



Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Biologia



Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação
de Recursos Naturais

**ECOLOGIA DAS INTERAÇÕES ENTRE FORMIGAS E PLANTAS COM
NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM UMA SAVANA NEOTROPICAL:
VARIAÇÃO TEMPORAL NA REDE DE INTERAÇÕES E SEUS EFEITOS
SOBRE A HERBIVORIA FOLIAR**

Denise Lange

2012

Denise Lange

**ECOLOGIA DAS INTERAÇÕES ENTRE FORMIGAS E PLANTAS COM
NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM UMA SAVANA NEOTROPICAL:
VARIAÇÃO TEMPORAL NA REDE DE INTERAÇÕES E SEUS EFEITOS
SOBRE A HERBIVORIA FOLIAR**

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Orientador:
Prof. Dr. Kleber Del Claro

Uberlândia/MG
Fevereiro de 2012

**ECOLOGIA DAS INTERAÇÕES ENTRE FORMIGAS E PLANTAS COM NECTÁRIOS
EXTRAFLORES EM UMA SAVANA NEOTROPICAL: VARIAÇÃO TEMPORAL NA
REDE DE INTERAÇÕES E SEUS EFEITOS SOBRE A HERBIVORIA FOLIAR**

Doutoranda: Denise Lange

Tese apresentada à Universidade Federal
de Uberlândia, como parte das exigências
para obtenção do título de Doutor em
Ecologia e Conservação de Recursos
Naturais.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Tatiana Garabini Cornelissen
(titular)

Prof. Dr. Wedson Desidério Fernandes
(titular)

Profa. Dra. Helena Maura Torezan Silingardi
(titular)

Prof. Dr. Jean Carlos Santos
(titular)

Prof. Dr. Kleber Del Claro
(orientador)

Prof. Dr. Everton Tizo Pedroso
(suplente)

Profa. Dra. Fernanda Helena Nogueira Ferreira
(suplente)

Uberlândia/MG
Fevereiro de 2012

Agradecimentos

À Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais pela oportunidade e infraestrutura.

À diretoria do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia por permitir o acesso à reserva ecológica do clube para a coleta de dados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos.

Às secretárias do Instituto de Biologia da UFU, Luíza, Nívia e Helena, por serem sempre tão prestativas.

À Maria Angélica (secretária da Pós-graduação em Ecologia da UFU) pela imensa paciência e por toda a ajuda dada nesses quatro anos do meu doutorado.

Aos professores Dr. Heraldo Luís Vasconcelos e Dr. Marcelo Oliveira Gonzaga pelas dicas e empréstimo de equipamentos.

Ao Museu de Zoologia da USP, principalmente ao Dr. Rodrigo Feitosa pela identificação das espécies de formigas.

À professora Dra. Helena Maura Torezan Silingardi pela ajuda com a identificação dos herbívoros.

Aos professores Dra. Helena Maura Torezan Silingardi, Dra. Natália Leiner e Dr. Marcelo Oliveira Gonzaga pelas sugestões e correções do primeiro capítulo desta tese.

À professora Dra. Natália Leiner pela contribuição dada para o terceiro capítulo desta tese, além da amizade e apoio.

Ao MSc. Wesley Dáttilo pela ajuda com as análises dos dados e as sugestões para o segundo capítulo.

Aos membros do Laboratório de Ecologia Comportamental e de Interações (LECI), em especial à Andréa Vilela, Larissa Nahas, Vanessa Stefani, Everton Tizo Pedroso, Gudryan Baroni, Eduardo Calixto, Alexandra Bächtold, Estevão Alves Silva e Ceres Belchior pelo companheirismo e incentivo.

Aos meus amigos: professor Dr. Wedson Desidério Fernandes, Michelle Viscardi Sant'Ana e Edetilde Mendes de Paula pela torcida e por estarem sempre por perto.

Ao meu querido orientador, professor Dr. Kleber Del Claro, pela paciência, apoio, dedicação e, principalmente, pela amizade e confiança. Um pesquisador excelente e uma pessoa extraordinária que aceitou me orientar sem ao menos me conhecer e que desde então tem sido fundamental para o meu crescimento profissional e pessoal. Muito obrigada!

Mais uma vez, quero agradecer às minhas grandes amigas Andréa Vilela e Larissa Nahas. Parceiras em todos os momentos. Não cabe aqui tudo o que elas fizeram por mim nesses quatro anos. Meninas, muito obrigada por vocês fazerem parte da minha vida.

Aos meus pais, Arno e Lenir, e ao meu irmão, Adriano, pela credibilidade, motivação, paciência e amor incondicional. Minha eterna gratidão.

Ao meu companheiro, Leandro, por dividir a vida comigo; por todo amor e cumplicidade que existe entre nós.

A Deus pela oportunidade e por estar sempre ao meu lado, iluminando-me e me abençoando; dando-me força em todos os momentos. Meu mais sincero agradecimento.

RESUMO

Lange, D. 2012. Ecologia das interações entre formigas e plantas com nectários extraflorais em uma savana neotropical: variação temporal na rede de interações e seus efeitos sobre a herbivoria foliar. Tese de doutorado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG, Brasil. 98p. Orientação: Prof. Dr. Kleber Del Claro.

Estudos de interações envolvendo formigas e plantas com nectários extraflorais são comuns na literatura, entretanto, devido à grande diversidade de espécies envolvidas e à variação nos resultados das interações, pouco se conhece a respeito da dinâmica e estrutura dessas relações no âmbito da comunidade. Dessa forma, este estudo propôs avaliar a estrutura da rede formada pela associação entre formigas e plantas com nectários extraflorais e o resultado dessa interação para o módulo mais representativo da comunidade de plantas do cerrado em um período de dois anos (setembro de 2008 a agosto de 2010). As espécies de plantas estudadas foram *Caryocar brasiliense*, *Lafoensia pacari*, *Ouratea hexasperma*, *O. spectabilis*, *Qualea grandiflora*, *Q. multiflora*, *Q. parviflora*, *Stryphnodendron adstringens* e *S. polyphyllum*. No total, 34 espécies de formigas estiveram associadas às nove espécies plantas. A rede de interação formada por esses dois grupos de organismos apresentou características semelhantes às outras redes mutualísticas, como: aninhamento, assimetria na especialização e baixa especialidade. Esse padrão se manteve durante os dois anos do estudo apesar de ter havido alterações na quantidade de associações e nas espécies de formigas presentes na rede. O pico de associações entre plantas e formigas correspondeu ao início da estação chuvosa, coincidindo com os meses de atividade dos nectários extraflorais de todas as espécies observadas. Nesse período, a proteção das formigas contra herbivoria foliar foi mais eficiente quando comparado com o período de inatividade dos nectários. Experimentos com exclusão de formigas mostraram que a proteção contra a herbivoria foliar foi efetiva para o conjunto das espécies nos dois anos do estudo. Entretanto, para algumas espécies, quando analisadas isoladamente, a redução na herbivoria não foi significativa. Esse fato pode estar relacionado com a atratividade das plantas às formigas, representada pela qualidade do néctar extrafloral, a qual variou entre as espécies de plantas e entre os períodos do dia (manhã, tarde, noite). Também foi evidenciada partição temporal das espécies de formigas no forrageamento nas plantas, sugerindo a existência de competição entre as espécies por recurso. Os resultados indicam que as interações formigas-plantas com nectários extraflorais no Cerrado formam associações complexas fortemente estruturadas, e que apesar de suas variações temporais, mantém o seu padrão e o benefício para a comunidade de plantas associadas. O estudo de um módulo da rede de interações mostrou-se viável para a aplicação de manipulação experimental, podendo ser considerado uma importante ferramenta para estudos envolvendo interações em comunidades.

Palavras-chave: Cerrado, defesa biótica, interações mutualísticas, herbívoros, partição temporal de recurso, variação temporal.

ABSTRACT

Lange, D. 2012. Ecology of interactions between ants and plants with extrafloral nectaries in a neotropical savanna: temporal variation in the network of interactions and their effects on leaf herbivory. Ph. D. Thesis. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG, Brasil. 98p. Adviser: Prof. Dr. Kleber Del Claro.

Studies of interactions between ants and plants with extrafloral nectaries are common in the literature, however, due to the great diversity of species involved and the variation in the results of interactions, little is known about the structure and dynamics of these relationships within the community. Thus, this study aimed to evaluate the network structure formed by ants and plants with extrafloral nectaries and the result of interactions for the most representative module of the cerrado plant community in a period of two years (from September 2008 to August 2010). The plant species studied were *Caryocar brasiliense*, *Lafoensia pacari*, *Ouratea hexasperma*, *O. spectabilis*, *Qualea grandiflora*, *Q. multiflora*, *Q. parviflora*, *Stryphnodendron adstringens* and *S. polyphyllum*. In total, 34 ant species were associated with nine plant species. The interactions network formed by these two groups of organisms exhibited similar characteristics to other mutualistic networks, such as nestedness, asymmetry in specialization and low specialty. This pattern held during the two years of study, although there were changes in number of associations and the ant species present in the network. The peak of associations between plants and ants occurred at the beginning of the rainy season, coinciding with the months of activity of the extrafloral nectaries of all species studied. In this period, the protection of ants against leaf herbivory was more efficient compared with the period of inactivity of nectaries. Experiments of ant exclusion showed that protection against leaf herbivory was effective for all species in the two years of study. However, for some species analyzed individually, the reduction of herbivory was not significant. This fact may be related to the attractiveness of plants to ants, represented by the quality of extrafloral nectar, which varied between plant species and among periods of the day (morning, afternoon, evening). Temporal partition of the species of ants foraging on plants was observed in this study, suggesting the existence of resource competition among species. Our results indicate that the ant-plant interactions with extrafloral nectaries in Cerrado form complex associations that are strongly structured, and that despite temporal variations, it retains the benefit to the associated plants. The study of a module of the network of interactions was important for the application of experimental manipulation and can be considered an important tool for studies of interactions in communities.

Keywords: Cerrado, biotic defense, mutualistic interactions, herbivores, resource partition temporal, temporal variation.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: CHANGES OF A MUTUALISTIC NETWORK OVER TIME AND ITS INFLUENCE ON OUTCOME OF INTERACTIONS

- Figure 1.** Ant-plant interaction networks in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010. Circles represent species, and links indicate extrafloral nectar feeding associations among ants and plants. Network 2009: 26 ant species and 9 plant species; Network 2010: 29 ant species and 9 plant species (see Table 1 for species identities). Bolded circles denote ant species that occurred in only one year. Rectangles denote species with same degree..... 34
- Figure 2.** Frequency distribution for ant (A) and plant (B) degree of network interactions (ant-extrafloral bearing trees) in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010. The degree varies between years for both codes, but there was no statistical difference in the degree distribution over time neither for ants ($D = 0.111$; $p > 0.05$) nor plants ($D = 0.059$; $p > 0.05$)..... 36
- Figure 3.** Comparison of herbivory (% leaf area loss) between plants with and without ant exclusion in the core of extrafloral nectaried trees in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010. Different letters mean statistical difference ($p < 0.05$; ANOVA and Tuckey post hoc comparison, Table 4). The horizontal line represents the mean, boxes represent standard error and whiskers standard deviation..... 38
- Figure 4.** Herbivory (% leaf area loss) between stems (with ants and ants excluded) in the extrafloral nectaried trees in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in April of 2009 (A) and 2010 (B). Abbreviations mean: (Sa) *Stryphnodendron adstringens*, (Sp) *S. polyphyllum*, (Qg) *Qualea grandiflora*, (Oh) *Ouratea hexasperma*, (Qp) *Q. parviflora*, (Qm) *Q. multiflora*, (Os) *O. spectabilis*, (Cb) *Caryocar brasiliense* and (Lp) *Lafoensia pacari*. The asterisks mean statistical difference (t-test, $p < 0.05$). The horizontal line represents the mean, boxes represent standard error and whiskers depict 95% intervals..... 39
- Figure 5.** Ant Abundance in stems with ants (control) in the core of extrafloral nectaried trees studied in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG,

Brazil, in 2009 and 2010. The asterisks mean statistical difference (paired t-test, $p < 0.05$). The horizontal line represents the mean, boxes represent standard error and whiskers standard deviation..... 40

CAPÍTULO 2: EFEITO DA VARIAÇÃO SAZONAL NA INTERAÇÃO FORMIGA-PLANTA EM UMA SAVANA NEOTROPICAL

Figura 1. Variação sazonal na porcentagem de plantas com NEFs ativos, de plantas com formigas e de herbivoria foliar (média±erro padrão) para cada uma das nove espécies de plantas estudadas no período de setembro de 2008 a agosto de 2010 na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG. Os meses grifados no eixo “x” representam o período de menor e maior interação entre formigas e plantas, respectivamente..... 54

Figura 2. Porcentagem de herbivoria foliar, abundância de formigas e herbívoros encontrados nas nove espécies de plantas estudadas ($n=30$ indivíduos por espécie) no período de setembro de 2008 a agosto de 2010 na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG. Porcentagem de herbivoria foliar (A), abundância de formigas (B) e de herbívoros (C) variaram entre os meses ($F_{22,248}=109,64$; $p < 0,01$; $F_{23,247}=17,76$; $p < 0,01$ e $\chi^2_{23}=122,15$; $p < 0,01$, respectivamente). Os valores das barras representam média±erro padrão e os asteriscos a significância entre os meses..... 55

Figura 3. Relação entre valores mensais de porcentagem de herbivoria e abundância média de formigas ($r^2 = 0,03$; $p < 0,05$) para as nove espécies de plantas estudadas no período de setembro de 2008 a agosto de 2010 na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG. As letras da legenda representam as espécies de plantas: (Cb) *Caryocar brasiliense*, (Lp) *Lafoensia pacari*, (Os) *Ouratea spectabilis*, (Oh) *O. hexasperma*, (Sa) *Stryphnodendron adstringens*, (Sp) *S. polyphyllum*, (Qg) *Qualea grandiflora*, (Qm) *Q. multiflora* e (Qp) *Q. parviflora*. Diferenças na herbivoria entre as espécies (*post-hoc* de Tukey) formaram dois grupos: o primeiro (linha pontilhada) é formado pelas espécies de plantas que tiveram maior herbivoria foliar (Cb, Oh, Qg e Qp). O segundo grupo (linha contínua), pelas espécies que tiveram menor herbivoria (Lp, Os, Qm, Sa e Sp)..... 56

Figura 4. Rede de interações entre formigas e plantas com NEFs obtidos em dois

períodos: não atividade dos NEFs (março a junho de 2009) e atividade (setembro a dezembro de 2009). Dados coletados na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG. Ver Apêndice 1 para os códigos das espécies de formigas e plantas..... 57

CAPÍTULO 3: PRODUTIVIDADE DOS NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM UMA COMUNIDADE DO CERRADO E SUA INFLUÊNCIA NA INTERAÇÃO FORMIGA-PLANTA

Figura 1. Concentração do néctar produzido por sete espécies de plantas extranectaríferas abundantes no cerrado em três períodos do dia. As barras representam média±erro padrão. ANOVA ($F_{2,401}=22,78$; $p<0,01$); as letras descrevem a diferença estatística (teste a posteriori de Tukey) entre os períodos. Os números entre parêntesis abaixo dos períodos indicam a temperatura média (média±erro padrão) de cada período..... 80

Figura 2. Somatório da quantidade total de NEFs ativos nas sete espécies de plantas extranectaríferas abundantes no cerrado nos três períodos do dia observado. ANOVA ($F_{2,18}=22,71$; $p<0,01$); as letras descrevem a diferença estatística (teste a posteriori de Tukey) entre os períodos. As barras representam média±erro padrão..... 80

Figura 3. Ordenação das espécies de plantas em função da composição de espécies de formigas (r^2 cutoff = 0,3) usando a Análise de Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS). Os vetores com setas indicam as três espécies de formigas que significativamente explicaram a ordenação (*Camponotus* sp.1, *Camponotus* sp.2 e *Cephalote pusillus*). A direção das duas setas indica se as espécies de formigas são positivamente (em direção às setas) ou negativamente relacionadas e seu comprimento indica a magnitude da relação. As letras significam: (sa) *Stryphnodendron adstringens*, (qg) *Qualea grandiflora*, (qm) *Q. multiflora*, (sp) *S. polyphyllum*, (os) *Ouratea spectabilis*, (oh) *O. hexasperma* e (lp) *Lafoensia pacari*. Os números indicam o período do dia de cada observação: (1) 6h, (2) 14h e (3) 22h..... 83

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1: CHANGES OF A MUTUALISTIC NETWORK OVER TIME AND ITS INFLUENCE ON OUTCOME OF INTERACTIONS

Table 1. Ant species associated with plant species in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, between September 2008 and April 2010. Column numbers correspond to the total of individual plants (N = 30 trees per species) in which ant species were observed. Code numbers of plant species mean: (1) <i>Stryphnodendron adstringens</i> , (2) <i>S. polyphyllum</i> , (3) <i>Qualea grandiflora</i> , (4) <i>Ouratea hexasperma</i> , (5) <i>Q. parviflora</i> , (6) <i>Q. multiflora</i> , (7) <i>O. spectabilis</i> , (8) <i>Caryocar brasiliense</i> and (9) <i>Lafoensia pacari</i> . Code numbers of ant species and plant species are the same as used in Figure 1.....	33
Table 2. Metrics of interactions network for the association of ant-extrafloral bearing trees in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010.....	35
Table 3. Results of ant-exclusion experiments in network interactions (ant-extrafloral bearing trees) in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010. Factorial ANOVA comparing the herbivory (% leaf area loss) and variables: plant species, stem type (with and without ants), and year. The asterisks point to statistical difference.....	37

CAPÍTULO 2: EFEITO DA VARIAÇÃO SAZONAL NA INTERAÇÃO FORMIGA-PLANTA EM UMA SAVANA NEOTROPICAL

Tabela 1. Propriedades das redes de interações nos dois períodos: atividade dos nectários extraflorais (setembro a dezembro de 2009) e não atividade (março a junho de 2009). Dados coletados na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG.....	58
---	----

CAPÍTULO 3: PRODUTIVIDADE DOS NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM UMA COMUNIDADE DO CERRADO E SUA INFLUÊNCIA NA INTERAÇÃO FORMIGA-PLANTA

Tabela 1. Produtividade diária dos nectários extraflorais (média±erro padrão) de sete espécies de plantas extranectaríferas abundantes no cerrado. Estudo realizado no período de setembro a novembro de 2010 em Uberlândia, MG. As letras demonstram as diferenças estatísticas (teste a posteriori de Tukey) nos totais da produção do néctar (volume e calorias) entre as espécies e os períodos. Volume diário entre as espécies ($F_{6,295}=9,70$; $p<0,01$) e volume entre os períodos ($F_{2,295}=58,51$; $p<0,01$). Caloria diária do néctar entre as espécies ($F_{6,295}=5,84$; $p<0,01$) e entre os períodos ($F_{2,295}=2,78$; $p<0,01$). As letras “nm” demonstram os valores de calorias não avaliados devido ao pouco volume de néctar..... 79

