87, n. 1, p. 173–180, 2014.

GRIFFITHS, D Wynne *et al.* Identification of glucosinolates on the leaf surface of plants from the Cruciferae and other closely related species. **Phytochemistry** v. 57, p. 693–700, 2001.

GUO, Yuan Jin *et al.* Involvement of TLR2 and TLR9 in the anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in HSV-1-infected microglia. **Life Sciences** v. 127, p. 12–18, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2015.01.036>>.0024-3205.

HOWARD, Jerome J. Leaf-cutting ant diet selection: The role of nutrients, water, and secondary chemistry. **Ecology** v. 68, n. 3, p. 503–515, 1987.

JÚNIOR, Francisco E. B. *et al.* Oxidant effects and toxicity of *Croton campestris* in *Drosophila melanogaster*. **Pharmaceutical Biology** v. 54, n. 12, p. 3068–3077, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27417881>%5Cnhttps://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13880209.2016.1207089>.

KASSIM, Mustafa *et al.* Ellagic acid, phenolic acids, and flavonoids in Malaysian honey extracts demonstrate in vitro anti-inflammatory activity. **Nutrition Research** v. 30, n. 9, p. 650–659, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2010.08.008>>.0271-5317.

KOZYRA, Małgorzata *et al.* Chemical compositions and antibacterial activity of extracts obtained from the inflorescences of *Cirsium canum* (L.) all. **Natural Product Research** v. 29, n. 21, p. 2059–2063, 2 nov. 2015. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14786419.2015.1030341>>.

KÜHNLE, Anne; MÜLLER, Caroline. Differing acceptance of familiar and unfamiliar plant species by an oligophagous beetle. **Entomologia Experimentalis et Applicata** v. 131, n. 2, p. 189–199 , 2009.0013-8703.

LI, Xiu-Mei *et al.* Antibacterial active compounds from *Hypericum ascyron* L. induce bacterial cell death through apoptosis pathway. **European Journal of Medicinal Chemistry** v. 96, p. 436–444 , maio 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.035>>.

LIU, D. *et al.* Effects of dietary quercetin on performance and cytochrome P450 expression of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. **Bulletin of Entomological Research** v. 105, n. 6, p. 771–777 , 6 dez. 2015. Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0007485315000760>.

MARINHO, Cidália G S *et al.* Beta-eudesmol-induced aggression in the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomologia Experimentalis Et Applicata** v. 117, n. 1, p. 89–93 , 2005. Disponível em: <isi:000231799000009>.0013-8703.

MARSARO JR, A L *et al.* Behavioral changes in workers of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* induced by chemical components of *Eucalyptus maculata* leaves. **Journal of Chemical Ecology** v. 30, n. 9, p. 1771–1780 , 2004.0098-0331 (Print)n0098-0331 (Linking).

MOREIRA, Denise D O; ERTHAL, Milton; SAMUELS, Richard I. Alimentação e digestão em formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, Terezinha M C (Org.). . **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 204–225. 987-85-7269-430-8.

NENAAH, Gomah E. Potential of using flavonoids, latex and extracts from *Calotropis procera* (Ait.) as grain protectants against two coleopteran pests of stored rice. **Industrial Crops and Products** v. 45, p. 327–334 , 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.12.043>>.

NORTH, R D; HOWSE, P E; JACKSON, C W. Agonistic behavior of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* elicited by caryophyllene. **Journal of Insect Behavior** v. 13, n. 1, p. 1–13 , 2000. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1023/A:1007749723868>>.

NYGAARD, Sanne *et al.* The genome of the leaf-cutting ant *Acromyrmex echinatior* suggests key adaptations to advanced social life and fungus farming. **Genome Research** v. 21, n. 8, p. 1339–1348 , ago. 2011. Disponível em: <<http://genome.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/gr.121392.111>>.1549-5469 (Electronic)n1088-9051 (Linking).

OLIVEIRA, V M *et al.* Quercetin and rutin as potential agents antifungal against *Cryptococcus* spp. **Brazilian Journal of Biology** v. 76, n. 4, p. 1029–1034 , dez. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842016000401029&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

PAGNOCCA, Fernando C *et al.* Toxicity of sesame seed to the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. **Bulletin of entomological research** v. 80, p. 195–204 , 1990.

