

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

Variação do modelo arquitetônico de *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890): Relação química e nível de tolerância intercolonial como pista para comportamento polidômico.

Nathan Rodrigues Batista

Dourados-MS
Março-2019

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

Nathan Rodrigues Batista

VARIAÇÃO DO MODELO ARQUITETÔNICO DE *Acromyrmex
balzani* (EMERY, 1890): RELAÇÃO QUÍMICA E NÍVEL DE
TOLERÂNCIA INTERCOLONIAL COMO PISTA PARA
COMPORTAMENTO POLIDÔMICO.

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.

Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação

Orientador(a): Dr. William Fernando Antonialli Junior

Dourados-MS
Março-2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

B5333v Batista, Nathan Rodrigues
Variação do modelo arquitetônico de *Acromymex balzani* (Emery, 1890): Relação química e nível de tolerância intercolonial como pista para comportamento polidômico. [recurso eletrônico] / Nathan Rodrigues Batista. -- 2019.
Arquivo em formato pdf.

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

1. Arquitetura de ninho. 2. Agressividade. 3. *Acromymex balzani*. 4. Hidrocarbonetos cuticulares. I. Antonialli Junior, William Fernando . II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

**"VARIÇÃO DE MODELO ARQUITETÔNICO DE *Acromyrmex balzani* (EMERY, 1890):
RELAÇÃO QUÍMICA E NÍVEL DE TOLERÂNCIA INTERCOLONIAL COMO PISTA
PARA COMPORTAMENTO POLIDÔMICO".**

Por

NATHAN RODRIGUES BATISTA

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



Dr. William Fernando Antonialli Junior
Orientador/Presidente - UEMS



Dr. Márlon César Pereira
Membro titular - UEMS



Dr. Wedson Desiderio Fernandes
Membro titular - UFGD

Aprovada em: 08 de março de 2019

Biografia do Acadêmico

Nathan Rodrigues Batista, natural de Andradina – São Paulo nascido no dia 06 de abril de 1990, Filho de Darci Rodrigues Neves e Nelson Batista Filho.

Cursou o ensino fundamental na escola Dr. Youssef Neif Kassab – Castilho/SP e o Ensino Médio na Escola Estadual Armel Miranda – Castilho/SP.

Graduado em Ciências Biológicas - Bacharelado pela Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS, Unidade de Dourados 2013-2016, na qual foi aluno de iniciação científica por 3 anos (2014/2016) desenvolvendo trabalhos relacionados a ecologia química e comunicação visual em vespas sociais.

Agradeço,

Primeiramente agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior por estar presente desde o meu engatinhar no desenvolvimento do conhecimento científico, pela confiança, imensa paciência, dedicação para ler, debater e trocar ideias relacionadas a pesquisa e ciência, bem como a assuntos do dia-dia. Saiba que cada palavra foi guardada e que deste convívio é forjado os alicerces do profissional que busco me tornar.

À Dinorah pelo tempo e paciência ao me auxiliar durante dias na utilização da técnica de FTIR.

Aos alunos de iniciação científica Vinicius e Kleber que me auxiliaram na escavação dos ninhos, valeu pela força!

Agradeço também à Prof. Dr. Wedson Desidério, Dr. Márlon César Pereira e Dr.^a Michele Castro de Paula pela participação em minhas bancas examinadoras, bem como pelas sugestões feitas para melhora de minha dissertação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados pela oportunidade.

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul e ao Laboratório de Ecologia Comportamental- LABECO pelo apoio técnico.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

À minha família, principalmente a minha mãe Darci, meu pai Nelson, minha irmã Débora e meus sobrinhos Fares, Camily e Davi, meus pilares, os quais não tenho palavras para expressar tamanha gratidão.

À minha namorada Dâmaris por ser uma parceira maravilhosa que esteve junto a mim durante todo este processo, sendo uma base de companheirismo e compreensão.

À Me. Denise Sguarizi Antonio e a Dr.^a Rafaella Caroline Bernardi pela ajuda na realização das análises e confecção dos gráficos de FTIR, além da disposição em gastar parte dos seus tempos para me ajudar, serei sempre grato.

A todos meus amigos e amigas de laboratório Angélica, Anitta, Dailson, Denise, Eva, Ingrid, Junior, Marlon, Michele, Poliana e Viviana não só pelos momentos bons e de descontração em nossas confraternizações e almoços bem-humorados, mas também pelos momentos de crises que passamos juntos que com certeza contribuíram para o nosso crescimento.

Agradeço aos “brothers” Alex, Rodrigo, Jackson, Rafael, Patrick, Adailton e Welinson. Irmãos que trago no peito desde a graduação, pelas gargalhadas e reencontros que tivemos neste tempo pós-graduação.

Aos meus consagrados amigos de banda, Graça, Dunha e Will que tiveram um papel importantíssimo para minha saúde mental se manter estável, tanto pela música que fazemos juntos, quanto pelas gargalhadas e esbórnias que tive o prazer de participar com vocês neste período.

Aos meus eternos amigos que trago desde a infância e adolescência: Renan, Francisco, Diego, Tiago, Alisson, Hilton e Flavio que independentemente da distância estavam presentes sempre que precisava de um ombro amigo, cada reencontro que tivemos foi de grande valia para mim.

Por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu desenvolvimento como ser humano.

Dedicatória

À Darci Rodrigues Neves e Silva,
nenhum passo seria possível
sem sua confiança em meu potencial
e amor por minha pessoa.
Dedico.

SUMÁRIO

VARIAÇÃO DE MODELO ARQUITETÔNICO DE <i>Acromyrmex balzani</i> (EMERY, 1890): RELAÇÃO QUÍMICA E NÍVEL DE TOLERÂNCIA INTERCOLONIAL COMO PISTA PARA COMPORTAMENTO POLIDÔMICO.....	1
Resumo Geral.....	1
VARIATION OF THE ARCHITECTURAL MODEL OF <i>Acromyrmex balzani</i> (EMERY, 1890): CHEMICAL RELATIONSHIP AND LEVEL OF INTERCOLONIAL TOLERANCE AS A TRACK FOR POLYDOMIC BEHAVIOR	2
Abstract.....	2
Introdução Geral.....	3
Revisão Bibliográfica	
<i>Arquitetura de ninhos subterrâneos em formicidae</i>	4
<i>Reconhecimento e hidrocarbonetos cuticulares entre formigas</i>	6
Objetivo Geral.....	9
Hipóteses.....	9
Referências bibliográficas.....	10
Varição de modelo arquitetônico de <i>Acromyrmex balzani</i> (Emery, 1890): Relação química e nível de tolerância intercolonial como pista para comportamento polidômico.....	17
Introdução.....	18
Materiais e métodos.....	21
Resultados.....	25
Discussão.....	28
Conclusão.....	34
Referências bibliográficas.....	35

* Dissertação formatada de acordo com as normas da revista Neotropical Entomology.

VARIAÇÃO DE MODELO ARQUITETÔNICO DE *Acromyrmex balzani* (EMERY, 1890): RELAÇÃO QUÍMICA E NÍVEL DE TOLERÂNCIA INTERCOLONIAL COMO PISTA PARA COMPORTAMENTO POLIDÔMICO.

RESUMO GERAL

Os ninhos em formigas são de extrema importância para manutenção de sua sociedade, e a arquitetura destes ninhos podem variar de acordo com as condições encontradas em cada ambiente. Além disso, há casos em que uma colônia pode ocupar mais de um espaço físico, estruturando ninhos polidômicos. Nestes casos, testes de agressividade que costumam serem usados para delimitar fronteiras entre colônias, podem apresentar complicações, visto que este comportamento pode sofrer influência de uma série de variáveis. Neste estudo, avaliamos o modelo arquitetônico da formiga *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890), nunca antes estudado na região, além de investigar a relação química entre as colônias e se o nível de agressividade pode ser um parâmetro confiável para determinar se suas colônias se estruturam em ninhos polidômicos. Após escavar, medir e esquematizar as estruturas dos ninhos, um modelo 3D foi gerado para melhor visualização de todo o ninho. Todos os ninhos apresentaram chaminé e montículos de terra na superfície. A estrutura interna dos ninhos demonstrou variação no número de túneis de ligação entre as câmaras, nunca antes relatado para espécie. Não houveram comportamentos agonísticos em nenhum dos encontros intercoloniais, mesmo entre grupos que apresentaram diferença significativa em sua composição química colônial. Além disso, grupos quimicamente coesos continham mais de uma colônia em que a rainha estava presente. Portanto deve-se utilizar o nível de agressividade em encontros induzidos com cautela para avaliar se esta espécie organiza suas colônias em ninhos polidômicos.

Palavras-chave: Arquitetura de ninho, Agressividade, *Acromyrmex balzani*, Hidrocarbonetos cuticulares.

VARIATION OF THE ARCHITECTURAL MODEL OF *Acromyrmex balzani* (EMERY, 1890): CHEMICAL RELATIONSHIP AND LEVEL OF INTERCOLONIAL TOLERANCE AS A TRACK FOR POLYDOMIC BEHAVIOR.

GENERAL ABSTRACT

Nests of ants are of extreme importance for the maintenance of their society and the architecture of these nests can vary according to the conditions found in each environment. In addition, there are cases where a colony can occupy more than one physical space, structuring polydomic nests. In these cases, aggressiveness tests that are usually used to delimit boundaries between colonies may present complications, since this behavior can be influenced by a series of variables. In this study, we evaluated the architectural model of the ant *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890), never before studied in the region, besides investigating the chemical relationship between colonies and whether the level of aggression can be a reliable parameter to determine if its colonies are structured in polydomic nests. After excavating, measuring and schematizing the nest structures, a 3D model was generated for better visualization of the whole nest. All the nests presented chimney and mounds of loose soil on the surface. The internal structure of the nests demonstrated intraspecific variation in the number of connecting tunnels between the chambers, never before reported for this species. There were no agonistic behaviors in any of the intercolonial encounters, even between groups presenting a significant difference in their colonic chemical composition. In addition, chemically cohesive groups contained more than one colony in which the queen was present. Therefore, one should use the level of aggressiveness in cautiously induced encounters to evaluate whether this species organizes its colonies in polydomic nests.

Keywords: Nest architecture, Aggressiveness, *Acromyrmex balzani*, Cuticular hydrocarbons.

INTRODUÇÃO GERAL

As formigas são insetos sociais dominantes na maioria dos ecossistemas terrestres (Wilson 1987), além disso, são também o maior grupo dentre os insetos sociais, contando com mais de 13.000 espécies descritas (Bolton 2012). As formigas desempenham função importante em relação ao fluxo de nutrientes e energia na teia ecológica, ocupando vários nichos (Davidson *et al* 2003, Hirose *et al* 2000, Tillberg *et al* 2006, Mehdiabadi & Schultz 2010), além do grande número de interações ecológicas em que participam, tanto com formigas de sua própria colônia (Leonhardt *et al* 2016) como com outros insetos (Pierce *et al* 2002), fungos (Mehdiabadi & Schultz 2010) e plantas (Weber & Keeler 2013).

A interação ecológica entre formigas e fungos se evidencia entre as formigas da tribo Attini e dentre estas, os gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (denominadas como “formigas cortadeiras”) ganham destaque por serem as formigas mais derivadas em relação ao comportamento de cultivo de fungo simbiote (Schultz *et al* 2005, Schultz & Brady 2008). Estas formigas habitam uma grande variedade de habitats podendo ser encontradas em florestas úmidas, clareiras, savanas, cerrados e desertos (Mehdiabadi & Schultz 2010).

As formigas, apresentam a maioria das interações intra-colônias dentro de seus ninhos, estes ninhos possuem como função principal a manutenção de condições físicas adequadas para o desenvolvimento de seus imaturos, bem como protegem os indivíduos adultos (Starr 1991). Estes ninhos podem ocorrer em diferentes locais, de acordo com os hábitos de cada espécie, sendo descritos espécies em que os ninhos não são perenes e são formados pelos próprios corpos das formigas operárias, estruturas conhecidas como “Bivaques” (Silva 1977), além de espécies arbóreas e as que constroem seus ninhos no solo (Holldobler & Wilson 1990).

Os ninhos das espécies da tribo Attini podem apresentar uma grande variedade de arquiteturas, em espécies do gênero *Atta* os ninhos são sempre construídos no solo, podendo possuir mais de mil câmaras subterrâneas (Jonkman 1980, Moreira *et al* 2004a). Já espécies do gênero *Acromyrmex* podem apresentar ninhos arborícolas, semi-subterrâneos (Bollazzi *et al* 2008), subterrâneos e em alguns casos, como em *Acromyrmex coronatus*, os três hábitos de nidificação podem ocorrer (Gonçalves 1961). Diferentemente das formigas do gênero *Atta*, as espécies de *Acromyrmex* que nidificam no solo organizam seu jardim de fungos em uma dúzia ou mais de câmaras subterrâneas de profundidade variável (Goncalves 1961, Fowler 1979, Verza *et al* 2007, Bollazzi *et al* 2008).

Além disso, algumas espécies do gênero *Acromyrmex* podem se organizar em colônias polidômicas (Caldato *et al* 2016). A polidomia é uma condição especial que exige que formigas discriminem entre companheiras do ninho residente, companheiras de sub-ninhos e não

companheiras de ninho (Banschbach & Herbers 1996, Dahbi *et al* 1996, Dahbi & Lenoir 1998) e geralmente reagindo agressivamente em encontros inter-colônias (Thurin & Aron 2008).

O reconhecimento entre formigas, bem como entre outros insetos sociais, é mediado em grande parte por meio de compostos químicos presentes na camada lipídica que recobre a cutícula dos insetos, cuja função primária é a de evitar a dessecação dos indivíduos (Lockey 1988). Além disso, estes compostos possuem a função secundária de mediadores na comunicação química entre estes organismos (Gamboa *et al* 1996, Lenoir *et al* 1999, Martin & Drijfhout 2009, Blomquist 2010). A presença e composição dos hidrocarbonetos cuticulares podem ser geneticamente determinada (Van Zweden *et al* 2009), adquiridos do ambiente (Liang & Silverman 2000, Buczkowski & Silverman 2006, Sorvari *et al* 2008) ou pela combinação de ambos fatores (Jutsum *et al* 1979, Suarez *et al* 2002).

De fato, como consequência das variantes químicas, a agressão em encontros para avaliar o reconhecimento entre colônias pode sofrer influência do tempo (Ichinose 1991, Provost *et al* 1993), da diferenças de tamanho entre oponentes (Nowbari *et al* 1999), experiência (Jaisson 1991), presença da rainha (Carlin & Hölldobler 1986), idade das operárias (Nowbari & Lenoir 1989) além do contexto em que o encontro ocorre (Tanner & Adler 2009).

Exposto isso, a utilização de comportamentos agonísticos para delimitar fronteiras intercolônias deve ser adotado com cautela ao se estudar colônias polidômicas (Astruc *et al* 2001). Assim, avaliar o nível de agressividade entre colônias e a relação química entre elas é de grande importância para elucidar as especificidades de cada espécie.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Arquitetura de ninhos subterrâneos em Formicidae.

Os hábitos de nidificação das formigas são bastante variados, ocorrendo formigas que nidificam em madeira morta, em cavidades de plantas, em ninhos construídos por folhas aderidas por meio de seda produzida por larvas (Hölldobler & Wilson 1977), ninhos construídos pela aderência dos corpos de operárias conhecidos como “Bivaques” (Silva 1977) e ninhos subterrâneos, os quais são constituídos basicamente pela escavação de túneis que ligam câmaras (Sudd 1982, Hölldobler & Wilson 1977, Tschinkel 2015).

A arquitetura dos ninhos subterrâneos é altamente estruturada e típica de cada espécie em relação as suas dimensões e morfologia, além disso, o ninho além de ser o local de abrigo,

funciona como um mecanismo de integração da colônia (Tschinkel 2003), mantendo também as condições físicas adequadas para o desenvolvimento da colônia (Starr 1991) e ser resultado do trabalho cooperativo entre os indivíduos, consumindo mais de 10% da energia gasta diariamente pela colônia (Sudd 1982).

