



# Efeito da dieta sobre o reconhecimento de companheiras de ninho e composição química cuticular da formiga poneromorfa *Odontomachus bauri*

Effect of diet on nestmate recognition and cuticular chemical composition of the poneromorph ant *Odontomachus bauri*

L. C. Santos-Junior<sup>1,2\*</sup>; K. B. Michelutti<sup>3</sup>; E. P. Silva<sup>4</sup>; C. A. L. Cardoso<sup>3</sup>;  
W. F. Antonialli-Junior<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-970, Dourados-MS, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) – Campus Pinheiro, 65200-000, Pinheiro-MA, Brasil

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), 79804-970, Dourados-MS, Brasil

<sup>4</sup>Museu da Biodiversidade (MuBio), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-970, Dourados-MS, Brasil

\*lc.santosjunior@yahoo.com.br

(Recebido em 01 março de 2024; aceito em 16 de outubro de 2024)

O tipo de recurso alimentar disponível no ambiente pode influenciar no comportamento das colônias de formigas, além disso, os hidrocarbonetos cuticulares (HC's) são compostos importantes para o reconhecimento de companheiras de ninho e sua composição pode ser influenciada por diversos fatores entre eles e a dieta. Nossa hipótese é de que operárias de uma mesma colônia de *Odontomachus bauri*, quando submetidas à variação de dieta, podem sofrer mudança na composição de HC's de sua cutícula, que por sua vez, levaria a uma mudança em seu padrão de reconhecimento de companheiras de ninho. Para isto, dez colônias foram subdivididas em grupos controle e experimentais, os grupos controle receberam dieta padrão (mel e *Cornitermes cumulans*), e os experimentais variou-se entre mel e melaço de cana, *Tenebrio molitor* e *C. cumulans*. Após isso foram realizados encontros induzidos entre os grupos das diferentes dietas para avaliar a tolerância entre as companheiras de ninho. A composição química cuticular foi analisada usando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, e análises estatísticas foram aplicadas para determinar diferenças significativas nos comportamentos e na composição química. Não foram observadas agressividade, mas os reconhecimentos indicaram diferenças significativas nos tempos de antenação entre os grupos, além disso, a análise do perfil de HC's confirmou variações significativas nos tratamentos. Conclui-se que a variação na dieta influencia o perfil de HC's de *O. bauri*, causando estranhamento entre companheiras de ninho. Desta forma, nossos resultados evidenciam a capacidade da dieta em modular o perfil químico e comportamental da formiga *O. bauri*.

Palavras-chave: hidrocarbonetos cuticulares, recursos alimentares, interação intraespecífica.

The type of food resource available in the environment can influence the behavior of ant colonies. Furthermore, cuticular hydrocarbons (HCs) are important compounds for the recognition of nestmates and their composition can be influenced by several factors, including diet. Our hypothesis is that workers from the same colony of *Odontomachus bauri*, when subjected to diet variation, may undergo changes in the HC composition of their cuticle, which in turn would lead to a change in their pattern of nestmate recognition. For this purpose, ten colonies were subdivided into control and experimental groups. The control groups received a standard diet (honey and *Cornitermes cumulans*), and the experimental groups varied between honey and sugarcane molasses, *Tenebrio molitor* and *C. cumulans*. After this, induced encounters were performed between the groups of the different diets to evaluate tolerance between nestmates. The chemical composition of the cuticle was analyzed using gas chromatography coupled with mass spectrometry, and statistical analyses were applied to determine significant differences in behavior and chemical composition. No aggressiveness was observed, but recognition indicated significant differences in antennation times between groups. Furthermore, analysis of the HC profile confirmed significant variations in treatments. It is concluded that dietary variation influences the HC profile of *O. bauri*, causing estrangement among nestmates. Thus, our results demonstrate the ability of diet to modulate the chemical and behavioral profile of the ant *O. bauri*.

Keywords: cuticular hydrocarbons, food resources, intraspecific interaction.

## 1. INTRODUÇÃO

Entre os insetos sociais, uma das formas de comunicação mais significativas se dá por meio dos compostos químicos presentes em sua cutícula [1]. Esses compostos, quando atuam como mediadores de comunicação intraespecífica, são categorizados como feromônios [2]. No contexto específico dos insetos, os feromônios não voláteis, de cadeias longas e localizados na epicutícula, são designados como feromônios superficiais ou de contato [1, 3].

Estes feromônios, que em sua maioria são constituídos de hidrocarbonetos, são denominados de hidrocarbonetos cuticulares (HC's) [4], possuem a função primária de impermeabilização da cutícula e também atuam como uma barreira contra microrganismos. Além disso, atuam como sinais trocados durante as interações intraespecíficas [1].

A capacidade de reconhecer companheiras de ninho, ou a habilidade de discriminar entre companheiras e não companheiras de ninho, é fundamentada em um rótulo individual, representado pelos HC's que cada formiga possui. Esse rótulo é associado a um modelo de representação neural do odor colonial. Durante as interações, as formigas comparam esses rótulos para determinar a origem colonial do indivíduo [4].

O perfil de HC's nos insetos é influenciado por uma combinação de fatores genéticos [1] e ambientais, como temperatura, umidade [5-7], e principalmente, dieta [8-12]. Dessa forma, fatores ambientais têm o potencial de moldar a composição cuticular, interferindo diretamente na capacidade de reconhecimento, especialmente entre companheiras de ninho [6]. Em função disso, alterações no fornecimento de recursos alimentares podem induzir modificações no perfil de HC's [9, 12, 13], afetando, conseqüentemente, as propriedades de sinalização durante interações intraespecíficas [14]. A mudança na composição química cuticular, resultante da variação na dieta, pode, por outro lado, induzir uma modificação no padrão de reconhecimento entre companheiras de ninho, conforme descrito por Liang e Silverman (2000) [9], Buczkowski e Silverman (2006) [10] e Sorvari et al. (2008) [15].

Neste contexto, Liang e Silverman (2000) [10] promoveram alterações na fonte proteica da formiga *Linepithema humile* (Mayr, 1868), enquanto Sorvari et al. (2008) [15] modificaram a quantidade de proteína disponível para *Formica aquilonia* (Yarrow, 1955). Ambos observaram mudanças nos HC's da colônia, associadas a um aumento no nível de agressividade entre companheiras de ninho. Além da fonte proteica, a qualidade energética da dieta, exemplificada pela quantidade de açúcar disponível, também pode influenciar o padrão de reconhecimento entre companheiras de ninho [11, 15-18]. Por exemplo, Liang e Silverman (2000) [9] notaram uma maior agressividade entre as formigas *Linepithema humile* alimentadas com duas espécies de barata, *Supella longipalpa* (Fabricius, 1798) em comparação àquelas alimentadas com *Blattella germanica* (Linnaeus, 1767) (87% e 30%, respectivamente).

Dado que formigas de diferentes subfamílias podem apresentar variações no grau de complexidade na organização de suas colônias [19] e na utilização de compostos cuticulares como sinais trocados durante as interações entre companheiras de ninho, torna-se crucial a realização de estudos que investiguem a relação entre variações em fatores ambientais e a composição química cuticular, os quais podem influenciar os níveis de reconhecimento intraespecífico. No entanto, tais estudos são escassos na literatura [9, 10]. Em sua revisão sobre HC's de insetos, Otte et al. (2018) [20] concluíram que ainda há muitas questões a serem respondidas sobre como os fatores ambientais, especialmente os nutricionais, afetam a biossíntese e a dinâmica dos HC's.

