



CAMPUS CAXIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOLOGIA-QUÍBIO
CURSO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS- LICENCIATURA

NAIRA DE OLIVEIRA DAMASCENO

**MORFOLOGIA E FISIOLOGIA COMPORTAMENTAL DAS GLÂNDULAS
DUFOUR DA *Paraponera clavata* (FABRICIUS, 1775) (HYMENOPTERA:
FORMICIDAE, PARAPONERINAE)**

CAXIAS- MA

2023

NAIRA DE OLIVEIRA DAMASCENO

**MORFOLOGIA E FISIOLOGIA COMPORTAMENTAL DAS GLÂNDULAS
DUFOUR DA *Paraponera clavata* (FABRICIUS, 1775) (HYMENOPTERA:
FORMICIDAE, PARAPONERINAE)**

Monografia apresentada ao Colegiado do Curso de Ciências Biológicas Licenciatura, do *Campus* Caxias, da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), como parte dos requisitos para obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Luiza Carla Barbosa Martins

CAXIAS- MA

2024

D155m Damasceno, Naira de Oliveira

Morfologia e fisiologia comportamental da glândula dufour de *paraponera clavata* (Fabricius, 1775) (Hymenoptera: formicidae, paraponerinae) / Naira de Oliveira Damasceno. __Caxias: Campus Caxias, 2024.

47f.

Monografia (Graduação) – Universidade Estadual do Maranhão
– Campus Caxias, Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof^a. Dra. Luiza Carla Barbosa Martins.

1. Etologia; 2. Formigas; 3. Glândulas exócrinas. I. Título.

CDU 595.79

Elaborada pelo bibliotecário Wilberth Santos Raiol CRB 13/608

NAIRA DE OLIVEIRA DAMASCENO

**MORFOLOGIA E FISIOLOGIA COMPORTAMENTAL DAS GLÂNDULAS
DUFOUR DA *Paraponera clavata* (FABRICIUS, 1775) (HYMENOPTERA:
FORMICIDAE, PARAPONERINAE)**

Monografia apresentada ao Colegiado do Curso de Ciências Biológicas Licenciatura, do Campus Caxias, da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), como parte dos requisitos para obtenção do grau de Licenciada em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 21 /02/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Luiza Carla Barbosa Martins (Orientadora)
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) – Campus Caxias

Prof^a. Dra. Laíce Fernanda Gomes de Lima
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) – Campus Caxias

Prof^a. Ma. Elane Borba Alves
Universidade Federal de Viçosa (UFV)

DEDICATÓRIA

Esse trabalho é dedicado exclusivamente a Deus, por ter me sustentado e suprido todas as minhas necessidades ao longo dessa caminhada, ao meu querido e amado amigo, Marcos Augusto Rodrigues Silva, menino de fé, coragem e determinação, a Raimunda Gomes de Andrade, minha avó e Maria Iracema Pereira, minha sogra, ambas já cumpriram sua missão aqui conosco.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus, pois sem sua graça e misericórdia jamais chegaríamos até aqui, durante meus momentos de medo, incertezas, dúvidas e desânimos, foi o Senhor que enviou recursos para me manter firme e forte, trazendo renovo todos os dias.

A Universidade Estadual do Maranhão-UEMA, por me acolher e proporcionar dias incríveis, contribuindo com minha formação acadêmica.

A Fapema por fornecer todos os recursos presentes na estrutura física do laboratório de Mirmecologia-LAMIR.

Ao CNPQ pela bolsa de iniciação científica no período de um ano ampliando mais ainda meu currículo profissional.

Ao programa Residência Pedagógica, financiado pela CAPES por me proporcionar experiências únicas vivenciadas em sala de aula.

A minha orientadora Professora Dr^a. Luiza Carla Barbosa Martins, por confiar em meu trabalho, por abrir as portas e ter nos recebido da melhor forma.

Aos professores que fizeram parte dessa jornada fantástica, em especial meu querido e amado Deusiano Bandeira, foi muito importante para a turma 2019.1.

A todos que fazem parte do curso de Ciências Biológicas, bem como toda a família UEMA campus Caxias.

A minha melhor amiga Claiane da Silva Pereira, pois sem ela a minha trajetória seria bem mais árdua e difícil de trilhar ao longo dessa jornada universitária.

A todos os integrantes do Laboratório de Mirmecologia-LAMIR, por tamanha parceria e confiança e também por me proporcionarem um acolhimento incrível, desde as instruções mais simples até mesmo aquelas mais complexas.

A mestre e futura Doutora Elane Borba por pegar em minha mão e me acolher na fase mais difícil do desenvolvimento deste trabalho, assim como de todos os que já enfrentei, por ser mais que uma amiga para mim, uma irmã que a UEMA me deu para a vida.

A mestre Iranir dos Prazeres por também fazer parte dessa caminhada que não foi fácil e que em todos os momentos se disponibilizou para me ajudar, minha menina de ouro.

Ao mestre Thito Tomston, grande homem amigável que me amparou no início de minha jornada e que foi fundamental para meu prosseguimento até aqui.

Ao mestre Carlos Evangelista por tamanha parceria, por tantos cuidados e por ser super amigável, conselheiro e melhor, um amigo que a UEMA também nos presenteou.

A mestranda Paula Nunes por todo suporte, atenção e ensinamentos referente a área comportamental de nossas criaturinhas magnificas (*P. clavata*), confesso que seu auxílio foi um pilar fortíssimo para que eu chegasse até aqui.

Ao meu esposo e companheiro de vida (Geilton Pereira Cunha), por me ceder um ombro amigo e total apoio nos meus dias mais difíceis, por fazer minhas coletas, por ser ferroadado muitas vezes em meu lugar, por estar me apoiando em tudo, por me aconselhar e me ceder um ombro fortíssimo para que eu descarregasse todos os fardos que carreguei até aqui, por ser minha base e minha fonte de inspiração, por muitas das vezes deixar de fazer aquilo que mais queria, para me ajudar a cumprir e honrar com meus compromissos acadêmicos.

Aos meus pais (Francisco das Chagas Vieira Damasceno e Maria de Jesus Andrade de Oliveira) por acreditar, apoiar e investir nessa jornada que inicialmente não foi fácil, minha mãe em especial, pois por medo não queria que nos apartássemos, meu pai que daria a vida se necessário fosse, para que o diploma de sua filha do interior da cidade de Caxias- MA chegasse até suas mãos.

Aos meus irmãos (Francielton, Naielton, Elton, Erivelton e João Vitor), por todo apoio, por acreditarem e me ajudarem nessa longa trajetória.

A minha irmã Nathalia de Oliveira Damasceno, pois é para ela e por ela que sempre busquei uma maior estabilidade, agradeço pelas orações, pelas mensagens de carinho e por depositar a sua confiança em sua irmã que por sinal vai fazer o impossível para ser presenteadada também por um diploma.

Aos meus professores de outra instituição (André Dias, Pablo Salazar e Delvania) por tamanha compreensão, suporte e conselhos.

Aos meus tios que foram muito importantes em minha vida, benção de Deus na terra para mim (Nazaré, José Gomes, Josuelo e Agrinaldo) pois são pessoas que sempre que precisei, fizeram por mim o que muitos não fariam.

Aos meus primos que amo demais e que fizeram parte dessa trajetória (Nailson, Jailson e Naiane e família), pessoas que passaram por uma graduação, cheios de experiencias, e que foram fundamentais para a realização desse sonho.

A minha cunhada que amo muito, sendo ela fundamental nessa trajetória, onde apesar da distância, sempre esteve ao meu lado, me aconselhando, orando e intercedendo por minha vida (Mannú Pereira).

Ao meu amado sogro (Silvino Cunha), por total apoio familiar bem como minha sogra (Maria Iracema), que foi muito importante nessa jornada, abriram as portas de seu terreno para a realização das coletas

Aos meus pastores (Hudson Tiago e Herlane Mello) a missionária (Jéssica Martins) e toda a igreja por estarem intercedendo por minha vida, e apoiando em tudo.

Aos meus sobrinhos que amo muito (Wenzio, Weverton, Gael, M^a Eduarda, Lorena, Sofia, Felipe...) por fazerem parte da minha vida.

A todos o meu muito obrigado, por tudo, amo muito a todos e a importância de cada um para que esse momento se concretizasse foi fundamental.

EBENÉZER: Até aqui nos ajudou o Senhor.

1 Samuel 7: 12.

RESUMO

As formigas constituem a família Formicidae, essas possuem um sistema exócrino extremamente desenvolvido. As secreções exócrinas são conhecidas por desenvolverem atos como alarme e defesa, trilha, atração sexual e outros. Este estudo tem como objetivos, descrever a morfologia e histologia da glândula de Dufour de *Paraponera clavata* (Fabricius, 1775), bem como, observar a funcionalidade comportamental dessa glândula. As operárias foram coletadas, no povoado Condave, 3º distrito de Caxias, Maranhão, Brasil e transferidas ao Laboratório de Mirmecologia/LAMIR, Campus Caxias/UEMA. Para análises morfológicas e histológicas, os espécimes foram crioanestesiados, fixados em placas de petri com parafina. As glândulas foram fixadas, desidratadas em gradiente de etanol e embebidas em historesina JB-4, em seguida polimerizadas, seccionadas e coradas. Para os estudos funcionais da secreção da glândula de Dufour, foram realizados: *i.* Teste de trilha *ii.* Teste de alarme e defesa. Para o teste de trilha, foi confeccionada uma arena de acrílico, dividida em duas trilhas paralelas (T1- 20 Glândula de cada ninho + Hexano e T2- Hexano), somente um espécime lançado na arena. Para a realização dos testes de alarme, houve extrações (T1- 20 Glândula + Hexano e T2- Hexano). Em seguida as operárias foram lançadas em um recipiente forrado com papel filtro e coberto com uma tampa de vidro transparente, a cada três formigas lançadas na arena uma foi destacada na região do gáster. Com os resultados histológico da glândula Dufour de *P. clavata*, foi possível observar que essa, é como um tubo simples, composto por um epitélio glandular, formado por camada única de células secretoras colunares. Durante os testes comportamentais o ato “Dobrou gáster”, foi observado em todos os ninhos, sendo esse um comportamento relacionado ao alarme e defesa em formigas. Os resultados obtidos proporcionaram um esclarecimento sobre a glândula Dufour das operárias, assim como respostas comportamentais indicando a provável função dessa glândula.

Palavras chave: Etologia. Formigas. Glândulas exócrinas.

ABSTRACT

Ants make up the Formicidae family, they have an extremely developed exocrine system. Exocrine secretions are known to develop acts such as alarm and defense, trail, sexual attraction and others. This study aims to describe the morphology and histology of the Dufour gland of *Paraponera clavata* (Fabricius, 1775), as well as observe the behavioral functionality of this gland. The workers were collected in the village of Condave, 3rd district of Caxias, Maranhão, Brazil and transferred to the Myrmecology Laboratory/LAMIR, Campus Caxias/UEMA. For morphological and histological analyses, the specimens were cryoanesthetized and fixed in petri dishes with paraffin. The glands were fixed, dehydrated in an ethanol gradient and embedded in historesin JB-4, then polymerized, sectioned and stained. For functional studies of Dufour's gland secretion, the following were carried out: *i.* Trail test *ii.* Alarm and defense test. For the trail test, an acrylic arena was made, divided into two parallel trails (T1- 20 Gland from each nest + Hexane and T2- Hexane), with only one specimen released into the arena. To carry out the alarm tests, there were extractions (T1- 20 Gland + Hexane and T2- Hexane). Then the workers were released into a container lined with filter paper and covered with a transparent glass lid. For every three ants released into the arena, one was highlighted in the gaster region. With the histological results of the Dufour gland of *P. clavata*, it was possible to observe that this is like a simple tube, composed of a glandular epithelium, formed by a single layer of columnar secretory cells. During the behavioral tests, the act "Dobrou gaster" was observed in all nests, which is a behavior related to alarm and defense in ants. The results obtained provided insight into the workers' Dufour gland, as well as behavioral responses indicating the probable function of this gland.