A arquitetura mais simples de ninho subterrâneo é constituída de um túnel vertical conectando uma e/ou várias câmaras (Tschinkel 2003). Esta arquitetura aumenta em complexidade à medida que ocorre a ramificação de túneis e conexões entre as galerias. Algumas espécies podem possuir ninhos mais complexos com diversas câmaras organizadas horizontalmente e conectadas por mais de um túnel, como na formiga de fogo *Solenopsis invicta* (Cassill *et al* 2002) e *Odontomachus chelifer* (Guimarães *et al* 2018)

O volume dos ninhos subterrâneos é ajustado linearmente a quantidade de formigas presentes na colônia, indicando que à medida que a colônia aumenta em número de indivíduos, as operárias aumentam sua atividade de escavação (Tschinkel 2004, Mikheyev & Tschinkel 2004, Guimarães *et al* 2018).

Embora na maioria das espécies de formigas estudadas, as câmaras tenham um formato achatado verticalmente (Tschinkel 2015), em algumas formigas cultivadoras de fungos, a forma das câmaras foi convertida em um formato ovalado (Tschinkel 2003, Moreira *et al* 2004a, 2004b, Solomon *et al* 2004, Rabeling *et al* 2007), mostrando que mesmo este elemento é mutável, assim como o formato dos túneis, os quais são em sua maioria verticais (Caldato *et al* 2016, Antonialli-Junior & Giannotti 2001, Tschinkel 2015), porém também podem ocorrer com formatos variados, como em *Pogonomyrmex badius*, o qual possui formato helicoidal (Tschinkel 2004) ou nas diferentes espécies de *Acromyrmex*, em orientações variando entre vertical e horizontal (Gonçalves 1961).

Dentre as arquiteturas de ninhos subterrâneos de formigas, as formigas que cultivam fungos têm sido relativamente bem estudadas (Mehdiabadi & Schultz 2010). Dentre estas, os gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (denominadas como “formigas cortadeiras”) ganham destaque por serem as formigas mais derivadas em relação ao comportamento de cultivo de fungo simbiote (Schultz *et al* 2005, Schultz & Brady 2008), e também por possuírem uma ampla variedade de arquitetura de seus ninhos (Gonçalves 1961, Mehdiabadi & Schultz 2010), os quais devem proporcionar condição adequada para manutenção do fungo simbiote (Roces & Kleineidam 2000, Bollazzi & Roces 2002).

De fato, em espécies do gênero *Atta* os ninhos são sempre construídos no solo, chegando a possuir mais de mil câmaras subterrâneas, com formato ovalado nas quais são mantidos seus jardins de fungos (Jonkman 1980, Moreira *et al* 2004a). Na superfície, os ninhos de *Atta* podem

se estender por grande área de terra escavada, com vários orifícios de entrada/saída (Jonkman 1980, Moreira *et al* 2004a, 2004b), além de contarem com um sistema de ventilação (Kleineidam *et al* 2001, Bollazzi *et al* 2012).

Já as espécies do gênero *Acromyrmex* podem apresentar maior variedade na arquitetura e hábito de nidificação, ocorrendo ninhos arborícolas, semi-subterrâneos (Bollazzi *et al* 2008), subterrâneos e em alguns casos, como em *Acromyrmex coronatus*, os três hábitos de nidificação podem ocorrer na mesma espécie (Gonçalves 1961). As espécies deste gênero que nidificam no solo, organizam seu jardim de fungos em uma dúzia ou mais de câmaras subterrâneas (Gonçalves 1961, Fowler 1979, Verza *et al* 2007, Bollazzi *et al* 2008).

Ninhos da espécie *Acromyrmex balzani* apresentam em sua estrutura externa apenas um orifício de entrada/saída, podendo haver ou não uma chaminé de palha seca e montículos de terra proveniente da escavação. Além disso seus ninhos são pouco profundos, podendo chegar até 210 cm, com câmaras conectadas por um único túnel, sendo registrado o número máximo de 14 câmaras (Silva *et al* 2010, Pimenta *et al* 2007, Ichinose *et al* 2007, Poderoso *et al* 2009, Caldato *et al* 2016). Além disso, já foi relatado para esta espécie, colônias organizadas em ninhos polidômicos (Caldato *et al* 2016).

Colônias polidômicas surgem quando uma colônia se divide em mais de um sítio de nidificação, ocupando outros sítios nas proximidades da colônia de origem, mantendo contato entre si pela troca de operárias e imaturos (Holldobler & Wilson 1990), podendo conter uma ou mais rainhas, que podem estar presentes em apenas um ninho ou em mais de um (Debout *et al* 2007). Estas colônias podem ser constituídas por dois ninhos ou até mesmo por um complexo de vários ninhos relacionados e com arquitetura similar (Giraud *et al* 2002).

Reconhecimento e hidrocarbonetos cuticulares entre formigas.

O reconhecimento entre indivíduos consiste basicamente em 3 componentes: expressão, percepção de sinais de reconhecimento e a resposta baseada na diferença entre os sinais (Tsutsui 2004). Nos insetos sociais, o reconhecimento entre companheiras de ninho mantém a coesão e impede que as colônias sejam exploradas por invasores (Crozier & Pamilo 1996, Van Zweden & D'Etorre 2010).

Nas formigas, os principais sinais de reconhecimento estão presentes em sua cutícula, com ênfase para os hidrocarbonetos cuticulares (HCs). A principal função dos HCs é evitar a dessecação e abrasão da cutícula, infecção por patógenos e secundariamente atuam no sistema de reconhecimento (Lockey 1988). Na comunicação, os HCs são detectados por outro

indivíduo, que por sua vez tem acesso a informações sobre o emissor, as quais são comparadas com um padrão presente no sistema nervoso periférico e central da formiga (Leonhardt *et al* 2007).

Este padrão de reconhecimento é uma representação interna das pistas de reconhecimento dos companheiros de ninho (Lacy & Sherman 1983). Os indivíduos são reconhecidos como companheiros de ninho quando os sinais de reconhecimento de um receptor estão suficientemente próximos do modelo usado pelo emissor (Obin & Vander Meer 1989).

Além disso, Sherman *et al* (1997) apresentaram dois modelos de reconhecimento baseados nas pistas apresentadas em encontros comportamentais, denominando-os de “desejável-presente” e o “Indesejável-ausente”. Segundo o modelo desejável-presente, operárias não agredem indivíduos com pistas de reconhecimento desejáveis, estas pistas estão presentes em companheiras de ninho, entretanto podem estar presentes também em não-companheiras, situação em que estas não são rejeitadas. Já o modelo de indesejável-ausente, supõe que operárias rejeitam indivíduos que possuem pistas de reconhecimento indesejadas, estas pistas tendem a estarem presentes em não-companheiras de ninho e em algumas companheiras de ninho, neste caso, as operárias rejeitam companheiras que possuam perfis muito distantes da média colonial (Sturgis & Gordon 2012).

Entretanto, Van Zweden & D’Ettorre (2010) propuseram também o modelo “indesejável-presente” para explicar o reconhecimento e seu mecanismo neural, sugerindo que a ação tem como base a presença de pistas indesejáveis, partindo do ponto que os indivíduos estão habituados a seu odor colonial e respondem apenas frente a perfis não familiares. Como consequência, as respostas são graduais com o aumento da dissimilaridade dos perfis de HCs.

Como ação resultante de encontro entre formigas de diferentes colônias, é comum a ocorrência de comportamentos agonísticos (Holldobler & Wilson 1990). Entretanto, Holzer *et al* (2006) em estudos com seis populações da espécie *Formica paralugubris*, observaram que não ocorrem agressões entre formigas não companheiras de ninho provenientes da mesma população. Além disso, apesar da agressividade aumentar de acordo com o aumento da distância geográfica e genética entre as colônias, as formigas sempre demonstraram maior estranhamento em encontros interespecíficos do que intraespecíficos.

De fato, Björkman-Chiswell *et al* (2008) ao estudar a formiga argentina invasora *Linepithema humile*, uma espécie poliginica, a qual possui alta variabilidade genética em suas colônias e conseqüentemente baixo parentesco entre companheiras de ninho, não observaram agressividade entre não-companheiras de ninho em colônias distantes centenas de quilômetros entre si.

Brown *et al* (2003) sugeriram que a distinção entre companheiros e não-companheiras de ninho é pouco desenvolvida em colônias poliginicas de *Formica exsecta*. Contudo, nesta espécie o nível de tolerância pode variar ainda de acordo com a estação do ano e com a distância entre as colônias (Kutzerke *et al* 2006).

De fato, o nível de agressividade deve ser tomado com cautela no intuito de servir como indicativo de polidomia. Astruc *et al* (2001) estudando diferentes populações de *Tetramorium bicarinatum* relatou que esta espécie apresentou alta tolerância coespecífica, mesmo em casos que as formigas provenientes de colônias nidificadas em diferentes continentes (Brasil e Japão).

Além disso, Richard *et al* (2004) demonstraram que operárias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* de diferentes colônias, mantidas sob mesma dieta se tornam mais tolerantes umas com as outras, corroborando com os resultados obtidos por Jutsum *et al* (1979) em experimento semelhante com a espécie *Acromyrmex octospinosus*.

Em estudo recente Teseo *et al* (2018) demonstraram que até mesmo a microbiota intestinal pode afetar no reconhecimento, ao estudar tal característica em *Acromyrmex echinator*. Neste trabalho os autores submeteram operárias a antibióticos e realizaram interações para analisar o nível de agressividade entre companheiras e não companheiras de ninho. Em seus resultados os autores observaram que encontros entre companheiras de ninho tratadas com antibióticos versus não tratadas, apresentaram maior agressividade em comparação ao encontro realizado entre não companheiras de ninho. Além disso evidenciaram esta diferença na composição química nas formigas tratadas, indicando que a fauna intestinal das formigas afeta indiretamente a composição química da cutícula desta espécie, podendo desencadear falhas de reconhecimento.

Outra condição que influencia no reconhecimento entre formigas é o efeito do inimigo íntimo, condição na qual operárias apresentam comportamento menos agressivo frente a não companheiras de ninho, provenientes de colônias próximas. Este efeito provavelmente está relacionado a familiaridade entre os vizinhos, uma vez que interagem e compartilham um mesmo território. Vizinhos podem representar uma ameaça menor em comparação à indivíduos de territórios distantes, os quais podem representar ameaça caso estejam à procura de um novo território (Temeles 1994). Além disso, interações agressivas podem ser dispendiosas energeticamente uma vez que os encontros entre forrageiras tendem a serem frequentes no território compartilhado (Ydenberg *et al* 1988).

Além da interação entre formigas, o efeito do inimigo íntimo pode ser explicado também por meio da homogeneização da composição química cuticular destes insetos. De fato, investigações em espécies como *Pachycondyla apicalis*, *Camponotus fellah* e *Aphaenogaster*

senilis têm mostrado que os hidrocarbonetos sofrem uma homogeneização entre os membros da colônia através de interações sociais (Soroker *et al* 1998, Boulay *et al* 2000, Lenoir *et al* 2001, Boulay *et al* 2004). Portanto, a maior similaridade genética entre colônias vizinhas, juntamente com a similaridade de recurso disponíveis as colônias que habitam o mesmo ambiente, podem aumentar a similaridade química e consequentemente diminuir o nível de agressividade entre estas colônias.

Além disso, as evidências sugerem que o componente de ação e resposta pode depender do contexto em que a interação ocorre (Buczowski & Silverman 2005, Bos *et al* 2010) não dependendo exclusivamente das pistas de reconhecimento.

De fato, o contexto em que se dá a interação pode influenciar o comportamento apresentado entre os competidores. Tanner & Adler (2009) ao investigar o efeito do contexto nas interações entre *Formica xerophila* e *Formica integroides* observou que *F. xerophila*, nos encontros realizados em arenas neutras, apresentaram menor agressividade em comparação aos encontros realizados nos sítios de nidificação das espécies estudadas. No mesmo trabalho, os autores observaram a maior tolerância em encontros interespecíficos quando as formigas eram provenientes de colônias que possuíam sobreposição de território (vizinhas), em comparação as que provinham de maior distância. Além disso, operárias de *F. xerophila* não forrageiras (retiradas diretamente da entrada do ninho), foram agressivas independentemente da condição de vizinha ou não da oponente, indicando que o contato interespecífico prévio entre as forrageiras deve exercer influência na tolerância interespecífica (Tanner & Adler 2009).

OBJETIVO GERAL

Analisar se o nível de agressividade depende da condição de polidomia em *Acromyrmex balzani*, descrever a arquitetura dos ninhos e avaliar a relação da composição química entre as colônias estudadas.

HIPÓTESES

Ocorrem variações intraespecíficas na arquitetura dos ninhos de *Acromyrmex balzani*.

A agressividade entre colônias de *A. balzani* depende da condição de polidomia.

Colônias com composição química similar são menos agressivas entre si.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antoniali-Junior WF, Giannotti E (2001) Nest architecture and population dynamics of the Ponerinae ant *Ectatomma edentatum* (Hymenoptera, Formicidae). *Sociobiology* 38:1–12.

Astruc C, Malosse C, Errard C (2001) Lack of intraspecific aggression in the ant *Tetramorium bicarinatum*: a chemical hypothesis. *J Chem Ecol* 27(6):1229-1248.

Banschbach VS, Herbers JM (1996) Complex colony structure in social insects: I. Ecological determinants and genetic consequences. *Evolution* 50(1):285-297.

Björkman-Chiswell BT, Van Wilgenburg E, Thomas ML, Swearer SE, Elgar MA (2008) Absence of aggression but not nestmate recognition in an Australian population of the Argentine ant *Linepithema humile*. *Insectes Soc* 55(2):207-212.

Blomquist GJ, Bagnères AG (2010) Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology. Cambridge University Press, p 506.

Bollazzi M, Forti LC, Roces F (2012) Ventilation of the giant nests of *Atta* leaf-cutting ants: does underground circulating air enter the fungus chambers? *Insectes Soc* 59(4):487-498.

Bollazzi M, Kronenbitter J, Roces F (2008) Soil temperature, digging behavior, and the adaptive value of nest depth in South American species of *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Oecologia* 158(1):165-175.

Bollazzi M, Roces F (2002) Thermal preference for fungus culturing and brood location by workers of the thatching grass-cutting ant *Acromyrmex heyeri*. *Insectes Soc* 49(2):153-157.

Bolton B (2012) AntCat. An online catalog of the ants of the world. See <http://www.antcat.org>.

Bos N, Guerrieri FJ, D'Ettorre P (2010) Significance of chemical recognition cues is context dependent in ants. *Anim. Behav* 80:839-844.

Boulay R, Hefetz A, Soroker V, Lenoir A (2000) *Camponotus fellah* colony integration: worker individuality necessitates frequent hydrocarbon exchanges. *Anim Behav* 59:1127–1133.

Boulay R, Katzav-Gozansky T, Hefetz A, Lenoir A (2004) Odour convergence and tolerance between nestmate through trophallaxis and grooming in the ant *Camponotus fellah* (Dalla Torre). *Insectes Soc* 51:55-61.

Brown WD, Liautard C, Keller L (2003) Sex-ratio dependent execution of queens in polygynous colonies of the ant *Formica exsecta*. *Oecologia* 134(1):12-17.

Buczowski G, Silverman J (2005) Context-dependent nestmate discrimination and the effect of action thresholds on exogenous cue recognition in the Argentine ant. *Anim Behav* 69:741-749.

Buczowski G. & Silverman J. (2006). Geographical variation in Argentine ant aggression behavior mediated by environmentally derived nestmate recognition cues. *Anim Behav* 71:327-335.

Caldato NSC, Forti RLC, Andrade APP, Lopes JFS (2016) Nest architecture in polydomous grass-cutting ants (*Acromyrmex balzani*). *J Nat Hist* 50(25-26):1561-1581.

Carlin NF, Hölldobler B (1986) The kin recognition system of carpenter ants (*Camponotus spp.*). *Behav Ecol Sociobiol* 19(2):123-134.