Assim, é plausível que variações na dieta possam resultar em estranhamento entre companheiras de ninho, levando a uma homogeneização, ou em não estranhamento e/ou tolerância entre não companheiras de ninho [9, 10, 15]. Contudo, até o momento, em formigas Ponerinae, não foram conduzidos estudos avaliando os efeitos da dieta sobre a composição química cuticular e os níveis de estranhamento. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi testar a hipótese de que a variação da dieta pode levar a alteração nos compostos químicos cuticulares e por consequência, afetar o nível de reconhecimento entre companheiras de ninho da formiga Ponerine *Odontomachus bauri* (Emery 1892).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Dez colônias de *O. bauri* foram coletadas no perímetro urbano da cidade de Dourados, Mato Grosso do Sul - Brasil (22°13'16'' S; 54°48'20'' W). A coleta foi realizada em troncos ocos de *Caesalpinia pluviosa* DC. (Fabaceae) com o auxílio de pinças e potes plásticos. Posteriormente, as colônias foram transferidas para o laboratório e acomodadas em ninhos artificiais confeccionados com bandejas de plástico e moldes de gesso que simulavam as câmaras do ninho, conectadas a uma arena de forrageamento. A espécie foi confirmada por meio de comparação com espécimes padrão da Coleção de Referência Formicidae do Museu de Mirmecologia CEPEC/CEPLAC - Ilhéus, Bahia. Os exemplares deste estudo foram depositados nesta coleção sob o número 5822.

As colônias, após a coleta, permaneceram por um período de sete dias de habituação nos ninhos artificiais, mantidas com água *ad libitum* em um algodão umedecido dentro de um eppendorf. Considerando a preferência de *O. bauri* por térmitas [21], a dieta padrão foi estabelecida, utilizando mel como fonte de carboidrato e soldados vivos de *Cornitermes cumulans* (Kollar 1832) como fonte proteica

Após o período de habituação, foram formados quatro grupos, cada um composto por 50 operárias de cada colônia (adaptado de Sorvari et al. 2008 [15]). O primeiro grupo, considerado controle, as formigas foram mantidas sob uma dieta com fonte proteica de *C. cumulans* e fonte de carboidrato de mel de abelha. Um segundo grupo foi mantido sob a mesma dieta para testar o efeito do isolamento, considerando que o contato social é essencial para homogeneizar a assinatura química colonial [22]. O terceiro grupo recebeu dieta de *C. cumulans*, modificando a fonte de carboidrato para melaço de cana de açúcar. O quarto grupo foi alimentado com larvas de último instar de *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) e mel como fontes de proteína e carboidrato, respectivamente. Os testes de encontros induzidos foram realizados entre formigas de cada grupo (Figura 1).

Cada grupo foi mantido sob sua dieta específica por 30 dias, como descrito por Bernardi et al. (2014) [14]. Todo o experimento foi mantido em biochemical oxygen demand (BOD) chamber (Fanem, Model 347 CD, São Paulo - SP - Brazil), a temperatura foi mantida constante sempre em 25°C ± 2, pois sabe-se que a variação da temperatura pode influenciar no reconhecimento de formigas do gênero *Odontomachus*, como o estudo realizado por Santos-Junior et al. (2022) [7], e a umidade relativa em 60% ± 5.

Para avaliar as diferenças de níveis de açúcar na fonte de carboidrato, que segundo Grover et al. (2007) [17], pode influenciar o nível de tolerância durante encontros de co-específicos, foi determinado a quantidade de sólidos solúveis totais (sacarose) no mel e no melaço, obtendo-se então uma correlação entre o índice de refração e a porcentagem de sacarose (Graus de Brix) [23]. Para isto, foi utilizado um refratômetro do tipo Abbè, termostatizado a 20° C. As amostras não sofreram nenhum pré-tratamento.

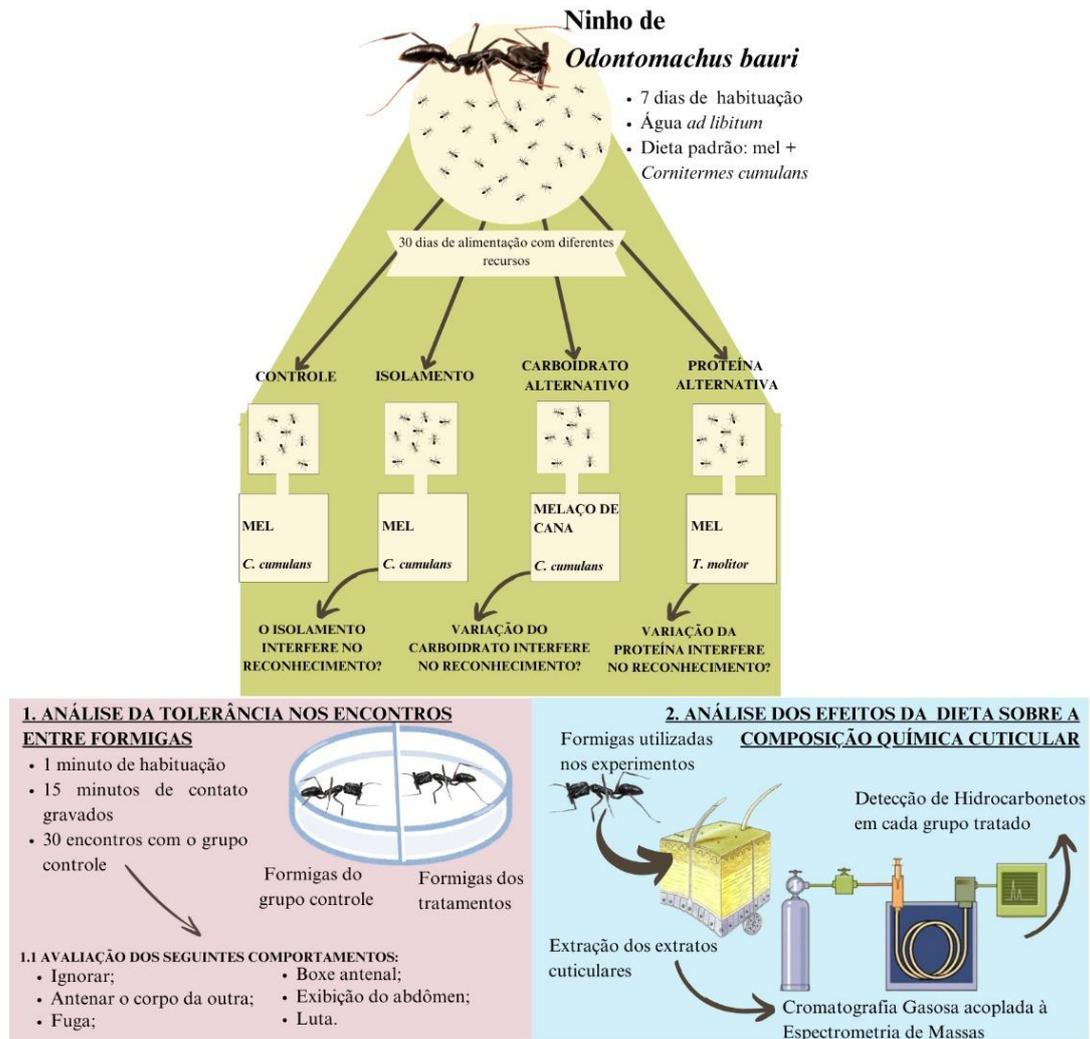


Figura 1. Esquema demonstrando a divisão de cada ninho de *Odontomachus bauri* em grupos controle, isolamento, dietas alternativas de carboidrato e proteína, seguido dos encontros comportamentais (1) e análises da composição cuticular (2).

