**Esforço de escavação e teor de lipídios em rainhas de** ***Atta sexdens rubropilosa***

As formigas cortadeiras anualmente realizam a fundação de novas colônias. Para o início de novas colônias, é preciso a escavação de túneis e de câmaras no solo, sendo que, para isso, as rainhas recém fecundadas gastam muita energia, no entanto a quantificação dessa energia gasta é desconhecida. Nossa hipótese é que a reserva lipídica, armazenada no corpo da rainha, seja utilizada durante a escavação do ninho. Testamos essa hipótese comparando o aumento do esforço de escavação das rainhas, as quais foram experimentalmente estimuladas a escavar uma, duas ou três vezes consecutivas, em relação ao controle, ou seja, em relação às rainhas que não escavaram. Foram quantificados a massa corporal e o teor de lipídios das rainhas. Os resultados mostraram que, ao contrário das expectativas iniciais, massa e teor de lipídeos não foram afetados pelo aumento do esforço de escavação do ninho. Conclui-se que a escavação pelas rainhas não afetou os percentuais de lipídios em seu corpo. Provavelmente, os recursos energéticos para a escavação não se originam de fontes lipídicas, mas provavelmente de carboidratos.

**Palavras-chave**: reserva de lipídeos, escavação, gasto energético, saúvas, fundação de colônias.

**INTRODUÇÃO**

As formigas cortadeiras anualmente realizam a fundação de novas colônias. Para o início de novas colônias é preciso a escavação de túneis e de câmaras no solo. As rainhas de *Atta sexdens* têm aproximadamente 40% de sua massa corporal composta em lipídeos (Seal, 2009) e possuem reservas energéticas suficientes para manter a sua taxa de produção de prole alta por várias semanas (Camargo *et al.*, 2011). Nesse sentido, a rainha perde cerca de 40% da sua massa corporal após 60 dias (Della Lucia *et al.*, 1995), atingindo sua massa corporal mínima, antes que as primeiras operárias comecem a forragear. Quando o forrageamento das operárias é iniciado, a rainha recupera a sua massa corporal, devido à alimentação dentro da colônia (Della Lucia *et al.*, 1990). Entretanto, antes da oviposição e nascimento das larvas que darão origem às operárias, a rainha tem que escavar seu próprio ninho. Essa atividade de escavação do túnel e da câmara inicial leva em média cerca de 6 a 10 horas (Autuori, 1942). Durante a escavação, as rainhas realizam cerca de 300 viagens para empilhar solo escavado, sendo que cada viagem dura de 30 segundos a 30 minutos, com velocidade média de 3 cm/hora (Autuori, 1942). Devido a essa atividade ser muito intensa, presume-se que o custo energético da escavação seja alto.

Até o momento, não existem dados disponíveis na literatura que relatem sobre a quantidade de energia das rainhas que é necessária para a escavação dos ninhos. Dessa forma, postula-se que a energia necessária seja retirada de reservas lipídicas, pois os carboidratos geralmente são mais utilizados durante o voo nupcial, quando ocorre o acasalamento (Jutsum & Quinlan, 1978; Passera *et al.*, 1989). Entretanto, sabe-se que o esforço de escavação afeta significativamente a sobrevivência de rainhas de *Atta sexdens rubropilosa* (Camargo *et al.*, 2011). Esses mesmos autores verificaram ainda que o aumento da mortalidade em rainhas que sucessivamente escavaram dois ou três ninhos ocorreu na primeira semana após o esforço. Como consequência, pode-se supor que a mortalidade das rainhas que escavaram dois ou três ninhos foi causada pelo esgotamento das reservas corporais.

Assim, a hipótese do presente trabalho é que a reserva de lipídeos da rainha recém fecundada seja utilizada durante a escavação do ninho. Testamos essa hipótese pela comparação do esforço de escavação das rainhas que foram experimentalmente estimuladas a escavar um ninho, uma, duas ou três vezes consecutivas, em relação às rainhas que não escavaram.

