
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)

**EVOLUÇÃO DOS COMPORTAMENTOS DE PREPARAÇÃO DO SUBSTRATO
PARA O CULTIVO DO FUNGO SIMBIONTE E CUIDADOS COM A CRIA,
RAINHA E ALADOS EM FORMIGAS DA TRIBO ATTINI (HYMENOPTERA:
FORMICIDAE)**

EDUARDO ARRIVABENE DINIZ

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia).

Outubro - 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**EVOLUÇÃO DOS COMPORTAMENTOS DE PREPARAÇÃO DO
SUBSTRATO E CUIDADOS COM A CRIA, RAINHA E ALADOS EM
FORMIGAS DA TRIBO ATTINI (HYMENOPTERA: FORMICIDAE).**

EDUARDO ARRIVABENE DINIZ

ORIENTADOR: PROF. DR. ODAIR CORREA BUENO

**Tese apresentada ao Instituto de Biociências
da Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” – Campus de Rio Claro,
para obtenção do título de Doutor em
Ciências Biológicas (Zoologia).**

Outubro/2008

595.796 Diniz, Eduardo Arrivabene

D585e Evolução dos comportamentos de preparação do substrato para o cultivo do fungo simbiote e cuidados com a cria, rainha e alados em formigas da tribo Attini (hymenoptera: Formicidae) / Eduardo Arrivabene Diniz. – Rio Claro : [s.n.], 2008

99 f. : il., gráfs., tabs., figs.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro

Orientador: Odair Correa Bueno

1. Formiga. I. Título.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)**

TESE DE DOUTORADO defendida em 14.10.2008:

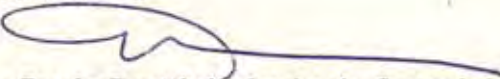
Evolução dos comportamentos de preparação do substrato para o cultivo do fungo simbiote e cuidados com a cria, rainha e alados em formigas da tribo Attini (Hymenoptera: Formicidae)

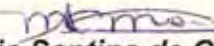
EDUARDO ARRIVABENE DINIZ

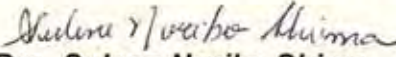
Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Odair Correa Bueno


Prof. Dr. Luiz Carlos Forti


Profa. Dra. Ana Paula Protti de Andrade Crusciol


Profa. Dra. Maria Santana de Castro Morini


Profa. Dra. Sulene Noriko Shima

“... acredito que estas formigas sejam, na verdade, cultivadoras e comedoras de fungo”. Thomas Belt – O Naturalista na Nicarágua – 1874.

Aos meus pais: Ana Tereza Arrivabene
Diniz e Ivan Ferreira Diniz **dedico**,
pelo apoio e incentivo que sempre me
deram.

Agradecimentos

Aos meus irmãos: Ivan Arrivabene Diniz e Eliana Arrivabene Diniz e cunhada: Carina Dunder Diniz, pelo apoio e amizade.

Ao Professor Doutor Odair Correa Bueno, pela orientação, amizade e troca de conhecimentos ao longo de todo o tempo que estive no CEIS.

Ao Sr. João pela ajuda na coleta dos ninhos.

Aos amigos: André, Andriago, Carlos, Cintia, Cintia, Daniel, Eduardo, Eliane, Erica, Fabiana, Ita, João, Marcela, Tais, pela amizade, convivência e troca de experiência.

Ao Professor Doutor Antonio José Mayhé Nunes, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e à Professora Doutora Maria Santina de Castro Morini, da Universidade de Mogi das Cruzes, pela ajuda na identificação das formigas.

Aos funcionários do C.E.I.S. pela dedicação com que trabalham, tornando possível a realização desse e de muitos outros trabalhos.

Aos funcionários da biblioteca da UNESP Rio Claro pela ajuda na aquisição da literatura citada neste trabalho.

Ao Centro de Estudos de Insetos Sociais (C.E.I.S.) e ao grupo temático: “Interações entre formigas cortadeiras e plantas tóxicas” pelas oportunidades de trabalho e de formação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio concedido.

ÍNDICE

	Pág.
Resumo	1
Abstract	3
Introdução geral e revisão da literatura	5
Capítulo 1 – Evolução dos comportamentos de preparação do substrato para o cultivo do fungo simbiote em formigas da tribo Attini	
Resumo	30
Introdução	31
Material e Métodos	33
Colônias utilizadas	33
Observações e quantificações dos comportamentos	34
Análise estatística	35
Resultados	36
Discussão	42
Literatura citada	46
Capítulo 2 – Comportamentos de cuidado com a cria em formigas da tribo Attini	
Resumo	49
Introdução	50
Material e Métodos	53
Colônias utilizadas	53
Observações e quantificações dos comportamentos	54
Análise estatística	55
Resultados	55
Discussão	62
Literatura citada	65

Capítulo 3 – Comportamentos de cuidado com a rainha e alados em formigas da tribo

Attini

Resumo	69
Introdução	70
Material e Métodos	72
Colônias utilizadas	72
Observações e quantificações dos comportamentos	72
Resultados	73
Discussão	78
Literatura citada	81
Considerações finais	82

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo o estudo da evolução dos comportamentos de preparação do substrato, cuidado com a cria e cuidado com a rainha e alados em formigas cultivadoras de fungo. Estas formigas pertencem à tribo Attini, subfamília Myrmicinae, e ocorrem exclusivamente no continente americano. Esta tribo contém aproximadamente 230 espécies, porém pouco se conhece da biologia da maioria delas, graças ao fato de serem extremamente crípticas e de não apresentarem importância econômica, como as formigas cortadeiras, que são as mais estudadas.

Foram utilizadas seis espécies, que representam bem os diversos níveis da filogenia da tribo: *Acromyrmex disciger*, *Apterostigma pilosum*, *Mycetarotes parallelus*, *Myrmicocrypta* sp., *Trachymyrmex fuscus* e *Trachymyrmex* sp. nov. Os comportamentos foram estudados em ninhos mantidos em laboratório, com o auxílio de micro-câmeras e um aparelho gravador de vídeo. Os comportamentos foram analisados, caracterizados e quantificados.

Os resultados foram divididos em três capítulos de acordo com o tipo de comportamento. No capítulo sobre a evolução dos comportamentos de preparação do substrato foi observado que, basicamente, o processo evoluiu no sentido de aumentar a capacidade das operárias em decompor inicialmente o substrato. As espécies basais, *A. pilosum*, *M. parallelus* e *Myrmicocrypta* sp. apresentaram um processamento mais simples com um número menor de comportamentos e principalmente sem os comportamentos do tratamento químico, que é responsável pela fragmentação do substrato ao mesmo tempo em que ele é tratado com enzimas digestivas. As duas espécies do gênero *Trachymyrmex* apresentaram um processo mais complexo com grande participação do tratamento químico. Em *A. disciger*, que é uma cortadeira, há uma intensa especialização do sistema de castas para o aumento da eficiência deste processo em material vegetal fresco.

No capítulo sobre a evolução dos cuidados com a cria, foram observados diversos padrões de acordo com o tipo de cuidado. Nos cuidados básicos as espécies pertencentes às duas linhagens da tribo diferiram no comportamento de alimentar as larvas, as paleoattini, *A. pilosum* e *Myrmicocrypta* sp., alimentaram as larvas por trofalaxia enquanto as neoattini as alimentaram com micélio, sugerindo que inicialmente na evolução da simbiose entre as

formigas e o fungo as larvas eram alimentadas por trofalaxia e depois, ao longo da filogenia o fungo passou a produzir estruturas especializadas na alimentação da cria. Os comportamentos relacionados à cobertura da cria com o fungo sugerem que inicialmente estes comportamentos tinham a função de camuflagem das larvas contra predadores e parasitas, ao longo da evolução esta função foi modificada e as espécies derivadas possuem cobertura de fungo menos intensa. Por fim, os comportamentos de relações tróficas entre as operárias e a cria sugerem que o comportamento de trofalaxia proctodeal das larvas para as operárias, observada originalmente no gênero *Atta*, é um padrão geral da tribo, assim como a trofalaxia proctodeal das pupas para as operárias, observado pela primeira vez, que sugere uma maior interação entre a cria e a colônia.

O capítulo sobre a evolução dos comportamentos de cuidado com a rainha e formas aladas sugere que ao longo da filogenia a rainha e as fêmeas aladas passaram de um estado basal, em que elas desempenham algumas tarefas típicas de operárias, para um estado derivado, em que elas se tornam altamente dependentes das operárias e não realizam funções na colônia. Os machos por outro lado passaram de um estado basal em que recebem pouco cuidado das operárias, para um estado derivado em que recebem muito cuidado.

Finalmente, as alterações comportamentais ao longo da filogenia da tribo Attini são condizentes com a proposta filogenética mais atual, que considera como profundamente importante a transição do modo de vida das Attini basais para o modo de vida das cortadeiras. Estes comportamentos certamente tiveram grande importância neste processo, fazendo com que as Attini deixassem de ser habitantes de serapilheira altamente crípticas para se tornarem os principais consumidores primários do seu ambiente.

Abstract

This work aims to study the evolution of the behaviors of substrate preparation, brood, queen and winged forms care in fungus growing ants. These ants are included in the tribe Attini, subfamily Myrmicinae, and occur exclusively in the American continent. This tribe contains approximately 230 species, but little is known about the biology of most of them, thanks to the fact that they show very cryptic habits and are not economically important, like the leaf cutting ants, which are the most studied.

Six species were used in this work, which represent well all the levels of the phylogeny of the tribe: *Acromyrmex disciger*, *Apterostigma pilosum*, *Mycetarotes parallelus*, *Myrmicocrypta* sp., *Trachymyrmex fuscus* and *Trachymyrmex* sp. Nov. The behaviors were studied in laboratory nests, with a set of micro cameras and a video recording device. The behaviors were analyzed, characterized and quantified.

The results were summarized and discussed in three chapters, arranged by type of behavior. In the chapter about the evolution of the substrate preparation behaviors, basically it is assumed that this process evolved in order to develop the capacity of previously decompose the substrate by the workers. In the basal species, *A. pilosum*, *M. parallelus* and *Myrmicocrypta* sp. this process is very simple with a small number of behaviors and principally without the behaviors of chemical treatment, which are responsible for the fragmentation of the substrate as it is treated by with digestive enzymes. In the two species of the genus *Trachymyrmex*, the process became more complex and showed a greater participation of these behaviors. *A. disciger*, which is a leaf cutting ant, showed an extensive specialization of physical castes in all the phases of the process which elevated its efficiency.

In the chapter about the evolution of the behaviors of brood care, several patterns are revealed according to the type of care. The basic cares showed a great difference between the two main lineages of fungus growing ants, the paleoattini, *A. pilosum* and *Myrmicocrypta* sp., fed their larvae by trophallaxis and the neoattini fed them with parts of the fungal mycelium, suggesting that at the beginning of their evolution the fungus growing ants fed their larvae by trophallaxis, latter their fungus began to specialize and produce structures which serve as food. The behaviors involved in the covering of the brood with

fungal mycelium suggest that initially these behaviors had the function of camouflaging the brood against predators and parasites, with the evolutionary history, this function was modified and the higher species have a less developed covering. Finally, the behaviors of trophic exchanges between the brood and the workers suggest that the behavior of proctodeal trophallaxis is a common pattern in the tribe, between larvae and workers and also between pupae and workers, suggesting a higher interaction between the brood and the colony.

In the chapter about the evolution of the behaviors of care with the queen and winged forms, it is suggested that according to phylogeny the queen and the winged females changed from a basal state in which they perform several worker tasks, to a derived one in which they became highly dependant on the workers and stop performing these tasks. On the other hand, males changed from a basal state in which they receive little care to a more derived one in which they receive more care.

Finally, the evolutionary changes in behavior are very consistent with the most recently proposed phylogeny of the group, which considers that the transition from the life style of the basal species to that of the leaf cutters to be the main event in the evolution of the tribe Attini. These behaviors were certainly important in this process, transforming the Attine ants from highly cryptic litter ants to the main primary consumers of their environment.

INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DA LITERATURA

As formigas da tribo Attini são um dos grupos de insetos mais fascinantes para o estudo da biologia pois vivem em uma simbiose única com um fungo basidiomiceto, da família Agaricaceae, que elas cultivam em seus ninhos. Nesta associação, as formigas fornecem ambiente e substrato ótimos para o desenvolvimento do fungo e este em troca fornece alimento de diversas formas para toda a sua colônia (Hölldobler ; Wilson, 1990; Silva et al., 2003; Vellinga, 2004a; Vellinga, 2004b).

Existem, até o presente momento, 230 espécies válidas para a tribo Attini, todas estão restritas às Américas, principalmente na região neotropical onde estão presentes 202 espécies. Elas ocorrem da latitude 40° N a 44° S, nesta área só não estão presentes na região andina (Hölldobler et al., 1990; Mueller, 2002; Schultz ; Brady, 2008).

Estas formigas foram descritas pela primeira vez por Linnaeus em 1758 e em mais de dois séculos de exploração científica pouco se sabe a respeito da biologia da maioria de suas espécies. As mais conhecidas são as chamadas formigas cortadeiras, recebem esta denominação por cortarem e transportarem as folhas e flores de uma grande quantidade de espécies de plantas para que, após um longo processo de preparação dentro de seus ninhos, sejam utilizadas como substrato para o cultivo do fungo simbionte (Hölldobler et al., 1990; Della Lucia ; Moreira, 1993; Andrade et al., 2002).

As formigas cortadeiras, gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, estão entre as mais sérias pragas agrícolas dos países tropicais das Américas, elas atacam principalmente plantas cultivadas causando grandes prejuízos e inviabilizando a agricultura em algumas áreas. Por este motivo, e também por serem os mais importantes consumidores primários dos trópicos, as formigas cortadeiras foram intensivamente estudadas, principalmente a respeito do seu controle (Hölldobler et al., 1990; Della Lucia et al., 1993).

As demais espécies da tribo Attini não utilizam material vegetal fresco para cultivar os seus fungos, e sim carcaças e fezes de insetos, material vegetal em decomposição ou sementes e partes de frutos. Os poucos trabalhos que existem sobre algumas espécies são muito recentes e têm como tema aspectos ecológicos e genéticos. Desta forma pouco se conhece da sua biologia (Leal ; Oliveira, 2000; Mueller, 2002).

Alguns aspectos comportamentais básicos das Attini foram estudados intensivamente por alguns pesquisadores, sempre tendo as formigas cortadeiras como objeto de estudo, como por exemplo, o processo de preparação do substrato e o cuidado com a cria, porém estes estudos foram realizados em poucas espécies e seus resultados foram generalizados para todo o grupo. As formigas cortadeiras compõem o grupo mais derivado da tribo Attini e existe grande interesse na comunidade científica em saber como se deu a transição do modo de vida das Attini basais para as cortadeiras, a melhor maneira de se fazer isso é estudando os aspectos biológicos e comportamentais das espécies basais e compará-los aos das cortadeiras. (Kusnezov, 1963; Mueller; Currie; Schultz; Adams ; Malloch, 2001; Della Lucia et al., 1993).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi analisar comparativamente os comportamentos de preparação do substrato vegetal para o cultivo do fungo simbiote, cuidados com a cria, rainha e alados em espécies de diversos gêneros da tribo Attini, visando estabelecer a evolução desses comportamentos.

A simbiose entre as Attini e o seu fungo foi descrita pela primeira vez em 1874 no trabalho de Belt, quando observou que as formigas do gênero *Atta*, saúvas, utilizam as folhas que elas cortam das plantas para cultivar um fungo que serve de alimento a elas e à sua cria. A partir desta primeira observação, vários outros pesquisadores passaram a estudar intensamente estes organismos (Hölldobler et al., 1990).

A tribo Attini é considerada um grupo taxonômico monofilético, pertencente à família Formicidae e subfamília Myrmicinae, pois as espécies que a compõem possuem características morfológicas e moleculares em comum, além do fato de todas serem cultivadoras de fungo. De acordo com aspectos bioecológicos as espécies desta tribo são divididas em três grupos: basais, intermediárias e derivadas (Brandao ; Mayhe-Nunes, 2001; Schultz ; Meier, 1995; Mueller, 2002; Schultz et al., 2008).

As Attini basais, dos gêneros *Apterostigma*, *Cyphomyrmex*, *Mycetarotes*, *Mycetophylax*, *Mycetosoritis*, *Mycocephurus* e *Myrmicocrypta*, são formigas de hábito críptico, se movem lentamente e não são agressivas. As operárias são pequenas e monomórficas, seus ninhos são pequenos e pouco populosos e utilizam fezes e carcaças de inseto, material vegetal em decomposição, pedaços de frutos e sementes para o cultivo do fungo simbiote (Brandao et al., 2001; Kusnezov, 1963; Hölldobler et al., 1990; Mueller, 2002).

As Attini intermediárias, gêneros *Sericomyrmex* e *Trachymyrmex*, são formigas de tamanho médio e geralmente monomórficas, sendo que algumas espécies apresentam polimorfismo discreto. Os ninhos são pequenos ou médios e pouco populosos e utilizam material vegetal em decomposição, pedaços de frutos, sementes, e raramente material vegetal fresco, para o cultivo do fungo simbiote (Kusnezov, 1963; Hölldobler et al., 1990; Mueller, 2002; Leal et al., 2000; Brandão ; Mayhe-Nunes, 2001).

As formigas cortadeiras, gêneros *Acromyrmex* e *Atta*, são o grupo de Attini mais conspícuas, possuem operárias altamente polimórficas, seus ninhos são grandes e muito populosos. Em algumas espécies de *Atta* o ninho pode conter 8000 câmaras e mais de um milhão de operárias, o substrato para o cultivo do fungo simbiote é material vegetal fresco, folhas, flores e frutos, que as operárias cortam diretamente das plantas (Kusnezov, 1963; Hölldobler et al., 1990; Della Lucia et al., 1993; Mueller, 2002; Schultz et al., 2008).

Existe ainda o gênero *Pseudoatta*, provavelmente derivado de *Acromyrmex*, que tem hábitos parasitas. A fêmea alada da única espécie conhecida deste gênero, *P. argentina*, entra em um ninho de *Acromyrmex lundii*, após o vôo nupcial, e realiza a postura de seus ovos, que não são reconhecidos como estranhos pelas operárias “hospedeiras” e são tratados por elas como se fossem crias da mesma colônia (Hölldobler et al., 1990).

O gênero *Mycetagroicus* foi descrito recentemente por Brandão e Mayhé-Nunes (2001), cuja coleta foi realizada em estudos de levantamento de biodiversidade, desta forma não se conhece nada a respeito de seus hábitos e de sua bioecologia. Os autores que realizaram a sua descrição o colocaram entre os gêneros intermediários, porém, a única observação sobre sua ecologia revela que trata-se de uma formiga de hábitos extremamente crípticos, como os gêneros basais.

O fungo simbiote da maioria das Attini, descrito inicialmente por Möller em 1893, pertence à ordem Agaricales e família Agaricaceae. Este grupo de fungos são basidiomicetos decompositores de serapilheira e formadores de cogumelos. Atualmente se sabe que o fungo presente nos ninhos das formigas cortadeiras pertence à espécie *Leucoagaricus gongylophorus* enquanto que os fungos presentes nos ninhos das outras Attini ainda não foram completamente identificados, apesar de serem muito semelhantes a este (Chapela; Rhener; Schultz ; Mueller, 1994; Pagnocca et al., 2001; Vellinga, 2004b). Schultz e brady

Algumas espécies de formigas do gênero *Apterostigma* cultivam um fungo basidiomiceto pertencente à família Pterulaceae, que aparentemente foi domesticado por estas formigas depois da origem da simbiose com os Agaricaceae, em substituição ao seu fungo original que foi perdido (Munkacsi et al., 2004; Villesen; Mueller; Schultz; Adams ; Bouck, 2004).

A simbiose das formigas com o fungo tem como base o fato das formigas fornecerem a ele substrato de boa qualidade, proteção contra a competição com outros microrganismos e dispersão, em troca o fungo fornece alimento de diversas formas para a colônia. Nas formigas cortadeiras, esta simbiose se baseia em uma profunda interação fisiológica, bioquímica e comportamental entre os dois organismos (Martin; Boyd; Gieselmann ; Silver, 1975; Hölldobler et al., 1990; Mueller, 2002; Silva et al., 2003; Silva, 2004; Ronhede; Boomsma ; Rosendhal, 2004).

O fungo simbiote das Attini intermediárias e derivadas é caracterizado pela capacidade de formar, em um dado momento do seu desenvolvimento, estruturas esféricas, chamadas estáfilas, que ficam distribuídas por toda a superfície do jardim. Analisadas sob microscópio as estáfilas se revelam como um conjunto de hifas cujas pontas são infladas,

sendo chamadas de gongilídeos (Hölldobler et al., 1990; Mohali, 1998; Mueller et al., 2001).

Os gongilídeos possuem em seu interior carboidratos, aminoácidos e pequena quantidade de lipídeos. As estáfilas são o principal alimento das larvas das Attini intermediárias e das derivadas. O fungo das Attini basais não produz gongilídeos ou estáfilas, foi descrito que o fungo simbiote de *Mycetarotes parallelus* pode produzir gongilídeos, mas estes são muito pequenos e pouco numerosos, além disso, as espécies de *Cyphomyrmex* do grupo rimosus cultivam um fungo leveduriforme, que se organiza na forma de pequenas aglomerações de células que servem de alimento para as formigas (Mohali, 1998; Mueller et al., 2001; Oliveira da Silva-Pinhati, 2004).

Além das variações morfológicas há diferenças fisiológicas entre o fungo cultivado pelas Attini intermediárias e derivadas e o cultivado pelas basais. O primeiro, denominado G1, é caracterizado por fungos que possuem um crescimento lento, porém, com alta capacidade de produzir enzimas. O segundo, denominado G2, G3 e G4, é caracterizado por fungos que possuem crescimento rápido e baixa produção de enzimas (Oliveira da Silva-Pinhati, 2004; Lima, 2006; Chapela et al., 1994; Munkacsí et al., 2004; Villesen et al., 2004).

Apesar do papel do fungo simbiote na alimentação das larvas ser bem conhecido, o mesmo não pode ser dito sobre o seu papel na alimentação das operárias adultas. Segundo a literatura especializada, aproximadamente 50% da nutrição das operárias provém da glicose resultante da atividade de decomposição do fungo, o restante é proveniente principalmente da seiva das folhas, que as formigas ingerem durante o corte e preparação do material vegetal, e secundariamente dos gongilídeos (Bass ; Cherrett, 1995; Silva et al., 2003).

Quando esta simbiose foi descrita pela primeira vez, acreditava-se que os jardins de fungo fossem culturas puras, ou seja, que de alguma forma as formigas eram capazes de excluir totalmente qualquer microrganismo diferente do fungo simbiote. Estudos subseqüentes revelaram que o jardim de fungo não era uma cultura tão pura assim, um grande número de microrganismos pode ser encontrado neste ambiente. Estes microrganismos vão desde bactérias e leveduras a fungos filamentosos de diversas ordens que ficam em um estado dormente neste ambiente e que podem inclusive participar da

dinâmica do funcionamento desta simbiose (Craven; Dix ; Michaels, 1970; Tauk ; Serzedello, 1975; Fisher; Stradling; Sutton ; Petrini, 1996; Rodrigues, 2004).

Se as formigas forem removidas ou impedidas de ter acesso ao jardim de fungo, as populações de outros microrganismos crescem rapidamente e destroem a cultura de fungo. O principal invasor é um fungo filamentosso parasita do gênero *Escovopsis*. Para controlar a infestação de seus ninhos por este patógeno as formigas apresentam uma segunda simbiose com uma bactéria filamentosso do gênero *Pseudonocardia*, que produz um antibiótico bastante ativo que inibe o crescimento desse fungo (Currie; Scott; Summerbell ; Malloch, 1999; Currie, 2001a; Currie, 2001b; Currie et al., 2003).

As bactérias pertencem ao grupo dos actinomicetos, que são de ocorrência comum no solo e são importantes produtoras de antibióticos. Elas se localizam no tegumento das operárias em diversas regiões. Nas espécies consideradas derivadas elas se localizam na região ventral do mesossoma entre a cabeça e o primeiro par de pernas. Em espécies basais elas se localizam na região ventral do mesossoma entre o primeiro e o segundo pares de pernas (Currie et al., 1999).

Nessa simbiose a bactéria fornece os antibióticos para as formigas defenderem seus ninhos do *Escovopsis* e estas, em troca, fornecem nutrientes para as bactérias através da secreção de glândulas que se abrem no tegumento exatamente na região onde elas se localizam (Currie; Poulsen; Mendenhall; Boomsma ; Billen, 2006).

Atualmente, o “status” dessa relação tem sido discutido. Alguns autores acreditam que a associação entre as bactérias e as formigas não é tão especializada como descrito originalmente, pois elas não teriam atividade antimicrobiana apenas para o *Escovopsis* e sim contra uma grande quantidade de microrganismos. Além disso, existem actinomicetos de solo com maior atividade contra o *Escovopsis* e há uma grande quantidade de gêneros de formigas, de diversas subfamílias, que possuem bactérias *Pseudonocardia* associadas à sua cutícula. Desta forma, os autores sugerem que esta associação é muito mais ocasional do que um caso de mutualismo (Kost et al., 2007).