## 2.1 Análise do nível de tolerância durante os encontros entre formigas submetidas aos diferentes tratamentos

Para verificar se a variação da dieta e/ou o próprio isolamento afetam o nível de reconhecimento entre companheiras de ninho, foi avaliado o nível de tolerância entre as operárias dos diferentes tipos de tratamento com as operárias do grupo controle. Os encontros foram conduzidos em placa de petri (9,5 cm x 2cm), onde uma operária era mantida presa dentro de um recipiente de vidro invertido no centro da placa, e, em seguida, uma segunda operária era colocada do lado de fora. Após 1 minuto de habituação era retirado o recipiente de vidro do centro da placa de petri, permitindo o encontro entre as duas operárias, que era avaliado continuamente por 15 minutos.

Foram realizados no total, 30 encontros entre as operárias de cada tipo de tratamento com operárias do grupo controle. Após cada encontro, as formigas eram separadas para garantir que todos os encontros ocorressem entre pares diferentes. Antes de cada encontro induzido, a arena era limpa com uma toalha embebida em álcool 70%.

As observações foram realizadas as cegas durante os 15 minutos de interações, sendo avaliados os seguintes comportamentos que podem nos fornecer *insights* sobre o grau de tolerância entre as formigas: ignorar [24], antenar o corpo da outra operária, fuga [25], tentativa de apreensão, apreensão [26], boxe antenal, elevação do corpo, exibição do abdômen [27] e luta [26]. O tempo

de cada um destes comportamentos foi contabilizado a partir do primeiro contato entre as formigas.

Sabe-se que o tempo de antenação entre as operárias é um comportamento utilizado tanto em contexto de dominância quanto de agressividade entre companheiras e não companheiras de ninho, sobretudo em espécies do gênero *Odontomachus*, e que, portanto pode fornecer pistas sobre o nível de estranhamento entre as formigas [28-33].

Considerando que estudos sugerem que o tempo de antenação pode fornecer indícios sobre o nível de reconhecimento entre formigas [28-33], avaliamos a antenação quando duas formigas mantinham esse comportamento por um período relativamente longo, seguido por afastamento sem agressividade. Interpretamos isso como um indicativo de que as formigas demoraram mais para se reconhecerem como companheiras de ninho. Por outro lado, quando o tempo de antenação era curto e logo seguido de comportamentos agressivos, inferimos que houve um reconhecimento rápido seguido de agressividade.

Os comportamentos exibidos receberam uma escala de pontuação modificada de Suarez et al. (1999) [25], de 0 a 2, sendo: 0 para toque, fuga e ignorar; 1 para tentativa de apreensão, apreensão, boxe antenal, elevação do corpo e elevação do abdômen; e 2 para luta. Para cada encontro foi compilada uma média aritmética da pontuação relativa aos níveis de agressão apresentados.

## 2.2 Análise dos efeitos da variação da dieta sobre a composição química cuticular

Para avaliar se os diferentes tipos de tratamentos levam a alteração da composição cuticular das formigas, todas as formigas que participaram dos encontros, de todos os tratamentos e do controle, foram sacrificadas por congelamento e, em seguida, os extratos de suas cutículas foram avaliados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Foram extraídos compostos químicos cuticulares das 30 operárias de cada um dos conjuntos que foram utilizados nos encontros comportamentais. Cada operária foi imersa em um recipiente de vidro com 2 mL de hexano (Tedia, grau HPLC) por 3 minutos. Em seguida os extratos foram secos em capela de exaustão e armazenados em freezer ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) por no máximo 30 dias. Para as análises cromatográficas, cada extrato foi solubilizado em 400  $\mu\text{L}$  de hexano. As amostras foram analisadas usando um cromatógrafo a gás (GC-2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) com detector de massas (GC-MS Ultra 2010, Shimadzu, Kyoto, Japão), usando uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (J e W, Folsom, CA, EUA) revestida com 5% fenil-dimetilpolisiloxano (30 m de comprimento  $\times$  0.25 mm diâmetro  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$  espessura de filme). As condições de análise foram as seguintes: volume de injeção 1  $\mu\text{L}$  em modo splitless; rampa de aquecimento com temperatura inicial de  $150^{\circ}\text{C}$ , alcançando  $290^{\circ}\text{C}$  a uma taxa de  $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e permanecendo na temperatura final por 10 min; e temperatura do injetor de  $220^{\circ}\text{C}$ . As temperaturas do detector e linha de transferência foram  $300$  e  $290^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. Os parâmetros de varredura do EM incluíram voltagem de ionização de impacto de elétron de 70 e V, na faixa de massa de 45 a 600 m/z e com intervalo de varredura de 0,3 s.

As identificações dos compostos foram realizadas empregando o índice de retenção calculado, usando uma mistura de alcanos lineares (C7-C40, Sigma Aldrich com pureza  $\geq 95\%$ ) como referência externa em relação ao índice de retenção da literatura [31, 34-38] e associado à interpretação dos espectros de massas obtidos com as análises das amostras e comparados com as bases de dados NIST21.

Os compostos majoritários foram considerados aqueles que representam a média da área relativa maior ou igual a 10%. Como representativo para a espécie, consideramos apenas a amostra controle tanto para majoritários como para selecionar as outras variáveis da espécie, já que estes não sofreram manipulação experimental. Para comparações químicas entre os controles e os tratamentos, utilizamos o controle de cada colônia.

### 2.3 Análises estatísticas

Para avaliar se existem diferenças significativas entre as médias dos tempos de antenação avaliados durante os encontros, foi aplicado um teste de Kruskal-Wallis.

Para avaliar se os diferentes tratamentos causaram diferenças significativas na composição química cuticular das formigas em relação ao controle, foi aplicada uma análise discriminante utilizando a área percentual relativa de todos os compostos detectados na cutícula das formigas dos diferentes grupos. Nestas análises o valor de “p” é considerado significativo quando apresenta valor igual ou inferior a 0,05. Em seguida, foi aplicada a análise de distância de Mahalanobis para avaliar a distância entre os diferentes tratamentos em relação ao controle, par a par.

### 3. RESULTADOS

Foram registradas um total de 30 horas de interações entre as operárias dos diferentes tratamentos e as formigas do grupo controle. Em todos os encontros induzidos, nenhum comportamento considerado agressivo foi observado. Após o ato de "antear o corpo da outra operária", as formigas executaram o comportamento subsequente de "ignorar", interpretado neste contexto como o afastamento após o reconhecimento mútuo como companheiras de ninho. Em todos esses encontros, o nível de agressividade foi avaliado como "0". A análise pelo teste de Kruskal-Wallis revelou diferenças significativas nos tempos médios de antenação do corpo durante os encontros entre formigas dos diferentes tratamentos em comparação com o tempo médio de antenação durante os encontros entre as formigas do grupo controle. No entanto, não foram encontradas diferenças significativas nos tempos médios de antenação durante os encontros entre formigas do grupo controle e aquelas do grupo considerado de isolamento, em relação ao tempo de interação entre as formigas do grupo controle (Figura 2).

