

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

O comportamento de carona em saúvas (*Atta spp.*): uma avaliação experimental
de três hipóteses

Ernane Henrique Monteiro Vieira Neto

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Abril – 2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

O comportamento de carona em saúvas (*Atta spp.*): uma avaliação experimental
de três hipóteses

Ernane Henrique Monteiro Vieira Neto

Orientador: Prof. Dr. Heraldo Luis de Vasconcelos

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Abril – 2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

O comportamento de carona em saúvas (*Atta spp.*): uma avaliação experimental
de três hipóteses

Ernane Henrique Monteiro Vieira Neto

Aprovado pela Banca Examinadora em: ____/____/____ Nota: ____

Prof. Dr. Heraldo Luis de Vasconcelos
Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dr. Kleber Del Claro
Segundo membro da Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a. Cecília Lomônaco de Paula
Terceiro membro da Banca Examinadora

Uberlândia, de de

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

O comportamento de carona em saúvas (*Atta spp.*): uma avaliação experimental
de três hipóteses

Ernane Henrique Monteiro Vieira Neto

Orientador: Prof. Dr. Heraldo Luis de Vasconcelos

Homologado pela coordenação do Curso de
Ciências Biológicas em ____/____/____

Uberlândia – MG
Abril – 2006

DEDICO

a meus pais, Joel Licursi Vieira e Tereza
Alves Licursi Vieira,

a minhas irmãs, Gabriela Alves Licursi
Vieira e Daniela Alves Licursi Vieira,

a meus avós, Ernane Henrique Monteiro
Vieira e Geny Licursi Vieira,

a minha namorada, companheira e colega de
trabalho, Fabiane Moreira Mundim Ribeiro

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família pelo sacrifício em manter-me aqui em Uberlândia durante toda a graduação, pelo apoio incondicional e por acreditar que vou ser alguém na vida;

ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Heraldo Luis de Vasconcelos, pela confiança, pelas boas idéias, pelo respeito e por ensinar-me os princípios de ética e de pesquisa que um bom profissional da nossa área deve ter;

profissionalmente a Fabiane Mundim, cuja colaboração durante todo o trabalho de campo e a redação do manuscrito foram imprescindíveis para a realização do estudo;

pessoalmente a Fabiane Mundim, pela companhia, pelo amor, pela paciência, pelos conselhos e pelas broncas que, direta ou indiretamente, colaboraram para que eu me tornasse não só uma pessoa melhor, mas também um profissional mais completo;

aos professores do Curso de Ciências Biológicas da UFU, em especial aqueles do Instituto de Biologia relacionados às áreas de Ecologia e Zoologia, que realmente me ajudaram e colaboraram muito com a minha formação;

aos professores da área de Ensino do IB, por mostrarem que para ser professor, temos que aliar paciência, boas idéias e ter em mente que a utopia que pregam durante as aulas quase sempre não condiz com a realidade das escolas desse país;

a todos os meus amigos (da UFU, do LEIS e de fora da UFU), pelas conversas, dicas e discussões sobre o trabalho e pelo convívio quase sempre agradável durante toda a graduação;

ao Dr. Scott Powell, ao Dr. Johan Billen, ao Dr. Kleber Del Claro, a Dr^a. Cecília Lomônaco de Paula e a dois revisores anônimos, por lerem e comentarem sobre versões preliminares desse manuscrito;

ao Dr. Marcos A. L. Bragança, por disponibilizar informações não-publicadas sobre a biologia de forídeos, e ao Dr. Brian V. Brown pela identificação do forídeo;

a UFU e ao CNPq pelos dois anos de apoio financeiro.

RESUMO

Operárias mínimas das saúvas normalmente “pegam carona” nos fragmentos carregados por operárias forrageiras. As principais explicações para esse comportamento são: a defesa contra parasitóides (Diptera: Phoridae), a defesa contra contaminantes do fungo e a obtenção de seiva. Neste estudo foram testadas estas três hipóteses através de ensaios pareados padronizados, utilizando colônias laboratoriais de *Atta sexdens* e de campo de *Atta laevigata*. Nas duas espécies, a proporção de fragmentos com caronistas aumentou significativamente em resposta à presença de seiva e à contaminantes do fungo. Esta proporção também aumentou na presença de forídeos (*Neodohrniphora erthali*), mas somente para *A. sexdens*. Além disso, a posição das caronistas variou com o tratamento aplicado. Na presença de forídeos, as caronistas frequentemente se deslocavam sobre o fragmento. Na presença de seiva as caronistas geralmente permaneciam paradas na borda do fragmento de folha, local por onde a seiva escorre, enquanto nos flocos contaminados por patógenos as caronistas permaneciam no centro do fragmento, onde a contaminação era maior. Os resultados sugerem que o comportamento de carona em saúvas tem múltiplas funções. Esse comportamento provavelmente evoluiu como um mecanismo de defesa, tanto contra potenciais contaminantes do fungo simbiote quanto contra parasitóides. A obtenção de seiva parece uma função secundária e provavelmente oportunística desse comportamento.

Palavras chave: forídeos, contaminantes do fungo, obtenção de seiva

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. METODOLOGIA	04
2.1. Área de estudo e espécies estudadas	04
2.2. Experimentos para testar a hipótese de defesa contra parasitóides	04
2.3. Experimentos para testar a hipótese de obtenção de seiva	06
2.4. Experimentos para testar a hipótese de defesa contra contaminantes	07
2.5. Posições das caronistas nos fragmentos	08
2.6. Análises estatísticas	09
3. RESULTADOS	10
3.1. Ensaios experimentais	10
3.2. Posições das caronistas nos fragmentos	12
4. DISCUSSÃO	15
4.1. Defesa contra parasitóides	15
4.2. Obtenção de seiva	16
4.3 Defesa contra contaminantes do fungo	17
5. CONCLUSÕES	19
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
7. ANEXO	25
7.1. Normas de referências do periódico científico <i>Insectes Sociaux</i>	25