A filogenia e a evolução dos comportamentos da tribo Attini sempre foram muito controversas. Durante boa parte do século 20 houve duas hipóteses sobre a filogenia da tribo, a primeira, defendida por Weber (1958) baseado em caracteres morfológicos e comportamentais das operárias, que sugere o gênero *Cyphomyrmex* sendo o mais basal e

dentro deste as espécies do grupo *rimosus*, cultivadoras de leveduras, serem as mais basais. A segunda hipótese, baseada unicamente em caracteres morfológicos das operárias e defendida por Kusnezov (1963), sugere que a tribo Attini pode ser dividida em duas linhagens, uma basal, “paleoattini”, formada por *Myrmicocrypta*, *Apterostigma* e *Mycocepurus* e uma linhagem derivada, “neoattini”, formada por todos os demais gêneros incluindo *Cyphomyrmex*. As duas propostas concordam que os gêneros *Atta* e *Acromyrmex* são os gêneros derivados.

A controvérsia a respeito da filogenia das Attini foi parcialmente resolvida atualmente com os trabalhos de Mayhé-Nunes (1995), utilizando caracteres morfológicos e comportamentais das operárias, por Schultz e Meyer (1995), baseado em caracteres morfológicos das larvas, Wetterer et al (1998), utilizando seqüências de DNA mitocondrial e Schultz e Brady (2008) com seqüências de DNA nuclear. Houve uma concordância que o modelo mais correto de filogenia é o proposto por Kusnezov (1963), ou seja, um ramo filogenético formado por *Myrmicocrypta*, *Apterostigma* e *Mycocepurus* seria basal e *Cyphomyrmex* seria um gênero derivado em relação a esses.

Outra controvérsia a respeito da filogenia das Attini, que também durou boa parte do século 20, se refere ao grupo de formigas basal mais próximo delas. Vários gêneros foram apontados como possíveis irmãos das Attini, entre eles *Cephalotes*, *Pheidole* e *Basiceros*. Quando foram descritos os gêneros *Proatta* e *Blepharidatta*, parecidos com as Attini, o primeiro foi considerado durante muito tempo como possível ancestral das Attini, apesar de não ocorrer nas Américas. Porém, informações posteriores revelaram que o gênero *Blepharidatta* seria o mais próximo. De qualquer forma, acredita-se que o ancestral das Attini possuía comportamento e ecologia semelhantes às espécies destes dois gêneros, ou seja, eram formigas crípticas, monomórficas, que se alimentavam de carcaças de insetos e viviam na serapilheira (Schultz et al., 1995; Wetterer; Schultz ; Meier, 1998; Mueller et al., 2001).

Apesar dos aspectos filogenéticos das Attini estarem relativamente estabelecidos, ainda restam questões muito importantes sobre a evolução de aspectos comportamentais do grupo, tais como: a origem do hábito de cultivar fungo e como a relação das formigas com o fungo evoluiu de modo a permitir que as derivadas cultivem o fungo utilizando partes frescas de vegetais.

Na tentativa de explicar a origem do hábito de cultivar fungo, foram sugeridas oito hipóteses:

1 – Sementes provisionadas – Esta hipótese foi desenvolvida por Weber (1958) e diz que o hábito de cultivar fungo surgiu nas formigas que armazenavam sementes, no interior do ninho, e com o tempo teria crescido um fungo sobre elas e as formigas passaram a utilizá-lo como alimento.

2 – Micorrizas – Garling (1979) formulou esta hipótese, observando que várias *Attini* basais cultivam seus fungos apoiados sobre as raízes de plantas. Sugere que o hábito de cultivar fungo tenha surgido quando as formigas encontraram raízes de plantas com micorrizas em suas galerias. As formigas as removeriam das raízes e passariam a cultivá-las adicionando outros substratos.

3 – Madeira em decomposição – Segundo esta hipótese os ancestrais das *Attini* possuíam o hábito de nidificar em madeira em decomposição. Nesse ambiente, teria ocorrido o desenvolvimento de fungos sobre a própria madeira ou mesmo sobre fezes de outros insetos e eles passaram mais tarde a ser utilizados como alimento (Weber, 1966; Hölldobler et al., 1990; Mueller et al., 2001).

4 – Fezes de insetos – As *Attini* teriam encontrado o fungo crescendo sobre as fezes de outros insetos no ambiente e passaram a utilizá-lo como alimento, acrescido que utilizariam as próprias fezes para o cultivo do mesmo (Mueller et al., 2001).

5 – Carcaças de insetos – Esta hipótese é uma modificação da anterior e diz que o fungo teria se desenvolvido sobre as carcaças das presas que elas formigas deixavam no lixo. (Mueller et al., 2001).

6 – Paredes do ninho – Nesta hipótese, o ancestral das *Attini* teria vivido na serapilheira e construía seus ninhos com folhas mortas em ambientes altamente úmidos, onde o fungo teria crescido na estrutura cartonada do ninho e as formigas passariam então a utilizá-lo como alimento (Mueller et al., 2001).

7 – “Pellets” da cavidade infrabucal – Mueller et al (2001) formularam a hipótese de que alguns fungos teriam utilizado as formigas como seus agentes dispersores através da cavidade infrabucal. As operárias ingeriam pedaços de fungo, mas as suas hifas ficariam presas na cavidade infrabucal e quando elas regurgitassem, estariam atuando como

propagadoras do fungo. Se elas regurgitassem este material no interior do ninho, o fungo teria se desenvolvido lá e as formigas passariam a utilizá-lo como alimento.

8 – Outros simbioses – Nesta última, e mais recente, hipótese as formigas teriam adquirido o fungo “roubando” o simbiote de outros insetos, como por exemplo, os besouros “ambrósia”, que inoculam os esporos do fungo durante a construção de seus ninhos em madeira. O fungo cresce nas galerias do ninho e serve de alimento para as larvas do besouro. O ancestral das Attini seria predador destas larvas e posteriormente passaria a se alimentar do fungo (Sanchez-Pena, 2005).

Nenhuma destas hipóteses foi testada de maneira conclusiva, porém, é consenso geral que a melhor forma de se estudar os aspectos comportamentais envolvidos com a evolução da simbiose entre as Attini e o seu fungo é a partir de uma abordagem comparativa desses aspectos em diferentes espécies da tribo e entre elas e outras formigas (Mayhe-Nunes, 1995a; Schultz et al., 1995; Mueller et al., 2001).

O método comparativo consiste em analisar os padrões comportamentais de diferentes espécies relacionadas filogeneticamente. Esta é uma abordagem que vem sendo utilizada com grande frequência pelos etologistas. O desenvolvimento das técnicas moleculares possibilitou a determinação mais exata das relações filogenéticas entre as espécies e, conseqüentemente, uma melhor compreensão de como os padrões comportamentais observados em espécies derivadas evoluiu a partir de padrões observados nas espécies basais. Também tornou possível uma consideração mais precisa do valor adaptativo dos comportamentos e a sua influência na história evolutiva das espécies (Alcock, 2001).

GÊNEROS E ESPÉCIES ESTUDADOS

***Acromyrmex* MAYR, 1865**

Juntamente com *Atta* as formigas desse gênero são denominadas cortadeiras e cultivam o fungo simbiote com fragmentos vegetais cortados diretamente das plantas. As operárias possuem quatro pares de espinhos no mesossoma, um par em geral na cabeça e muitos tubérculos e dentes ornamentando o gáster (Figura 1.1) (Della Lucia et al., 1993).

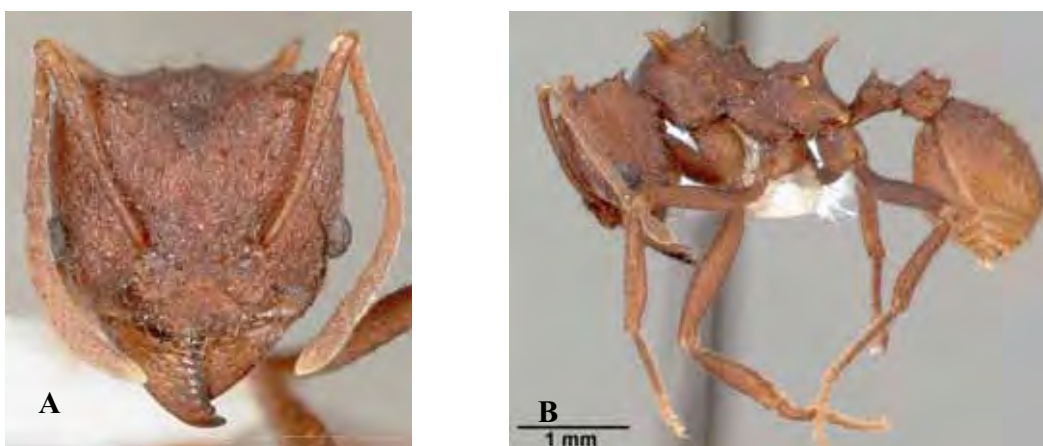


Figura 1.1: Operária média de *Acromyrmex versicolor*. A – cabeça vista frontal; B – perfil do corpo. (Fonte: www.antweb.org).

São chamadas popularmente de quenquéns e são amplamente conhecidas como grandes pragas da agricultura, principalmente no Brasil. Algumas espécies atacam somente dicotiledôneas, outras cortam somente monocotiledôneas e outras atacam ambas, de modo que podem consumir todo o tipo de planta cultivada (Fowler; Forti; Pereira da Silva ; Saes, 1986; Della Lucia et al., 1993).

A estrutura dos ninhos é altamente variável, tanto externamente como internamente, algumas espécies possuem ninhos no solo, bastante superficiais e cobertos por folhas secas, outras possuem ninhos subterrâneos com olheiros bem definidos. Internamente, alguns ninhos podem ser compostos por uma única e grande câmara de fungo, outros podem ser compostos por várias câmaras pequenas interligadas por galerias. A maioria das espécies possui ninhos no solo, mas algumas podem nidificar sobre a copa de árvores (Della Lucia et al., 1993).

A estrutura de castas não é tão complexa quanto em *Atta*. O gênero *Acromyrmex* não possui a casta de soldado, além disso, de acordo com Wetterer (1999), possui uma variação morfológica das operárias que vai do polimorfismo discreto, de algumas espécies, ao polimorfismo extremo em outras, sendo que em alguns casos elas apresentam um polimorfismo bi-modal, com duas castas operárias.

A rainha é parecida com as operárias, podendo desempenhar, em alguns casos, tarefas de operárias. A fundação dos ninhos é muito variável podendo ser realizada de modo claustral, como em *Atta*, ou semi-claustral, ou seja, a rainha sai do ninho durante a

fundação para coletar substrato para o fungo. A fundação também pode ser monogínica, com uma rainha, ou poligínica, com mais de uma rainha (Della Lucia et al., 1993; Fernández-Marín; Zimmerman ; Wcislo, 2004).

Além disso, algumas espécies deste gênero desenvolveram o parasitismo social, ou seja, a rainha se infiltra no ninho de outras espécies e pode, em alguns casos, conviver com a rainha original ou substituí-la. Algumas espécies parasitas produzem operárias e alados, outras produzem apenas alados, porém ambos os tipos o fazem com os recursos da colônia hospedeira (Schultz; Bekkevold ; Boomsma, 1998; Baer ; Boomsma, 2004; Sumner; Aanen; Delabie ; Boomsma, 2004; De Souza; Soares ; Della Lucia, 2007; Lambardi; Dani; Turillazzi ; Boomsma, 2007).

Junto com *Atta* o gênero *Acromyrmex* é considerado o mais derivado da tribo Attini, acredita-se que os dois gêneros se diferenciaram do mesmo ancestral a aproximadamente 20 milhões de anos. Foi observado por alguns autores que as quenquéns cobrem suas larvas com partes do micélio fúngico, mas esse comportamento permanece sem muita explicação (Kusnezov, 1963; Chapela et al., 1994; Chapela et al., 1994; Schultz et al., 1995).

Taxonomicamente este gênero é dividido em dois subgêneros: *acromyrmex* e *mollerius*. O primeiro é composto por um número maior de espécies, que em sua maioria corta dicotiledôneas, as espécies do segundo subgênero utilizam predominantemente gramíneas para o cultivo do fungo (Della Lucia et al., 1993).

A espécie utilizada neste trabalho foi *Acromyrmex disciger*, ela pertence ao subgênero *acromyrmex*. Esta espécie ocorre principalmente no litoral das regiões sul e sudeste do Brasil, onde é conhecida como quenquém-mirim e ataca principalmente jardins e parques na região urbana (Della Lucia et al., 1993; Forti; de Andrade; Andrade; Lopes ; Ramos, 2006).

Os ninhos desta espécie são monogínicos e superficiais, o jardim de fungo normalmente fica na superfície do solo recoberto por uma camada de folhas secas e é composto por apenas uma câmara grande. As colônias podem ficar localizadas em troncos ocos abaixo de pedras ou próximo a árvores (Della Lucia et al., 1993).

As operárias podem ser identificadas pelas seguintes características: Presença de espinho supra ocular e tegumento com pubescência densa. Nas áreas onde ocorrem, estas

formigas forrageiam em longas trilhas que normalmente sobem nas plantas, principalmente cultivadas em jardins (Della Lucia et al., 1993; Forti et al., 2006).

***Apterostigma* MAYR, 1865**

As formigas do gênero *Apterostigma* foram descritas pela primeira vez por Mayr em 1865, mas o primeiro relato de que elas cultivam fungo foi realizado por Möller em 1893. As operárias são monomórficas, seus ninhos são pequenos e pouco populosos. Elas cultivam fungo com material vegetal decomposto, sementes e frutos de gramíneas, cadáveres e fezes de insetos. O corpo dessas formigas é totalmente recoberto de pêlos finos e longos, sua cabeça é arredondada na parte posterior e o seu mesossoma não possui projeções como espinhos ou tubérculos (Figura 1.2) (Weber, 1966; Hölldobler et al., 1990; Della Lucia et al., 1993; Lattke, 1997; Leal et al., 2000).



Figura 1.2: Operária de *Apterostigma pilosum*. A – cabeça vista frontal; B – perfil do corpo. (Fonte: www.antweb.org).

Os ninhos têm uma estrutura simples, em algumas espécies se localizam abaixo de pedras ou em troncos ocos, nas espécies que constroem ninhos subterrâneos há apenas uma câmara com profundidade de aproximadamente 1 metro. A população destas formigas é composta de algumas centenas ou dezenas de operárias e apenas uma rainha, que funda o ninho em um sistema semi-claustral (Fernández-Marín et al., 2004; Villesen et al., 2004).

Durante o vôo nupcial a fêmea alada acasala com apenas um macho, retorna ao solo e procura um local adequado para fundar o ninho. As rainhas das espécies deste gênero

utilizam as asas posteriores como plataforma para sustentar o jardim de fungo inicial. Elas cortam as asas posteriores, fixam no teto da câmara e regurgitam o fungo simbiote sobre elas. Este comportamento aparentemente tem a função de impedir que o fungo simbiote entre em contato com o solo, prevenindo a sua contaminação por outros microrganismos (Villesen et al., 2004; Fernández-Marín et al., 2004).

Um grupo de espécies relacionado a *Apterostigma collare* cultiva um fungo diferente daquele presente nos ninhos da maioria das Attini que pertence à família Pterulaceae. Este fungo é especializado em decompor madeira. A biologia da maioria das espécies deste gênero não é conhecida, e deve ser influenciada pelas características do seu fungo simbiote (Munkacsi et al., 2004; Villesen et al., 2004; Vellinga, 2004a).

As operárias do gênero *Apterostigma* se movem lentamente no exterior do ninho e fingem de mortas quando em contato com outros animais, elas forrageiam sempre no solo de forma solitária, sem qualquer tipo de recrutamento (Pitts-Singer ; Espelie, 2007).

O gênero *Apterostigma* possui 44 espécies divididas em dois grupos, *auriculatum* e *pilosum*. A espécie estudada neste trabalho foi identificada como *Apterostigma pilosum*, possui cabeça alargada sem a presença de “pescoço” no vértice, olhos de perfil arredondado, clipeo com uma franja de cutícula brilhante e mandíbulas apresentando 11 a 12 denticulos. Esta espécie foi considerada na última revisão do gênero como um complexo de espécies que necessita ser avaliado (Lattke, 1997).

***Mycetarotes* EMERY, 1913**

As espécies deste gênero apresentam operárias monomórficas com mandíbulas finamente estriadas longitudinalmente apresentando 5 a 6 dentes na margem mastigatória, possuem ainda cápsula cefálica com o comprimento maior que a largura e antenas de 11 segmentos sem uma clava terminal. Possuem 5 a 6 pares de espinhos dorsais no mesossoma sendo de 3 a 4 pares no pronoto e 2 no mesonoto. Pecíolo com o comprimento maior que a largura apresentando um par de espinhos dorsais. Gáster com o comprimento maior que a largura em vista dorsal. Existem poucos pêlos recobrendo o corpo, mas estes ficam em maior quantidade nas mandíbulas e gáster e são simples (Figura 1.3). O gênero possui 4

espécies que ocorrem exclusivamente na América do Sul (Kempf, 1960; Mayhe-Nunes, 1995b; Mayhe-Nunes ; Brandão, 2006).

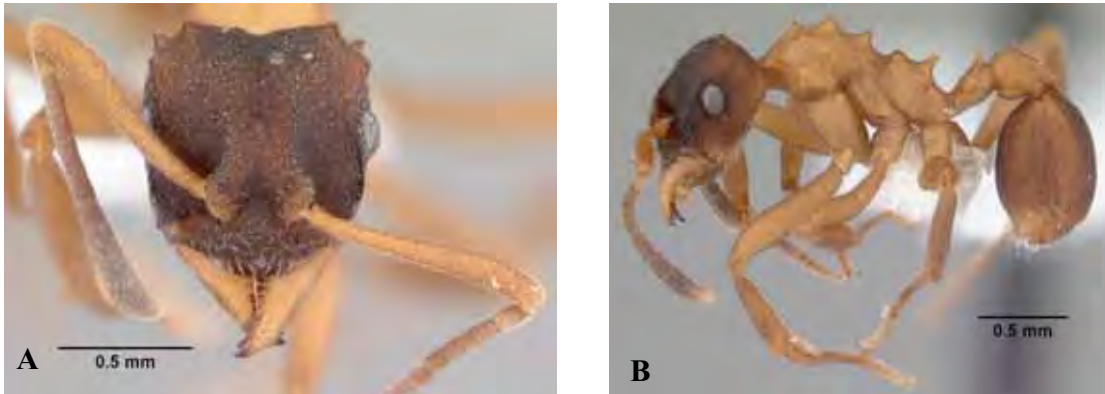


Figura 1.3: Operária de *Mycetarotes parallelus*. A – cabeça vista frontal; B – perfil do corpo. (Fonte: www.antweb.org).

A proposta filogenética mais aceita para a tribo Attini considera o gênero *Mycetarotes* basal, porém está em uma posição interessante na filogenia pois é um dos representantes mais basais da linhagem “Neoattini”, que é a mais derivada da tribo (Kempf, 1960; Kusnezov, 1963; Schultz et al., 1995; Wetterer et al., 1998; Mayhe-Nunes et al., 2006).

Assim como outros gêneros considerados basais, *Mycetarotes* cultiva o fungo simbiote com material vegetal em decomposição, sementes e partes de frutos. Em uma frequência menor elas utilizam fezes e carcaças de insetos. Todos os substratos coletados por estas espécies são provenientes do solo, elas raramente sobem em plantas para buscar substrato para o fungo (Leal et al., 2000).

Os ninhos são pequenos, pouco populosos e simples estruturalmente. De uma maneira geral os ninhos são compostos por uma única câmara onde se encontram o jardim de fungo, a cria, a maioria das operárias e a rainha. A profundidade da câmara de fungo pode atingir no máximo 18 centímetros. Em algumas espécies o jardim de fungo pode ficar apoiado sobre o fundo da câmara e em outras ele fica apoiado sobre raízes de plantas. A câmara de fungo é conectada ao exterior por um canal, a saída do ninho é variável podendo apresentar um montículo simples de terra ou uma torre bem fina com um pequeno canal no meio. A população do ninho é composta por uma rainha e no máximo 111 operárias (Kempf, 1960; Mayhe-Nunes, 1995b; Slomon et al., 2004; Mayhe-Nunes et al., 2006).

A espécie estudada neste trabalho é a *Mycetarotes parallelus*, muito comum no Brasil, ocorrendo do norte do estado do Amazonas ao sul do estado do Paraná e também é encontrada no Paraguai e Argentina. A operária é identificada pela ausência de espinhos ou dentes no pós-pecíolo (Kempf, 1960; Mayhe-Nunes, 1995b; Mayhe-Nunes et al., 2006).

O ninho é composto por uma única câmara localizada a 20 ou 30 centímetros de profundidade. Externamente, a saída do ninho é composta por uma torre de terra, recurvada e com um canal no meio. As operárias possuem um comportamento críptico, poucas saem para forragear e se movem lentamente não se afastando muito do ninho. O substrato mais comum que elas coletam é material vegetal em decomposição, sementes de gramínea e frutos, mas podem também coletar fezes de insetos (Kempf, 1960; Leal et al., 2000; Slomon et al., 2004; Mayhe-Nunes et al., 2006).

***Myrmicocrypta* SMITH, 1860**

As formigas deste gênero foram descritas pela primeira vez por Smith em 1860, mas o primeiro relato de que elas cultivam fungo foi feito por Forel em 1899. As operárias são monomórficas, seus ninhos são pequenos e pouco populosos. Elas cultivam fungo com material vegetal decomposto, sementes e frutos de gramíneas, cadáveres e fezes de insetos. O corpo dessas formigas é recoberto de pêlos escamiformes, sua cabeça é arredondada na parte posterior e o seu mesossoma pode possuir projeções como espinhos ou tubérculos (figura 1.4) (Weber, 1966; Hölldobler et al., 1990; Della Lucia et al., 1993; Leal et al., 2000).

O gênero *Myrmicocrypta* é considerado como o mais basal da tribo Attini, o ninho é sempre subterrâneo e composto por um canal que leva a uma única câmara onde ficam o jardim de fungo, a única rainha, as operárias e a cria. A fundação do ninho e o vôo nupcial são semelhantes ao que foi descrito para *Apterostigma* (Fernández-Marín et al., 2004; Schultz et al., 1995).

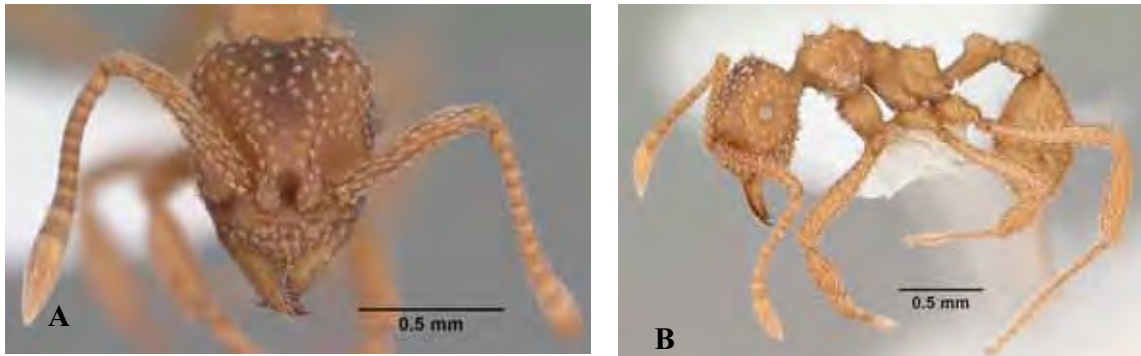


Figura 1.4: Operária de *Myrmicocrypta* sp. A – cabeça vista frontal; B – perfil do corpo. (Fonte: www.antweb.org).

O processo de preparação do substrato em *Myrmicocrypta ednaela* se dá da seguinte forma: as operárias coletam o substrato, geralmente material vegetal em decomposição, transportam para o interior do ninho e empilham o material para depois inocularem o fungo, retirado de uma parte mais antiga do jardim. Depois disso as operárias depositam líquido fecal sobre a parte recém-incorporada. Quando o fungo cresce, as operárias removem as hifas do substrato já digerido substituindo-o por substrato novo. O cuidado com a cria segue os padrões gerais das formigas a não ser pelo fato de que as larvas têm a capacidade de se alimentar sozinhas diretamente do fungo (Murakami ; Higashi, 1997).

Apesar de serem conhecidas há muito tempo, estas formigas, da mesma forma que *Apterostigma*, foram pouco estudadas e sua biologia ainda necessita ser detalhada, principalmente os comportamentos relativos à preparação do substrato e cuidado com a cria, que são muito importantes para a compreensão da evolução da tribo Attini.

A espécie estudada neste trabalho não pôde ser identificada por não existirem chaves de identificação, revelando a grande necessidade de revisão do gênero, desta forma esta espécie será chamada de *Myrmicocrypta* sp.

***Trachymyrmex* FOREL, 1893**

O gênero *Trachymyrmex* possui operárias monomórficas ou com polimorfismo discreto que apresentam espinhos mesossomais dorsais multidentados ou multituberculados, carena frontal expandida até a parte de trás da cabeça formando um pequeno escrobo antenal, o corpo possui pêlos curvos, associados às projeções cuticulares,

e simples (Mayhe-Nunes, 1995a; Mayhe-Nunes ; Brandão, 2002; Mayhe-Nunes ; Brandão, 2005; Mayhe-Nunes ; Brandão, 2007).