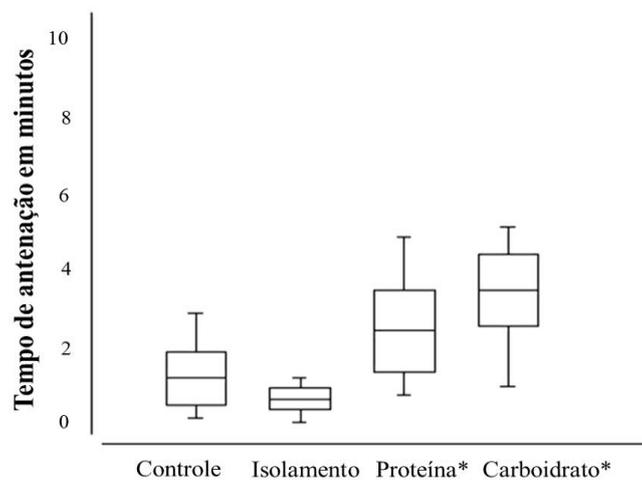


Figura 2. Média e desvio padrão do tempo de antenação durante os encontros entre companheiras de ninho de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos e no grupo controle e entre duas formigas do grupo controle. \*Valores significativos ( $P < 0,05$ ; Kruskal-Wallis = 79,97).

A quantidade de sólidos solúveis totais (sacarose) nas amostras de mel e no melaço foi de 80% e 79%, respectivamente. Na cutícula das operárias do grupo controle, foram detectados e identificados 17 picos (Tabela 1), sendo 8 pertencentes à classe dos alcanos lineares, 7 aos alcanos ramificados e 2 aos alcenos (Figura 3).

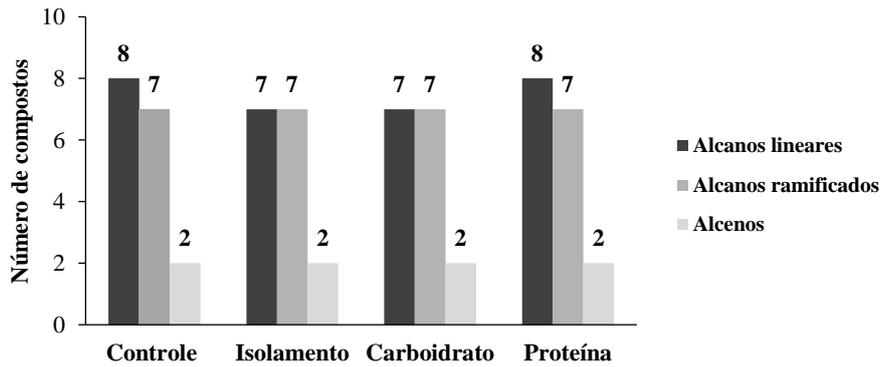


Figura 3. Número de compostos de cada classe de compostos presentes na cutícula de operárias de ninho de *Odontomachus bauri* submetidas aos diferentes tratamentos e no grupo controle.

Quanto ao teor, os alcanos lineares no grupo controle representaram 68,55%, alcanos ramificados com 18,09% e os alcenos com 13,36% (Figura 3). Três compostos foram considerados majoritários. dois alcanos lineares, o octadecano (39,25%) e o heptacosano (12,09%) e um alceno, o eicoseno (11,39%) (Tabela 1).

Tabela 1. Área percentual relativa dos compostos detectados na cutícula de operárias de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos e no grupo controle.

Tempo	IRC	IRL	Composto	Tratamentos			
				Controle	Isolamento	Carboidrato	Proteína
10,76	1800	1800	Octadecano*	39,25 ± 11,32	37,90 ± 8,77	42,37 ± 12,94	37,25 ± 4,22
13,25	1901	1900	Nonadecano	3,79 ± 5,24	1,71 ± 0,48	1,18 ± 0,26	1,72 ± 0,31
15,71	1989	1990	Eicoseno*	11,39 ± 1,54	8,78 ± 1,85	6,73 ± 1,02	7,80 ± 2,00
15,88	2000	2000	Eicosano	4,27 ± 0,76	2,99 ± 0,68	2,26 ± 0,30	2,90 ± 0,44
19,01	2119	-	x-Metilheicosano	1,67 ± 2,10	1,01 ± 0,23	0,95 ± 0,16	0,99 ± 0,16
21,12	2199	2200	Docosano	5,79 ± 1,03	4,24 ± 1,12	2,25 ± 0,52	4,32 ± 0,55
24,53	2334	-	x-Metiltricosano	1,14 ± 0,37	0,92 ± 0,18	1,00 ± 0,18	0,89 ± 0,29
26,39	2399	2400	Tetracosano	1,43 ± 0,31	0,98 ± 0,33	0,27 ± 0,16	1,20 ± 0,17
29,07	2501	2500	Pentacosano	0,50 ± 0,58	-	-	0,34 ± 0,76
33,91	2701	2700	Heptacosano*	12,09 ± 5,08	17,24 ± 5,83	15,55 ± 9,68	15,76 ± 5,01
35,05	2750	2751	5-Metilheptacosano	0,61 ± 0,38	-	-	-
38,45	2900	2900	Nonacosano	1,42 ± 0,57	2,21 ± 0,97	2,77 ± 4,39	2,59 ± 0,68
42,25	3077	-	3-Metiltriacontano	3,24 ± 2,51	4,48 ± 3,37	4,35 ± 1,63	4,96 ± 4,22
42,33	3078	3078	13,17-Dimetiltriacontano	2,53 ± 2,18	2,22 ± 1,73	3,74 ± 3,65	2,84 ± 2,13
45,85	3253	3254	12,16-Dimetildotriacontano	5,81 ± 4,98	7,56 ± 5,98	8,24 ± 5,20	7,01 ± 6,09
45,94	3258	3260	2-metildotriacontano	3,08 ± 2,81	3,37 ± 3,06	3,39 ± 3,40	3,11 ± 2,58
46,28	3274	3275	4-Metildotriacontano	-	3,31 ± 3,01	3,38 ± 1,88	3,06 ± 3,43
46,31	3276	3276	Tritriaconteno	1,97 ± 1,93	1,08 ± 1,18	1,53 ± 1,91	3,25 ± 2,54

\*=Compostos majoritários. IRC= Índice de Retenção Calculado. IRL= Índice de Retenção da literatura.

Nas amostras das operárias do grupo de isolamento foram detectados e identificados 16 compostos, sendo 7 alcanos lineares, 7 alcanos ramificados e 2 alcenos (Figura 3). Os alcanos lineares representaram 67,27% ( $\pm 2,11$ ), alcanos ramificados 22,87% ( $\pm 1,02$ ) e alcenos 9,86% ( $\pm 1,55$ ) (Figura 4). Os compostos majoritários foram o octadecano (37,90%  $\pm 0,98$ ) e o heptacosano (17,24%  $\pm 1,32$ ) (Tabela 1).