Tabela 2. Frequência e período de atividade das formigas encontradas em sete espécies de plantas abundantes no cerrado em Uberlândia, MG, avaliadas no período de setembro a novembro de 2010. As letras significam: (Sa) *Stryphnodendron adstringens*, (Qg) *Qualea grandiflora*, (Qm) *Q. multiflora*, (Sp) *S. polyphyllum*, (Os) *Ouratea spectabilis*, (Oh) *O. hexasperma* e (Lp) *Lafoensia pacari*..... 82

ÍNDICE

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xi
INTRODUÇÃO GERAL	01
Referências bibliográficas	06

CAPÍTULO 1: CHANGES OF A MUTUALISTIC NETWORK OVER TIME AND ITS INFLUENCE ON OUTCOME OF INTERACTIONS

Abstract	12
Introduction	12
Material and Methods	16
Results	19
Discussion	21
References	25
Appendix 1	41
Appendix 2	42
Appendix 3	43

CAPÍTULO 2: EFEITO DA VARIAÇÃO SAZONAL NA INTERAÇÃO FORMIGA-PLANTA EM UMA SAVANA NEOTROPICAL

Resumo	45
Introdução	45
Metodologia	48
Resultados	51
Discussão	58
Referências bibliográficas	62
Apêndice 1	70
Apêndice 2	71

CAPÍTULO 3: PRODUTIVIDADE DOS NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM UMA COMUNIDADE DO CERRADO E SUA INFLUÊNCIA NA INTERAÇÃO FORMIGA-PLANTA

Resumo	73
Introdução	73
Metodologia	75
Resultados	78
Discussão	84
Referências bibliográficas	88
CONCLUSÃO GERAL	97

INTRODUÇÃO GERAL

As formigas são abundantes na maioria dos ecossistemas terrestres, apresentando diversas adaptações ecológicas e sociais, além de vários tipos de interações com um grande número de espécies, incluindo vegetais (Hölldobler & Wilson 1990). Em muitos habitats, as formigas representam a maior parte da fauna de artrópodes encontrada na vegetação e estudos recentes têm evidenciado que a maior abundância e diversidade de associações entre plantas e formigas são encontradas em regiões tropicais (Rico-Gray & Oliveira 2007). Muitas espécies de formigas utilizam-se da superfície de plantas como substrato de forrageamento para a procura de presas, vivas ou mortas, assim como de produtos derivados de plantas como o néctar de nectários extraflorais, e exsudações e secreções provenientes de insetos herbívoros sugadores. O comportamento de forrageamento de formigas em plantas, muitas vezes, traz benefícios para ambas às partes envolvidas na interação (Bentley 1977; Oliveira *et al.* 1999; Oliveira & Del-Claro 2005; Moreira & Del-Claro 2005).

Algumas espécies de formigas são importantes predadoras e podem exercer influência na estrutura, composição e dinâmica da comunidade de artrópodes (Fernandes *et al.* 2005). Como predadoras generalistas, podem contribuir para a diminuição da população de insetos herbívoros (Wirth & Leal 2001), porém, indiretamente, podem aumentar essa população pela predação de seus inimigos naturais (Rico-Gray 1989; Snyder & Wise 2001).

A especialização de plantas com estruturas que ofereçam alimento e abrigo a um parceiro em troca de defesa contra herbívoros e/ou parasitas tem sido o foco dos estudos de interações entre plantas e formigas (ver Rico-Gray & Oliveira 2007). Nectários extraflorais (NEFs) são um exemplo de estruturas em plantas que ajudam a promover interações formiga-planta. Os NEFs são glândulas secretoras de uma substância rica em carboidratos, aminoácidos, lipídios, fenóis, alcalóides e compostos orgânicos voláteis (González-Teuber & Heil 2009), sendo considerado valioso recurso alimentar para muitos artrópodes (Ruhren & Handel 1999), dentre eles, as formigas (Byk & Del-Claro 2011). Essas estruturas são extremamente variáveis quanto à estrutura e morfologia (Díaz-Castelazo *et al.* 2005; Machado *et al.* 2008) podendo ocorrer em praticamente todos os órgãos da planta, não estando diretamente relacionados com a polinização (Elias 1983; Fiala & Maschwitz 1991). Os NEFs estão presentes nas partes aéreas de mais de 90 famílias do táxon Angiosperma (Koptur 1992), sendo encontrados em diversas plantas tropicais (Beattie & Hughes 2002), podendo representar 31% dos indivíduos e 25% das espécies da flora arbórea em áreas de Cerrados (Oliveira & Leitão-Filho 1987).

O primeiro estudo avaliando a interação entre formigas e plantas tropicais foi proposto por Belt em 1874 e outros naturalistas. Posteriormente, o clássico trabalho desenvolvido por Von Wettstein em 1889 com espécies de Asteraceae, *Jurinea mollis* e *Serratula lycopifolia*, foi o primeiro a demonstrar através de um experimento de exclusão de formigas, os benefícios da interação com a diminuição da herbivoria. Oliveira *et al.* (1987) foram os primeiros a apresentar essas evidências experimentais em plantas com NEFs no Cerrado brasileiro. Desde então, interações que envolvem formigas *versus* plantas, sobretudo nas regiões tropicais têm chamado cada vez mais à atenção de biólogos para a importância destes processos e dos fatores que regem seu estabelecimento (para revisão veja: Del-Claro 2004; Rico-Gray & Oliveira 2007; Oliveira *et al.* 2012). Vários estudos constataram uma relação positiva entre plantas que apresentam NEFs e a presença de formigas, diminuindo a taxa de herbivoria e aumentando o sucesso reprodutivo das plantas (Bentley 1977; Horvitz & Schemske 1984; Del-Claro *et al.* 1996; Oliveira *et al.* 1999; Santos & Del-Claro 2001; Mody & Linsenmair 2004; Suzuki *et al.* 2004; Nascimento & Del-Claro 2010). Entretanto, existem estudos que não evidenciaram esta relação (O'Dowd & Catchpole 1983; Rasbrook *et al.* 1992).

Bronstein (1998) discute que a presença de outro nível trófico, como os herbívoros, altera as consequências das interações mutualísticas entre plantas e formigas, devido às variações de comportamento e modos de alimentação entre as diferentes espécies de herbívoros, além das variações na abundância e riqueza ao longo tempo. Além disso, as características morfológicas e comportamentais das formigas, frequentemente, têm impacto sobre a densidade, distribuição espacial e diversidade das assembléias de herbívoros (e.g. Oliveira & Del-Claro 2005). Por outro lado, a estrutura de comunidade de formigas tem sido estudada em uma variedade de habitats e está claro que as assembléias de formigas são muito dinâmicas e que existe uma variação espacial e temporal que caracteriza essas comunidades (ver revisão de Rico-Gray & Oliveira 2007). Com isso, as plantas com NEFs normalmente associam-se com guildas de espécies de formigas onívoras que mudam em composição e abundância no tempo e espaço, o que pode comprometer a magnitude dos benefícios recebidos pelo parceiro mutualista. Horvitz & Shemske (1984) demonstraram em seu estudo nos sítios de florestas secundárias que as espécies de formigas que se associaram de forma facultativa à *Calathea ovandensis* (Marantaceae) diferiram em quase três vezes na habilidade de proteção, mostrando que as espécies de formigas diferem grandemente na qualidade da proteção dada às plantas.

Embora fatores bióticos, tais como densidade de herbívoros e formigas, sejam frequentemente apresentados como as principais razões para as variações espaço-temporais

dentro dos sistemas plantas-formigas (Marquis & Braker 1994; Romero & Vasconcellos-Neto 2004), fatores abióticos também possuem força relevante como determinantes das consequências das interações mutualísticas (Kersch & Fonseca 2005; Bronstein 1994, 1998). Alguns estudos que registraram variações espaço-temporais nas interações mutualísticas plantas-formigas atribuíram os padrões observados à hipótese de variação das condições climáticas.

Os resultados de condicionalidade nas interações entre formigas e plantas com NEFs mostraram que quando as espécies mutualistas estão inseridas dentro de uma rede de interações multitróficas, torna-se difícil prever a dinâmica ecológica da interação (McCann 2000). Com isso, torna-se fundamental o estudo de como os fatores que influenciam as interações estão variando no tempo e no espaço para se ter uma maior e mais clara compreensão da ecologia das relações multitróficas nas comunidades naturais.

Atualmente existem diversos métodos para estudos de interações ecológicas, possibilitando investigar fenômenos biológicos cada vez mais complexos (Del-Claro *et al.* 2009). Uma abordagem recente na área de ecologia de interações é o estudo da conectividade entre espécies por meio da análise de redes ecológicas. Redes de interações são representações gráficas de associações entre espécies, apresentadas por meio de matrizes ou grafos bipartidos (Jordano *et al.* 2003). A utilização da metodologia de redes é considerada fundamental para a compreensão de diferentes padrões de especialização em diversos tipos de interações, tais como relações tróficas (predador-presa) e interações entre plantas e animais (principalmente polinizador-planta) (Bascompte & Jordano 2007). Dessa forma, a análise de rede permite obter conclusões sobre diversos aspectos como robustez da comunidade, manutenção da biodiversidade e seleção natural (Bascompte *et al.* 2006) e também contribui para elucidar importantes processos de coevolução entre grupos de espécies (Bascompte *et al.* 2003).

Embora estudos de interações entre formigas e plantas com NEFs sejam comuns na literatura, a maioria deles avalia essa relação apenas para uma espécie de planta em um curto espaço de tempo. Assim, pouco é conhecido a respeito da estrutura dessa interação e seus efeitos na comunidade e nas redes em que se inserem. O reflexo disso pode ser observado pela escassez de estudos utilizando análise de redes para descrever a interação formiga-planta com NEFs (ver Guimarães Jr. *et al.* 2006, 2007; Blüthgen *et al.* 2007; Díaz-Castelazo *et al.* 2010; Sugiura 2010), sendo que nenhum deles descreve a estrutura da rede e o resultado do mutualismo ou mesmo os efeitos da variação temporal na estrutura e impactos nas interações. Um dos motivos que geram a escassez de estudos como esse é a dificuldade de manipulação

experimental para a comunidade de plantas como um todo. Por outro lado, recentemente, estudos têm demonstrado que comunidades são formadas por módulos, os quais possuem uma grande intensidade de conexões em seu interior e poucas conexões com módulos adjacentes (ver Lewinsohn *et al.* 2006). Assim, estudos abordando um módulo da rede permitem a manipulação experimental e a melhor compreensão das interações no âmbito da comunidade.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a estrutura da rede de interações entre formigas e plantas com NEFs para um módulo de uma comunidade de plantas do Cerrado verificando suas propriedades, sua variação temporal e sazonal e seu efeito na efetividade da proteção das formigas para com as plantas. Para o cumprimento desses objetivos o estudo foi dividido em três capítulos, sendo que cada um avaliou as seguintes questões específicas:

Capítulo 1:

- A rede de um módulo da interação formiga-planta com NEFs apresenta o mesmo padrão encontrado em outras redes abordando a comunidade de plantas como um todo?
- Quais as espécies de formigas que interagem com o módulo da comunidade estudada?
- Essas formigas exercem um efeito protetor à todas as espécies de plantas do módulo?
- Existe variação temporal na estrutura da rede e na proteção das formigas às plantas?

Capítulo 2:

- Existe variação sazonal na estrutura da rede de interação formiga-planta com NEFs?
- Qual o período do ano que há maior quantidade de interação formiga-planta com NEFs?
- O período de maior intensidade dessa interação promove proteção mais efetiva contra a herbivoria foliar na comunidade de plantas?

Capítulo 3:

- Existe diferença na produtividade dos NEFs entre as espécies de plantas do Cerrado?
- Plantas que produzem maior quantidade de açúcar e volume de néctar extrafloral são mais atrativas às formigas?
- Existe diferença na produtividade dos NEFs ao longo do dia? Essa diferença está relacionada com a maior frequência de formigas nas plantas?

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bascompte, J.; Jordano, P.; Melián, C.J. & Olesen, J.M. 2003. The nested assembly of plant–animal mutualistic networks. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 100: 9383–9387.
- Bascompte, J.; Jordano, P. & Olesen, J.M. 2006. Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity maintenance. **Science** 312: 431-433.
- Bascompte, J. & Jordano, P. 2007. Plant–animal mutualistic networks: the architecture of biodiversity. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics** 38: 567–593.
- Beattie, A.J. & Hughes, L. 2002. Ant–plant interactions. In: Herrera, C.M. & Pellmyr, O. (eds.) **Plant–animal interactions**. Oxford: Blackwell. p. 211–235.
- Belt, T. 1874. **The naturalist in Nicaragua**. Dent and Sons, London, England. 403p.
- Bentley, B.L. 1977. The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixa orellana* L. (Bixaceae). **Journal of Ecology** 65: 27-38.
- Blüthgen, N.; Menzel, F.; Hovestadt, T.; Fiala, B. & Blüthgen, N. 2007. Specialization, constraints and conflicting interests in mutualistic networks. **Current Biology** 17: 341– 346.
- Bronstein, J.L. 1994. Our current understanding of mutualism. **The Quarterly Review of Biology** 69: 31-51.
- Bronstein, J.L. 1998. The Contribution of ant-plant protection studies to our understanding of mutualism. **Biotropica** 30: 150–161.
- Byk, J. & Del-Claro, K. 2011. Ant-plant interaction in the Neotropical Savanna: direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. **Population Ecology** 53: 327–332.
- Del-Claro, K. 2004. Multitrophic Relationships, Conditional Mutualisms, and the Study of Interaction Biodiversity in Tropical Savannas. **Neotropical Entomology** 33(6): 665-672.

- Del-Claro, K.; Berto, V. & Réu, W. 1996. Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). **Journal of Tropical Ecology** 12: 887-892.
- Del-Claro, K.; Torezan-Silingardi, H.M; Belchior, C. & Alves-Silva, E. 2009. Ecologia Comportamental: uma ferramenta para a compreensão das relações animal-plantas. **Oecologia Brasiliensis** 13(1): 16-29.
- Díaz-Castelazo, C.; Rico-Gray, V.; Ortega, F. & Ángeles, G. 2005. Morphological and Secretary Characterization of Extrafloral Nectaries in Plants of Coastal Veracruz, Mexico. **Annals of Botany** 96(7): 1175-1189.
- Díaz-Castelazo, C.; Guimarães Jr., P.R.; Jordano, P.; Thompson, J.N.; Marquis, R.J & Rico-Gray, V. 2010. Changes of a mutualistic network over time: reanalysis over a 10-year period. **Ecology** 91(3): 793-801.
- Elias, T.S. 1983. Extrafloral Nectaries: their structure and distribution. In: Bentley, B. & Elias, T.S. (eds.) **The Biology of Nectaries**. New York, Columbia University Press. p. 174-203.
- Fernandes, G.W.; Fagundes, M.; Greco, M.K.B.; Barbeiro, M.S. & Santos, J.C. 2005. Ants and their effects on an insect herbivore community associated with the inflorescences of *Byrsonima crassifolia* (Linnaeus) H.B.K. (Malpighiaceae). **Revista Brasileira de Entomologia** 49: 264-269.
- Fiala, B. & Maschwitz, U. 1991. Extrafloral nectaries in the genus *Macaranga* (Euphorbiaceae) in Malaysia: comparative studies of their possible significance as predispositions for myrmecophytism. **Biology Journal of the Linnean Society** 44: 287-305.
- González-Teuber, M. & Heil, M. 2009. Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. **Plant Signaling & Behavior** 4: 809-813.
- Guimarães Jr, P.R.; Rico-Gray, V.; Reis, S.F. & Thompson, J.N. 2006. Asymmetries in specialization in ant-plant mutualistic networks. **Proceedings of the Royal Society: Biological Science** 273: 2041–2047.

- Guimarães Jr, P.R.; Rico-Gray, V.; Oliveira, P.S.; Izzo, T.J.; dos Reis, S.F. & Thompson, J.N. 2007. Interaction intimacy affects structure and coevolutionary dynamics in mutualistic networks. **Current Biology** 17: 1-7.
- Hölldobler, B. & Wilson, E.O. 1990. **The ants**. Harvard University Press, Cambridge, MA. 732p.
- Horvitz, C.C. & Schemske, D.W. 1984. Effects of ants and attended herbivore on seed production of a neotropical herb. **Ecology** 65: 1369–1378.
- Jordano, P.; Bascompte, J. & Olesen, J. 2003. Invariant properties in coevolutionary networks of plant–animal interactions. **Ecology Letters** 6: 69–81.
- Kersch, M.F. & Fonseca, C.R. 2005. Abiotic factors and the conditional outcome of an ant-plant mutualism. **Ecology** 86:2117-2126
- Koptur, S. 1992. Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. p. 81-129. In: Bernays, E. (ed.) **Insect-Plant Interactions**. Boca Raton, CRC Press. p. 85-132.
- Lewinsohn, T.M.; Prado, P.I.; Jordano, P.; Bascompte, J. & Olesen, J. 2006. Structure in plant–animal interaction assemblages. **Oikos** 113: 174–184.
- Machado, S.R.; Morellato, L.P.C.; Sajo, M.G. & Oliveira, P.S. 2008. Morphological patterns of extrafloral nectaries in woody plant species of the Brazilian Cerrado. **Plant Biology** 10: 660-673.
- Marquis, R.J. & Braker, H.E. 1994. Plant-herbivore interactions: diversity, specificity, and impact. In: McDade, L.A.; Bawa, K.S.; Hespenheide, H.A. & Hartshorn, G.S. (eds.) **La Selva: Ecology and natural history of a Neotropical rain forest**. Chicago, Chicago Press. p 261-281.
- McCann, K.V. 2000. The diversity-stability debate. **Nature** 405: 228-233.
- Mody, K. & Linsenmair, E. 2004. Plant-attracted ants affect arthropod community structure but not necessarily herbivory. **Ecology Entomology** 29: 217-225.

Moreira, V.S.S. & Del-Claro, K. 2005. The outcomes of an ant-treehopper association on *Solanum lycocarpum* St. Hill: Increased membracid fecundity and reduced damage by chewing herbivores. **Neotropical Entomology** 34(6): 881-887.

Nascimento, E.A. & Del-Claro, K. 2010. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical Savanna. **Flora** 205: 754-756.

O'Dowd, D.J. & Catchpole, E.A. 1983. Ants and extrafloral nectaries: no evidence for plant protection in *Helichrysum spp.* - ant interactions. **Oecologia** 59: 191-200.