1. INTRODUÇÃO

Formigas-cortadeiras de folha do gênero *Atta* são os herbívoros dominantes em muitos ecossistemas dos trópicos do Novo Mundo (Hölldobler e Wilson, 1990). Estas formigas possuem colônias com milhões de operárias altamente polimórficas e um complexo sistema de divisão de trabalho (Wilson, 1980; Hart et al., 2002). Um comportamento comum em saúvas é a carona, que acontece quando as operárias mínimas (as menores da colônia) sobem nos fragmentos carregados ao ninho por operárias forrageiras maiores (Fig. 1). As mínimas são atraídas aos fragmentos através de estridulações das operárias forrageiras, que funcionam como um mecanismo de comunicação de curto alcance (Roces et al., 1993; Roces e Hölldobler, 1995, 1996). O comportamento de carona foi noticiado em pelo menos sete das 15 espécies de *Atta* conhecidas (Linksvayer et al., 2002), embora ainda haja muita controvérsia referente à origem e possível função (ou funções) deste comportamento das saúvas. Durante muito tempo, a única hipótese para a ocorrência da carona sugeria que as caronistas defendem as operárias forrageiras contra parasitóides, particularmente moscas da família Phoridae (Eibl-Eibesfeldt e Eibl-Eibesfeldt, 1967; Eibl-Eibesfeldt, 1967; Feener e Moss, 1990). Entretanto, esta hipótese explica apenas parcialmente a existência do comportamento de carona, uma vez que os forídeos parasitóides são, em sua maioria, exclusivamente diurnos em condições naturais (Borgmeier, 1931; Orr, 1992; Feener e Brown, 1993; Brown, 1997, 1999, 2001) e as saúvas forrageiam mais comumente durante a noite (Wirth et al., 1997; Wirth et al., 2003), período em que a incidência de caronistas também pode ser elevada (Linksvayer et al., 2002).

Alguns autores sugeriram que as mínimas pegam carona para economizar a energia que gastariam ao retornar andando ao ninho, o que ficou conhecido como hipótese da conservação de energia (Feener e Moss, 1990). Entretanto, esta hipótese é pouco aceita pelo fato de não

estar claro o motivo das mínimas saírem do ninho (uma vez que elas não cortam ou carregam folhas) e, também, porque elas se movimentam, gastando energia enquanto estão sobre os fragmentos (Linksvayer et al., 2002). Outra hipótese sugeria que as operárias mínimas permanecem isoladas nos fragmentos cortados pelas forrageiras, por estarem impossibilitadas de descer (Stradling, 1978). Entretanto, sabe-se que as mínimas facilmente sobem e descem dos fragmentos enquanto eles são transportados ao ninho (Linksvayer et al., 2002).

Existem evidências de que as operárias de saúvas, incluindo as mínimas, ingerem a seiva que escorre das folhas cortadas (Littleddyke e Cherrett, 1975, 1976; Stradling, 1978). Como a seiva é um importante recurso nutricional para as operárias (Bass e Cherrett, 1995), Linksvayer et al. (2002) hipotetizaram que as operárias mínimas pegam carona para obter a seiva das folhas. Entretanto, ainda faltam observações diretas de ingestão de seiva pelas mínimas (Linksvayer et al., 2002).

Sabe-se que as operárias mínimas estão envolvidas na preparação do substrato no qual o fungo simbiote cresce e na remoção mecânica de contaminantes do jardim-de-fungo (Weber, 1972; Quinlan e Cherrett, 1977; Bass e Cherrett, 1994; Currie et al., 1999a,b; Currie, 2001a,b; Currie e Stuart, 2001). Baseado nisso e em outras observações, foi proposto que as caronistas poderiam também estar envolvidas na preparação dos fragmentos antes de eles entrarem na colônia. Desta maneira, as formigas poderiam prevenir ou reduzir a chance de contaminação do fungo simbiote por microorganismos potencialmente patogênicos presentes no ambiente (Linksvayer et al. 2002).

Até o momento, não existem estudos que tenham testado simultaneamente mais de uma das hipóteses acima mencionadas. Apesar da possibilidade do comportamento de carona possuir mais de uma função, não se sabe qual delas, se alguma, é a mais importante. Neste estudo, foram testadas experimentalmente as três hipóteses mais importantes propostas para explicar este comportamento em *Atta*: a defesa contra forídeos, a defesa contra patógenos

contaminantes do fungo, e a obtenção de seiva. O uso de um protocolo experimental padronizado para testar cada uma das hipóteses permitiu a avaliação e a comparação da magnitude do efeito de cada um desses fatores (forídeos, contaminantes e seiva) sobre o comportamento de carona.

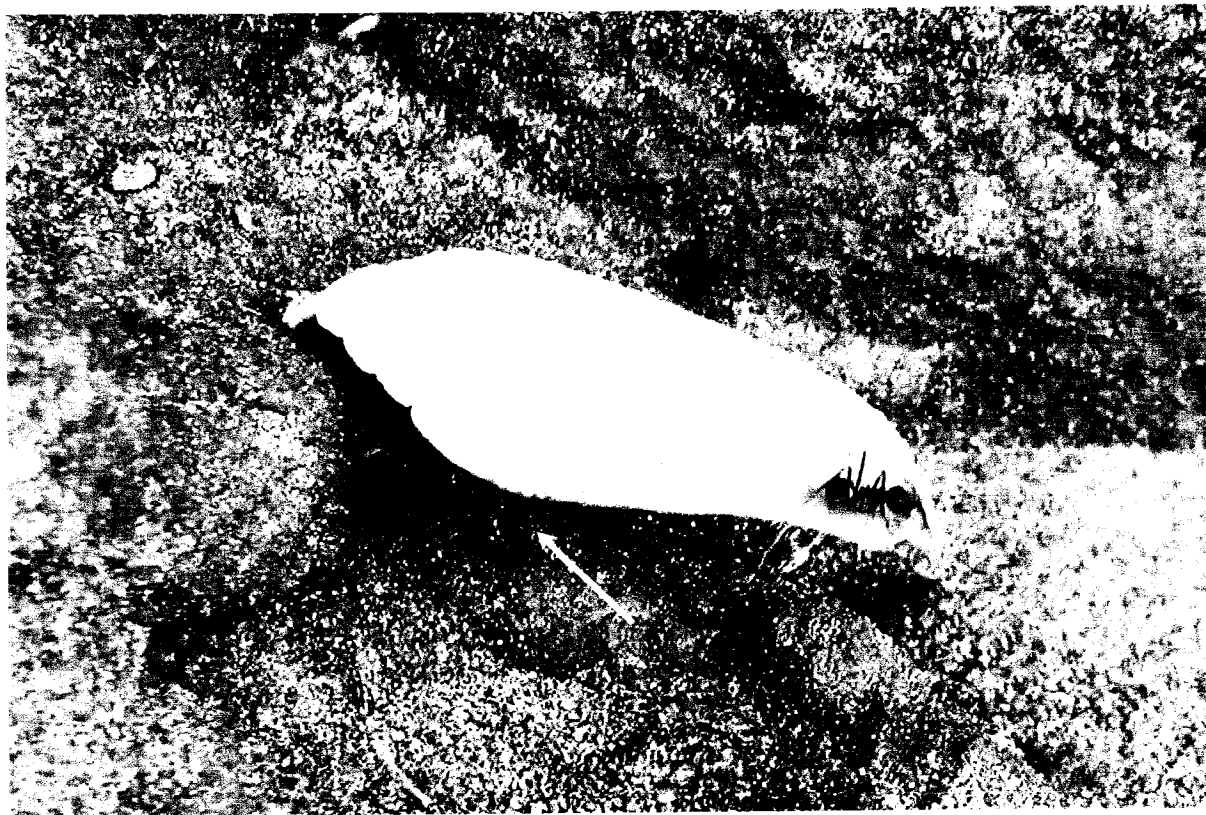


Figura 1. Operária mínima de *A. laevigata* pegando carona em um fragmento de folha carregado por uma operária forrageira (apontada pela seta).