Keywords: Ethology. Ants. Exocrine glands.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

- Figura 01:** Localização do povoado Condave 3º distrito de Caxias- MA ----- 23
- Figura 02:** A- Coleta de operária de *P. clavata* com equipamentos específicos; B- Preparação do ninho artificial; C- Ninho artificial, mantido em condições de Laboratório, D e E - Troca de alimentação e limpeza dos ninhos-----24
- Figura 03:** A- Coleta de operária de *P. clavata* com equipamentos específicos; B- Preparação do ninho artificial; C- Ninho artificial, mantido em condições de Laboratório, D e E - Troca de alimentação e limpeza dos ninhos -----25
- Figura 04:** Modelo esquemático da arena para bioensaios comportamentais de trilha, demonstrando as trilhas A e B, onde foram utilizados os tratamentos 1 (extrato da glândula de Dufour de *P. clavata*) e 2 (hexano) -----27
- Figura 05:** Modelo esquemático da arena para bioensaios comportamentais de alarme em formigas *P. clavata*, utilizando o extrato da glândula mandibular (Tratamento 1) e o controle/hexano (Tratamento 2) -----28
- Figura 06:** Localização da glândula Dufour em formigas----- 29
- Figura 07.** Secções histológicas da glândula de Dufour de *Paraponera clavata* (corada com eosina e hematoxilina). A e B. Vista geral da glândula. C e D. Glândula da Classe I representada por células secretoras colunares, mostrando o epitélio (Ep). Cada glândula possui um núcleo (Nu). Ao redor do tubo simples é possível ver células musculares - - 30
- Figura 08.** Box-plot dos bioensaios comportamentais para verificação do efeito de trilha em glândula Dufour de *Paraponera clavata* (Tratamento 1: Glândula e Tratamento 2: Controle), Ninhos 01 e 02 intracoloniais e intercoloniais -----34
- Figura 09.** Box-plot dos bioensaios comportamentais para verificação do efeito de trilha em glândula Dufour de *Paraponera clavata* (Tratamento 1: Glândula e Tratamento 2: Controle), Ninhos 03 e 04 intra e intercoloniais-----34

Figura 10. Box-plot dos bioensaios comportamentais para verificação do efeito de trilha em glândula Dufour de *Paraponera clavata* (Tratamento 1: Glândula e Tratamento 2: Controle), Ninhos 05 e 06 intra e intercolonial -----36

Figura 11. Box-plot dos bioensaios comportamentais para verificação do efeito de trilha em glândula Dufour de *Paraponera clavata* (Tratamento 1: Glândula e Tratamento 2: Controle), Ninhos 07 e 08 intra e intercolonial----- 37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados morfométricos da glândula Dufour de *Paraponera clavata*- - - - - **29.**

Tabela 2. Média da distância percorrida (cm), entre as trilhas com os tratamentos testados, com operárias de *P. clavata* no teste comportamental de Trilha intracolonial- **33.**

Tabela 3. Média da distância percorrida (cm), entre trilhas com tratamentos testados, com operárias de *P. clavata* no teste comportamental de Trilha intercolonial- - - - - **33.**

Tabela 4. Repertórios comportamentais intracolonial observados com operárias de formigas da espécie *Paraponera clavata* mediante os tratamentos utilizados em testes comportamentais de Alarme, com Tratamento 1: Extrato de glândula Dufour; Tratamento 2: Hexano como controle- - - - - **39.**

Tabela 5. Repertórios comportamentais intercolonial observados com operárias de formigas da espécie *Paraponera clavata* mediante os tratamentos utilizados em testes comportamentais de Alarme, com Tratamento 1: Extrato de glândula Dufour; Tratamento 2: Hexano como controle- - - - - **41.**

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AM- Abrir Mandíbula

ANOVA- Análise de variância

EG- Elevar o Gaster

EP- Epitélio

DG- Dobrar Gaster

FP- Ficar Parada

GD- Glândula Dufour

LAMIR- Laboratório de Mirmecologia

LEI- Laboratório de Estudo de Invertebrados

LA- Levantar Antena

LP- Limpar Patas

UM- Músculo

NU- Núcleo

RNC- Relação Núcleo Citoplasma

TC- Tocar Companheira

UFV- Universidade Federal de Viçosa

UEMA- Universidade Estadual do Maranhão

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 16 |
| 2.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 18 |
| 2.1 Formicidae | 18 |
| 2.2 Subfamilia Paraponerinae | 18 |
| 2.3 Paraponera clavata | 20 |
| 2.4 Glândula Exócrina | 20 |
| 2.5 Glândula Exócrina de formiga | 21 |
| 2.6 Glândula Dufour de Formigas | 22 |
| 3 MATERIAL E MÉTODO | 23 |
| 3.1 Morfologia Externa | 24 |
| 3.2 Histologia | 26 |
| 3.3 Teste comportamental de Trilha | 26 |
| 3.4 Teste comportamental de Alarme | 27 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 29 |
| 4.1Histologia | 29 |
| 4.2 Teste de Trilha | 32 |
| 4.3 Teste de Alarme | 37 |
| 5 CONCLUSÃO | 43 |
| 6 REFERÊNCIAS | 44 |

1. INTRODUÇÃO

Os insetos são considerados excelentes bioindicadores, por apresentarem ampla distribuição, possuírem papéis fundamentais nos ecossistemas, e por serem sensíveis às mudanças ambientais (FORISTER *et al.*, 2019). Entre os insetos, as formigas, conhecidas como insetos eusociais, são consideradas como um dos grupos com maior sucesso ecológico e numericamente abundantes (SILVA *et al.*, 2020; FEITOSA *et al.*, 2021).

As formigas estão situadas em vários lugares inclusive em uma grande diversidade de vegetação, por isso merecem uma maior atenção, por apresentarem uma fácil interação com diversos seres vivos como plantas, artrópodes entre outros (SILVA, 2021). A família Formicidae é constituída por 22 subfamílias, agrupadas em 502 gêneros e 16.597 espécies, no Brasil são encontradas 12 subfamílias, agrupadas em 124 gêneros e cerca de 1.655 espécies (ANTWEB, 2023).

A espécie *Paraponera clavata* (FABRICIUS, 1775), é a única representante viva da subfamília Paraponerinae, pertencente à tribo Paraponerini. *P. clavata* é popularmente conhecida como tucandeira ou tocandira, esta espécie é utilizada como elemento folclórico, na região Norte do Brasil, índios Sateré-Mawé utilizam as tucandeiras em rituais de passagem para a vida adulta (DELABIE *et al.*, 2015).

A ecologia de *P. clavata*, tais como nidificação e alimentação são bem documentadas na literatura (JANZEN & CARROLL, 1983; BREED *et al.*, 1987; LONGITO & HANSN, 1995; LATTKE, 2003; JANDT *et al.*, 2013; MCGEE & EATON, 2013). No entanto, estudos morfofisiológicos das glândulas exócrinas de *P. clavata* são escassos.

Entre os formicídeos, o comportamento e a assepsia da colônia são mediados por compostos produzidos por cerca de 84 glândulas exócrinas (ADAMS *et al.*, 2012; BILLEN & SOBOTNÍK 2015; ANDRADE *et al.*, 2019; GUARDA & LUTINSKI, 2020). Dentre a variedade dessas glândulas exócrinas, o presente estudo destaca a glândula Dufour, que se encontra anexada ao aparelho do ferrão dos himenópteros aculeados.

A glândula Dufour é classificada como uma glândula abdominal comum que fica conectada ao sistema reprodutor feminino das formigas (ZHOU *et al.*, 2018). A glândula Dufour possui funções distintas entre as diferentes espécies de formigas, as substâncias secretadas são usadas como: (i) feromônios de trilha, (ii) secreção para defesa

(iii) marcação territorial, (iv) recrutamento e (v) sexo (PASTEELS *et al.*, 1989; CAMMAERTS *et al.*, 1981; MITRA, 2013).

A função básica da glândula de veneno e Dufour é armazenar ou reservar vários tipos de secreções químicas que quando armazenadas apresentam uma função, porém, ao ser secretadas, podem adquirir modificações (XU *et al.*, 2022).

A glândula Dufour produz principalmente compostos de caráter lipídico, onde os hidrocarbonetos de cadeia longa estão entre os principais compostos. Muitos dos compostos produzidos pela glândula Dufour estão envolvidos no mecanismo de comunicação química das espécies (SERRÃO, 2015). Essas glândulas produzem e armazenam feromônios e os colocam para fora do corpo da formiga de forma controlada (DE SOUZA *et al.*, 2018).

As formigas exercem papéis muito importantes em nosso meio, tais como: Polinização das flores, dispersar sementes e equilibrar a cadeia alimentar, por isso, é de suma importância a obtenção de informações relacionadas ao modo de vida, comportamento e diversas outras atividades por elas exercidas.

Estudar sobre a função das glândulas exócrinas presentes no corpo de cada indivíduo é muito importante, com isso, este estudo pode fornecer informações altamente relevantes e conseqüentemente futuros desenvolvimentos, como é o caso da produção de medicamentos e diversos outros benefícios.

Diante da carência de estudos morfofisiológicos da glândula Dufour de *P. clavata*, o presente estudo, tem como proposta, suprir informações expressivas para a compreensão de aspectos fisiológicos, evolutivos e comportamentais intra e intercolonial de *P. clavata* mediante a secreção produzida pela glândula Dufour, relacionadas às respostas comportamentais exercidas pelas operárias através de testes comportamentais de alarme e defesa, teste de trilha, assim como a morfologia da glândula em estudo.

Este trabalho também pode apresentar uma resposta bastante satisfatória, tendo em vista a escassez de informações sobre esta glândula. Com isso, este trabalho tem como objetivos: Descrever a morfologia e a fisiologia da glândula Dufour de *P. clavata*, bem como, observar a função desta glândula no ato comportamental; caracterizar a morfologia externa da glândula dufour da *P. clavata*; descrever a histologia da glândula dufour das *P. clavata*; analisar a influência das substâncias da glândula dufour de *P. clavata* no comportamento de alarme e no comportamento de trilha intracolônial e intercolonial.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O referencial teórico abaixo enfatiza os seguintes temas: **(2.1) Formicidae** – aborda a ecologia geral da família formicidae **(2.2) Subfamília Paraponerinae** – destaca a ecologia e as características dos representantes da subfamília Paraponerinae **(2.3) *Paraponera clavata*** – introduz a espécie como grupo de estudo deste trabalho, abordando sua ecologia **(2.4) Glândulas exócrinas** – caracterizamos os tipos de glândulas exócrinas e as prováveis funções das substâncias secretadas pelas mesmas **(2.5) Glândulas exócrinas em formigas** – faz menção da diversidade de glândulas exócrinas encontradas nas formigas, assim como, a composição da secreção glandular e suas diversas funções. **(2.6) Glândula Dufour de Formigas** – destaca os tipos de comportamentos relacionados à secreção glandular, os compostos presentes nas mesmas.

2.1. Formicidae

As formigas pertencem à família Formicidae Latreille, (1809), ao filo Arthropoda, subfilo Hexapoda, classe Insecta, ordem Hymenoptera, subordem Apocrita e superfamília Vespoidea. A família Formicidae é rearranjada com base em características que são compartilhadas por seus membros, permitindo assim, um esboço conjecturado de um suposto ancestral (URBANI,1989).

Com a abundância de formigas existentes, as mesmas se distribuem em 22 subfamílias, sendo estas agrupadas em clados como: leptanilóides, poneroides e formicóides. O clado poneróide apresenta mais de 1.500 espécies descritas, com distribuição em 6 subfamílias diferentes, sendo essas subfamílias; Agroecomyrmecinae, Apomyrminae, Amblyoponinae, Paraponerinae, Ponerinae e Proceratiinae. Esse clado apresenta uma abundância em espécie que por conseguinte 80% dessas espécies apresentam-se vivas na natureza (BOROWIEC *et al.*, 2020).

Dentro da ordem Hymenoptera as formigas, abelhas e vespas, portam características de insetos verdadeiramente sociais, possuem muitas modificações evolutivas ao longo do tempo, sendo, uma característica chave desta ordem, principalmente por serem aculeados, ou seja, a região do ovopositor destes insetos, sofreram modificações, tornando-se um órgão chamado ferrão, utilizado para injetar veneno produzido pelos indivíduos (BOROWIEC *et al.*, 2020).

As formigas se diferenciam dos demais himenópteros por possuir características específicas, que são importantes para sua classificação, como por exemplo,

a presença do pecíolo nodoso e a presença da glândula metapleural, que faz uma separação total desses indivíduos com os demais himenópteros (BACCARO *et al.*, 2015). No entanto, foi encontrado na espécie *Pelecinius polyturator* (DRURY., 1773), da família Peleciniidae, uma glândula com as mesmas características e composições químicas que a glândula metapleural presente em formigas (ULMER *et al.*, 2023).

Consideradas como insetos verdadeiramente sociais, as formigas cooperam no cuidado das formas jovens, havendo uma divisão reprodutiva do trabalho, com os indivíduos estéreis, trabalhando em prol dos indivíduos férteis (SCHMIDT *et al.*, 2012).

A forma na qual as formigas vivem, pode variar de acordo com a espécie, algumas espécies podem não possuir moradia fixa, entretanto, outras podem ser extremamente sedentárias, e conseqüentemente apresentar uma vida sedentária, fatores externos ou internos podem fazer com que haja a mudança ou deslocamento das colônias para outros locais (RODRIGUEZ *et al.*, 2022).

A diversidade de formigas é imensa, algumas estimativas sugerem que o planeta abriga cerca de 20 quatrilhões de formigas (SCHULTHEISS *et al.* 2022), abundando assim outros insetos e aumentando seus graus evolutivos, com isso, esses insetos são vantajosos por ocupar um maior espaço, principalmente obter maiores nichos alimentícios, seja no solo ou na vegetação (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990).

2.2. Subfamília Paraponerinae

Paraponerinae é uma subfamília na qual duas espécies fazem parte, *P. clavata* (FABRICIUS, 1775), espécie rica em número de indivíduos, e *P. dieteri* (BARONE-URBANE, 1994), espécie extinta havendo assim, a existência apenas de fósseis desses indivíduos atualmente (DELABIE, *et al.*, 2015).

A subfamília Paraponerinae apresentam características próprias, como a presença de bipartição nos escombros antenais, machos e fêmeas apresentam em sua fisiologia um pecíolo com um pedúnculo anterior longo, antenas com 12 segmentos, a mandíbula dos espécimes machos é lobada e dentada, assim como o hipopígio dos mesmos são biaculeados (BOLTON, 2003).

De acordo com Baccaro *et al.*, (2015), os indivíduos pertencentes a subfamília Paraponerinae, ganham destaque devido ao método de defesa por eles utilizados para sua sobrevivência, como é o caso de ferroadas extremamente dolorosas, e junto a essas ferroadas sintomas preocupantes, tais como: enjoos, vômitos, tonturas, febres e desmaios.

2.3. *Paraponera clavata*

Paraponera clavata é a única representante viva da subfamília Paraponerinae, está provavelmente entre as formigas mais conspícuas das florestas tropicais (DELABIE *et al.*, 2015). Esse fato não está relacionado com sua abundância local, que raramente é considerada alta, mas sim, com o tamanho das operárias e o local de forrageio (BAADER, 1996).