Oliveira, P.S. & Leitão-Filho, H.F. 1987. Extrafloral nectaries: Their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of Cerrado vegetation in Southeast Brazil. **Biotropica** 19: 140-148.

Oliveira, P.S.; Silva, A.F. da & Martins, A.B. 1987. Ant foraging on extrafloral nectaries of *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) in Cerrado vegetation: ants as potential antiherbivore agents. **Oecologia** 74: 228-230.

Oliveira, P.S.; Rico-Gray, V.; Díaz-Castelazo, C. & Castillo-Guevara, C. 1999. Interaction between ants, extrafloral nectaries and insect herbivores in Neotropical coastal sand dune: herbivore deterrence by visiting ants increases fruit set in *Opuntia stricta* (Cactaceae). **Functional Ecology** 13: 623-631.

Oliveira, P.S. & Del-Claro, K. 2005. Multitrophic Interactions in a Neotropical Savanna: Ant-hemipteran systems, Associated Insect Herbivores, and a Host Plant. In: Burslem, D.F.R.P.; Pinard, M.A. & Hartley, S.E. (eds.) **Biotic Interactions in the Tropics**. Cambridge: Cambridge University Press. p. 414-438.

Oliveira, P.S.; Sendoya, F.S. & Del-Claro, K. 2012. Defesas bióticas contra herbívoros em plantas de Cerrado: interações entre formigas, nectários extraflorais e insetos trofobiontes. In: Del-Claro, K. & Torezan-Silingardi, H. (eds.) **Ecologia das Interações Plantas-Animais: uma abordagem, ecológico-evolutiva**. Technical Books Editora. Rio de Janeiro, Brasil. p. 155-165.

Rashbrook, V.K.; Compton, S.G. & Lawton, J.H. 1992. Ant-herbivore interactions: reasons for the absence of benefits to a fern with foliar nectaries. **Ecology** 73(6): 2167-2174.

Rico-Gray, V. 1989. The importance of floral and circumfloral nectar to ants inhabiting dry tropical lowlands. **Biological Journal of the Linnean Society** 38: 173–181.

Rico-Gray, V.; García-Franco, J.G.; Palacios-Rios, M.; Díaz-Castelazo, C.; Parra-Tabla, V. & Navarro, J.A. 1998. Geographical and seasonal variation in the richness of ant–plant interactions in Mexico. **Biotropica** 30: 190–200.

Rico-Gray, V. & Oliveira, P.S. 2007. **The ecology and evolution of ant-plant interactions**. The University of Chicago Press, Chicago. 331p.

Romero, G.Q. & Vasconcellos-Neto, J. 2004. Spatial distribution patterns of jumping spiders associated with terrestrial bromeliads. **Biotropica** 36: 596–601.

Ruhren, S. & Handel, S.N. 1999. Jumping spiders (Salticidae) enhance the seed production of a plant with extrafloral nectaries. **Oecologia** 119: 227–230.

Santos, J.C. & Del-Claro, K. 2001. Interactions between ants, herbivores and extrafloral nectaries in *Tocoyena formosa* (Cham. e schlechtd) K. schum. (rubiaceae) in Cerrado vegetation. **Revista Brasileira de Zoociências** 3(1): 35–44.

Snyder, W.E. & Wise, D.H. 2001. Contrasting trophic cascades generated by a community of generalist predators. **Ecology** 82: 1571–1583.

Sugiura, S. 2010. Species interactions-area relationships: biological invasions and network structure in relation to island area. **Proceedings of the Royal Society: Biological Science**. February: 1–9.

Suzuki, N.; Ogura, K. & Katayama, N. 2004. Efficiency of herbivore exclusion by ants attracted to aphids on the vetch *Vicia angustifolia* L. (Leguminosae). **Ecological Review** 19: 275–282.

Von Wettstein, R. 1889. Über die compositen der österreichisch-ungarischen. Flora mit zuckerabscheidenden Hüllschuppen. Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. **Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe** 1(97): 570–589.

Wirth, R. & Leal, I.R. 2001. Does rainfall affect temporal variability of ant protection in *Passiflora coccinea*? **EcoScience** 8: 450–53.

CAPÍTULO 1

CHANGES OF A MUTUALISTIC NETWORK OVER TIME AND ITS INFLUENCE ON OUTCOME OF INTERACTIONS

(Manuscrito elaborado de acordo com as normas do periódico Arthropod-Plant Interactions)

Lange, D.¹ & Del-Claro, K.²

¹ Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil. deniselange@yahoo.com.br

² Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. Cx.P. 593, CEP 38400-920, Brasil. delclaro@ufu.br

Abstract

Despite studies which describe the pattern of ecological interactions as common in literature very little is known about the results of interactions involving networks. Here we describe the structure of the network of associations between ants and plants with extrafloral nectaries (EFNs), including the results of interactions. A module plant community was focused on with the most abundant species of a neotropical savanna and the effect of this interaction in leaf herbivory was checked over two years. The network of interaction found in this study is similar to others found in literature: nestedness and low degree of specialization. This pattern remained over time although there were changes in network connectance and species degree. Our results confirm the protective effect of ants on the community of plants bearing EFNs, although there was a variation in the effectiveness of this protection in the two years of study. We suggest that variations in the abundance of ants in plants and changes in network properties over time can interfere in the protection of the ants on leaf herbivory of plants with EFNs.

Keywords: ant-plant interaction, biotic defense, community, herbivory, Cerrado, Brazil.

INTRODUCTION

As a matter of fact plant-animal mutualisms permeate nature and are the basic ecological process in many terrestrial ecosystems. The studies of plant-animal interactions enable not only the understanding of ecological systems, but also their management and conservation (Bronstein et al. 2006; Vázquez et al. 2009). Recently, ecologists and evolutionary biologists have pointed out that plant-animal interactions occur in a community context of complex ecological interactive networks, and that the understanding of who

interacts with whom in these systems is a key approach to draw valid conclusions about evolutionary processes in community ecology (Thompson 2005; Bascompte and Jordano 2007; Ings et al. 2009; Guimarães et al. 2011).

Previously studied mutualistic networks (most plant-pollinator or seed disperser), as reviewed by Vázquez et al. (2009), usually present common structural features: a) the connectance – proportion of potential interspecific interactions that are actually performed is low (Jordano 1987); b) there are more animals linked to plants than plants associated with animals in the networks (Blüthgen et al. 2007); c) the degree – the number of other species to which a given species is linked – is strongly variable and most species have few links and some have many links (Jordano et al. 2003); d) plant-animal mutualistic interactions are usually asymmetric – species with low degree (‘specialists’) tend to interact with highly connected species (‘generalist’; Vázquez and Aizen 2004); e) mutualistic networks tend to be nestedness – species with low connectivity interact with a subset of interactive partners of high connectivity (Bascompte et al. 2003) and low specialization (Blüthgen et al. 2007); and f) mutualistic networks tend to be combined - there are clear defined groups of species (compartments or modules) with many intragroup links and few intergroup links (Lewinsohn et al. 2006; Fortuna et al. 2010; Mello et al. 2011). Thus, evolutionary ecologists are becoming increasingly interested in networks as a framework to study plant-animal mutualisms within their ecological context (see Bascompte and Jordano 2007 for a review). However, despite the fact that the study of networks has highlighted important insights into the structure of these interactions, the mechanisms behind these patterns are still relatively unknown (Vázquez et al. 2009). Some authors discuss that long term studies (e.g. intergenerational and/or temporal variation studies) and manipulative experiments inside networks are ‘fruitful avenues’ for future research on the mechanics of observed patterns in ecological networks (Ings et al. 2009).

Although common and widespread in terrestrial ecosystems, extrafloral nectar-mediated ant-plant mutualisms have only recently been the focus of network analysis (Guimarães et al. 2006, 2007; Blüthgen et al. 2007; Díaz-Castelazo et al. 2010; Sugiura 2010; see also Fonseca and Ganade 1996). However, ant-plant relationships are amongst the most temporally and spatially variable mutualistic interactions that have been studied (Rico-Gray and Oliveira 2007). In addition to this, several authors have shown that these types of interactions are good models for manipulative studies (e.g. Del-Claro and Oliveira 2000; Del-Claro 2004). Both are desirable characteristics to attend the now existing research demands in mutualistic networks (Ings et al. 2009). To outline these systems, ants are the main organisms

linked to plant biotic defenses against herbivores and the commonest resource plants offer to attract ants is extrafloral nectar (EFN), a liquid substance rich in carbohydrates with dilute concentrates of amino acids, lipids, phenols, alkaloids and volatile organic compounds (González-Teuber and Heil 2009). The attracted ants may provide plants with effective protection against natural enemies (Rosumek et al. 2009 and citations therein), and the carbohydrates of EFNs have been suggested to be key resources for arboreal ants (Davidson et al. 2003). Ants feeding on EFNs increased their survivorship, colony growth and reproduction (Byk and Del-Claro 2011). Extrafloral nectaried plants occur in at least 93 families and 332 genera (Koptur 1992). However these mutualistic ant-plant interactions are highly facultative and may vary in time and space (Rico-Gray 1993, Del-Claro 2004; Bronstein et al. 2006) some authors suggest that these variations are dependent upon the characteristics of the ant species (Davidson and McKey 1993; Floren et al. 2002; Byk and Del-Claro 2010), density of ants (Horvitz and Schemske 1984; O'Dowd and Catchpole 1983; Rashbrook et al. 1992), herbivore defensive strategy (Floren et al. 2002), as well as the plant species involved (Blüthgen et al. 2000).

Although studies exploring the outcomes of this type of mutualistic interactions are relatively common in literature (Del-Claro 2004; Rico-Gray and Oliveira 2007), most of them have analyzed interactions between small subsets of ants and plants during a brief time (Bentley 1977; Horvitz and Schemske 1984; Mody and Linsenmair 2004; Suzuki et al. 2004; Moreira and Del-Claro 2005). Few studies that directly investigated the effects of ants and EFN-bearing plants associations on communities, suggest that EFNs may influence species composition, abundance, and interactions at the community scale (Rico-Gray et al. 1998; Blüthgen et al. 2000, 2004; see also Rico-Gray and Oliveira 2007). Multitrophic interactions play key roles in the origin and maintenance of species diversity, and the study of these interactions has contributed to important advances in theoretical ecology and evolutionary biology (Dyer et al. 2010). According to Jordano (2010), “the structure of multispecies interactions resembles other complex networks and is central to understanding its evolution and the consequences of species losses for the persistence of the whole network. These patterns suggest both precise ways on how coevolution goes on beyond simple pairwise interactions and scales up to whole communities”.

The Brazilian tropical savanna, the Cerrado, is host to a great abundance and diversity of ant-plant-herbivore relationships (e.g. Oliveira and Freitas 2004; Del-Claro and Torezan-Silingardi 2009). Most studies conducted in this biome focus on the common pattern of analyzing interactions between small subsets of ants and one plant species in a short time (e.g.

Nascimento and Del-Claro 2010), despite the fact that it represents a good system where we could test the effects of temporal variation and manipulative experimentation (e.g. ant-exclusion experiments) in a mutualistic network. Lewinsohn et al. (2006) proposed that plant-animal interaction networks should be shaped by a combined structure superimposed with a nested structure within compartments. That is, there are clearly defined groups of species (compartments or modules) with many intragroup links and few intergroup links in mutualistic network. However, if patterns observed in general mutualistic networks act in the same way as inside the modules, it is a matter of question. Ant-extrafloral nectaried plant networks provide the opportunity to test not only this point, but also the effects of temporal variation on the network and their outcomes on the benefit of interactions, simultaneously.

In studied mutualistic networks, the most abundant plant species in the core of interactions represent generalist species to whom most generalists and specialists animals are linked, so they can be considered a main module in the network (Lewinsohn et al. 2006; Vázquez et al. 2009). Particularly, in ant-plant networks the variation in ant core seems to produce more variation in the network structure than in plants, whose diversity is less variable through time (Díaz-Castelazo et al. 2010). Thus, here we restricted our study in Cerrado to the main module of an ant-extrafloral nectaried plant network. We fixed the connectance matrix on the core of plants, selecting only the most abundant EFNs-bearing trees in the study site. Considering that EFNs may influence ant species composition, abundance, and interactions at the community scale (Rico-Gray et al. 1998; Blüthgen et al. 2000, 2004; Heil et al. 2001), we hypothesized that in this mutualistic network: a) modules will present the same general characteristics as the whole network, mainly nestedness and asymmetry; b) the degree distribution (the frequency distribution of the number of interactions per species) and species degree (the number of different species a certain species interacts with) will vary over time; and c) the temporal variation in internal modules of a network will reflect the outcome of interactions between connected species. This type of study may highlight the importance of considering variation in time and species effects (i.e. natural history, morphology, phenology and behavior) in the evolutionary ecology attempts to understand the patterns behind the topological features of mutualistic networks.

MATERIAL AND METHODS

Study site and plant core characterization

Field study was conducted between September of 2008 and April of 2010 in a natural Savanna reserve (The Private Reserve of the Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia/CCPIU - 48°17' W; 18°58' S) in Uberlândia, Minas Gerais State, south-eastern Brazil. The vegetation is dominated by cerrado *strictu sensu*, consisting of trees 2-8 m in height, with an understory dominated by shrubs, grasses and scattered perennial herbs. The climate in the region is rainy and humid from September to April and dry from May to August (see Réu and Del-Claro 2005, for a more detailed characterization of the area).

Extrafloral nectaried plants are present in at least 25% of species and 31% of individuals in a Cerrado area (Oliveira and Leitão-Filho 1987). In CCPIU the most abundant EFN-tree species are: *Caryocar brasiliense* (A. St.-Hil) (Caryocaraceae), *Lafoensia pacari* (A. St.-Hil.) (Lythraceae), *Ouratea spectabilis* (Mart.) Engl. (Ochnaceae), *O. hexasperma* (A. St.-Hil.) Baill (Ochnaceae), *Qualea grandiflora* (Mart.) (Vochysiaceae), *Q. multiflora* (Mart.) (Vochysiaceae), *Q. parviflora* (Mart.) (Vochysiaceae), *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae) and *S. polyphyllum* (Mart.) (Fabaceae) (see Appolinario & Shiavini 2002). The description of the location of EFNs in each species, as well as its morphology is in Oliveira & Leitão-Filho (1987) and Machado et al. (2008), respectively. Thus they were chosen to be our main and fixed plant module. The major part of these species had already been the topic of punctual studies (e.g. Oliveira et al. 1987; Costa et al. 1992; Del-Claro et al. 1996; Oliveira 1997; Körndorfer and Del-Claro 2006; Sendoya et al. 2009; Nahas et al. 2012).

Field observations and data collection

To know which ant species visit the EFNs of each plant species and the effect of these ants on the foliar herbivory of species simultaneously, we conducted a long term experimental manipulation. To achieve that, in August of 2008, 30 individuals of each species with the same visual aspects (2-3 m tall, with similar number of stems and phenology –without young leaves, buds, flowers and/or fruits) were selected. In each individual we also selected two similar stems (80 cm long) that were randomly designated as treatment or control. The treatment stems received a band of adhesive paper covering the whole circumference of the stem in its insertion with the trunk, and over it was applied a lay of non-toxic ant repellent

resin (Tanglefoot®, Rapids, Michigan). Ants were manually removed, as well as all structures that could act as bridges giving access to treatment stems. The control stems also received a band of adhesive paper with resin, however, it covered only half of the stem diameter, enabling ants to continue walking on the stem. In September of 2008 and 2009, in each stem of each individual, we tagged nine leaves. Three leaves were randomly chosen in each part of stem: apex, middle and near trunk insertion. The leaf area loss (foliar herbivory) of each leaf was examined monthly up to April 2010. Measurements of herbivory rates on leaves were assessed by placing the leaves on a transparent grid, divided into millimeters. An index of herbivory from each leaf was calculated as the proportion of points in the grid falling within damaged and undamaged areas of the leaf blade (see Dirzo & Domínguez 1995). The monthly herbivory rate corresponded to average of the ratios of leaf damage assessed in the nine leaves. The proportions were evaluated in the field without leaf removal.

Fortnight, firstly between 8:30h and 10:30h and secondly between 14:00h and 16:30h, treatment stems were checked for the integrity of resin barrier and visiting ants from control stems were counted and identified. For the identification of unknown ant species, one individual of each species was placed in 70% alcohol. Ant species were identified in Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo and voucher specimens were deposited at Museu da Biodiversidade do Cerrado at Universidade Federal de Uberlândia.

Data analyses and statistics

To know the network connectivity between plants and ants, one incidence matrix (ants per plants), considering presence or absence of each ant species on each plant species was carried out for each year. The metric factors used to check the properties of network interactions (qualitative) were: connectance; degree of species (k); average degree (for plants and ants); specialization index of the network (sensu Blüthgen et al. 2006); and nestedness index (sensu Almeida-Neto et al. 2008). Net connectance (C) was calculated according to Jordano (1987), where: $C = I / (F * P)$; “ I ” is the total number of interactions observed; “ F ” is the number of ant species; and “ P ” is the number of plant species. Percent values of C were obtained multiplying by 100. The average degree to plants was calculated using the arithmetic media of degrees (= number of interactions in which each species was involved) of all plant species (sensu Dunne 2006); the same was done for ants. The distribution of the degree was graphically represented (vertical bars), where the x-axis shows the number of established interactions (degree) and the y-axis is the number of species (plants or animals). Because the

data were not normally distributed, the comparison of frequency distribution of species per degree for ant and plant was compared through a Kolmogorov-Smirnov two-sample test with the D statistic (see Sokal and Rohlf 1995). The frequency distribution of species in degrees allows for the representation of the generalists and specialists species in networks. Test for differences in frequency distribution of species per degree between networks was calculated using XL-Stat Pro 7.52.

The nestedness index used was NODF (*Nestedness metric based on Overlap and Decreasing Fill*, see Almeida-Neto et al. 2008) calculated by the software ANINHADO 3.0 (Guimarães and Guimarães 2006). The significance of NODF was estimated with a Monte Carlo procedure with 1,000 randomizations, using null model Ce, in which the interaction probability between an ant and a plant is proportional to their total number of interactions. NODF index is strongly recommended due to its theoretical and statistical consistency (Almeida-Neto et al. 2008). The specialization index of the network used was H_2' (sensu Blüthgen et al. 2006), calculated by the software R 2.13.2 (bipartite package) and using a matrix of interaction frequencies of ants species in plants. The H_2' index is a dimensional measure derived from Shannon's index ranging from 0 (extreme generalization) to 1.0 (extreme specialization) (Blüthgen et al. 2006; Blüthgen 2012). Finally, a bipartite graph of ant-plant interactions was constructed with *Program for Analysis and Visualization of Large Networks* – Pajek 1.27 (Batagelj and Mrvar 1998).