PAGNOCCA, Fernando C; RODRIGUES, André; BACCI JR, Maurício.

Microrganismos associados às formigas-cortadeiras. In: DELLA LUCIA, Terezinha M C (Org.). . **Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 262–283.

PERIĆ-MATARUGA, Vesna *et al.* Potential improvement of *Lymantria dispar* L. management by quercetin. **Archives of Biological Sciences** v. 66, n. 3, p. 1125–1129 , 2014.

RADULOVIĆ, Niko S.; DEKIĆ, Milan S.; STOJANOVIĆ-RADIĆ, Zorica Z. Antimicrobial volatile glucosinolate autolysis products from *Hornungia petraea* (L.) Rchb. (Brassicaceae). **Phytochemistry Letters** v. 5, n. 2, p. 351–357 , jun. 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1874390012000481>>.

REN, Song *et al.* Sterilization of polydimethylsiloxane surface with Chinese herb extract: a new antibiotic mechanism of chlorogenic acid. **Scientific Reports** v. 5, n. April, p. 10464 , 2015. Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/10.1038/srep10464>>.2045-2322 (Electronic)r2045-2322 (Linking).

RIBEIRO, Myriam M R. **Atividade formicida de IB 151239 em *Atta sexdens rubropilosa***. Universidade Federal de Viçosa, 2011. 77 p.

RØNHEDE, Stig; BOOMSMA, Jacobus J; ROSENDAHL, Søren. Fungal enzymes transferred by leaf-cutting ants in their fungus gardens. **Mycological research** v. 108, n. January, p. 101–106 , 2004.0953756203.

SCHIØTT, Morten *et al.* Leaf-cutting ant fungi produce cell wall degrading pectinase complexes reminiscent of phytopathogenic fungi. **BMC biology** v. 8, n. 1, p. 156 , 2010. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1741-7007/8/156>>.1741-7007.

SCHIØTT, Morten *et al.* Towards a molecular understanding of symbiont function: identification of a fungal gene for the degradation of xylan in the fungus gardens of leaf-cutting ants. **BMC microbiology** v. 8, p. 40 , 2008.1471-2180 (Electronic)r1471-2180 (Linking).

SHARMA, Ruchi; SOHAL, Satwinder Kaur. Bioefficacy of quercetin against melon fruit fly. **Bulletin of Insectology** v. 66, n. 1, p. 79–83 , 2013.

SHUKLA, Harish *et al.* Isocitrate lyase of *Mycobacterium tuberculosis* is inhibited by quercetin through binding at N-terminus. **International Journal of Biological Macromolecules** v. 78, p. 137–141 , jul. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.04.005>>.5222612414.

STATISTICA 10.0 - TIBCO Software Inc.Attention: Legal Department/Privacy Committee 3303 Hillview Avenue Palo Alto, CA 94304.

SURIYANARAYANAN, Balasubramanian; SAROJINI SANTHOSH, Ramachandran. Docking analysis insights quercetin can be a non-antibiotic adjuvant by inhibiting Mmr drug efflux pump in *Mycobacterium* sp. and its homologue EmrE in *Escherichia coli*. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics** v. 33, n. 8, p. 1819–1834 , 3 ago. 2015. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07391102.2014.974211>>. Acesso em: 12 jan. 2017.

SYSTAT SOFTWARE INC. - All rights reserved. 1735 Technology Drive Suite 430 San Jose, CA 95110 U.S.A. Copyright © 2018

USMAN AMIN, Muhammad *et al.* Effects of luteolin and quercetin in combination with some conventional antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Molecular Sciences** v. 17, n. 11, p. 1947 , 22 nov. 2016. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1422-0067/17/11/1947>>.

WANG, Yuan-Hua *et al.* The synthesis and synergistic antifungal effects of chalcones against drug resistant *Candida albicans*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters** v. 26, n. 13, p. 3098–3102 , jul. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.05.013>>.

WILSON, Edward O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera, Formicidae, *Atta*). 2. The ergonomic optimization of leaf-cutting. **Behavior Ecological Sociobiology** v. 7, p. 157–165 , 1980.

ZANETTI, Gilberto Dolejal *et al.* Acute toxicity antibacterial activity of *Tropaeolum majus* L. extracts. **Acta Farmaceutica Bonaerense** v. 22, p. 159–162 , 2003.