Cassill D, Tschinkel WR, Vinson SB (2002) Nest complexity, group size and brood rearing in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Insectes Soc* 49:158–163

Crozier RH, Pamilo P (1996) Evolution of social insect colonies. Sex allocation and kin selection. Oxford: Oxford University Press.

Dahbi A, Lenoir A (1998) Nest separation and the dynamics of the Gestalt odor in the polydomous ant *Cataglyphis iberica* (Hymenoptera, Formicidae). *Behav Ecol Sociobiol* 42:349–355.

Dahbi A, Lenoir A, Tinaut A, Taguizadeh T, Francke W, Hefetz A (1996) Chemistry of the postpharyngeal gland secretion and its implication for the phylogeny of Iberian *Cataglyphis* species (Hymenoptera, Formicidae). *Chemoecology* 7:163–171.

Davidson DW, Cook SC, Snelling RR, Chua TH (2003) Explaining the abundance of ants in lowland tropical rainforest canopies. *Science* 300: 969–972.

Fowler HG, (1979) Las hormigas cortadoras del Paraguay de los géneros *Atta* Fabricius y *Acromyrmex* Mayr: bionomía, distribución y sistemática. *Inform Cient* 2:30–70.

Gamboa GJ, Grudzien TA, Espelie KE, Bura EA (1996) Kin recognition in social wasps: combining chemical and behavioural evidence. *Anim Behav* 51:625–629.

Giraud T, Pedersen JS, Keller L (2002) Evolution of supercolonies: The Argentine ants of southern Europe. *Proc Natl Acad Sci* 99(9):6075-6079.

Gonçalves CR (1961) O gênero *Acromyrmex* no Brasil (Hym. Formicidae). *Studia Entomol.* 4:113–180.

Guimarães IC, Pereira MC, Batista NR, Rodrigues CAP, Junior WFA (2018) The complex nest architecture of the Ponerinae ant *Odontomachus chelifer*. *PloS one* 13(1):e0189896.

- Hirosawa H, Higashi S, Mohamed M (2000) Food habits of *Aenictus* army ants and their effects on the ant community in a rain forest of Borneo. *Insect Soc* 47:42–49.
- Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The ants*. Harvard University Press, p 746.
- Hölldobler B, Wilson EO (1977) Weaver ants. *Sci Am* 237:146-148, 151-154.
- Holzer B, Chapuisat M, Kremer N, Finet C, Keller L (2006) Unicoloniality, recognition and genetic differentiation in a native *Formica* ant. *J Evol Biol*, 19(6), 2031-2039.
- Ichinose K (1991) Seasonal variation in nestmate recognition in *Paratrechina flavipes* (Smith) worker ants (Hymenoptera: Formicidae). *Anim Behav*, 41(1), 1-6.
- Ichinose K, Forti LC, Pretto R, Nachman C, Boosma JJ (2007) Sex allocation in the polydomus leaf-cutting ant *Acromyrmex balzani*. *Ecol Res* 22:288-295.
- Jaisson P (1991) Kinship and fellowship in ants and social wasps. *Kin recog* 60-93.
- Jonkman JCM (1980) The external and internal structure and growth of nests of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri* Forel, 1893 (Hym.: Formicidae *Z Angew Entomol* 89(1-5):217-246.
- Jutsum AR, Saunders TS, Cherrett JM (1979) Intraspecific aggression in the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus*. *Anim Behav* 27:839-844.
- Katzerke A, Neumann P, Pirk CWW, Bliss P, Moritz RFA (2006) Seasonal nestmate recognition in the ant *Formica exsecta*. *Behav Ecol Sociobiol* 61:143–150.
- Kleineidam C, Ernst R, Roces F (2001) Wind-induced ventilation of the giant nests of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri*. *Naturwissenschaften* 88(7):301-305.
- Lacy RC, Sherman PW (1983) Kin recognition by phenotype matching. *Am Nat* 121:489-512.
- Lenoir A, D'Ettorre P, Errard C, Hefetz A (2001) Chemical ecology and social parasitism in ants. *Annu Rev Entomol* 46(1):573-599.
- Lenoir A, Fresneau D, Errard C, Hefetz A (1999) Individuality and colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept. In Detrain C, Deneubourg JL, Pasteels JM (eds) *Information Processing in Social Insects*, Birkhäuser Verlag, Basel, pp. 219–237.
- Leonhardt SD, Brandstaetter AS, Kleineidam CJ (2007) Reformation process of the neuronal template for nestmate-recognition cues in the carpenter ant *Camponotus floridanus*. *J Comp Physiol A* 193(9): 993-1000.
- Leonhardt SD, Menzel F, Nehring V, Schmitt T (2016) Ecology and evolution of communication in social insects. *Cell* 164(6):1277-1287.

Liang D, Silverman J (2000) You are what you eat: diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften* 87:412–416.

Lockey KH (1988) Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. *Comp Biochem Phys B* 89:595-645.

Martin S, Drijfhout F (2009) A review of ant cuticular hydrocarbons. *J Chem Ecol* 35(10):1151.

Mehdiabadi NJ, Schultz TR (2010) Natural history and phylogeny of the fungus-farming ants (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini). *Myrmecol News* 13:37–55.

Mikheyev AS, Tschinkel WR (2004) Nest architecture of the ant *Formica pallidefulva*: structure, costs and rules of excavation. *Insectes Soc* 41:30–36.

Moreira AA, Forti LC, Andrade APP, Boaretto MAC, Lopes JFS (2004a) Nest architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). *Stud Neotropical Fauna Environ* 39:109–116.

Moreira AA, Forti LC, Boaretto MAC, Andrade APP, Lopes JFS, Ramos VM (2004b) External and internal structure of *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae) nests. *J Appl Entomol* 128:204–211.

Nowbahari E, Féneron R, Malherbe MC (1999) Effect of body size on aggression in the ant, *Cataglyphis niger* (Hymenoptera, Formicidae). *Aggressive Behavior: Official Journal of the International Society for Research on Aggression* 25(5):369-379.

Nowbahari E, Lenoir A (1989) Age-related changes in aggression in ant *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera, Formicidae): influence on intercolonial relationships. *Behav Processes* 18(1-3):173-181.

Obin MS, Vander Meer RK (1989) Mechanism of template label matching in fire ant *Solenopsis invicta* BUREN nestmate recognition. *Anim Behav* 38:430-435

Pierce NE, Braby MF, Heath A, Lohman DJ, Mathew J, Rand DB, Travassos MA (2002) The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). *Ann Rev Entomol* 47:733–771 doi:10.1146/annurev.ento.47.091201.145257.

Pimenta LB, Araújo MS, Lima L, Silva JMS, Naves VGO, (2007) Dinâmica de forrageamento e caracterização de colônias de *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890) (Hymenoptera: Formicidae) em ambiente de cerrado goiano. *Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal*. 9:1-12.

Poderoso JCM, Ribeiro GT, Gonçalves GB, Mendonça PD, Polanczyk RA, Zanetti R, Serrão JE, Zanucio JC (2009) Nest and foraging characteristics of *Acromyrmex landolti balzani* (Hymenoptera: Formicidae) in Northeast Brazil. *Sociobiology* 54(2):361-371.

Provost E, Riviere G, Roux M, Morgan ED, Bagnères AG (1993) Change in the chemical signature of the ant *Leptothorax lichtensteini* Bondroit with time. *Insect Biochem Mol Biol* 23(8):945-957.

Rabeling C, Verhaagh M, Engels W (2007) Comparative study of nest architecture and colony structure of the fungus-growing ants, *Mycocepurus goeldii* and *M. smithii*. *J Insect Sci* 7:40.

Richard FJ, Hefetz A, Christides JP, Errard C (2004) Food influence on colonial recognition and chemical signature between nestmates in the fungus-growing ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. *Chemoecology* 14(1):9-16.

Roces F, Kleineidam C (2000) Humidity preference for fungus culturing by workers of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Insectes Soc* 47(4):348-350.

Schultz TR, Brady SG (2008) Major evolutionary transitions in ant agriculture. *Proc Natl Acad Sci* 105:5435–5440.

Schultz TR, Mueller UG, Currie CR, Rehner SA (2005) Reciprocal illumination: a comparison of agriculture in humans and in fungus-growing ants. In: Vega FE, Blackwell M (eds) *Insect–Fungal Associations: Ecology and Evolution*. Oxford University Press, Oxford, U.K, 149–190.

Sherman P, Reeve H, Pfennig D (1997) Recognition systems. In Krebs JR, Davies NB (eds) *Behavioural ecology: an evolutionary approach*, Wiley-Blackwell, Malden, MA, 69-96.

Silva K, Castellani MA, Forti LC, Moreira AA, Lemos OL, Carneiro RDCS, Khouri CR, Ribeiro AEL (2010) Architecture of nests of *Acromyrmex* (Moellerius) *balzani* (Formicidae: Myrmicini: Attini) in pasture. *Applied Research & Agrotechnology* 3(2): 99-116.

Silva MT (1977) Behavior of the army ant *Eciton burchelli* Westwood (Hymenoptera formicidae) in the Belem region. II. Bivouacs. *Boletim de Zoologia*, 2(2):107-128.

Solomon SE, Mueller UG, Schultz TR, Currie CR, Price SL, Oliveira da Silva-Pinhati AC, Bacci Jr M, Vasconcelos HL (2004) Nesting biology of the fungus growing ants *Mycetarotes* Emery (Attini, Formicidae). *Insectes Soc* 51:333–338.

Soroker V, Fresneau D, Hefetz A (1998) Formation of colony odor in ponerine ant *Pachycondyla apicalis*. *J Chem Ecol* 24(6):1077-1090.

Sorvari J, Theodora P, Turillazzi S, Hakkarainen H, Sundstöm L (2008) Food resources, chemical signaling, and nest mate recognition in the ant *Formica aquilonia*. *Behav Ecol* 19:441–447.

Starr CK (1991) The nest as the locus of social life. In: KG Ross, RW Matthews (eds) *The social biology of wasps*, Comstock Publishing associates, Ithaca, pp 520-539.

Sturgis SJ, Gordon DM (2012) Nestmate recognition in ants (Hymenoptera: Formicidae): a review. *Myrmecol News* 16:101-110.

Suarez AV, Holway DA, Liang D, Tsutsui ND, Case TJ (2002) Spatio-temporal patterns of intraspecific aggression in the invasive Argentine ant. *Anim Behav* 64:697–708.

Sudd JH (1982) Ants: Foraging, nesting, brood behavior, and polyethism. In: Hermann HR (ed) *Social Insects*. Academic Press, New York, pp 107–155.

Tanner CJ, Adler FR (2009) To fight or not to fight: context-dependent interspecific aggression in competing ants. *Anim Behav* 77(2):297-305.

Temeles EJ (1994) The role of neighbours in territorial systems: when are they 'dear enemies'? *Anim Behav* 47(2):339-350.

Teseo S, van Zweden J, Pontieri L, Kooij P, Sorensen SJ, Wenseleers T, Poulsen M, Boomsma JJ, Sapountzis P (2018) The scent of symbiosis: gut bacteria affect social interactions in leafcutting ants. *bioRxiv* 335:521.

Thurin N, Aron S (2008) Seasonal nestmate recognition in the polydomous ant *Plagiolepis pygmaea*. *Anim Behav* 75(3):1023-1030.

Tillberg CV, McCarthy DP, Dolezal AG, Suarez AV (2006) Measuring the trophic ecology of ants using stable isotopes. *Insectes Soc* 53(1):65-69.

Tschinkel WR (2003) Subterranean ant nests: trace fossils past and future? *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol* 192(1-4):321-333. [Doi:doi.org/10.1016/S0031-0182\(02\)00690-9](https://doi.org/10.1016/S0031-0182(02)00690-9).

Tschinkel WR (2004) The nest architecture of the Florida harvester ant, *Pogonomyrmex badius*. *J Insect Sci* 4 21.

Tschinkel WR (2015). The architecture of subterranean ant nests: beauty and mystery underfoot. *J Bioecon* 17:271–291. [Doi:doi.org/10.1007/s10818-015-9203-6](https://doi.org/10.1007/s10818-015-9203-6)

Tsutsui ND (2004) Scents of self: the expression component of self/nonself recognition systems. *Ann Zool Fenn* 41:713–727.

Van Zweden JS, D'Ettorre P (2010) Nestmate recognition in social insects and the role of hydrocarbons. In: Blomquist GJ, Bagnères AG (eds) *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp222-243.

Van Zweden JS, Dreier S, D’Ettorre P (2009) Disentangling environmental and heritable nestmate recognition cues in a carpenter ant. *J Ins Physiol* 55:159–164.

Verza SS, Forti LC, Lopes JFS, Hughes WOH (2007) Nest architecture of the leaf-cutting ant *Acromyrmex rugosus rugosus*. *Insectes Soc* 54(4):303-309.

Weber MG, Keeler KH (2013) The phylogenetic distribution of extrafloral nectaries in plants. *Ann Bot* 111:1251–1261 doi:10.1093/aob/mcs225.

Wilson EO (1987). Causes of ecological success the case of ants. *J Anim Ecol* (56)1-9.

Ydenberg RC, Giraldeau LA, Falls JB (1988) Neighbours, strangers, and the asymmetric war of attrition. *Anim Behav* 36(2):343-347.

Variação de modelo arquitetônico de *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890): Relação química e nível de tolerância intercolonial como pista para comportamento polidômico.

RN Batista^{1,2}, VES Oliveira², KL Silva², WF Antonialli-Junior^{1,2}

¹ Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, Brasil.

² Laboratório de Ecologia Comportamental, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados-MS, Brasil.

Correspondência: Nathan Rodrigues Batista, Laboratório de Ecologia Comportamental, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 79804-970 Dourados-MS, Brasil, nathan.bio.rb@gmail.com.

RESUMO: Os ninhos de formigas são de extrema importância para manutenção de sua sociedade e a sua arquitetura pode variar de acordo com as condições encontradas em cada ambiente. Além disso, há casos em que uma colônia pode ocupar mais de um espaço físico, estruturando ninhos polidômicos. Nestes casos, testes de tolerância para delimitar fronteiras entre colônias podem apresentar complicações, visto que este comportamento pode sofrer influência de uma série de variáveis. Neste estudo, avaliamos o modelo arquitetônico da formiga *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890), além de investigar se os níveis de agressividade relacionado a composição cuticular podem servir de parâmetros para determinar a ocorrência de ninhos polidômicos na espécie. Foram escavadas 8 colônias e suas estruturas internas e externas mensuradas. Realizamos encontros pareados entre as colônias para ter acesso ao nível de tolerância entre as mesmas e em seguida estes resultados foram relacionados à análise química de suas cutículas. Os ninhos apresentam uma estrutura de chaminé em seu orifício de entrada e saída, independentemente da época do ano. Suas galerias internas conectam câmaras

dispostas verticalmente, e o número de câmaras varia de 2 a 6, correlacionando-se positivamente com o número de indivíduos da colônia. Todas as colônias apresentaram alta tolerância umas com as outras, mesmo as mais distantes e, não foi encontrada uma relação do nível de tolerância com a composição química da cutícula. Conclui-se que os ninhos desta espécie podem apresentar variações quanto a estrutura interna e externa. O nível de tolerância entre as colônias, correlacionado à composição química da cutícula não é um parâmetro confiável, para se avaliar se colônias desta espécie se estruturam por meio de ninhos polidômicos.

Palavras chaves: arquitetura de ninho, agressividade, formigas cortadeiras, hidrocarbonetos cuticulares.

INTRODUÇÃO

Os ninhos de insetos sociais possuem como função fornecer um microambiente adequado para o desenvolvimento da prole, fornecer proteção e abrigo para os adultos, armazenamento de alimento, além de ser o local onde a maioria das interações entre membros da mesma colônia ocorrem (Sudd 1982, Starr 1991).

O ninho é o resultado do trabalho cooperativo em conjunto das companheiras de ninho, além disso, ele também influencia no fluxo de informação que é necessário para a coesão social e eficiência na execução de tarefas, como na sua própria construção (Perna & Theraulaz 2017).