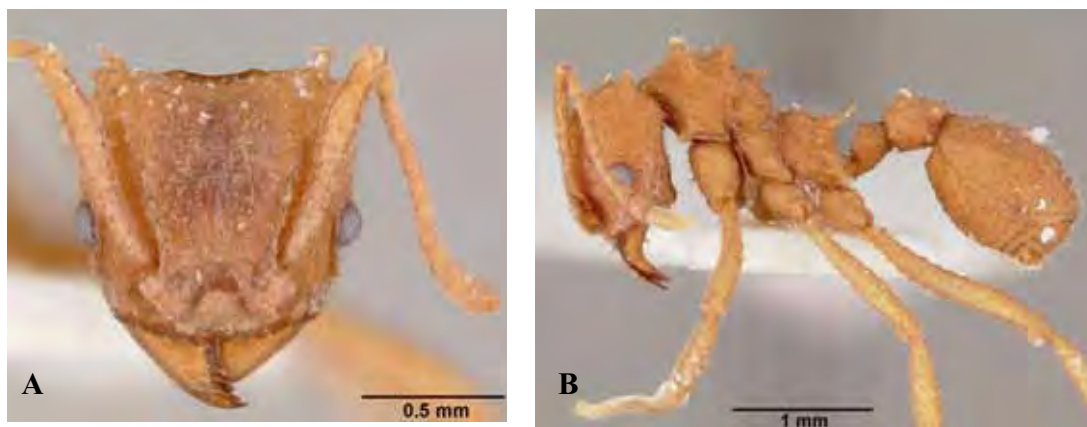


Figura 1.5: Operária de *Trachymyrmex septentrionalis*. A – cabeça vista frontal; B – perfil do corpo. (Fonte: www.antweb.org).

Elas cultivam o fungo simbiote principalmente com material vegetal em decomposição e partes de flores e frutos, mas também podem raramente utilizar fezes e corpos de insetos e folhas verdes. Apesar de serem muito semelhantes a *Acromyrmex* elas forrageiam apenas no solo e de forma solitária apresentando pequena capacidade de recrutamento e formação de trilhas (Waller, 1989; Della Lucia et al., 1993; Mayhe-Nunes, 1995a; Beshers ; Traniello, 1996; Leal et al., 2000; Lizidatti, 2006).

As espécies do gênero *Trachymyrmex* possuem um sistema de divisão de castas baseado no polietismo etário, ou seja, as operárias desempenham diferentes funções de acordo com a sua idade. Em *Trachymyrmex septentrionalis* as operárias mais jovens desempenham as funções de tratamento da cria e do fungo simbiote enquanto as mais velhas forrageiam e preparam o substrato para o cultivo do fungo simbiote (Beshers et al., 1996).

A preparação do substrato para o cultivo do fungo simbiote nesta espécie segue o mesmo padrão básico descrito para as formigas cortadeiras, elas lambem o substrato e depois o fragmentam, depositam líquido fecal sobre ele e o incorporam ao jardim de fungo. A diferença é que as operárias de *Trachymyrmex septentrionalis* não realizam este processo

como em uma linha de produção observada para as cortadeiras, o processo neste caso é realizado de forma solitária pelas operárias (Beshers et al., 1996).

A fundação de novas colônias é realizada normalmente por apenas uma rainha fundadora que acasala com apenas um macho durante o vôo nupcial. A rainha carrega um inóculo do jardim de fungo dentro de sua cavidade infrabucal e o regurgita quando encontra um local adequado para fundar o ninho. A fundação é realizada no modo semi-claustral, normalmente ela cultiva o fungo apoiado em raízes de plantas e continua a sair para forragear mesmo depois da emergência das primeiras operárias (Fernández-Marín et al., 2004).

Filogeneticamente o gênero *Trachymyrmex* é o mais próximo das formigas cortadeiras, de modo que o estudo de suas características biológicas é muito importante para se entender a evolução do hábito de cortar folhas apresentado por elas.

Taxonomicamente o gênero *Trachymyrmex* é dividido em seis grupos de espécies: *opulentus*, *iheringi*, *jamaicensis*, *urichi*, *septentrionalis* e *cornetzi*. O gênero contém aproximadamente 50 espécies distribuídas da região central da Argentina até o nordeste dos Estados Unidos da América. Durante muito tempo este gênero teve a sua taxonomia bastante confusa por ser muito semelhante às cortadeiras e várias de suas espécies foram descritas como *Atta*, depois como *Acromyrmex* e por último como *Cyphomyrmex* (Mayhe-Nunes et al., 2002; Mayhe-Nunes et al., 2005; Brandao ; Mayhe-Nunes, 2007; Mayhe-Nunes et al., 2007).

Neste trabalho foram estudadas duas espécies, a primeira foi *Trachymyrmex fuscus*, pertencente ao grupo *urichi*. Esta espécie se caracteriza por apresentar os lados occipitais da cabeça angulosos, dando uma conformação quadrada para a mesma, esta espécie atualmente está na sinonímia de *Trachymyrmex urichi* mas será revalidada por Mayhe-Nunes e Brandão (comunicação pessoal) na quarta parte da revisão do gênero. *Trachymyrmex fuscus* é uma formiga muito comum no interior do Brasil se distribuindo nas regiões centro-oeste e sudeste, possui ninhos subterrâneos formados por mais de uma câmara e com mais de um metro de profundidade. Cultiva o fungo simbiote com material vegetal em decomposição e ocasionalmente carcaças e fezes de insetos e folhas verdes. A maior atividade de forrageamento é noturna e nas horas mais frescas do dia (Moreira et al., 2007).

A outra espécie estudada foi identificada como sendo uma espécie nova que será descrita por Mayhe-Nunes e Brandão (comunicação pessoal) na sexta parte da revisão do gênero. Segundo esses autores esta espécie pertence ao grupo *cornetzi* e se caracteriza por apresentar os lados occipitais arredondados e os espinhos pronotais grandes. Uma espécie que pertence a este grupo e que foi estudada no passado é *T. turrifex*, provavelmente algumas características biológicas da espécie estudada neste trabalho sejam semelhantes a ela. *T. turrifex* possui a atividade de forrageamento noturna, as suas operárias forrageiam de forma solitária, elas utilizam principalmente material vegetal em decomposição, anteras e em pequena quantidade fezes de inseto (Waller, 1989).

LITERATURA CITADA

1. ALCOCK, J. **Animal Behavior**. J. Alcock. 7. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates, 2001. 543 p.
2. ANDRADE, A. P. P.; FORTI, L. C.; MOREIRA, A. A.; BOARETTO, M. A. C.; RAMOS, V. M.; DE MATOS, C. A. O. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera : Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. **Sociobiology**, v. 40, n. 2, p. 293-306, 2002.
3. BAER, B. ; BOOMSMA, J. J. Male reproductive investment and queen mating-frequency in fungus-growing ants. **Behavioral Ecology**, v. 15, n. 3, p. 426-432, 2004.
4. BASS, M. ; CHERRETT, J. M. Fungal Hyphae As A Source of Nutrients for the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens*. **Physiological Entomology**, v. 20, n. 1, p. 1-6, 1995.
5. BESHERS, S. N. ; TRANIELLO, J. F. A. Polyethism and the adaptiveness of worker size variation in the attine ant *Trachymyrmex septentrionalis*. **Journal of Insect Behavior**, v. 9, n. 1, p. 61-83, 1996.
6. BRANDAO, C. R. F. ; MAYHE-NUNES, A. J. A new fungus-growing ant genus, *Mycetagroicus* gen. n., with the description of three new species and comments on the monophyly of the attini (Hymenoptera : Formicidae). **Sociobiology**, v. 38, n. 3B, p. 639-665, 2001.

7. BRANDÃO, C. R. F. ; MAYHE-NUNES, A. J. A new fungus-growing ant genus, *Mycetagroicus* gen. n., with the description of three new species and comments on the monophyly of the attini (Hymenoptera : Formicidae). **Sociobiology**, v. 38, n. 3B, p. 639-665, 2001.

8. BRANDÃO, C. R. F. ; MAYHE-NUNES, A. J. A phylogenetic hypothesis for the *Trachymyrmex* species groups, and the transition from fungus-growing to leaf-cutting in the Attini. In: R.R.SNELLING; B. L. FISHER; P. S. WARD (Eds.). **Advances in ant systematics (Hymenoptera: Formicidae): homage to E. O. Wilson - 50 years of contributions**. Gainesville, FL: American Entomological Institute, 2007. Cap. 6 , p. 72-88.

9. CHAPELA, I. H.; RHENER, S. A.; SCHULTZ, T. R.;MUELLER, U. G. Evolutionary history of the symbiosis between fungus-growing ants and their fungus. **Science**, v. 266, p. 1691-1694, 1994.

10. CRAVEN, S. E.; DIX, M. W.;MICHAELS, G. E. Attine Fungus Gardens Contain Yeasts. **Science**, v. 169, n. 3941, p. 184-&, 1970.

11. CURRIE, C. R. A community of ants, fungi and bacteria: a multilateral approach to studying symbiosis. **Annual Review of Microbiology**, v. 55, p. 357-380, 2001a.

12. _____. Prevalence and impact of a virulent parasite on a tripartite mutualism. **Oecologia**, v. 128, p. 99-106, 2001b.

13. CURRIE, C. R.; POULSEN, M.; MENDENHALL, J.; BOOMSMA, J. J.;BILLEN, J. Coevolved crypts and exocrine glands support mutualistic bacteria in fungus-growing ants. **Science**, v. 311, p. 81-83, 2006.

14. CURRIE, C. R.; SCOTT, J. A.; SUMMERBELL, R. C.;MALLOCH, D. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control fungus garden parasites. **Nature**, v. 398, p. 701-704, 1999.

15. CURRIE, C. R.; WONG, B.; STUART, A. E.; SCHULTZ, T. R.; RHENER, S. A.; MUELLER, U. G. et al. Ancient tripartite coevolution in the attine ant-microbe symbiosis. **Science**, v. 299, p. 386-388, 2003.

16. DE SOUZA, D. J.; SOARES, I. M. F.;DELLA LUCIA, T. M. C. *Acromyrmex ameliae* sp n. (Hymenoptera : Formicidae): A new social parasite of leaf-cutting ants in Brazil. **Insect Science**, v. 14, n. 3, p. 251-257, 2007.

17. DELLA LUCIA, T. M. C.; MOREIRA, D. D. O. **As formigas cortadeiras**. T. M. C. Della Lucia, D. D. O. Moreira. 1. Viçosa, MG: Editora Folha de Viçosa, 1993. 262 p.

18. FERNÁNDEZ-MARÍN, H.; ZIMMERMAN, J. K.; WCISLO, W. T. Ecological traits and evolutionary sequence of nest establishment in fungus-growing ants (Hymenoptera, Formicidae, Attini). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 81, p. 39-48, 2004.

19. FISHER, P. J.; STRADLING, D. J.; SUTTON, B. C.; PETRINI, L. E. Microfungi in the fungus gardens of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*: A preliminary study. **Mycological Research**, v. 100, p. 541-546, 1996.

20. FORTI, L. C.; DE ANDRADE, M. L.; ANDRADE, A. P. P.; LOPES, J. F. S.; RAMOS, V. M. Bionomics and identification of *Acromyrmex* (Hymenoptera : Formicidae) through an illustrated key. **Sociobiology**, v. 48, n. 1, p. 135-153, 2006.

21. FOWLER, H. G.; FORTI, L. C.; PEREIRA DA SILVA, V.; SAES, N. B. Economics of grass-cutting ants. In: C.S.LOFGREN ; R. K. VANDER MEER (Eds.). **Fire ants and leaf-cutting ants: biology and management**. Bolder: Westview Press, 1986. p. 18-35.

22. HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The ants**. 1. Cambridge, Mass.: Harvard University Press, 1990. 732 p.

23. KEMPF, W. W. Review of the ant genus "*Mycetarotes*" Emery (Hymenoptera, Formicidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 20, n. 3, p. 277-283, 1960.

24. KOST, C.; LAKATOS, T.; BOTTCHE, I.; ARENDHOLZ, W. R.; REDENBACH, M.; WIRTH, R. Non-specific association between filamentous bacteria and fungus-growing ants. **Naturwissenschaften**, v. 94, n. 10, p. 821-828, 2007.

25. KUSNEZOV, N. Zoogeografia de las hormigas en sudAmerica. **Acta Zoologica Lilloana**, v. 19, p. 25-186, 1963.

26. LAMBARDI, D.; DANI, F. R.; TURILLAZZI, S.; BOOMSMA, J. J. Chemical mimicry in an incipient leaf-cutting ant social parasite. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 61, n. 6, p. 843-851, 2007.

27. LATTKE, J. Revisión del género *Apterostigma* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). **Arquivos de Zoologia**, v. 34, n. 5, p. 121-221, 1997.

28. LEAL, I. R. ; OLIVEIRA, P. S. Foraging ecology of attine ants in a neotropical savanna: seasonal use of fungal substrate in the Cerrado vegetation of Brazil. **Insectes Sociaux**, v. 47, p. 376-382, 2000.

29. LIMA, P. R. M. **Metabolismo e secreção de despolimerases em fungos simbiotes de formigas atíneas e inibição de pectinases**. 2006. (Phd) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2006.

30. LIZIDATTI, C. S. **Biologia, arquitetura de ninhos e coleta de substratos no Cerrado por formigas cultivadoras de fungo, *Trachymyrmex holmgreni* Wheeler, 1925 (Hymenoptera, formicidae, Attini)**. 2006. (Tese (Mestrado)) - UNESP, Instituto de Biosciências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto - SP, 2006.

31. MARTIN, M. M.; BOYD, N. D.; GIESELMANN, M. J.; SILVER, R. G. Activity of Fecal Fluid of A Leaf-Cutting Ant Toward Plant-Cell Wall Polysaccharides. **Journal of Insect Physiology**, v. 21, n. 12, p. 1887-1892, 1975.

32. MAYHE-NUNES, A. J. **Filogenia de los Attini (Hymen., Formicidae): un aporte al conocimiento de las hormigas fungívoras**. 1995a. Tese (Doutorado) - Universidad Simón Bolívar, 1995a.

33. _____. Sinopse do genero *Mycetarotes*. **Boletín de Entomología Venezolana**, v. 10, n. 2, p. 197-205, 1995b.

34. MAYHE-NUNES, A. J. ; BRANDÃO, C. R. F. Revisionary studies on the attine ant genus *Trachymyrmex* forel. Part 1: Definition of the genus and the *opulentus* group (Hymenoptera : Formicidae). **Sociobiology**, v. 40, n. 3, p. 667-698, 2002.

35. _____. Revisionary studies on the attine ant genus *Trachymyrmex* Forel. Part 2: The *iheringi* group (Hymenoptera : Formicidae). **Sociobiology**, v. 45, n. 2, p. 271-305, 2005.

36. _____. Revisionary notes on the fungus-growing ant genus *Mycetarotes* Emery (Hymenoptera, Formicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, n. 4, p. 463-472, 2006.

37. MAYHE-NUNES, A. J. ; BRANDÃO, R. F. Revisionary studies on the attine ant genus *Trachymyrmex* forel. Part 3: The *jamaicensis* group (Hymenoptera : Formicidae). **Zootaxa**, n. 1444, p. 1-21, 2007.

38. MOHALI, S. Ultrastructural and morphological study of the mutualistic fungus of the ant *Atta cephalotes*. **Revista de Ecologia Latino-Americana**, v. 5, n. 3, p. 1-6, 1998.

39. MOREIRA, A. A.; BUENO, E. C.; OLIVEIRA, C. G.; DINIZ, E. A.; GARCEZ, D. L.; CAMPOS, M. C. G. et al. Foraging activity of *Trachymyrmex fuscus* (Hymenoptera : Formicidae) in a degraded area. **Sociobiology**, v. 50, n. 2, p. 409-417, 2007.

40. MUELLER, U. G. Ants versus fungus versus mutualism: ant-cultivar conflict and the deconstruction of the attine ant-fungus symbiosis. **The American Naturalist**, v. 160, p. 67-98, 2002.

41. MUELLER, U. G.; CURRIE, C. R.; SCHULTZ, T. R.; ADAMS, R. M. M.;MALLOCH, D. The origin of the attine ant-fungus mutualism. **The Quarterly Review of Biology**, v. 76, n. 2, p. 169-197, 2001.

42. MUNKACSI, A. B.; PAN, J. J.; VILLESEN, P.; MUELLER, U. G.; BLACKWELL, M.;MCLAUGHLIN, D. J. Convergent coevolution in the domestication of coral mushrooms by fungus-growing ants. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 271, p. 1777-1782, 2004.

43. MURAKAMI, T. ; HIGASHI, S. Social organization in two primitive attine ants, *Cyphomyrmex rimosus* and *Myrmicocrypta ednaella*, with reference to their fungus substrates and food sources. **Journal of Ethology**, v. 15, n. 1, p. 17-25, 1997.

44. OLIVEIRA DA SILVA-PINHATI, A. C. **Evolução e metabolismo de alguns atíneos (Hymenoptera: Formicidae) e seus fungos (Basidiomycota: Agaricales)**. 2004. (Doutorado) - UNESP - Rio Claro SP, 2004.

45. PAGNOCCA, F. C.; BACCI JR, M.; FUNGARO, M. H.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J.; SANTANA, A. et al. RAPD analysis of the sexual state and sterile mycelium of the fungus cultivated by the leaf-cutting ant *Acromyrmex hispidus fallax*. **Mycological Research**, v. 105, n. 2, p. 173-176, 2001.

46. PITTS-SINGER, T. L. ; ESPELIE, K. E. Nest demographics and foraging behavior of *Apterostigma collare* emery (Hymenoptera, Formicidae) provide evidence of colony independence. **Insectes Sociaux**, v. 54, n. 4, p. 310-318, 2007.
47. RODRIGUES, A. **Ocorrência de fungos filamentosos em ninhos de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) submetidos a tratamentos com iscas tóxicas.** 2004. (Ms) - Instituto de Biociencias - Unesp - Rio Claro, 2004.
48. RONHEDE, S.; BOOMSMA, J. J.; ROSENDHAL, S. Fungal enzymes transferred by leaf-cutting ants in their fungus gardens. **Mycological Research**, v. 108, n. 1, p. 101-106, 2004.
49. SANCHEZ-PENA, S. R. New view on origin of attine ant-fungus mutualism: Exploitation of a preexisting insect-fungus symbiosis (Hymenoptera : Formicidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 98, n. 2, p. 151-164, 2005.
50. SCHULTZ, T. R.; BEKKEVOLD, D.; BOOMSMA, J. J. *Acromyrmex insinuator* new species: an incipient social parasite of fungus-growing ants. **Insectes Sociaux**, v. 45, n. 4, p. 457-471, 1998.
51. SCHULTZ, T. R. ; BRADY, S. G. Major evolutionary transitions in ant agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 14, p. 5435-5440, 2008.
52. SCHULTZ, T. R. ; MEIER, R. A phylogenetic analysis of the fungus-growing ants (Hymenoptera: Formicidae: Attini) based on morphological characters of the larvae. **Systematic Entomology**, v. 20, n. 4, p. 337-370, 1995.
53. SILVA, A. **Alfa-amilase e maltase nos simbiontes *Leucoagaricus gongylophorus* Singer (Moller) (Leucocoprinae: Agaricaceae) e *Atta sexdens* Linnaeus (Attini: Formicidae).** 2004. (Doutorado) - UNESP Rio Claro SP, 2004.
54. SILVA, A.; BACCI JR, M.; DE SIQUEIRA, C. G.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; HEBLING, M. J. Survival of *Atta sexdens* on different food sources. **Journal of Insect Physiology**, v. 49, p. 307-313, 2003.
55. SLOMON, S. E.; MUELLER, U. G.; SCHULTZ, T. R.; CURRIE, C. R.; PRICE, S. L.; OLIVEIRA DA SILVA-PINHATI, A. C. et al. Nesting biology of the fungus-growing ant *Mycetarotes* Emery (Attini: Formicidae). **Insectes Sociaux**, v. 51, p. 333-338, 2004.

56. SUMNER, S.; AANEN, D. K.; DELABIE, J.;BOOMSMA, J. J. The evolution of social parasitism in *Acromyrmex* leaf-cutting ants: a test of Emery's rule. **Insectes Sociaux**, v. 51, n. 1, p. 37-42, 2004.

57. TAUK, S. M. ; SERZEDELLO, A. Isolation of Bacteria Living in Gardens of *Atta laevigata*. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 47, n. 2, p. 295-300, 1975.

58. VELLINGA, E. Ecology and distribution of lepiotaceous fungi (Agaricaceae) - A review. **Nova Hedvigia**, v. 78, n. 3, p. 273-299, 2004a.

59. _____. Genera in the family Agaricaceae: evidence from nrITS and nrLSU sequences. **Mycological Research**, v. 108, n. 4, p. 354-377, 2004b.

60. VILLESEN, P.; MUELLER, U. G.; SCHULTZ, T. R.; ADAMS, R. M. M.;BOUCK, A. C. Evolution of ant-cultivar specialization and cultivar switching in *Apterostigma* fungus-growing ants. **Evolution**, v. 58, n. 10, p. 2252-2265, 2004.

61. WALLER, D. A. Foraging Behavior of *Trachymyrmex turrifex* Wheeler (Formicidae, Attini). **Southwestern Naturalist**, v. 34, n. 2, p. 271-275, 1989.

62. WEBER, N. A. Fungus-growing ants. **Science**, v. 153, n. 3736, p. 589-604, 1966.

63. WETTERER, J. K.; SCHULTZ, T. R.;MEIER, R. Phylogeny of fungus-growing ants (tribe Attini) based on mtDNA sequence and morphology. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 9, n. 1, p. 42-47, 1998.

CAPITULO 1 – EVOLUÇÃO DOS COMPORTAMENTOS DE PREPARAÇÃO DO SUBSTRATO PARA O CULTIVO DO FUNGO SIMBIONTE EM FORMIGAS DA TRIBO ATTINI (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)

Resumo

O conhecimento dos comportamentos de preparação do substrato para o cultivo do fungo simbionte é fundamental para a compreensão da evolução da simbiose entre as formigas da tribo Attini e o fungo. Este processo tem como principal finalidade alteração inicial do substrato anterior à sua incorporação no jardim de fungo. O objetivo deste trabalho foi analisar comparativamente estes comportamentos em *Acromyrmex disciger*, *Apterostigma pilosum*, *Mycetarotes parallelus*, *Myrmicocrypta* sp., *Trachymyrmex fuscus* e *Trachymyrmex* sp. Nov. para identificar os padrões que ocorrem nestas espécies e inferir sobre sua evolução. Com o auxílio de um sistema de supervisão de formigueiro foram realizadas observações dos comportamentos e os resultados revelaram que, basicamente, o processo de preparação do substrato pode ser dividido em três etapas: tratamento físico, em que as formigas prendem e lambem o substrato; tratamento químico, quando as operárias depositam líquido fecal, prensam e recortam o substrato; incorporação, em que as formigas depositam o substrato no jardim e inoculam pedaços de fungo sobre ele. A análise dos

resultados revela que existem dois padrões comportamentais distintos, o primeiro é apresentado pelas espécies basais (*Myrmicocrypta* sp, *A. pilosum* e *M. parallelus*), caracterizado pela ausência ou pela baixa frequência dos comportamentos relativos ao tratamento químico, o segundo padrão é apresentado pelas espécies derivadas (*Trachymyrmex* sp. Nov., *T. fuscus* e *A. disciger*) e é caracterizado por uma intensa fragmentação do substrato e deposição de líquido fecal. Isso sugere que a evolução do processo de preparação do substrato é marcada por um aumento progressivo da importância dos comportamentos que envolvem o tratamento químico, levando a uma adaptação morfológica e fisiológica do fungo e das formigas possibilitando uma maior decomposição inicial do substrato antes de sua incorporação e possibilitando às formigas derivadas utilizarem material vegetal fresco como substrato.

Introdução

A novidade evolutiva apresentada pelas formigas da tribo Attini é a sua capacidade de cultivar um fungo basidiomiceto, principalmente da família Agaricaceae, que serve de alimento para as suas colônias. O surgimento desta relação, a aproximadamente 50 milhões de anos, possibilitou a elas mudarem o seu estilo de vida, de predadoras /coletoras a “agricultoras”, capazes de cultivar o seu próprio alimento (Hölldobler ; Wilson, 1990; Mueller; Currie; Schultz; Adams ; Malloch, 2001).

A simbiose com o fungo levou estas formigas a uma posição de destaque no ambiente onde ocorrem, exclusivamente no continente americano, a condição mais extrema é apresentada pelas formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, que são os principais herbívoros e importantes pragas agrícolas das Américas (Hölldobler et al., 1990; Della Lucia ; Moreira, 1993; Mueller; Gerardo; Aanem; Six ; Schultz, 2005).

A principal característica biológica que diferencia as formigas cultivadoras de fungo das outras é a sua capacidade de coletar diversos materiais e prepará-los dentro do ninho para que eles possam ser utilizados como substrato para o crescimento do fungo. Para isso elas desenvolveram um conjunto de comportamentos conhecido como preparação do substrato (Hölldobler et al., 1990; Mueller et al., 2001; Mueller et al., 2005).

O processo de preparação do substrato, realizado pelas operárias, tem como principal função a decomposição inicial do material, trazido pelas forrageiras, antes que ele entre em contato com o fungo simbionte (Quinlan ; Cherrett, 1977; Andrade et al., 2002).

A maior parte do conhecimento científico existente sobre este processo se refere às espécies de formigas cortadeiras. As operárias dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* lambem os fragmentos vegetais, para remover impurezas e a camada de cera epicuticular que protege as folhas, depois recortam estes fragmentos em pedaços menores, de aproximadamente 1 mm, e os tratam com um líquido fecal, que é composto por uma série de enzimas digestivas capazes de decompor os polissacarídeos das folhas. Depois disso, elas maceram os fragmentos e os incorporam ao jardim de fungo (Quinlan et al., 1977; Wilson, 1980; Mueller et al., 2001; Andrade et al., 2002).