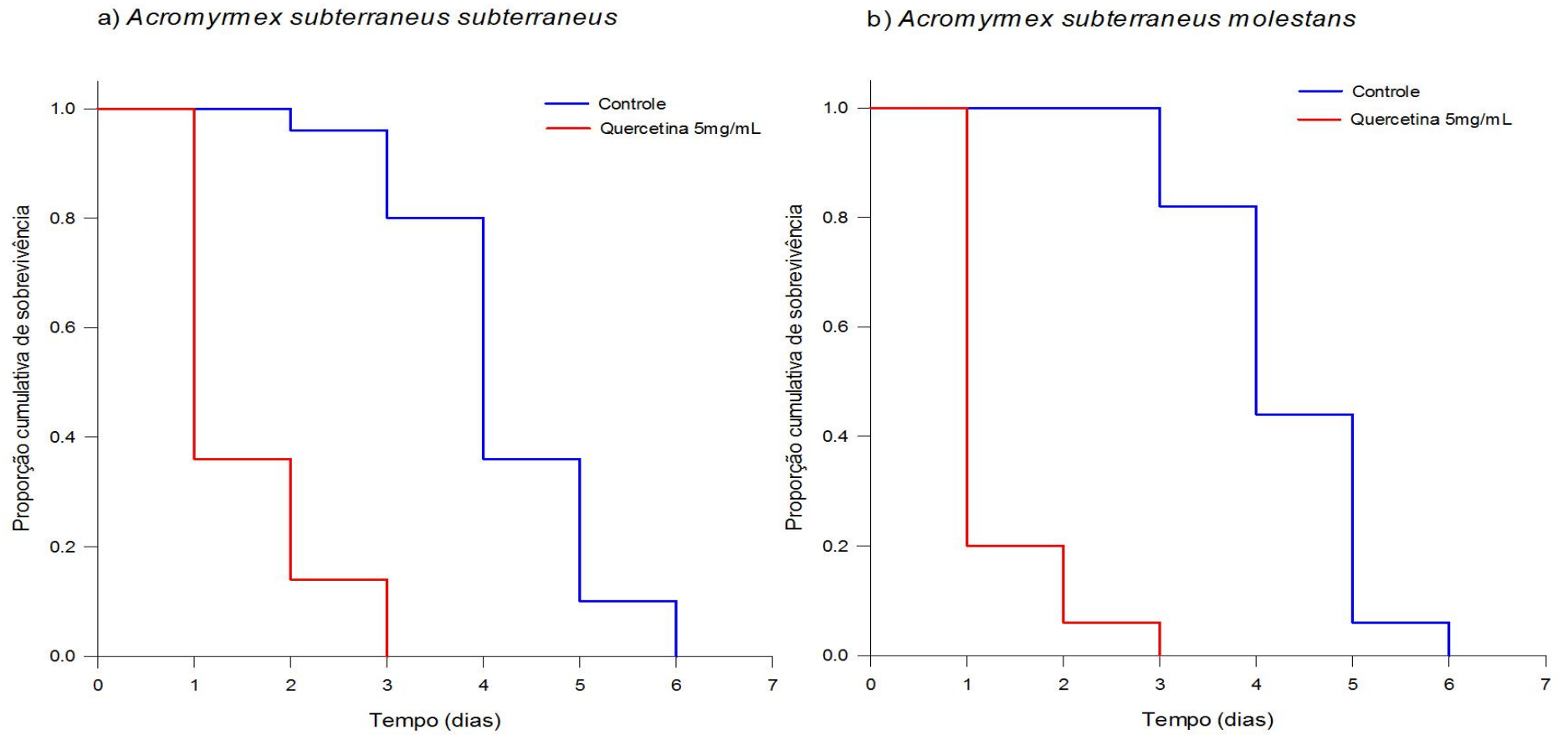


Figura 3.1 – Sobrevivência de operárias alimentadas com dieta acrescida de quercetina. a) *Acromyrmex subterraneus subterraneus* ($P < 0.001$); b) *Acromyrmex subterraneus molestans* ($P < 0.001$). Estimador de Kaplan-Meier seguido de teste de Log-Rank a 5% de probabilidade)