**MATERIAL E MÉTODOS**

*Esforço de escavação das rainhas*

As rainhas foram coletadas imediatamente após o voo nupcial, na Fazenda Experimental Lageado, Botucatu, e, em seguida, foram mantidas individualmente em pequenos recipientes de plástico sem solo (11 cm de diâmetro e 8 cm de altura), com 1 cm de gesso úmido no fundo, para posterior determinação do teor de lipídeo (N=20). Foram acondicionadas em temperatura de 24±2 °C, umidade relativa de 80% e um fotoperíodo de 12 horas claro. Cada ensaio foi iniciado colocando-se uma única rainha, imediatamente após o voo nupcial, sobre a superfície de um tubo preenchido com solo (25 cm de altura e 10 cm de diâmetro), onde a rainha poderia iniciar a sua escavação. O solo utilizado foi coletado no Campus da Faculdade de Ciências Agronômicas (Latossolo), a uma profundidade de 60 cm (densidade do solo = 1,6 g/cm3, teor de água = 5,4%). Quatro séries experimentais foram realizadas: (A) Sem escavação: as rainhas não escavaram e permaneceram em recipientes plásticos para posterior determinação de lipídeos (N=20); (B) Escavação única: as rainhas escavaram no tubo preenchido com o solo, tal como descrito acima, até sua clausura, sendo uma indicação de que elas escavaram a câmara (N=20); (C) Escavação dupla: rainhas provenientes da escavação única, depois de finalizar a escavação do ninho, foram imediatamente retiradas da câmara escavada e novamente submetidas a um novo tubo de escavação, para que começassem a escavar um novo ninho (N=20); (D) Escavação tripla: como descrito acima, mas as rainhas escavaram sucessivamente três vezes (N=20). Depois de escavar (única ou repetida vezes), as rainhas foram imediatamente colocadas em pequenos recipientes de plástico para determinação do teor de lipídeos.

*Determinação de lipídeos*

Foi utilizada uma adaptação do método padrão de extração lipídeos em insetos proposto por Cook *et al.* (2010). Primeiro, as rainhas foram imersas em solvente orgânico até atingirem um peso constante. Em seguida, as rainhas foram imersas em 10 ml de pentano durante 24 horas, individualmente fechadas. Após esse período, o solvente foi removido e as rainhas permaneceram durante 24 horas a 70 °C em uma estufa. Posteriormente, foi determinada sua massa em balança analítica. O procedimento foi repetido por 172 horas de extração.

*Análise estatística*

Os dados foram comparados pela Análise de Variância e Kruskal-Wallis (α = 0,05), utilizando o programa SigmaPlot 11.0.

**RESULTADOS**

As massas corporais das rainhas foram, em média, 661,09 ± 62,15 mg sem escavação, 679,71 ± 52,46 mg escavação única, 650,33 ± 73,21 mg escavação dupla e 649,71 ± 73,56 mg para escavação tripla (Figura 1A). Não foram encontradas diferenças significativas entre as séries experimentais (ANOVA, F3,79 = 0,903, P = 0,444). Em relação ao teor de lipídeos das rainhas, os valores médios foram 37,15% sem escavação, 36,66% escavação única, 36,63% escavação dupla e 37,94% para escavação tripla (Figura 1B). Não foram encontradas diferenças significativas entre as séries experimentais (Kruskal-Wallis, H = 3,183, df = 3, P = 0,364).



**Figura 1.** (A) Massa (mg) e (B) conteúdo de lipídeos (%) nas diferentes séries experimentais.

**DISCUSSÃO**

Sob condições experimentais, rainhas de formigas cortadeiras escavaram o ninho como já foi descrito anteriormente na literatura, primeiramente um túnel e, posteriormente, uma câmara (Cunha, 1968; Camargo *et al.*, 2011; Fujihara *et al.*, 2012). A profundidade da câmara inicial, em torno de 8,5 a 15 cm (Autuori, 1942), é um produto da seleção natural que minimizou o esforço da escavação (Camargo *et al.*, 2011) com um ambiente micro-climaticamente estável, para um bom desenvolvimento da prole e do jardim de fungo (Bollazzi *et al.*, 2008). Esse controle da profundidade ideal ocorre pela rainha por meio autopercepção da distância percorrida e pelo controle temporal durante a escavação do túnel, evitando um gasto excessivo de tempo e investimento energético quando estão escavando o ninho sob diferentes condições ambientais, como estudado para *Atta vollenweideri* (Fröhle & Roces, 2012).

Além disso, as rainhas apresentam um custo adicional devido à redução da imunidade, em decorrência do acasalamento múltiplo (poliandria). Baer *et al.* (2006) verificaram na espécie *Atta colombica* que ocorre uma baixa resposta imunológica quando a fêmea apresenta mais espermatozoides em sua espermateca, ocasionando uma maior mortalidade desse grupo de rainhas. Uma maior mortalidade de rainhas de Atta sexdens rubropilosa também ocorre quando essas são expostas a um esforço de escavação intenso, ou seja, escavação de câmaras mais profundas (Camargo *et al.*, 2011).