caronistas, foram conduzidos experimentos pareados na ausência (controle) ou na presença (tratamento) de forídeos. Estes experimentos foram realizados com *Neodohrniphora erthali*, única espécie de forídeo encontrada na área de estudo na época de realização desses experimentos.

Foram realizados 10 experimentos pareados com colônias de campo *A. laevigata*, cada um com uma colônia diferente e durante o dia. Em cada experimento uma trilha de forrageamento ativa era selecionada e, subsequentemente, a presença de forídeos era examinada. Na presença de forídeos, foi contado o número de fragmentos com e sem caronistas passando por um ponto fixo da trilha durante 15 min. Em seguida, a(s) mosca(s) era(m) removida(s) e depois de 30 min (uma vez que estudos anteriores demonstraram que a incidência de caronistas aumentava rapidamente 20 min após a introdução experimental de forídeos; Feener e Moss, 1990), a contagem era repetida durante mais 15 min. Durante esse período adicional de 45 min, um segundo observador permanecia próximo à trilha para remover qualquer forídeo que eventualmente se aproximasse.

Com colônias laboratoriais de *A. sexdens* foram realizados 16 experimentos pareados, utilizando-se moscas *N. erthali* coletadas no campo (experimentos com a mesma colônia realizados com pelo menos 24 h de intervalo). Apesar de *N. erthali* ser um importante parasitóide de *A. laevigata* (Bragança et al., 2002), observações laboratoriais indicam que *N. erthali* também ataca operárias de *A. sexdens* (M.A.L. Bragança, comunicação pessoal). Cada forídeo coletado era acondicionado isoladamente em um tubo plástico, com uma bolinha de algodão embebida em uma solução de água com açúcar. O tempo máximo que um forídeo permaneceu dentro de um tubo foi de 6 h. Os experimentos controle consistiam da apresentação de uma folha fresca de *Hibiscus* (Malvaceae) à colônia e da contagem do número de fragmentos cortados com e sem caronistas passando por um ponto fixo da trilha, até que o último fragmento de folha passasse. Para os experimentos tratamento, o mesmo

procedimento era adotado, mas na presença de uma mosca forídeo, para reproduzir a situação encontrada em nossa área de estudo. O forídeo era liberado na arena de forrageamento e o experimento só começava se a mosca atacasse uma operária durante um período de observação inicial de 15 min. A mosca geralmente começava a atacar assim que era liberada, mas aquelas que não atacavam eram substituídas e o procedimento era repetido.

2.3. Experimentos para testar a hipótese de obtenção de seiva

Para determinar se a presença ou ausência de seiva nos fragmentos de folhas influenciam a ocorrência e o comportamento das caronistas, foram conduzidos experimentos pareados com folhas frescas (com seiva) e secas (sem seiva). Para os 13 experimentos pareados com colônias laboratoriais de *A. sexdens*, foram oferecidas folhas de *Hibiscus*. Os experimentos controle consistiram da apresentação de uma única folha fresca (coletada até 30 min antes do experimento) à colônia, com subsequente contagem dos fragmentos cortados com e sem caronistas passando pelo ponto fixo da trilha, até que o último fragmento passasse. O procedimento era o mesmo para os experimentos tratamento, mas utilizando folhas que secaram naturalmente durante 24 h após sua coleta. Os experimentos com uma mesma colônia eram realizados com pelo menos 24 h de intervalo.

Para os experimentos com colônias de campo de *A. laevigata*, foi aproveitado o fato de que essas formigas naturalmente carregam uma variedade de partes de plantas para a colônia, incluindo folhas frescas, folhas secas, flores, frutos e ramos. Foi contado então, durante 15 min, o número de fragmentos de folhas frescas e secas, com e sem caronistas, passando por um ponto fixo da trilha. Estas observações foram replicadas 32 vezes (21 durante o dia e 11 durante a noite), cada vez usando uma colônia diferente. Uma vez que a incidência de caronistas em fragmentos de folhas frescas ou secas não diferiu entre o dia e a noite (*fresco: t*

= 0,54, gl = 30, p = 0,592; *seco*: t = 1,57, gl = 30, p = 0,126), os dados de experimentos diurnos e noturnos foram combinados. O número mínimo de fragmentos contados em uma dada observação foi de 89 para fragmentos frescos e 47 para fragmentos secos.

Eventuais diferenças no peso entre fragmentos de folhas frescas e secas poderiam afetar o transporte pelas operárias forrageiras, e assim indiretamente afetar a incidência de caronistas. Por essa razão, a velocidade (cm.s^{-1}) e o número de vezes em que o fragmento era derrubado pela operária foram comparados entre operárias carregando fragmentos frescos ou secos. Para isso, foi marcada uma seção (1 m em comprimento) da trilha, distante 3 m da entrada do ninho (olheiro). Foi então determinado o tempo gasto (em segundos) pela operária carregadora, assim como o número de vezes que a operária derrubava o fragmento. Foram seguidas 50 operárias (25 operárias para cada tipo de fragmento) em trilhas de duas colônias de campo maduras de *A. laevigata*, totalizando 100 operárias. Apenas as operárias carregando fragmentos sem caronistas foram consideradas para esta análise.

2.4. Experimentos para testar a hipótese de defesa contra contaminantes do fungo

Para testar esta hipótese, flocos de Corn Flakes[®] foram contaminados com fungo (Zygomycota: *Rhizopus* sp.) obtido de pão embolorado. Com a utilização de uma pequena espátula, foi colocada uma fina camada de fungo em ambos os lados de cada floco, normalmente na parte mais central do floco. Flocos limpos foram estabelecidos como controles. Nos testes com *A. laevigata* foi também utilizado um segundo controle, que consistiu de flocos impregnados com uma substância inerte. Para isso, pequenas quantidades de talco inerte (industrial: sem cheiro) foram colocadas em cada lado dos flocos, como descrito acima. Este segundo controle nos permitiu testar se as caronistas estavam sendo atraídas aos flocos devido à presença de fungos contaminantes *per se*, ou se as caronistas

eram atraídas pela presença de qualquer substância estranha na superfície do fragmento, sendo esta substância um contaminante ou não.