A maioria das formigas constroem seus ninhos no solo, escavando túneis e galerias que interconectam câmaras onde é abrigada toda a colônia (Holldober & Wilson 1990). No entanto, há espécies que constroem seus ninhos em árvores e também podem aproveitar cavidades pré-estabelecidas (Wheeler 1942). Os ninhos subterrâneos de formigas se caracterizam de forma geral por serem constituídos de uma ou mais aberturas externas, com câmaras internas conectadas por túneis. Contudo, ainda que haja certo padrão seguido pelas espécies, pode haver

variação intra-específica decorrente das condições enfrentadas pelas colônias em cada ambiente (Tschinkel 2003, 2015).

Algumas espécies constroem ninhos polidômicos, quando uma colônia se divide em mais de um sítio de nidificação, ocupando outros sítios nas proximidades da colônia de origem, mantendo contato entre si pela troca de operárias e imaturos (Holldober & Wilson 1990). Estas colônias podem ser constituídas por dois ninhos ou até mesmo por um complexo de vários ninhos relacionados (Giraud *et al* 2002).

A biologia e arquitetura das formigas do gênero *Atta* são relativamente bem estudadas, seus ninhos estão entre os ninhos mais complexos apresentando um grande número de câmaras que podem chegar até 8 metros de profundidade (Fowler *et al* 1986, Moreira *et al* 2004a, 2004b).

Por outro lado, ninhos de espécies do gênero *Acromyrmex* são relativamente mais simples, eles podem atingir até 5 metros de profundidade ou serem estruturados superficialmente no solo, possuem de 1 a 26 câmaras e são geralmente cobertos por terra solta (Gonçalves 1961, Navarro & Jaffé 1985, Forti *et al* 2006, Verza *et al* 2007). Apesar de neste gênero a maior parte dos ninhos serem subterrâneos, não se pode observar um padrão de arquitetura entre as espécies, uma vez que ocorrem espécies com ninhos subterrâneos, semi-subterrâneos e arborícolas (Gonçalves 1961, Forti *et al* 2006). Em alguns casos os três hábitos de nidificação ocorrem na mesma espécie, como por exemplo, *Acromyrmex coronatus* (Fabricius, 1804) (Gonçalves 1961). Por outro lado, algumas estruturas, sobretudo as externas, como montículos e “chaminés” são exclusivas de algumas espécies e podem, inclusive, auxiliar na sua identificação (Forti *et al* 2006).

A espécie *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890) é uma espécie cortadeira de grama que se encontra distribuída no Brasil nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul, sendo encontrada também no Paraguai e Argentina (Gonçalves 1961). Ninhos desta espécie apresentam

diferenças de acordo com a região onde se encontram nidificados, podendo chegar até 210cm (Silva *et al* 2010). As câmaras se encontram arranjadas verticalmente conectadas por um único túnel (Pimenta *et al* 2007, Ichinose *et al* 2007, Poderoso *et al* 2009, Silva *et al* 2010, Caldato *et al* 2016), podendo haver ou não um apêndice diminuto entre a primeira câmara e o solo (Pimenta *et al* 2007). O número de câmaras pode variar entre 5 câmaras (Pimenta *et al* 2007, Poderoso *et al* 2009, Caldato *et al* 2016) até 14 câmaras (Silva *et al* 2010).

Recentemente tem-se apontado a ocorrência de ninhos polidômicos em *A. balzani*, com base primariamente em ensaios comportamentais, os quais tentam determinar o nível de tolerância entre operárias oriundas de ninhos próximos, além disso, nestas colônias foram encontradas apenas uma rainha, fazendo de *A. balzani* uma espécie polidômica e monogínica (Ichinose *et al* 2007, Caldato *et al* 2016).

Para manter a coesão das colônias que se distribuem em ninhos polidômicos, as operárias além de reconhecer as companheiras do ninho residente, devem reconhecer companheiras de ninho provenientes de outros sub-ninhos, bem como discriminá-las de não companheiras de ninho (Banschbach & Herbers 1996, Dahbi *et al* 1996, Dahbi & Lenoir 1998), apresentando no último caso, atos agressivos como resultado de encontros intercoloniais, mas não em encontros intracoloniais (Thurin & Aron 2008).

Entretanto, devido influência da idade, dieta, fatores genéticos e da composição química cuticular similar (Jutsum *et al* 1979, Beye *et al* 1997, Vander Meer & Morel 1998, Richard *et al* 2004, Thurin & Aron 2008, Dimarco *et al* 2010, Saar *et al* 2014), o nível de agressividade deve ser tomado com cautela no intuito de servir como indicativo de polidomia (Astruc *et al* 2001). De fato, já foi demonstrado que operárias provenientes de diferentes colônias e alimentadas com a mesma dieta diminuem comportamentos agonísticos entre si (Richard *et al* 2004, Jutsum *et al* 1979).

Em vista do exposto, este estudo teve por objetivo descrever o modelo arquitetônico de ninhos de *A. balzani*, investigar se o nível de tolerância e a assinatura química colonial são parâmetros confiáveis para avaliar se as colônias são estruturadas em ninhos polidômicos.

MATERIAIS E METODOS

Foram escavados 8 ninhos de fevereiro a setembro de 2018 (ninhos 1 - 3 escavados na estação quente e chuvosa, ninhos 4 – 8 escavados na estação fria e seca), sazonalidade determinada como Cwa (clima mesotérmico úmido), seguindo classificação de Kottek *et al* (2006), possuindo verões úmidos e invernos secos (Fietz & Fisch 2008). Todas as colônias estavam nidificadas nos arredores do Centro de Estudos em Recursos Naturais – CERNA, localizado no campus da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados-MS (22°13'16"S, 54°48'20"W). Os espécimes foram levados a laboratório e identificados previamente a nível de espécie utilizando a chave dicotômica de Forti *et al* (2006). A identificação da espécie foi confirmada pelo Prof. Dr. Jacques H. C. Delabie da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - CEPLAC, Centro de Pesquisa de Cacau - CEPEC, Laboratório de Mirmecologia da Universidade Estadual de Santa Cruz UESC.

A escolha das colônias foi feita propositadamente baseada na distância. Nenhuma das colônias escolhidas estava em um raio menor que 5 metros uma da outra para minimizar a possibilidade de ocorrência de polidomia (adaptado de Caldato *et al* 2016).

Escavação e morfologia dos ninhos.

Na superfície do solo, a morfologia externa do ninho foi avaliada por meio da presença e tamanho do tubo de palha em sua entrada, na presença de solo solto próximo à entrada e na distância do monte de terra solta à entrada do ninho.

Os ninhos foram escavados de acordo com a metodologia proposta por (Antonialli-Junior & Giannotti 1997). Inicialmente, escavamos uma vala circular de aproximadamente 100

cm de profundidade a 15 cm do orifício de entrada com o formato de uma trincheira. Após a escavação desta trincheira, foi realizado o fatiamento do solo até alcançar cada câmara de forma individual e/ou túneis. Todos os indivíduos imaturos e adultos dentro desta estrutura foram coletados e armazenados em potes plásticos de 500 ml. Quando encontradas câmaras com fungos, foi utilizada uma colher e uma pinça para sua coleta (Sosa-Calvo *et al* 2015).

Registramos o número de indivíduos de cada sub-casta, a presença ou não de rainha, profundidade máxima do ninho, número de câmaras, profundidade (da superfície do solo ao teto da câmara), comprimento (as duas bordas mais longas), largura (as duas arestas mais curtas) e altura (do chão da câmara até o teto) de cada câmara (Antoniali-Junior & Giannotti 2001, Guimarães *et al* 2018). Estes dados foram utilizados para calcular o volume total das câmaras e volume médio das câmaras. Todos os ninhos foram desenhados durante escavações e posteriormente esquematizados em formato 3D com base nestes desenhos (Guimarães *et al* 2018).

Testes de agressividade.

A fim de avaliar o grau de tolerância entre operárias das diferentes colônias, elas foram mapeadas e suas distâncias tomadas com auxílio de GPS.

Após a coleta em campo, estas operárias foram transferidas para laboratório, onde ficaram 24 horas para habituação em um recipiente plástico com 500 ml de volume, coberto com celofane vermelho, mantidas durante este tempo com água e uma mistura de água e mel (1:2) que foram oferecidos em um eppendorf *ad libitum*. Para estes testes só foram utilizadas operárias maiores, com largura máxima da cabeça >1,9 mm (Caldato 2010) de cada colônia, esta subcasta foi escolhida pois é a subcasta que realiza atividade de forrageamento (Poderoso *et al* 2009) e estes indivíduos apresentam maior probabilidade de interagir com competidores (Rao 2000).

Após habituação, 1 operária de uma das colônias foi colocada em arena de 10 cm de diâmetro com suas bordas cobertas com vaselina líquida no intuito de evitar que a formiga escalasse as bordas do recipiente. No interior desta arena foi colocado um tubo plástico com 4 cm de diâmetro, no qual outra operária proveniente de outra colônia foi adicionada e após 2 minutos de aclimatação o copo separador foi retirado e só então o encontro entre as operárias de colônias diferentes ocorreu (Adaptado de Ichinose *et al* 2007).

Foram realizadas 10 repetições de encontros entre operárias de cada colônia. Cada encontro foi monitorado por 5 minutos, durante este período foi avaliado a execução de uma lista de comportamentos para se definir o nível de agressividade entre as formigas. Cada formiga foi utilizada apenas uma vez.

Os comportamentos exibidos para avaliar o nível de agressividade entre as operárias, receberam uma escala de pontuação modificada de Suarez *et al* (1999) de 0 a 2, sendo: 0 para toque, fuga e ignorar, 1 para tentativa de apreensão, apreensão, boxe antenal, elevação do corpo e elevação do abdômen, e 2 para luta. Para cada encontro foi compilada uma média aritmética da pontuação relativa aos níveis de agressão. Estes encontros foram realizados entre todas as 8 colônias envolvidas no experimento.

Encontros 10 entre formigas companheiras de ninhos de cada colônia foram realizados, antes de cada teste, nas mesmas condições como forma de controle.

Perfil químico colonial.

Para avaliar se os níveis de agressividade resultante das interações estavam correlacionados com o seus perfis químicos da cutícula das operárias, os perfis de hidrocarbonetos cuticulares dos gásteres de operárias que interagiram nos encontros comportamentais foram analisados pela técnica FTIR-PAS (Antoniali-Junior *et al* 2007, Antoniali-Junior *et al* 2008, Neves *et al* 2013, Torres *et al* 2014, Sguarizi-Antonio *et al* 2017).

A região do gáster foi escolhida para análise por ser a de maior concentração dos HCs nos insetos (Cuvillier-hot *et al* 2001). Utilizamos 10 operárias maiores por colônia, que foram colocadas em estufas à vácuo por 48 horas para reduzir a contribuição da umidade relativa do ar na leitura do espectro, e após este procedimento, os gásteres foram dissecados com auxílio de pinça e tesoura microcirúrgica. Após colocar o gáster na célula fotoacústica, o espectrofotômetro foi purgado com ar seco durante todo o experimento, para minimizar o vapor de água e CO₂ do ambiente.

O perfil químico da cutícula foi obtido por um Espectrofotômetro Thermo-Nicolet Nexus 670, combinado com um detector fotoacústico (MTEC-300). Na leitura foi utilizada a região espectral do infravermelho médio que compreende de 4000 a 400 cm⁻¹ (Silverstein & Webster 2000, Skoog *et al* 2002). Esta região é sensível às vibrações e rotações de grupos químicos moleculares e, sendo assim, é capaz de identificar e distinguir radicais moleculares e os tipos de ligações químicas presentes nos compostos químicos da cutícula dos gásteres (Smith 1999).

A célula fotoacústica foi purgada com gás hélio durante a aquisição do espectro de cada amostra e o espectro resultante de cada análise foi obtido pela média de 128 varreduras (“scans”) com resolução espectral de 16 cm⁻¹. Posteriormente, os principais picos de absorção referentes às vibrações de hidrocarbonetos foram identificados, e suas intensidades foram separadas para interpretação estatística.

Análises estatísticas.

Foram realizados testes de Correlação de Pearson para avaliar se há uma relação significativa entre o volume total de câmaras e o número de câmaras, volume total de câmaras e número de operárias.

Para avaliar se há uma relação entre o nível de agressividade e a distância das colônias foi utilizada a análise de correlação de Pearson. As análises foram realizadas no programa R.

Para avaliar as diferenças do perfil químico cuticular entre as colônias, os valores de intensidade dos picos dos espectros de absorção obtidos pelo FTIR-PAS foram identificados, e as intensidades foram utilizadas para a análise de função discriminante (DFA – *Discriminant Function Analysis*). Esta análise é indicada porque revela um conjunto de variáveis que melhor diferenciam as colônias analisadas (Quinn & Keough 2002).

A diferença entre os grupos avaliados foi indicada pelo valor de Wilks's Lambda, sendo que valores próximos a zero indicam que os grupos não se sobrepõem, e valores próximos a um indicam elevada sobreposição entre os grupos, com inexistência de diferença significativa entre eles. Adicionalmente o teste de Distância de Mahalanobis (*Squared Mahalanobis Distances*) foi realizado para identificar quais as distâncias químicas entre cada colônia. As análises foram realizadas com o auxílio do programa Systat11.

RESULTADOS

Arquitetura

Todos os ninhos escavados apresentavam um único orifício de entrada/saída coberto com uma estrutura na forma de chaminé composta por material vegetal seco com altura média de $2.5\text{cm} \pm 1.0\text{cm}$ e o diâmetro médio de $0.87\text{cm} \pm 0.2\text{cm}$ (Tabela 1). Ao redor desta estrutura sempre havia no mínimo um montículo de terra solta no formato semi-circular de $5.9\text{cm} \pm 1.8\text{cm}$ de raio com exceção do ninho 5 que apresentava dois montículos dispostos em lados opostos ao entorno da entrada do ninho (Figuras 1).

Os ninhos variaram de 2 a 6 câmaras e atingiram a profundidade média de 61.9 ± 43.9 cm, o ninho menos profundo foi o ninho 1, com 2 câmaras e 18 cm de profundidade, enquanto

o ninho mais profundo foi o ninho 7, que apresentava 6 câmaras e atingiu a profundidade máxima de 122 cm.

A estrutura interna era composta por câmaras de formato elipsoide, dispostas verticalmente uma sob as outras e variam em suas dimensões (Tabela 2 e figuras 3 e 4). Estas câmaras estavam interconectadas por um único túnel, exceto o ninho 08, no qual a câmara 1 conectava-se a câmara 2 por 2 túneis paralelos (Figura 2A, 2B e Figura 4). Nas câmaras número 01 dos ninhos 1 e 2 havia uma estrutura na forma de apêndice (AP), que consistia em uma estrutura ovalóide, de tamanho reduzido ligado diretamente à câmara, cujo volume médio foi de $8.63 \pm 1.11 \text{ cm}^3$ (Figura 3).

Nos ninhos 6 e 7 entre a câmara 01 e a superfície do solo foi observado um alargamento do túnel, diferente do padrão das outras câmaras com volume médio de $7.85 \pm 2.22 \text{ cm}^3$ (Figura 4).

Em todos os ninhos foram encontradas câmaras contendo jardins de fungo, o qual se encontrava suspenso na câmara aderido à raízes ou em contato direto com o solo (Figura 5A e B respectivamente), as câmaras nas quais o fungo estava presente não apresentaram diferenças do padrão geral das demais câmaras, sendo todas de formato elipsoide.

As populações nos ninhos variaram de 621 a 1662 operárias, apresentando em média 287 ± 63.6 operárias menores, 210 ± 92 médias e 488 ± 215.7 maiores (Tabela 3). Nas colônias 4, 6, e 7 não foram encontradas nem rainhas, nem imaturos (Tabela 1). Quando presente, encontramos apenas uma rainha por ninho, sempre encontradas nas câmaras de fungos e imaturos. Câmaras com jardim de fungos foram encontradas em todos os ninhos escavados, entretanto sua localização variou entre os ninhos podendo estar presente em todas as câmaras (Ninhos 2, 3 e 5), ou em apenas algumas (Tabela 1). A rainha quando presente, estava presente na primeira, segunda e terceira câmara, como observado na Tabela 1.