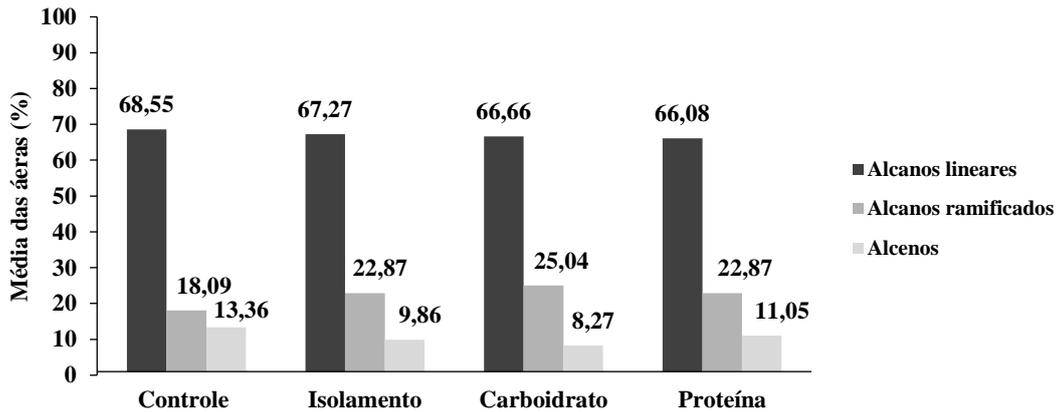


Figura 4. Porcentagem de compostos presentes na cutícula de operárias de *Odontomachus bauri* submetidas aos diferentes tratamentos e no grupo controle.

Nas amostras das operárias do grupo em que foi variada a fonte de carboidrato, foram detectados e identificados 16 compostos, sendo 7 alcanos lineares, 7 alcanos ramificados e 2 alcenos (Figura 3). Em relação à porcentagem, os alcanos lineares representaram 66,66%, alcanos ramificados 25,04%, alcenos 8,27%, (Figura 4). Os compostos majoritários foram o octadecano (42,37%) e o heptacosano (15,55%) (Tabela 1). Nas amostras das operárias do grupo em que foi variada a fonte de proteína, foram detectados e identificados 17 compostos. Sendo 8 alcanos lineares, 7 alcanos ramificados e 2 alcenos (Figura 3). Os alcanos lineares nestas amostras representaram 66,08%, alcanos ramificados 22,87% e alcenos 11,05% (Figura 4). Os compostos majoritários foram o octadecano (37,25%) e o heptacosano (15,76%) (Tabela 1). Somente nas amostras do grupo controle foi encontrado o composto 5-Metilheptacosano. O pentacosano só ocorre nas amostras do grupo controle e no que foi variado a fonte de proteína, e o 4-Metildotriacontano só não ocorre nas amostras do grupo controle (Tabela 1; Figura 4). De acordo com a análise discriminante há diferenças significativas entre a composição química cuticular das amostras submetidas aos diferentes tratamentos e do controle (Wilks's Lambda= 0.005; F=26.56, e  $p < 0.001$ ) (Figura 5), o que corrobora com os resultados da análise de distância de Mahalanobis (Tabela 2).

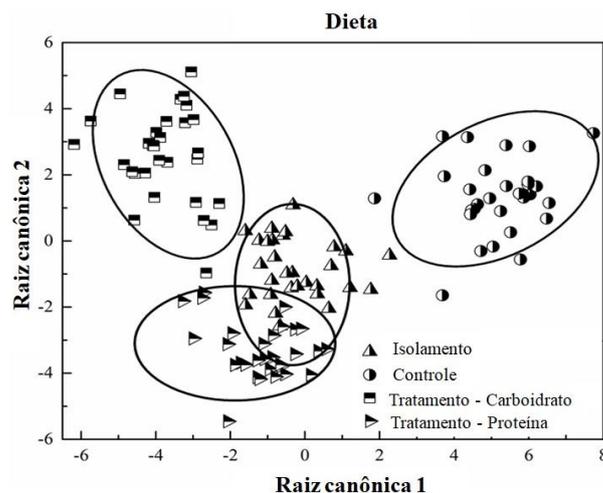


Figura 5. Diagrama de dispersão mostrando as duas raízes canônicas para a diferenciação dos compostos presentes nas amostras de operárias de *Odontomachus bauri* submetidas a diferentes tratamentos e no grupo controle, com base nas áreas percentuais relativas dos compostos cuticulares.

Tabela 2. Distância de Mahalanobis utilizando as classes de hidrocarbonetos cuticulares de operárias de *Odontomachus bauri*, submetidas a diferentes tratamentos e controle.

Tratamentos	Controle	Isolamento	Carboidrato	Proteína
Controle	-	16,210	84,910*	61,864*
Isolamento	16,210	-	33,331	40,205
Carboidrato	84,910*	33,331	-	46,646
Proteína	61,864*	40,205	46,646	-

Wilks' Lambda: 0,005; \*Maiores distâncias ocorridas.

#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que os efeitos da variação da dieta alteraram a capacidade de reconhecimento de companheiras de ninho e isto provavelmente é um efeito da alteração da composição química em função da variação da dieta em relação ao grupo controle. Por outro lado, o isolamento por si só não foi suficiente para gerar qualquer grau de estranhamento, ao menos durante o período de tempo avaliado aqui, embora se saiba que o contato frequente entre companheiras de ninho é importante para homogeneizar os compostos que constituem a assinatura química da colônia [39].

Embora, não tenha ocorrido nenhum tipo de ato agressivo entre formigas dos diferentes tratamentos com aquelas do grupo controle, o tempo de antenação foi significativamente maior nestes encontros do que nos encontros entre formigas do próprio grupo controle. Atos comportamentais considerados agressivos também não foram encontrados por Wilgenburg et al. (2022) [12] quando expostas *Linepithema humile* sob diferentes dietas. Contudo, Hefetz (2007) [4] já propôs que a antenação, é um comportamento pelo qual as formigas avaliam por meio dos sinais químicos presentes na cutícula com quem estão interagindo, e de acordo com Howard e Blomquist (2005) [40], um maior tempo de antenação pode de fato ser traduzido como uma dificuldade para se reconhecer com quem estão interagindo. Portanto, é possível que o maior tempo encontrado entre as formigas nestes encontros seja traduzido como uma maior dificuldade em reconhecer suas próprias companheiras de ninho. Por outro lado, é possível que com um nível de estranhamento maior, o tempo de antenação será relativamente mais curto, pois após o primeiro contato entre as formigas, estas podem responder com agressão. Como este não foi o caso aqui e, durante os encontros entre as formigas do grupo controle o tempo de antenação foi significativamente menor, assumimos que durante os encontros entre formigas controle com aquelas submetidas aos diferentes tratamentos houve um estranhamento.

O efeito da variação da dieta fica ainda mais evidente quando se observa que as formigas que foram submetidas ao isolamento, mas com a mesma dieta, não tiveram o mesmo nível de estranhamento que aquelas formigas do grupo controle, que interagiram com as que foram submetidas à dieta diferente. Por outro lado, o isolamento poderia ter interferido nos resultados, uma vez que pelo *allogrooming*, há troca dos compostos químicos entre as operárias de formigas [22, 39, 41, 42], o que reforça a assinatura química específica da colônia. Esse comportamento acelera e homogeneiza a distribuição de novas substâncias entre os membros da colônia, ativando parte do sistema de reconhecimento entre elas [39, 43, 44]. Assim, pelos resultados fica evidente que o isolamento por si só não foi suficiente para gerar algum tipo de modificação que tenha levado a algum grau de estranhamento entre as formigas durante as interações.