No total, foram realizados 21 testes com *A. laevigata* (cada um com uma colônia diferente e durante o dia) e 17 testes com as duas colônias laboratoriais de *A. sexdens* (experimentos com a mesma colônia realizados em dias diferentes). Em cada experimento, 10 flocos de cada categoria tratamento ou controle eram oferecidos à colônia. A ordem de apresentação era aleatória, e o grupo subsequente de flocos era apresentado 20 min depois da remoção do último floco do grupo anterior. Os flocos eram colocados em duas linhas de cinco flocos cada, e ficavam separados um do outro por uma distância de 10 cm. Para colônias de campo, os flocos eram alinhados no limite lateral da trilha, a 3 m de distância do olheiro, enquanto que para colônias laboratoriais, os flocos eram colocados na arena de forrageamento.

2.5. Posições das caronistas nos fragmentos

Em todos os experimentos descritos acima foi anotada a posição de cada caronista enquanto estava sobre o fragmento. De modo geral, os fragmentos observados, incluindo aqueles de folhas secas, não possuíam as bordas “curvadas”, o que possibilitou a discriminação de duas seções (centro e borda) em ambos os lados dos fragmentos. Quando um fragmento continha mais de uma caronista, a posição de cada caronista era determinada. Com base em observações preliminares, foi possível distinguir as seguintes posições (atos comportamentais): (1) andando, quando a formiga caronista se deslocava por toda a superfície do fragmento, sem parar em nenhum local em particular; (2) na borda, quando a caronista permanecia imóvel na borda do fragmento; e (3) no centro, quando a caronista permanecia imóvel no centro do fragmento. Cada operária caronista foi observada durante pelo menos 20 s por dois observadores, para checar possíveis mudanças na posição da(s) caronista(s) durante

esse intervalo de tempo. Quando uma caronista mudava sua posição, esta era registrada como “andando”. Também foram feitas tentativas de observação de alguns comportamentos específicos das mínimas, como por exemplo, a cabeça para cima ou para baixo (“head-up and head-down behaviour”; Linksvayer et al., 2002) ou o comportamento de lambear o substrato (“licking behaviour”; Weber, 1972). Entretanto, essas observações específicas demandavam tempo e eram difíceis de ser conduzidas durante a noite, então foi decidido não prosseguir com elas.

2.6. Análises estatísticas

Para cada ensaio, foi calculada a porcentagem de fragmento de folhas (ou Corn Flakes) com caronistas. Foi usado o teste-t pareado ou a análise de variância (ANOVA) para blocos casuais para comparar as diferenças na porcentagem de fragmentos com caronistas entre os grupos controle e tratamento. Foram realizados testes separados para cada uma das hipóteses testadas e para cada espécie de formiga. Comparações da velocidade (cm.s^{-1}) e do número de vezes em que o fragmento era derrubado entre operárias carregando fragmentos frescos ou secos foram realizadas usando o teste-t e o teste de Mann-Whitney, respectivamente. Para determinar se havia diferenças nas posições das caronistas nos fragmentos entre os grupos controle e tratamento, foi usada a ANOVA de dois fatores para blocos casuais, considerando a posição e o tratamento como variáveis independentes (fatores fixos), testes como blocos (fator casual), e o número de caronistas como a variável dependente. Como é usual neste tipo de análise, o efeito do bloco não foi testado (Zar, 1984). Quando necessário, os dados eram transformados em arcosseno ou $\log(x + 1)$ (Zar, 1984) antes das análises para respeitar as premissas de normalidade dos testes.

3. RESULTADOS

3.1. Ensaios experimentais

Considerando todos os experimentos, a porcentagem média de forrageiras carregando fragmentos com caronistas foi de 32,6 % ($\pm 0,02$ EP) para colônias de campo (*A. laevigata*) e de 23,9 % ($\pm 0,02$ EP) para colônias de laboratório (*A. sexdens*). Na maioria dos casos (aprox. 80 %) havia mais de uma caronista por fragmento. As caronistas subiam e desciam dos fragmentos de folhas no local de corte e também ao longo da trilha de forrageamento, quando os fragmentos eram derrubados pelas operárias forrageiras durante o transporte.

Para colônias de campo a proporção de fragmentos com caronistas não aumentou significativamente na presença de forídeos ($t = 1,44$, $gl = 9$, $p = 0,183$), mas aumentou quando os fragmentos tinham seiva ($t = 4,09$, $gl = 31$, $p < 0,001$) e quando havia fungos contaminantes nos fragmentos ($F_{2,40} = 72,08$, $p < 0,001$). A presença de fungos contaminantes proporcionou a maior resposta das caronistas. A proporção de fragmentos com caronistas foi entre 4 e 6 vezes maior em fragmentos contaminados do que naqueles livres de contaminantes ou com talco inerte (Fig. 2A). Em contraste, a presença de forídeos praticamente não alterou a proporção de fragmentos com caronistas (Fig. 2A). O efeito da seiva foi maior que o causado por forídeos, resultando em um aumento de 1.48 vezes na proporção de fragmentos frescos com caronistas em relação a fragmentos secos (sem seiva). Esta diferença não pode ser atribuída a diferenças na velocidade das forrageiras carregando fragmentos frescos ou secos, uma vez que a velocidade foi independente do tipo de fragmento (Média $\pm$ EP: *fresco* = $3,59 \pm 0,12$ cm.s⁻¹; *seco* = $3,71 \pm 0,10$ cm.s⁻¹; $t = 0,75$, $gl = 98$, $p = 0,456$). O tipo de fragmento também não afetou significativamente o número de vezes que o fragmento foi derrubado pela operária forrageira (Média $\pm$ EP: *fresco* = $1,18 \pm 0,18$ quedas.m⁻¹; *seco* = $1,10 \pm 0,19$

quedas.m⁻¹; Teste de Mann-Whitney, $U = 1301,5$, $n_1 = n_2 = 50$, $p = 0,708$).