As operárias forrageiam arbóricamente em todas as alturas do dossel, os ninhos são subterrâneos nas bases das árvores, ou ocasionalmente em acúmulos de húmus no dossel (AntWiki 2023).

Espécimes de *P. clavata* em especial as operárias, possuem uma diversidade alimentar ampla, podendo apresentar hábitos predatórios e aumentando assim, sua diversificação alimentícia, como é o caso de néctar extrafloral que fazem parte de seus recursos alimentares naturais, com essa diversificação na alimentação, as mesmas sofrem modificações internas, como as pressões seletivas para impulsionar o instável mecanismo de defesa da glândula metapleurale (MARTINS *et al.*, 2022).

A colônia desta espécie de formiga é caracterizada por apresentar tamanho variado e uma população de indivíduos de 200 a 3.000 espécimes de operárias, assim como sua nidificação acontece geralmente na superfície do solo, em proximidades a árvores ou troncos (DELABIE *et al.*, 2015).

2.4. Glândulas exócrinas

As glândulas exócrinas tegumentares podem se dividir em três classes, sendo as classes *i*, *ii* e *iii*. Nas classe *i*) apresentam-se células da epiderme, que são células com a função de liberar secreção para fora do corpo dos indivíduos através das cutículas; classe *ii*) são células que também eliminam secreção para fora do corpo, mas que, diferente das células presentes na classe *i*, as células não passam primeiro pelas cutículas mas por uma célula epidérmica, e as células da classe *iii*) diferente das demais classes, as glândulas não se incorporam a epiderme, embora sejam oriundas dela (NOIROT & QUENNEDEY, 1974).

Os feromônios mais citados em literaturas, e mais conhecidos atualmente, são os feromônios de alarmes, de trilhas e os feromônios sexuais. Os feromônios de alarme são geralmente produzidos em glândulas que se abrem próximo de mecanismos de defesa

dos insetos, como as mandíbulas (ex. glândulas mandibulares, glândula frontal), e/ou na região do ferrão (ex. glândula de veneno, glândula pigidial) (BILLEN, 2008).

As substâncias voláteis, dependendo da quantidade liberada no meio ambiente, podem atrair indivíduos para acasalamento, ou até mesmo repelir esses indivíduos a curta distância, são denominadas de feromônios sexuais (VILELA E DELLA LUCIA, 2001).

A glândula de veneno produz toxinas que, em sua maior parte, nas poneromorfas, é de caráter proteico (PALMA, 2006). Essas toxinas são injetadas em outros indivíduos como defesa e/ou captura de presas (SERRÃO *et al.*, 2015).

As diversas substâncias excretadas exercem diferentes funções, como a marcação de território, acasalamento, formação de trilhas e alarme (CAETANO *et al.*, 2002). Portanto a forma mais evidente utilizada por insetos sociais durante atos de comunicação, acasalamento, higiene, proteção e até mesmo discernir indivíduos de colônias diferentes, se dá por meio dos feromônios presentes ao longo de seu corpo (BILLEN., 2006).

2.5. Glândulas Exócrina de formigas

As formigas apresentam uma diversidade de glândulas em todas as regiões de seu corpo, contudo, apesar dessa variedade de glândulas, atualmente são conhecidas apenas 84 glândulas exócrinas (BILLEN E SOBOTNÍK, 2015). As glândulas apresentam várias funções diferentes, dependendo da glândula e da função da mesma, como a glândula pós-faríngea que de acordo com a literatura, é primordial em fontes de hidrocarbonetos cuticulares, sendo os mesmos distribuídos ao longo do corpo das formigas (WANG *et al.*, 2016).

Em formigas as glândulas exócrinas são classificadas de acordo com a região no qual estão localizadas. Nas glândulas cefálicas encontram-se as glândulas mandibulares, pós-faríngeas, profaríngeas e intramandibulares entre outras; já as glândulas Mesossomais ficam localizadas as glândulas Salivares e Metapleurais; nas glândulas Metassômicas, encontram-se as glândulas de veneno, glândula pigidial, glândula Dufour, Retal, Intestinal, Veneno, Pavan e as glândulas pós-espigial (BILLEN., 2019).

Em estudos realizados com formigas cortadeiras (*Atta* e *Acromyrmex*) Marinho *et al.* (2006), afirmam que os feromônios utilizados por essas formigas para

defesa e proteção das colônias foram produzidos nas glândulas mandibulares das mesmas, visto que, os feromônios podem possuir várias funções como; Alarme, reconhecimento dos espécimes ou das trilha, do território e dos ambientes no qual as mesmas já tiveram contato.

Em estudos realizados com formigas tecelã do gênero *Oecophylla*, observou-se que a comparação do efeito da glândula de veneno em formigas da espécie *Oecophylla longinoda* (LATREILLE, 1802), apresenta em sua composição, ácido fórmico em grande quantidade, já a mesma glândula para a espécie *Oecophylla smaragdina* (FABRICIUS, 1775), o principal componente presente nessa glândula é uma secreção Undecano; Já a glândula Dufour presente em ambas as espécies, apresentam em sua composição undecano e hidrocarbonetos, ambos importantes para comportamentos de alarme e defesa principalmente da espécie *O. longinoda* (MEKONNEM *et al.*, 2021).

2.6. Glândula Dufour de Formigas

A glândula Dufour e o aparato de ferrão estão interligados, isto acontece em todas as fêmeas pertencentes à ordem Hymenoptera (MARTIN *et al.*, 2005). Os feromônios presentes nas glândulas fazem com que espécimes de formigas exerçam comportamentos importantes; como toque de antena, que tem a função de informar os indivíduos do ninho sobre o novo ninho ou nova colônia que estão vivenciando pela primeira vez, ou até mesmo a questão de limpeza dos espécimes (RODRIGUES *et al.*, 2022).

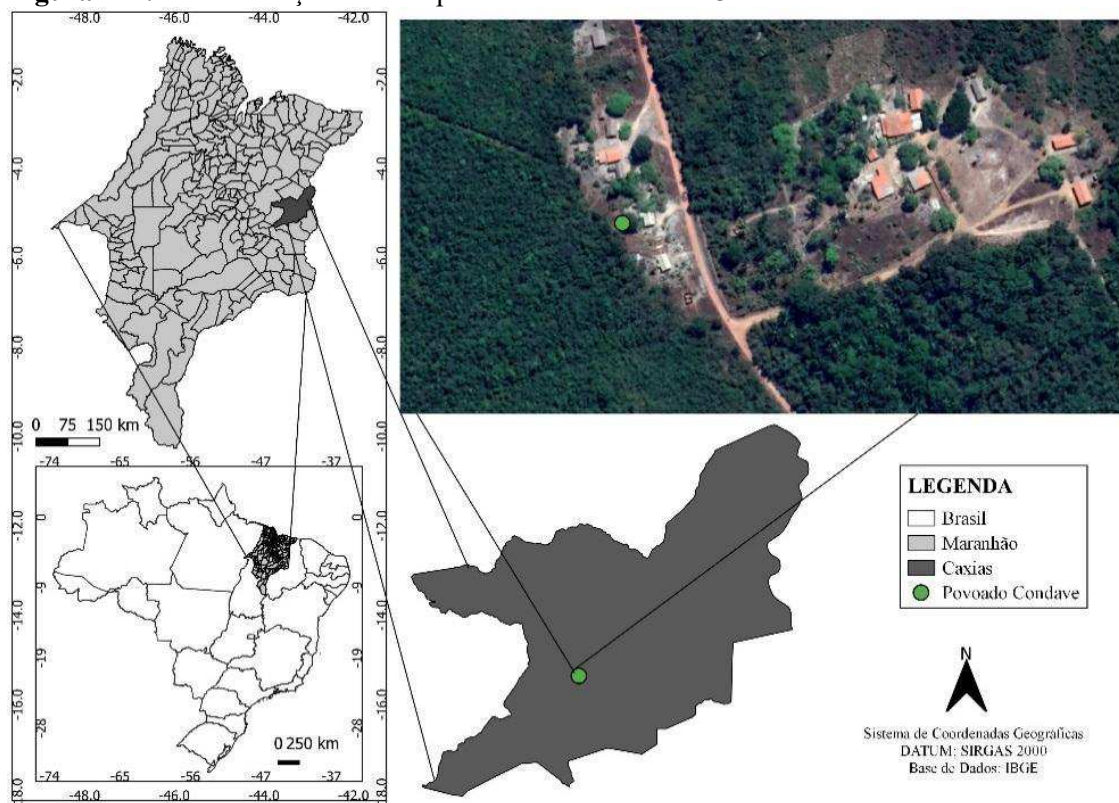
A glândula Dufour produz principalmente composições de caráter lipídico, onde os hidrocarbonetos de cadeia longa estão entre os principais compostos, muitos dos componentes produzidos pela glândula Dufour estão envolvidos no mecanismo de comunicação química das espécies (SERRÃO, 2015). Estas glândulas produzem e armazenam feromônios e os colocam para fora do corpo da formiga de forma controlada (DE SOUZA *et al.*, 2018).

As formigas mesmo não exercendo nenhuma reação, já demonstram um ato comportamental, visto que, o comportamento das mesmas e as riquezas dos detalhes exercidos por elas, despertam inúmeras apreciações, como é o caso da construção de ninhos, os detalhes das galerias com capacidade da entrada de ar, comida e a locomoção das mesmas, assim como, organização da colônia e a comunicação entre as mesmas (BARBOSA *et al.*, 2023).

3. MATERIAL E MÉTODO

Oito ninhos de *P. clavata* foram localizados no povoado Condave Município de Caxias, Maranhão, Brasil (Figura 1). Após as coletas, o material biológico foi transferido para o Laboratório de Mirmecologia/LAMIR, do Campus Caxias, da Universidade Estadual do Maranhão/UEMA.

Figura 1: Localização do povoado Condave 3º distrito de Caxias- MA.



Fonte: PEREIRA, 2020.

Para a criação desses espécimes de formigas em laboratório, foram confeccionados ninhos artificiais constituídos de caixas plásticas, forradas com parte do solo/substrato coletado nos ninhos originais (Figura 2 A, B e C). Esses ninhos foram mantidos em sala com temperatura ($27^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e luminosidade controlada (ciclo claro/escuro - 12/12h), os indivíduos foram alimentados com uma dieta a base de carboidratos e proteínas a cada dois dias (Figura 2 D e E).

Figura 2: A- Coleta de operária de *P. clavata* com equipamentos específicos; B- Preparação do ninho artificial; C- Ninho artificial, mantido em condições de Laboratório, D e E - Troca de alimentação e limpeza dos ninhos.



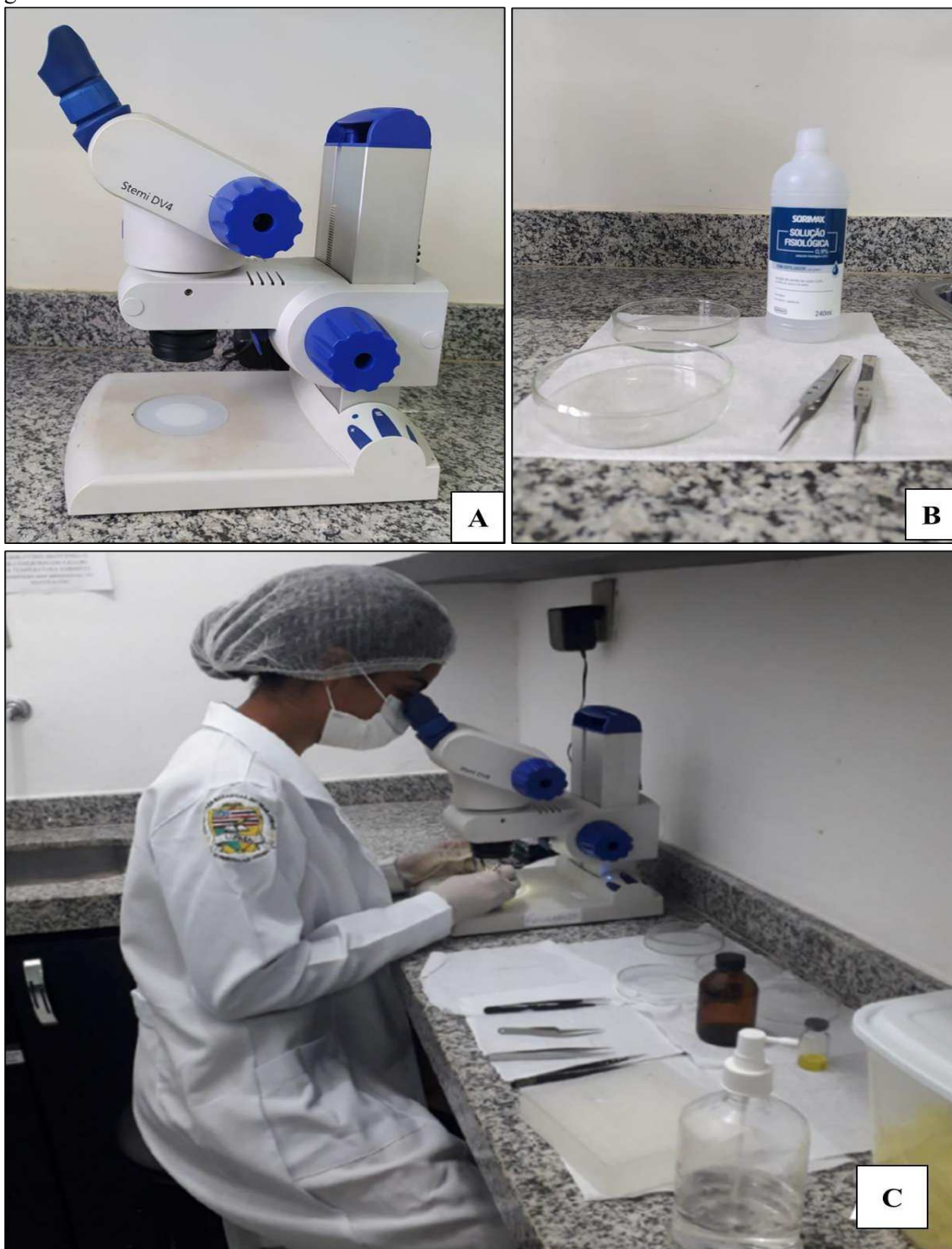
Fonte: AUTORA, 2023.