De acordo com o teste de correlação de Pearson houve correlação positiva entre volume do ninho e o número de operárias ($r^2=0,796$ $p<0,05$), assim como entre volume e o número de câmaras ($r^2=0,796$ $p<0,05$) (Figura 6). Há correlação positiva e significativa entre as operárias maiores com o volume total do ninho e número de câmaras ($r^2=0,836$, $r^2=0,808$, $p<0,05$, figuras 7E e 7F, respectivamente). O número de operárias menores e médias apresentaram correlação positiva e significativa como número de câmaras ($r^2=0,935$, $r^2=0,859$, $p<0,05$, figuras 7B e 7D, respectivamente). Não há correlação significativa entre o número de operárias menores e médias com o volume total do ninho ($r^2=0,582$, $r^2=0,608$, figuras 7A e 7C, respectivamente).

Testes de agressividade.

No total foram realizados 360 encontros induzidos e um total de 30 horas de observações. Em todos os encontros os únicos atos observados foram de se antenar e ignorar. Portanto, o nível de agressividade em todos os encontros pareados foi de 0, independentemente da distância entre os ninhos, que foi mínima de 7 metros (Ninho 4 e Ninho 6) e máxima de 111 metros (Ninho 1 e Ninho 8) (Tabela 4). O mesmo resultado foi encontrado em todos os testes controles.

Perfil químico colonial

Observamos diferenças significativas entre os espectros, notadamente para os picos indicados pelas setas correspondentes aos modos vibracionais dos hidrocarbonetos (Figura 8) distribuídos entre 07 grupos funcionais referentes aos hidrocarbonetos cuticulares utilizados para as análises estatísticas (Tabela 5).

A análise discriminante demonstra diferenças significativas entre os perfis químicos das diferentes colônias de *A. balzani* (Wilks' $\lambda=0,077$, $F=6,801$, $p<0,05$). Entretanto, é possível observar a separação de 4 grupos distintos (colônias 1, 3, 4 e 5; colônias 7 e 8; colônia 2 e colônia 6) (Figura 9). A primeira raiz canônica explicou 53% da separação dos grupos e a segunda 31,8% e os picos significativos para a separação foram 1157, 1380, 1457 e 2923.

Observamos que as colônias 1 e 3, 1 e 4, 3 e 4, 3 e 5 e as colônias 7 e 8 são as mais próximas, e as colônias 2 e 6, 6 e 7 e colônias 6 e 8 são as mais distantes (Tabela 6).

DISCUSSÃO

As disposições das estruturas externas descritas aqui, também foram observadas em outros estudos com *A. balzani* (Pimenta *et al* 2007, Silva *et al* 2010, Caldato *et al* 2016, Verza *et al* 2007). No entanto, diferente do que foi encontrado neste estudo, no qual, os ninhos, independentemente da época do ano, sempre apresentavam uma estrutura em forma de chaminé, recobrando os orifícios de entrada e saída, em ninhos desta mesma espécie, a chaminé de palha não ocorre nos períodos mais secos do ano (Pimenta *et al* 2007, Silva *et al* 2010, Caldato *et al* 2016), ou a presença ou ausência desta chaminé em ninhos de *A. balzani* que varia de acordo com a população (Gonçalves 1961).

Esta estrutura em forma de chaminé é construída por formigas de diferentes subfamílias e tem função de evitar a entrada de água no ninho nos períodos chuvosos do ano (Espina & Timaure 1977, Navarro & Jaffé 1985, Antonialli-Junior & Giannotti 1997). Além de evitar a entrada de água, a chaminé auxilia na regulação da temperatura e umidade interna além de proteger a entrada do ninho contra invasão por predadores (Perdomo 2008). Contudo, nossos resultados, quando comparados com trabalhos realizados com outras populações, reforçam que há uma variação intraespecífica do padrão de construção desta estrutura (Silva *et al* 2010).

Os montículos de terra encontrados ao redor da chaminé, também foram encontrados em todos os ninhos. Estes montículos são constituídos de solo proveniente da escavação subterrânea do ninho, e deposição de fragmentos de folhas exauridas utilizadas para cultivo do fungo simbiote, portanto sua deposição pode variar de acordo com a atividade do ninho (Verza *et al* 2007, Caldato *et al* 2016). Em condições de seca e frio as colônias de *A. balzani* podem

diminuir suas atividades para resguardar energia devido à escassez de recurso, diminuindo o número de viagens à superfície (Verza *et al* 2007, Caldato *et al* 2016). Portanto, é possível inferir que, no ambiente em que as colônias estavam nidificadas há condições para que, independente do período do ano, haja atividade de escavação.

Outra diferença no padrão de construção dos ninhos, encontrados neste estudo, é a presença de dois túneis de ligação ligando duas câmaras. Diferentemente de trabalhos anteriores que estudaram a arquitetura dos ninhos de *A. balzani* (Pimenta *et al* 2007, Verza *et al* 2007, Silva *et al* 2010, Caldato *et al* 2016) cujos ninhos apresentam apenas um túnel de ligação entre câmaras subterrâneas. De fato, a forma como estas estruturas se organizam no interior dos ninhos, podem variar de forma interespecífica e intraespecífica (Tschinkel 2015).

O número de câmaras encontrado nos ninhos aqui escavados variou de 2 a 6. O número máximo de câmaras encontradas em outros estudos com *A. balzani* varia de 5 (Pimenta *et al* 2007, Verza *et al* 2007, Poderoso *et al* 2009, Caldato *et al* 2016) até o máximo de 14 câmaras (Silva *et al* 2010).

A variação dos parâmetros estruturais dos ninhos desta espécie, dependendo da população, pode estar relacionada com condições específicas encontradas em cada ambiente de nidificação, como características físicas do solo, clima, bem como a idade da colônia (Bollazzi *et al* 2008, Van Gils & Vanderwoude 2012), além, provavelmente de fatores intrínsecos.

De fato, a presença de estruturas localizadas entre as primeiras câmaras dos ninhos 6 e 7, que consideramos como um alargamento de túnel, talvez tenha sido descrito por Pimenta *et al* (2007) em *A. balzani* como subcâmaras. Porém, diferente do presente estudo, estes autores não encontraram fungos nesta estrutura. Além disso, a presença de fungos aderidos à raízes que se projetavam do teto das câmaras já foram relatados em *A. balzani* e em *Acromyrmex subterraneus brunneus* (Forel, 1912) (Caldato 2010, Camargo *et al* 2004). Este comportamento

ocorre para evitar contaminação por patógenos encontrados no solo, como investigado por Fernández-Marín *et al* (2007) na espécie *Acromyrmex octospinosus* (Reich, 1793).

A ausência de rainhas em 3 dos ninhos escavados pode ser em consequência da ocorrência já relatada de ninhos polidômicos para esta espécie (Ichinose *et al* 2007, Caldato *et al* 2016). Além disso, apesar da ausência de imaturos nestes ninhos, a similaridade química da cutícula observada entre as colônias 7 e 8 (Figura 15) reforça esta hipótese (Caldato *et al* 2016).

A proporção da sub-casta de operárias maiores encontrada nas colônias foram sempre maiores do que as proporções das sub-castas menores e médias, com a população total das colônias variando de 621 a 1662 operárias. No entanto, Caldato *et al* (2016) observaram uma maior proporção de operárias menores em ninhos polidômicos desta mesma espécie, com a população total das colônias variando de 337 a 2832 indivíduos. Esta proporção de sub-castas de operárias está relacionada ao desenvolvimento da colônia, tendo em vista que a necessidade de realização de tarefas diferentes flutua com o decorrer do desenvolvimento colonial (Wilson 1983). Operárias maiores desta espécie além de executarem funções extra-nidais, como forragear, também executam uma variedade de atividades internas (Lopes 2014).

A diferenciação de operárias em sub-castas está relacionada a sua especialização na realização de diferentes funções na colônia (Holldober & Wilson 1990). Além disso, a taxa de ocorrência das sub-castas é ajustada para maximizar a eficiência ergonômica da colônia (Wilson 1963) e esta taxa pode se alterar ao longo do tempo de acordo com suas necessidades (Wilson 1968, Hasegawa 1997).

Os resultados mostram que a medida em que a colônia aumenta em número de indivíduos, as operárias aumentam o número de câmaras e seu volume total. Além disso, o volume das câmaras está intimamente relacionado com o número de câmaras, o que indica que o tamanho do ninho cresce em grande parte pela escavação de mais câmaras de tamanho padrão, de modo que o volume parece depender do número total de formigas na colônia, assim como já

descrito para os ninhos de *Odontomachus brunneus* (Patton, 1894) (Cerquera & Tschinkel 2010), *Odontomachus chelifer* (Latreille, 1802) (Guimarães *et al* 2018).

Ainda que haja indícios de que as colônias estudadas estruturam suas colônias em polidômia, um dos parâmetros primordiais analisados para se determinar este comportamento é o nível de agressividade intercolonial. Como as distâncias entre as colônias estudadas eram maiores do que aquelas em que diferentes autores (Ichinose *et al* 2007, Caldato *et al* 2016) descreveram ser a distância média entre ninhos satélites (5 metros), é presumível que, por este fator, as colônias não se estruturam em ninhos polidômicos.

Durante os encontros induzidos, não houve a execução de qualquer ato agressivo entre operárias de diferentes colônias. Entretanto, apesar de a agressividade intercolonial ser um critério importante na delimitação das fronteiras de uma colônia (Breed 2003, Roulston *et al* 2003, Ichinose *et al* 2007, Caldato *et al* 2016), atos agressivos podem não ocorrer nestes encontros, uma vez que o reconhecimento entre insetos sociais está fortemente relacionado com a composição química de sua cutícula (Astruc *et al* 2001), e esta composição pode sofrer influência de fatores endógenos (Ross *et al* 1987, Provost *et al* 1991, Nehring *et al* 2011) e exógenos (Buczowski & Silverman 2006, Michelutti *et al* 2018).

Houve diferenças intercoloniais entre os perfis químicos cuticulares das colônias avaliadas, com os picos mais significativos para a distinção das colônias (Figuras. 8 e 9) relacionados com os hidrocarbonetos identificados. Estes grupos funcionais já demonstraram importância em trabalhos prévios na separação entre gêneros e espécies de vespas sociais (Sguarizi-Antonio *et al* 2017), definição de castas em *Ectatomma vizottoi* (Antoniali-Junior *et al* 2007) e status fisiológico em vespas sociais (Torres *et al* 2014). De fato, os HCs têm papel importante na separação também entre colônias, principalmente devido a suas diferenças quantitativas na composição dos perfis coloniais (Howard 1993, Vander Meer & Morel 1998).

No caso de colônias polidômicas, o nível de variação intracolônia do perfil químico pode ser maior, visto que cada ninho satélite pode diferir em seu microambiente, além de que operárias podem transferir HCs de forma não aleatória entre os ninhos satélites, o que pode ocasionar maior variação de pistas de reconhecimento na colônia, e conseqüentemente maior tolerância entre formigas de colônias polidômicas frente à formigas não companheiras de ninho (van Wilgenburg *et al* 2006).

Em um dos grupos que possuem perfis químicos mais similares, sendo composto pelas colônias 1, 3, 4 e 5, apenas na colônia 4 a rainha estava ausente. Já no grupo composto pelas colônias 7 e 8, apenas na colônia 8 a rainha estava presente. Diferentemente dos nossos resultados, Ichinose *et al* (2007) e Caldato *et al* (2016) observaram que colônias em que suas operárias não apresentaram comportamentos agressivos, era encontrada apenas uma rainha, já encontros entre colônias contendo rainha, comportamentos agressivos eram observados. Entretanto estes autores não analisaram o perfil químico das colônias estudadas.

De fato, colônias polidômicas podem não apresentar agressividade entre não-companheiras de ninho, mesmo em encontros alocoloniais entre indivíduos provenientes de colônias distantes centenas de quilômetros entre si (Bjoerkman-Chiswell *et al* 2008). Nossos resultados também corroboraram os de Holzer *et al* (2006) em estudos com seis populações da espécie *Formica paralugubris* (Seifert, 1996), no qual observaram que não ocorre agressão entre formigas não-companheiras de ninho, provenientes da mesma população.

Apesar da condição de monoginia proposta para *A. balzani* (Ichinose *et al* 2007, Caldato *et al* 2016), a similaridade do perfil químico e a ausência de comportamentos agonísticos entre as colônias com rainhas presentes, não corroboram esta hipótese. Além disso, a composição genética desta espécie, necessita de maior investigação para esclarecer questões relacionadas ao grau de parentesco entre seus indivíduos, uma vez que já foi descrito para o gênero casos de poliândria (i.e. rainhas que foram fecundadas por mais de um macho). De fato, o nível de

parentesco entre as operárias de uma mesma colônia poliândrica pode ser baixo (Reichardt & Wheeler 1996, Boomsma *et al* 1999, Bekkevold *et al* 1999, Sturup *et al* 2014). Neste caso, o baixo grau de parentesco intracolonial pode ocasionar menor agressividade entre não companheiras de ninho, semelhante ao observado por Bjoerkman-Chiswell *et al* (2008) em colônias de *L. humile* e por Brown *et al* (2003) em colônias de *Formica exsecta*.

De fato, o nível de agressividade deve ser tomado com cautela no intuito de servir como indicativo de polidomia. Espécies como *Tetramorium bicarinatum* (Nylander, 1846) apresentam alta tolerância coespecífica, mesmo em casos em que as colônias estão nidificadas em sítios e em populações geograficamente distantes (Astruc *et al* 2001). Além disso, já foi descrito em colônias de *A. lobicornis* evidências da ocorrência do efeito do inimigo íntimo, situação em que operárias apresentaram comportamento menos agressivo frente a não companheiras de ninhos provenientes de colônias próximas, e este comportamento tende a aumentar, de acordo com o aumento da distância entre as colônias (Dimarco *et al* 2010).

Além da interação entre formigas, o efeito do inimigo íntimo pode ser explicado também por meio da homogeneização da composição química cuticular destes insetos. Investigações em espécies como *Pachycondyla apicalis* (Latreille, 1802), *Camponotus fellah* (Dalla Torre, 1893) e *Aphaenogaster senilis* (Mayr, 1853) têm mostrado que compostos cuticulares podem sofrer uma homogeneização entre os membros da colônia por meio de interações sociais (Soroker *et al* 1998, Boulay *et al* 2000, Lenoir *et al* 2001, Boulay *et al* 2004).

Entretanto, as colônias no presente estudo, apesar de em alguns casos apresentarem diferenças significativas em sua composição química cuticular, não apresentaram atos agressivos. Este resultado indica que pode ocorrer habituação entre as forrageiras destas colônias. Neste caso, operárias forrageiras aprendem a reconhecer a composição química de colônias vizinhas e respondem menos agressivamente a estas (Langen *et al* 2000, Grangier *et al* 2007).

CONCLUSÃO

Os ninhos descritos neste estudo, apesar de seguir um padrão geral já descrito anteriormente, demonstra que a arquitetura nesta espécie pode variar em alguns aspectos. Neste caso, a ocorrência das estruturas externas, chaminé e montículos, independente da época do ano, bem como câmaras conectadas por mais de um túnel, merecem destaque.

O nível de agressividade, isoladamente, não é um parâmetro confiável para avaliar se nesta espécie as colônias são estruturadas em ninhos polidômicos, visto a baixa agressividade entre colônias na população estudada, independentemente da distância entre elas e da similaridade de sua composição química. Portanto, é coerente sugerir que testes de agressividade realizados para avaliar a ocorrência de ninhos polidômicos devem ser adotados com cautela.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Jacques HC Delabie (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - CEPLAC, Centro de Pesquisa de Cacao - CEPEC, Laboratório de Mirmecologia da Universidade Estadual de Santa Cruz UESC.) pela identificação da espécie. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES pela bolsa concedida, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq e Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul - FUNDECT pelo apoio financeiro.

Contribuição dos autores

NRB planejou, executou escavação de ninhos, conduziu análises e escreveu manuscrito, VESO e KLS escavaram os ninhos, WFAN planejou e escreveu manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antonialli-Junior WF, Giannotti E (1997) Nest architecture and population dynamics of the Ponerinae ant *Ectatomma opaciventre* Roger (Hymenoptera: Formicidae). J Adv Zool 18:64-71.