Estudos como os de Liang e Silverman (2000) [9], Silverman e Liang (2001) [45] e Sorvari et al. (2008) [15] observaram em outras espécies de formigas que a variação da dieta pode levar a mudança no grau de reconhecimento entre companheiras de ninhos. Contudo, nestes estudos a variação da dieta levou a níveis de estranhamento suficientemente altos para gerar algum grau de agressividade entre companheiras de ninho. Como o tempo em que os grupos foram submetidos aos diferentes tratamentos foi similar ao testado em vários estudos, a diferença entre os níveis de estranhamento encontrados neste estudo pode estar relacionada ao nível de organização social das diferentes espécies, uma vez que *O. bauri* pertence à subfamília Ponerinae, considerado um grupo menos derivado, [19] e que, portanto, pode ter mecanismos menos sensíveis para detectar pequenas diferenças entre a composição de suas cutículas.

A dieta afeta diretamente a composição da assinatura química das formigas e pode, com isto, interferir no comportamento de reconhecimento entre as companheiras de ninho, que é fundamental para manter a coesão da colônia e a proteção contra invasão por outros insetos, bem como por membros de outra colônia [4]. Lambardi et al. (2004) [46] observaram, que formigas *Acromyrmex echinator* (Forel, 1899) de colônias diferentes, quando submetidas a mesma dieta, passam a se tolerar mais em detrimento daquelas que receberam uma fonte alimentar diferente, destacando a influência da dieta na composição química cuticular e, por consequência seu efeito sobre o reconhecimento entre companheiras e não companheiras de ninhos. De fato, Buczkowski et al. (2005) [47] demonstraram que a dieta compartilhada entre colônias da espécie *Linepithema humile* reduziu a agressão entre elas a ponto de promover a fusão entre suas colônias.

Outro fator importante que poderia ter colaborado com o maior grau de estranhamento entre as formigas do grupo controle e aquelas que foram submetidas a dietas diferentes, seria o maior teor de carboidrato de uma dieta em relação à outra. De fato, o maior tempo de antenação, e a maior distância de mahalanobis encontrada, foi entre as formigas submetidas a variação da fonte de carboidrato com aquelas do grupo controle. Esses resultados corroboram os de Grover et al. (2007) [17] que observaram que a concentração de carboidratos influencia diretamente na agressividade e competitividade em *Linepithema humile*.

Por mais que as fontes de carboidratos aqui utilizados foram diferentes, uma de mel e outra de melaço, a quantidade de sacarose dissolvida em ambas as amostras não diferiram. Alguns trabalhos sugerem, que a quantidade de açúcar que a formiga consome pode influenciar no comportamento de interação entre as companheiras de ninho [15, 17, 18]. Os efeitos do carboidrato sobre o comportamento de formigas, ainda não estão claros na literatura, contudo, os carboidratos tem mostrado ter uma influência nos níveis de agressividade e um aumento nas atividades em formigas [11, 17, 48, 49]. De fato os carboidratos produzem efeitos metabólicos em formigas, sobretudo nas adultas que dependem principalmente dos carboidratos como fonte energética [17, 18, 49-52], resultando em elevação do metabolismo, produzindo um comportamento frenético e mais agressivo [17, 49, 50].

Ainda, a mudança do recurso proteico na dieta também pode levar a mudanças significativas no perfil de HC's e no padrão de reconhecimento entre companheiras de ninho, como descrito por Liang e Silverman (2000) [9] e Sorvari et al. (2008) [15].

A variação da dieta afetou qualitativamente e quantitativamente a composição química cuticular, e a análise estatística indica que estas diferenças são significativas. No entanto, os altos desvios padrões observados entre as médias dos compostos podem ser em decorrência das próprias variações individuais entre a composição cuticular de cada operária [53] e entre as amostras das três colônias [5].

Foi possível observar que a composição da cutícula das formigas cuja fonte de carboidrato variou, apresentaram diferenças qualitativas e quantitativas em relação aquelas do grupo controle. Por outro lado, as formigas sob efeito de variação de proteína sofreram apenas variação quantitativa. De fato, operárias adultas se alimentam mais de fontes de carboidratos em detrimento de proteínas [54-56].

A composição química da cutícula das amostras das formigas sob efeito da variação de carboidrato se sobrepuseram menos em relação as outras. A distância de Mahalanobis, comprove as maiores distâncias, portanto, as diferenças estão, entre estes grupos, em relação as outras. Grover et al. (2007) [17], ao comparar a variação de carboidrato e do tipo de presa na dieta de *Linepithema humile* detectou que o carboidrato influencia diretamente o comportamento das formigas.

Na cutícula das formigas de todos os tratamentos, houve um pequeno aumento na porcentagem dos alcanos ramificados e uma pequena redução dos alcanos lineares e alcenos em relação à cutícula das formigas do grupo controle. Esta variação, sobretudo dos teores pode ter influenciado no grau de reconhecimento durante os encontros. De fato, os alcanos ramificados, sejam eles, mono ou dimetil, são os principais compostos responsáveis por intermediar a comunicação entre companheiras de ninho [57]. Além disso, vários estudos discutem a importância não somente destes compostos, mas também dos alcenos como importantes intermediadores na comunicação [11, 57-61].

## 5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados aqui apresentados, é possível concluir que a variação da dieta durante o período avaliado gerou certo grau de estranhamento entre companheiras de ninho. Este efeito está relacionado à assimilação de compostos pela cutícula uma vez que a composição química foi significativamente diferente das amostras do grupo controle. O fato de formigas que permaneceram isoladas pelo mesmo período mantidas sob a mesma dieta não apresentarem este grau de estranhamento, reforçam esta interpretação.

Por outro lado, ainda que os resultados comprovem nossa hipótese, outros experimentos realizados com formigas de outras subfamílias demonstram que a variação de dieta pode levar a um maior grau de estranhamento, inclusive podendo exibir comportamentos agressivos entre formigas que foram mantidas sob dieta diferente durante o mesmo período testado neste estudo.

O efeito da dieta pode variar entre espécies com diferentes níveis de organização social, que podem variar quanto a capacidade de distinguir pequenas variações na composição química da cutícula de suas companheiras de ninho. Portanto, fatores ambientais, em particular a dieta, devem ser mais explorados para entendermos melhor o papel destes compostos na evolução do comportamento social nestes insetos.