3.1. Morfologia Externa

Oito operárias de *P. clavata* por ninho foram crioanestesiadas e suas glândulas Dufour dissecadas em solução fisiológica (Figura 3). Imediatamente após a extração das glândulas, procedeu-se às análises da morfologia externa, para isto, foram obtidas imagens através de esteromicroscópio Zeiss® Discovery V12, utilizando o programa Zen® 2012, com câmera digital AxionCan ICc1 de 1.4 megapixel acoplada. As

medições e escalas foram realizadas no programa Zen® 2012. Estas etapas foram realizadas no Laboratório de Estudo dos Invertebrados/LEI do Campus Caxias/ UEMA.

Figura 3: Procedimentos laboratoriais. A- Estereomicroscópio Stemi DV4 (Zeiss). B – Pinças entomológicas, soro fisiológico e placas de petri; C- Dissecação e preparação do extrato da glândula Dufour.



Fonte: AUTORA, 2023.

3.2. Histologia

Para a realização dos cortes histológicos, oito operárias de *P. clavata* foram crioanestesiadas e suas glândulas de Dufour dissecadas e transferidas para microtubos contendo solução fixadora de Zamboni (Stefanini *et al.*, 1967).

Posteriormente as glândulas foram desidratadas em série crescente de etanol (70%, 80%, 90% e 95%) e embebidas com Histo-resina (Leica) e álcool absoluto (1:1) por 12 horas. Após esse tempo, as amostras foram embebidas em resina pura por mais 12 horas, em seguida o material foi colocado em moldes preenchidos com resina contendo catalisador (Histo-resina Leica).

Após a polimerização, as amostras foram seccionadas em micrótomo Leica, com secções de 3µm de espessura, e transferidas para lâminas, onde foi corada com hematoxilina/eosina. As amostras foram analisadas e fotografadas em microscópio de luz com câmera digital acoplada (Olympus BX-60), com auxílio do programa Q-capture. As imagens foram editadas com o programa Image-Pro Plus Windows Version 4.2, para a mensuração das escalas. Para as análises de morfometria, o número de células secretoras foi contado a partir dos cortes histológicos e posteriormente foram realizadas as medidas de área das células secretoras, do núcleo, do diâmetro da borda e realização do cálculo da razão núcleo/citoplasma, utilizando o software ImageJ. As análises histológicas foram realizadas no Laboratório de Ultraestrutura Celular da Universidade Federal de Viçosa/UFV.

3.3. Teste Comportamental de Trilha

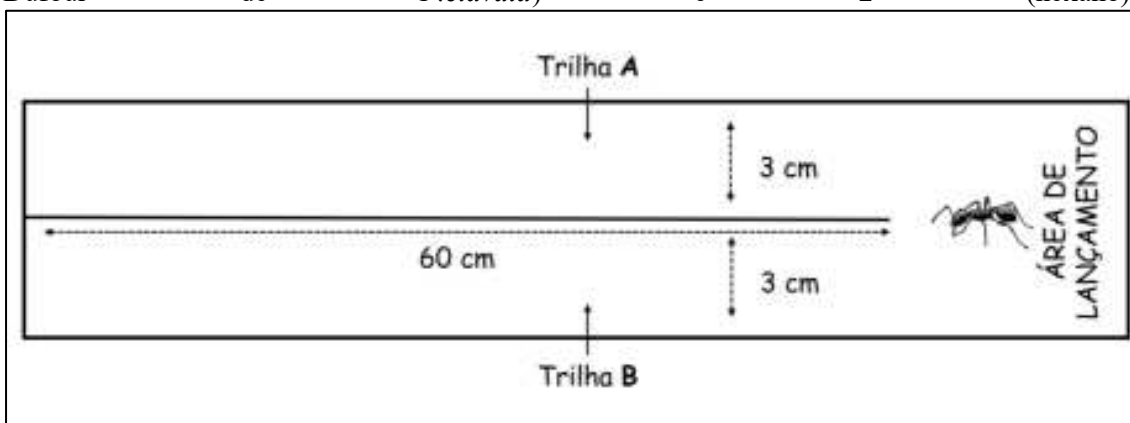
Para a análise do efeito de trilha, foi confeccionada uma arena de acrílico, dividida em duas trilhas paralelas (Trilha A e Trilha B), ambas com 60cm de extensão por 3cm de largura, e uma “área de lançamento” que consiste num espaço de 20x6cm que antecede as trilhas (Figura 2). Foram adicionados nas trilhas dois tratamentos: **Tratamento 1 (T1)** – Extrato glandular, constituído de 20 glândulas Dufour de operárias de *P. clavata* maceradas e dissolvidas em hexano (200 µL). **Tratamento 2 (T2)** Teste controle, utilizando apenas o hexano. Os dois tratamentos foram distribuídos na proporção de 10µL a cada 10cm, colocados antagonicamente nas trilhas, variando aleatoriamente os dois tratamentos entre as trilhas A e B a cada novo teste.

As formigas foram posicionadas primeiramente na “área de lançamento,” e os bioensaios dessa etapa, ocorreram de forma individual, ou seja, apenas uma formiga por vez foi submetida à arena de teste, sendo observada durante cinco minutos (no

máximo) ou até percorrer completamente uma das trilhas. Foram extraídas glândulas de 20 operárias de cada 08 ninho, para realizar os testes comportamentais, sendo testes intracoloniais ($n= 4$) e intercoloniais ($n= 4$), perfazendo um total de 64 bioensaios, a cada teste realizado.

As análises desses testes, teve como base a distância percorrida pela formiga e a preferência de trilha entre os compostos testados. Todas as movimentações das formigas, foram filmadas com câmera digital modelo Sonny – Carl Zeiss, 14.1 megapixels, para dar suporte as análises posteriores. Para apresentação dos resultados, foram utilizados gráficos de box-plot (“diagrama em caixa”), que mostram: *i*) os valores centrais (mediana), *ii*) a dispersão (primeiro e terceiros quartis) e *iii*) os valores máximos e mínimos. Para essas análises foram utilizadas as análises com o programa PAST, versão 4.0.

Figura 4: Modelo esquemático da arena para bioensaios comportamentais de trilha, demonstrando as trilhas A e B, onde foram utilizados os tratamentos 1 (extrato da glândula de Dufour de *P.clavata*) e 2 (hexano).



Fonte: ANDRADE, 2018.

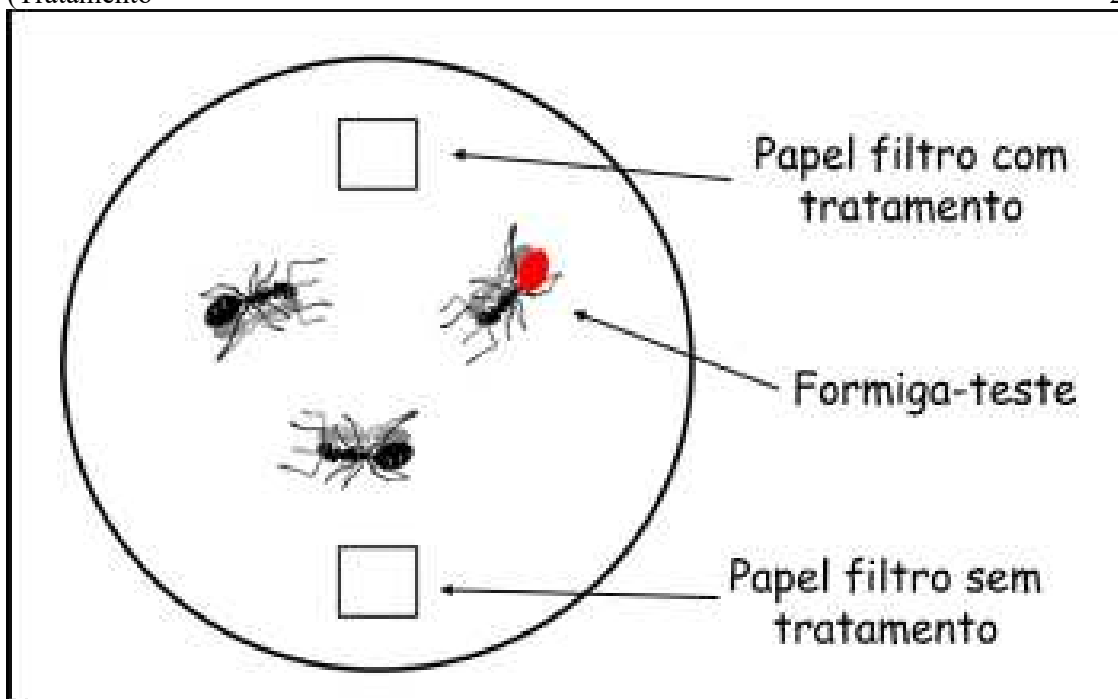
3.4. Teste Comportamental de Alarme

Para os testes comportamentais de alarme, foram confeccionada uma arena composta por um recipiente plástico transparente, com 20 cm de diâmetro por 10 cm de altura, sobreposta por uma tampa de vidro para melhor análise do comportamento das formigas, a base foi forrada com papel filtro, trocado a cada novo teste (Figura 5). Nestes bioensaios foram utilizados dois tratamentos (T1 e T2): T1 – Extrato da glândula, 20 glândulas Dufour de operárias de *P. clavata*, maceradas e dissolvidas em hexano (100 μ L) e T2 – Teste controle, utilizando apenas o hexano como controle. Pedacos de papel filtro (1cm²), foram embebidos nestes tratamentos e submetidos à arena de teste.

Diametralmente ao papel com os tratamentos foi colocado outro pedaço de papel filtro (de mesmo tamanho) na arena, este sem nenhum tratamento. Três formigas foram submetidas (juntas) a cada novo bioensaio, sendo apenas uma delas escolhida como “formiga-teste” marcada com tinta à base de água, na altura de seu gaster, para melhor monitoramento de seus atos comportamentais de maneira individual. Os comportamentos das outras formigas sem marcação, submetidas aos bioensaios, não foram analisados no presente estudo, pois as mesmas foram lançadas na arena apenas para servir de companhia para a formiga- teste.

Oito ninhos de *P. clavata*, foram utilizados neste teste, sendo selecionadas 16 “formigas-testes” de cada ninho (04 para o T1 + 04 para o controle e 04 para o T2+ 04 para o controle). Para cada tratamento, foram realizadas 04 repetições de 10 minutos cada, perfazendo um total de 128 bioensaios. A análise dos bioensaios de alarme, foram baseadas na observação de atos comportamentais mediante a utilização dos tratamentos. Todos os bioensaios foram filmados com câmera digital modelo Sonny – Carl Zeiss, 14.1 megapixels. Para as análises dos testes foi produzida uma tabela Excel (presença-ausência) com os atos comportamentais verificados. Os resultados obtidos foram comparados por meio do teste de Qui-quadrado.

Figura 5: Modelo esquemático da arena para bioensaios comportamentais de alarme em formigas *P. clavata*, utilizando o extrato da glândula mandibular (Tratamento 1) e o controle/hexano (Tratamento 2).



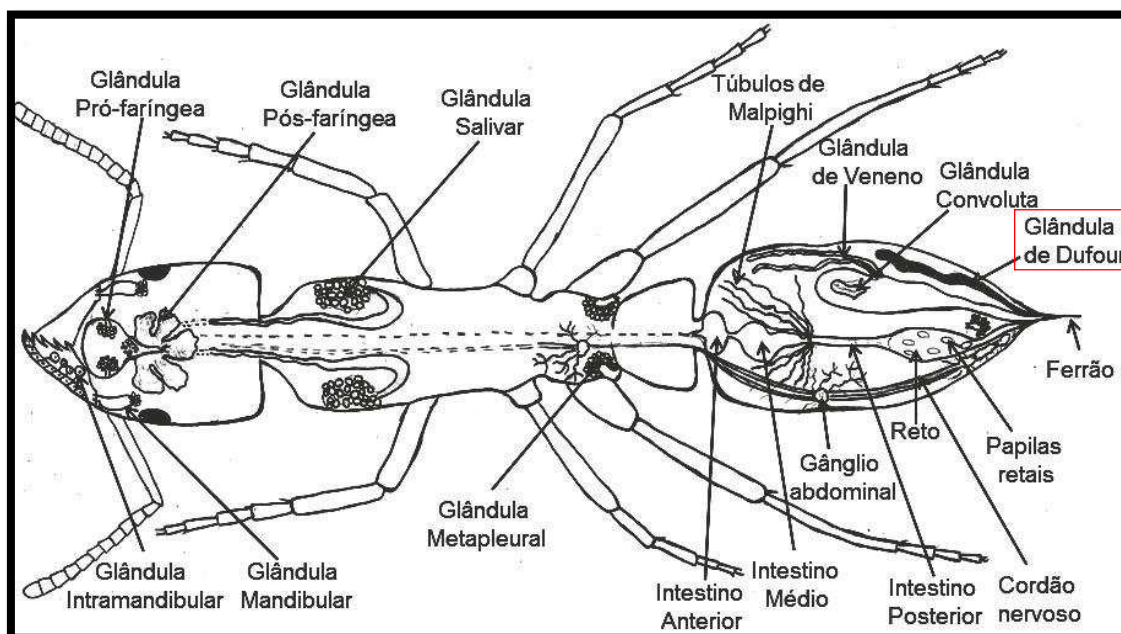
Fonte: ANDRADE, 2018.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Histologia

A glândula Dufour encontra-se localizada na região do gaster das operárias de formigas da espécie *P. clavata*, muito próxima da glândula de veneno das operárias (Figura 6).