Antonialli-Junior WF, Giannotti E (2001) Nest architecture and population dynamics of the Ponerinae ant *Ectatomma edentatum* (Hymenoptera, Formicidae). Sociobiology 38:1–12.

Antonialli-Junior WF, Lima SM, Andrade LH, Suarez YR (2007) Comparative study of the cuticular hydrocarbon in queens, workers and males of *Ectatomma vizottoi* (Hymenoptera, Formicidae) by Fourier transform-infrared photoacoustic spectroscopy. Genet Mol Res 6:492-499.

Antonialli-Junior WF, Suarez YR, Izida T, Andrade LH (2008) Intra- and interspecific variation of cuticular hydrocarbon composition in two *Ectatomma* species (Hymenoptera: Formicidae) based on Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. Genet Mol Res 7:559-566.

Astruc C, Malosse C, Errard C (2001) Lack of intraspecific aggression in the ant *Tetramorium bicarinatum*: a chemical hypothesis. J Chem Ecol 27(6):1229-1248.

Banschbach VS, Herbers JM (1996) Complex colony structure in social insects: I. Ecological determinants and genetic consequences. Evolution 50(1):285-297.

Bass M, Cherrett JM (1995) Fungal hyphae as a source of nutrients for the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. Physiol Entomol 20:1–6.

Bekkevold D, Frydenberg J, Boomsma JJ (1999) Multiple mating and facultative polygyny in the Panamanian leafcutter ant *Acromyrmex echinator*. Behav Ecol Sociobiol 46(2):103–109. doi:10.1007/s002650050598.

Beye M, Neumann P, Moritz RFA (1997) Nestmate recognition and the genetic gestalt in the mound-building ant *Formica polyctena*. *Insectes Soc* 44:49–58.

Björkman-Chiswell BT, Van Wilgenburg E, Thomas ML, Swearer SE, Elgar MA (2008) Absence of aggression but not nestmate recognition in an Australian population of the Argentine ant *Linepithema humile*. *Insectes Soc* 55(2):207-212.

Bollazzi M, Kronenbitter J, Roces F (2008) Soil temperature, digging behaviour, and the adaptive value of nest depth in South American species of *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Oecologia* 158(1):165-175.

Boomsma JJ, Fjerdingstad EJ, Frydenberg J (1999) Multiple paternity, relatedness and genetic diversity in *Acromyrmex* leaf-cutter ants. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 266(1416):249-254.

Boulay R, Hefetz A, Soroker V, Lenoir A (2000) *Camponotus fellah* colony integration: worker individuality necessitates frequent hydrocarbon exchanges. *Anim Behav* 59:1127–1133.

Boulay R, Katzav-Gozansky T, Hefetz A, Lenoir A (2004) Odour convergence and tolerance between nestmate through trophallaxis and grooming in the ant *Camponotus fellah* (Dalla Torre). *Insectes Soc* 51:55-61.

Breed MD (2003) Nestmate recognition assays as a tool for population and ecological studies in eusocial insects: a review. *J Kansas Entomol Soc* 76:539-550.

Brown WD, Liautard C, Keller L (2003) Sex-ratio dependent execution of queens in polygynous colonies of the ant *Formica exsecta*. *Oecologia*, 134(1), 12-17.

Buczkowski G, Silverman J (2006) Geographical variation in Argentine ant aggression behaviour mediated by environmentally derived nestmate recognition cues. *Anim Behav* 71:327-335.

Caldato N (2010) Biología de *Acromyrmex balzani* Emery, 1890 (Hymenoptera, Formicidae). iv, 100 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu.

Caldato NSC, Forti RLC, Andrade APP, Lopes JFS (2016) Nest architecture in polydomous grass-cutting ants (*Acromyrmex balzani*). J Nat Hist 50(25-26):1561-1581.

Camargo RDS, Forti LC, Lopes JF, Andrade APPD (2004) Characterization of *Acromyrmex subterraneus brunneus* (Hymenoptera: Formicidae) young nests in a fragment of the Neotropical forest. Rev Árvore 28(2):309-312.

Cerquera LM, Tschinkel WR (2010) The nest architecture of the ant *Odontomachus brunneus*. Int J Insect Sci 10(1):64.

Cuvillier-hot V, Cobb M, Malosse C, Peeters C (2001) Sex, age and ovarian activity affect cuticular hydrocarbons in *Diacamma ceylonense*, a queenless ant. J Insect Physiol 47: 485-493.

Dahbi A, Cerdá X, Hefetz A, Lenoir A (1996) Social closure, aggressive behavior, and cuticular hydrocarbon profiles in the polydomous ant *Cataglyphis iberica* (hymenoptera, Formicidae). J Chem Ecol 22(12):2173-2186.

Dahbi A, Lenoir A (1998) Nest separation and the dynamics of the Gestalt odor in the polydomous ant *Cataglyphis iberica* (Hymenoptera, Formicidae). Behav Ecol Sociobiol 42:349–355.

Dimarco RD, Farji-Brener AG, Premoli AC (2010) Dear enemy phenomenon in the leaf-cutting ant *Acromyrmex lobicornis*: behavioral and genetic evidence. Behav Ecol 21(2):304-310.

Espina ER, Timaure A (1977) Características de los nidos de *Acromyrmex landolti* (Forel) em el oeste de Venezuela. Revista Facultad Agronomía 4(1):53 – 62.

Fernandez-Marin H, Zimmerman JK, Wcislo WT (2007) Fungus garden platforms improve hygiene during nest establishment in *Acromyrmex* ants (Hymenoptera, Formicidae, Attini). *Insectes Soc* 54(1):64-69.

Fietz CR, Fisch GF (2008) O clima da região de Dourados, MS. Embrapa Agropecuária Oeste-Documentos (INFOTECA-E).

Forti LC, De Andrade ML, Andrade APP, Lopes JF, Ramos VM (2006) Bionomics and identification of *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) through an illustrated key. *Sociobiology* 48(1):135-153.

Fowler HG, Pereira-da-Silva V, Forti LC, Saes NB (1986) Population dynamics of leaf-cutting ants: A brief review. In: Lofgren CS, Vander Meer RK (eds) *Fire Ants and Leaf-Cutting Ants - Biology and Management*. Westview Press, Boulder, pp 123-145.

Giraud T, Pedersen JS, Keller L (2002) Evolution of supercolonies: The Argentine ants of southern Europe. *Proc Natl Acad Sci* 99(9):6075-6079.

Gonçalves CR (1961) O gênero *Acromyrmex* no Brasil (Hymenoptera, Formicidae). *Studia Entomológica* 4:113-180.

Grangier J, Le Breton J, Dejean A, Orivel J (2007) Coexistence between *Cyphomyrmex* ants and dominant populations of *Wasmannia auropunctata*. *Behav Processes* 74(1):93–96. doi:10.1016/j.beproc.2006.10.009.

Guimarães CI, Pereira MC, Batista NR, Rodrigues CAP, Antonialli-Junior WF (2018) The complex nest architecture of the Ponerinae ant *Odontomachus chelifer*. *PloS one* 13(1):e0189896.

Hasegawa E (1997) The optimal caste ratio in polymorphic ants: estimation and empirical evidence. *Am Nat* 149(4):706-722.

Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The ants*. Harvard University Press, p 746.

Holzer B, Chapuisat M, Kremer N, Finet C, Keller L (2006) Unicoloniality, recognition and genetic differentiation in a native *Formica* ant. *J Evol Biol* 19(6):2031-2039.

Howard RW (1993) Cuticular hydrocarbons and chemical communication. In: Satnley-Samuelson DW, Nelson DR (eds) *Insect Lipids. Chemistry, Biochemistry and Biology*, University of Nebraska Press, Lincoln, pp179–226.

Ichinose K, Forti LC, Pretto R, Nachman C, Boosma JJ (2007) Sex allocation in the polydomus leaf-cutting ant *Acromyrmex balzani*. *Ecol Res* 22:288-295.

Jutsum AR, Saunders TS, Cherrett JM (1979) Intraspecific aggression in the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus*. *Anim Behav* 27:839-844.

Kottek M, Grieser J, Beck C, Rudolf B, Rubel F (2006) World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorol Z* 15(3):259-263.

Langen TA, Tripet F, Nonacs P (2000) The red and the black: habituation and the dear-enemy phenomenon in two desert *Pheidole* ants. *Behav Ecol Sociobiol* 48(4):285-292.

Lenoir A, d'Ettorre P, Errard C, Hefetz A (2001) Chemical ecology and social parasitism in ants. *Annu Rev Entomol* 46(1):573-599.

Lopes JFS (2004) Diferenciação comportamental de espécies de *Acromyrmex spp.* (Mayr, 1865) (hymenoptera, Formicidae) cortadeiras de monocotiledôneas e dicotiledôneas. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Brasil. 93pp.

Michelutti KB, Soares ERP, Sguarizi-Antonio D, Piva RC, Suárez YR, Cardoso CAL, Antonialli-Junior WF (2018) Influence of temperature on survival and cuticular chemical profile of social wasps. *J Therm Biol* 71:221–231. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.11.019>.

Moreira AA, Forti LC, Andrade APP, Boaretto MAC, Lopes JFS (2004a) Nest architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). *Stud Neotrop Fauna E* 39:109–116.

Moreira AA, Forti LC, Boaretto MAC, Andrade APP, Lopes JFS, Ramos VM (2004b) External and internal structure of *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae) nests. J Appl Entomol 128:204–211.

Navarro JG, Jaffé K (1985) On the adaptive value of nest features in grass-cutting ant *Acromyrmex landolti*. Biotropica 17(4): 347-348.

Nehring V, Evison S, Santorelli L, D'ettorre P, Hughes W (2011) Kin-informative recognition cues in ants. Proc R Soc Lond B Biol Sci 278:1942-1948.

Neves EF, Montagna TS, Andrade LH, Suárez YR, Lima SM, Antonialli-Junior WF (2013) Social parasitism and dynamics of cuticular hydrocarbons in paper wasps of the genus *Mischocyttarus*. J Kans Entomol Soc 86(1):69-78.

Perdomo MH (2008) Ecologia de *Atta insularis* Guérin (Insecta: formicidae) em uma pastagem de *Leucaena leucocephala* (Fabacea) e *Panicum maximum* (Poaceae) em San José de Las Lajas, Cuba. http://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFSC_d8a2614bc577446f2592820e63105a8f/ Acessado 23 agosto de 2018.

Perna A, Theraulaz G (2017) When social behavior is moulded in clay: on growth and form of social insect nests. J Exp Biol. 220:83–91. <https://doi.org/10.1242/jeb.143347> PMID: 28057831..

Pimenta LB, Araújo MS, Lima L, Silva JMS, Naves VGO (2007) Dinâmica de forrageamento e caracterização de colônias de *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890) (Hymenoptera: Formicidae) em ambiente de cerrado goiano. Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal 9:1-12.

Poderoso JCM, Ribeiro GT, Gonçalves GB, Mendonça PD, Polanczyk RA, Zanetti R, Serrão JE, Zanucio JC (2009) Nest and foraging characteristics of *Acromyrmex landolti balzani* (Hymenoptera: Formicidae) in NortheastBrazil. Sociobiology 54(2)361-371.

Provost E (1991) Nonnestmate kin recognition in the ant *Leptothorax lichtensteini*: Evidence that genetic factors regulate colony recognition. *Behav Genet* 21(2):151-167.

Quinn GP, Keough MJ (2002) Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge University Press, p 556.

Rao M (2000) Variation in leaf-cutter ant (*Atta* sp.) densities in forest isolates: the potential role of predation. *J Trop Ecol* 16(2):209-225.

Reichardt AK, Wheeler DE (1996) Multiple mating in the ant *Acromyrmex versicolor*: a case of female control. *Behav Ecol Sociobiol* 38(4):219-225.

Richard FJ, Hefetz A, Christides JP, Errard C (2004) Food influence on colonial recognition and chemical signature between nestmates in the fungus-growing ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. *Chemoecology* 14(1):9-16.

Ross KG, Meer RKV, Fletcher DJ, Vargo EL (1987) Biochemical phenotypic and genetic studies of two introduced fire ants and their hybrid (Hymenoptera: Formicidae). *Evolution* 41(2):280-293.

Roulston TH, Buczkowski G, Silverman J (2003) Nestmate discrimination in ants: effect of bioassay on aggressive behavior. *Insect Soc* 50:151-159.

Saar M, Leniaud L, Aron S, Hefetz A (2014) At the brink of supercoloniality: genetic, behavioral, and chemical assessments of population structure of the desert ant *Cataglyphis niger*. *Front Ecol Evol* 2:1-10.

Seifert B (1996) *Formica paralugubris* nov. spec. – A sympatric sibling species of *Formica lugubris* from the western Alps (Insecta: Hymenoptera: Formicoidea: Formicidae). *Reichenbachia* 31:193-201.

Sguarizi-Antonio D, Torres VO, Firmino EL, Lima SM, Andrade LH, Antonialli-Junior WF (2017) Observation of intra-and interspecific differences in the nest chemical profiles of

social wasps (Hymenoptera: Polistinae) using infrared photoacoustic spectroscopy. *J Photochem Photobiol B* 176:165-170.

Silva K, Castellani MA, Forti LC, Moreira AA, Lemos OL, Carneiro RDCS, Khouri CR, Ribeiro AEL (2010) Architecture of nests of *Acromyrmex* (Moellerius) *balzani* (Formicidae: Myrmicini: Attini) in pasture. *Appl Res & Agrotec* 3(2):99-116.

Silverstein RM, Webster FX (2000) Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, p 508.

Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA (2002) Princípios de análise instrumental. Editora Bookman, Porto Alegre, p 1056.

Smith BC (1999) Infrared spectral interpretation: a systematic approach. CRC Press, Boca Raton, Florida, p 288.

Soroker V, Fresneau D, Hefetz A (1998) Formation of colony odor in ponerine ant *Pachycondyla apicalis*. *J Chem Ecol* 24(6):1077-1090.

Sosa-Calvo J, Jesovnik A, Okonski E, Schultz TR (2015) Locating, collecting, and maintaining colonies of fungus-farming ants (Hymenoptera: Myrmicinae: Attini). *Sociobiology* 62(2):300-320.

Starr CK (1991) The nest as the locus of social life. In: KG Ross, RW Matthews (eds) *The social biology of wasps*, Comstock Publishing associates, Ithaca, pp 520-539.

Sturup M, Nash DR, Hughes WO, Boomsma JJ (2014) Sperm mixing in the polyandrous leaf-cutting ant *Acromyrmex echinator*. *Ecol Evol* 4:3571–3582. Doi: doi.org/10.1002/ece3.1176.

Suarez AV, Tsutsui ND, Holway DA, Case TJ (1999) Behavioral and genetic differentiation between native and introduced populations of the Argentine ant. *Biol Invasions* 1:43-53.

Sudd JH (1982) Ants: Foraging, nesting, brood behavior, and polyethism. In: Hermann HR (ed) Social Insects. Academic Press, New York, pp 107–155.

Thurin N, Aron S (2008) Seasonal nestmate recognition in the polydomous ant *Plagiolepis pygmaea*. *Anim Behav* 75(3):1023-1030.

Torres VO, Sguarizi-Antonio D, Lima SM, Andrade LH, Antonialli-Junior WF (2014) Reproductive status of the social wasp *Polistes versicolor* (Hymenoptera, Vespidae). *Sociobiology* 61(2):218-224.

Tschinkel WR (2003) Subterranean ant nests: trace fossils past and future? *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol* 192(1-4):321-333. Doi:dx.doi.org/10.1016/S0031-0182(02)00690-9.

Tschinkel WR (2015). The architecture of subterranean ant nests: beauty and mystery underfoot. *J Bioecon* 17:271–291. Doi:doi.org/10.1007/s10818-015-9203-6

Van Gils H, Vanderwoude C (2012) Leafcutter ant (*Atta sexdens*) (Hymenoptera: Formicidae) nest Distribution responds to canopy removal and changes in micro-climate in the southern colombian amazon. *Fla Entomol* 95(4):914-921.