## 6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (FUNDECT); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) Código 001, pelo oferecimento de bolsa de doutorado ao primeiro autor e bolsa de estudos de mestrado ao segundo autor; autores CALC (outorga número 310801 / 2015-0) e WFAJ (outorga número 307998 / 2014-2) reconhecem bolsas de pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blomquist GJ, Bagnères AG. *Insect hydrocarbons, biology, biochemistry, and chemical ecology*. 1. ed. New York (US): Cambridge University Press; 2010.
2. Leal WS. Pheromone reception. In: Schulz S, editor. *The Chemistry of Pheromones and other semiochemicals II*. Berlin (DE): Springer Berlin; 2005. p. 341-60.
3. Howard RW. Cuticular hydrocarbons and chemical communication. In: Stanley-Samuelson DW, Nelson DR, editors. *Insect lipids: Chemistry, biochemistry and biology*. Nebraska (NE): University of Nebraska Press; 1993. p. 179-226.
4. Hefetz A. The evolution of hydrocarbon pheromone parsimony in ants (Hymenoptera: Formicidae) – interplay of colony odor uniformity and odor idiosyncrasy. A review. *Myrmecol News*. 2007 Sep;10:59-68.
5. Wagner D, Tissot M, Gordon DM. Task-related environment alters the cuticular hydrocarbon composition of harvester ants. *J Chem Ecol*. 2001 Sep;27(9):1805-19. doi: 10.1023/A:1010408725464
6. Menzel F, Blaimer BB, Schmitt T. How do cuticular hydrocarbons evolve? Physiological constraints and climatic and biotic selection pressures act on a complex functional trait. *Proc R Soc B*. 2017 Mar;284:1-10. doi: 10.1098/rspb.2016.1727
7. Santos-Junior LC, Michelutti KB, Bernardi RC, Silva EP, Cardoso CAL, Antonialli-Junior WF. You smell different! Temperature interferes with intracolony recognition in *Odontomachus brunneus*. *Sociobiology*. 2022 Mar;69(1):1-11. doi: 10.13102/sociobiology.v69i1.6235
8. Crosland MWJ. Kin recognition in the ant *Rhytidoponera confusa* I. environmental odour. *Anim Beh*. 1989 Jun;37(6):912-9. doi: 10.1016/0003-3472(89)90135-8
9. Liang D, Silverman, J. “You are what you eat”: Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften*. 2000 Sep;87(9):412-6. doi: 10.1007/s001140050752
10. Buczkowski G, Silverman J. Geographic variation in Argentine ant aggression behaviour mediated by environmentally-derived nestmate recognition cues. *Anim Behav*. 2006 Feb;71(2):327-35. doi: 10.1016/j.anbehav.2005.04.012
11. Chinarelli HD, Pupe AE, Leal LC. Peace, sweet peace: ants become less aggressive when carbohydrates abound. *Ecol Entomol*. 2020;46(1):273-82. doi: 10.1111/een.12959

12. Wilgenburg E, Mariotta MIV, Tsutsui ND. The effect of diet on colony recognition and cuticular hydrocarbon profiles of the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*. 2022 Mar;13(33):1-14. doi: 10.3390/insects13040335
13. Bernardi RC, Firmino ELB, Pereira MC, Andrade LHC, Cardoso CAL, Suárez YR, et al. Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy as a potential tool in assessing the role of diet in cuticular chemical composition of *Ectatomma brunneum*. Gen Mol Res. 2014 Nov;13(4):1035-48. doi: 10.4238/2014.November.28.8
14. Chung H, Carroll SB. Wax, sex and the origin of species: dual roles of insect cuticular hydrocarbons in adaptation and mating. Bioessays. 2015 Jul;37(7):822-30. doi: 10.1002/bies.201500014
15. Sorvari J, Theodora P, Turillazzi S, Hakkarainen H, Sundstrom L. Food resources, chemical signaling, and nest mate recognition in the ant *Formica aquilonia*. Behav Ecol. 2008 Mar;19(2):441-7 doi: 10.1093/beheco/arm160
16. Holway DA, Lach L, Suarez AV, Tsutsui ND, Case TJ. The causes and consequences of ant invasions. Annu Rev Ecol Syst. 2002 Nov;33:181-233. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150444
17. Grover CD, Kay AD, Monson JA, Marsh, TC, Holway DA. Linking nutrition and behavioural dominance: carbohydrate scarcity limits aggression and activity in Argentine ants. Proc Biol Sci. 2007 Dec;274(1628):2951-7 doi: 10.1098/rspb.2007.1065
18. Horn KC, Eubanks MD, Siemann E. The Effect of diet and opponent size on aggressive interactions involving caribbean crazy ants (*Nylanderia fulva*). PLoS ONE. 2013 Jun;8(6):1-7 doi: 10.1371/journal.pone.0066912
19. Hölldobler B, Wilson EO. The ants. 1. ed. Cambridge (UK): Harvard University Press; 1990.
20. Otte T, Hilker M, Geiselhardt S. Phenotypic plasticity of cuticular hydrocarbon profiles in insects. J Chem Ecol. 2018 Feb;44(3):235-47. doi: 10.1007/s10886-018-0934-4
21. Jaffé K, Marcuse M. Nestmate recognition and territorial behaviour in the ant *Odontomachus bauri* emery (Formicidae: Ponerinae). Insectes Soc. 1983 Dec;30(4):466-81.
22. Boulay R, Hefetz A, Soroker V, Lenoir A. Camponotus fellah colony integration: worker individuality necessitates frequent hydrocarbon exchanges. Anim Behav. 2000 Jun;59(6):1127-33. doi: 10.1006/anbe.2000.1408
23. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2008.
24. Thomas ML, Tsutsui ND, Holway DA. Intraspecific competition influences the symmetry and intensity of aggression in the Argentine ant. Behav Ecol. 2004 Dec;16(2):472-81.
25. Suarez AV, Tsutsui ND, Holway DA, Case TJ. Behavioral and genetic differentiation between native and introduced populations of the Argentine ant. Biol Invasions. 1999;(1):43-53 doi: 10.1023/A:1010038413690
26. Mercier JL, Lenoir A, Dejean A. Ritualised versus aggressive behaviours displayed by *Polyrhachis laboriosa* (F. Smith) during intraspecific competition. Behav Proc. 1997 Oct;41(1):39-50.
27. Monnin T, Peeters C. Dominance hierarchy and reproductive conflicts among subordinates in a monogynous queenless ant. Behav Ecol. 1999;10(1):323-32.
28. Medeiros FNS, Lopes LE, Moutinho PRS, Oliveira PS, Hölldobler B. Functional polygyny, agonistic interactions and reproductive dominance in the neotropical ant *Odontomachus chelifer* (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). Ethol. 2010 Apr;91(2):134-46.
29. Van-Walsum E, Gobin B, Ito F, Billen J. Worker reproduction in the ponerine ant *Odontomachus simillimus* (Hymenoptera: Formicidae). Sociobiol. 1998 Dec;32(1):427-40.
30. Powell S, Tschinkel WR. Ritualized conflict in *Odontomachus brunneus* and the generation of interaction-based task allocation: a new organizational mechanism in ants. Anim Behav. 1999 Nov;58(5):965-72 doi: 10.1006/anbe.1999.1238
31. Smith AA, Millar JG, Hanks LM, Suarez AV. Experimental evidence that workers recognize reproductives through cuticular hydrocarbons in the ant *Odontomachus brunneus*. Behav Ecol Sociobiol. 2012 Jul;66(9):1267-76.
32. Smith AA, Millar JG, Hanks LM, Suarez AV. A conserved fertility signal despite population variation in the cuticular chemical profile of the trap-jaw ant *Odontomachus brunneus*. J Exp Biol. 2013 Oct;15(216):3917-24. doi: 10.1242/jeb.089482
33. O'Fallon S, Suarez AV, Smith AA. A comparative analysis of rapid antennation behavior in four species of *Odontomachus* trap-jaw ants. Insectes Soc. 2016 Feb;63(2):265-70. doi: 10.1007/s00040-016-0462-6
34. Michelutti KB, Soares ERP, Sguarizi-Antonio D, Piva RC, Suárez YR, Cardoso CAL, et al. Influence of temperature on survival and cuticular chemical profile of social wasps. J Therm Biol. 2018 Mar;72:41-8. doi: 10.1016/j.jtherbio.2017.11.019