Figura 6: Localização da glândula Dufour em formigas.



Fonte: SERRÃO *et al* (2015).

Em *P. clavata*, a glândula de Dufour se apresenta como um tubo simples composto por um epitélio glandular, formado por uma camada única simples de células secretoras colunares (glândula da classe 1 - G1), semelhante ao longo de todo o túbulo (Figuras 7 A e B). As células apresentam núcleos esféricos e nucléolo evidente (Figuras 7 C e D).

Tabela 1: Dados morfométricos da glândula Dufour de *Paraponera clavata*.

| Nº de células | Área da célula (média ± EP, μm^2) | Área do núcleo (média ± EP, μm^2) | Diâmetro da borda (média ± EP, μm^2) | RNC |
|---------------|---|---|--|-------|
| ±752 | 231,22 ± 90,57 | 3,30 ± 10,998 | 6,94 ± 1,1 | 0,072 |

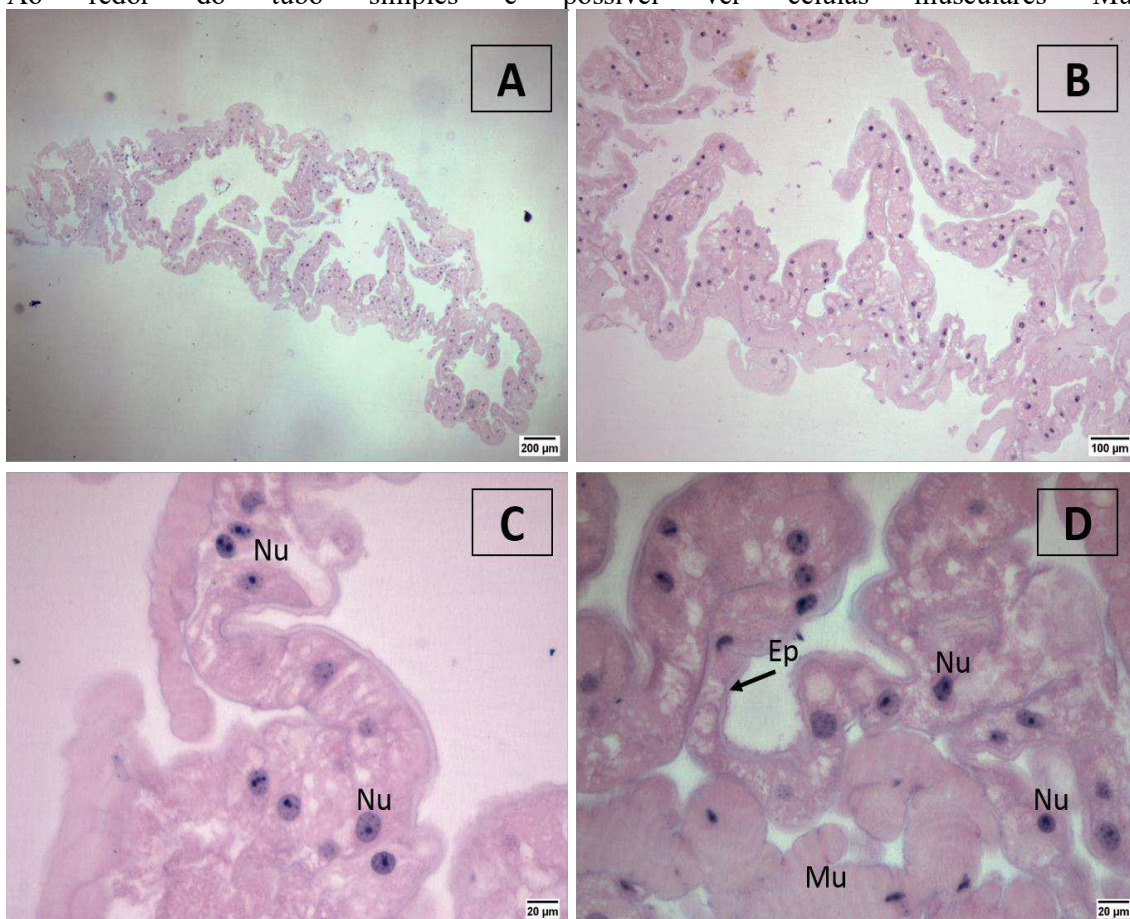
Fonte: AUTORA, 2023.

O número de células presente na glândula Dufour de formiga da espécie *P. clavata* (Figuras 7-D), é de aproximadamente (752) células. Em relação a área dessas células, a mesma apresentou uma média de aproximadamente (231,22 μm^2), sendo todas

essas células ricas em núcleo, no qual os mesmos possuem uma área de $3,30 \mu\text{m}^2$, e com um diâmetro de borda cuja média é de aproximadamente ($6,94 \mu\text{m}^2$). Em relação a atividade metabólica das células secretoras, calculada pela razão núcleo/citoplasma, a mesma apresentou 0,072 (**Tabela 1**).

Com isso, torna-se evidente que essa glândula é muito importante para inúmeras atividades desenvolvidas pelas operárias, sejam elas reprodutivas, atos de predação bem como estratégias de defesas das mesmas. A glândula Dufour pode fornecer diversas funções aos hymenópteros como marcação de território, marcação de trilhas, alarme e defesa, seja nas colônias, com sociedade ou individual, escravidão, bem como, produção de hormônios sexuais (XU *et al*, 2023).

Figura 7. Secções histológicas da glândula de Dufour de *Paraponera clavata* (corada com eosina e hematoxilina). A e B. Vista geral da glândula. C e D. Glândula da Classe I representada por células secretoras colunares, mostrando o epitélio (Ep). Cada glândula possui um núcleo (Nu). Ao redor do tubo simples é possível ver células musculares Mu.



Fonte: MARTINS, 2023.

A glândula Dufour apresenta suas particularidades, com isso, é possível perceber a existência de diferentes tamanhos de acordo com as espécies, colônias e

consequentemente função. A glândula Dufour pode conter diferentes funções e sofrer diferentes variações, como exemplo em indivíduos do gênero *Periplanetas*, as glândulas acessórias produzem um material bronzeado para depositar os ovos, em gafanhotos as mesmas glândulas produzem uma secreção espumosa, em mosquitos do gênero *Chironomus*, essas glândulas acessórias produzem uma bainha gelatinosa, e em indivíduos pertencentes ao gênero *Hydrophillus*, essas glândulas produzem seda, formando assim, o casulo onde são depositados os ovos (ABDALLA & CRUZ-LADIM, 2001).

A morfologia da glândula Dufour pode variar entre os grupos de himenópteros, sejam eles sociais ou solitários, onde a estrutura dessa glândula pode ser um tubo epitelial de camada única, cujas células possuem a função de secretar material no lúmen da glândula, facilitando assim a emissão dos compostos químicos para fora das mesmas, sendo os músculos, os principais controladores da quantidade de secreção a ser liberada ao meio externo (MITRA, 2013).

Em estudos realizados com as glândulas Dufour e a glândula de veneno de formigas da espécie *Componotus japonicus* (MAYR, 1866), foi possível observar que a glândula Dufour, apresenta em sua composição, compostos químicos que são voláteis e semivoláteis, álcoois, ácidos, compostos aromáticos entre outros compostos químicos (XU *et al*, 2023).

A glândula Dufour das operárias de *P. clavata*, apresentam como observado na imagem, várias estruturas como núcleo, epitélio, músculos, entre outras características.

Em estudos realizados com formigas da espécie *Leptanilla clypeata* (YAMANE & ITO, 2001), observou que a glândula Dufour dessa espécie, apresentam estruturas em forma de tubos simples, cujas paredes epiteliais contém células glandulares da classe 1, com espessura em aproximadamente (5 μ m), e com células epiteliais compostas por núcleo e várias mitocôndrias, todas com revestimento de até (1 μ m), o que difere das operárias de *P. clavata* pois as mesmas apresentam um núcleo com área de (3,30 μ m), podendo ser explicado devido ao tamanho conspícuo dessas operárias (BILLEN *et al*, 2022).

Em estudos realizados com a glândula Dufour de vespas fêmeas do gênero *Myzinum sp.*, foi possível observar que as células presentes nessa glândula, forma uma estrutura com semelhanças a uma cúpula, deixando essa característica restrita apenas as vespas, essas glândulas possuem o epitélio como porção principal medindo aproximadamente (10 μ m), o núcleo com diâmetro de (5 μ m) lateralmente, as células com diâmetro de (2 μ m), o ducto com comprimento de (200 μ m) e largura de (80 μ m) (BILLEN

et al, 2017). Entretanto, há características presentes nas glândulas das vespas estudadas, que contém semelhança em formigas da espécie *P. clavata*, o ducto da glândula é próximo ao local da picada, possui um comprimento significativo, o núcleo possui uma área de (3,30 μ m), o diâmetro das bordas com uma média de (6,94 μ m), podendo ser explicado essa diferença em tamanhos, questões relacionadas a alimentação, o tamanho conspícuo dos indivíduos, bem como a espécie em si.

Já nas glândulas Dufour de operárias de formigas da espécie *Leptanilla clypeata* (YAMANE & ITO, 2001), foi possível observar células glandulares de classe I com espessuras de (5 μ m), revestidas com epitélio de (0,5-1 μ m), mas nenhum elemento citoplasmático foi observado (BILLEN *et al*, 2022). Em *P. clavata* as células apresentam uma área de (231,22 μ m), um valor superior ao referente a espécie *Leptanilla clypeata*, o que pode ser explicado por causa do tamanho das operárias de *P. clavata* ser superior ao tamanho das *L. clypeata*, assim como o habitat, os locais de forrageios entre outros.

Em observações realizadas durante estudos feitos com as glândulas Dufour de indivíduos da espécie *Scaptotrigona postica* (LATREILLE, 1807), foi possível observar em suas estruturas, uma vasta complexidade, onde a parede do tubo dessas glândulas apresenta inúmeras dobras epiteliais, e em rainhas virgens, essas glândulas apresentam-se menos convolutas, diferente das rainhas fecundadas, que apresentam as mesmas estruturas facilmente observada (ABDALLA & CRUZ- LADIM, 2005).

4.2. Teste de Trilha

Os resultados presente nas tabelas (4 e 5), contém informações relacionadas a distância média percorrida por operária de *P. clavata*, com testes comportamentais intracolônial (Tabela 2), e testes comportamentais intercolônial (Tabela 3), onde os tratamentos utilizados foram: **Tratamento 1 (T1)**, contendo 20 glândulas Dufour dissolvidas em 200 μ m de hexano, e **Tratamento 2 (T2)** contendo hexano como controle.

Tabela 2. Média da distância percorrida (cm), entre as trilhas com os tratamentos testados, com operárias de *P. clavata* no teste comportamental de Trilha intracolônial.

| Ninhos | Distância média percorrida (cm) | |
|--------------------|---------------------------------|---------------|
| | T1 – Glândula (G.D) | T2 – Controle |
| 1x1 | 0,15 | 32,5 |
| 2x2 | 12,5 | 30 |
| 3x3 | 52,5 | 30 |
| 4x4 | 35 | 52,5 |
| 5x5 | 25 | 32,5 |
| 6x6 | 30 | 17,5 |
| 7x7 | 30 | 32,5 |
| 8x8 | 5 | 7,5 |
| Média total | 190,15 | 235 |

Tratamento 1(T1)- extrato da Dufour GD . **Tratamento 2(T2)** Hexano/controle.

Os resultados presentes na (Tabela 2), cujas trilhas são realizadas com formigas intracolônias, foi possível observar que a trilha no qual as operárias obtiveram maior preferência para seguir a trilha contendo o tratamento 2 (T2), com uma média de 235,00, um valor superior à média presente no tratamento 1(T1), cuja média foi de apenas 190,15.