Van Wilgenburg E, Ryan D, Morrison P, Marriott PJ, Elgar MA (2006) Nest- and colony-mate recognition in polydomous colonies of meat ants (*Iridomyrmex purpureus*). *Naturwissenschaften* 93(7):309-314.

Vander Meer RK, Morel L (1998) Nestmate recognition in ants. In: Vander Meer RK, Breed M, Espelie KE, Winston M (eds) *Pheromone Communication in Social Insects*. Westview, Boulder, CO. pp. 79–103.

Verza SS, Forti LC, Lopes JFS, Hughes WOH (2007) Nest architecture of the leaf-cutting ant *Acromyrmex rugosus rugosus*. *Insectes Soc* 54(4):303-309.

Wheeler WM (1942) Studies of neotropical ant-plants and their ants. - *Bull. Mus. Comp. Zool.* 90:3-262.

Wilson EO (1963) The social biology of ants. *Annu Rev Entomol* 8:345-368.

Wilson EO (1968) The ergonomics of caste in the social Insects. *Am Nat*, 102(923):41 – 66. doi:10.1086/282522

Wilson EO (1983) Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera, Formicidae: Atta). IV: Colony ontogeny of *A. sexdens*. *Behav Ecol Sociobiol* 14: 55-60.

Tabela 1. Dimensões de estruturas externas (em centímetro) e alocação de fungos e imaturos de 8 ninhos de *Acromyrmexm balzani*.

Ninho	chaminé (cm)	Diâmetro da entrada(cm)	Distância da entrada ao montículo de terra (cm)	Câmaras com fungo	Câmaras com imaturos	Câmara com rainha
1	1.0	0.8	5.0	2 ^a	2 ^a	2 ^a
2	2.3	1.0	4.8	1 ^a ,2 ^a ,3 ^a	1 ^a ,2 ^a ,3 ^a	1 ^a
3	3.4	0.7	5.0	1 ^a ,2 ^a	1 ^a ,2 ^a	1 ^a
4	3.0	1.2	10.0	2 ^a ,3 ^a ,4 ^a	-	-
5	3.6	1.5	5.0	1 ^a ,2 ^a	1 ^a	1 ^a
6	2.0	0.6	6.0	3 ^a ,4 ^a ,5 ^a	-	-
7	3.3	0.8	4.4	3 ^a	-	-
8	2.7	1.0	7.0	1 ^a ,2 ^a ,3 ^a ,4 ^a	3 ^a	3 ^a

Tabela 2. Tamanho e profundidade (cm) das câmaras dos ninhos de *Acromyrmex balzani*.

Ninho		Câmara 1	Câmara 2	Câmara 3	Câmara 4	Câmara 5	Câmara 6
1	Profundidade	3	10.9				
	Largura	16	6				
	Altura	7.9	7				
	Comprimento	10.5	10				
2	Profundidade	4	11.6	17.6			
	Largura	6	5	11			
	Altura	3.5	4	5			
	Comprimento	5	6	10			
3	Profundidade	4	15.5				
	Largura	6	11				
	Altura	4.5	6				
	Comprimento	7	8				
4	Profundidade	6	14.5	32	62		
	Largura	6	9.5	12	10		
	Altura	4.5	7	9	6.5		
	Comprimento	6	13	12.5	10		
5	Profundidade	6	14.5				
	Largura	4	6				
	Altura	3	4.5				
	Comprimento	6	7.5				
6	Profundidade	5	11.5	32.5	62	100	
	Largura	2	8	12	13	12	
	Altura	3	6	7	7	5	
	Comprimento	3	8	11	10	10	
7	Profundidade	4	15	32	62	79.5	116
	Largura	13	13	14.5	16	10	6
	Altura	6	7	9	7	5.5	9
	Comprimento	6	10	11	9	10	8
8	Profundidade	2.5	8	24	46.5	68.5	
	Largura	7	11	10	6.5	10	
	Altura	3	6.5	7.5	5	7.5	
	Comprimento	7	11	10	6	10	

Tabela 3. Número total e relativo de operárias de cada uma das 3 sub-castas de *Acromyrmex balzani*, encontradas nas 8 colônias.

Ninho	Número de operárias			Proporção de sub-castas			Total
	Maior	Média	Menor	Maior	Média	Menor	
1	404	68	237	57%	10%	33%	709
2	525	216	284	51%	21%	28%	1025
3	228	184	209	37%	30%	34%	621
4	452	176	283	50%	19%	31%	911
5	322	146	217	47%	21%	32%	685
6	576	297	351	47%	24%	29%	1224
7	948	369	345	57%	22%	21%	1662
8	448	230	373	43%	22%	35%	1051

Tabela 4. Distância entre os sítios de nidificação das 8 colônias em metros.

	Ninho 1	Ninho 2	Ninho 3	Ninho 4	Ninho 5	Ninho 6	Ninho 7	Ninho 8
Ninho 1	-	-	-	-	-	-	-	-
Ninho 2	22	-	-	-	-	-	-	-
Ninho 3	74	53	-	-	-	-	-	-
Ninho 4	80	55	12	-	-	-	-	-
Ninho 5	79	61	21	11	-	-	-	-
Ninho 6	74	55	11	7	10	-	-	-
Ninho 7	100	82	35	23	21	28	-	-
Ninho 8	111	95	52	40	35	88	17	-

Tabela 5. Relação dos 07 principais picos dos grupos funcionais, modos vibracionais e raízes canônicas dos picos de absorção identificados nos espectros das cutículas de operárias maiores das colônias de *Acromyrmex balzani*

Picos	Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo Funcional	Modo vibracional	Raiz canônica 1	Raiz canônica 2
1	1157	No plano C-H	Dobra	0.368	1.366
2	1380	C-CH ₃	Dobra simétrica	1.755	1.051
3	1457	C-CH ₂	Tesoura	-0.921	1.382
4	2854	-CH ₂	Estiramento simétrico	-	-
5	2877	-C-H(CH ₃)	Estiramento simétrico	-	-
6	2923	-CH ₂	Estiramento assimétrico	1.279	1.986
7	2962	-C-H(CH ₃)	Estiramento assimétrico	-	-

Tabela 6. Distância de Mahalanobis (*Squared Mahalanobis Distances*) entre as colônias.

	Colônia 1	Colônia 2	Colônia 3	Colônia 4	Colônia 5	Colônia 6	Colônia 7
Colônia 1	-	-	-	-	-	-	-
Colônia 2	6.65411	-	-	-	-	-	-
Colônia 3	1.02921	7.65155	-	-	-	-	-
Colônia 4	1.21938	9.35208	1.369182	-	-	-	-
Colônia 5	3.12793	14.08076	2.322366	3.567998	-	-	-
Colônia 6	10.08574	23.74995	7.805685	5.245886	7.07584	-	-
Colônia 7	6.59054	12.97515	8.495470	8.385486	13.71207	16.02051	-
Colônia 8	5.54735	12.87655	6.966642	7.630586	13.28378	17.58129	1.27304



Figura 1- Vista de cima da estrutura em forma de chaminé e montículos de terra do ninho 05. Setas indicam 2 montículos de terra de formato semi-circular e no centro estrutura na forma de chaminé.

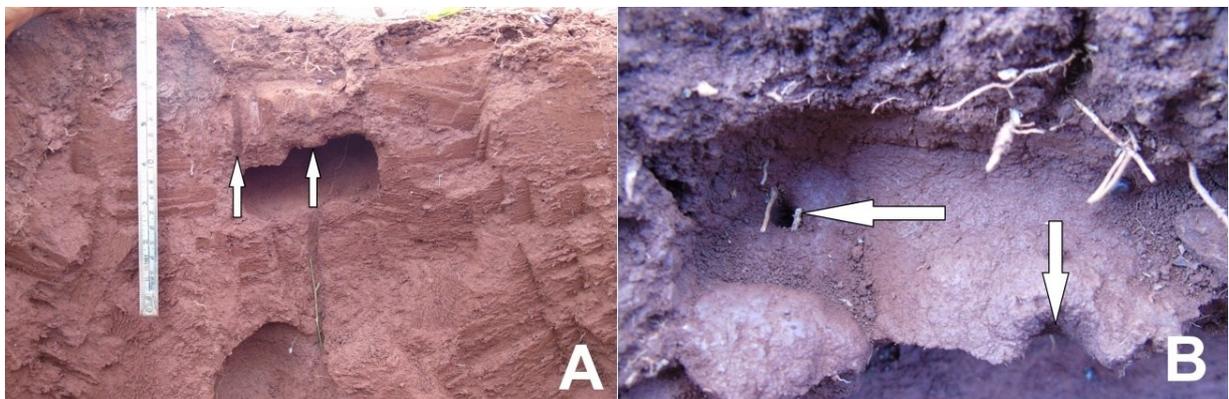


Figura 2 – A= Perfil vertical dos túneis e câmaras do ninho 8 B= Visão superior do piso da câmara 1 do ninho 8. Setas brancas indicam os dois túneis entre as câmaras.

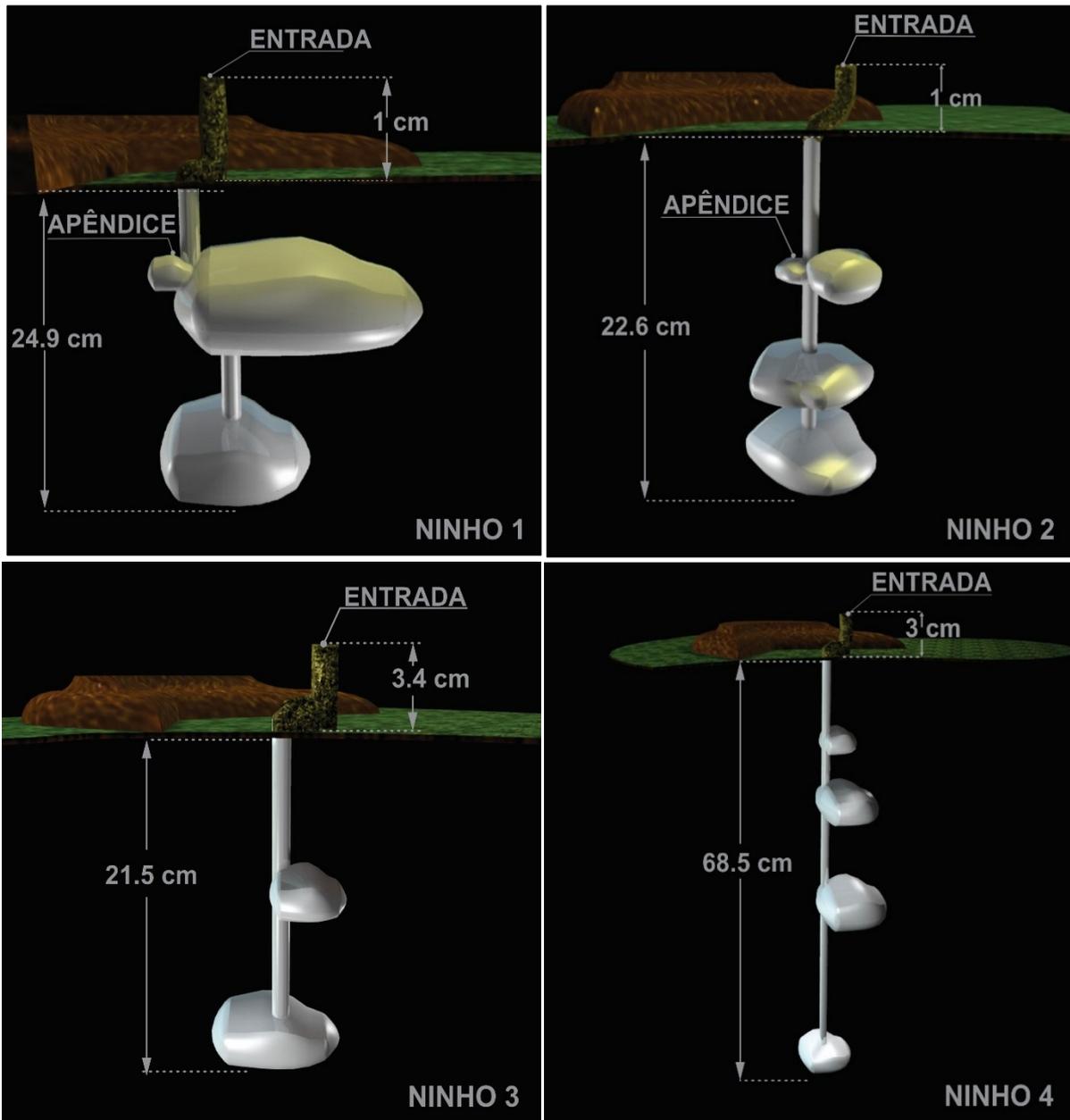


Figura 3. Perfil 3D dos ninhos 01 a 04.

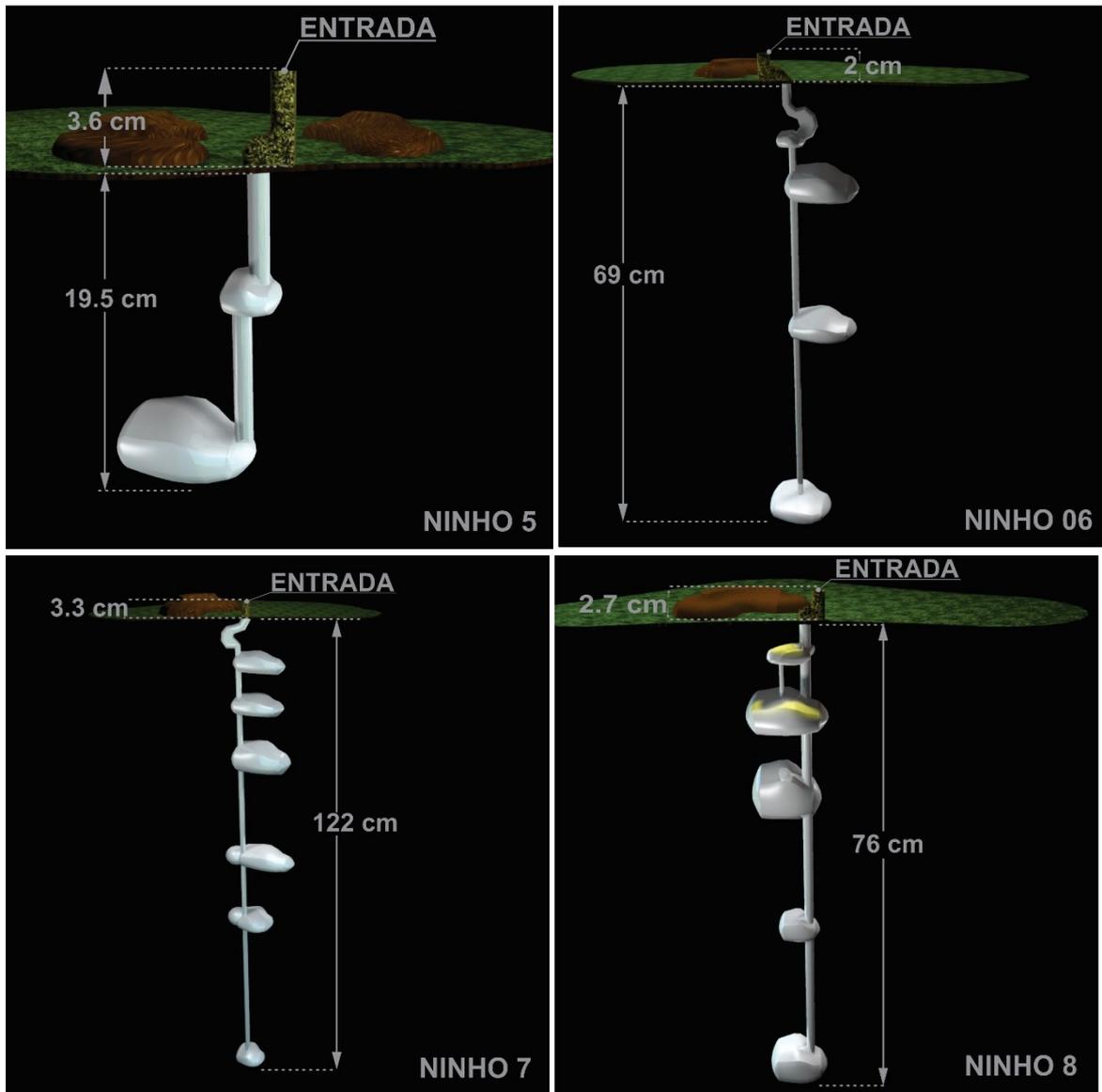


Figura 4. Perfil 3D dos ninhos 05 a 08.