Data from leaf loss area used in statistical analysis were that of April (2009 and 2010). After April the majority of species loses their leaves and a new resprouting begins some time later (see species characteristics in methods). Since these data exhibited normal distribution, they were analyzed with factorial ANOVA, and Tukey post hoc comparison. To compare herbivory between control (with ants) and treatment (excluded-ants) stems in each plant species, we used Student t-test and adjusted with Bonferroni correction. Data of ant abundance were transformed for $\log(x+1)$ and compared with a paired t-test. These statistical analyses were performed in Systat 12.0.

RESULTS

Ant diversity and network features

A total of 31 ant species from 6 subfamilies and 14 genus were associated with the studied EFN-bearing plants between 2009 and 2010 (Table 1). The most common genera were *Camponotus*, *Cephalotes* and *Pseudomyrmex*. Seven species (*Brachymyrmex* sp1, *Camponotus crassus*, *Camponotus blandus*, *Cephalotes pusillus*, *Pseudomyrmex gracilis*, *Pseudomyrmex flavidulus* and *Ectatomma tuberculatum*) were recorded in all plant species, and two of them, *C. crassus* (present in more than 56% of plant individuals) and *C. pusillus* (in more than 45% of plant individuals), were the ant species with higher abundance and frequency (Table 1). The highest richness of associated ant species was observed in *S. adstringens*, *S. polyphyllum* and *Q. grandiflora* exhibiting 61.3% of all ant species linked (N = 19 species); followed by *O. hexasperma* (58%, N=18 species), *Q. parviflora* (54.8%, N = 17 species), *Q. multiflora* and *O. spectabilis* (51.6%, N=16 species); *C. brasiliense* (45.1%, N=14 species) and *L. pacari* (41.9%, N=13 species).

There was a change in the network interaction over time. In 2009, the network was composed of 26 ant species. Two species, *Crematogaster bruchi* and *Linepithema aztecoides* were observed only in this year. However, in 2010 the network was enlarged and composed by 29 ant species. Five species (*Camponotus lespesii*, *Camponotus vittatus*, *Cephalotes atratus*, *Forelius brasiliensis* and *Ectatomma planidens*) were recorded only in 2010 (Figure 1). Another five ant species were considered the most generalists, interacting with all plant species in both years: *C. crassus*, *C. blandus*, *C. pusillus*, *P. gracilis* and *P. flavidulus*. Also, with almost equal importance and perhaps as generalist as the other ones, *E. tuberculatum* and *Camponotus trapeziceps* were associated with eight of nine plants in both years. These seven species maintained the same degree (number of links) over time and were also the most frequent according to their presence in the tagged individuals (N=30) of each plant species (Figure 1). The ants *Crematogaster erecta*, *Nesomyrmex spininolis*, *Solenopsis* sp2, *Pachycondyla villosa*, *Pheidole* sp2, *Pheidole* sp1, *Camponotus* sp1, *Gnamptogenys semiferox*, *Cephalotes bruchi* and *Pseudomyrmex* sp1, also maintained their degree. The other 14 species presented degree variation between 2009 and 2010. Some ants were considered specialists, interacting with only one plant species: *Cephalotes* sp1, *Pseudomyrmex* sp2 and *E. edentatum* in both years; *L. aztecoides* and *Pseudomyrmex* sp1 in 2009; and *Cephalotes bruchi*, *C. atratus*, *F. brasiliense* and *G. semiferox* in 2010. As to the plant core, in 2009 *S.*

polyphyllum and in 2010 *Q. grandiflora* and *S. adstringens*, were the plant species that presented the greatest degree, with 17 links in each year. The plant with the lower number of interactions was *L. pacari* with 10 links for each year.

Connectance and Nestedness

Connectance varied over time. In 2010 there was a greater number of ant species interacting with plants, and a greater number of interactions (Table 2). However, in 2009, 53.84% (C) of potential links were performed, while in 2010 this was reduced to 47.89%. Following this tendency, both ant and plant degrees were also higher in 2009 (Table 2). The frequency distribution of degree also varied over time (Figure 2), however, the difference was not significant neither for ants (Kolmogorov-Smirnov, $D = 0.111$; $p > 0.05$) nor to plants (Kolmogorov-Smirnov, $D = 0.059$; $p > 0.05$). The average number of links between networks was similar for plants (Network 2009 = 14 ± 0.745 ; Network 2010 = 13.88 ± 0.790 , mean \pm SE) and ant species (Network 2009 = 4.84 ± 0.62 ; Network 2010 = 4.31 ± 0.579). For ants the degree varied between 1 and 9, but the more common degrees between species were 1, 2, 3, 8 e 9 in both years (Figure 2). For plants the degree varied between 10 and 17, with similar distribution between years.

The bipartite graph (Figure 1) showed a clear asymmetry in the networks for both years. Despite the observed differences in the properties of these two networks (Table 2), both showed nestedness, in 2009 (NODF = 49.14; $p < 0.001$) and 2010 (NODF = 45.11; $p < 0.001$) and low degree of specialization (0.104 and 0.128 for 2009 and 2010, respectively).

Ant-exclusion experiments

Leaf herbivory varied temporally and according to plant species and treatment (Table 3, Appendix 1). Herbivory was higher in 2009 (Figure 3) and ant abundance on plants was higher in 2010 ($t = -2.55$; $p = 0.011$; Figure 5). In general there was significantly greater herbivory in ant-excluded stems in both years (Figure 3). However, only four plant species (*Q. multiflora* and *S. polyphyllum* in 2009; *Q. multiflora*, *Q. grandiflora* and *O. spectabilis* in 2010) had lower leaf area loss in stems visited by ants than ant-excluded stems (Appendix 2). Independently of stem treatment, in both years leaf area loss was significantly higher in *Q. parviflora* and *C. brasiliense*, than in other plant species (Figure 4 and Appendix 3).

DISCUSSION

The temporal variation in network interactions and nestedness in a modular approach

The module that comprises the most abundant and generalist plant species, exhibited the same general patterns of the entire network: nestedness and asymmetry (see Table 2 and Figure 1); and it is maintained over time. Our example and the known ant-plant network of interactions (e.g. Rico-Gray and Oliveira 2007; Bastolla et al. 2009; Díaz-Castelazo et al. 2010) show that these communities are shaped by few abundant and generalist species and by multiple species that are linked to one or a few species. This structure reduces interspecific competition and facilitates ant-plant co-existence, so increasing local biodiversity. In the case of ant-plant extrafloral nectar interaction networks true species-specific interactions are rare (Rico-Gray and Oliveira 2007). However, as our data support, due to occasional ant or plant distribution, differential abundance, capacity of dispersion and colonization, species linked to only one or a few partners in a community are common, and may act, at least temporally, as specialists.

Seasonally, on the same day or over months and years, the ant fauna associated to liquid resources (i.e. extrafloral nectar; honeydew) found on plants may change (Del-Claro and Oliveira 2000; Blüthgen et al. 2000; Rico-Gray and Oliveira 2007). Thus, in this point our results only confirmed an expectation (Díaz-Castelazo et al. 2010) based on punctual studies (e.g. Moreira and Del-Claro 2005). Nevertheless, we also showed that not only ant species changed but also their importance over time, or degree, that is, their main links (plant species to what ants are more or less connected) changed. As regards the plant, temporal or environmental variation in the ant associated species (Figures 1 and 2) may contribute to complementary effects (functional complementarity) on ant services to the plant community (e.g. Del-Claro and Oliveira 2000; Moreira and Del-Claro 2005). In plant-pollinator networks, from the consumer's viewpoint differences in flowering phenology and/or nutritional variation in floral resources may explain a complementary role of different flower species (Blüthgen and Klein 2011). Knowing that temporal and phenological variation also occur in extrafloral nectar production (Rico-Gray and Oliveira 2007; Byk and Del-Claro 2011) the same could be expected from studies of ant-plant systems.

Although connectance was reduced from 2009 to 2010, it was probably an effect of the absence in 2010 of one highly connected ant species observed in 2009 (*Crematogaster bruchi*) and the occurrence in 2010 of five different and low connected species in 2010

(Figure 1 and Table 1). However, general patterns were maintained over time, the degree distribution did not exhibit significant variation and the asymmetry remained. Other studies in mutualistic networks (Olesen et al. 2002; Díaz-Castelazo et al. 2010) also evidenced that the incorporating of new species in the network did not interfere in the net structure, thus, new species interact with generalists maintaining the nested aspect of the network. Then, most generalist species in the network (hubs - those with a large number of interactions) become responsible for the maintenance of network property (see also Bastolla et al. 2009; Mello et al. 2011). According to Mello et al. (2011), hub species are essential to the functioning and endurance of the system as a whole.

The importance of generalist species to maintain the network structure of the present study could be evidenced in the distribution of ant species degrees in which more generalist species of the two networks (*C. crassus*, *C. blandus*, *C. pusillus*, *P. gracillis*) maintained their positions in the hierarchy and degree of the network in two years of the study. These species also exhibited a high interaction degree (Figure 1) showing a high frequency in the studied plants (Table 1). The existence of few dominant species and many non-dominant (subordinate and opportunistic species, according to Hölldobler and Wilson 1990) in the community contributes to the increase of the coexistence of these species in plants and, consequently, with the nestedness pattern of the network. On the other hand, hierarchically superior species tend to dominate the resource with the highest quality and are more abundant, as the model predicts the dominance hierarchy (see Blüthgen et al. 2004). Therefore, interspecific competition in ant community can explain the nested pattern found in the Cerrado and in studies evaluating the structure of interaction between ants and plants with EFNs (Guimarães et al. 2006, 2007; Blüthgen et al. 2007; Diaz Castelazo, et al. 2010; Sugiura 2010).

Although the default network has been maintained over time, about 50% of plant species and ants had their degree changed. This fact can be explained by the variation in the attractiveness of plant species as well as the dynamics of ant community. Several authors observed variation in EFNs bearing-plant attractiveness to ants and related this variation to soil quality, plant biology and herbivory level (Rico-Gray et al. 1998; Heil et al. 2001; Blüthgen et al. 2004; Korndörfer and Del-Claro 2006). Indeed, non-published data (Lange et al. in prep.) collected in the same study site pointed out that this plant community exhibits a strong variation in nectar production and sugar concentration: species and plants of a same species may exhibit significant variation in nectar volume and sugar concentration in different times of day and over time (González-Teuber and Heil 2009; Byk and Del-Claro 2011).

Although it has been observed variation in the species degree of ants and plants between the years studied, nestedness, the asymmetry and specialization degree of the network maintained similar rates (Table 2). This result reinforces the idea that the general pattern of the network between ants and plants with EFNs does not vary over time despite changes to internal network (species degree and connectance). The specialization degree is another factor that proves the maintenance of the standard network. In this study, the degree of specialization of the two networks is similar to that seen in other networks involving interactions between ants and plants with EFNs (see Blüthgen et al. 2007; Blüthgen 2012). According to the same authors, despite the existence of interspecific competition among ants for best resources (plants that produce nectar with higher quality), each ant visits such plants only for short periods of time, and not necessarily nesting on the plants, making interactions between ant and plant with EFNs non specialized (H_2' low). Despite the growing number of studies involving networks in studies of animal-plant interactions, new perspectives suggest that we should consider species basic features and include in the analysis aspects of natural history, population biology and behavioral ecology of linked species to better understand the patterns found in these networks (Torezan-Silingardi 2012).

Experimental manipulation: mechanisms behind patterns

Most ant-plant experimental manipulative studies were historically directed to evidence ant benefits to plants and were carried out in systems exhibiting a unique producer (reviewed by Rosumek et al. 2009). Only recently was the viewpoint of ant fitness adequately explored (Lach et al. 2009; Byk and Del-Claro 2011), and the present study is the first one looking experimentally for the ant beneficial effect on the main module of an ant-plant interaction network. Our results indicate that some general patterns viewed in singular systems also are present in a network module. For example: a) the variation over time in the outcomes of benefits observed on the core of plant species (Figure 3) also occurs when analyzing single species (Figure 4; e.g. Rico-Gray 1993; Del-Claro 2004; Bronstein et al. 2006); b) the assembly of ant species linked to plant species varied between years as in a network (Figure 1) as in single ant-plant association (e.g. Del-Claro and Oliveira 2000). We must consider that this depends on ant species features such as abundance (Figure 5), dispersion capacity, size, aggressiveness behavior (e.g. Davidson and McKey 1993; Blüthgen et al. 2000; Oliveira and Del-Claro 2005; Stanton and Palmer 2011) and also on herbivores defensive strategies (Floren et al. 2002; Sendoya et al. 2009).

Several authors have associated the outcome of mutualism between ants and plants to the behavior of the ant species involved (Davidson and McKey 1993, Byk and Del-Claro 2011, Stanton and Palmer 2011). As pointed out by other studies in the Cerrado biome (Del-Claro et al. 1996; Oliveira et al. 1987; Sendoya et al. 2009), *Camponotus* species were the main defenders in these ant–plant interactions. Species of this genus are very agile and aggressive, feeding not only on the extrafloral nectaries, but also preying upon small arthropods (Nascimento and Del-Claro 2010). Species of *Pseudomyrmex* genus are abundant on the vegetation and are considered strictly arboreal, feeding and nesting in plants (Hölldobler and Wilson 1990). Some ant species, such as those in the genus *Cephalotes*, despite abundant in tropical systems do not benefit the plants, being considered parasitic ant-plant systems (Sendoya et al. 2009; Byk and Del-Claro 2010).

On the other hand, differences in the use of arboreal sugars by dominant and non-dominant ants (discussed in the previous section) suggest that arboreal sugar composition may affect ant assemblage composition and thus the range of ecological functions performed by those ants (Gibb and Cunningham 2009). The variation in the attractiveness of plant species for the ants together with the physical and chemical defenses of plants, may explain the observed variation in percentage of herbivory between species recorded over time.

As mentioned earlier, attractiveness is related to biotic and abiotic factors which vary temporally. This variation was evident in both species degrees of plant and herbivory between years. According to Del-Claro and Oliveira (2000), the temporal variation in the biotic and abiotic conditions of the Cerrado environment can have a great influence on the results of mutualistic interactions. In this sense, we showed that ant presence had a strong positive effect on the herbivory of the plant community. In this facultative mutualistic interaction (sensu Schemske 1982) several ant species are involved in the relationship and the outcomes of the interaction can be related to several factors, including behavior of associated ant species, as well as temporal variation (Del-Claro 2004; Heil and McKey 2003).

In conclusion, the outcome of ant-plant interactions depends on species-specific interactions. However, the results of this study showed that what can be manipulatively experienced in single systems, can also be done to compartments in network interactions providing a more general and broader vision of the processes occurring in the entire community. Moreover, it can also increase our knowledge about the importance of variation in the results overtime and of spatial changes in mutualistic systems (“remix of species”), affecting the mosaic structure of mutualistic communities and biodiversity (e.g. Thompson 2005).

Acknowledgments

We wish to thank CCPIU for the use of the Cerrado reserve, the MZUSP – R. Feitosa for his support in the identification of ant-species, and H.M. Torezan-Silingardi, M.O. Gonzaga, N. Leiner, J.C. Santos, W.D. Fernandes and T. Cornelissen for their comments and suggestions on the manuscript. We also wish to recognize the *Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES)* (D. Lange, doctoral fellowship) and *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)* (K. Del-Claro research grant), for financial support.

REFERENCES

- Almeida-Neto M, Guimarães PR, Guimarães P, Loyola RD, Ulrich W (2008) A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and measurement. *Oikos* 117:1227–1239
- Appolinario V, Shiavini I (2002) Levantamento fitossociológico de espécies arbóreas de cerrado (*stricto sensu*) em Uberlândia, Minas Gerais. *Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer* 10:57-75
- Bascompte J, Jordano P, Melián CJ, Olesen JM (2003) The nested assembly of plant–animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 100:9383–9387
- Bascompte J, Jordano P (2007) Plant–animal mutualistic networks: the architecture of biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 38:567–593
- Bastolla U, Fortuna MA, Pascual-Garcia A, Ferrera A, Luque B, Bascompte J (2009) The architecture of mutualistic networks minimizes competition and increases biodiversity. *Nature* 458: 1018-1021
- Batagelj V, Mrvar A (1998) Pajek - Program for Large Network Analysis. *Connections* 21(2):47-57
- Bentley BL (1977) The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixa orellana* L. (Bixaceae). *Journal Ecology* 65:27-38

Blüthgen N (2012) Interações plantas-animais e a importância funcional da biodiversidade. In: Del-Claro K, Torezan-Silingardi HM (eds.) Ecologia das interações Animais-Plantas: Interações Planta-Animais e a importância funcional da biodiversidade. Technical Books Editora. Rio de Janeiro, Brasil. p. 261-272

Blüthgen N, Verhaagh M, Goitia W, Jaffe K, Morawetz W, Barthlott W (2000) How plants shape the ant community in the Amazonian rainforest canopy: the key role of extrafloral nectaries and homopteran honeydew. *Oecologia* 125:229–240

Blüthgen N, Stork NE, Fiedle K (2004) Bottom-up control and co-occurrence in complex communities: honeydew and nectar determine rainforest ant mosaic. *Oikos* 106:344–358

Blüthgen N, Menzel F, Blüthgen N (2006) Measuring specialization in species interactions networks. *BMC. Ecology* 6:9

Blüthgen N, Menzel F, Hovestadt T, Fiala B, Blüthgen N (2007) Specialization, constraints, and conflicting interests in mutualistic networks. *Current Biology* 17:341– 346

Blüthgen N, Klein AM (2011) Functional complementarity and specialization: Why biodiversity is important in plant-pollinator interactions. *Basic and Applied Ecology* 12(4):282-291

Bronstein JL, Alarcón R, Geber M (2006) The evolution of plant-insect mutualism. *New Phytologist* 172:412-428

Byk J, Del-Claro K (2010) Nectar- and pollen-gathering *Cephalotes* ants provide no protection against herbivory: a new manipulative experiment to test ant protective capabilities. *Acta Ethologica* 13:33-38

Byk J, Del-Claro K (2011) Ant-plant interaction in the Neotropical savanna: direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. *Population Ecology* 53(2):327-332

Costa FMCB, Oliveira-Filho AT, Oliveira PS (1992) The role of extrafloral nectaries in *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) in limiting herbivory: an experiment of ant protection in cerrado vegetation. *Ecological Entomology* 17:363-365

Davidson DW, McKey D (1993) The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationship. *Journal of Hymenoptera Research* 2:13-83

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

Del-Claro K (2004) Multitrophic Relationships, Conditional Mutualisms, and the Study of Interaction Biodiversity in Tropical Savannas. *Neotropical Entomology* 33(6):665-672