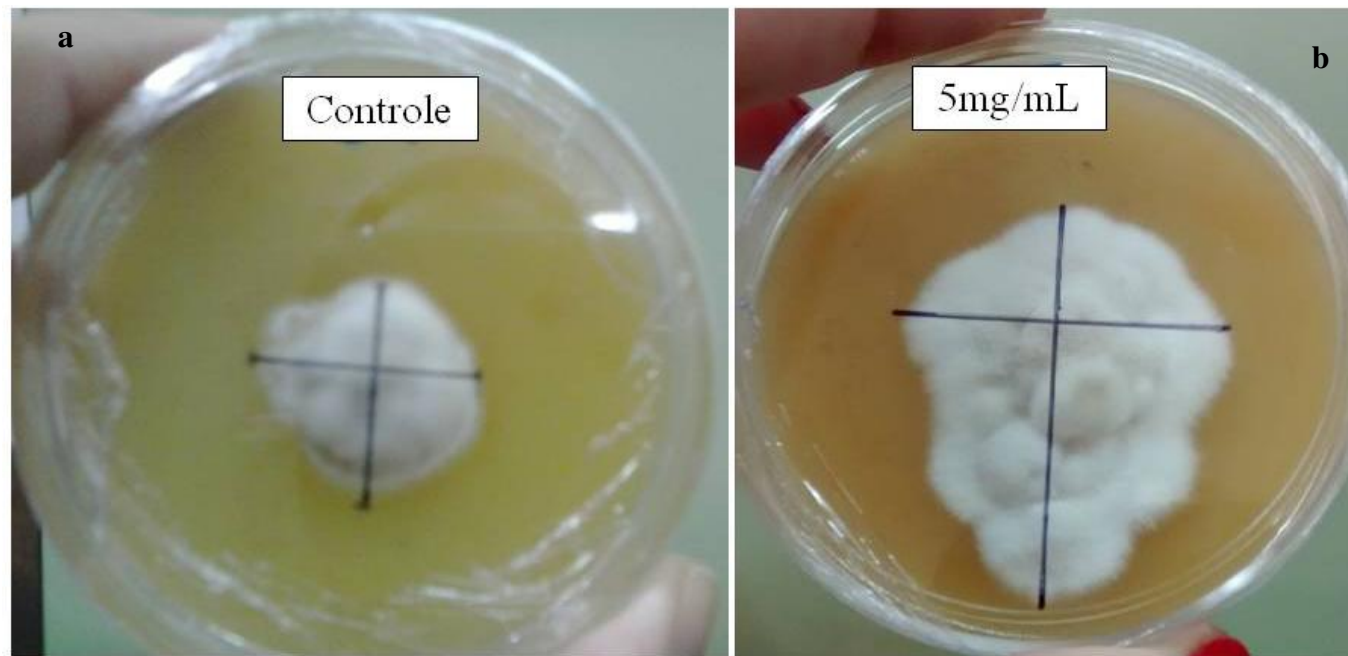


Figura 3.2 – Crescimento dos “plugs” do fungo *L. gongylophorus*. – a) Placa controle; b) Placa com diluição de 1 mg/mL de quercetina.