Entretanto, nossos resultados mostram que a massa e o teor de lipídios das rainhas de *Atta sexdens rubropilosa* não foram afetados pelo aumento do esforço de escavação, ou seja, pelas escavações sucessivas experimentalmente induzidas (Figura 1). Provavelmente, recursos energéticos para a escavação não se originam de reserva lipídica, mas a partir de outra fonte de energia, provavelmente, carboidratos. Por exemplo, em condições laboratoriais, os machos de *Atta sexdens* tiveram cerca de 21% da massa corporal consumidas após o voo nupcial, sendo basicamente carboidratos (Jutsum & Quinlan, 1978). Esses mesmos autores descobriram também que os lipídeos não são utilizados como recurso energético durante o voo. Da mesma forma, os carboidratos (armazenados como glicogênio) representam a principal fonte de energia para o voo nupcial em *Formica lugubris* (Passera *et al.*, 1989).

Em *Cataglyphis cursor* e *Iridomyrmex humilis*, os machos apresentam um maior conteúdo de carboidrato, quando comparados com as fêmeas (Passera & Keller, 1990). A partir desses estudos, pode-se assumir que o primeiro recurso energético a ser esgotado no voo nupcial é a reserva de carboidratos. Lipídeos e proteínas são de degradação mais lenta quando comparado com os carboidratos, poupando essas reservas para atividades que seguem após o voo nupcial. Dentre essas atividades, têm-se a oviposição, que não é afetada pelo esforço de escavação repetitivo (Camargo *et al.*, 2011), provavelmente, pelo fato de reservas lipídicas serem poupadas e, em insetos, estarem intimamente relacionadas ao processo de ovogênese (Chapman, 1998). Com base em nossos resultados, podemos concluir que a escavação sucessiva pela rainha não afetou os percentuais de lipídeos e, consequentemente, o conteúdo de energia, em seu corpo. Em conclusão, nossos estudos com *Atta sexdens rubropilosa* determinaram que o recurso energético para a escavação não se origina de reserva lipídica, mas a partir de outra fonte de energia, provavelmente, carboidratos.

**REFERENCES**

Autuori, M. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp. – Hymenoptera- Formicidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, v.13, p.137-150, 1942.

Bollazzi, M. *et al.* Soil temperature, digging behaviour, and the adaptive value of nest depth in South America species of *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Oecologia*, v.158, p.165-175, 2008.

Baer, B. *et al.* Sperm storage induces an immunity cost ants. *Nature*, v. 441 p.872-875, 2006.

Camargo, R.S. *et al.* Digging effort in leaf-cutting ant queens (*Atta sexdens rubropilosa*) and its effects on survival and colony growth during the claustral phase. *Insectes Sociaux*, v.58, p.17-22, 2011.

Chapman, R.F. *The insects: structure and function*. Cambridge: Cambridge University, p.770, 1998.

Cook, S.C. *et al.* Colony-level macronutrient regulation in ants: mechanisms, hoarding and associated costs. *Animal Behaviour*, v.79, p.429-437, 2010.

Cunha, W.H.A. Observações acêrca do comportamento da iça *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) na fundação do formigueiro. *Ciência e Cultura*, v.20, p.233-234, 1968.

Della Lucia, T.M.C. *et al.* Perda de peso de rainhas de *Atta* durante a fundação e o estabelecimento das colônias. *Revista Brasileira Biologia*, v.55, n.4, p.533-536, 1995.

Della Lucia T.M.C. *et al.* Egg-laying in *Atta sexdens rubropilosa*, under laboratory conditions. In: Vander Meer R.K. & Jaffe, K. (Eds.). *Applied Myrmecology - A world perspective*. Basileia, p.173-179, 1990.

Fröhle, K. & Roces F. The determination of nest depth in founding queens of leaf-cutting ants (*Atta vollenweideri*): idiothetic and temporal control. *Journal of Experimental Biology*, v.10, p.1642-1650, 2012.

Fujihara, R.T. *et al.* Lipids and energy contends in the bodies of queens of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae): pre and post nuptial flight. *Revista Brasileira de Entomologia*, v.56, n.1, p.73-75, 2012.

Jutsum, A.R. & Quinlan, R.J. Flight and substrate utilization in laboratory-reared males of *Atta sexdens*. *Journal Insect Physiology*, v.24, p.821-825, 1978.

Passera, L. *et al.* Carbohydrates as energy source during the flight of sexuals of the ant *Formica lugubris* (Hymenoptera: Formicidae). *Entomologial Generalis*, v.15, p.25-32, 1989.

Passera, L. & Keller, L. Loss of mating flight and shift in the pattern of carbohydrate storage in sexuals of ants (Hymenoptera; Formicidae). *Journal of Comparative Physiology*, v.160, p.207-211, 1990.

Seal, J.N. Scaling of body weight and fat content in fungus gardening ant queens: does this explain why leaf-cutting ants found claustrally? *Insectes Sociaux*, v.56, p.135-141, 2009.