Del-Claro K, Berto V, Réu WF (1996) Effect Of Herbivore Deterrence By Ants On The Fruit Set Of An Extrafloral Nectary Plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). *Journal of Tropical Ecology* (12):887-892

Del-Claro K, Oliveira PS (2000) Conditional outcomes in a neotropical treehopper-ant association: temporal and species-specific variation in ant protection and homopteran fecundity. *Oecologia* 124:156-165

Del-Claro K, Torezan-Silingardi HM (2009) Insect-Plant Interactions: New Pathways to a Better Comprehension of Ecological Communities in Neotropical Savannas. *Neotropical Entomology* 38(2):159-164

Díaz-Castelazo C, Guimarães PR, Jordano P, Thompson JN, Marquis RJ, Rico-Gray V (2010) Changes of a mutualistic network over time: reanalysis over a 10-year period. *Ecology* 91(3):793-801

Dirzo R, Domingues C (1995) Plant-animal interactions in Mesoamerican tropical dry forest. In: Bullock SH, Money SH, Medina HA (eds.) *Seasonally dry tropical forests*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 304-325

Dunne JA (2006) The Network Structure of Food Webs. In: Pascual M, Dunne JA (eds.) *Ecological Networks: linking structure to dynamic in food webs*. Oxford University Press, Oxford, UK. p. 325-347

Dyer LA, Walla TR, Greeney HF, Stireman JO, Hazen RF (2010) Diversity of Interactions: A Metric for Studies of Biodiversity. *Biotropica* 42(3):281–289

Floren A, Biun A, Linsenmair EK (2002) Arboreal ants as key predators in tropical lowland forest trees. *Oecologia* 131:137-144

Fonseca CR, Ganade G (1996) Asymmetries, compartments and null interactions in an Amazonian ant–plant community. *Journal of Animal Ecology* 65:339–347

- Fortuna MA, Stouffer D, Olesen JM, Jordano P, Mouillot D, Krasnov B, Poulin R, Bascompte J (2010) Nestedness versus modularity in ecological networks: two sides of the same coin? *Journal of Animal Ecology* 79:811-817
- Gibb H, Cunningham SA (2009) Arboreal sugars affect ecological dominance in ant assemblages across a restoration chronosequence. *Insects Sociaux* 56:405-412
- González-Teuber M, Heil M (2009) Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. *Plant Signaling & Behavior* 4:809-813
- Guimarães PR, Guimarães P (2006) Improving the analyses of nestedness for large sets of matrices. *Environmental Modelling Software* 21:1512–1513
- Guimarães PR, Rico-Gray V, Reis SF, Thompson JN (2006) Asymmetries in specialization in ant–plant mutualistic networks. *Proceedings of the Royal Society B* 273:2041–2047
- Guimarães PR, Rico-Gray V, Oliveira PS, Izzo TJ, dos Reis SF, Thompson JN (2007) Interaction intimacy affects structure and coevolutionary dynamics in mutualistic networks. *Current Biology* 17:1-7
- Guimarães PR, Jordano P, Thompson JN (2011) Evolution and coevolution in mutualistic networks. *Ecology Letters* 1-9
- Heil M, McKey D (2003) Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology and Systematics* 34:425–453
- Heil M, Koch T, Hilpert A, Fiala B, Boland W, Lisenmair KE (2001) Extrafloral nectar production of the ant-associated plant, *Macaranga tanarius*, is an induced, indirect, defensive response elicited by jasmonic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 98:1083-1088
- Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The ants*. Harvard University Press, Cambridge, MA
- Horvitz CC, Schemske DW (1984) Effects of ants and attended herbivore on seed production of a neotropical herb. *Ecology* 65:1369–1378
- Ings TC, Montoya JM, Bascompte J, Bluthgen N, Brown L, Dormann CF (2009) Ecological networks – beyond food webs. *Journal Animal Ecology* 78:253–269

- Jordano P (1987) Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: connectance, dependence, and coevolution. *American Naturalist* 129:657-677
- Jordano P (2010) Coevolution in multi-specific interactions among free-living species. *Evolution: Education and Outreach* 3:40-46
- Jordano P, Bascompte J, Olesen J (2003) Invariant properties in coevolutionary networks of plant–animal interactions. *Ecology Letters* 6:69–81
- Koptur S (1992) Extrafloral nectary mediated interactions between insects and plants. In: Bernays E (ed.) *Insect–plant interactions*. CRC Press, Boca Raton. p. 81-129
- Korndörfer AP, Del-Claro K (2006) Ant defense versus induced defense in *Lafoensia pacari* (Lythraceae), a myrmecophilous tree of the Brazilian cerrado. *Biotropica* 38:786-788
- Lach L, Hobbs ER, Majer EJD (2009) Herbivory-induced extrafloral nectar increases native and invasive ant worker survival. *Population Ecology* 51:237–243
- Lewinsohn TM, Prado PI, Jordano P, Bascompte J, Olesen J (2006) Structure in plant–animal interaction assemblages. *Oikos* 113:174–184
- Machado SR, Morellato LPC, Sajo MG, Oliveira PS (2008) Morphological patterns of extrafloral nectaries in woody plant species of the Brazilian cerrado. *Plant Biology* 10:660-673
- Mello MAR, Santos GMM, Mechi MR, Hermes MG (2011) High generalization in flower-visiting networks of social wasps. *Acta Oecologica* 167:131-140
- Mody K, Linsenmair E (2004) Plant-attracted ants affect arthropod community structure but not necessarily herbivory. *Ecology Entomology* 29:217-225
- Moreira VSS, Del-Claro K (2005) The outcomes of an ant-treehopper association on *Solanum lycocarpum* St. Hill: Increased membracid fecundity and reduced damage by chewing herbivores. *Neotropical Entomology* 34(6):881-887
- Nahas L, Gonzaga MO, Del-Claro K (2012) Intraguild interactions between ants and spiders reduce herbivory in an extrafloral nectaried tree of tropical savanna. *Biotropica* (in press)

Nascimento EA, Del-Claro K (2010) Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. *Flora* 205:754-756

O'Dowd DJ, Catchpole EA (1983) Ants and extrafloral nectaries: no evidence for plant protection in *Helichrysum* ssp. – ant interactions. *Oecologia* 59:191-200

Olesen JM, Eskildsen LI, Venkatasamy S (2002) Invasion of pollination networks on oceanic islands: importance of invader complexes and endemic super generalists. *Diversity and Distributions* 8:181–192

Oliveira PS (1997) The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). *Functional Ecology* 11:323-330

Oliveira PS, Leitão-Filho HF (1987) Extrafloral nectaries: Their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of cerrado vegetation in Southeast Brazil. *Biotropica* 19:140-148

Oliveira PS, Silva AF da, Martins AB (1987) Ant foraging on extrafloral nectaries of *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) in cerrado vegetation: ants as potential antiherbivore agents. *Oecologia* 74:228-230

Oliveira PS, Freitas AVL (2004) Ant-Plant-Herbivore Interactions in the Neotropical Cerrado Savanna. *Naturwissenschaften* 91:557-570

Oliveira PS, Del-Claro K (2005) Multitrophic interactions in a neotropical savanna: Ant-hemipteran systems, associated insect herbivores, and a host plant. In: Burslem DFRP, Pinard MA, Hartley SE (eds.) *Biotic Interactions in the Tropics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p. 414-438

Rashbrook VK, Compton SG, Lawton JH (1992) Ant herbivore interactions: reasons for the absence of benefits to a fern with foliar nectaries. *Ecology* 73(6):2167-2174

Réu WF, Del-Claro K (2005) Natural History and Biology of *Chlamisus minax* Lacordaire (Chrysomelidae: Chlamisinae). *Neotropical Entomology* 34(3):357-362

Rico-Gray V (1993) Use of plant-derived food resources by ants in the dry tropical lowlands of coastal Veracruz, Mexico. *Biotropica* 25:301-315

Rico-Gray V, Palacios-Rios M, Garcia-Franco JG, Mackay WP (1998) Richness and seasonal variation of ant– plant associations mediated by plant-derived food resources in the semiarid Zapotitlan Valley, Mexico. *The American Midland Naturalist* 140:21–26

Rico-Gray V, Oliveira PS (2007) *The ecology and evolution of ant-plant interactions*. The University of Chicago Press, Chicago

Rosumek FB, Silveira FAO, Neves FS, Barbosa NP, Diniz L, Oki Y, Pezzini F, Fernandes GW, Cornelissen T (2009) Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia* 160:537-549

Schemske DW (1982) Ecological correlates of a neotropical mutualism: Ant assemblages at *Costus* extrafloral nectaries. *Ecology* 63:932-941

Sendoya SF, Freitas AVL, Oliveira PS (2009) Egg-laying butterflies distinguish predaceous ants by sight. *American Naturalist* 174:134-140

Sokal RR, Rohlf FJ (1995) *Biometry: the principles of statistics in biological research*. New York, Freeman

Stanton ML, Palmer TM (2011) The high cost of mutualism: effects of four species of East African ant symbionts on their myrmecophyte host tree. *Ecology* 92(5):1073–1082

Sugiura S (2010) Species interactions-area relationships: biological invasions and network structure in relation to island area. *Proceedings of the Royal Society February*:1-9

Suzuki N, Ogura K, Katayama N (2004) Efficiency of herbivore exclusion by ants attracted to aphids on the vetch *Vicia angustifolia* L. (Leguminosae). *Ecological Review* 19:275-282

Thompson JN (2005) *The geographic mosaic of coevolution*. University of Chicago Press, Chicago

Torezan-Silingardi HM (2012) Flores e animais: uma introdução à história natural da polinização. In: Del-Claro K, Torezan-Silingardi HM (eds.) *Ecologia das Interações Plantas-*

Animais: uma abordagem ecológico-evolutiva. Technical Books Editora. Rio de Janeiro. Brasil. p. 111-139

Vázquez DP, Aizen MA (2004) Asymmetric specialization: a pervasive feature of plant–pollinator interactions. *Ecology* 85:1251–1257

Vázquez DP, Blüthgen N, Cagnolo L, Chacoff NP (2009) Uniting pattern and process in plant–animal mutualistic networks: a review. *Annals of Botany* 103:1445–1457

Table 1. Ant species associated with plant species in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, between September 2008 and April 2010. Column numbers correspond to the total of individual plants (N = 30 trees per species) in which ant species were observed. Code numbers of plant species mean: (1) *Stryphnodendron adstringens*, (2) *S. polyphyllum*, (3) *Qualea grandiflora*, (4) *Ouratea hexasperma*, (5) *Q. parviflora*, (6) *Q. multiflora*, (7) *O. spectabilis*, (8) *Caryocar brasiliense* and (9) *Lafoensia pacari*. Code numbers of ant species and plant species are the same as used in Figure 1.

Code	Subfamilies/Species	Plant Species									Total (n= 270)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Formicinae											
1	<i>Brachymyrmex</i> sp.1	3	7	5	8	4	10	2	9	5	53
2	<i>Camponotus</i> sp.1	1	0	2	1	0	0	0	0	0	4
3	<i>C. crassus</i> Mayr, 1862	15	18	17	12	19	20	15	16	20	152
4	<i>C. blandus</i> F. Smith, 1858	5	8	5	10	4	2	9	6	6	55
5	<i>C. trapeziceps</i> Forel, 1908	1	2	1	3	3	5	2	2	0	19
6	<i>C. leydigi</i> Forel, 1886	1	1	0	3	0	0	0	1	0	6
7	<i>C. lespesii</i> Forel, 1886 [#]	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2
8	<i>C. vittatus</i> Forel, 1904 [#]	0	0	0	0	2	1	0	0	0	3
Myrmicinae											
9	<i>Crematogaster erecta</i> Mayr, 1866	1	2	2	2	1	0	3	5	0	16
10	<i>C. bruchi</i> Forel, 1912 [*]	1	1	2	1	3	1	1	0	0	10
11	<i>Pheidole</i> sp.1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	6
12	<i>P.</i> sp.2	0	2	1	1	1	0	0	0	0	5
13	<i>Solenopsis</i> sp.1	0	2	3	1	0	0	3	2	1	12
14	<i>S.</i> sp.2	0	0	1	1	1	0	4	0	1	8
15	<i>Cephalotes</i> sp.1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
16	<i>C. pusillus</i> Klug, 1824	10	17	16	13	17	11	15	17	6	122
17	<i>C. bruchi</i> Forel, 1912	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2
18	<i>C. atratus</i> Linnaeus, 1758 [#]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
19	<i>Nesomyrmex spininodis</i> Mayr, 1887	2	0	1	2	1	0	0	3	0	9
Dolichoderinae											
20	<i>Azteca</i> sp.1	2	6	1	3	4	2	0	5	4	27
21	<i>Linepithema aztecoides</i> Wild, 2007 [*]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
22	<i>Forelius brasiliensis</i> Forel, 1908 [#]	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Pseudomyrmicinae											
23	<i>Pseudomyrmex</i> sp.1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	3
24	<i>P.</i> sp.2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
25	<i>P. gracilis</i> Fabricius, 1804	4	9	13	5	3	9	7	10	3	63
26	<i>P. flavidulus</i> F. Smith, 1858	6	14	4	5	3	5	5	18	1	61
Ectatomminae											
27	<i>Gnamptogenys semiferox</i> Brown, 1958	0	1	0	0	1	0	1	0	0	3
28	<i>Ectatomma tuberculatum</i> Olivier, 1792	9	4	7	5	2	6	1	1	1	36
29	<i>E. edentatum</i> Forel, 1912	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2
30	<i>E. planidens</i> Borgmeier, 1939 [#]	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2
Ponerinae											
31	<i>Pachycondyla villosa</i> Fabricius, 1804	1	1	3	0	1	0	0	0	1	7

*species observed only in 2009; [#] species observed only in 2010

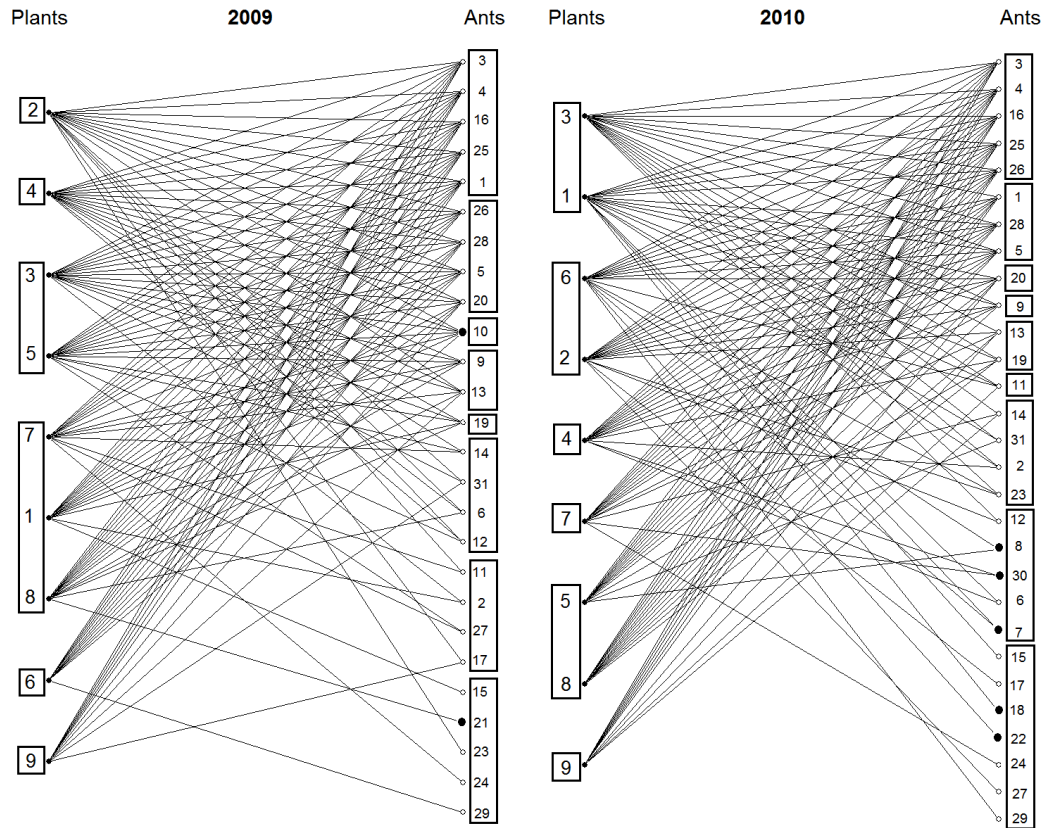


Figure 1. Ant-plant interaction networks in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010. Circles represent species, and links indicate extrafloral nectar feeding associations among ants and plants. Network 2009: 26 ant species and 9 plant species; Network 2010: 29 ant species and 9 plant species (see Table 1 for species identities). Bolded circles denote ant species that occurred in only one year. Rectangles denote species with same degree.

Table 2. Metrics of interactions network for the association of ant-extrafloral bearing trees in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010.