O desenvolvimento do processo de preparação do material vegetal, apresentado pelas formigas cortadeiras, determinou o surgimento de um complexo sistema de divisão de trabalho. Cada tarefa é executada por operárias de tamanhos diferentes, de modo que existe um intenso polimorfismo, além disso, dentro de cada casta física as funções são divididas de acordo com a idade de modo que se estima que seis castas operárias participem da preparação do substrato em espécies de formigas cortadeiras (Wilson, 1980; Hart; Anderson ; Hatnieks, 2002).

Além desta intensa divisão de trabalho em castas há também uma intensa partição de tarefas, ou seja, as tarefas são realizadas em seqüência por operárias diferentes de modo que o material vegetal é passado de uma operária para outra até ser incorporado. Desta forma o processo de preparação do substrato em formigas cortadeiras pode ser comparado a uma linha de produção, onde cada operária é responsável por uma parte do processo (Wilson, 1980; Hölldobler et al., 1990; Hart et al., 2002).

A tribo Attini é composta por aproximadamente 230 espécies sendo que a grande maioria não utiliza material vegetal fresco como substrato, e sim principalmente material vegetal em decomposição, flores, frutos e sementes, podendo também utilizar em menor intensidade fezes e carcaças de insetos (Kusnezov, 1963; Hölldobler et al., 1990; Leal ; Oliveira, 2000; Mueller et al., 2001).

Os estudos mais recentes a respeito da filogenia da tribo Attini consideram que as formigas cortadeiras são as mais derivadas deste grupo, desta forma as suas características

biológicas representam um padrão derivado. Sabe-se que, de uma maneira geral, as espécies basais preparam o substrato de modo muito semelhante ao das cortadeiras, porém de uma forma mais simples. Acredita-se que o desenvolvimento do hábito de cultivar fungo com material vegetal fresco tenha sido a mais importante inovação evolutiva do grupo (Kusnezov, 1963; Mayhe-Nunes, 1995; Schultz ; Meier, 1995; Wetterer; Schultz ; Meier, 1998; Mangone ; Currie, 2007).

Esta inovação fez com que as formigas da tribo Attini passassem de espécies de hábito críptico, com ninhos pequenos e operárias monomórficas para espécies com ninhos imensos, operárias altamente polimórficas e com comportamento dominante (Brandão ; Mayhe-Nunes, 2007; Mangone et al., 2007). Certamente uma das razões desta transição foi o desenvolvimento do processo de preparação do substrato, devido à importância de se entender este processo evolutivo o objetivo deste trabalho foi descrever e quantificar os comportamentos de preparação do substrato para o cultivo do fungo simbiote, pelas operárias de algumas espécies da tribo Attini, a fim de estabelecer uma base de comparação com as formigas cortadeiras.

Material e Métodos

5.1 Colônias utilizadas

Ninhos de *Apterostigma pilosum.*, *Myrmicocrypta* sp., *Mycetarotes parallelus*, *Trachymyrmex fuscus* e *Trachymyrmex* sp. nov., localizados nos arredores do Centro de Estudos de Insetos Sociais, UNESP Rio Claro SP (22° 23' 44,30"S, 47° 32' 27,73"W) e de *Acromyrmex disciger*, localizado em área urbana do município de Ubatuba SP (23° 27' 24,61"S, 45° 04' 14,13"W), foram escavados e o jardim de fungo, a cria, a rainha e operárias foram coletados.

As colônias foram mantidas inicialmente em ninhos de laboratório compostos por potes de plástico com gesso no fundo para que pudessem limpar o jardim de fungo e se recuperar da coleta. Depois, foram transferidas para um ninho confeccionado em gesso, com algumas câmaras e saída para forrageamento, coberto por uma placa de vidro para facilitar a visualização de seu interior (Figura 2.1).

Durante as observações comportamentais, que duraram 40 horas para cada espécie, os formigueiros de *Myrmicocrypta* sp., *Apterostigma pilosum* e *Mycetarotes parallelus* foram tratados com sementes de gramíneas, os de *Trachymyrmex fuscus* e *Trachymyrmex* sp. nov. foram tratados com flores secas de diversas plantas ornamentais e os de *Acromyrmex disciger* com folhas frescas de acalifa (*Acalypha wilkesiana*) e flores e folhas de rosa (*Rosa* sp.).



Figura 2.1: Colônia de *Mycetarotes parallelus* utilizada no trabalho

5.2 Observações e quantificações dos comportamentos

As observações foram realizadas com o auxílio de um sistema de supervisão de formigueiro (SSF). Este consiste de um conjunto de micro-câmeras de vídeo e fontes de luz, conectadas a um micro-computador, um monitor de TV e um gravador de vídeo cassete (Figura 2.2). O objetivo deste sistema é a automatização do registro das atividades internas do formigueiro.

Os comportamentos de preparação do substrato foram acompanhados desde a sua entrada na câmara de fungo até a incorporação ao jardim de fungo. Depois de registrados em fitas VHS, os comportamentos foram analisados em televisor, para a sua caracterização e quantificação.



Figura 2.2: Sistema montado para observação de uma colônia de *Trachymyrmex fuscus*

A quantificação foi realizada registrando o número de vezes que cada comportamento foi observado para diferentes espécies e castas de operária e determinando a frequência relativa de cada comportamento dividindo o número total de vezes que cada comportamento foi observado pelo número total de atos comportamentais observados para cada espécie.

Como *Acromyrmex disciger* é uma formiga polimórfica as suas operárias foram divididas visualmente em quatro castas de acordo com o tamanho das operárias e as frequências dos comportamentos foram determinados para cada casta separadamente e no total. As castas foram denominadas de 1 a 4 em ordem crescente de tamanho. A frequência de cada comportamento para cada casta foi determinado dividindo o número de vezes que cada comportamento foi observado, pelo número total de atos comportamentais da espécie, de modo que é possível determinar a participação das castas no processo.

Análise estatística

Foi realizada análise de componentes principais das frequências dos comportamentos observadas para cada espécie através do programa BioEstat 4.0, esta análise foi realizada

com o objetivo de comparar os repertórios comportamentais e determinar os padrões existentes em cada espécie.

Como *Acromyrmex disciger* é uma espécie polimórfica, diferentemente das outras cinco espécies estudadas, os repertórios comportamentais de cada casta foram analisados separadamente para determinar a influência do polimorfismo no funcionamento do processo de preparação do substrato.

Resultados

Foram realizadas 240 horas de observação nas quais foram descritos sete comportamentos e registrados 7237 atos comportamentais. A descrição dos comportamentos observados está resumida na tabela 2.1. Os comportamentos apresentados nesta tabela ocorrem nesta mesma ordem ao longo do processo de preparação do substrato, sendo que os comportamentos de depositar líquido fecal, prensar e recortar o substrato são repetidos nesta ordem pelas operárias nos fragmentos de substrato resultantes desta atividade.

Em *Myrmicocrypta* sp. o comportamento mais freqüente foi o de lambar, com 0,280 seguido pelo comportamento de segurar com 0,261. O comportamento menos freqüente foi o de depositar o substrato no jardim de fungo com 0,091, nesta espécie não foram observados os comportamentos de depositar líquido fecal, prensar e recortar o substrato (Tabela 2.2).

Em *Apterostigma pilosum* o comportamento mais freqüente foi o de lambar com 0,271, seguido por inocular o fungo sobre o substrato com 0,267. O comportamento menos freqüente foi o de depositar o substrato no jardim de fungo com 0,098, nesta espécie também os comportamentos de depositar líquido fecal, prensar e recortar o substrato não foram observados (Tabela 2.2).

Em *Mycetarotes parallelus* o comportamento mais freqüente foi o de lambar com 0,432, seguido por inocular o fungo com 0,249. O comportamento menos freqüente foi o de depositar líquido fecal com 0,010, nesta espécie os comportamentos de prensar e recortar não foram observados. (Tabela 2.2).

Em *Trachymyrmex fuscus* o comportamento mais freqüente foi o de lamber com 0,532, seguido por prensar com 0,210. Os comportamentos menos freqüentes foram os de depositar o substrato no jardim de fungo e inocular o fungo ambos com 0,034. Em *Trachymyrmex* sp. Nov. o comportamento mais freqüente foi o de lamber com 0,522, seguido por prensar com 0,223. O comportamento menos freqüente foi o de depositar o substrato no jardim de fungo com 0,038 (Tabela 2.2).

No geral para *Acromyrmex disciger* o comportamento mais freqüente foi o de lamber com 0,455 seguido por prensar com 0,222. O comportamento menos freqüente foi o de segurar o substrato com 0,033 seguido por inocular o fungo com 0,034. Considerando as castas separadamente a casta 1, operárias mínimas, teve como comportamento mais freqüente o de depositar o substrato no jardim de fungo com 0,014 e o menos freqüente foi o de lamber com 0,003 do total de atos comportamentais da espécie, os comportamentos de segurar, depositar líquido fecal prensar e recortar não foram observados para esta casta (Tabela 2.2).

Para a casta 2, operárias médias/pequenas, o comportamento de lamber foi o mais freqüente com 0,174, seguido por prensar e recortar com respectivamente 0,049 e 0,045. O comportamento menos freqüente foi o de segurar o substrato com 0,010, seguido por inocular o fungo com 0,014. Para a casta 3, operárias médias/grandes, o comportamento mais freqüente foi o de lamber com 0,269 seguido por prensar e recortar respectivamente com 0,172 e 0,105. O comportamento menos freqüente foi o de inocular o fungo com 0,002, seguido por depositar o substrato no jardim de fungo com 0,004 (Tabela 2.2).

Finalmente, para a casta 4, operárias máximas, o comportamento mais freqüente foi o de lamber com 0,009 e os menos freqüentes foram os de segurar e prensar, ambos com 0,001, os comportamentos de depositar líquido fecal, depositar o substrato no jardim de fungo e inocular o fungo não foram observados para esta casta (Tabela 2.2).

A casta 3 foi a que mais realizou os comportamentos de preparação do substrato com 2247 atos comportamentais registrados, a casta 4 foi a que menos participou desta tarefa com apenas 59 atos comportamentais registrados (tabela 2.2).

De uma maneira geral, foi observado que há forte cooperação entre as operárias durante o processamento do substrato em *A. disciger*, mas esta cooperação só está presente no início do processo nas espécies de *Trachymyrmex* e não existe nas outras três espécies

estudadas sendo realizado de forma solitária pelas operárias, o que explicaria o pequeno número de atos comportamentais observados nestas espécies quando comparadas às outras (Tabela 2.2).

A análise de componentes principais revela que a variação observada entre os repertórios comportamentais pode ser explicada por dois componentes que juntos correspondem a 91% da mesma. O primeiro componente principal é determinado pelos comportamentos de depositar líquido fecal, prensar o substrato, recortar o substrato, segurar, depositar o substrato no jardim e inocular o fungo, este componente está associado positivamente com os três primeiros comportamentos e negativamente com os outros três. O segundo componente é fortemente determinado pelo comportamento de lambar o substrato, sendo associado positivamente a ele (Tabela 2.3).

A representação gráfica dos valores dos dois componentes principais para cada repertório comportamental (Figura 2.3) resultou no agrupamento dos mesmos em três grupos: o primeiro é formado pelos repertórios de *Myrmicocrypta* sp., *Apterostigma pilosum* e *Mycetarotes parallelus*, e está associado negativamente ao primeiro componente e positivamente ao segundo, ou seja, seu funcionamento é fortemente influenciado pelas frequências dos comportamentos de segurar, lambar, depositar o substrato no jardim e inocular o fungo; o segundo grupo é formado pelos repertórios de *Trachymyrmex fuscus*, *Trachymyrmex* sp. Nov. e da casta 3 de *Acromyrmex disciger*, está associado positivamente aos dois componentes, ou seja, é fortemente influenciado pelas frequências dos comportamentos de lambar, depositar líquido fecal, prensar o substrato e recortar o substrato; o terceiro grupo é formado pelos repertórios das castas 1, e 4 de *A. disciger* que parecem não participar eficientemente do processo de preparação. A casta 2 de *A. disciger* parece ser intermediária entre o segundo e o terceiro grupo.

Tabela 2.1: Descrição resumida dos comportamentos observados durante a preparação do substrato para o cultivo do fungo simbiote nas espécies estudadas.

Comportamentos	Descrição
Segurar o substrato	Uma ou mais operárias seguram o substrato sobre o jardim de fungo com suas mandíbulas.
Lamber o substrato	Várias operárias lambem os fragmentos com suas glossas.
Depositar líquido fecal	A operária curva o gáster por baixo do corpo e elimina uma pequena gota de líquido fecal de cor marrom claro.
Prensar o substrato	A operária prensa, com suas mandíbulas, todo o substrato até que ele fique com uma coloração escura.
Recortar o substrato	Uma ou mais operárias cortam o substrato com suas mandíbulas.
Fixar o substrato no jardim de fungo	A operária deposita o substrato no jardim de fungo e o pressiona com suas pernas anteriores até que fique aderido ao jardim.
Inocular o fungo simbiote	A operária coleta, com suas mandíbulas, um tufo de hifas do fungo simbiote, as deposita sobre o substrato e pressiona com suas pernas anteriores.

Tabela 2.2: Frequência relativa dos comportamentos de preparação do substrato para o cultivo do fungo simbiote para as espécies estudadas. N – número total de atos comportamentais observados para cada espécie; *Acromyrmex disciger* 1 a 4 – castas físicas determinadas visualmente para esta espécie.

	<i>Myrmicocrypta</i> sp. (N = 440)	<i>Apterosigma</i> <i>pilosum</i> . (N = 506)	<i>Mycetarotes</i> <i>parallelus</i> (N = 1180)	<i>Trachymyrmex</i> <i>fuscus</i> (N = 912)	<i>Trachymyrmex</i> sp. nov. (N = 515)	<i>Acromyrmex</i> <i>disciger</i> 1 (N = 110)	<i>A. disciger</i> 2 (N = 1268)	<i>A. disciger</i> 3 (N = 2247)	<i>A. disciger</i> 4 (N = 59)	<i>A. disciger</i> Total (N = 3684)
Segurar	0,261	0,182	0,092	0,033	0,048	0,000	0,010	0,022	0,001	0,033
Lamber	0,280	0,271	0,432	0,532	0,522	0,003	0,174	0,269	0,009	0,455
Depositar líquido fecal	0,000	0,000	0,010	0,048	0,058	0,000	0,045	0,036	0,000	0,081
Prensar	0,000	0,000	0,000	0,210	0,223	0,000	0,049	0,172	0,001	0,222
Recortar	0,000	0,000	0,000	0,073	0,066	0,000	0,029	0,105	0,003	0,137
Depositar no jardim de fungo	0,091	0,098	0,125	0,034	0,038	0,014	0,020	0,004	0,000	0,038
Inocular fungo	0,186	0,267	0,249	0,034	0,049	0,013	0,017	0,002	0,000	0,034

Tabela 2.3: Valores dos dois componentes principais para cada comportamento. Os valores entre parênteses representam a porcentagem de participação de cada componente principal na variação total entre as espécies.

Comportamentos	CP1 (57,89%)	CP2 (33,80%)
Segurar	-0,38	-0,30
Lamber	0,04	0,64
Depositar líquido fecal	0,41	0,30
Prensar	0,41	0,34
Recortar	0,42	0,25
Depositar no jardim de fungo	-0,40	0,37
Inocular fungo	-0,42	0,31

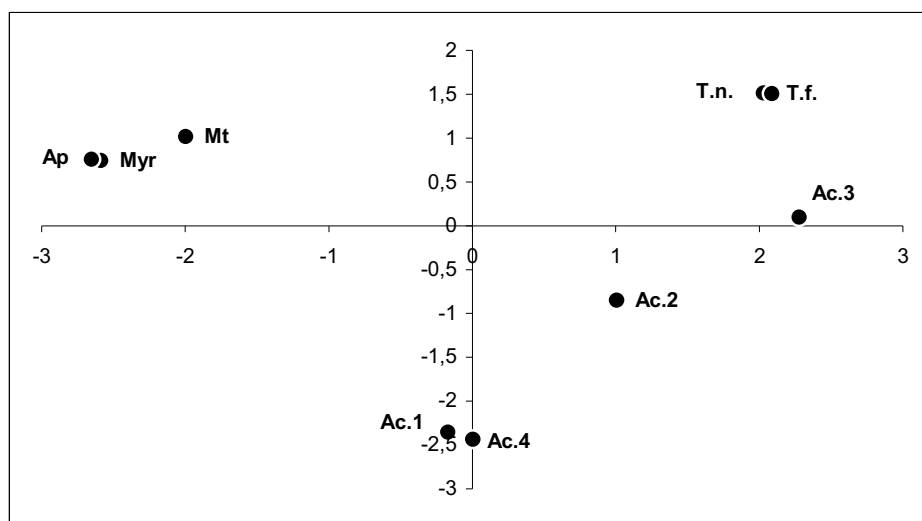


Figura 2.3: Representação gráfica dos valores de cada repertório comportamental para os dois primeiros componentes principais. Ap. p. – *Apterostigma pilosum*; Myr – *Myrmicocrypta* sp.; Mt. p. – *Mycetarotes parallelus*; Tr. f. – *Trachymyrmex fuscus*; Tr. n. – *Trachymyrmex* sp. Nov.; Ac. d. 1-4 – castas físicas de *Acromyrmex disciger*.

Discussão

O processo de preparação do substrato pode ser dividido em três etapas, determinadas da mesma forma que em *Atta laevigata* e *A. bisphaerica* por Diniz (2003), cada etapa é composta por comportamentos diferentes que são realizados em seqüência pelas operárias.

A primeira etapa é a de tratamento físico, nela as operárias realizam os comportamentos de lambar e segurar o substrato. Neste trabalho foi observado que os comportamentos desta fase são em geral os mais freqüentes, esta observação é semelhante ao que está descrito na literatura para espécies de formigas cortadeiras e também para espécies de *Trachymyrmex*, *Cyphomyrmex* e *Myrmicocrypta* (Quinlan et al., 1977; Beshers ; Traniello, 1996; Murakami ; Higashi, 1997; Andrade et al., 2002; Mangone et al., 2007).

A etapa de tratamento físico é realizada no momento em que o substrato entra no ninho, desta forma, a grande freqüência destes comportamentos revela que a sua principal função é remover as impurezas presentes no substrato, evitando que o jardim de fungo seja contaminado. Nesta fase as operárias de formigas cortadeiras removem a camada de cera epicuticular presente nos fragmentos de folha, que tem a capacidade de impedir o crescimento do fungo simbiote. Considerando as espécies estudadas neste trabalho é mais provável que a função de remover a cera epicuticular esteja presente apenas em *Acromyrmex disciger* (Quinlan et al., 1977; Andrade et al., 2002; Mangone et al., 2007).

A segunda etapa é a de tratamento químico, nela as operárias depositam o líquido fecal, prensam e recortam o substrato. Esta seqüência de comportamentos é repetida pelas operárias nos fragmentos resultantes, de modo que no final desta etapa o substrato inicial é reduzido a um grande número de fragmentos pequenos.

As freqüências destes comportamentos variaram entre as espécies estudadas, *Myrmicocrypta* sp. e *Apterostigma pilosum* não os apresentaram, enquanto que *Mycetarotes parallelus* apresentou apenas o comportamento de depositar o líquido fecal. Esta observação é diferente do que está descrito na literatura para *Myrmicocrypta ednaella* e *Cyphomyrmex* spp. que realizam estes comportamentos em grandes freqüências (Murakami et al., 1997).

Em *Trachymyrmex fuscus* e *Trachymyrmex* sp. Nov. os comportamentos desta etapa foram mais freqüentes sendo que prensar foi o mais freqüente dos três. Esta observação é semelhante ao que foi descrito para *T. septentrionalis* na literatura. De uma maneira geral, *Acromyrmex disciger* foi semelhante a estas duas espécies, porém, se considerarmos as suas castas físicas separadamente, as castas 2 e 3 (médias) foram as que mais participaram da preparação do substrato, enquanto que as castas 1 e 4 participaram pouco, isto está de acordo com o que está descrito na literatura para formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (Wilson, 1980; Beshers et al., 1996; Andrade et al., 2002; Camargo; Forti; Lopes; Andrade ; Ottati, 2007).

É bastante conhecido que o líquido fecal é composto por uma série de enzimas, principalmente pectinases, xilanases, amilases e proteases. Estas enzimas têm diversas origens, sendo que algumas são provenientes do fungo simbiote e atravessam o trato digestório das formigas sem sofrer a digestão. Alguns autores acreditam que durante o tratamento químico as operárias maceram o substrato depositando as enzimas produzidas pelo fungo simbiote e fragmentando o mesmo através dos comportamentos de prensar e recortar realizando a sua decomposição inicial e facilitando o desenvolvimento do fungo simbiote (Martin; Boyd; Gieselmann ; Silver, 1975; Erthal jr; Silva ; Samuels, 2004; Ronhede; Boomsma ; Rosendhal, 2004; Silva, 2004).

Este sistema de interação bioquímica foi considerado durante muito tempo como a base para a simbiose entre estes dois organismos, porém, o fato dos comportamentos do tratamento químico não terem sido observados em *A. pilosum* e *Myrmicocrypta* sp. e apenas o comportamento de depositar líquido fecal ter sido observado em *M. parallelus*, demonstra que a importância deste sistema bioquímico para a simbiose não se aplica a todas as espécies do grupo, podendo estar completamente ausente em algumas (Martin et al., 1975; Mueller, 2002).

A última etapa é a de incorporação, nela são realizados os comportamentos de depositar o substrato no jardim de fungo e inocular o fungo simbiote. Estes comportamentos são muito semelhantes entre todas as espécies e também com o que está descrito em geral na literatura. Esta etapa é a única que teve maior participação da casta 1 em *A. disciger* demonstrando a especialização desta casta a estes comportamentos (Beshers et al., 1996; Murakami et al., 1997; Andrade et al., 2002; Mangone et al., 2007)

Alem das etapas do processo de preparação, as espécies se diferenciaram na forma como as operárias se organizaram para realizar estas etapas. *Myrmicocrypta* sp., *Ap. pilosum* e *M. parallelus* realizaram todo o processo de forma solitária, ou seja, a mesma operária realiza todos os comportamentos desde a entrada do substrato no ninho até a sua incorporação ao jardim de fungo. *T. fuscus* e *Trachymyrmex* sp. Nov. realizaram o tratamento físico em grupos de operárias e a partir do tratamento químico o processo passa a ser solitário. Em *Ac. disciger* todas as etapas foram realizadas com a cooperação de várias operárias. Desta forma, as três primeiras espécies não possuem partição de tarefas, como descrito na literatura, e esta partição é maior nas cortadeiras, fazendo com que o processo se torne uma linha de produção, com operárias diferentes responsáveis por diferentes funções (Anderson; Franks ; McShea, 2001; Hart et al., 2002; Burd ; Howard, 2005).

A filogenia mais aceita da tribo Attini a divide em duas linhagens: Paleoattini e Neoattini. A primeira é formada pelos gêneros *Myrmicocrypta*, *Apterostigma* e *Mycocepurus* e é considerado como mais basal. A segunda é formada por todos os outros gêneros sendo as formigas cortadeiras e os gêneros *Trachymyrmex* e *Sericomyrmex* considerados os mais derivados deste grupo e o gênero *Mycetarotes* o mais basal. Desta forma, foram estudadas neste trabalho duas espécies representantes das Paleoattini e quatro das Neoattini sendo que uma está entre as mais basais e as outras entre as mais derivadas (Kusnezov, 1963; Schultz et al., 1995; Wetterer et al., 1998).

A análise de componentes principais dividiu os repertórios comportamentais em três grupos que ajudam a entender como o processo de preparação do substrato evoluiu ao longo da filogenia da tribo Attini, aparentemente no início da evolução do grupo, quando estas formigas começaram a cultivar fungo, elas realizavam um processo de preparação do substrato bastante simples com a ausência total ou parcial dos comportamentos de tratamento químico, este estado inicial é demonstrado pelos repertórios de *Myrmicocrypta* sp., *Ap. pilosum* e *M. parallelus*.

Ao longo da história evolutiva da tribo Attini estes comportamentos foram sendo desenvolvidos, primeiro o comportamento de depositar líquido fecal, que envolveu o desenvolvimento da capacidade de armazenar as enzimas fúngicas no trato digestório, e depois os comportamentos de prensar e recortar o substrato, que envolvem a capacidade de fragmentar o substrato. O processo de desenvolvimento do tratamento químico parece ter

sido lento durante a evolução da tribo pois espécies de gêneros considerados derivados, como *Cyphomyrmex*, possuem um padrão semelhante ao das espécies basais (Murakami et al., 1997; Mangone et al., 2007).

O gênero *Trachymyrmex* é considerado como o mais próximo das formigas cortadeiras na filogenia. Do ponto de vista da evolução da preparação do substrato, pode-se afirmar que o padrão comportamental das espécies deste gênero representa o limite de adaptação de uma formiga monomórfica ao tratamento químico. O processo de preparação do substrato nas duas espécies estudadas mostra uma grande participação destes comportamentos, de forma semelhante ao que foi descrito para *T. septentrionalis*, adaptando elas a utilizarem materiais mais complexos e mais resistentes para o cultivo do fungo simbiote do que o utilizado pelas espécies basais (Beshers et al., 1996; Hölldobler et al., 1990).