35. Sguarizi-Antonio D, Batista NR, Michelutti KB, Soares ERP, Solórzano JCJ, Cardoso CAL, et al. Anthropogenic action affects the cuticular chemical profile of social wasps. *Pap Avulsos Zool.* 2022 Mar;62:e202262013. doi: 10.11606/1807-0205/2022.62.013
36. Moore HE, Adam CD, Drijfhout FP. Identifying 1st instar larvae for three forensically important blowfly species using “fingerprint” cuticular hydrocarbon analysis. *Foren Sci Int.* 2014 Jul;240:48-53. doi: 10.1016/j.forsciint.2014.04.002
37. Weiss K, Parzefall C, Herzner G. Multifaceted defense against antagonistic microbes in developing offspring of the parasitoid wasp *Ampulex compressa* (Hymenoptera, Ampulicidae). *PLoS ONE.* 2014 Jun;9(6):e98784 doi: 10.1371/journal.pone.0098784
38. Soares ERP, Batista NR, Souza RS, Torres VO, Cardoso CAL, Nascimento FS, et al. Variation of cuticular chemical compounds in three species of *Mischocyttarus* (Hymenoptera: Vespidae) eusocial wasps. *Rev Bras Entomol.* 2017;61(3):224-31. doi: 10.1016/j.rbe.2017.05.001
39. Soroker V, Lucas C, Simon T, Hefetz A, Fresneau D, Durand JL. Hydrocarbon distribution and colony odour homogenisation in *Pachycondyla apicalis*. *Insectes Soc.* 2003 Aug;50(3):212-7. doi: 10.1007/s00040-003-0669-1
40. Howard RW, Blomquist GJ. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu Rev Entomol.* 2005 Jan;50(1):371-93. doi: 10.1146/annurev.ento.50.071803.130359
41. Soroker V, Vienne C, Hefetz A. Hydrocarbon dynamics within and between nestmates in *Cataglyphis niger* (Hymenoptera: Formicidae). *J Chem Ecol.* 1995 Mar;21(3):365-78. doi: 10.1007/BF02036724
42. Lenoir A, Hefetz A, Simon T, Soroker V. Comparative dynamics of gestalt odour formation in two ant species *Camponotus fellah* and *Aphaenogaster senilis* (Hymenoptera: Formicidae). *Physiol Entomol.* 2001 Sep;26(3):275-83. doi: 10.1046/j.0307-6962.2001.00244.x
43. Lenoir A, Fresneau D, Errard C, Hefetz, A. Individuality and colonial identity in ants: the emergence of the social representation concept. In: Detrain C, Deneubourg J, Pasteels, JM, editor. *Information processing in social insects.* 1 ed. Basel (CH): Birkhäuser; 1999. p. 219-36. doi: 10.1007/978-3-0348-8739-7\_12
44. Crozier RH, Dix MW. Analysis of two genetic models for the innate components of colony odor in social hymenoptera. *Behav Ecol Sociobiol.* 1979;Mar;4(3):217-24.
45. Silverman J, Liang D. Colony disassociation following diet partitioning in a unicolonial ant. *Naturwissenschaften.* 2001 Mar 23;88(2):73-7. doi: 10.1007/s001140000198
46. Lambardi D, Chegia B, Turilazzi S, Boomsma JJ. Diet-induced aggression among colonies of the leafcutter ant *Acromyrmex echinator* Forel (Hymenoptera Formicidae). *Redia.* 2004 Feb;87(1):219-21.
47. Buczkowski G, Kumar R, Suib SL, Silverman J. Diet-related modification of cuticular hydrocarbon profiles of the argentine ant, *Linepithema humile*, diminishes intercolony aggression. *J Chem Ecol.* 2005 Apr;31(4):829-43. doi: 10.1007/s10886-005-3547-7
48. Arganda S, Nicolis SC, Perochain A, Péchabadens C, Latil G, Dussutour A. Collective choice in ants: The role of protein and carbohydrates ratios. *J Insect Physiol.* 2014 Oct;69:19-26. doi: 10.1016/j.jinsphys.2014.04.002
49. Wittman SE, O’Dowd DJ, Green PT. Carbohydrate supply drives colony size, aggression, and impacts of an invasive ant. *Ecosphere.* 2018 Sep;9(9):e02403. doi: 10.1002/ecs2.2403
50. Davidson DW. The role of resource imbalances in the evolutionary ecology of tropical arboreal ants. *Biol J Linn Soc.* 1997 Jun;61(2):153-81. doi: 10.1111/j.1095-8312.1997.tb01785.x
51. Dussutour A, Simpson SJ. Communal nutrition in ants. *Curr Biol.* 2009 May;19(9):740-4. doi: 10.1016/j.cub.2009.03.015
52. Dussutour A, Simpson SJ. Description of a simple synthetic diet for studying nutritional responses in ants. *Insectes Soc.* 2008 Jun 13;55(3):329-33 doi: 10.1007/s00040-008-1008-3
53. Cu villier-Hot V, Cobb M, Malosse C, Peeters C. Sex, age and ovarian activity affect cuticular hydrocarbons in *Diacamma ceylonense*, a queenless ant. *J Insect Physiol.* 2001 Apr;47(4-5):485-93. doi: 10.1016/s0022-1910(00)00137-2
54. Wilson EO, Eisner T. Quantitative studies of liquid food transmission in ants. *Insectes Soc.* 1957 Jun;4(2):157-66. doi: 10.1007/BF02224149
55. Markin GP. Food distribution within laboratory colonies of the argentine ant, *Tridomyrmex humilis* (Mayr). *Insectes Soc.* 1970 Jun;17(2):127-57. doi: 10.1007/BF02223074
56. Schneider P. Versuche zur frage der individuellen futterverteilung bei der kleinen roten Waldameise (*Formica polyctena* Foerst.). *Insectes Soc.* 1972 Sep;19(3):279-99. doi: 10.1007/BF02226632
57. Gibbs AG. Waterproof cockroaches: the early work of J. A. Ramsay. *J Exp Biol.* 2007 Mar;210(6):921-2. doi: 10.1242/jeb.000661
58. Bonavita-Cougourdan A, Theraulaz G, Bagnères AG, Roux M, Pratte M, Provost E, et al. Cuticular hydrocarbons, social organization and ovarian development in a polistine wasp: *Polistes dominulus* christ. *Comp Biochem Physiol B Comp Biochem.* 1991 Jan;100(4):667-80. doi: 10.1016/0305-0491(91)90272-F

59. Gibbs AG. Water-proofing properties of cuticular lipids. *Am Zool.* 1998;38(3):471-82.
60. Boulay R, Aron S, Cerdá X, Doums C, Graham P, Hefetz A, Monnin T. Social life in arid environments: The case study of *Cataglyphis* Ants. *Annu Rev Entomol.* 2017 Jan;62(1):305-21. doi: 10.1146/annurev-ento-031616-034941
61. Sano K, Bannon N, Greene MJ. Pavement ant workers (*Tetramorium caespitum*) assess cues coded in cuticular hydrocarbons to recognize conspecific and heterospecific non-nestmate ants. *J Insect Behav.* 2018 Feb 24;31(2):186-99. doi: 10.1007/s10905-017-9659-4