Network metrics	Network 2009	Network 2010
Number of plant species	9	9
Number of ant species	26	29
Number of associations	1195	1271
Degree of plant species (Average degree \pm SE)	4.84 \pm 0.62	4.31 \pm 0.579
Degree of ant species (Average degree \pm SE)	14 \pm 0.745	13.88 \pm 0.790
Network connectance	53.84%	47.89%
H_2 'index	0.104	0.128
Nestedness value (NODF)	49.14; p<0.001	45.11; p<0.001

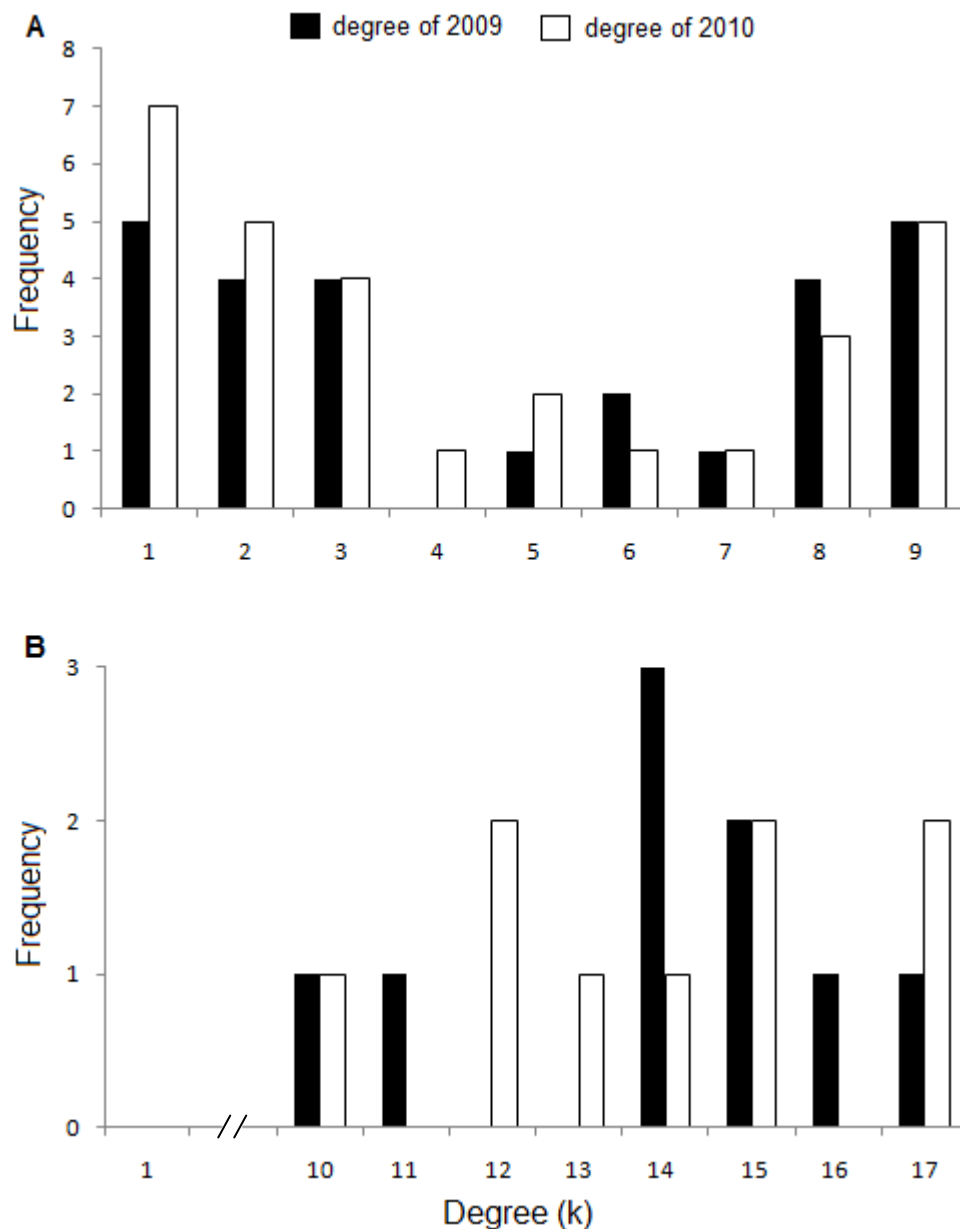


Figure 2. Frequency distribution for ant (A) and plant (B) degree of network interactions (ant-extrafloral bearing trees) in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010. The degree varies between years for both codes, but there was no statistical difference in the degree distribution over time neither for ants ($D = 0.111$; $p > 0.05$) nor plants ($D = 0.059$; $p > 0.05$).

Table 3. Results of ant-exclusion experiments in network interactions (ant-extrafloral bearing trees) in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010. Factorial ANOVA comparing herbivory (% leaf area loss) and variables: plant species, stem type (with and without ants), and year. The asterisks point to statistical difference.

Variables	df	Mean Square	F-ratio	p-value
Species	8	1056.642	53.636	0.000*
Stems	1	591.317	30.016	0.000*
Years	1	8472.147	430.056	0.000*
Species and Stems	8	24.820	1.260	0.261
Species and Years	8	60.391	3.066	0.002*
Stems and Years	1	0.000	0.000	0.997
Species, Stems and Years	8	13.696	0.695	0.696
Error	1016	19.700		

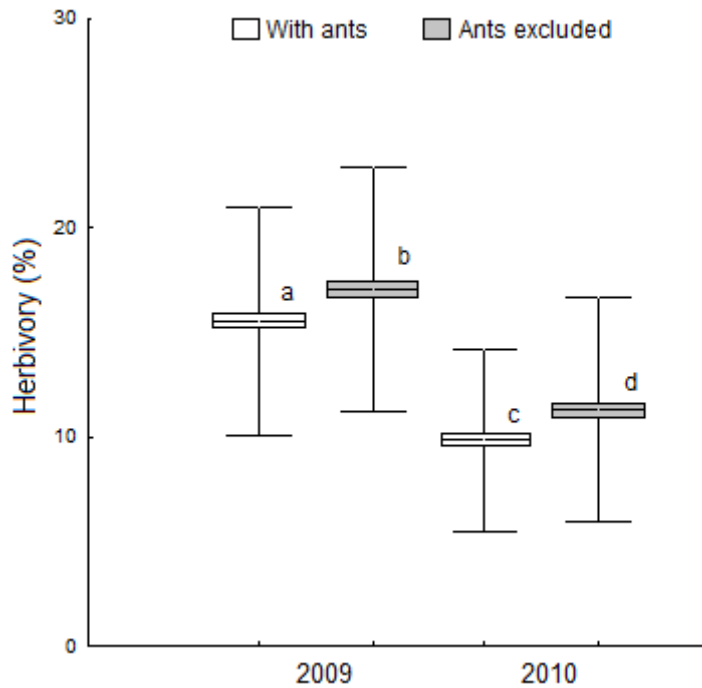


Figure 3. Comparison of herbivory (% leaf area loss) between plants with and without ant exclusion in the core of extrafloral nectaried trees in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010. Different letters mean statistical difference ($p < 0.05$; ANOVA and Tuckey post hoc comparison, Appendix 1). The horizontal line represents the mean, boxes represent standard error and whiskers standard deviation.

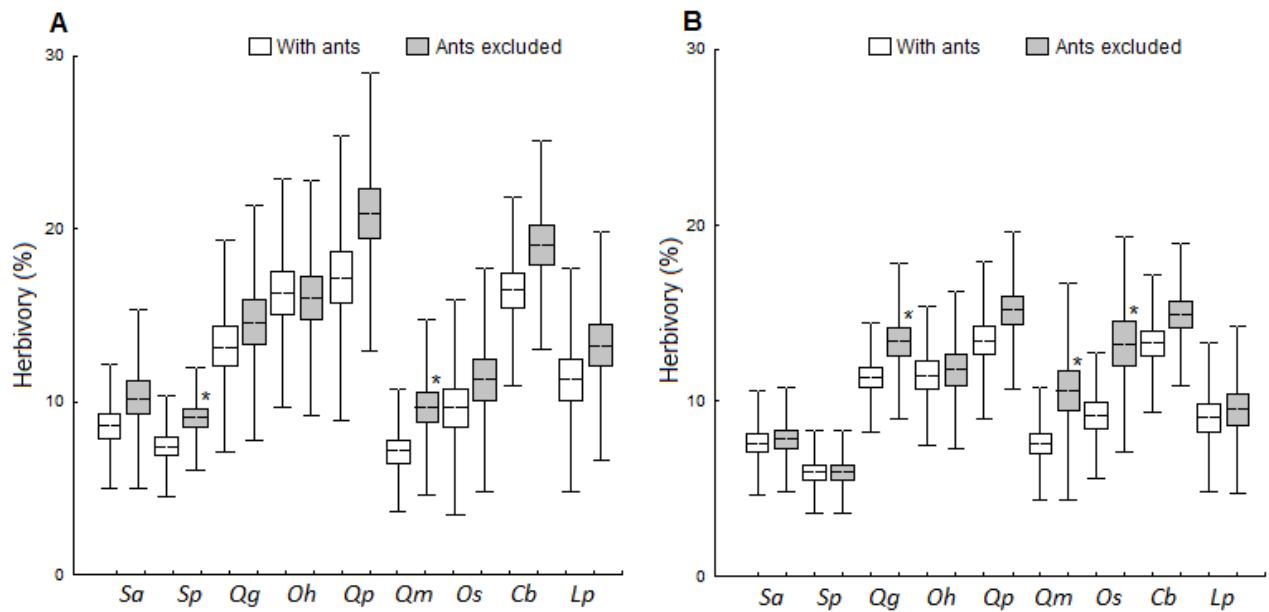


Figure 4. Herbivory (% leaf area loss) between stems (with ants and ants excluded) in the extrafloral nectaried trees in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in April of 2009 (A) and 2010 (B). Abbreviations mean: (Sa) *Stryphnodendron adstringens*, (Sp) *S. polyphyllum*, (Qg) *Qualea grandiflora*, (Oh) *Ouratea hexasperma*, (Qp) *Q. parviflora*, (Qm) *Q. multiflora*, (Os) *O. spectabilis*, (Cb) *Caryocar brasiliense* and (Lp) *Lafoensia pacari*. The asterisks mean statistical difference (t-test, $p < 0.05$). The horizontal line represents the mean, boxes represent standard error and whiskers depict 95% intervals.

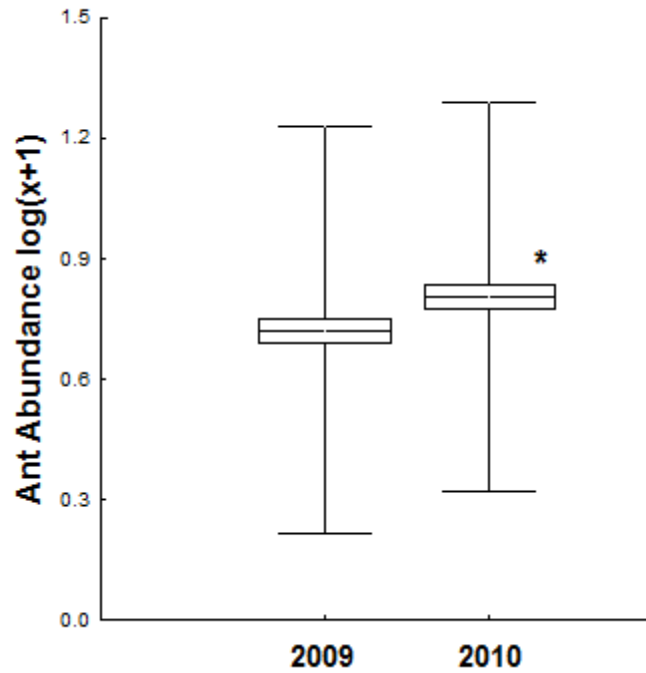


Figure 5. Ant Abundance in stems with ants (control) in the core of extrafloral nectaried trees studied in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010. The asterisks mean statistical difference (paired t-test, $p < 0.05$). The horizontal line represents the mean, boxes represent standard error and whiskers standard deviation.

Appendix 1. Post hoc Tukey test (after ANOVA: $F = 109.05$; $p < 0.001$) comparing herbivory (leaf area loss) between stems with ants (control) and with ant excluded (treatment) of extrafloral nectaried trees in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, between the years 2009 and 2010.

Comparison	Difference	p-value
Control and treatment 2009	-0.015	0.005
Control 2009 and 2010	0.058	0.000
Control 2009 and treatment 2010	0.043	0.000
Treatment 2009 and control 2010	0.073	0.000
Treatment 2009 and treatment 2010	0.058	0.000
Control and treatment 2010	-0.015	0.011

Appendix 2. Comparison (Student t-test) between herbivory stems of extrafloral nectaried trees with and without ants studied in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil, in 2009 and 2010. Abbreviations mean: (Sa) *Stryphnodendron adstringens*, (Sp) *S. polyphyllum*, (Qg) *Qualea grandiflora*, (Oh) *Ouratea hexasperma*, (Qp) *Q. parviflora*, (Qm) *Q. multiflora*, (Os) *O. spectabilis*, (Cb) *Caryocar brasiliense* and (Lp) *Lafoensia pacari*. Asterisks point to statistical difference.

		Sa	Sp	Qg	Oh	Qp	Qm	Os	Cb	Lp
2009	t	-1.395	-2.128	-0.821	0.175	-1.796	-5.310	-0.966	-1.805	-1.194
(A)	p	0.169	0.038*	0.415	0.862	0.067	0.000*	0.338	0.076	0.237
2010	t	-0.297	0.008	-2.074	-0.271	-1.502	-2.354	-2.713	-1.594	-0.389
(B)	p	0.768	0.993	0.043*	0.788	0.138	0.022*	0.010*	0.116	0.699

Appendix 3. Tukey test comparing the herbivory percentage of plant species to stems with ants (in bold) and without ants (normal) over two years of observation: (A) 2009 and (B) 2010 in Brazilian Savanna studied at CCPIU from Uberlândia, MG, Brazil. Abbreviations mean: (Sa) *Stryphnodendron adstringens*, (Sp) *S. polyphyllum*, (Qg) *Qualea grandiflora*, (Oh) *Ouratea hexasperma*, (Qp) *Q. parviflora*, (Qm) *Q. multiflora*, (Os) *O. spectabilis*, (Cb) *Caryocar brasiliense* and (Lp) *Lafoensia pacari*. The asterisks mean statistical difference.

(A) 2009	Sa	Sp	Qg	Oh	Qp	Qm	Os	Cb	Lp
Sa	-	0.997	0.046*	0.000*	0.000*	0.989	0.998	0.000*	0.664
Sp	0.998	-	0.003*	0.000*	0.000*	1.000	0.852	0.000*	0.184
Qg	0.124	0.014*	-	0.472	0.156	0.001*	0.303	0.427	0.931
Oh	0.008*	0.000*	0.993	-	1.000	0.000*	0.000*	1.000	0.019*
Qp	0.000*	0.000*	0.002*	0.049*	-	0.000*	0.000*	1.000	0.002*
Qm	1.000	1.000	0.053	0.002*	0.000*	-	0.750	0.000*	0.117
Os	0.999	0.899	0.497	0.077	0.000*	0.987	-	0.000*	0.978
Cb	0.000*	0.000*	0.104	0.582	0.965	0.000*	0.000*	-	0.015*
Lp	0.573	0.155	0.997	0.742	0.000*	0.362	0.943	0.008*	-
(B) 2010	Sa	Sp	Qg	Oh	Qp	Qm	Os	Cb	Lp
Sa	-	0.338	0.000	0.000	0.000	0.693	0.001	0.000	0.517
Sp	0.803	-	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.001
Qg	0.000*	0.000*	-	0.992	0.211	0.001	0.912	0.673	0.002
Oh	0.031*	0.000*	0.925	-	0.021	0.037	1.000	0.199	0.084
Qp	0.000*	0.000*	0.844	0.117	-	0.000	0.007	1.000	0.000
Qm	0.309	0.002*	0.284	0.987	0.003*	-	0.197	0.000	1.000
Os	0.001*	0.000*	1.000	0.969	0.857	0.464	-	0.087	0.336
Cb	0.000*	0.000*	0.933	0.198	1.000	0.007*	0.936	-	0.000
Lp	0.884	0.062	0.029*	0.651	0.000*	0.993	0.083	0.000*	-

CAPÍTULO 2

EFEITO DA VARIAÇÃO SAZONAL NA INTERAÇÃO FORMIGA-PLANTA EM UMA SAVANA NEOTROPICAL

Resumo: A variação sazonal tem sido uma das características marcantes das interações envolvendo formigas e plantas. Apesar disso, poucos estudos procuram compreender o resultado dessa variação para a comunidade de plantas e para seus herbívoros. Assim, este estudo teve como objetivo principal compreender a variação sazonal da interação formiga-planta com nectários extraflorais e seus efeitos na herbivoria foliar dessas plantas. As nove espécies de plantas com nectários extraflorais mais abundantes da região foram selecionadas e acompanhadas durante dois anos. Os resultados mostraram que existe um sincronismo no brotamento foliar e na atividade dos nectários extraflorais das espécies de plantas mais abundantes do Cerrado. Também foi evidenciado que a interação formiga-planta é intensificada no período de atividade dos nectários extraflorais, diminuindo a presença de herbívoros e promovendo uma defesa efetiva contra danos foliares por meio da maior abundância e riqueza de formigas nas plantas durante esse período. Apesar da intensificação na associação, o padrão da rede de interação formiga-planta se manteve o mesmo, apresentando característica aninhada e generalista, como encontrado em outras interações mutualísticas na literatura. Esses resultados contribuem para a compreensão da estrutura e dinâmica da interação formiga-planta-herbívoro do Cerrado e a importância dessa relação para a comunidade de plantas.

Palavras-chave: herbivoria foliar, herbívoros, interação animal-planta, nectários extraflorais, redes mutualísticas.

INTRODUÇÃO

Interações ecológicas são um dos mais importantes processos que influenciam padrões de adaptação das espécies e estabilidade e organização de comunidades (Rico-Gray *et al.* 2004). Por esse motivo, interações ecológicas têm sido alvo de inúmeras pesquisas no mundo todo, inclusive nos trópicos (Del-Claro 2012). No contexto das interações interespecíficas, associações entre formigas e plantas estão em destaque devido a sua ampla diversidade e abundância, e seu estudo tem contribuído para o entendimento da estrutura e dinâmica de comunidades nos mais diversos habitats (Bronstein 1998; Rico-Gray & Oliveira 2007).

Estudos envolvendo interações entre formigas e plantas são comuns na literatura (ver Carroll & Janzen 1973; Hölldobler & Wilson 1990; Rico-Gray & Oliveira 2007) e um dos principais fatores moldadores dessas interações está relacionado com o tipo de recurso mediador (Blüthgen & Stork 2007). O néctar produzido por nectários extraflorais (NEFs) é um exemplo de recurso oferecido pelas plantas às formigas, e também a outros artrópodes, que promovem interações. Esse líquido é uma substância rica em carboidratos com diluídas concentrações de aminoácidos, lipídios, fenóis, alcalóides e compostos orgânicos voláteis (González-Teuber & Heil 2009), sendo considerado um recurso chave para formigas que forrageiam em plantas (Davidson *et al.* 2003; Byk & Del-Claro 2011). Plantas com NEFs são comuns na vegetação, estando presentes em mais de 90 famílias de Angiosperma (Koptur 1992) e representando 31% dos indivíduos e 25 % das espécies da flora arbórea em áreas de savana tropical como o Cerrado brasileiro (Oliveira & Leitão-Filho 1998).

Interações entre formigas e plantas mediadas por NEFs são mutualísticas, pois trazem benefícios tanto para o valor adaptativo de formigas (Byk & Del-Claro 2011) quanto para as plantas associadas (Bentley 1977; Del-Claro *et al.* 1996; Nascimento & Del-Claro 2010). Formigas ao forragearem por néctar extrafloral acabam propiciando uma proteção efetiva contra inimigos naturais das plantas (i.e. herbívoros), tornando-se um dos principais agentes bióticos de defesa contra herbivoria (Bentley 1977; Del-Claro 2004). Vários estudos constataram uma relação positiva entre plantas que apresentam NEFs e a presença de formigas, diminuindo a taxa de herbivoria e aumentando o sucesso reprodutivo das plantas (Bentley 1977; Horvitz & Schemske 1984; Del-Claro *et al.* 1996; Oliveira *et al.* 1999; Santos & Del-Claro 2001; Mody & Linsenmair 2004; Suzuki *et al.* 2004; Nascimento & Del-Claro 2010; ver Rosumek *et al.* 2009). Entretanto, o resultado dessas interações nem sempre traz benefícios para as plantas envolvidas (ver O'Dowd & Catchpole 1983; Rasbrook *et al.* 1992; Rosumek *et al.* 2009), demonstrando a existência de condicionalidade na interação (Del-Claro & Oliveira 2000). A variação nos resultados desse tipo de interação demonstra que quando as espécies mutualistas estão inseridas dentro de uma rede de interações multitróficas, torna-se difícil prever a dinâmica ecológica da interação (Bronstein 2012). Além disso, segundo Rico-Gray *et al.* (2004) assembléias de formigas são muito dinâmicas e possuem características específicas de cada local. Dessa forma, a extrapolação dos resultados de uma comunidade para outra pode levar a inferências errôneas, impedindo a ampla generalização.