Área de crescimento fúngico em diferentes concentrações de quercetina

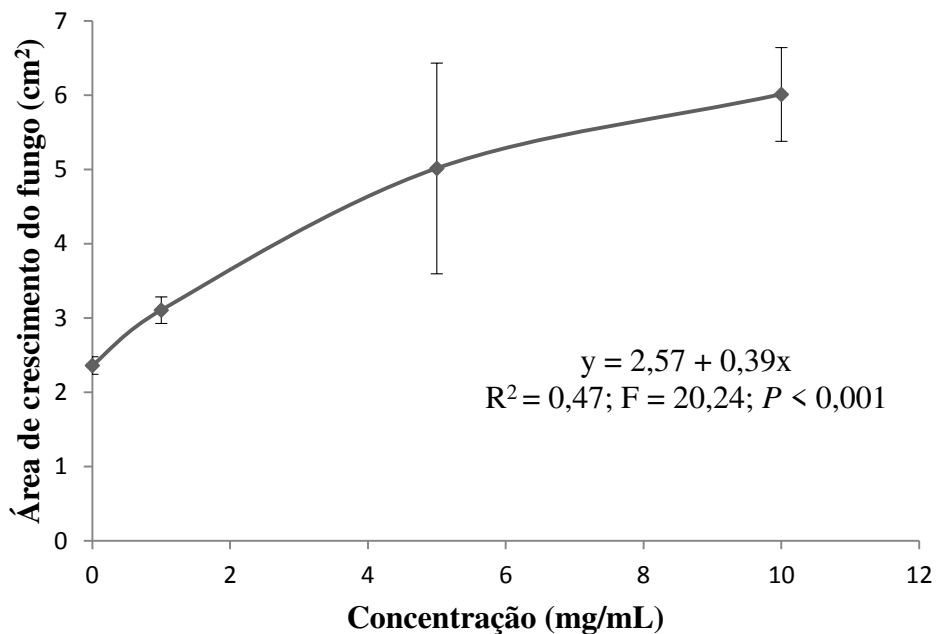


Figura 3.3 – Teste de regressão para área de crescimento apresentada pelo fungo simbiote.

Massa de fungo em diferentes concentrações de quercetina

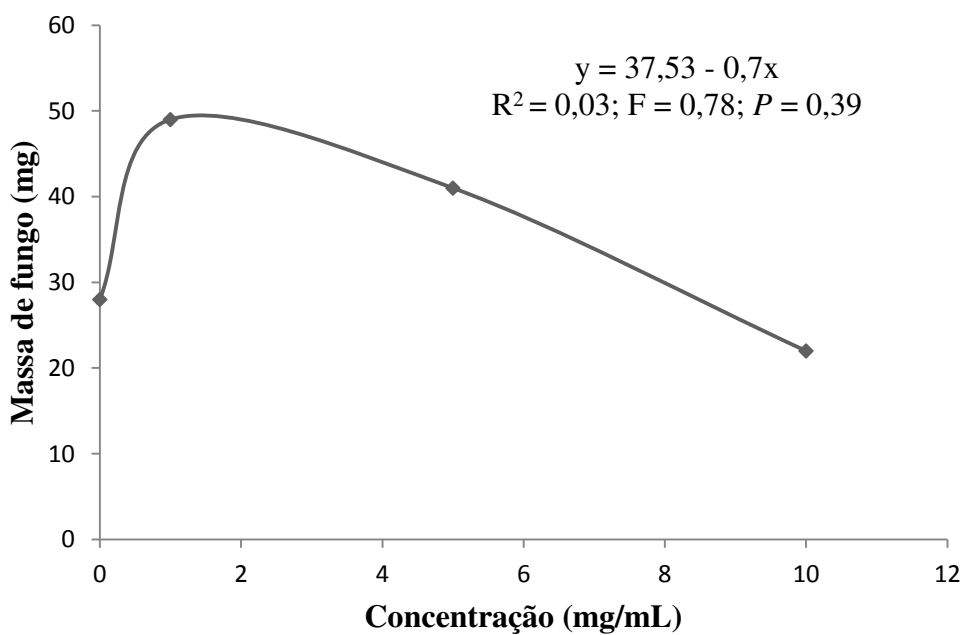


Figura 3.4 – Teste de regressão para massa (peso seco) de fungo simbiote.

CONCLUSÕES GERAIS

- As formigas-cortadeiras apresentaram traços comportamentais consistentes reconhecidos como *personalidade*. A variação entre colônias foi a principal responsável pela *personalidade* e não as espécies.
- Houve relação entre a *personalidade* com o *desempenho* das colônias. Isso porque as folhas de chaguinha alteraram a maneira com que as tarefas são executadas, culminando na paralisação do forrageamento e posterior decaimento do jardim de fungo.
- Chaguinha interferiu no tempo de exploração de recursos foliares.
- As castas forrageadora e lixeira foram os nós centrais das *networks* encontradas enquanto a casta jardineira foi o nó mais externo da rede em ambos os tratamentos, apresentando pouca ou nenhuma interação na presença de chaguinha.
- Operárias de *Acromyrmex subteraneus subteraneus* e *Acromyrmex subteraneus molestans* se mostraram susceptíveis a quercetina perecendo ao final do terceiro dia após a alimentação. Já o fungo simbionte foi resistente a esse composto.
- Os resultados obtidos nesse trabalho sugerem que chaguinha e seus derivados possuem atributos para estar no grupo de plantas com potencial para exploração e futuramente utilização no controle de formigas-cortadeiras.