Elas possuem grande capacidade de utilizar as enzimas fúngicas e de fragmentar o substrato, ou seja, apresentam grande desenvolvimento do tratamento químico de forma muito semelhante às formigas cortadeiras, porém, como se sabe, estas formigas não cortam folhas de plantas, tornando claro que este padrão não é suficiente para a preparação de material vegetal fresco. É muito provável que isso ocorra por que estas formigas estão no limite máximo de especialização nestes comportamentos que uma formiga monomórfica pode apresentar.

Assim como em um grande número de outras espécies, as operárias monomórficas de *Trachymyrmex* devem realizar, ao longo de suas vidas, todas as tarefas de manutenção da colônia, desta forma, o nível de complexidade do processo de preparação do substrato é limitado, pois se elas ficarem muito especializadas nestes comportamentos não vão ser capazes de realizar as várias tarefas da colônia (Hölldobler et al., 1990).

O desenvolvimento do intenso polimorfismo presente nas formigas cortadeiras permitiu o surgimento de operárias grandes, como a casta 4 de *A. disciger*, especializadas no corte de folhas fora do ninho, também de operárias médias que se especializaram nas etapas de tratamento físico e químico, e operárias pequenas que realizam a etapa de incorporação. Desta forma, elas podem utilizar o substrato mais complexo e resistente pois possuem castas especializadas na sua preparação e castas menos especializada que podem realizar as outras tarefas da colônia, realizadas pelas outras castas, menos especializadas. A

observação deste padrão em *A. disciger* é muito semelhante ao que foi descrito para outras espécies de *Acromyrmex* e *Atta* demonstrando que de fato este parece ter sido o padrão evolutivo da tribo.

LITERATURA CITADA

1. ANDERSON, C.; FRANKS, N. R.; MCSHEA, D. W. The complexity and hierarchical structure of tasks in insect societies. **Animal Behaviour**, v. 62, n. 4, p. 643-651, 2001.
2. ANDRADE, A. P. P.; FORTI, L. C.; MOREIRA, A. A.; BOARETTO, M. A. C.; RAMOS, V. M.; DE MATOS, C. A. O. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera : Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. **Sociobiology**, v. 40, n. 2, p. 293-306, 2002.
3. BESHERS, S. N. ; TRANIELLO, J. F. A. Polyethism and the adaptiveness of worker size variation in the attine ant *Trachymyrmex septentrionalis*. **Journal of Insect Behavior**, v. 9, n. 1, p. 61-83, 1996.
4. BRANDÃO, C. R. F. ; MAYHE-NUNES, A. J. A phylogenetic hypothesis for the *Trachymyrmex* species groups, and the transition from fungus-growing to leaf-cutting in the Attini. In: R.R.SNELLING; B. L. FISHER; P. S. WARD (Eds.). **Advances in ant systematics (Hymenoptera: Formicidae): homage to E. O. Wilson - 50 years of contributions**. Gainesville, FL: American Entomological Institute, 2007. Cap. 6 , p. 72-88.
5. BURD, M. ; HOWARD, J. J. Central-place toraging continues beyond the nest entrance: the underground performance of leaf-cutting ants. **Animal Behaviour**, v. 70, p. 737-744, 2005.
6. CAMARGO, R. S.; FORTI, L. C.; LOPES, J. F. S.; ANDRADE, A. P. P.; OTTATI, A. L. T. 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, 2007.

7. DELLA LUCIA, T. M. C.; MOREIRA, D. D. O. **As formigas cortadeiras**. T. M. C. Della Lucia, D. D. O. Moreira. 1. Viçosa, MG: Editora Folha de Viçosa, 1993. 262 p.
8. ERTHAL JR, M.; SILVA, C. P.;SAMUELS, R. I. Digestiv enzymes of leaf-cutting ants, *Acromyrmex subterraneus* (Hymenoptera: Formicidae: Attini): distribution in the adult gut and parcial characterization. **Journal of Insect Physiology**, v. 50, p. 881-891, 2004.
9. HART, A. G.; ANDERSON, C.;HATNIEKS, F. L. W. Task partitioning in leaf-cutting ants. **Acta Ethologica**, v. 5, p. 1-11, 2002.
10. HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The ants**. 1. Cambridge, Mass.: Harvard University Press, 1990. 732 p.
11. KUSNEZOV, N. Zoogeografia de las hormigas en sudAmerica. **Acta Zoologica Lilloana**, v. 19, p. 25-186, 1963.
12. LEAL, I. R. ; OLIVEIRA, P. S. Foraging ecology of attine ants in a neotropical savanna: seasonal use of fungal substrate in the Cerrado vegetation of Brazil. **Insectes Sociaux**, v. 47, p. 376-382, 2000.
13. MANGONE, D. M. ; CURRIE, C. R. Garden substrate preparation behaviours in fungus-growing ants. **Canadian Entomologist**, v. 139, n. 6, p. 841-849, 2007.
14. MARTIN, M. M.; BOYD, N. D.; GIESELMANN, M. J.;SILVER, R. G. Activity of Fecal Fluid of A Leaf-Cutting Ant Toward Plant-Cell Wall Polysaccharides. **Journal of Insect Physiology**, v. 21, n. 12, p. 1887-1892, 1975.
15. MAYHE-NUNES, A. J. **Filogenia de los Attini (Hymen., Formicidae): un aporte al conocimiento de las hormigas fungívoras**. 1995. Tese (Doutorado) - Universidad Simón Bolívar, 1995.
16. MUELLER, U. G. Ants versus fungus versus mutualism: ant-cultivar conflic and the deconstruction of the attine ant-fungus symbiosis. **The American Naturalist**, v. 160, p. 67-98, 2002.
17. MUELLER, U. G.; CURRIE, C. R.; SCHULTZ, T. R.; ADAMS, R. M. M.;MALLOCH, D. The origin of the attine ant-fungus mutualism. **The Quarterly Review of Biology**, v. 76, n. 2, p. 169-197, 2001.

18. MUELLER, U. G.; GERARDO, N. M.; AANEM, D. K.; SIX, D. L.;SCHULTZ, T. R. The evolution of agriculture in insects. **Annual Reviews in Ecology, Evolution and Systematics**, v. 36, p. 563-595, 2005.

19. MURAKAMI, T. ; HIGASHI, S. Social organization in two primitive attine ants, *Cyphomyrmex rimosus* and *Myrmicocrypta ednaella*, with reference to their fungus substrates and food sources. **Journal of Ethology**, v. 15, n. 1, p. 17-25, 1997.

20. QUINLAN, R. J. ; CHERRETT, J. M. Role of Substrate Preparation in Symbiosis Between Leaf-Cutting Ant *Acromyrmex-Octospinosus*(Reich)and Its Food Fungus. **Ecological Entomology**, v. 2, n. 2, p. 161-170, 1977.

21. RONHEDE, S.; BOOMSMA, J. J.;ROSENDHAL, S. Fungal enzymes transferred by leaf-cutting ants in their fungus gardens. **Mycological Research**, v. 108, n. 1, p. 101-106, 2004.

22. SCHULTZ, T. R. ; MEIER, R. A phylogenetic analysis of the fungus-growing ants (Hymenoptera: Formicidae: Attini) based on morphological characters of the larvae. **Systematic Entomology**, v. 20, n. 4, p. 337-370, 1995.

23. SILVA, A. Alfa-amilase e maltase nos simbiontes *Leucoagaricus gongylophorus* Singer (Moller) (Leucocoprinae: Agaricaceae) e *Atta sexdens* Linnaeus (Attini: Formicidae). 2004. (Doutorado) - UNESP Rio Claro SP, 2004.

24. WETTERER, J. K.; SCHULTZ, T. R.;MEIER, R. Phylogeny of fungus-growing ants (tribe Attini) based on mtDNA sequence and morphology. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 9, n. 1, p. 42-47, 1998.

25. WILSON, E. O. Caste and Division of Labor in Leaf-Cutter Ants (Hymenoptera, Formicidae, Atta) .1. the Overall Pattern in *Atta-Sexdens*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 7, n. 2, p. 143-156, 1980.

CAPITULO 2 – EVOLUÇÃO DOS COMPORTAMENTOS DE CUIDADO COM A CRIA EM FORMIGAS DA TRIBO ATTINI (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)

Resumo

O sucesso ecológico das formigas se deve em grande parte aos cuidados que as operárias destinam na manutenção da cria, apesar das variações que ocorrem nas diferentes subfamílias. Essa característica dos insetos eussociais é particularmente distinta entre as Attini, pelo fato das larvas apresentarem um padrão alimentar ímpar entre as formigas. Por sua vez, os vários gêneros da tribo apresentam particularidades na manutenção da cria pouco estudados. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi analisar, comparativamente, os comportamentos de cuidado com a cria em espécies de 6 gêneros: *Acromyrmex disciger*, *Apterostigma pilosum*, *Mycetarotes parallelus*, *Myrmicocrypta* sp., *Trachymyrmex fuscus* e *Trachymyrmex* sp. Nov. Os comportamentos de cuidado com larvas e pupas em diferentes fases de desenvolvimento foram observados e quantificados com o auxílio de um sistema desenvolvido para a supervisão dos formigueiros. As observações permitiram o estabelecimento de quatro categorias comportamentais: cuidados gerais, cultivo de fungo sobre a cria, relações tróficas e transmissão da bactéria simbiote. Nos cuidados gerais foi observado que, originalmente as formigas cultivadoras de fungo alimentam as larvas por

trofalaxia, como observado nos repertórios de *A. pilosum* e *Myrmicocrypta* sp., e nos demais gêneros alimentam com partes do fungo simbiote. Para os comportamentos de cobertura da cria com o fungo simbiote, foi observado que a evolução se deu no sentido de diminuir a importância destes comportamentos, indicando que a sua função inicial era a camuflagem da cria contra predadores e parasitas e que mais tarde as formigas desenvolveram outras formas de se proteger. As relações tróficas indicam que a trofalaxia proctodeal das larvas para as operárias é um fenômeno geral para a tribo Attini e que tem grande importância no fluxo de alimento nas colônias, além disso, também foi observada a trofalaxia proctodeal das pupas de corpo pigmentado para as operárias, indicando que as pupas também desempenham um importante papel na manutenção da colônia. Por último, as espécies dos gêneros *Trachymyrmex* e *Mycetarotes* transmitem a bactéria simbiote, para novas operárias, através de um comportamento especial, não observado para outras espécies, provavelmente isso ocorre por causa do fato de diferentes linhagens de bactéria estarem associadas a diferentes formigas.

Introdução

O comportamento de cuidado com a cria é uma das características que definem a eussocialidade, juntamente com sobreposição de gerações e divisão de trabalho. Entre os himenópteros sociais, as formigas são aqueles que mantêm maior contato com a prole. Abelhas e vespas normalmente constroem ninhos com células individuais para a cria, de modo que as operárias só entram em contato com as peças bucais das larvas no momento da alimentação. As formigas por outro lado não constroem compartimentos específicos para seus imaturos, onde eles ficam em contato constante entre si e com as operárias, levando ao desenvolvimento de comportamentos mais complexos e também a uma maior diversidade de funções da cria na atividade da colônia (Wheeler ; Wheeler, 1976; Petralia ; Vinson, 1979; Hölldobler ; Wilson, 1990).

As milhares de espécies de formiga apresentam diferentes formas de cuidado com a cria, sendo que a maior diversidade está na forma como as larvas são alimentadas. Espécies consideradas basais alimentam as larvas com pedaços inteiros de presas e as elas são capazes de se mover e manipular o alimento. As espécies derivadas apresentam larvas

imóveis e as operárias devem colocar o alimento em contato com suas peças bucais. Neste último tipo as operárias podem alimentar as larvas com material sólido, previamente manipulado, ou líquido, por trofalaxia (Wheeler et al., 1976; Petralia et al., 1979).

As formigas cultivadoras de fungo, subfamília Myrmicinae, tribo Attini, possuem um comportamento de cuidado com a cria bastante especializado. Durante a evolução da simbiose, o fungo desenvolveu características que facilitam a sua utilização como alimento pelas larvas (Weber, 1966; Mohali, 1998; Mueller; Currie; Schultz; Adams ; Malloch, 2001).

As adaptações do fungo simbiote variam de acordo com a posição filogenética da formiga. Deste modo, as espécies derivadas, como as cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, e intermediárias, gêneros *Trachymyrmex* e *Sericomyrmex*, cultivam uma linhagem de fungo, denominada de G1, que desenvolve estruturas especializadas para a alimentação das larvas. São as estáfilas, estruturas espalhadas por todo o jardim de fungo. As estáfilas são compostas por um tipo especial de hifas que possuem uma expansão esférica na sua extremidade denominada de gongilídeo, estruturas ricas em aminoácidos, proteínas e carboidratos e são a única fonte de alimento das larvas (Weber, 1966; Bass ; Cherrett, 1994; Chapela; Rhener; Schultz ; Mueller, 1994; Schultz ; Meier, 1995; Wetterer; Schultz ; Meier, 1998; Mohali, 1998).

Apesar das larvas dessas formigas estarem em contato com o fungo elas não são capazes de se alimentar sozinhas. As operárias jardineiras, menores indivíduos da colônia, são as responsáveis pelo cuidado com a cria, coletam com auxílio de suas mandíbulas as estáfilas e as manipulam até que tomem uma consistência pastosa. Neste momento, elas depositam o alimento nas peças bucais da larva que lentamente o mastiga e depois ingere (Hölldobler et al., 1990; Beshers ; Traniello, 1996; Mueller, 2002; Schneider, 2003).

As espécies consideradas basais da tribo Attini cultivam fungos das linhagens G2, G3 e G4 que não apresentam as especializações estruturais descritas, ou as possui em pequena quantidade. Consta superficialmente na literatura que as larvas destas espécies conseguem se alimentar sozinhas diretamente do fungo. Este fato é bastante discutível, uma vez que alguns autores afirmam que ele é pouco provável, pois as larvas das Attini nunca ficam com as peças bucais em contato com o fungo. Assim, o mais provável é que todas sejam alimentadas da mesma forma das espécies derivadas (Chapela et al., 1994; Hölldobler et al.,

1990; Schultz et al., 1995; Wetterer et al., 1998; Murakami ; Higashi, 1997; Mueller, 2002; Munkacsí et al., 2004).

As estruturas das peças bucais das larvas da tribo Attini revelam uma profunda adaptação à fungivoria. De uma maneira geral elas possuem glossas pequenas e mandíbulas curvadas, sem dentes e cobertas de espículas, o que torna possível a elas mastigar e ingerir as hifas do fungo simbiote. Além disso, elas possuem na região ventral, próximo à boca, um conjunto de pêlos que têm a função de prender o alimento enquanto elas o consomem (Wheeler, 1948; Petralia et al., 1979; Schneider, 2003).

De uma maneira geral para a família Formicidae, e também para a tribo Attini, a maior parte dos comportamentos de cuidado com a cria são direcionados preferencialmente para as larvas, que representam a fase do desenvolvimento em que o indivíduo cresce, necessitando ser alimentado. As pupas e ovos são inertes e não atraem muita atenção das operárias (Hölldobler et al., 1990; Beshers et al., 1996; Murakami et al., 1997; Schneider, 2003).

A cria das formigas não é apenas um consumidor de recursos, sendo que na maioria das espécies ela pode ser considerada uma casta funcional, desempenhando diferentes funções de grande valor para a sobrevivência da colônia. A função básica que as larvas, desempenham é a de transferência de nutrientes e enzimas digestivas para indivíduos adultos. Por causa da incapacidade das formigas adultas ingerirem alimentos sólidos por possuírem um estreitamento na região do pró-ventrículo, os alimentos sólidos são fornecidos às larvas que os consomem e depois fornecem o resultado da sua digestão às operárias (Hölldobler et al., 1990).

A transferência de nutrientes se dá principalmente na forma de trofalaxia, que pode ser oral (estomodeal) ou anal (proctodeal). Entre as formigas da tribo Attini existem registros de trofalaxia proctodeal da larva para as operárias em cinco espécies: *Atta sexdens rubropilosa*, *Trachymyrmex fuscus*, *Acromyrmex rugosus*, *A. balzani* e *A. subterraneus bruneus*. Como todas estas espécies são consideradas derivadas não há informação se este tipo de trofalaxia representa um padrão geral de transferência de nutrientes das larvas para as operárias em toda a tribo Attini (Schultz et al., 1995; Beshers et al., 1996; Schneider, 2003; Lopes; Hughes; Camargo ; Forti, 2005; Camargo; Lopes ; Forti, 2006).

Um comportamento de cuidado com a cria pouco explorado e presente em todos os gêneros de formigas cultivadoras de fungo, exceto nas cortadeiras do gênero *Atta*, é o ato de cobrir a cria com o fungo simbiote. Apesar desse comportamento estar bem relatado, a sua função ainda não está devidamente estabelecida. Alguns autores acreditam que as operárias cobrem a cria com o fungo simbiote com o objetivo de proteção, evitando contaminações e ataques de parasitas e predadores especializados. Outros autores acreditam que a cobertura de fungo está relacionada ao processo de muda (Weber, 1966; Adams; Mueller; Schultz ; Norden, 2000; Mueller et al., 2001; Dijkstra ; Boomsma, 2003).

A hipótese de proteção contra predadores tem algumas evidências concretas. Os ninhos das espécies basais são normalmente atacados por predadores especializados, principalmente formigas do gênero *Megalomyrmex* e vários tipos de formiga de correição. Observações revelam que estes predadores apresentam uma certa repelência à cria coberta por fungo, sugerindo que a cobertura possa ter uma função de camuflagem da cria (Adams et al., 2000; Dijkstra et al., 2003).

Dadas as contradições existentes na literatura sobre o cuidado com a cria em formigas da tribo Attini, e a necessidade de se conhecer melhor a biologia destes insetos, o objetivo deste trabalho foi analisar comparativamente os comportamentos de cuidado com a cria em vários gêneros de formigas cultivadoras de fungo para determinar o padrão básico da tribo e também aspectos evolutivos desses comportamentos.

Material e Métodos

5.1 Colônias utilizadas

Ninhos de *Apterostigma pilosum*., *Myrmicocrypta* sp., *Mycetarotes parallelus*, *Trachymyrmex fuscus* e *Trachymyrmex* sp. Nov., localizados nos arredores do Centro de Estudos de Insetos Sociais da UNESP Rio Claro (22° 23' 44,30"S, 47° 32' 27,73"W) e de *Acromyrmex disciger*, localizado na área urbana do município de Ubatuba SP (23° 27' 24,61"S, 45° 04' 14,13"W), foram escavados e o jardim de fungo, a cria, a rainha e operárias foram coletados.

As colônias foram transferidas inicialmente para ninhos artificiais compostos por potes de plástico com uma camada de gesso no fundo. Depois, as colônias foram transferidas para um ninho confeccionado em gesso, com algumas câmaras e saída para forrageamento, coberto por uma placa de vidro para facilitar a visualização de seu interior (Figura 2.1).

As formigas foram tratadas com farinha de milho em flocos até a recuperação do jardim de fungo. Durante as observações comportamentais, os formigueiros de *Myrmicocrypta* sp., *Apterostigma pilosum* e *Mycetarotes parallelus* foram tratados com sementes de gramíneas, os de *Trachymyrmex fuscus* e *Trachymyrmex* sp. Nov. foram tratados com flores secas de diversas plantas ornamentais e os de *Acromyrmex disciger* com folhas frescas de acalifa (*Acalypha wilkesiana*) e flores e folhas de rosa (*Rosa* sp.).

5.2 Observações e quantificações dos comportamentos

As observações foram realizadas com o auxílio de um sistema de supervisão de formigueiro (SSF) (Figura 2.2). Este consiste de um conjunto de micro-câmeras de vídeo e fontes de luz, conectados a um micro-computador, a um monitor de TV e a um gravador de vídeo cassete.

As observações foram realizadas acompanhando os cuidados das operárias com a cria que se encontrava na superfície do jardim de fungo. Foram observados os comportamentos de cuidado com larvas de todos os tamanhos e de pupas nos diferentes estágios de pigmentação, até a emergência de novas operárias. Depois de registrados em fitas VHS, os comportamentos foram analisados em televisor, para a sua caracterização e quantificação. Foram realizadas 60 horas de observação para cada espécie.

A quantificação das observações foi realizada registrando o número de vezes que cada comportamento foi observado para diferentes castas de operária e determinando a frequência relativa de cada comportamento em relação ao total de atos comportamentais. Como *Acromyrmex disciger* é uma formiga polimórfica as frequências dos comportamentos foram determinados para cada casta separadamente e no conjunto.

Análise estatística

Comparações dos repertórios comportamentais e caracterizações dos padrões existentes foram realizadas pela análise de componentes principais observados para cada espécie através do programa BioEstat 4.0.

Como *Acromyrmex disciger* é uma espécie polimórfica, diferentemente das outras cinco espécies estudadas, os repertórios comportamentais de cada casta do total foram analisados separadamente para determinar a contribuição de cada casta para o cuidado com a cria.

Resultados

Nas 360 horas de observações, 13 comportamentos foram descritos e 12407 atos comportamentais registrados. A descrição dos comportamentos observados está resumida na tabela 3.1.

Em *Myrmicocrypta* sp. o comportamento mais freqüente foi o de antenar a cria com uma freqüência relativa de 0,459 seguido por limpeza e iniciar a cobertura de fungo respectivamente com 0,174 e 0,142. O comportamento menos freqüente foi o de trofalaxia proctodeal com pupas de corpo pigmentado com 0,007 seguido por trofalaxia proctodeal com larvas com 0,028, os comportamentos de transporte, alimentação das larvas com micélio fúngico, remoção do mecônio, manter cobertura de fungo, remover cobertura de fungo e transmitir bactéria simbiote não foram observados para esta espécie (Tabela 3.2).

O comportamento mais freqüente de *Apterostigma pilosum* foi o de antenar a cria com 0,624 seguido por alimentação das larvas por trofalaxia com 0,206. O comportamento menos freqüente foi o de remover a cobertura de fungo com 0,001 seguido por manter a cobertura de fungo com 0,008. Os comportamentos de alimentação das larvas com micélio fúngico, trofalaxia proctodeal com as pupas de corpo pigmentado e transmissão da bactéria simbiote não foram observados para esta espécie (Tabela 3.2).

Em *Mycetarotes parallelus* o comportamento mais freqüente foi o de iniciar a cobertura de fungo com 0,512 seguido por limpeza e alimentação com micélio fúngico respectivamente com 0,124 e 0,104. o comportamento menos freqüente foi o de trofalaxia

proctodeal com as pupas de corpo pigmentado com 0,003 seguido por antenar a cria e remover mecônio, ambos com 0,005, o comportamento de alimentação das larvas por trofalaxia não foi observado para esta espécie (Tabela 3.2).

Em *Trachymyrmex* sp. Nov. o comportamento mais freqüente foi o de antenar a cria com 0,285 seguido por limpeza com 0,278. O comportamento menos freqüente foi o de remoção do mecônio com 0,002 seguido por trofalaxia proctodeal com as pupas de corpo pigmentado com 0,003, o comportamento de alimentação das larvas por trofalaxia não foi observado para esta espécie (Tabela 3.2).

Em *Trachymyrmex fuscus* o comportamento mais freqüente foi o de antenar a cria com 0,485 seguido por transmitir a bactéria simbiote com 0,125. O comportamento menos freqüente foi o de trofalaxia proctodeal com as pupas de corpo pigmentado com 0,003 seguido por remoção do mecônio com 0,005, o comportamento de alimentação das larvas por trofalaxia não foi observado para esta espécie (Tabela 3.2).

No geral para *Acromyrmex disciger* o comportamento mais freqüente foi o de antenar a cria com 0,367 seguido por alimentação com micélio fúngico e transporte, respectivamente com 0,157 e 0,152. O comportamento menos freqüente foi o de remover a cobertura de fungo com 0,001 seguido por remoção do mecônio e trofalaxia proctodeal com as pupas de corpo pigmentado, respectivamente com 0,002 e 0,004, os comportamentos de alimentação das larvas por trofalaxia e transmissão da bactéria simbiote não foram observados nesta espécie (Tabela 3.2).

Quando consideramos as castas físicas de *A. disciger* separadamente, a casta 1, operárias mínimas, teve como comportamento mais freqüente o de antenar a cria com 0,189 seguido por alimentação das larvas com micélio fúngico e limpeza, respectivamente com 0,079 e 0,073. Os comportamentos menos freqüentes foram os de remoção do mecônio e remover a camada de fungo, ambos com 0,001 de todos os atos comportamentais da espécie (Tabela 3.2).

Para a casta 2, operárias médias\pequenas, o comportamento mais freqüente foi o de antenar a cria com 0,096 seguido por alimentação das larvas com o micélio fúngico com 0,058. O comportamento menos freqüente foi o de remoção do mecônio com 0,001, além dos dois comportamentos que não foram observados para a espécie em geral também não

foram observados os comportamentos de trofalaxia com as pupas de corpo pigmentado, manter a cobertura de fungo e remover a cobertura de fungo (Tabela 3.2).

Para a casta 3 o comportamento mais freqüente foi o de transporte com 0,063 seguido por antenar com 0,053. O comportamento menos freqüente foi o de limpeza com 0,001 seguido por trofalaxia proctodeal com as pupas de corpo pigmentado e manter a cobertura de fungo, respectivamente com 0,002 e 0,003, os comportamentos de remoção do mecônio e remover a cobertura de fungo não foram observados para esta casta (Tabela 3.2).