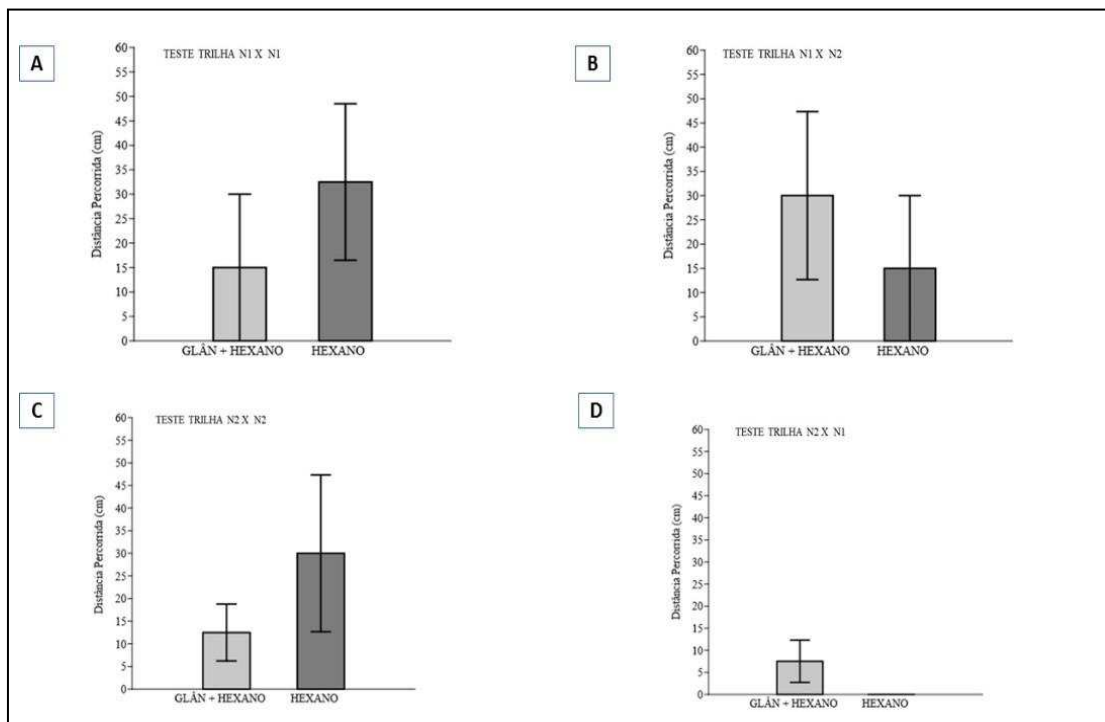
Tabela 3. Média da distância percorrida (cm), entre trilhas com tratamentos testados, com operárias de *P. clavata* no teste comportamental de Trilha.

| Ninhos | Distância média percorrida (cm) | |
|--------------------|---------------------------------|---------------|
| | T1 – Glândula (G.D) | T2 – Controle |
| 1x2 | 30 | 15 |
| 2x1 | 7,5 | 0 |
| 3x4 | 52,5 | 30 |
| 4x3 | 40 | 25 |
| 5x6 | 42,5 | 42,5 |
| 6x5 | 42,5 | 35 |
| 7x8 | 27,5 | 17,5 |
| 8x7 | 5 | 20 |
| Média total | 247,5 | 185 |

Tratamento 1- extrato da Dufour GD. **Tratamento 2 –** hexano/controle.

Para os resultados presentes na (Tabela 3), foi possível observar, que a média para o tratamento 1 (T1), foi uma média de 247,5 cujo valor foi superior ao presente no tratamento 2 (T2), com uma média de apenas 185,00.

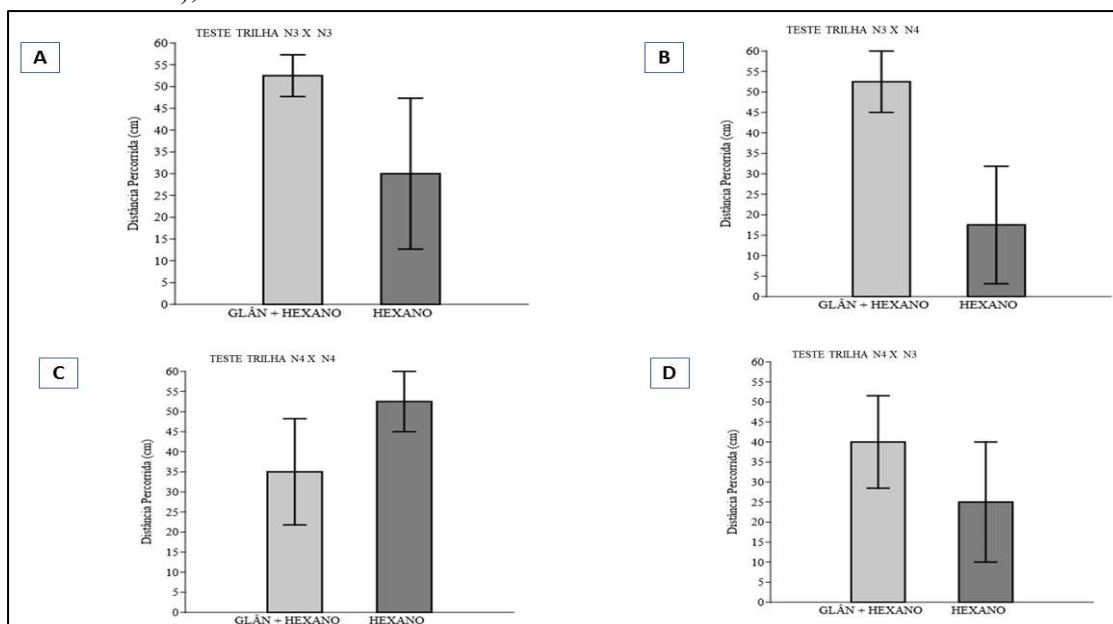
Figura 8. Box-plot dos bioensaios comportamentais para verificação do efeito de trilha em glândula Dufour de *Paraponera clavata* (**Tratamento 1:** Glândula e hexano; **Tratamento 2:** Hexano como Controle), Ninhos 01 e 02 intracoloniais e intercoloniais.



Fonte: AUTORA, 2023.

Observando os gráficos de box-plots referente aos testes comportamentais intracoloniais (N1xN1 e N2xN2), assim como os testes comportamentais intercoloniais (N1xN2 e N2xN1), é perceptível uma preferência das operárias quando em contato com os testes intracoloniais pela trilha contendo tratamento 2 (T2), composto de Hexano como controle, já quando os testes comportamentais são intercolônias, há preferência das operárias em seguir a trilha, contendo tratamento 1 (T1), composto por glândulas dissolvida em hexano.

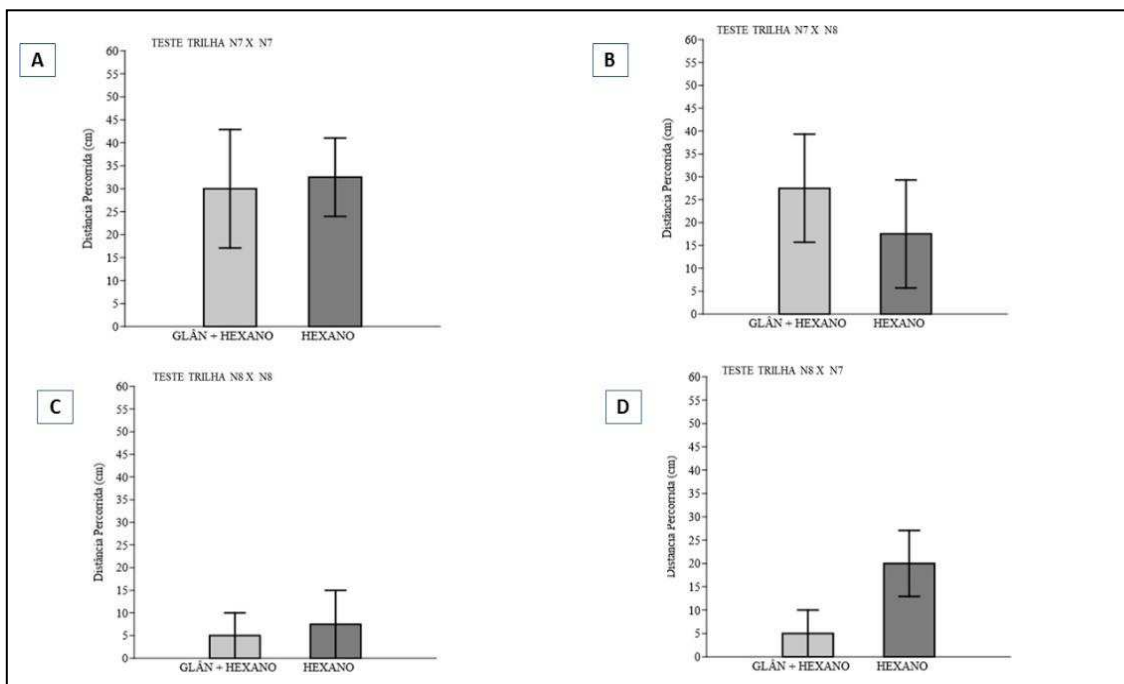
Figura 9. Box-plot dos bioensaios comportamentais para verificação do efeito de trilha em glândulaDufour de *Paraponera clavata* (Tratamento 1: Glândula e hexano; Tratamento 2: Hexano como Controle), Ninhos 03 e 04 intracoloniais e intercoloniais.



Fonte: AUTORA, 2023.

O gráfico contendo os ninhos intracoloniais (N3xN3 e N4xN4), assim como, os ninhos intercoloniais (N3xN4 e N4xN3), diferente do gráfico presente na (Figura 6), é perceptível uma preferência das operárias pelas trilhas contendo o tratamento 1(T1) em quase todos os bioensaios, exceto o teste intracoloniais (N4xN4), cujas operárias optaram pelo tratamento 2 (T2), composto de hexano como controle.

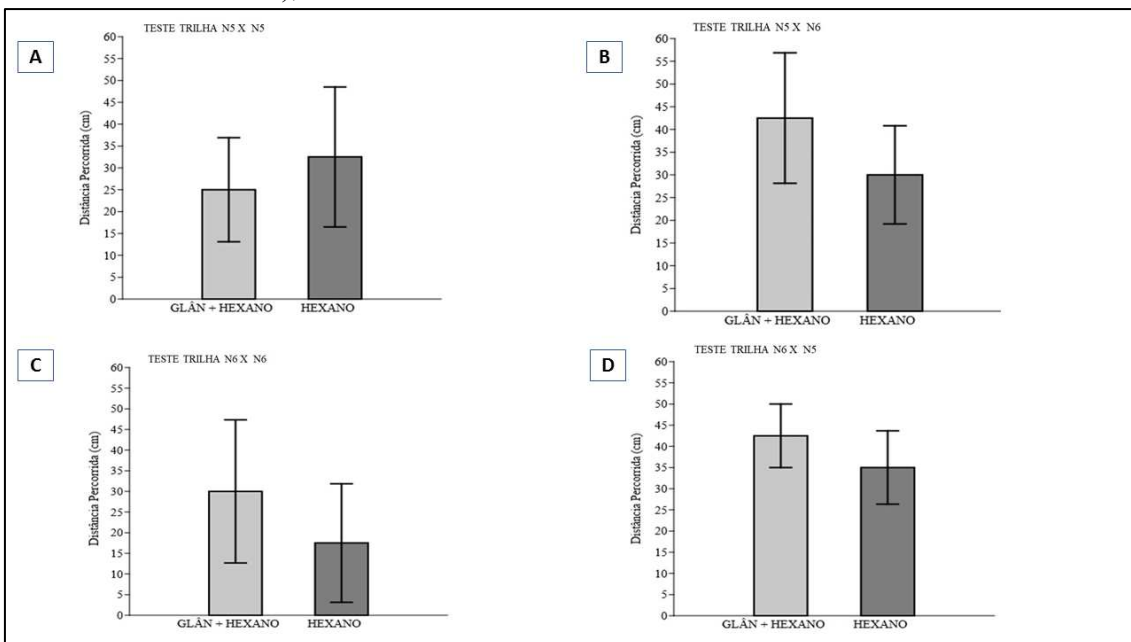
Figura 10. Box-plot dos bioensaios comportamentais para verificação do efeito de trilha em glândulaDufour de *Paraponera clavata* (**Tratamento 1:** Glândula e hexano; **Tratamento 2:** hexano como Controle), Ninhos 05 e 06 intracoloniais e intercoloniais.



Fonte: AUTORA, 2023.

Para o gráfico de Box-plot presente na (Figura 7), cujos bioensaios foram trabalhados com os ninhos intracoloniais (N5xN5 e N6xN6), e os ninhos intercoloniais (N5xN6 e N6xN5), é possível observar que apenas no bioensaio intracoloniais (N5xN5) as operárias obtiveram uma preferência significativa para o tratamento 2 (T2) contendo hexano como controle, os demais bioensaios torna-se evidente uma preferência pelo Tratamento 1(T1), composto de glândulas dissolvidas no hexano.

Figura 11. Box-plot dos bioensaios comportamentais para verificação do efeito de trilha em glândula Dufour de *Paraponera clavata* (**Tratamento 1:** Glândula e hexano; **Tratamento 2:** Hexano como Controle), Ninhos 07 e 08 intracoloniais e intercoloniais.



Fonte: AUTORA, 2023.

Para os resultados presentes nos bioensaios contidos nos gráficos de Box-plot da (Figura 8), é perceptível uma preferência pelo tratamento 1 (T1), apenas no bioensaio (N7xN8), os demais bioensaios, todos apresentaram um desvio padrão para o tratamento 2 (T2).

A maneira como as formigas lidam com as trilhas físicas, diz muito sobre os diferentes meios estratégicos utilizados por elas, sejam de forma individual, ou coletivos quando os espécimes estão forrageando um dado ambiente (SILVA, 2011). Com isso, percebemos assim essa afirmação nos resultados intracoloniais, onde obtivemos como resposta das operárias testadas, uma preferência pela trilha contendo tratamento 2 (T2), composto apenas de hexano como controle (Tabela 2), tal resposta pode ter ocorrido, devido ao reconhecimento das operárias pelos feromônios das demais companheiras de ninhos, consequentemente optaram por seguir odores novos, como é o caso da trilha contendo tratamento 2 (T2), visto que, as operárias testadas não entraram em contato com as demais que seriam lançadas na área de lançamento.

Em estudos realizados com vespas invasoras da espécie *Polister versicolor* (OLIVIER, 1791), é perceptível a importância da glândula Dufour desses indivíduos para o reconhecimento dos companheiros de ninhos e coespecíficos em espécies *Polister dominula* (CHRIST, 1791), já para a espécie *Polister fuscatus* (FABRICIUS, 1793), a mesma glândula, exerce a função de dominância e interação entre os espécimes

(BULGARELLA, 2022).