Resultados similares foram obtidos com colônias laboratoriais de *A. sexdens* (Fig. 2B), apesar de que, para essa espécie de formiga, a presença de forídeos resultou em um pequeno, porém significativo, aumento na proporção de fragmentos com caronistas ($t = 5,33$, $gl = 15$, $p = 0,043$). Os dois tratamentos restantes também foram significativos (*seiva*: $t = 3,27$, $gl = 12$, $p = 0,003$; *contaminantes do fungo*: $t = 13,73$, $gl = 16$, $p < 0,001$) e aqui novamente a magnitude do efeito foi maior para contaminantes do fungo do que para seiva (Fig. 2B).

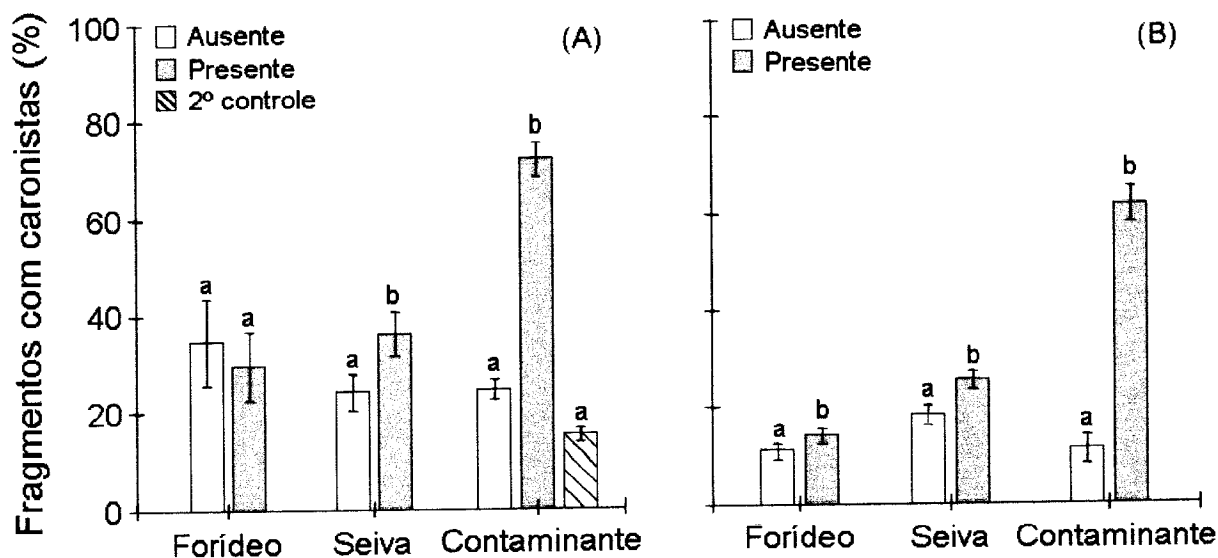


Figura 2. Porcentagem média (± 1 EP) de fragmentos com caronistas na presença ou ausência de forídeos, seiva, ou contaminantes em testes com colônias de (A) *Atta laevigata* e (B) *A. sexdens*. Para cada situação (i.e., com ou sem forídeos, com ou sem seiva, e com ou sem contaminantes), as letras acima das barras representam medias que são significativamente diferentes uma da outra. Segundo controle refere-se a fragmentos que foram impregnados com talco inerte (para maiores detalhes ver texto).

3.2. Posições das caronistas nos fragmentos

O número de caronistas em uma dada posição no fragmento variou de acordo com o tratamento aplicado, isto é, quando forídeos, contaminantes do fungo ou seiva estavam presentes ou não (ANOVA, interação posição*tratamento com $p < 0.05$ para ambas as espécies de formiga e para todos os diferentes tratamentos aplicados; Tabela 1). Na presença de forídeos, houve uma tendência das caronistas serem encontradas mais frequentemente andando sobre o fragmento do que paradas na borda ou no centro do fragmento (Fig. 3A,D). Nos fragmentos controle, isto é, fragmentos de folhas frescas sem forídeos ao redor, as caronistas foram encontradas com maior frequência na borda dos fragmentos do que nas duas posições restantes (Fig. 3A,D). Nos experimentos testando o efeito da seiva, (isto é, folhas frescas *versus* folhas secas), foi encontrado que na presença de seiva as caronistas permaneciam mais frequentemente na borda dos fragmentos, aparentemente ingerindo seiva; por outro lado, quando a seiva não estava presente, as caronistas permaneciam no centro dos fragmentos (Fig. 3B,E). Finalmente, foi observado que em flocos contaminados, as caronistas eram frequentemente encontradas no centro dos flocos, enquanto nos flocos controle (limpos ou com talco inerte) as caronistas normalmente ficavam andando sobre o floco (Fig. 3C,F).