Para a casta 4 o comportamento mais freqüente foi o de antenar a cria com 0,029. O comportamento menos freqüente foi o de auxílio à emergência de novos indivíduos, com 0,002, os comportamentos de limpeza, remoção do mecônio, trofalaxia proctodeal com as pupas de corpo pigmentado, manter a cobertura de fungo e remover a cobertura de fungo não foram observados para esta casta. A casta 1 foi a que mais realizou os comportamentos de cuidado com a cria em *A. disciger* com 1726 atos comportamentais registrados, a casta 4 foi a que menos participou desta tarefa com 145 atos comportamentais (Tabela 3.2).

A ausência de um ato comportamental não necessariamente significa que ele esteja ausente do repertório, mas ele não foi observado devido a uma baixíssima taxa de ocorrência. Assim, os comportamentos de remover mecônio e trofalaxia proctodeal das pupas de corpo pigmentado não foram considerados na análise estatística.

A análise de componentes principais realizada explica 85,09% da variação observada entre os repertórios comportamentais estudados. O componente principal um é influenciado pelas freqüências dos comportamentos de limpeza, trofalaxia proctodeal com as larvas, iniciar a cobertura de fungo, manter a cobertura de fungo e transmitir a bactéria simbiote. O componente principal dois é influenciado pelas freqüências dos comportamentos de alimentação das larvas por trofalaxia, remover a cobertura de fungo e antenar a cria. O componente principal três é influenciado pelas freqüências dos comportamentos de transporte e auxílio à emergência de novos indivíduos (Tabela 3.3).

A representação gráfica dos valores de cada repertório comportamental para os dois primeiros componentes principais permite o agrupamento dos repertórios de *Myrmicocrypta* sp. e *A. pilosum* em um padrão comportamental definido principalmente pelo fato destas duas espécies terem sido as únicas a apresentar o comportamento de alimentação das larvas por trofalaxia, além disso, este grupo é marcado por pequenas freqüências dos

comportamentos de cuidado com a cria em geral mostrando que elas apresentam pouco contato com a cria (Figura 3.1).

Outro agrupamento importante foi o dos repertórios de *Trachymyrmex* sp. Nov., *T. fuscus* e *M. parallelus* que foi determinado pela maior contribuição dos comportamentos relacionados à cobertura de fungo e pelo fato destas espécies terem sido as únicas a apresentar o comportamento de transmissão da bactéria simbiote (Figura 3.1).

O último agrupamento é formado pelos repertórios das castas de *A. disciger*, e é determinado em parte pela baixa frequência dos comportamentos relacionados à cobertura de fungo e pela ausência do comportamento de transmissão da bactéria simbiote e também por causa da divisão de trabalho entre as castas de modo que há uma diferença importante na participação de cada casta no cuidado com a cria (Figura 3.1).

Tabela 3.1: Descrição resumida dos comportamentos observados durante cuidado com a cria nas espécies estudadas.

Comportamentos	Descrição
Limpeza	As operárias utilizam suas glossas para lamber todo o corpo da cria, principalmente as peças bucais e a região anal.
Transporte	As operárias prendem a cria com suas mandíbulas e a transferem para outras partes do ninho
Antenar cria	As operárias tocam as pontas das suas antenas por todo o corpo da cria.
Alimentação (Fungo)	A operária coleta um pedaço do fungo com o auxílio de suas mandíbulas e o coloca em contato com a região oral da larva, podendo antes disso manipular o fungo.
Alimentação (Trofalaxia)	A operária se aproxima da larva e a toca, na região oral, com as antenas. Depois, abre e fecha as mandíbulas com a glossa estendida e a encosta nas peças bucais da larva e libera uma pequena gota de líquido transparente que é ingerida pela larva.
Remoção do mecônio	As larvas de último instar eliminam as fezes armazenadas durante o período larval. Quando isto ocorre a operária mais próxima coleta o material, algumas vezes o lambem, e o transportam para o lixo
Trofalaxia proctodeal larvas	As larvas, de diversos tamanhos, eliminam através da abertura anal uma gota de um líquido translúcido que logo é ingerido pela primeira operária que se aproximar.
Trofalaxia proctodeal pupas	Pupas em diversos estados de pigmentação eliminam um líquido translúcido através da abertura anal que também logo é ingerido por uma operária
Auxílio à emergência	As operárias lambem todo o corpo da cria para remover a cutícula antiga, enquanto estão fazendo isso, prendem a cria entre as pernas anteriores.
Iniciar cobertura de fungo	As operárias depositam sobre a cria pequenos pedaços do micélio fúngico e realizam o mesmo comportamento de pressionar o fungo sobre o substrato recém-incorporado.
Manter cobertura de fungo	As operárias permanecem sobre o corpo da cria e suas antenas tocam o fungo que recobre o seu corpo e o manipulam com as mandíbulas.
Remover cobertura de fungo	Com auxílio das mandíbulas as operárias retiram pedaços de fungo que recobre a cria e os transportam para o jardim de fungo
Transmitir bactéria simbiote	Logo após a emergência de uma operária, outra operária mais velha realiza a limpeza da sua cabeça e região ventral, principalmente próximo às mandíbulas. A operária mais velha inclina o seu corpo de modo a tocar a operária recém-emergida com a região ventral do seu corpo onde se encontram as bactérias.

Tabela 3.2: frequência relativa dos comportamentos de cuidado com a cria para as espécies estudadas. N – número total de atos comportamentais observados para cada espécie; *Acromyrmex disciger* 1 a 4 – castas físicas determinadas visualmente para esta espécie.

Comportamentos	<i>Myrmicocrypta</i> sp. (N=650)	<i>Apterostigma</i> <i>pilosum</i> (N=505)	<i>Mycetarotes</i> <i>parallelus</i> (N=1494)	<i>Trachymyrmex</i> sp. Nov. (N=1210)	<i>Trachymyrmex</i> <i>fuscus</i> (N=3210)	<i>A. disciger</i> Total (N=3612)	<i>Acromyrmex</i> <i>disciger</i> 1 (N=1726)	<i>A. disciger</i> 2 (N=849)	<i>A. disciger</i> 3 (N=892)	<i>A. disciger</i> 4 (N=145)
Limpeza	0,174	0,067	0,124	0,278	0,090	0,085	0,073	0,011	0,001	0,000
Transporte	0,000	0,024	0,019	0,071	0,032	0,152	0,045	0,049	0,063	0,005
Antenar cria	0,459	0,624	0,005	0,285	0,485	0,367	0,189	0,096	0,053	0,029
Alimentação	0,000	0,000	0,104	0,040	0,100	0,157	0,079	0,058	0,018	0,004
Trofalaxia	0,093	0,206	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Remoção do mecônio	0,000	0,010	0,005	0,002	0,006	0,002	0,001	0,001	0,000	0,000
Trofalaxia proctodeal	0,028	0,024	0,027	0,010	0,026	0,041	0,018	0,007	0,010	0,006
larvas										
Trofalaxia proctodeal	0,007	0,000	0,003	0,003	0,003	0,004	0,002	0,000	0,002	0,000
pupas										
Auxílio à emergência	0,059	0,022	0,049	0,078	0,043	0,030	0,011	0,008	0,009	0,002
Iniciar cobertura	0,142	0,014	0,512	0,031	0,057	0,132	0,033	0,005	0,088	0,006
Manter cobertura	0,000	0,008	0,070	0,026	0,031	0,029	0,026	0,000	0,003	0,000
Remover cobertura	0,000	0,001	0,013	0,028	0,010	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000
Transmitir bactéria	0,000	0,000	0,068	0,148	0,125	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 3.3: Valores dos três componentes principais para cada comportamento. Os valores entre parênteses representam a porcentagem de participação de cada componente principal na variação total entre as espécies.

Comportamentos	CP1 (40,69%)	CP2 (25,30%)	CP3 (19,10%)
Limpeza	0,372	-0,193	-0,259
Transporte	0,082	0,342	-0,408
Antenar cria	0,198	-0,417	0,348
Alimentação (Fungo)	0,288	0,251	0,284
Alimentação (Trofalaxia)	-0,124	-0,525	-0,029
Trofalaxia proctodeal larvas	0,399	-0,217	-0,172
Auxílio à emergência	0,258	0,015	0,501
Iniciar cobertura de fungo	0,382	0,096	0,340
Manter cobertura de fungo	0,416	0,080	-0,272
Remover cobertura de fungo	0,042	-0,516	-0,203
Transmitir bactéria simbiote	0,412	0,057	-0,226

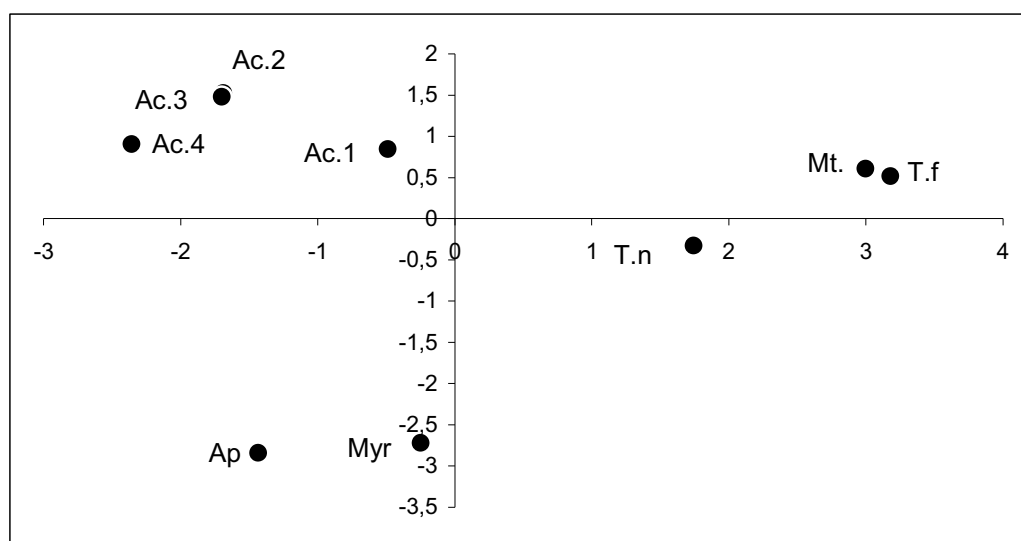


Figura 3.1: representação gráfica dos valores de cada repertório comportamental para os dois primeiros componentes principais. Ac. 1-4 – castas físicas de *Acromyrmex disciger*; Ap. – *Apterostigma pilosum*; Myr – *Myrmicocrypta* sp.; Mt. – *Mycetarotes parallelus*; T.f – *Trachymyrmex fuscus*; T.n – *Trachymyrmex* sp. Nov.

Discussão

A análise dos comportamentos de cuidado com a cria foi dividida em quatro grupos: cuidados gerais, formado pelos comportamentos de limpeza, transporte, antenar a cria, alimentação das larvas com micélio fúngico e por trofalaxia, remoção do mecônio e auxílio à emergência de novos indivíduos; comportamentos relacionados à cobertura de fungo, formado pelos comportamentos de iniciar, manter e remover a cobertura de fungo; relações tróficas da cria com as operárias, formado pelos comportamentos de trofalaxia proctodeal com larvas e pupas de corpo pigmentado; e a transmissão da bactéria simbiote.

Os cuidados gerais são comportamentos de manutenção da cria e visam assegurar o bom desenvolvimento das formas imaturas. Esses comportamentos ocorrem da mesma forma em todas as espécies de formiga. Os comportamentos de limpeza e transporte têm normalmente a função de impedir que a cria seja contaminada por microrganismos patogênicos e por este motivo estão amplamente distribuídos pelas espécies da família Formicidae (Hölldobler et al., 1990).

Dois padrões mutuamente exclusivos de alimentação da cria foram registrados, sendo que um envolve a alimentação com partes do micélio fúngico e o outro envolve a alimentação por trofalaxia. O primeiro padrão está amplamente descrito e observado para um grande número de espécies da tribo Attini, porém, o segundo nunca foi observado antes e ocorre exclusivamente em *Myrmicocrypta* sp. e *A. pilosum*. A única informação sobre a alimentação das larvas em espécies desses gêneros encontrada na literatura, sugere que elas se alimentam sozinhas, diretamente do fungo. Isto não foi observado neste trabalho e também é considerado como improvável por alguns autores, uma vez que as larvas nunca ficam com as suas peças bucais voltadas para o jardim de fungo e ainda que as larvas possuem mobilidade limitada (Wheeler, 1948; Hölldobler et al., 1990; Weber, 1966; Schneider, 2003; Munkacsi et al., 2004).

O comportamento de alimentação da cria agrupa os repertórios comportamentais de *Myrmicocrypta* sp. e *Ap. pilosum* e os separa das demais espécies. Elas fazem parte da linhagem Paleoattini que é considerada como basal na filogenia da tribo Attini. Desta forma, uma importante transição evolutiva das formigas cultivadoras de fungo pode ser identificada pois há evidência que o ancestral dessas formigas alimentava as larvas por

trofalaxia. Isso encontra apoio no fato de que as formigas mais próximas filogeneticamente das Attini, gêneros *Blepharidatta* e *Proatta*, alimentam as larvas dessa forma (Kusnezov, 1963; Moffett, 1986; Mayhe-Nunes, 1995; Schultz et al., 1995; Diniz; Brandao ; Yamamoto, 1998; Wetterer et al., 1998).

A morfologia das peças bucais das larvas variam com a posição filogenética sendo que as larvas da linhagem Paleoattini possuem mandíbulas curtas, cônicas e lisas e o lábio e maxilas longos e fundidos entre si formando um órgão alimentar. Por outro lado larvas da linhagem Neoattini possuem mandíbulas mais longas, com a ponta curva e coberta por inúmeras espículas que têm a função de triturar as hifas do fungo simbiote, o lábio e as maxilas são simples e curtos, esta morfologia única parece ser uma adaptação para a forma como as larvas são alimentadas (Wheeler, 1948; Wheeler et al., 1976; Schultz et al., 1995).

Os comportamentos de remoção do mecônio e auxílio à emergência de novas operárias são comuns para as formigas da subfamília Myrmicinae em geral, e por isso apresentaram frequências próximas em todas as espécies. Estes dois comportamentos estão relacionados ao desenvolvimento da cria, a remoção do mecônio é importante para que a larva comece a metamorfose e se transforme em pupa, e o auxílio à emergência ajuda no crescimento das larvas e no surgimento de novas operárias (Hölldobler et al., 1990; Schneider, 2003).

Os comportamentos relacionados à cobertura da cria com o fungo já foram observados em outras espécies da tribo Attini e devem ocorrer em todos os gêneros, exceto em *Atta*. Apesar de apesar de ter sido observado há muito tempo não existe consenso sobre a função desse comportamento. Alguns autores acreditam que as operárias cobrem a cria com o fungo simbiote para camuflar e impedir que ela seja atacada por predadores e parasitas especializados. Outros autores acreditam que a cobertura de fungo tem uma função higiênica ou está relacionada ao processo de ecdise, mas não apresentam dados que demonstrem isto (Weber, 1966; Adams et al., 2000; Mueller, 2002; Dijkstra et al., 2003).

Os resultados revelam que os comportamentos relacionados à cobertura de fungo são variáveis no repertório comportamental das espécies. Aquelas consideradas basais cobrem a cria com grande quantidade de fungo, enquanto que as derivadas cobrem com menor quantidade. De fato, foi observado que em *Myrmicocrypta* sp., *Ap . pilosum* e principalmente *M. parallelus* a cria fica totalmente coberta pelo fungo simbiote, ficando

expostas somente as regiões oral e anal. Isto sugere que nas espécies basais a cobertura de fungo tem a função de camuflar a cria.

Recentemente foi descrito que o fungo simbiote das formigas cortadeiras influencia a formação dos hidrocarbonetos cuticulares das operárias, sendo importante no mecanismo de identificação das operárias companheiras de ninho, isto pode significar que as derivadas diminuíram a frequência destes comportamentos por que o odor do fungo simbiote passa a ser transmitido para a cria através da alimentação, conferindo assim a camuflagem sem a necessidade de cobrir a larva totalmente (Richard; Poulsen; Drijfhout; Jones ; Boomsma, 2007).

Os dois comportamentos das relações tróficas entre a cria e as operárias indicam que, como já foi sugerido para outras formigas, a cria pode ser considerada como uma casta trófica, que tem como função a digestão de certas substâncias que as operárias não conseguem digerir tornando-as acessíveis ao resto da colônia (Hölldobler et al., 1990; Beshers et al., 1996; Schneider, 2003).

A trofalaxia proctodeal entre larvas e operárias foi observada para um grande número de espécies de formigas, inclusive para as espécies de formigas cultivadoras de fungo, principalmente as cortadeiras. Os resultados obtidos indicam que esta relação trófica entre larvas e operárias é geral para as formigas da tribo Attini e pode ser considerada como uma atividade importante para a distribuição de alimento na colônia (Wheeler et al., 1976; Hölldobler et al., 1990; Beshers et al., 1996; Schneider, 2003; Lopes et al., 2005).

Pela primeira vez foi observada a trofalaxia proctodeal entre pupas e operárias e sugere também uma função trófica. O único caso de trofalaxia proctodeal descrito para formigas é observado em espécies do gênero *Cephalotes* que possuem microrganismos endossimbiotes, esta trofalaxia tem a função de transmitir estes microrganismos de operárias velhas para operárias jovens. Aparentemente este comportamento é generalizado para toda a tribo, demonstrando que pelo menos em Attini as pupas não são indivíduos inertes como na maioria das formigas e participam do equilíbrio da colônia (Hölldobler et al., 1990).

O comportamento de transmissão da bactéria simbiote, gênero *Pseudonocardia*, foi observado nos repertórios de *M. parallelus*, *Trachymyrmex* sp. Nov. e *Trachymyrmex fuscus*. Este fato pode ser devido a historia evolutiva da simbiose entre estes dois

organismos, de acordo com a posição filogenética da formiga existe uma linhagem de bactérias associada a ela (Currie et al., 2003; Cafaro ; Currie, 2005).

As formigas Paleoattini estão associadas a uma linhagem de bactérias que se encontram na cutícula das operárias na região ventral entre o primeiro e o segundo pares de pernas, aparentemente, esta linhagem de bactérias não determinou o desenvolvimento do comportamento de transmissão por causa desta posição, que dificulta a realização deste comportamento pelas operárias (Currie; Scott; Summerbell ; Malloch, 1999; Currie; Poulsen; Mendenhall; Boomsma ; Billen, 2006).

As formigas Neoattini estão associadas a uma grande variedade de linhagens de *Pseudocardia*, nas espécies basais e em *Trachymyrmex* a bactéria se concentra na cutícula da região ventral entre a cabeça e o primeiro par de pernas. Em *Acromyrmex* ela se distribui por toda a cutícula das operárias, fazendo com que elas fiquem brancas. Em *Atta* foi observada a presença de *Pseudocardia* no jardim de fungo, mas não associada à cutícula das operárias (Cafaro et al., 2005).

LITERATURA CITADA

1. ADAMS, R. M. M.; MUELLER, U. G.; SCHULTZ, T. R.;NORDEN, B. Agro-predation: usurpation of attine fungus gardens by *Megalomyrmex* ants. **Naturwissenschaften**, v. 87, n. 12, p. 549-554, 2000.
2. BASS, M. ; CHERRETT, J. M. The Role of Leaf-Cutting Ant Workers (Hymenoptera, Formicidae) in Fungus Garden Maintenance. **Ecological Entomology**, v. 19, n. 3, p. 215-220, 1994.
3. BESHES, S. N. ; TRANIELLO, J. F. A. Polyethism and the adaptiveness of worker size variation in the attine ant *Trachymyrmex septentrionalis*. **Journal of Insect Behavior**, v. 9, n. 1, p. 61-83, 1996.
4. CAFARO, M. J. ; CURRIE, C. R. Phylogenetic analysis of mutualistic filamentous bacteria associated with fungus-growing ants. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 51, n. 6, p. 441-446, 2005.

5. CAMARGO, R. S.; LOPES, J. F. S.; FORTI, L. C. Behavioural responses of workers towards worker-produced male larvae and queen-produced worker larvae in *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel, 1911 (Hym., Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 130, n. 1, p. 56-60, 2006.

6. CHAPELA, I. H.; RHENER, S. A.; SCHULTZ, T. R.; MUELLER, U. G. Evolutionary history of the symbiosis between fungus-growing ants and their fungus. **Science**, v. 266, p. 1691-1694, 1994.

7. CURRIE, C. R.; POULSEN, M.; MENDENHALL, J.; BOOMSMA, J. J.; BILLEN, J. Coevolved crypts and exocrine glands support mutualistic bacteria in fungus-growing ants. **Science**, v. 311, p. 81-83, 2006.

8. CURRIE, C. R.; SCOTT, J. A.; SUMMERBELL, R. C.; MALLOCH, D. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control fungus garden parasites. **Nature**, v. 398, p. 701-704, 1999.

9. CURRIE, C. R.; WONG, B.; STUART, A. E.; SCHULTZ, T. R.; RHENER, S. A.; MUELLER, U. G. et al. Ancient tripartite coevolution in the attine ant-microbe symbiosis. **Science**, v. 299, p. 386-388, 2003.

10. DIJKSTRA, M. B. ; BOOMSMA, J. J. *Gnamptogenys hartmani* Wheeler (Ponerinae : Ectatommini): an agro-predator of *Trachymyrmex* and *Sericomyrmex* fungus-growing ants. **Naturwissenschaften**, v. 90, n. 12, p. 568-571, 2003.

11. DINIZ, J. L. M.; BRANDAO, C. R. F.; YAMAMOTO, C. I. Biology of *Blepharidatta* ants, the sister group of the attini: a possible origin of fungus-ant symbiosis. **Naturwissenschaften**, v. 85, p. 270-274, 1998.

12. HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The ants**. 1. Cambridge, Mass.: Harvard University Press, 1990. 732 p.

13. KUSNEZOV, N. Zoogeografia de las hormigas en sudAmerica. **Acta Zoologica Lilloana**, v. 19, p. 25-186, 1963.

14. LOPES, J. F. S.; HUGHES, W. O. H.; CAMARGO, R. S.; FORTI, L. C. Larval isolation and brood care in *Acromyrmex* leaf-cutting ants. **Insectes Sociaux**, v. 52, n. 4, p. 333-338, 2005.

15. MAYHE-NUNES, A. J. **Filogenia de los Attini (Hymen., Formicidae): un aporte al conocimiento de las hormigas fungívoras**. 1995. Tese (Doutorado) - Universidad Simón Bolívar, 1995.

16. MOFFETT, M. W. Behavior of the group-predatory ant *Proatta butteli* (Hymenoptera: Formicidae): an old world relative of the attine ants. **Insectes Sociaux**, v. 33, n. 4, p. 444-457, 1986.

17. MOHALI, S. Ultrastructural and morphological study of the mutualistic fungus of the ant *Atta cephalotes*. **Revista de Ecologia Latino-Americana**, v. 5, n. 3, p. 1-6, 1998.

18. MUELLER, U. G. Ants versus fungus versus mutualism: ant-cultivar conflict and the deconstruction of the attine ant-fungus symbiosis. **The American Naturalist**, v. 160, p. 67-98, 2002.

19. MUELLER, U. G.; CURRIE, C. R.; SCHULTZ, T. R.; ADAMS, R. M. M.;MALLOCH, D. The origin of the attine ant-fungus mutualism. **The Quarterly Review of Biology**, v. 76, n. 2, p. 169-197, 2001.

20. MUNKACSI, A. B.; PAN, J. J.; VILLESSEN, P.; MUELLER, U. G.; BLACKWELL, M.;MCLAUGHLIN, D. J. Convergent coevolution in the domestication of coral mushrooms by fungus-growing ants. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 271, p. 1777-1782, 2004.

21. MURAKAMI, T. ; HIGASHI, S. Social organization in two primitive attine ants, *Cyphomyrmex rimosus* and *Myrmicocrypta ednaella*, with reference to their fungus substrates and food sources. **Journal of Ethology**, v. 15, n. 1, p. 17-25, 1997.

22. PETRALIA, R. S. ; VINSON, S. B. Comparative anatomy of the ventral region of ant larvae, and its relation to feeding behavior. **Psyche**, v. 86, n. 4, p. 375-394, 1979.

23. RICHARD, F. J.; POULSEN, M.; DRIJFHOUT, F.; JONES, G.;BOOMSMA, J. J. Specificity in chemical profiles of workers, brood and mutualistic fungi in *Atta*, *Acromyrmex*, and *Sericomyrmex* fungus-growing ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 33, n. 12, p. 2281-2292, 2007.

24. SCHNEIDER, M. **Comportamento de cuidado da prole da saúva-limão *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae)**. 2003. (Mestrado) - UNESP - Rio Claro SP, 2003.

25. SCHULTZ, T. R. ; MEIER, R. A phylogenetic analysis of the fungus-growing ants (Hymenoptera: Formicidae: Attini) based on morphological characters of the larvae. **Systematic Entomology**, v. 20, n. 4, p. 337-370, 1995.
26. WEBER, N. A. Fungus-growing ants. **Science**, v. 153, n. 3736, p. 589-604, 1966.
27. WETTERER, J. K.; SCHULTZ, T. R.; MEIER, R. Phylogeny of fungus-growing ants (tribe Attini) based on mtDNA sequence and morphology. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 9, n. 1, p. 42-47, 1998.
28. WHEELER, G. C. The Larvae of the Fungus-Growing Ants. **American Midland Naturalist**, v. 40, n. 3, p. 664-689, 1948.
29. WHEELER, G. C. ; WHEELER, J. Ant larvae: review and synthesis. **Memoirs of the Entomological Society of Washington**, n. 7, p. 1-108, 1976.