Os insetos apresentam uma grande capacidade de comunicação e interação com o meio, com isso, Guermandi (2021), afirma que os meios utilizados por uma formiga para traçar as rotas entre as colônias e a fonte de alimentação delas, se dar por meio de feromônios que traçam seus perfis olfatório.

Em estudos realizados com operárias de *Atta sexdens*, foi possível observar que a comunicação de forma indireta realizado pelas operárias durante suas atividades de forrageamento, ocorrem por meio de feromônios, onde através desses feromônios, ocorre a troca de informações desde o ninho, até o local forrageado (CARMO, 2021). Desde então, é perceptível a importância da comunicação desses indivíduos por meio dos feromônios.

Os odores exalados ao meio ambiente é importante para facilitar o reconhecimento ou a discriminação dos insetos, sendo esses, muito importante na construção de trilhas ou pistas característicos de cada colônia (WILSON, 1971).

Em insetos, tais como as formigas, esse odor característico das colônias, ou seja, emitido através das glândulas endócrinas, tem como principal função, a distinção das companheiras de ninho, sendo a composição desse odor com características apropriadas de cada colônia ou espécie, dependendo assim de fatores genéticos, alimentação entre outros (VILELA & DELLA-LUCIA, 1984).

4.3. Teste de alarme

Os resultados obtidos por meio dos testes comportamentais de alarme, foram inseridos em duas tabelas com testes comportamentais intracolônia (Tabela 4), e intercolônia (Tabela 5). Os ninhos foram separados em: Tratamento 1 (T1), composto com glândulas Dufour de operárias de *P. clavata*; Tratamento 2 (T2), com hexano como controle e Qui-quadrado, representado pela letra (P), cuja média para resultados significativos é de $P \leq 0,005$.

Para ambos os testes comportamentais (Intracolônia e Intercolônia), foi possível observar os mesmos atos comportamentais exercidos pelas operárias, sendo eles: Abrir Mandíbula (AM), Toca Companheira (TC), Levantar Antena (Lev. A), Limpar as Patas (LP), Dobrar o Gaster (DG), Limpar Antena (LA), Enrolar o Gaster (EG) e Ficar Parada (FP).

Tabela 4. Repertórios comportamentais intracoloniais observados com operárias de formigas da espécie *Paraponera clavata*, mediante os tratamentos utilizados em testes comportamentais de Alarme, com Tratamento 1: Extrato de glândula Dufour; Tratamento 2: Hexano como controle. **AM:** Abrir Mandíbula. **TC:** Tocar companheira. **Lev. A:** Levantar Antena. **LP:** Limpar as Patas. **DG:** Dobrar o Gaster. **LA:** Levantar Antena. **EG:** Elevar o Gaster. **FP:** Ficar Parada. **Tratamento 1 (T1):** Glândulas Dufour. **Tratamento 2 (T2):** Hexano. **(P):** Qui-quadrado ($P=$ ou $<0,005$).

| NINHOS | N1xN1 | | | N2xN2 | | | N3xN3 | | | N4xN4 | | |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P |
| AM | 25 | 0 | 0,002 | 100 | 100 | 0 | 75 | 25 | 0,002 | 75 | 25 | 0 |
| TC | 100 | 100 | 0 | 75 | 100 | -0,002 | 75 | 50 | 0,001 | 100 | 75 | 0 |
| Lev.A | 100 | 50 | 0 | 50 | 50 | 0 | 50 | 0 | 0,003 | 0 | 0 | 0 |
| LP | 75 | 50 | 0,0013 | 50 | 50 | 0 | 100 | 100 | 0 | 100 | 75 | 0,002 |
| DG | 25 | 25 | 0 | 50 | 25 | 0,001 | 50 | 50 | 0 | 50 | 0 | 0,003 |
| LA | 75 | 100 | -0,002 | 25 | 100 | -0,005 | 100 | 50 | 0,003 | 25 | 0 | 0,002 |
| EG | 25 | 50 | 0 | 50 | 0 | 0,003 | 25 | 0 | 0,002 | 0 | 0 | 0 |
| FP | 25 | 25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| NINHOS | N5xN5 | | | N6xN6 | | | N7xN7 | | | N8xN8 | | |
| | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P |
| AM | 75 | 75 | 0 | 100 | 100 | 0 | 75 | 100 | -0,002 | 75 | 100 | -0,002 |
| TC | 100 | 100 | 0 | 75 | 100 | -0,002 | 75 | 75 | 0 | 100 | 100 | 0 |
| Lev.A | 0 | 0 | 0 | 25 | 25 | 0 | 25 | 25 | 0 | 25 | 50 | 0 |
| LP | 100 | 100 | 0 | 100 | 75 | 0,002 | 100 | 50 | 0,003 | 100 | 100 | 0 |
| DG | 50 | 25 | 0,001 | 75 | 25 | 0,002 | 25 | 0 | 0,002 | 75 | 25 | 0,002 |
| LA | 50 | 50 | 0 | 100 | 25 | 0,002 | 100 | 25 | 0,002 | 100 | 75 | 0,002 |
| EG | 0 | 25 | -0,002 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 50 | 0 |
| FP | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Fonte: AUTORA, 2024.

Para os resultados intracoloniais, foi possível observar que houve atos comportamentais significativos, como os atos comportamentais de LP (Limpar as Patas), DG (Dobrar o gaster), Lev.A (Levantar a antena), e FP (Ficar parada), foram atos comportamentais significativos para todos os ninhos testados contidos na (Tabela 4), com resultados de $P =$ ou $< (0,005)$. Os atos negativos, como é o caso dos atos de Lev. A (Levantar a antena), nos ninhos 01 e 02, AM (Abrir mandíbula), nos ninhos 7 e 8, TC (Tocar companheira), nos ninhos 2 e 6 e EG (Enrolar o gaster), que foi negativo no ninho 5.

Diferente dos testes comportamentais intracoloniais, os testes intercoloniais, apresentaram uma maior variedade em números negativos em relação aos que foram significativos (Tabela 5).

Para o ninho intercolonial (N1xN2), os atos comportamentais de AM (Abrir mandíbula), Lev. A (Levantar antena), LP (Limpar as patas) e LA (limpar antenas), foram atos negativos. Nas colônias (N2xN1), os atos comportamentais de limpar as patas, dobrar o gaster, e enrolar o gaster, foram negativos para essas colônias testadas. Nos ninhos (N3xN4), os atos comportamentais de levantar a antena, limpar as antenas e enrolar o gaster, foram resultados negativos. Nos ninhos (N5xN6), os atos comportamentais de LP

(Limpar as patas), DG (Dobrar o gaster) e Lev. A (levantar as antenas), foram resultados negativos, ou seja, não foram significativos para essas colônias testadas, já para os ninhos (N7xN8), apenas o ato comportamental de DG (Dobrar o gaster), foi um resultado negativo referente aos demais (Tabela 4).

Com esses dados foi possível observar que as formigas são bastante inteligentes, e que a cada preferência sejam por trilhas ou tratamentos específicos, há uma resposta com diferentes formas de se expressar.

Os atos comportamentais que foram negativos, são atos que as formigas obtiveram uma preferência pelo tratamento 2, ou seja o tratamento composto por hexano como controle, com isso, ao comparar os testes intracoloniais (Tabela 4), com os testes comportamentais intercoloniais (Tabela 5), há sim resultados preferenciais das operárias em executar mais atividades comportamentais quando em contato com o Tratamento 2, quando submetidas aos testes comportamentais intercoloniais, que os intracoloniais.

Com isso, dentre os oito atos comportamentais realizados quando as operárias foram submetidas aos bioensaios intracoloniais (Tabela 4), apenas quatro atos comportamentais foram significativos para todos os ninhos testados, que foram eles: Lev.A (Levantar Antenas), LP (Limpar as Patas), DG (Dobrar o Gaster) e FP (Ficar Parada), os demais atos também foram significativos, porém para alguns ninhos testados.

O ato comportamental de levantar antenas exercido pelas operárias, eram realizados sempre que as operárias eram submetidas a arenas e quando em contato com qualquer corpo estranho, ou com outras operárias, as mesmas elevavam suas antenas por alguns segundos. Barros (2013), em estudos realizados com formigas da espécie *Atta sexdens rubropilosa* (FOREL 1908), relata os mesmos atos comportamentais exercidos pelas operárias, quando passavam próximos a região e sentiam algum odor, em seguida elevavam suas antenas por alguns segundos.

O ato comportamental de limpar as patas é realizado pelas operárias com o uso das mandíbulas, bem como, as próprias patas, com isso, as formigas esfregam bastante a pata no seu aparelho bucal removendo totalmente qualquer tipo de sujeira de acordo com seus graus de higienização.

Os mesmos atos comportamentais para limpeza das patas foram realizados por operárias de formigas da espécie *Atta sexdens rubropilosa* (FOROEL, 1908), quando as mesmas utilizaram as peças bucais várias vezes para limpeza dos primeiros e segundo par de patas (BARROS, 2013). Corroborando também com estudos realizados com

formigas da espécie *Dinoponera quadriceps* (KEMPF, 1971), onde as operárias realizaram os mesmos atos comportamentais para limpeza corporal (ANDRADE, 2010).

Dobrar o gaster é um ato comportamental realizado pelas operárias para fazer a limpeza total da região do gaster, as operárias ficavam em forma de “C”, ou enrolavam totalmente o abdômen para fazer uma limpeza mais rigorosa, colocando assim, o gaster nas mandíbulas e fazendo a conclusão dessa limpeza com os primeiros pares de patas, já que os 2 últimos pares de patas, servem para apoiar-se e facilitar essa limpeza. Os mesmos atos, foram presenciados em estudos realizados com as formigas da espécie *Dinoponera quadriceps* realizado por (ANDRADE, 2010).

Tabela 5. Repertórios comportamentais intercolonial observados com operárias de formigas da espécie *Paraponera clavata* mediante os tratamentos utilizados em testes comportamentais de Alarme, com Tratamento 1: Extrato de glândula Dufour; Tratamento 2: Hexano como controle. **AM:** Abrir Mandíbula. **TC:** Tocar companheira. **Lev. A:** Levantar Antena. **LP:** Limpar as Patas. **DG:** Dobrar o Gaster. **LA:** Levantar Antena. **EG:** Elevar o Gaster. **FP:** Ficar Parada. **Tratamento 1 (T1):** Glândulas Dufour. **Tratamento 2 (T2):** Hexano. **(P):** Qui-quadrado (P= ou <0,005).

| NINHOS | N1xN2 | | | N2xN1 | | | N3xN4 | | | N4xN3 | | |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P |
| AM | 0 | 50 | -0,003 | 50 | 25 | 0,001 | 75 | 75 | 0 | 50 | 25 | 0,001 |
| TC | 50 | 100 | 0,003 | 100 | 100 | 0 | 75 | 100 | 0,002 | 100 | 100 | 0 |
| Lev.A | 50 | 75 | -0,001 | 75 | 25 | 0,002 | 25 | 50 | 0,001 | 0 | 25 | -0,002 |
| LP | 75 | 100 | -0,002 | 25 | 75 | -0,002 | 75 | 75 | 0 | 100 | 100 | 0 |
| DG | 50 | 50 | 0 | 25 | 50 | -0,001 | 50 | 25 | 0,001 | 25 | 50 | 0 |
| LA | 50 | 75 | -0,001 | 50 | 100 | 0,003 | 25 | 50 | -0,001 | 75 | 50 | 0,001 |
| EG | 50 | 50 | 0 | 50 | 75 | -0,001 | 25 | 50 | -0,001 | 0 | 50 | -0,003 |
| FP | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| NINHOS | N5xN6 | | | N6xN5 | | | N7xN8 | | | N8xN7 | | |
| | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P | T1 (%) | T2 (%) | P |
| AM | 75 | 75 | 0 | 75 | 75 | 0 | 100 | 100 | 0 | 75 | 75 | 0 |
| TC | 100 | 100 | 0 | 100 | 100 | 0 | 50 | 50 | 0 | 100 | 100 | 0 |
| Lev.A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25 | 50 | 0 | 50 | 50 | 0 |
| LP | 25 | 75 | -0,002 | 75 | 100 | -0,002 | 100 | 75 | 0,002 | 100 | 100 | 0 |
| DG | 0 | 25 | -0,002 | 100 | 75 | 0,002 | 0 | 100 | -0,005 | 0 | 50 | -0,003 |
| LA | 25 | 50 | -0,001 | 100 | 75 | 0,002 | 100 | 100 | 0 | 100 | 100 | 0 |
| EG | 25 | 0 | 0,002 | 25 | 0 | 0,002 | 25 | 0 | 0,002 | 25 | 25 | 0 |
| FP | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Fonte: AUTORA, 2024.

Para os resultados intercoloniais, foi possível observar que para os todos os atos comportamentais apenas os atos de TC (Tocar companheira), e FP (Ficar Parada), foram atos comportamentais significativos para todos os ninhos testados, ou seja, dentre oito atos comportamentais, apenas dois foram significativos para todos os ninhos testados, os demais apesar de serem significativos em alguns ninhos, foram negativos em outros ninhos testados.

Tocar a companheira (TC), é um ato comportamental no qual as operárias utilizam as antenas para trocar informações e fazer o reconhecimento por meio dos feromônios exalados por cada indivíduo. Com isso, Carmo (2021) afirma que as informações que as operárias de formigas da espécie *Atta sexdens* ao iniciar o processo de forragear os primeiros indivíduos levavam as informações para os demais que estavam na colônia fazendo o recrutamento dos mesmos.