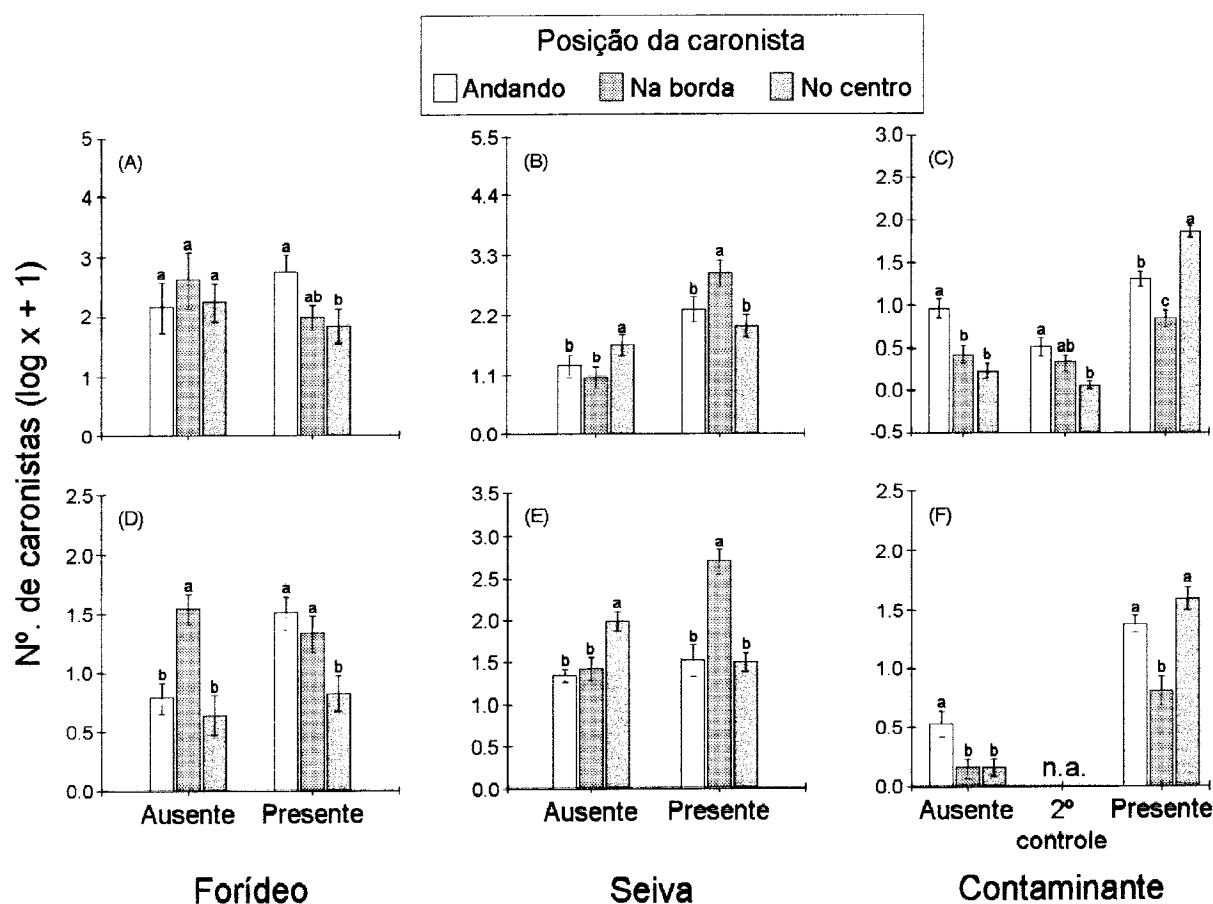


Figura 3. Posição das caronistas em fragmentos de plantas como uma função da presença ou ausência de forídeos, seiva ou contaminantes em testes com colônias de (A-C) *Atta laevigata* e (D-F) *A. sexdens*. As barras representam o número médio (± 1 EP) de caronistas em três diferentes posições: andando no fragmento, parada na borda do fragmento, ou parada no centro do fragmento. Para cada situação (i.e., com ou sem forídeos, com ou sem seiva, e com ou sem contaminantes), as letras acima das barras representam médias que são significativamente diferentes uma da outra (Tukey HSD Multiple Comparisons test, $p < 0,05$). Segundo controle refere-se a fragmentos que foram impregnados com talco inerte (para maiores detalhes ver texto). N.a. = não aplicável.

4. DISCUSSÃO

4.1. Defesa contra parasitóides

A defesa contra parasitóides tem sido frequentemente colocada como uma importante função do comportamento de carona (Eibl-Eibesfeldt e Eibl-Eibesfeldt, 1967; Eibl-Eibesfeldt, 1967; Feener e Moss, 1990). Entretanto, foram encontradas apenas evidências limitadas de maior incidência de caronistas na presença de forídeos. Os testes na presença de forídeos resultaram apenas em um pequeno aumento no número de caronistas (para *A. sexdens*) ou em nenhum aumento (para *A. laevigata*), comparativamente a testes nos quais os forídeos foram excluídos. Estes resultados contrastam com aqueles de Feener e Moss (1990), que mostraram que para *A. colombica* a incidência de caronistas é muito maior na presença do que na ausência de forídeos. Entretanto, enquanto Feener e Moss (1990) normalmente encontraram 15-20 forídeos próximo às trilhas de *A. colombica*, aqui raramente era encontrado mais do que um forídeo próximo às trilhas de *A. laevigata*. Além disso, a espécie que parasita *A. colombica* normalmente pousa no fragmento de folha antes do ataque (Feener e Moss, 1990), comportamento encontrado apenas entre as espécies do gênero *Apocephalus*, mas não em todas elas. Por exemplo, *A. attophilus*, que é a espécie mais comum de *Apocephalus* que parasita *A. sexdens* e *A. laevigata* em muitas partes do Brasil (Erthal e Tonhasca, 2000; Bragança e Medeiros, no prelo), ataca diretamente as operárias enquanto elas estão cortando folhas (Bragança e Medeiros, no prelo). De maneira similar, a espécie usada neste estudo, *N. erthali*, diretamente ataca operárias, mais frequentemente operárias sem carga que estão saindo do ninho (Bragança et al., 2002). Estudos experimentais com *Neodohrniphora tonhascai* geraram resultados muito semelhantes a este; na presença de forídeos, a proporção de fragmentos com caronistas foi apenas 3% maior do que na ausência de forídeos (Bragança

et al., 1998). Portanto, apesar de as caronistas serem muito importantes na defesa das carregadoras de folhas contra algumas espécies de forídeos, particularmente aquelas que pousam no fragmento antes do ataque, elas parecem ter importância menor contra as espécies de forídeos remanescentes. Variações na incidência de caronistas na presença de parasitóides podem ser, portanto, devidas simplesmente a diferenças comportamentais entre as espécies de forídeos. Para testar esta hipótese é necessário um estudo futuro comparando a incidência de caronistas na presença de parasitóides com diferentes estratégias de ataque.

4.2. Obtenção de seiva

Os resultados deste estudo indicam que a obtenção de seiva pelas mínimas é uma possível função do comportamento de carona em *A. sexdens* e *A. laevigata*. Para estas duas espécies de formigas a proporção de fragmentos com caronistas foi significativamente maior em fragmentos de folhas frescas do que naqueles de folhas secas. Estas diferenças não podem ser atribuídas a eventuais diferenças na qualidade do material vegetal, dado que em experimentos com colônias laboratoriais, fragmentos de folhas frescas e secas eram oriundos do mesmo indivíduo. De maneira similar, uma vez que todos os testes foram conduzidos na ausência de forídeos, diferenças na proporção de caronistas entre folhas frescas e secas não podem ser atribuídas a parasitóides. Estudos anteriores com *A. cephalotes*, em contraste, rejeitaram a hipótese de obtenção de seiva (Linksvayer et al., 2002). Isto foi devido ao fato de que as caronistas não foram observadas ingerindo seiva (Linksvayer et al., 2002). Apesar de observações diretas de ingestão de seiva também não terem sido realizadas neste estudo, diferenças na posição das caronistas entre fragmentos de folhas secas e frescas sugerem fortemente que a ingestão de seiva pelas caronistas de fato ocorre. Enquanto nos fragmentos de folhas secas as caronistas foram frequentemente encontradas no centro dos fragmentos, nos

fragmentos de folhas frescas elas eram encontradas quase sempre na borda do fragmento, exatamente de onde a seiva escorre. Estudos usando radioisótopos mostraram que as mínimas ingerem seiva de folhas no site de corte (Littleddyke e Cherrett, 1976), então é provável que elas também ingiram seiva dos fragmentos destacados de folhas frescas.