Vários estudos evidenciaram que os resultados das interações entre formigas e plantas com NEFs são variáveis no tempo e no espaço (O'Dowd & Catchpole 1983; Rico-Gray 1993; Bronstein 1998; Del-Claro 2004). Estudos verificando a variação temporal da interação

formiga-planta com NEFs evidenciaram que o número de associações entre formigas e plantas com NEFs exibem mudanças sazonais ao longo do ano (Rico-Gray 1993; Oliveira *et al.* 1999). Em adição, De La Fuente & Marquis (1999), comprovaram que condições abióticas influenciam na taxas de visitação de formigas em plantas determinando variações nos custos e benefícios dessas associações para plantas. Entretanto, apesar da variação sazonal já ter sido constatada para os mais diversos tipos de interações interespecíficas, incluindo formigas e plantas com NEFs (exemplos em Rico-Gray & Oliveira 2007), a maioria desses estudos verificou a relação com apenas uma espécie de planta e em curto espaço de tempo. Rico-Gray *et al.* (2004) afirmaram que estudos envolvendo o sistema formiga-planta são surpreendentemente pouco representados entre os estudos a nível da comunidade. Dessa forma, somente com o entendimento do sistema em escalas temporais e espaciais maiores será possível firmar conclusões mais concretas a respeito dos processos que moldam a estrutura das comunidades naturais.

Uma ferramenta recente utilizada na síntese dos padrões das interações em comunidades é o estudo da conectividade de redes tróficas. A análise de redes corresponde a um método de representação de interações interespecíficas que permite um melhor entendimento a respeito da especialização, complexidade e estabilidade das relações entre as espécies na comunidade (Bascompte & Jordano 2007). Os estudos utilizando análise de redes para avaliar a relação entre formigas e plantas com NEFs são escassos, entretanto, os existentes constataram que redes provenientes dessa interação possuem um padrão aninhado (Guimarães *et al.* 2006, 2007; Blüthgen *et al.* 2007; Chamberlain *et al.* 2010; Díaz-Castelazo *et al.* 2010; Sugiura 2010) e com baixa especialização (Blüthgen *et al.* 2007; Blüthgen 2012). Segundo Bascompte *et al.* (2003), redes aninhadas são aquelas em que grupos de espécies com poucas interações (especialistas) são subgrupos de espécies com muitas interações (generalistas). Todos os estudos verificando o padrão da rede de interação entre formigas e plantas com NEFs demonstram apenas a estrutura total da rede, sem verificar as variações sazonais da interação, característica tão marcante para esse tipo de associação mutualística.

O presente estudo teve como objetivo principal conhecer a variação sazonal da interação formiga-planta com NEFs para a parcela de espécies arbóreas mais abundante e representativa de uma comunidade do Cerrado. Segundo Lewinsohn *et al.* (2006), comunidades podem ser compostas por módulos, os quais possuem uma grande intensidade de conexões em seu interior e poucas conexões com módulos adjacentes. De acordo com esses autores, essa rede é denominada combinada, sendo que cada módulo pode apresentar padrões diferentes. Centrar o presente estudo no principal módulo da comunidade permite não

somente compreender a estrutura da sua interação com formigas, mas também possibilita a manipulação experimental, a qual seria impossível no âmbito da comunidade de plantas como um todo. Assim, ao longo de dois anos procurou-se identificar os períodos de maior ocorrência das interações e suas consequências para as espécies de plantas do módulo estudado. Para isso, foi avaliada a variação na abundância de formigas e herbívoros ao longo de tempo, assim como a relação entre a variação na abundância de formigas e a herbivoria foliar. Pressupõe-se evidenciar a existência de variação sazonal nas interações e, consequentemente, nas propriedades da rede. Estas variações devem tornar a rede, em alguns momentos, mais complexa que em outros, e com isso, interferir nos resultados das relações ecológicas.

METODOLOGIA

Coleta de dados

O estudo foi realizado no período de setembro de 2008 a agosto de 2010 em uma reserva particular do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU - 48°17' W; 18°58' S) em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. O clima dessa região é caracterizado por duas estações bem definidas: seca (abril a setembro) e úmida (outubro a março), com temperatura média diária e precipitação anual em torno de 22°C e 1550 mm, respectivamente (Oliveira & Marquis 2002). Essa reserva possui quatro das fitofisionomias mais comuns do Cerrado brasileiro (vereda, campo sujo, mata ciliar e cerrado sentido restrito), sendo que o cerrado sentido restrito representa a maior área da reserva. Segundo Oliveira-Filho & Ratter (2002), cerrado sentido restrito é composto por árvores de 2 a 8 m de altura e grande abundância de gramíneas e arbustos.

Para este estudo, foi escolhido um módulo da comunidade de plantas do Cerrado, composto pelas nove espécies de plantas arbóreas com NEFs que apresentam o maior Índice de Valor de Importância (IVI) da reserva (ver Appolinario & Shiavini 2002). As nove espécies de plantas avaliadas foram: *Caryocar brasiliense* (Cambess) (Caryocaraceae), *Lafoensia pacari* (A. St.-Hil.) (Lythraceae), *Ouratea spectabilis* (Mart.) Engl. (Ochnaceae), *Ouratea hexasperma* (A. St.-Hil.) Baill (Ochnaceae), *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae), *Stryphnodendron polyphyllum* (Mart.) (Fabaceae), *Qualea grandiflora* (Mart.) (Vochysiaceae), *Qualea multiflora* (Mart.) (Vochysiaceae) e *Qualea parviflora* (Mart) (Vochysiaceae). Dentre essas espécies, sete (*C. brasiliense*, *L. pacari*, *S. adstringens*, *S.*

polyphyllum, *Q. grandiflora*, *Q. multiflora* e *Q. parviflora*) têm hábito decíduo, perdendo suas folhas no final da estação seca e brotando no início da chuvosa (Silva Jr. 2005). *Ouratea spectabilis* e *O. hexasperma*, apesar de serem consideradas “sempre verdes” e com crescimento de folhas contínuo, apresentam uma discreta redução na cobertura de folhagem na copa e um aumento em folhas senescentes durante a fase de transição da estação seca para a chuvosa (Silvério & Lenza 2010).

Para avaliar a variação temporal da interação formiga-planta com NEFs, 30 indivíduos de cada espécie de planta com aproximadamente o mesmo tamanho (2 m) foram marcados ao longo de dois transectos (1,5 km \times 5 m) com 1,5 km de distância um do outro. Em cada planta, um ramo de aproximadamente 80 cm foi selecionado para avaliação da herbivoria. Nesses ramos, nove folhas foram marcadas: três na parte apical, três no meio, e três da parte basal do ramo, e avaliadas mensalmente. A herbivoria foliar foi quantificada em campo, colocando as folhas, sem removê-las, em uma grade transparente (dividida em milímetros). O índice de herbivoria de cada folha foi calculado pela proporção de pontos da grade que se encaixava na áreas danificadas e não danificadas do limbo foliar (ver Dirzo & Domínguez 1995). As proporções foram avaliadas para cada folha e posteriormente, feito a média da perda foliar para representar o índice de herbivoria de cada mês. Os dados da presença e abundância de formigas e herbívoros nos ramos foram verificados quinzenalmente alternando as observações no período da manhã e tarde (das 8 às 11h e das 14 às 17h, respectivamente) a cada quinze dias. Um indivíduo das espécies de formiga não identificadas em campo (principalmente aquelas espécies com tamanho corporal menor) foi coletado, fixado em álcool 70% e morfoespeciado. As espécies de formigas foram identificadas no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo e armazenadas no Laboratório de Ecologia Comportamental e Interações da Universidade Federal de Uberlândia, Brasil. Os herbívoros foram identificados no momento das observações e também coletados em plantas da mesma espécie próximas aos indivíduos marcados para não interferir no sistema experimental.

Análise dos dados

Para verificar o efeito da sazonalidade na taxa de herbivoria, na abundância de formigas e herbívoros, os dados provenientes de cada planta ($n=270$) foram comparados (ANOVA para medidas repetidas) entre os 24 meses de observação. Para essa verificação, os dados de abundância de formigas foram transformados em $\log(x+1)$ para atingir a normalidade segundo teste de Kolmogorov-Smirnov ($p>0,05$). Para a comparação da abundância de herbívoros ao longo do tempo foi utilizado o teste Qui-quadrado de Friedman (χ^2), pois os dados não atingiram a normalidade segundo teste de Kolmogorov-Smirnov ($p<0,05$), mesmo após transformação. Essas análises foram feitas no programa Systat 12.0. Para verificar a existência de relação entre a abundância de formigas, a herbivoria e a abundância de herbívoros, as médias mensais da porcentagem de herbivoria, de abundância de formigas e de herbívoros de cada espécie de planta para os 24 meses ($n=216$) foram correlacionados (Pearson) usando o programa BioEstat 5.0. Posteriormente, após constatar relação apenas entre abundância de formigas e herbivoria, foi feito ANCOVA com *post-hoc* de Tukey para verificar se essa relação diferia entre as espécies de plantas. Para essa análise foi utilizado o programa Systat 12.0.

Em um segundo momento, partes dos dados foram agrupadas em dois períodos distintos da interação estudada. O primeiro período representou os meses em que os NEFs não estiveram ativos (março a junho) e o segundo período, os meses em que os NEFs estiveram ativos (setembro a dezembro). Nesse caso foram utilizados apenas os dados referentes ao ano de 2009. Com a finalidade de verificar as diferenças entre os dois períodos, os dados de porcentagem de herbivoria mensal (não acumulativo), abundância média de formigas e de herbívoros foram comparados entre os dois períodos por meio do teste-t pareado, sendo a unidade amostral referente à média mensal de cada espécie de planta. Para essa comparação, os dados de abundância de formigas e de herbívoros foram transformados em $\log(x+1)$ para atingirem a normalidade segundo teste de Kolmogorov-Smirnov. Além disso, a herbivoria mensal acumulada entre os quatro meses que compunham o período de atividade e de não atividade dos NEFs foi comparada utilizando ANOVA para medidas repetidas. Todas essas análises foram realizadas no programa Systat 12.0.

Para conhecer as propriedades da rede de interação entre formigas e plantas com NEFs foram construídas duas matrizes de adjacência contendo as frequências de interações das espécies de formigas com as plantas, para os dois períodos: março a junho e setembro a dezembro de 2009. A frequência de interações das formigas nas plantas foi limitada ao

número de 120, correspondendo à quantidade total de indivíduos ($n=30$) avaliados por cada espécie de planta em cada período (quatro meses). Posteriormente, foram calculadas, para ambas as redes, as métricas: conectância das redes; grau médio de cada grupo (formigas e plantas); índice de aninhamento (NODF); e grau de especialização da rede (H_2'). A conectância foi calculada de acordo com Jordano (1987), onde: $C = I / (F \cdot P)$; “I” é o número total de interações observadas; “F” é o número de espécies de formigas; e “P” é o número de espécies de plantas. Os valores de “C” foram multiplicados por 100 para se obter o valor percentual. O grau médio das espécies para os dois grupos (formigas e plantas) foi calculado usando a média aritmética dos graus das espécies (número de espécies de plantas que cada espécie de formiga interagiu) de cada grupo (ver Bascompte & Jordano 2007). Para o cálculo do índice de aninhamento utilizado foi o NODF (*Nestedness metric based on Overlap and Decreasing Fill*, ver Almeida-Neto *et al.* 2008) calculado a partir de matrizes de incidências (presença e ausência) das espécies de formigas nas plantas. O software utilizado para obter essa métrica foi o ANINHADO 3.0 (Guimarães & Guimarães 2006). A significância do NODF foi estimada por meio do procedimento de Monte Carlo com 1.000 randomizações usando o modelo nulo C_e , o qual durante a aleatorização mantém o valor total das linhas fixo (ver Guimarães & Guimarães 2006). Para verificar o grau de especialização da rede foi calculado o índice de especialização quantitativo (H_2') a partir das matrizes de frequência de interações. Esse índice é uma medida bidimensional derivada do índice de Shannon que varia de 0 (extrema generalização) a 1.0 (extrema especialização) (Blüthgen *et al.* 2006). O cálculo do índice H_2' e a construção do grafo bipartido foram feitos no programa R 2.13.2 (pacote bipartite).

RESULTADOS

Foram encontradas 34 espécies de formigas interagindo com as nove espécies de plantas observadas (Apêndice 1). As espécies mais frequentes foram *Camponotus crassus* e *Cephalotes pusillus*, e as mais raras foram *Crematogaster quadriformis*, *Crematogaster* sp.1, *Cephalotes atratus*, *Cephalotes* sp.1, *Linepithema aztecoides* e *Forelius brasiliensis*, as quais interagiram com apenas uma espécie de planta. Com relação aos insetos herbívoros, foram encontradas 30 famílias (Apêndice 2), sendo 19 famílias de folívoros e 11 de sugadores. A ordem de insetos com maior quantidade de famílias de herbívoros foi Hemiptera (12), seguido por Coleoptera (sete), Orthoptera (cinco), Lepidoptera (quatro), Hymenoptera e Thysanoptera (ambas com uma família). Alguns herbívoros foram comuns a todas as espécies, como os

Acrididae (Orthoptera), Curculionidae e Chrysomelidae (ambos Coleoptera). Outras sete famílias foram encontradas em apenas uma espécie de planta (Apêndice 2).

Os resultados demonstraram variação sazonal na interação formiga-planta com NEFs para a comunidade nos dois anos do estudo (Figura 1). Dados de herbivoria das plantas foram significativamente diferentes entre os meses ($F_{22,248}=109,64$; $p<0,01$ – Figura 2A), assim como, os valores de abundância médias de formigas e herbívoros ($F_{23,247}=17,76$; $p<0,01$ e $\chi^2_{23}=122,15$; $p<0,01$, respectivamente – Figura 2B e 2C).

Quando testada a existência de relação entre abundância de formigas e porcentagem de herbivoria, foi evidenciada relação negativa significativa ($r=-0,17$; $p<0,05$). Os dados revelaram que a herbivoria diminuiu com o aumento da abundância de formigas. Entretanto, a intensidade dessa relação diferiu entre as espécies de plantas (ANCOVA: diferenças de inclinação $F_{1,206}=16,82$; $p<0,01$; diferença de elevação $F_{8,206}=5,62$; $p<0,01$), podendo evidenciar dois grupos distintos para essa relação: o primeiro é formado pelas espécies de plantas que tiveram maior herbivoria foliar (*C. brasiliense*, *O. hexasperma*, *Q. grandiflora* e *Q. parviflora*); e o segundo grupo, pelas espécies que tiveram menor herbivoria (*L. pacari*, *O. spectabilis*, *Q. multiflora*, *S. adstringens* e *S. polyphyllum*) (Figura 3). Por outro lado, ao testar a existência de relação entre abundância de formigas e de herbívoros não foi evidenciada relação significativa ($r=-0,05$; $p>0,05$).

De uma forma geral, todas as espécies de plantas avaliadas apresentaram picos de atividade dos NEFs na mesma época (setembro a dezembro – Figura 1). Nesse período, as associações entre plantas e formigas foram mais intensas que nos demais meses, apresentando maior incidência de formigas nas plantas no momento das observações para todas as espécies de plantas avaliadas (Figura 1). Ao compararmos a porcentagem de herbivoria acumulada entre os quatro meses do período em que os NEFs estavam ativos com os meses que os NEFs estavam inativos, observa-se diferença significativa ($F_{4,266}=155,79$; $p<0,01$ e $F_{4,266}=424,58$; $p<0,01$, respectivamente). Além disso, ao comparar a herbivoria mensal (não acumulativa) entre os dois períodos (NEFs ativos e NEFs não ativos), também se evidencia diferença significativa ($t_{35}=4,723$; $p<0,01$) com maiores valores no período em que os NEFs não estiveram ativos (média de 9,509%) e menores para o período em que os NEFs estiveram ativos (média de 5,973%). Da mesma forma, foi encontrada diferença na abundância média de formigas entre os dois períodos ($t_{35}=-5,225$; $p<0,001$), entretanto, nesse caso, com maiores valores para o período em que os NEFs estiveram ativos comparado ao período em que os NEFs não estavam ativos (0,284 e 0,134, respectivamente). Com relação à abundância média

de herbívoros, não foi evidenciado diferença significativa entre os períodos ($t_{35}=-1,165$; $p>0,05$).