Os comportamentos exercidos pelas operárias como podem variar de acordo com suas necessidades e com o ambiente, o ato comportamental de FP (Ficar Parada), é um ato no qual as operárias quando submetidas na arena fica sem nenhuma reação por alguns segundos ou até todo o período de observação, e assim com qualquer outro ser as formigas podem sim, conter reações agressivas em contato com perigo, entretanto ficarem paradas sem nenhuma reação.

Os comportamentos de alarme e defesa exercido por formigas de acordo com Diehl-Fleig (1995), consiste em inúmeras reações, não somente a movimentações simples, mas reações que são desde aquelas mais simples a outras bastante complexas como é o caso de reações emitindo qualquer sinal de alerta, corridas rápidas entre outras.

CONCLUSÃO

Com o estudo realizado da glândula de Dufour de *P. clavata*, por meio de métodos histológicos, possibilitou concluir que essas glândulas são caracterizadas por células glandulares pertencentes a Classe I (G1) sendo assim, os dados aqui apresentados sobre a morfologia dessa glândula revelam que elas possuem, corroborando com diferentes trabalhos, características em comum com outras espécies.

Diante dos resultados dos testes comportamentais de alarme e defesa, sugere-se que a glândula de Dufour de *P. clavata* insita o comportamento de alarme e defesa notado no ato “Dobrou gáster”, frequentemente observado.

Ao avaliar a distância média percorrida pelas operárias de *P. clavata* no teste de trilha, foi possível observar que no teste intracolônial houve maior preferência e maior distância percorrida na trilha com o tratamento controle (T2- Hexano), já nos testes intercoloniais houve maior preferência e maior distância percorrida na trilha com o tratamento 1 (T1- Glândula). Esse resultado indica que a substância da glândula de Dufour atrai mais espécimes de *P. clavata* de outras colônias quando comparada a trilha com odor da glândula de Dufour provenientes das próprias colônias.

Esse trabalho demonstrou que a glândula Dufour é fundamental para a comunicação e defesa, vale ressaltar a importância de realizar novas pesquisas, para elucidar e conhecer as diferenças funcionais da glândula de Dufour, em espécie distintas, podendo assim se certificar da real função desta glândula para a comunicação das formigas.

Por fim, o conhecimento da morfologia interna da glândula de Dufour de formigas pode vir a contribuir para a elucidação de mecanismos que envolvem o sistema exócrino e suas relações com os aspectos comportamentais e filogenéticos nas diferentes espécies de Formicidae.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, F. C.; CRUZ-LANDIM, C. da. Glândula de Dufour nos himenópteros (Apidae, Formicidae, Vespidae): uma revisão. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 61, p. 95-106, 2001.

ABDALLA, F. C.; CRUZ-LANDIM, Carminda da. Ocorrência, morfologia e ultra-estrutura da glândula de Dufour de *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera: Apidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 47-57, 2005.

ADAMS, R. M. M *et al.* A comparative study of exocrine gland chemistry in *Trachymyrmex* and *Sericomyrmex* fungus-growing ants. **Biochemical systematics and Ecology**, v. 40, p. 91-97, 2012.

ANDRADE, T. T. *et al.* Morphology of the mandibular gland of the ant *Paraponera clavata* (Hymenoptera: Paraponerinae). *Microscopy Research and Technique*, v. 82, n. 6, p. 941-948, 2019.

ANDRADE, A. C. da S. *et al.* Aspectos da ecologia comportamental de *Dinoponera quadriceps* (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). 2010.

ANTWEB. Version 8. 83.3. California Academy of Science, online at [https:// www.Antweb.Org](https://www.Antweb.Org). Accessed 01 December 2023.

BAADER, A. P. The significance of visual landmarks for navigation of the giant tropical ant, *Paraponera clavata* (Formicidae, Ponerinae). **Insectes Sociaux**, v. 43, n. 4, p. 435-450, 1996.

BILLEN, J; SOBOTNIK, J. Insect exocrine glands. **Arthropod Structure & Development**, v. 44, n. 5, p. 399-400, 2015.

BACCARO, F. B. *et al.* Guia para os gêneros de formigas do Brasil. **Manaus: Editora INPA**, v. 388, 2015.

BARROS, T. G. S. Respostas comportamentais de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* forel, 1908 (hymenoptera, formicidae) a substâncias voláteis. 2013

BILLEN, J. Signal variety and communication in social insects. In: **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology-Netherlands Entomological Society**. 2006. p. 9.

BILLEN, J. A Importância das glândulas exócrinas na sociedade de insetos. In: VILELA, E. *et al.* (eds.), **Insetos sociais: da biologia à aplicação**. Viçosa: Ed. UFV, pp. 87-92. 2008.

BILLEN, J; SOBOTNÍK, J. Insectexocrineglands. *ArthropodStructure & Development*, 44:399-400.doi:10.1016/j.asd.2015.08.010.2015.

BILLEN, J. Diversidad y morfología de las glândulas exocrinas en las hormigas. **Hormigas de Colombia**; Fernández, F., Guerrero, RJ, Delsinne, T., Eds, p. 165-174, 2019.

BILLEN, J *et al.* Morphology and ultrastructure of the Dufour gland of *Myzinum* sp.(Tiphidae). **Journal of Hymenoptera Research**, v. 55, p. 109-119, 2017.

BILLEN, J *et al.* Survey of the exocrine glands in workers of the ant *Leptanilla clypeata*. **Insectes Sociaux**, v. 69, n. 2-3, p. 215-228, 2022.

BREED, M. D, *et al.* Graded recruitment in a Ponerinae ant. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 20:407-411.1987.

BULGARELLA, M. *et al.* Integrating biochemical and behavioral approaches to develop a bait to manage the invasive yellow paper wasp *Polistes versicolor* (Hymenoptera, Vespidae) in the Galápagos Islands. **Neotropical Biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 271-280, 2022.

CAETANO, F.H.; JAFFÉ, K. & ZARA, F.J. **Formigas: biologia e anatomia**. Rio Claro: FHC, 42p. 2002.

CARMO, D. V. do. **Envolvimento do comportamento de antenação na dinâmica de fluxo e de tarefas realizadas durante a atividade de forrageamento da formiga *Atta sexdens***. 2021. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DELLA LUCIA, T. M. C.; VILELA, E. F.; MOREIRA, D. D. O. **Feromônios de formigas pragas. Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas. Ribeirão Preto: Holos**, p. 73-82, 2001.

DELABIE, J. H. C *et al.* (Ed.). **As formigas poneromorfas do Brasil**. SciELO-Editus-Editora da UESC, 2015.

DE SOUZA, B *et al.* **ANÁLISES HISTOQUÍMICAS DA GLÂNDULA MANDIBULAR DE *Paraponera clavata* (FABRICIUS, 1775)(HYMENOPTERA: FORMICIDAE: PARAPONERINAE)**, 2018.

DIEHL-FLEIG, Elena. **Formigas: organização social e ecologia comportamental**. Editora Unisinos, 1995.

DRURY, D. Illustrationsof natural history, wherein are exhibitedupwardsoftwohundredandtwenty figures ofexoticinsects, accordingtotheir differentgenera; veryfewofwhichhavehithertobeenfiguredbyanyauthor, beingengravedandcolouredfromnature, with the greatestaccuracy, andunder the author'sowninspection, onfiftycooper-lates, with a particular descriptionofeachinsect, interspersedwithremarksandreflectionson the natureandpropertiesofmanyofthem. Vol. 2. London: B. White. vii, v. 50, 1773.

FABRICIUS, J. C. *Systema entomologiae, sistens insectorum classes, ordines, genera, species, adjectis synonymis, locis, descriptionibus, observationibus*. 1775.

FEITOSA, R. M *et al.* Social insects of the Atlantic Forest. **The Atlantic Forest: History, Biodiversity, Threats and Opportunities of the Mega-diverse Forest**, p. 151-183, 2021.

FORISTER, M. L.; PELTON, E. M; BLACK, S. H (2019) Declines in insect abundance

and diversity: We know enough to act now. **Conservation Science and Practice**, 1(8): 80. doi: <https://doi.org/10.1111/csp2.80>.

GUARDA, C.; LUTINSKI, J. A. Glandular secretions of ants (Hymenoptera: Formicidae): A review on extraction, chemical characterization and antibiotic potential. **Sociobiology**, v.67, n. 1, p. 13-25, 2020.

GUERMANDI, I. I. Associação entre atividade física e enriquecimento ambiental na aprendizagem e memória de zebrafish (*Danio rerio*). 2021.

HÖLLDOBLER, B. & WILSON, E.O. The ants. Cambridge: Belknap Press of Harvard University Press, 732p. 1990.

ITO, F, *et al.* (2001). Ant species diversity in the Bogor Botanic Garden, West Java, Indonesia, with descriptions of two new species of the genus *Leptanilla* (Hymenoptera, Formicidae). *Tropics* 10: 379–404. doi: 10.3759/tropics.10.379.

JANDT, J. *et al.* To drink or grasp? How bullet ants (*Paraponera clavata*) differentiate between sugars and proteins in liquids. **Naturwissenschaften**, v. 100, p. 1109-1114, 2013.

JANZEN, D. H. & CARROLL, C. R. *Paraponera clavata*. In: JANZEN, D. H. (ed.). **Costa Rican natural history**. Chicago: University of Chicago Press, pp.752-753. 1983.

LATTKE, John E. Nuevas especies de Gnamptogenys Roger, 1863 de América (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). **Entomotropica**, v. 17, n. 2, p. 135-144, 2002.

MARINHO, C. G. S; *et al.* Fatores que dificultam o controle das formigas cortadeiras. **Bahia Agrícola**, v. 7, n. 2, p. 18-21, 2006.

MARTIN, S. J.; DILS, V.; BILLEN, J. Morphology of the Dufour gland within the honeybee sting gland complex. **Apidologie**, v. 36, n. 4, p. 543-546, 2005.

MARTINS, L. C. B. Glândulas intramandibulares de Formicidae (Ponerinae, Myrmicinae): desenvolvimento e seus componentes químicos. 2012.

MARTINS, L. C. B *et al.* Anatomy and histology of the metapleural gland in the giant tropical ant *Paraponera clavata* (Fabricius, 1775) (Formicidae: Paraponerinae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 94, 2022.

MEKONNEN, B *et al.* Re-analysis of abdominal gland volatilome secretions of the African Weaver ant, *Oecophylla longinoda* (Hymenoptera: Formicidae). *Molecules*, v. 26, n. 4, p. 871, 2021.

MITRA, A. Function of the Dufour's gland in solitary and social Hymenoptera. *Journal of Hymenoptera Research*, v. 35, p. 33-58, 2013.

McGEE, K.M. & EATON, W. The effects of the conversion of a primary to a secondary tropical lowland forest on bullet ant (*Paraponera clavata*) foraging behavior in Costa Rica: a possible indicator of ecosystem condition. *Journal of insect behavior*, 27(2): 206-216. 2013.

NOIROT, C; QUENNEDEY, A. Fine structure of insect epidermal glands. *Annual review of entomology*, v. 19, n. 1, p. 61-80, 1974.

PASTEELS, J. M.; DALOZE, D.; BOEVE, Jean-Luc. Aldehydic contact poisons and alarm pheromone of the ant *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera: Myrmicinae) enzyme-mediated production from acetate precursors. *Journal of chemical ecology*, v. 15, p. 1501-1511, 1989.

RODRIGUEZ, A *et al.* Characterization of an ant colony (*Paraponera*) during nest and relocation phases: an experimentally induced protocol. *bioRxiv*, 2022.

SERRÃO, J. E *et al.* Morfologia interna de poneromorfos. In: Delabie, *et al.*, (orgs). As formigas poneromorfos do Brasil (online). Ilheus, BA: Editus, 2015, pp. 247-269. ISBN 978-85-7455-441-9. Available from ScieELO Books.

SILVA, R *et al.* (2020) ATLANTIC ANTS: a data set of ants in Atlantic Forests of South America. 103 (2). doi: <https://doi.org/10.1002/ecy.3580>.

SILVA, I. F. *et al.* Comportamento territorial de formiga-carpinteira (*Camponotus sericeiventris*) e sua interação antagonista com formigas saúvas (*Atta laevigata*). 2021.

SILVA, M. B. Caracterização das trilhas de forrageamento em formigas cortadeiras de gramíneas (Formicidae, Attini): transferência de informações durante o recrutamento em *Atta bisphaerica*. 2011.

SCHMIDT, G. de O *et al.* Ecologia da nidificação de formigas (Hymenoptera, Formicidae) em indivíduos pós-reprodutivos secos de *Actinocephalus polyanthus* (Eriocaulaceae) em ambientes de restinga, Florianópolis, Sul do Brasil. 2012.

ULMER, J. M. *et al.* ‘Social glands’ in parasitoids?—convergent evolution of metapleural glands in Hymenoptera. *Insect Systematics and Diversity*, v. 7, n. 2, p. 2, 2023.

URBANI, C. B. Phylogeny and behavioural evolution in ants, with a discussion of the role of behaviour in evolutionary processes. ***Ethology Ecology & Evolution***, v. 1, n. 2, p. 137-168, 1989.

WANG, Q *et al.* Location-specific cuticular hydrocarbon signals in a social insect. ***Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences***, v. 283, n. 1827, p. 20160310, 2016.

WILSON, E.O. ***The insect societies***. Cambridge: Harvard University Press, 548p. 1971.

XU, W. *et al.* The Chemical Components of Dufour’s and Venom Gland of *Camponotus japonicus* (Hymenoptera, Formicidae). 2022.

ZHOU, Y *et al.* Morphology and ultrastructure of Dufour’s and venom glands in the ant *Camponotus japonicus* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). ***Micron***, v. 104, p. 72-79, 2018.