4.3. Defesa contra contaminantes do fungo

Sabe-se que as operárias mínimas de *Atta* desempenham importantes funções na manutenção do jardim-de-fungo, incluindo a limpeza e incorporação de novos substratos ao fungo (Quinlan e Cherrett, 1977; Bass e Cherrett, 1994). Assim, as mínimas poderiam pegar carona para limpar o fragmento ainda antes de sua entrada no ninho, removendo contaminantes em potencial (Stahel, 1943; Weber, 1972), e/ou substâncias repelentes, como ceras cuticulares, da superfície das folhas (Sugayama e Salatino, 1995). Como a sobrevivência da colônia depende da habilidade das operárias em manter o fungo simbiote saudável e crescendo (Chapela et al., 1994; Mueller et al., 1998; Currie e Stuart, 2001; Currie et al., 2003), poderia ser vantajoso para a colônia inspecionar e limpar novos substratos enquanto esses estão sendo transportados, ao invés de executar essas ações dentro do ninho, onde a probabilidade de contaminação do fungo é maior.

A hipótese de que as mínimas pegam carona para inspecionar e limpar a superfície da folha é fortemente suportada por esse estudo, uma vez que a proporção de fragmentos com caronistas foi de 4 a 6 vezes maior em fragmentos experimentalmente impregnados com bolor de pão do que em fragmentos limpos ou naqueles impregnados com uma substância inerte. Além disso, as posições das caronistas também suportam esta hipótese, uma vez que elas foram encontradas quase que exclusivamente no centro de fragmentos contaminados, onde a contaminação era maior, enquanto nos fragmentos limpos ou com talco inerte as mínimas

ficavam andando. Entretanto, deve ser enaltecido que o nível de contaminação nos experimentos foi alto, provavelmente maior do que na maioria das situações que as formigas encontram em condições naturais. Isto pode ter superestimado a importância da hipótese de inspeção e limpeza do substrato, uma vez que a alta concentração de fungos contaminantes pode ter atraído um número maior, e incomum, de caronistas. Mesmo assim, os experimentos claramente indicam que a inspeção e limpeza do substrato é uma importante função das caronistas. Como Linksvayer et al. (2002) apontaram, apesar de parecer custoso à colônia designar mínimas para andar toda a trilha até o site de corte para desempenhar esta função, o benefício de prevenir a contaminação do jardim-de-fungo pode ser grande o bastante para compensar o custo.

5. CONCLUSÕES

Este estudo sugere que o comportamento de carona em *Atta* tem múltiplas funções, que incluem tanto funções defensivas como nutricionais. Entretanto, a obtenção de nutrientes (seiva) pelas mínimas parece ser uma função secundária e talvez oportunística desse comportamento. Isto porque parece improvável que as mínimas deixariam o ninho apenas para obter seiva, dado os inerentes custos envolvidos em andar toda a trilha até o site de corte (i.e., custos de locomoção, risco de predação e dessecação) e devido ao fato de que as mínimas também ingerem seiva durante a preparação dos substratos dentro do ninho (Littledyke e Cherrett, 1976).

Apesar das evidências apenas limitadas de maior incidência de caronistas na presença de forídeos, isto não significa que o comportamento de carona não seja um importante mecanismo de defesa contra parasitóides. Na verdade é um mecanismo importante, mas provavelmente apenas contra algumas espécies como *Apocephalus colombicus* e *A. vicosae*, que pousam nos fragmentos de folhas para ter acesso às operárias hospedeiras (Feener e Moss, 1990; Disney e Bragança, 2000; Bragança e Medeiros, no prelo). Entretanto, dado que a maioria dos forídeos parasitóides de *Atta* não são como *A. colombicus* e *A. vicosae* e que o comportamento de carona ocorre até mesmo durante a noite (Linksvayer et al., 2002), quando estas espécies geralmente não estão ativas, parece que na maioria dos casos a limpeza das folhas é a função primária do comportamento de carona.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

- Autuori M. 1941. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp.) (Hymenoptera-Formicidae) I. Evolução do saueiro (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908). *Arq. Inst. Biol.* **12**: 197-229
- Bass M. e Cherrett J.M. 1994. The role of leaf-cutting ant workers (Hymenoptera: Formicidae) in fungus garden maintenance. *Ecol. Entomol.* **19**: 215-220
- Bass M. e Cherrett J.M. 1995. Fungal hyphae as a source of nutrients for the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. *Physiol. Entomol.* **20**: 1-6
- Borgmeier O.F.M.T. 1931. Sobre alguns phorideos que parasitam a saúva e outras formigas cortadeiras (Diptera, Phoridae). *Arch. Inst. Biol. São Paulo* **4**: 209-228
- Bragança M.A.L. e Medeiros Z.C.S. No prelo. Ocorrência e características biológicas de forídeos parasitóides (Diptera: Phoridae) da saúva *Atta laevigata* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) em Porto Nacional, Tocantins, Brasil. *Neotrop. Entomol.*
- Bragança M.A.L., Tonhasca A. Jr. e Della Lucia T.M.C. 1998. Reduction in the foraging activity of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* caused by the phorid *Neodohrniphora* sp. *Entomol. Exper. Appl.* **89**: 305-311
- Bragança M.A.L., Tonhasca A. Jr. e Moreira D.D.O. 2002. Parasitism characteristics of two phorid fly species in relation to their host, the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotrop. Entomol.* **31**: 241-244
- Brown B.V. 1997. Revision of the *Apocephalus attophilus*-group of ant-decapitating flies (Diptera: Phoridae). *Contr. Sci.* **468**: 1-60
- Brown B.V. 1999. Differential host use by Neotropical phorid flies (Diptera: Phoridae) that are parasitoids of ants (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* **33**: 95-103