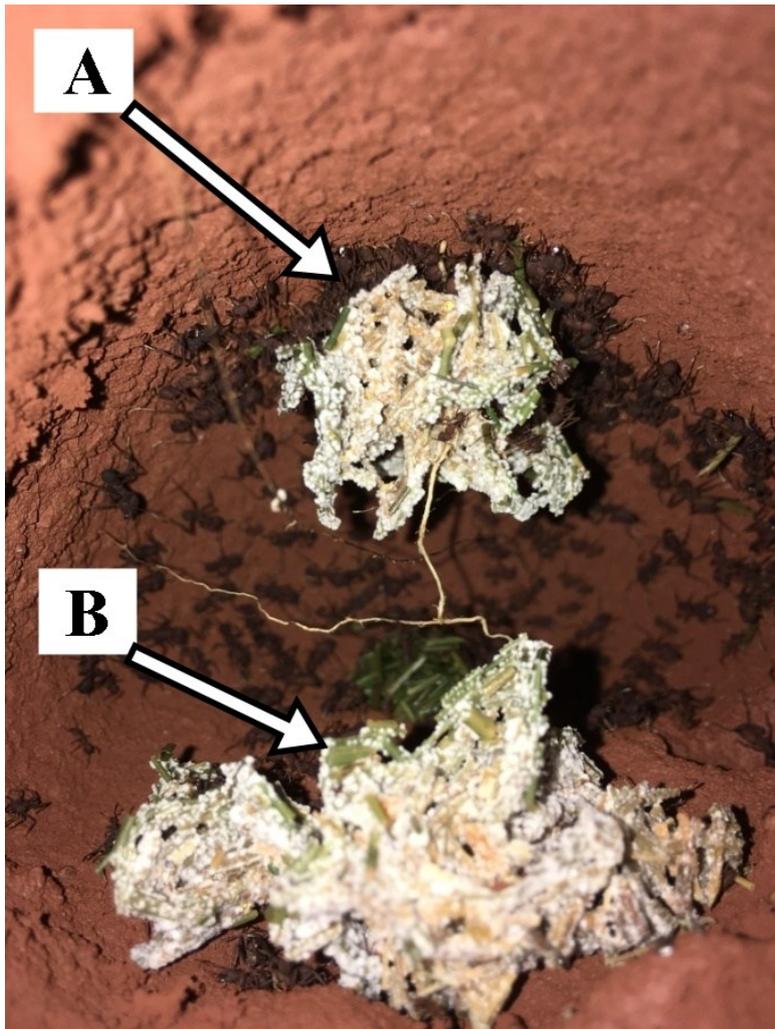


Figura 5. Jardim de fungos encontrado na câmara 3 do ninho 7. A: parte superior em suspensão aderido à raiz. B: parte inferior em contato com substrato.

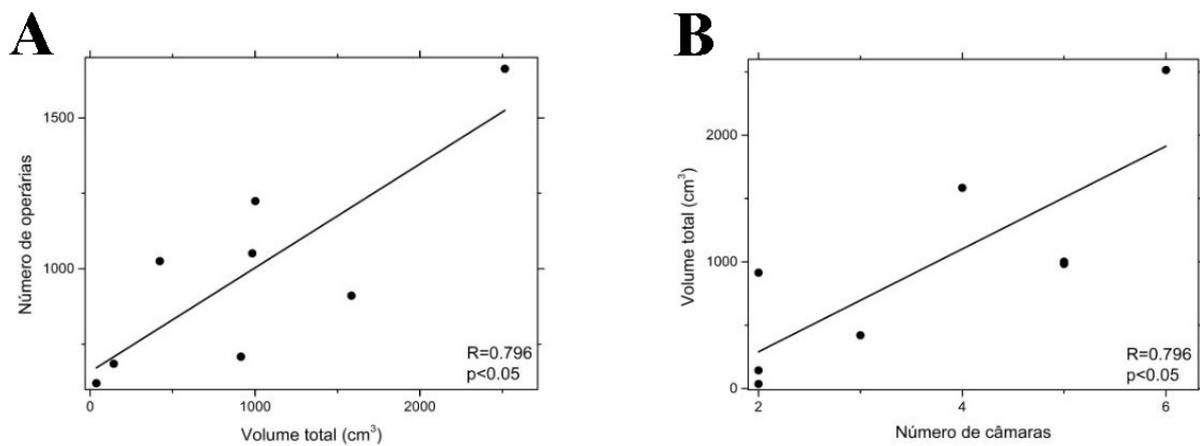


Figura 6. Correlação de Pearson entre número de câmaras e Volume total das câmaras (A) e entre Volume total de câmaras e Número de operárias (B).

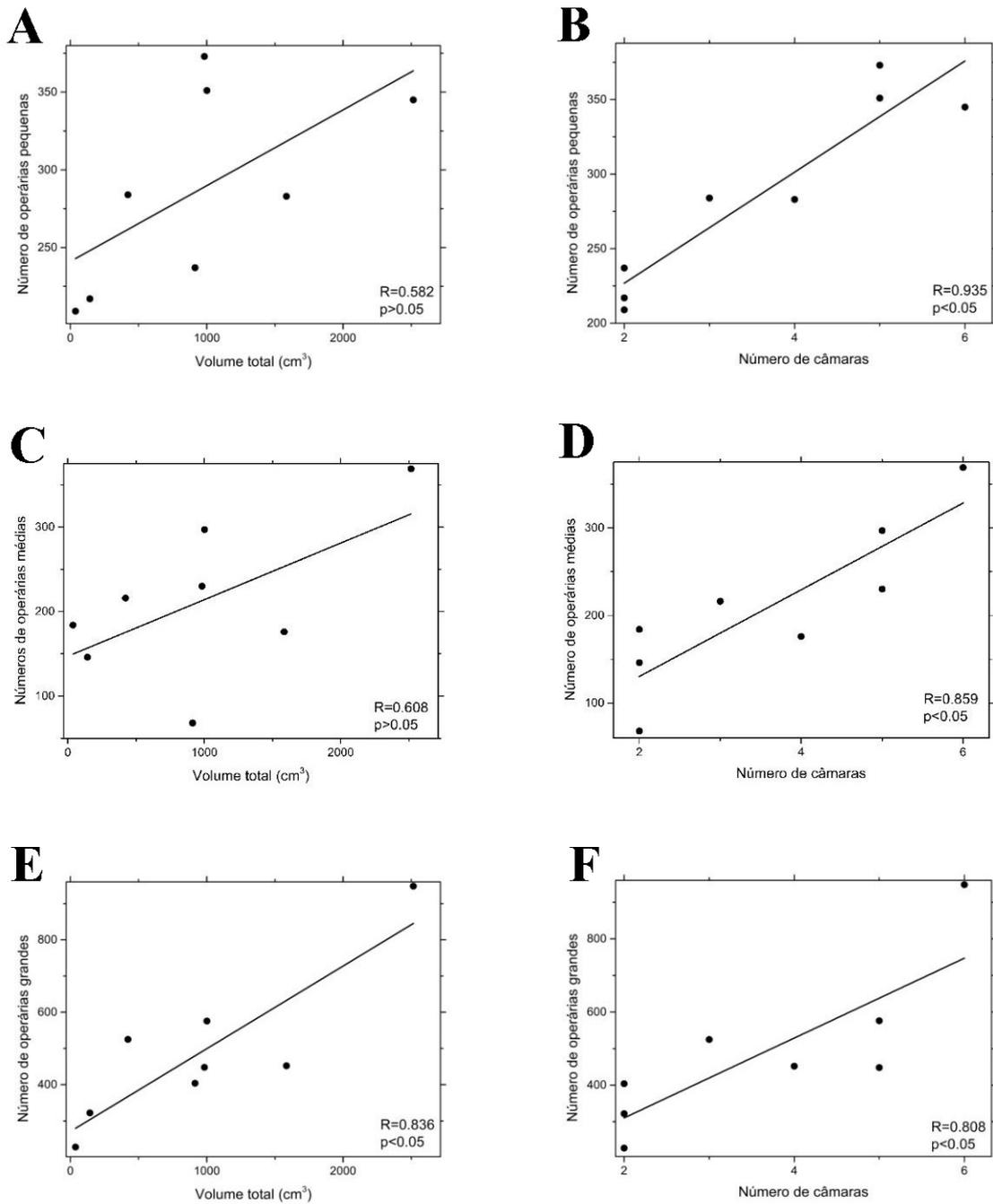


Figura 7. Correlação entre número de operárias das diferentes castas com o volume total do ninho e com o número de câmaras. A-B: Operárias menores, C-D: Operárias médias, E-F: Operárias maiores.

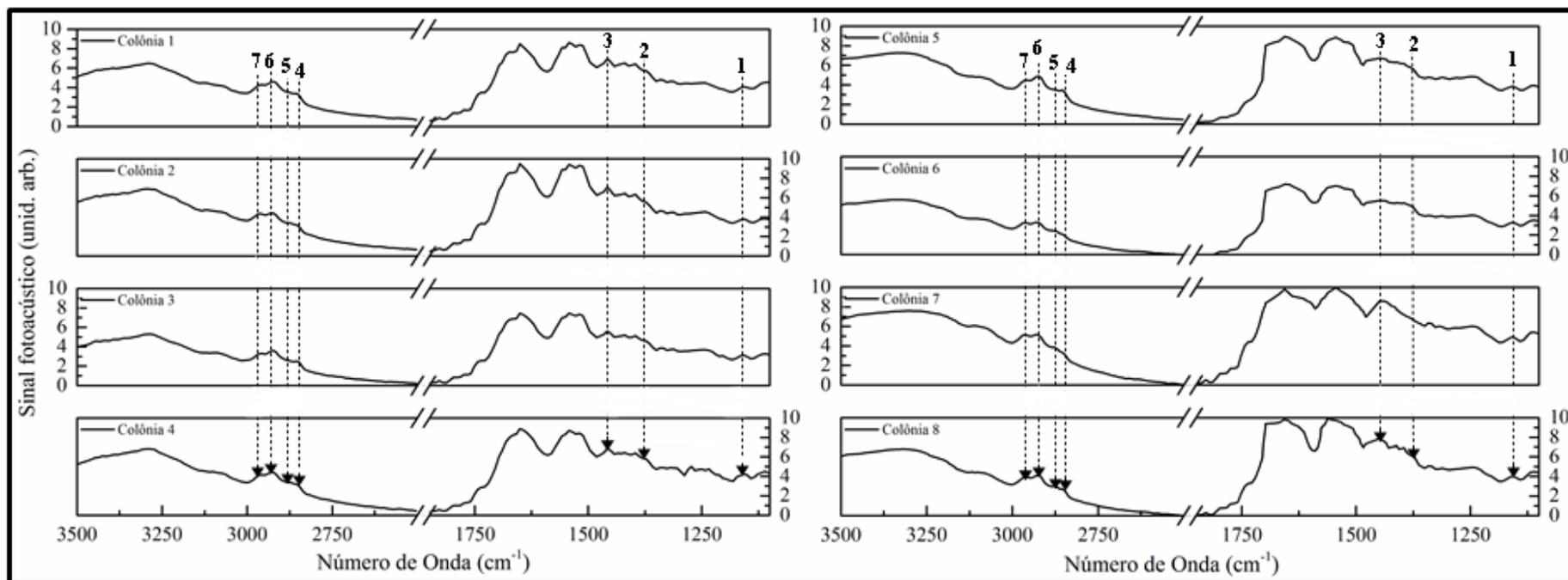


Figura 8. Espectros médios do perfil químico de colônias de *Acromyrmex balzani* gerados pela técnica de FTIR-PAS e obtidos a partir da leitura de operárias presentes em 8 colônias. 1= 1157, 2=1380, 3=1457, 4=2854, 5=2877, 6=2923 e 7= 2962.

Gráfico de Dispersão

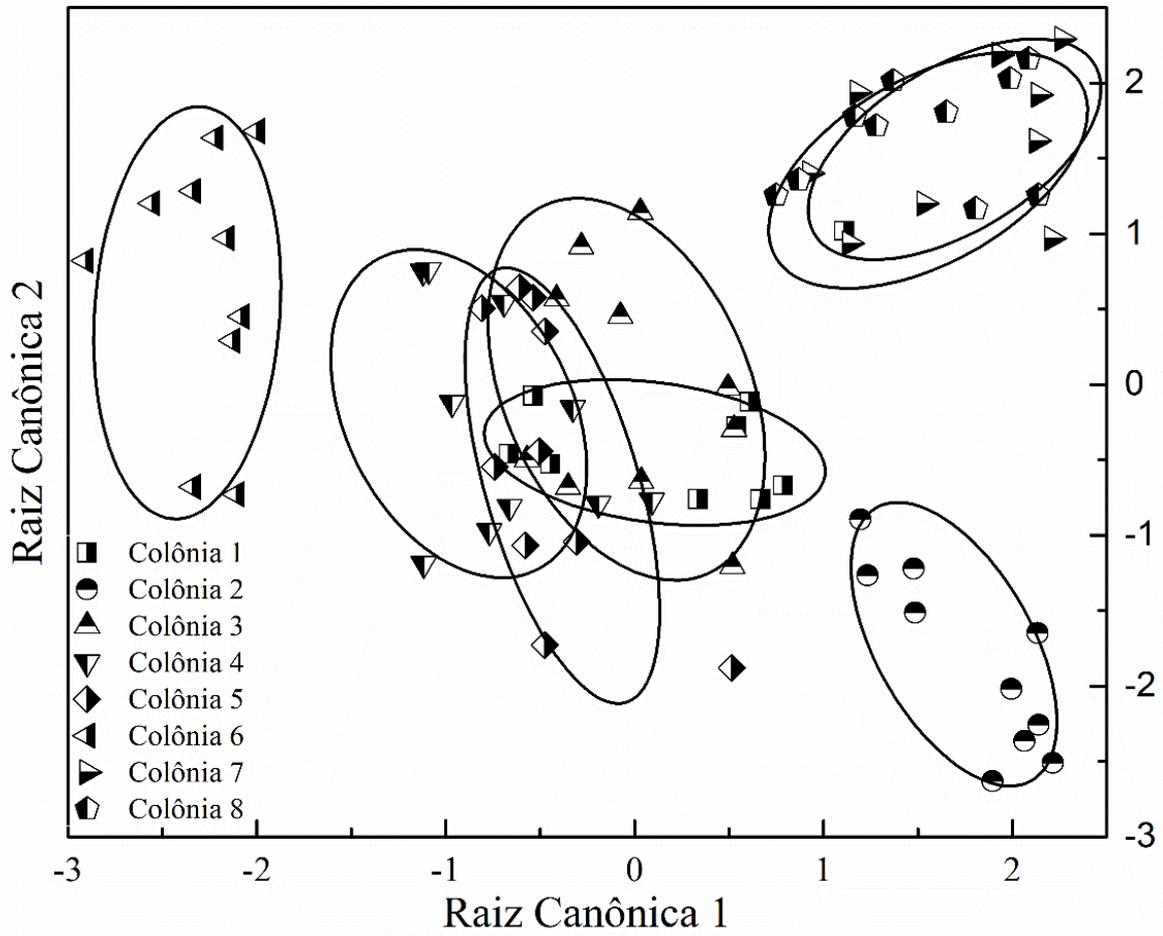


Figura 9. Diagrama de dispersão dos resultados das análises discriminantes mostrando as duas raízes canônicas de diferenciação e