CAPITULO 3 – EVOLUÇÃO DOS COMPORTAMENTOS DE CUIDADO COM A RAINHA E ALADOS, E DE SEUS COMPORTAMENTOS INDIVIDUAIS, EM FORMIGAS DA TRIBO ATTINI (HYMENPTERA: FORMICIDAE)

Resumo

Um aspecto negligenciado no estudo da biologia das formigas em geral é o comportamento de cuidado com os alados e com a rainha, apesar da importância desses indivíduos para a colônia. Neste trabalho estes comportamentos foram analisados em várias espécies da tribo Attini com o objetivo de comparar as espécies basais com as formigas cortadeiras, que possuem esses comportamentos bem caracterizados. As observações comportamentais foram realizadas com o auxílio de micro-câmeras e aparelhos gravadores de vídeo. De uma maneira geral, as operárias das espécies consideradas basais dedicam pouco tempo ao cuidado com a rainha e com os alados, as frequências destes comportamentos aumentam de acordo com a posição mais derivada das formigas. Por outro lado, os comportamentos individuais da rainha e dos alados são mais frequentes em espécies basais enquanto em espécies derivadas eles são menos frequentes. As fêmeas aladas das espécies basais realizam, com grande frequência, comportamentos de operárias, como o cuidado com a cria e a preparação do substrato para o cultivo do fungo simbiote, contrário ao padrão das espécies de formigas cortadeiras é das fêmeas aladas não

desempenharem estas funções. Os machos, como em outras espécies de formiga, não realizam comportamentos de operárias, sugerindo que as grandes diferenças morfológicas existentes entre eles e as fêmeas aladas e operárias os impeçam de desempenhar estas funções.

Introdução

A maioria das espécies de formiga possui apenas uma rainha (monoginia) que é fecundada por apenas um macho (monoandria). Depois do vôo nupcial ela retorna ao solo, corta suas asas e procura um local apropriado para a fundação da nova colônia. Durante a fundação a rainha é a responsável por todas as tarefas da colônia, até que as primeiras operárias sejam criadas e passem a desempenhar estas funções (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990).

Depois da fundação a rainha da maioria das espécies deixa de realizar funções como forrageio e cuidado com a cria e passa a desempenhar apenas a função reprodutiva. Em espécies derivadas ela deixa de ser capaz inclusive de se alimentar sozinha, dependendo das operárias para isso. Em algumas espécies basais a rainha continua a desempenhar algumas das funções das operárias e estas normalmente não dão muita atenção a ela, ela é capaz de se alimentar sozinha e também de se limpar (Bazirebe, 1974; HÖLLDOBLER e Wilson, 1990; Fernández-Marín; Zimmerman e Wcislo, 2004).

A reprodução da colônia é realizada através da produção de indivíduos alados, fêmeas e machos, que são liberados periodicamente no vôo nupcial. As formas aladas normalmente recebem cuidados intensos por parte das operárias, desde o desenvolvimento larval até a sua liberação para o ambiente externo. Em algumas espécies basais as fêmeas aladas desempenham funções de operárias, podendo inclusive sair do ninho para forragear. Os machos por outro lado não realizam tarefas na colônia, sendo apenas consumidores dos recursos da mesma (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990).

As formigas da tribo Attini, cultivadoras de fungo da subfamília Myrmicinae, são consideradas como pertencentes ao grupo das formigas mais derivadas, porém, quando se considera as castas reprodutivas e o seu comportamento, o que se observa é que elas são um

mosaico de características basais e derivadas (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990; Fernández-Marín; Zimmerman e Wcislo, 2004).

O gênero de *Atta* tem a biologia reprodutiva mais conhecida dentro das Attini. Sabe-se que essas formigas realizam o seu vôo nupcial entre os meses de outubro e novembro, na região sudeste, normalmente à tarde e em dias de alta umidade. As iças copulam com até oito machos, depois caem ao chão, cortam suas asas e começam a escavar o ninho que depois de escavado é composto por um túnel de 15 cm que termina em uma câmara redonda. Depois da escavação a rainha fecha o túnel e nunca mais abandona o ninho. Esse tipo de fundação é conhecido como claustral. Na câmara, a iça regurgita o fungo simbiote que ela trouxe de sua colônia original no interior da cavidade infrabucal e começa a pôr os seus ovos. Ao mesmo tempo ela cuida do desenvolvimento do fungo simbiote, utilizando o líquido fecal armazenado em seu trato digestório e alimenta as larvas com ovos tróficos. Depois de três meses as primeiras operárias reabrem o túnel e começam a forragear. A partir desse momento a iça deixa de desempenhar as tarefas de cultivar o fungo e cuidar da cria e passa a desempenhar apenas a função reprodutiva, tornando-se agora a rainha (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990; Della Lucia e Moreira, 1993).

Depois de três anos da fundação uma colônia de *Atta* é capaz de produzir indivíduos alados. Estes indivíduos alados passam por um cuidado intensivo por parte das operárias, desde o desenvolvimento larval até estarem prontos para o vôo nupcial. Tanto machos como fêmeas não desempenham outras tarefas no ninho (Della Lucia e Moreira, 1993).

Os demais gêneros da tribo Attini não têm a biologia reprodutiva tão bem conhecida, porém, sabe-se que todos apresentam fundação do tipo semi claustral, onde, diferentemente de *Atta*, as fêmeas fundadoras não possuem reservas corporais que lhes permitam cuidar da cria e cultivar o fungo. Assim, elas devem sair do ninho durante a fundação para coletar substrato para a manutenção do fungo. Além disso, as rainhas dos gêneros basais utilizam suas asas, que elas acabaram de cortar, como plataforma para o cultivo do fungo (Fernández-Marín; Zimmerman e Wcislo, 2004; Fernández-Marín et al., 2005).

O comportamento das formas aladas dentro do ninho também é pouco conhecido, mas já foi observado que as fêmeas aladas do gênero *Acromyrmex* podem desempenhar algumas tarefas, principalmente o cuidado com a cria (Della Lucia e Moreira, 1993).

Diante do exposto, pode-se verificar que o estudo do comportamento da rainha e das formas aladas dentro do ninho de formigas cultivadoras de fungo é um tema que foi negligenciado ao longo da história de exploração científica deste grupo, a não ser pelo gênero *Atta*, pouco se conhece a esse respeito. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi analisar comparativamente os comportamentos da rainha e das formas aladas, bem como o cuidado com estes indivíduos dispensado pelas operárias, para determinar os padrões comportamentais e entender a sua evolução.

Material e Métodos

5.1 Colônias utilizadas

Ninhos de *Apterostigma pilosum*., *Myrmicocrypta* sp., *Mycetarotes parallelus*, *Trachymyrmex fuscus* e *Trachymyrmex* sp. Nov., localizados nos arredores do Centro de Estudos de Insetos Sociais do Instituto de Biociências da UNESP Rio Claro, no Campus Universitário João Dias da Silveira (22° 23' 44,30"S, 47° 32' 27,73"W) foram escavados e o jardim de fungo, a cria, a rainha e operárias foram coletados.

As colônias foram mantidas inicialmente em ninhos de laboratório compostos por potes de plástico com gesso no fundo para que pudessem limpar o jardim de fungo e se recuperar da coleta. Depois, foram transferidas para um ninho confeccionado em gesso, com algumas câmaras e saída para forrageamento, coberto por uma placa de vidro para facilitar a visualização de seu interior (Figura 2.1).

Os formigueiros de *Myrmicocrypta* sp., *Apterostigma pilosum* e *Mycetarotes parallelus* foram tratados com sementes de gramíneas, os de *Trachymyrmex fuscus* e *Trachymyrmex* sp. Nov. foram tratados com flores secas de diversas plantas ornamentais.

5.2 Observações e quantificações dos comportamentos

As observações foram realizadas com o auxílio de um sistema de supervisão de formigueiro (SSF). Este consiste de um conjunto de micro-câmeras de vídeo e fontes de

luz, conectados a um micro-computador, a um monitor de TV e a um gravador de vídeo cassete (Figura 2.2).

Os comportamentos de cuidado com a rainha, bem como seus comportamentos individuais, foram registrados quando ela estava visível na superfície do jardim de fungo. Para as formas aladas estes comportamentos só puderam ser observados quando as colônias produzissem este tipo de indivíduo. Depois de registrados em fitas VHS, os comportamentos foram analisados em televisor, para a sua caracterização e quantificação. Foram realizadas 120 horas de observação.

A quantificação das observações foi realizada registrando o número de vezes que cada comportamento foi observado para diferentes castas de operária e determinando a frequência relativa de cada comportamento em relação ao total de atos comportamentais.

Os comportamentos de cuidado e individuais da rainha foram observados em *Mycetarotes parallelus* e *Trachymyrmex* sp. Nov. Os comportamentos referentes às fêmeas aladas foram observados em *Myrmicocrypta* sp., *Apterostigma pilosum* e *Mycetarotes parallelus* e os comportamentos referentes aos machos foram observados em *Apterostigma pilosum*, *Mycetarotes parallelus*, *Trachymyrmex* sp. Nov. e *Trachymyrmex fuscus*.

Resultados

Foram descritos nove comportamentos de cuidado e individuais da rainha e das formas aladas e registrados 4233 atos comportamentais. A descrição dos comportamentos observados está resumida na tabela 4.1.

No repertório comportamental das operárias de *Mycetarotes parallelus* destaca-se o de limpeza da rainha com 0,002, o comportamento individual mais freqüente da rainha foi o de andar sobre o jardim de fungo com 0,264 seguido por solicitação de alimento com 0,256. O comportamento individual menos freqüente foi o de imobilidade com 0,052, o comportamento de preparação do substratos não foi observado. De uma maneira geral os comportamentos individuais da rainha foram mais freqüentes que os referentes ao seu cuidado pelas operárias (Tabela 4.2).

Os cuidados com as fêmeas aladas, realizados pelas operárias, também foram muito baixos sendo que mais freqüente foi o de limpeza com 0,019, o comportamento individual

mais freqüente das fêmeas aladas foi o de auto limpeza com 0,236 seguido por preparação do substrato e imobilidade, respectivamente com 0,188 e 0,181. O comportamento individual menos freqüente foi o de solicitação de alimento com 0,011. De uma maneira geral, da mesma forma que para a rainha, os comportamentos individuais das fêmeas aladas foram mais freqüentes que os relativos ao seu cuidado pelas operárias (Tabela 4.3).

Ainda para *M. parallelus*, o único comportamento de cuidado com os machos, realizado pelas operárias, foi o de limpeza e teve freqüência de 0,038, o comportamento individual mais freqüente dos machos foi o de imobilidade com 0,323 seguido por auto limpeza com 0,298. O comportamento individual menos freqüente foi o de solicitação de alimento com 0,032, não foram observados os comportamentos individuais de cuidado com a cria e preparação do substrato. De uma maneira geral, assim como para a rainha e fêmeas aladas, os comportamentos individuais do macho foram mais freqüentes que os do seu cuidado, além disso, o macho realizou menos comportamentos que as fêmeas aladas e que a rainha (Tabela 4.4).

No repertório comportamental de *Trachymyrmex* sp. Nov. o comportamento mais comum de cuidado com a rainha, realizado pelas operárias, foi o de alimentação com 0,133, o comportamento individual mais freqüente da rainha foi o de solicitação de alimento com 0,253. O comportamento individual menos freqüente foi o de cuidado com a cria com 0,038. O comportamento individual de preparação do substrato não foi observado (Tabela 4.2).

O comportamento de cuidado com os machos de *Trachymyrmex* sp. Nov., realizado pelas operárias, mais comum foi o de limpeza com 0,158, o comportamento individual mais freqüente dos machos foi o de andar sobre o jardim de fungo com 0,253 e o menos freqüente foi o de alimentação diretamente do fungo simbiote com 0,088. Os comportamentos individuais de cuidado com a cria e preparação do substrato não foram observados (Tabela 4.4).

No repertório comportamental de *Apterostigma pilosum* o único comportamento de cuidado com as fêmeas aladas observado, realizado pelas operárias, foi o de limpeza com 0,006. O comportamento individual mais freqüente das fêmeas aladas foi o de cuidado com a cria com 0,413 e o menos freqüente foi o de imobilidade com 0,028. O comportamento de solicitação de alimento não foi observado, de uma maneira geral os comportamentos

individuais foram mais freqüentes do que os de cuidado, realizados pelas operárias (Tabela 4.3).

Para a mesma espécie, não foram observados comportamentos de cuidado com os machos, realizados pelas operárias. O comportamento individual mais freqüente dos machos foi o de auto limpeza com 0,368 seguido por andar no jardim de fungo com 0,316. O comportamento menos freqüente foi o de alimentação diretamente do jardim de fungo com 0,105. Não foram observados os comportamentos de solicitação de alimento, cuidado com a cria e preparação do substrato. De uma maneira geral os machos desta espécie foram os que apresentaram menos comportamentos (Tabela 4.4).

No repertório comportamental de *Myrmicocrypta* sp. o comportamento mais comum de cuidado com as fêmeas aladas, realizado pelas operárias, foi o de limpeza com 0,037. O comportamento individual mais freqüente das fêmeas aladas foi o de cuidado com a cria com 0,307 e o menos freqüente foi o de solicitação de alimento com 0,012 seguido por preparação do substrato com 0,016. De uma maneira geral, os comportamentos individuais foram mais freqüentes do que os de cuidado, realizados pelas operárias (Tabela 4.3).

No repertório comportamental de *Trachymyrmex fuscus* o comportamento mais freqüente de cuidado com os machos, realizado pelas operárias, foi o de limpeza com 0,191. O comportamento individual mais freqüente dos machos foi o de andar sobre o jardim de fungo com 0,219 seguido por imobilidade com 0,191. O comportamento individual menos freqüente foi o de alimentação diretamente do jardim de fungo com 0,057. Assim como nas outras espécies estudadas, os comportamentos de preparação do substrato e cuidado com a cria não foram observados em *T. fuscus* (Tabela 4.4).

Tabela 4.1: Descrição dos comportamentos observados durante o cuidado com a rainha e os alados e dos seus comportamentos individuais em *Apterostigma pilosum*, *Mycetarotes parallelus*, *Myrmicocrypta* sp., *Trachymyrmex fuscus* e *Trachymyrmex* sp. Nov..

Comportamentos	Descrição
Alimentação	As operárias alimentam a rainha e os alados depositando pedaços de fungo diretamente em suas peças bucais.
Limpeza	As operárias lambem, com suas glossas, todo o corpo da rainha ou dos indivíduos alados, inclusive as asas.
Imobilidade	A rainha, ou os alados, ficam totalmente imóveis sobre o jardim de fungo, ocorrendo neste momento leves movimentos das antenas.
Andar sobre o jardim de fungo	A rainha, ou os alados, se deslocam por todo o jardim de fungo parando em alguns locais e inspecionando com suas antenas.
Solicitação de alimento	A rainha ou os alados tocam, com suas antenas, o corpo de uma operária, que contenha um pedaço de fungo entre as mandíbulas e o coleta com suas glossas.
Alimentação diretamente do jardim de fungo	A rainha ou os alados se alimentam diretamente do jardim de fungo lambendo com suas glossas, ou coletando com suas mandíbulas pedaços do fungo.
Auto limpeza	A rainha ou os alados utilizam as pernas anteriores para realizar a limpeza das antenas e depois as passam entre as peças bucais. Utilizam as pernas medianas para limpar o gáster e, por fim, lambem o final do gáster na região anal.
Cuidado com a cria	A rainha ou alados, alimentam, limpam, transportam ou cobrem com fungo a cria, da mesma forma que as operárias.
Preparação do substrato	As fêmeas aladas lambem e depositam o substrato no jardim de fungo.

Tabela 4.2: freqüências relativas dos comportamentos de cuidado com a rainha e de seus comportamentos individuais. N – número total de atos comportamentais observados.

Comportamentos	<i>Mycetarotes parallelus</i> (N=747)	<i>Trachymyrmex</i> sp. Nov. (N=750)
Alimentação	0,001	0,133
Limpeza	0,002	0,080
Imobilidade	0,052	0,160
Andar sobre o jardim de fungo	0,264	0,093
Solicitação de alimento	0,256	0,253
Alimentação diretamente do jardim de fungo	0,043	0,053
Auto limpeza	0,218	0,190
Cuidado com a cria	0,164	0,038
Preparação do substrato	0,000	0,000

Tabela 4.3: freqüências relativas dos comportamentos de cuidado com as fêmeas aladas e de seus comportamentos individuais. N – número total de atos comportamentais observados.

Comportamentos	<i>Myrmicocrypta</i> sp. (N=616)	<i>Apterostigma pilosum</i> (N=179)	<i>Mycetarotes parallelus</i> (N=1075)
Alimentação	0,012	0,000	0,001
Limpeza	0,037	0,006	0,019
Imobilidade	0,049	0,028	0,181
Andar sobre o jardim de fungo	0,166	0,235	0,128
Solicitação de alimento	0,012	0,000	0,011
Alimentação diretamente do jardim de fungo	0,130	0,056	0,149
Auto limpeza	0,271	0,218	0,236
Cuidado com a cria	0,307	0,413	0,087
Preparação do substrato	0,016	0,044	0,188

Tabela 4.4: frequências relativas dos comportamentos de cuidado com os machos e de seus comportamentos individuais. N – número total de atos comportamentais observados.

Comportamentos	<i>Apterostigma pilosum</i> (N=38)	<i>Mycetarotes parallelus</i> (N=573)	<i>Trachymyrmex</i> sp. Nov. (N=233)	<i>Trachymyrmex fuscus</i> (N=105)
Alimentação	0,000	0,000	0,031	0,029
Limpeza	0,000	0,038	0,158	0,191
Imobilidade	0,211	0,323	0,180	0,191
Andar sobre o jardim de fungo	0,316	0,122	0,253	0,219
Solicitação de alimento	0,000	0,032	0,132	0,133
Alimentação diretamente do jardim de fungo	0,105	0,187	0,088	0,057
Auto limpeza	0,368	0,298	0,158	0,180
Cuidado com a cria	0,000	0,000	0,000	0,000
Preparação do substrato	0,000	0,000	0,000	0,000

Discussão

Apesar de serem consideradas como espécies derivadas dentro da subfamília Myrmicinae, as formigas da tribo Attini apresentaram uma série de comportamentos de cuidado com a rainha e com as formas aladas e de comportamentos individuais, que podem ser considerados basais.

O cuidado com a rainha aparentemente evoluiu, na tribo Attini, no sentido de aumentar a frequência dos comportamentos de cuidado realizados pelas operárias, e diminuir a frequência dos comportamentos individuais da rainha. *Mycetarotes parallelus* representa o estado basal da tribo, no seu repertório comportamental é extremamente baixa a frequência dos comportamentos de cuidado, como é conhecido para formigas de subfamílias basais como as Poneromorfas e em Myrmeciinae, indicando que existe pouco contato entre as operárias e a rainha em espécies basais da tribo Attini, desta forma, a rainha deve satisfazer as suas necessidades sozinha, e por isso realiza os comportamentos

individuais com grande frequência, isto também é bastante conhecido para outras formigas de subfamílias basais (Fresneau, 1984; Jaisson et al., 1992).

Em *Trachymyrmex* sp. Nov. os comportamentos de cuidado com a rainha se tornaram mais freqüentes, porém, os comportamentos individuais continuam sendo muito importantes. Se conhece que em colônias adultas de formigas cortadeiras a rainha não realiza os comportamentos individuais de alimentação e limpeza, e também ficam imóveis a maior parte de tempo dependendo das operárias para tudo. Isto mostra que a tendência evolutiva da tribo Attini é de as operárias desenvolverem um maior contato com a rainha e passarem a ser responsáveis pela sua manutenção fazendo com que ela se torne especializada na reprodução (Bazirebe, 1974; Della Lucia e Moreira, 1993; Fernández-Marín et al., 2004).

Há também a tendência das rainhas das espécies basais realizarem tarefas de operárias, como observado em *Mycetarotes parallelus* e *Trachymyrmex* sp. Nov. em que a rainha realiza comportamentos de cuidado com a cria, provavelmente este comportamento é remanescente do período de fundação da colônia, em que a rainha deve cuidar da primeira cria, nas espécies de formiga cortadeira a rainha perde totalmente estes comportamentos no final do período de fundação, quando as primeiras operárias saem do ninho para forragear e passam a ser responsáveis por isso (Bazirebe, 1974; HÖLLDOBLER et al., 1990; Della Lucia et al., 1993; Fernández-Marín et al., 2004).

Os comportamentos referentes às fêmeas aladas segue um padrão semelhante ao da rainha, a frequência dos comportamentos individuais é maior que a frequência dos comportamentos de cuidado realizados pelas operárias. Apesar disso, foi observado que as fêmeas aladas recebem maior cuidado por parte das operárias que a rainha.

Apterostigma pilosum, *Mycetarotes parallelus* e *Myrmicocrypta* sp. são consideradas basais mas, pode-se afirmar que a evolução do cuidado com as fêmeas aladas segue a mesma tendência que a observada na rainha, ou seja, para as espécies derivadas, como observado na literatura para as formigas cortadeiras, as fêmeas aladas são bastante inativas dentro do ninho e recebem todo o cuidado por parte das operárias. Isto mostra que nas espécies derivadas as fêmeas aladas provavelmente conseguem uma reserva de energia maior do que as basais, uma vez que são menos ativas que as mesmas, que lhes permite um vôo nupcial e uma fundação de colônia mais eficientes (Bazirebe, 1974; Fresneau, 1984).

Além dos comportamentos individuais as fêmeas aladas das espécies basais realizam comportamentos de operárias, como cuidado com a cria e preparação do substrato para o cultivo do fungo simbiote. Esses comportamentos não tinham sido relatados antes na literatura sobre as formigas cultivadoras de fungo, porém já tinham sido observados para formigas da subfamília Ponerinae o que indica que fazem parte de um padrão comportamental basal (Fresneau, 1984).

A realização de comportamentos de operária, indica que as fêmeas aladas podem estar começando a desenvolver comportamentos que serão importantes na fundação de novas colônias, uma vez que estas espécies fundam suas colônias de forma semi-claustral e a rainha precisa sair do ninho para buscar substrato e processá-lo para o cultivo do fungo simbiote (Fresneau, 1984; Fernández-Marín et al., 2004).

Da mesma forma, os machos apresentaram uma tendência para as espécies basais de realizarem com maior frequência os comportamentos individuais e as derivadas possuírem maior frequência de comportamentos de cuidado, o padrão observado nas duas espécies de *Trachymyrmex* é semelhante ao descrito na literatura para as cortadeiras (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990; Della Lucia e Moreira, 1993).

Por outro lado, os machos não realizaram os comportamentos de cuidado com a cria e preparação do substrato, que foram mais frequentes para as fêmeas aladas. Isto pode ser explicado pelo fato do macho ser muito diferente morfológicamente das operárias e das fêmeas aladas tornando impossível a eles realiza estas funções. Essas observações corroboram com HÖLLDOBLER e Wilson (1990) onde, definitivamente os machos não participam da fundação da colônia e nem com seu funcionamento, apresentando unicamente a função reprodutiva, ou seja, inseminar a fêmea durante o vôo nupcial.

LITERATURA CITADA

BAZIREBE, M. Evolution of Queens Atta-Sexdens (Hym Form) Behavior During Development of Colony. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l Academie des Sciences Serie D**, v. 279, n. 14, p. 1201-1204, 1974.

DELLA LUCIA, T. M. C.; MOREIRA, D. D. O. **As formigas cortadeiras**. T. M. C. Della Lucia, D. D. O. Moreira. 1. Viçosa, MG: Editora Folha de Viçosa, 1993. 262 p.

FERNÁNDEZ-MARÍN, H.; ZIMMERMAN, J. K.; WCISLO, W. T. Ecological traits and evolutionary sequence of nest establishment in fungus-growing ants (Hymenoptera, Formicidae, Attini). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 81, p. 39-48, 2004.

FERNÁNDEZ-MARÍN, H.; ZIMMERMAN, J. K.; WCISLO, W. T.; RHENER, S. A. Colony foundation, nest architecture and demography of a basal fungus-growing ant *Mycocepurus smithii* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Natural History**, v. 39, n. 20, p. 1735-1743, 2005.

FRESNEAU, D. Ovarian Development and Social-Status in A Primitive Ant, *Neoponera Obscuricornis* Emery (Hym Formicidae, Ponerinae). **Insectes Sociaux**, v. 31, n. 4, p. 387-402, 1984.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The ants**. 1. Cambridge, Mass.: Harvard University Press, 1990. 732 p.

JAISSON, P.; FRESNEAU, D.; TAYLOR, R. W.; LENOIR, A. Social-Organization in Some Primitive Australian Ants .1. *Nothomyrmecia-Macrops* Clark. **Insectes Sociaux**, v. 39, n. 4, p. 425-438, 1992.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A proposta de maior aceitação sobre a filogenia das Attini considera duas linhagens: Paleoattini, composta pelos gêneros *Myrmicocrypta*, *Apterostigma* e *Mycocepurus* e Neoattini, composta pelos outros dez gêneros da tribo. Acredita-se que as duas linhagens se diferenciaram logo após o surgimento do comportamento de cultivar fungo há aproximadamente 50 milhões de anos. Ao longo desta história evolutiva houve algumas transições na forma como as formigas cultivam o fungo sendo a mais importante aquela que originou as formigas cortadeiras (Kuznezov, 1963; Schultz e Meyer, 1995; Wetterer et al, 1999; Schultz e Brady, 2008).