¹ Adaptado do modelo de referências do periódico científico *Insectes Sociaux*

- Brown B.V. 2001. Taxonomic revision of *Neodohrniphora*, subgenus *Eibesfeldtphora* (Diptera: Phoridae). *Insect. Syst. Evol.* **32**: 393-409
- Chapela I.H., Rehner S.A., Schultz T.R. e Mueller U.G. 1994. Evolutionary history of the symbiosis between fungus-growing ants and their fungi. *Science* **266**: 1691-1694
- Currie C.R. 2001a. A Community of ants, fungi, and bacteria: a multilateral approach to studying symbiosis. *Annu. Rev. Microbiol.* **55**: 357-380
- Currie C.R. 2001b. Prevalence and impact of a virulent parasite on a tripartite mutualism. *Oecologia* **128**: 99-106
- Currie C.R., Mueller U.G. e Malloch D. 1999a. The agricultural pathology of ant fungus gardens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**: 7998-8002
- Currie C.R., Scott J.A., Summerbell R.C. e Malloch D. 1999b. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. *Nature* **398**: 701-704
- Currie C.R. e Stuart A.E. 2001. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol.]* **268**: 1033-1039
- Currie C.R., Wong B., Stuart A.E., Schultz T.R., Rehner S.A., Mueller U.G., Sung G.-H., Spatafora J.W. e Straus N.A. 2003. Ancient tripartite coevolution in the Attine ant-microbe symbiosis. *Science* **299**: 386-388
- Disney R.H.L. e Bragança M.A.L. 2000. Two new species of Phoridae (Diptera) associated with leaf cutter ants (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* **36**: 33-39
- Eibl-Eibesfeldt I. e Eibl-Eibesfeldt E. 1967. Das Parasitenabwehren der Minima-Arbeiterinnen der Blattschneider-Ameise (*Atta cephalotes*). *Z. Tierpsychol.* **24**: 278-281
- Eibl-Eibesfeldt I. 1967. On the guarding of leafcutter ants by minima-workers. *Naturwissenschaften* **54**: 346

- Erthal M. Jr. e Tonhasca A. Jr. 2000. Biology and oviposition behavior of the phorid *Apocephalus attophilus* and the response of its host, the leaf-cutting ant *Atta laevigata*. *Entomol. Exp. Appl.* **95**: 71-75
- Feener D.H. Jr. e Brown B.V. 1993. Oviposition behaviour of an ant-parasitizing fly, *Neodohrniphora curvinervis* (Diptera: Phoridae), and defense behaviour by its leaf-cutting ant host *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Insect Behav.* **6**: 675-688
- Feener D.H. Jr. e Moss K.A.G. 1990. Defense against parasites by hitchhikers in leaf-cutting ants: a quantitative assessment. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **26**: 17-29
- Hart A.G., Anderson C. e Ratnieks F.J.W. 2002. Task partitioning in leaf-cutting ants. *Acta Ethol.* **5**: 1-11
- Hölldobler B. e Wilson E.O. 1990. *The ants*. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 732 pp
- Linksvayer T.A., McCall A.C., Jensen R.M., Marshall C.M., Miner J.W. e Mckone M.J. 2002. The function of hitchhiking behaviour in the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. *Biotropica* **34**: 93-100
- Littledyke M. e Cherrett J.M. 1975. Variability in the selection of substrate by the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae, Attini). *Bull. Entomol. Res.* **65**: 33-47
- Littledyke M. e Cherrett J.M. 1976. Direct ingestion of plant sap from cut leaves by the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae, Attini). *Bull. Entomol. Res.* **66**: 205-217
- Mueller U.G., Rehner S.A. e Schultz T.R. 1998. The evolution of agriculture in ants. *Science* **281**: 2034-2038

- Orr M.R. 1992. Parasitic flies (Diptera: Phoridae) influence foraging rhythms and caste division of labour in the leaf-cutter ant, *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* **30**: 395-402
- Quinlan R.J. e Cherrett J.M. 1977. The role of substrate preparation in the symbiosis between the leaf cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) and its food fungus. *Ecol. Entomol.* **2**: 161-170
- Roces F. e Hölldobler B. 1995. Vibrational communication between hitchhikers and foragers in leaf-cutting ants (*Atta cephalotes*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* **37**: 297-302
- Roces F. e Hölldobler B. 1996. Use of stridulation in foraging leaf-cutting ants: mechanical support during cutting or short-range recruitment signal? *Behav. Ecol. Sociobiol.* **39**: 293-299
- Roces F., Tautz J. e Hölldobler B. 1993. Stridulation in leaf-cutting ants: short-range recruitment through plant borne vibrations. *Naturwissenschaften* **80**: 521-524
- Stahel G. 1943. The fungus gardens of the leaf-cutting ants. *J. N.Y. Bot. Garden* **44**: 245-253
- Stradling D.J. 1978. The influence of size on foraging in the ant, *Atta cephalotes*, and the effect of some plant defense mechanisms. *J. Anim. Ecol.* **47**: 173-188
- Sugayama R.L. e Salatino A. 1995. Influence of leaf epicuticular waxes from cerrado species on substrate selection by *Atta sexdens rubropilosa*. *Entomol. Exp. Appl.* **74**: 63-69
- Weber N.A. 1972. Gardening ants, the attines. *Mem. Amer. Philos. Soc.* **92**: 1-146
- Wilson E.O. 1980. Caste and division of labour in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). I. The overall pattern in *Atta sexdens*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **7**: 143-156
- Wirth R., Beyschlag W., Ryel R.J. e Hölldobler B. 1997. Annual foraging of the leaf-cutting ant *Atta colombica* in a semideciduous rain forest in Panama. *J. Trop. Ecol.* **13**: 741-757

7. ANEXO

7.1. Normas de referências do periódico científico *Insectes Sociaux*

Editorial Policy

Insectes Sociaux is the Journal of the International Union for the Study of Social Insects (IUSSI). It publishes original reviews, research papers and short communications on all aspects related to the biology and evolution of social insects and other presocial arthropods. The various areas it covers include Ecology, Ethology, Morphology, Systematics, Population Genetics, Reproduction, Communication, Sociobiology, Caste Differentiation and Social Parasitism.

References

The references should follow the acknowledgements and should include only those publications which are cited in the text. Papers in "press" may be cited provided the publishing journal is named. Unpublished results, papers submitted or in preparation and personal communications must be mentioned in the text only; they are not to be included in the reference list. They should be arranged alphabetically (with citation in the text by name and year in brackets) and presented as follows:

Reference to article in journal:

Hartmann A., Wantia J. and Heinze J. 2005. Facultative sexual reproduction in the parthenogenetic ant *Playthyrea punctata*. *Insect. Soc.* **52**: 155-162

Reference to book:

Michener C.D. 2000. *The Bees of the World*. John Hopkins University Press, Baltimore London. 913 pp

Reference to chapter in book:

Kaspari M. and Majer J.D. 2000. Using ants to monitor environmental changes. In: *Ants: Standard Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity* (Agosti D., Majer J., Alonso L.A. and Schultz T., Eds), Smithsonian Institution Press, Washington London. pp 89-98