A transição do modo de vida das Attini basais para o das formigas cortadeiras é tido como a grande inovação biológica deste grupo e seu valor adaptativo é tão grande que estas formigas deixaram de ser detritívoras de hábitos crípticos e passaram a ser um dos mais importantes consumidores primários (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990; Della Lucia e Moreira, 1993; Mueller et al, 2001).

O presente trabalho revelou como essa transição influenciou a evolução dos comportamentos mais importantes destas formigas. Os resultados sugerem uma crescente intensidade na adaptação entre as formigas e o fungo, no sentido das espécies basais para as cortadeiras.

Os comportamentos de preparação do substrato evoluíram no sentido de tornar as formigas mais capazes de decompor inicialmente o material utilizado para o cultivo do fungo. Eles sugerem que inicialmente, as formigas entraram em contato com um fungo basidiomiceto, decompositor de serapilheira, pertencente à família Agaricaceae. Os

fungos de vida livre mais semelhantes a ele são conhecidos por serem tardios na sucessão ecológica de decomposição das folhas que caem das plantas, assim, quando se estabelecem no substrato ele já foi parcialmente decomposto por outros microrganismos abrindo espaço para eles (Vellinga, 2004).

Desta forma, como as primeiras Attini não possuíam o aparato fisiológico, anatômico e comportamental necessário para processar material vegetal fresco, elas se utilizavam do material mais facilmente assimilável pelo fungo, ou seja, matéria em decomposição, principalmente partes de vegetais (Leal e Oliveira, 2000).

A evolução deste aparato fisiológico, anatômico e comportamental foi muito lenta, uma vez que as espécies basais preparam o substrato de uma forma bastante semelhante, independentemente da posição na filogenia. Este padrão instintivo é tão adaptativo que mesmo formigas que ao longo da história evolutiva passaram a cultivar diferentes fungos, como a *Apterostigma pilosum*, que cultivava um fungo da família Pterulaceae e *Cyphomyrmex* do grupo *rimosus*, que cultivam fungos leveduriformes, foram observadas neste trabalho e na literatura se utilizando basicamente do mesmo padrão (Murakami e Higashi, 1997; Ramos-Lacau, 2006; Mangone e Currie, 2008).

À medida que as formigas desenvolveram este aparato elas foram se tornando capazes de utilizar substratos cada vez mais complexos estruturalmente, e em níveis menos avançados de decomposição, até que com o desenvolvimento de um intenso polimorfismo, com divisão de trabalho em castas especializadas, elas se tornaram aptas a preparar material vegetal fresco até que ele fique em um estado de decomposição que seja compatível com os requisitos do fungo (Beshers e Traniello, 1996; Andrade et al, 2001).

A evolução do cuidado com a cria mostrou também esta profunda adaptação entre as formigas e o fungo que se desenvolveu ao longo da filogenia. A observação inédita de que as espécies da linhagem Paleoattini alimentam suas larvas por trofalaxia sugere que esta era a forma que o ancestral das cultivadoras de fungo alimentavam as suas larvas. Isto é evidenciado nas formigas do gênero *Blepharidatta* que alimentam suas larvas desta forma. Este gênero pertence à tribo Blepharidattini que é o táxon mais próximo filogeneticamente das Attini e alguns autores acreditam que o ancestral das Attini era semelhante a estas formigas. Outra evidencia é a datação da derivação da linhagem Paleoattini, ela se originou logo após a origem da tribo, o que significa que suas espécies mantêm as características deste ancestral (Diniz et al, 1998; Mueller et al, 2001; Schultz e Brady, 2008).

Em Neoattini a adaptação ao fungo simbiote foi mais intensa, da mesma forma que ocorreu com os comportamentos de preparação do substrato, as formigas passaram a alimentar as larvas com o micélio, inicialmente elas utilizavam as hifas do fungo simbiote, pois ele não possuía estruturas especializadas para este fim, como observado neste trabalho em *Mycetarotes parallelus* e em outros trabalhos para outras espécies basais (Mueller et al, 2001; Silva-Pinhati, 2004; Ramos-Lacau, 2006).

De acordo com a posição na filogenia, as formigas se tornam mais especializadas em alimentar as larvas com micélio e o fungo desenvolve estruturas especiais para a sua alimentação, estas estruturas são os gongilideos, o significado do seu desenvolvimento é que com eles a alimentação das larvas se torna menos destrutiva para o jardim de fungo aumentando a sua eficiência na decomposição do substrato (Mohali, 1998; Mueller et al, 2001).

Os estudos comportamentais realizados revelam uma série de padrões existentes nas diferentes espécies de formigas cultivadoras de fungo, que contribuem para a compreensão de sua evolução. Apesar de responderem algumas questões importantes eles também levantam outros questionamentos a respeito dos fatores que influenciam a sua evolução. Estes fatores podem ser divididos em dois tipos, o primeiro diz respeito a características da formiga e do fungo que são responsáveis pelas diferenças observadas entre as espécies, o segundo diz respeito às características ecológicas que levaram ao desenvolvimento dos padrões observados.

Os fatores do primeiro tipo estão relacionados às características morfológicas e fisiológicas, da formiga e do fungo, que fazem as diferentes espécies se comportarem de formas diversas, ou seja, estão relacionados à morfologia funcional destes organismos. Os fatores do segundo tipo estão relacionados às condições que tornaram os padrões observados adaptativos do ponto de vista evolutivo, ou seja, estão relacionados à ecologia comportamental.

A morfologia funcional é um tema muito estudado, principalmente em vertebrados, e sua principal premissa é de que a morfologia e a anatomia dos animais evoluíram em conjunto com os seus comportamentos, ou seja, é possível estudar como a forma das diferentes partes do corpo influenciam na capacidade de algumas espécies realizarem certos comportamentos adaptativos (Alcock, 2005).

Em formigas estudos a este respeito foram realizados por Brown e Wilson (1959) com formigas da tribo Dacetini. Verificaram que a morfologia das mandíbulas e da cabeça, bem como o sistema de controle do movimento evoluíram no sentido de tornar

as espécies desta tribo adaptadas à predação de colêmbolos. Estes animais são extremamente abundantes na serapilheira e têm a capacidade de saltar a longas distâncias, deste modo, as Dacetini tiveram que desenvolver mandíbulas longas e com dentes na extremidade, além disso, tiveram que desenvolver um sistema de “gatilho” que faz com que elas se fechem rapidamente ao menor contato de uma presa com cerdas especializadas.

Outro estudo de morfologia funcional com formigas foi realizado por HÖLLDOBLER e Wilson (1986) com formigas das tribos Basicerotini e Stegomyrmecini, eles observaram que estas formigas apresentam um comportamento altamente críptico se movendo lentamente e fingindo de mortas quando perturbadas, este comportamento de camuflagem é completado pela capacidade destas formigas aderirem grãos de areia ao corpo, esta característica é determinada por pêlos com uma morfologia especialmente adaptados.

Existem muitos outros estudos a este respeito em formigas como os de Brandão et al (1991) sobre as adaptações morfológicas do gênero *Thaumatomyrmex*, Baroni-Urbani (1999) sobre o gênero *Cephalotes* e Powel et al (2006) sobre as adaptações morfológicas das castas de formigas da subfamília Ecitoninae. Todos estes trabalhos revelam a importância da morfologia para a evolução do comportamento em formigas, porém, não existem estudos a esse respeito em formigas cultivadoras de fungo.

A ecologia comportamental trata dos fatores ambientais que determinam a evolução dos padrões comportamentais existentes nas espécies, ou seja, os fatores que tornam mais “interessante” para certa espécie desenvolver estes padrões do que continuar com os originais (Krebs e Davies, 1993). Em formigas, os estudos a este respeito incluem o trabalho de Wilson (1958) com as formigas de correição, onde verificou que as formigas desenvolveram este hábito por que desta forma poderiam capturar presas maiores e em maior quantidade do que as suas ancestrais que forrageiam de forma solitária.

Em formigas da tribo Attini o único estudo a este respeito foi o de Veira-Neto et al (2006) em que foi analisada a função do comportamento de carona das operárias na trilha de forrageamento. É bastante conhecido que, ao longo da trilha de formigas cortadeiras existem operárias que sobem nos fragmentos vegetais transportados por outras e ficam ali até a entrada no ninho. Estes autores descrevem que este comportamento evoluiu no sentido de proteger as formigas que carregam os fragmentos contra parasitóides, aumentando desta forma o tempo de vida das operárias forrageiras.

As questões a respeito da morfologia funcional e da ecologia comportamental, que surgiram a partir dos resultados obtidos no presente trabalho serão discutidas a seguir.

Preparação do substrato para o cultivo do fungo simbiote

A principal diferença observada na preparação do substrato das espécies basais em relação às derivadas é que elas não realizam, ou realizam em baixas frequências, os comportamentos do tratamento químico. O substrato é incorporado com poucas alterações morfológicas. As espécies derivadas, por outro lado, realizam muito estes comportamentos, resultando em grande decomposição inicial do substrato (Capítulo 2).

O tratamento químico pode ser dividido em duas partes: a primeira é a utilização das enzimas fúngicas pelas formigas através do comportamento de depositar o líquido fecal sobre o substrato e a segunda é a fragmentação do substrato através dos comportamentos de prensar e recortar.

A primeira parte é possível graças ao fato das formigas de não digerirem as enzimas produzidas pelo fungo, quando elas se alimentam, e armazená-las no reto. Estudos de caracterização destas enzimas, de suas atividades e da sua origem foram realizados extensivamente para as formigas cortadeiras, mas nunca para as espécies basais (Martin et al., 1975; Silva, 2005; Ronhede; Boomsma e Rosendal, 2004) . Os resultados obtidos neste trabalho indicam que possivelmente as formigas basais não produzam o líquido fecal por que elas digerem as enzimas fúngicas, ou por que elas não conseguem concentrar estas enzimas no reto.

Possivelmente ao longo do processo evolutivo, as formigas perderam a capacidade de digerir as enzimas fúngicas e ganharam a capacidade de concentrá-las no reto, estudos sobre a fisiologia digestiva das espécies basais, em comparação com as derivadas, certamente aumentariam o conhecimento sobre este assunto e também ajudariam a entender a evolução do processo de preparação do substrato.

Além da fisiologia digestiva, outro fator que deve ter influenciado o desenvolvimento do tratamento químico pelas formigas cultivadoras de fungo foi a capacidade do fungo em produzir enzimas. O fungo cultivado pelas espécies derivadas produz uma grande quantidade de enzimas, enquanto que o cultivado por espécies basais produz pouca quantidade de enzimas. Desta forma, as formigas derivadas produzem grande quantidade de líquido fecal por que não digerem as enzimas

produzidas pelo fungo e também por que ele produz uma grande quantidade delas (Silva-Pinhati, 2005).

A segunda parte do tratamento químico é influenciada pela capacidade das operárias de fragmentar o substrato. Isto é possível graças às características morfológicas e anatômicas das operárias que lhes permitem exercer força com as mandíbulas.

O principal músculo envolvido na movimentação das mandíbulas das formigas é o adutor da mandíbula, responsável pelo seu fechamento. Este músculo é composto por dois tipos de fibras, de contração rápida e de contração lenta, quando ele contém mais fibras do primeiro tipo, as mandíbulas são fechadas rapidamente e com pouca força, quando contém mais fibras do segundo tipo, as mandíbulas são fechadas lentamente mas com muita força (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990; Paul, 2001).

O músculo adutor da mandíbula é composto por diferentes porcentagens de fibras rápidas e lentas, de acordo com o tipo de alimentação da espécie de formiga. As espécies predadoras possuem o músculo adutor composto por fibras de contração rápida, pois precisam de movimentos rápidos para capturar a presa. Por outro lado, as formigas herbívoras não precisam capturar o alimento mas sim cortá-lo em pedaços, considerando que o material vegetal é resistente o músculo adutor da mandíbula deve ser composto por fibras de contração lenta, para que elas possam exercer mais força com as mandíbulas (Paul, 2001).

Apesar de não existirem estudos comparativos da morfologia das formigas cultivadoras de fungo, é provável que as espécies derivadas tenham a cabeça com a largura maior que o comprimento e as basais tenham o contrário. Isso poderia explicar a evolução da capacidade de fragmentar o substrato, observada neste trabalho.

Diferentes castas de *Atta* já demonstram esta tendência. As operárias têm tamanhos extremamente variados, onde as maiores possuem a cabeça muito mais larga que as menores, sendo as principais responsáveis pelo corte das folhas. As espécies dos gêneros basais possuem operárias com o comprimento da cabeça geralmente maior que a sua largura. Em *Trachymyrmex* a largura e o comprimento da cabeça são em geral iguais, desta forma a evolução do processo de preparação do substrato parece acompanhar a evolução dos aspectos morfológicos, com um aumento na capacidade de fragmentar o substrato (Wilson, 1980; Mayhe-Nunes e Brandão, 2002; Mayhe-Nunes e Brandão, 2005).

A questão referente à ecologia comportamental é a seguinte: quais fatores tornaram mais “interessante” para os ancestrais das formigas cortadeiras passarem a utilizar folhas frescas do que continuarem a utilizar material vegetal em decomposição?

A hipótese mais aceita e discutida na literatura sugere que a principal vantagem que as formigas cortadeiras ancestrais tiveram ao começarem a cortar folhas foi que este substrato fornece mais energia e nutrientes para a colônia do que o material vegetal em decomposição, possibilitando assim que estas formigas desenvolvessem colônias maiores e mais populosas (HÖLLDOBLER e Wilson).

Apesar desta hipótese ser conhecida há muito tempo, ela nunca foi testada, ou seja, não existem informações se o ganho de energia e nutrientes de uma colônia de formiga cortadeira é maior que em colônias das outras *Attini*. Os resultados obtidos neste trabalho permitem sugerir que apesar das folhas verdes conterem mais energia e nutrientes o seu processamento é muito mais trabalhoso para as formigas do que o processamento de material vegetal em decomposição. Isto pode ser atestado pelo número de comportamentos realizados pelas diferentes espécies e pela quantidade de atos comportamentais realizados ao longo do processamento, que são maiores para as cortadeiras do que para as outras *Attini*.

Desta forma, é possível que o ganho de energia seja relativamente o mesmo, pois as cortadeiras gastam mais energia processando as folhas do que as outras *Attini* processando material em decomposição, além disso o processamento de folhas verdes necessita de uma estrutura muito complexa das colônias de cortadeiras, o forrageio se dá em trilhas físicas mantidas pelas operárias ao redor do ninho e o processamento em si depende de uma estrutura de castas físicas que aumenta ainda mais os custos energéticos da utilização deste substrato.

Uma teoria alternativa seria baseada no fato das formigas cortadeiras serem importantes consumidores primários do ambiente em que ocorrem, ou seja, ocupam um nicho ecológico totalmente indisponível para outras cultivadoras de fungo e mesmo para outras formigas. Esta mudança de nicho ecológico seria “interessante” pois elas passariam a forragear em um ambiente menos saturado de espécies de formigas, como a serapilheira onde vivem as outras *Attini*, que por este motivo possuem ninhos pequenos, pouco populosos e comportamento submisso já que estão em contato com um grande número de espécies agressivas e dominantes, desta forma as cortadeiras puderam se diversificar e se tornar dominantes.

Cuidados com a cria

A alimentação das larvas foi o comportamento que apresentou grandes variações. Nas espécies da linhagem Paleoattini (*Myrmicocrypta* sp. e *Apterostigma pilosum*) as operárias alimentam as larvas, basicamente, por trofalaxia, enquanto que nas espécies da linhagem Neoattini (*Acromyrmex disciger*, *Trachymyrmex fuscus*, *Trachymyrmex* sp. nov. e *Mycetarotes parallelus*) elas as alimentam com o micélio fúngico.

Do ponto de vista da morfologia funcional, é provável que as diferenças morfológicas observadas na literatura entre as larvas de Neoattini e Paleoattini sejam responsáveis pela forma como as operárias das diferentes espécies alimentam a cria. É conhecido que as larvas de Paleoattini possuem mandíbulas pequenas e glossas grandes, o que pode ser interpretado como uma adaptação à alimentação líquida, enquanto que em Neoattini as mandíbulas são grandes e cobertas de espículas e a glossa é pequena, como uma adaptação à fungivoria (Wheeler, 1948; Schultz e Meier, 1995).

As operárias também devem possuir adaptações aos diferentes estilos de alimentação das larvas. As formigas cortadeiras realizam baixa taxa de trofalaxia entre operárias e não foi observada trofalaxia oral de operárias para larvas nestas formigas. Desta forma é possível que o trato digestório das operárias de Paleoattini possua adaptações a este modo de alimentação (Andrade et al, 2001; Schneider, 2003; Bueno, 2006).

As adaptações mais conhecidas nas formigas para o comportamento de trofalaxia são a forma da válvula do pró-ventrículo, que tende a ser muito complexa em espécies que realizam alto índice de trofalaxia e simples em espécies que não a realizam. A musculatura associada ao papo, que tende a ser mais desenvolvida nas espécies que realizam trofalaxia (Holdobler e Wilson, 1990).

A válvula do pró-ventrículo permite à formiga controlar o fluxo de alimento do papo para o ventrículo, fazendo com que o primeiro se torne um importante órgão de armazenamento de alimento. A musculatura associada ao papo permite que o alimento aí armazenado seja deslocado de volta para a boca da operária e assim transferido para outro indivíduo (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990; Caetano; Jaffé e Zara, 2002).

Alguns estudos em formigas dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* demonstram que elas possuem a válvula do pró-ventrículo simples e pouca musculatura no papo, sugerindo que elas possuem baixa capacidade de realizar trofalaxia, este fato foi constatado por estudos comportamentais, porém, não existem trabalhos a esse respeito em formigas dos

gêneros de Paleoattini, o que seria interessante para se entender como evoluiu o comportamento de alimentar a cria (Andrade et al, 2002; Caetano; Jaffé e Zara, 2002; Bueno et al, 2008).

O comportamento de alimentar a cria por trofalaxia aproxima as Paleoattini das formigas não cultivadoras de fungo, pois as formigas dos gêneros mais próximos de Attini realizam a alimentação dessa forma. Isso pode indicar que no início do processo de simbiose o fungo não era uma fonte de alimento para as formigas, por que elas só se alimentavam do produto da digestão extracelular do substrato, e sim um meio delas digerirem material vegetal, se tornando capazes de utilizar uma fonte de alimento abundante mas indisponível para as outras formigas que é o material vegetal em decomposição. (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990; Diniz et al, 1998; Silva et al., 2003).

O estudo dos comportamentos relacionados à cobertura de fungo da cria revela uma necessidade de se entender a função, do ponto de vista da ecologia comportamental, desses comportamentos. De acordo com os resultados obtidos é possível que inicialmente eles tinham a função de camuflar a cria contra predadores ou parasitas, mas as outras hipóteses também deveriam ser testadas.

A hipótese da defesa contra predadores e parasitas poderia ser testada quantificando a preferência de espécies de formigas notadamente carnívoras, como as do gênero *Solenopsis*, por larvas com ou sem cobertura de fungo. Seria esperado que se esta hipótese for verdadeira as larvas sem cobertura devem ser mais atrativas do que as larvas com a cobertura.

A hipótese da defesa contra microrganismos patogênicos poderia ser testada expondo larvas com e sem cobertura de fungo a conhecidos fungos e bactérias entomopatogênicos. Se esta hipótese for correta então larvas com cobertura de fungo sofrem menos contaminações do que larvas sem a cobertura.

Dos comportamentos de relações tróficas entre a cria e os indivíduos adultos, o que mais deixou questões foi o de trofalaxia proctodeal entre pupas pigmentadas e operárias. Do ponto de vista funcional seria interessante saber como as pupas produzem este líquido, parece claro que ele é o resultado do metabolismo das reservas e da histólise que ocorre durante a metamorfose, típica dos insetos holometábulos (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990). Além disso, também será necessário avaliar o que representa para a nutrição das colônias a participação das pupas fluxo de nutrientes.

Será interessante também avaliar se este tipo de trofalaxia está restrito às formigas da tribo Attini ou se ele também ocorre em outras formigas. As espécies que mais

provavelmente apresentam este comportamento são aquelas que possuem as larvas nuas, ou seja, desprovidas de casulo. Entre as formigas aquelas que possuem pupas nuas são todas as espécies das subfamílias Myrmicinae, Dolichoderinae e Pseudomyrmecinae e ainda algumas Formicinae, Ponerinae e Ecitoninae, ou seja mais da metade de todas as aproximadamente 12300 espécies validas de formigas. Portanto, se este comportamento for geral para essas formigas, possivelmente, ele é em parte responsável pelo grande sucesso adaptativo dessas formigas tiveram (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990; Boltom, 2003).

Cuidados com a rainha e alados

Os comportamentos observados levam a questões a respeito das mudanças fisiológicas e ultra-estruturais do organismo das fêmeas responsáveis por elas realizarem comportamentos de operária no ninho de origem e deixar de realizá-los, ou realizá-los em baixas freqüências, depois da fundação da nova colônia.

Existem estudos que demonstram que em algumas espécies, incluindo algumas do gênero *Acromyrmex*, há uma modificação na ultra-estrutura do cérebro das fêmeas que as faz modificar o seu padrão comportamental quando as primeiras operárias emergem (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990).

É possível que a diferença observada nos repertórios comportamentais das rainhas e das fêmeas aladas seja em decorrência dessas alterações, fazendo com que quando elas estão no ninho de origem e quando estão fundando a nova colônia, elas realizam comportamentos de manutenção e quando estão em uma colônia adulta em que elas são as rainhas passam a desempenhar principalmente a função reprodutiva.

Outra questão interessante é até que ponto a morfologia externa dos indivíduos alados, e da rainha, influenciam no seu comportamento. Foi sugerido que fêmeas aladas e as rainhas de espécies basais se comportam como operárias por serem semelhantes morfologicamente a elas, os machos não apresentam comportamento de operária por serem muito diferentes delas. Não existem estudos demonstrando que de fato é esta diferença que faz os machos de himenópteros sociais não participarem das tarefas de manutenção do ninho, mas foi sugerido algumas vezes que sim (HÖLLDOBLER e Wilson, 1990).

Literatura citada

ALCOCK, J. **Animal Behavior**. J. Alcock. 7. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates, 2001. 543 p.

ANDRADE, A. P. P.; FORTI, L. C.; MOREIRA, A. A.; BOARETTO, M. A. C.; RAMOS, V. M.; DE MATOS, C. A. O. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera : Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. **Sociobiology**, v. 40, n. 2, p. 293-306, 2002.

BESHERS, S. N. ; TRANIELLO, J. F. A. Polyethism and the adaptiveness of worker size variation in the attine ant *Trachymyrmex septentrionalis*. **Journal of Insect Behavior**, v. 9, n. 1, p. 61-83, 1996.

DELLA LUCIA, T. M. C.; MOREIRA, D. D. O. **As formigas cortadeiras**. T. M. C. Della Lucia, D. D. O. Moreira. 1. Viçosa, MG: Editora Folha de Viçosa, 1993. 262 p.

DINIZ, J. L. M.; BRANDÃO, C. R. F.; YAMAMOTO, C. I. Biology of *Blepharidatta* ants, the sister group of the attini: a possible origin of fungus-ant symbiosis. **Naturwissenschaften**, v. 85, p. 270-274, 1998.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The ants**. 1. Cambridge, Mass.: Harvard University Press, 1990. 732 p.

KUSNEZOV, N. Zoogeografia de las hormigas en sudAmerica. **Acta Zoologica Lilloana**, v. 19, p. 25-186, 1963.

LEAL, I. R. ; OLIVEIRA, P. S. Foraging ecology of attine ants in a neotropical savanna: seasonal use of fungal substrate in the Cerrado vegetation of Brazil. **Insectes Sociaux**, v. 47, p. 376-382, 2000.

MANGONE, D. M. ; CURRIE, C. R. Garden substrate preparation behaviours in fungus-growing ants. **Canadian Entomologist**, v. 139, n. 6, p. 841-849, 2007.

MUELLER, U. G.; CURRIE, C. R.; SCHULTZ, T. R.; ADAMS, R. M. M.;MALLOCH, D. The origin of the attine ant-fungus mutualism. **The Quarterly Review of Biology**, v. 76, n. 2, p. 169-197, 2001.

MURAKAMI, T. ; HIGASHI, S. Social organization in two primitive attine ants, *Cyphomyrmex rimosus* and *Myrmicocrypta ednaella*, with reference to their fungus substrates and food sources. **Journal of Ethology**, v. 15, n. 1, p. 17-25, 1997.

SILVA-PINHATI, A. C. **Evolução e metabolismo de alguns atíneos (Hymenoptera: Formicidae) e seus fungos (Basidiomycota: Agaricales)**. 2004. (Doutorado) - UNESP - Rio Claro SP, 2004.

SCHULTZ, T. R. ; MEIER, R. A phylogenetic analysis of the fungus-growing ants (Hymenoptera: Formicidae: Attini) based on morphological characters of the larvae. **Systematic Entomology**, v. 20, n. 4, p. 337-370, 1995.

SCHULTZ, T. R.; BRADY, S. G. Major evolutionary transitions in ant agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 14, p. 5435-5440, 2008.

VELLINGA, E. Ecology and distribution of lepiotaceous fungi (Agaricaceae) - A review. **Nova Hedvigia**, v. 78, n. 3, p. 273-299, 2004

WETTERER, J. K.; SCHULTZ, T. R.;MEIER, R. Phylogeny of fungus-growing ants (tribe Attini) based on mtDNA sequence and morphology. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 9, n. 1, p. 42-47, 1998.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)