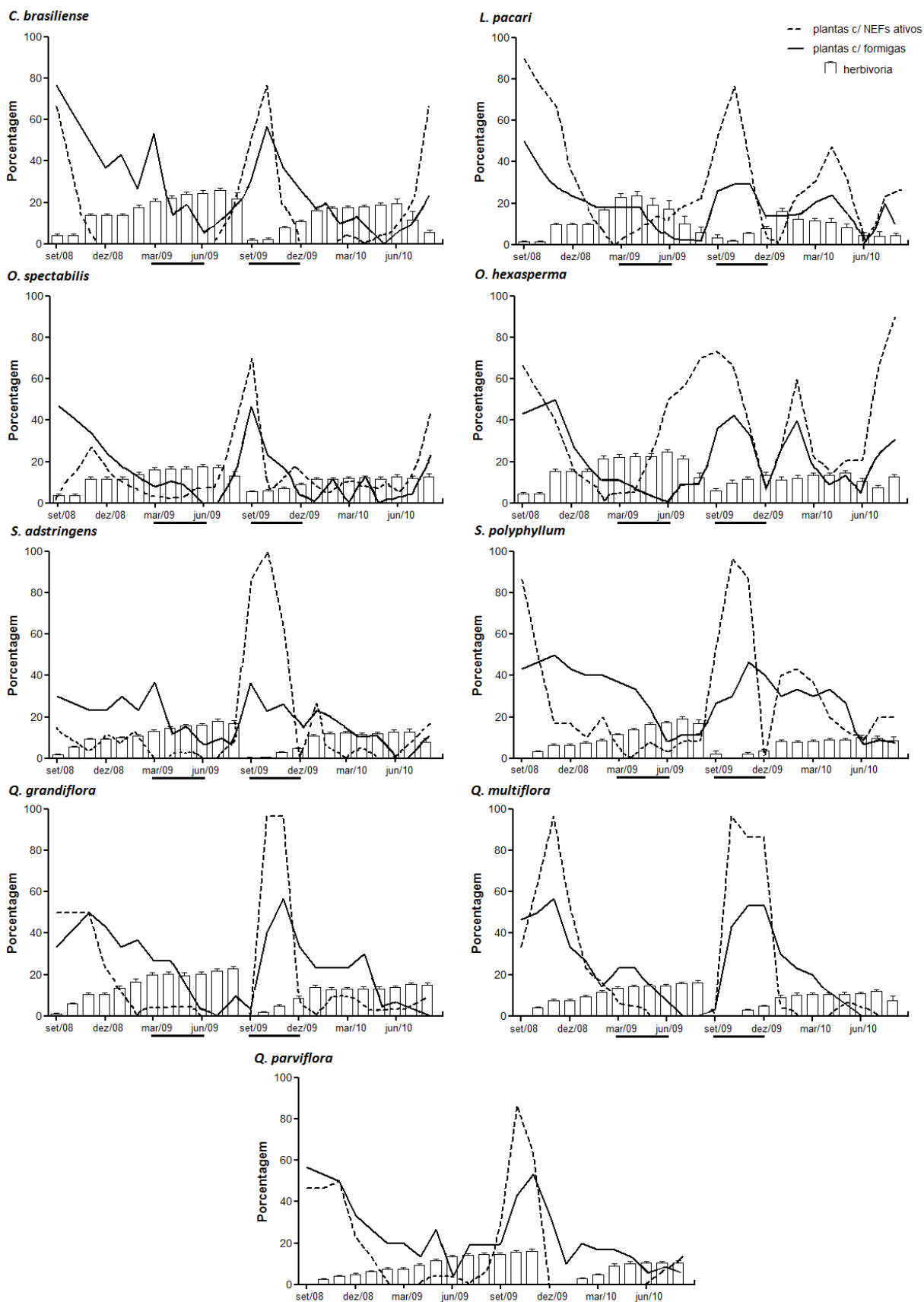


Figura 1. Variação sazonal na porcentagem de plantas com NEFs ativos, de plantas com formigas e de herbivoria foliar (média±erro padrão) para cada uma das nove espécies de plantas estudadas no período de setembro de 2008 a agosto de 2010 na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG. Os meses grifados no eixo “x” representam o período de menor e maior interação entre formigas e plantas, respectivamente.

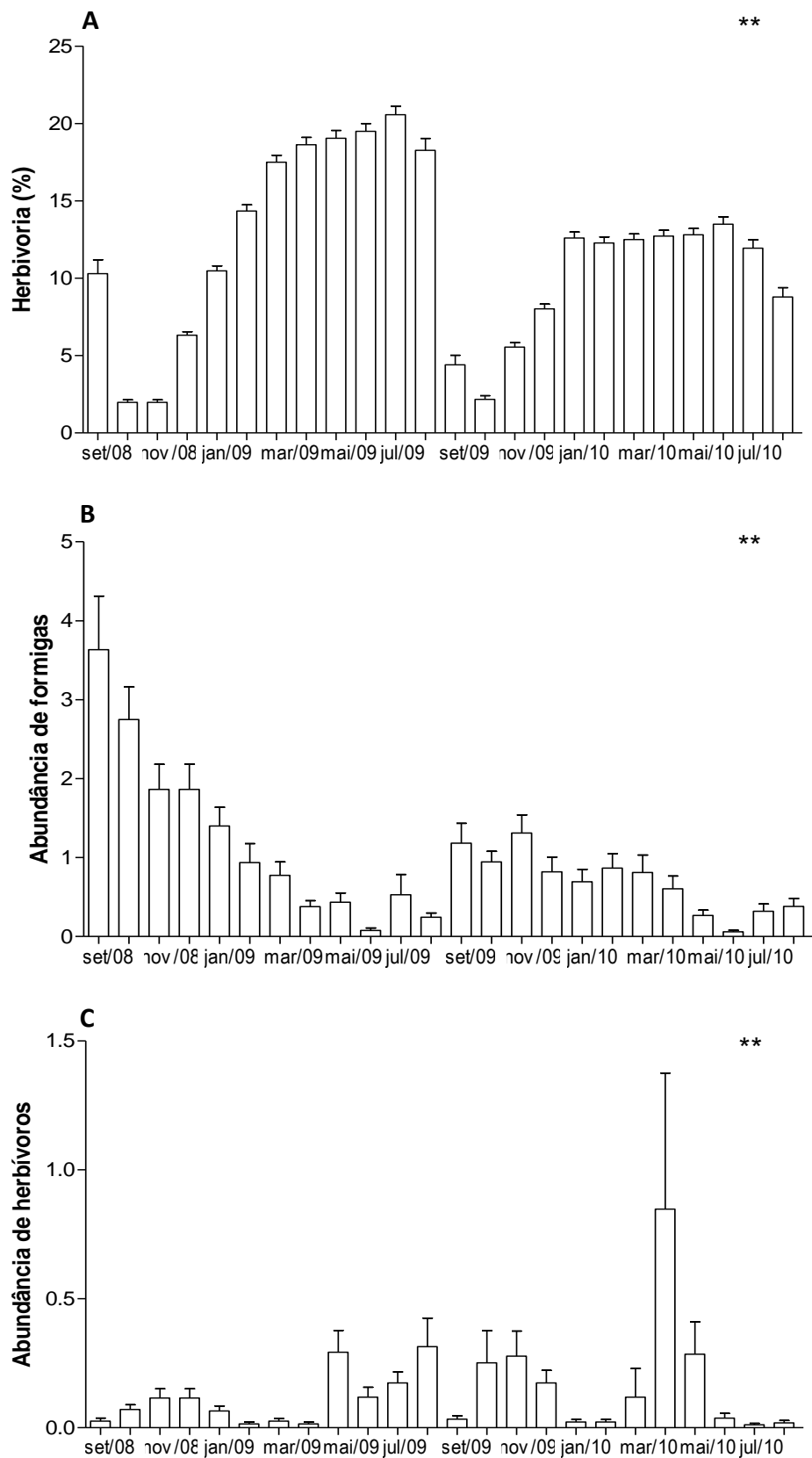


Figura 2. Abundância de formigas e herbívoros encontrados nas nove espécies de plantas estudadas (n=30 indivíduos por espécie) no período de setembro de 2008 a agosto de 2010 na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG. Porcentagem de herbivoria foliar (A), abundância de formigas (B) e de herbívoros (C) variaram entre os meses ($F_{22,248}=109,64$; $p<0,01$; $F_{23,247}=17,76$; $p<0,01$ e $\chi^2_{23}=122,15$; $p<0,01$, respectivamente). Os valores das barras representam média±erro padrão e os asteriscos a significância entre os meses.

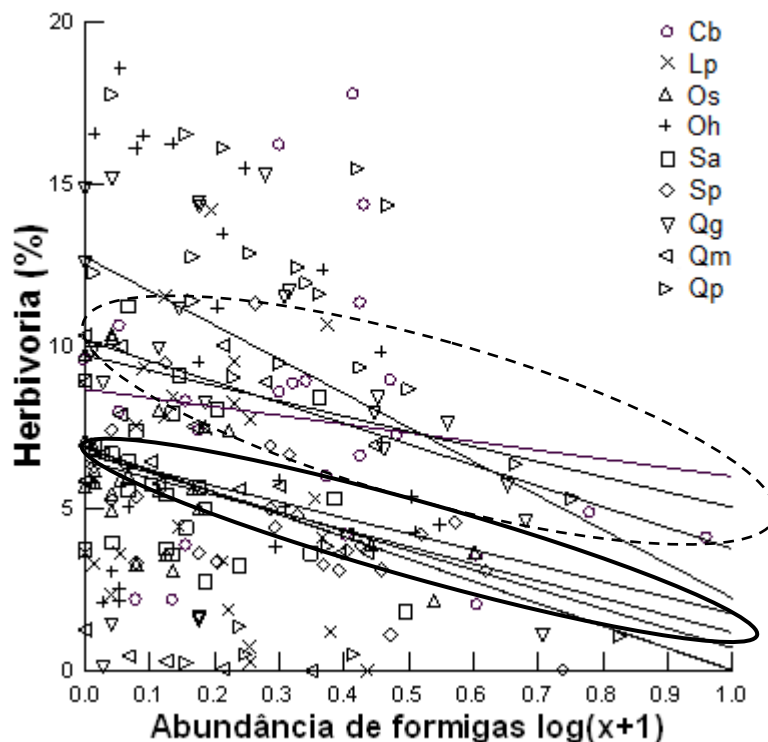


Figura 3. Relação entre valores mensais de porcentagem de herbivoria e abundância média de formigas ($r = -0,17$; $p < 0,05$) para as nove espécies de plantas estudadas no período de setembro de 2008 a agosto de 2010 na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG. Ver Apêndice 1 para os códigos das espécies plantas. Diferenças na herbivoria entre as espécies (*post-hoc* de Tukey) formaram dois grupos: o primeiro (linha pontilhada) é formado pelas espécies de plantas que tiveram maior herbivoria foliar (Cb, Oh, Qg e Qp). O segundo grupo (linha contínua), pelas espécies que tiveram menor herbivoria (Lp, Os, Qm, Sa e Sp).

As diferenças entre os períodos de atividade dos NEFs refletiram na rede de interação formiga-planta. Ao comparar as redes entre os períodos de atividade e de não atividade dos NEFs, observou-se maior quantidade de interações no período de atividade dos NEFs em comparação com o de não atividade (624 e 263 interações, respectivamente). Além disso, foi encontrada maior riqueza de formigas forrageando nas plantas nesse período (25 espécies), em comparação com o período de não atividade dos NEFs (17 espécies) (Figura 4). A média de espécies de formigas que interagiram com as plantas (grau médio das plantas) no período de atividade dos NEFs foi maior (11 espécies) quando comparada ao outro período (8,8 espécies). Entretanto, o mesmo não foi evidenciado para as espécies de formigas, as quais apresentaram maior grau médio no período de não atividade dos NEFs, quando comparado ao de atividade (4,7 e 3,75, respectivamente). Com relação à conectância, a rede do período onde os NEFs estavam inativos foi mais conectada (52,28%) em comparação ao período dos NEFs

ativos (44%), demonstrando que a proporção de interações possíveis e que foram realizadas foi maior quando os nectários não estavam ativos. Da mesma forma, o valor do grau de especialização da rede (H_2') foi maior na rede com NEFs inativos do que na rede com NEFs ativos (0,17 e 0,15, respectivamente), tendo a primeira um padrão mais especializado e a segunda, mais generalista. Entretanto, apesar das diferenças nas propriedades das duas redes a estrutura aninhada se manteve igual, apresentando índice NODF com $p < 0,05$ (Tabela 1).

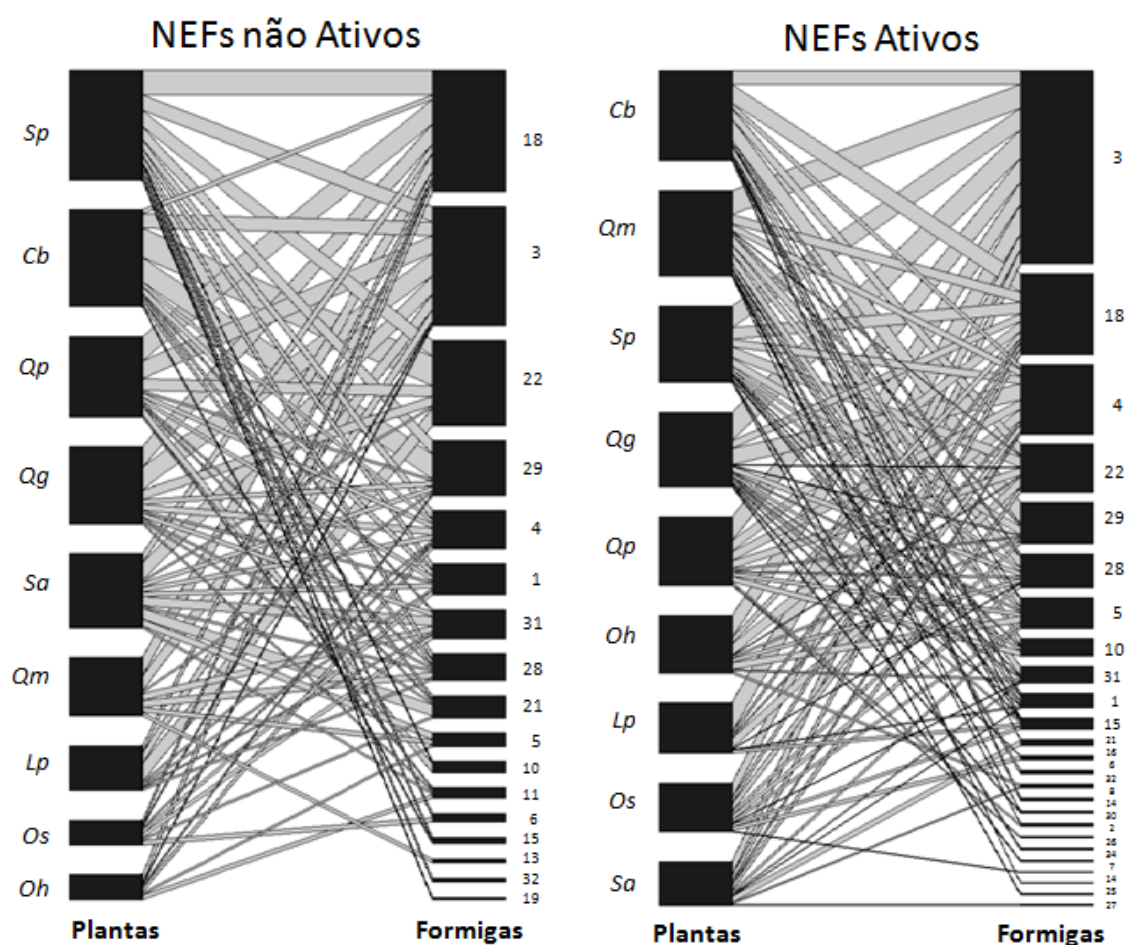


Figura 4. Rede de interações entre formigas e plantas com NEFs obtidos em dois períodos: não atividade dos NEFs (março a junho de 2009) e atividade (setembro a dezembro de 2009). Dados coletados na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG. Ver Apêndice 1 para os códigos das espécies de formigas e plantas.

Tabela 1. Propriedades das redes de interações nos dois períodos: atividade dos nectários extraflorais (setembro a dezembro de 2009) e não atividade (março a junho de 2009). Dados coletados na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG.

Propriedades da Rede	NEFs Ativos	NEFs não Ativos
Número de espécies de formigas	25	17
Número de associações estabelecidas	624	263
Grau médio das plantas	11	8,8
Grau médio das formigas	3,75	4,7
Conectância da rede	44%	52,28%
Índice H_2'	0,15	0,17
Índice de aninhamento (NODF)	42,65; $p < 0,01$	46,53; $p < 0,01$

DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que a interação formiga-planta com NEFs no Cerrado apresenta variação sazonal, sendo essa variação fortemente relacionada com a atividade dos NEFs. Outros estudos fornecem evidências de que a ocorrência de recompensas líquidas nas folhas desempenha um papel fundamental na ecologia de comunidades em áreas tropicais, especialmente para as formigas que são fisiologicamente adaptadas a uma dieta com baixo teor de nitrogênio (Davidson 1997; Oliveira & Freitas 2004). A variação sazonal na interação formiga-planta com NEFs foi também evidenciada em outros estudos (O'Dowd & Catchpole 1983; Rico-Gray 1993; Bronstein 1998; Oliveira *et al.* 1999; Del-Claro 2004). Segundo Rico-Gray *et al.* (2004), os estudos com interações formiga-planta são comuns na literatura, entretanto, são raros aqueles abrangendo a comunidade (ver Rico-Gray & Oliveira 2007).

Com os resultados do presente estudo, fica claro que a relação formiga-planta é fortemente intensificada pela atividade dos NEFs. Tanto a quantidade de plantas forrageadas por formigas quanto à abundância de formigas nas plantas foram significativamente maiores no período em que os NEFs estiveram ativos. Apesar da abundância de herbívoros também ter sido maior nesse período, o efeito protetor da presença das formigas nas plantas manteve índices de herbivoria menores quando comparado ao período em que os NEFs não estiveram ativos. Dessa forma, a proteção das formigas para com as plantas também teve seu resultado intensificado pela atividade dos NEFs, como evidenciado no resultado da correlação.

Além disso, outros fatores podem estar envolvidos no controle da herbivoria nas diversas fases de desenvolvimento das folhas. Existem basicamente quatro estratégias que as

plantas utilizam para reduzir os danos por herbívoros: associação com outras espécies, escape em espaço e tempo, tolerância a herbívoros e confronto (uso de defesas químicas e físicas) (Atsatt & O'Dowd 1976; Feeny 1976; Harris 1979). Essas estratégias podem ser utilizadas isoladas ou combinadas, podendo contribuir para a defesa de uma espécie em particular. Entretanto, segundo Feeny (1970), quando as folhas estão em expansão, elas são constituídas por tecidos vegetais com menores níveis de toxinas, além de mais macios e com maior conteúdo de nutrientes. Dessa forma, geralmente os herbívoros que consomem folhas preferem as folhas jovens às maduras. Aide (1993), por exemplo, verificou que 70% dos danos às folhas de 29 espécies tropicais ocorreram durante o primeiro mês de vida das plantas. Adicionalmente, Kogan (1986) afirma que folhas jovens têm uma taxa fotossintetizante e metabólica muito maior do que as folhas mais velhas além de quantidades menores de celulose, sendo assim, mais atrativas para os herbívoros. Entretanto, a quantidade de compostos secundários nas folhas das plantas pode ser alterada em função da disponibilidade de luz e nutrientes no solo (Waterman & Mole 1989) e também entre indivíduos de diferentes tamanhos (Waltz & Whitham 1997). De acordo com Coley *et al.* (1985), plantas menores e mais jovens possuem menos compostos secundários. Dessa forma, essas plantas possuem menos herbivoria do que as mais velhas e maiores (Dirzo 1984; Marquis 1984). No entanto, apesar de defesas químicas parecerem cruciais para determinar a quantidade de herbivoria, pouco é conhecido a respeito dos metabólitos secundários de folhas jovens tropicais (Coley *et al.* 2005). Korndörfer & Del-Claro (2006), mostraram que *Lafoensia pacari*, uma espécie de planta com NEFs também avaliada nesse estudo, pode alterar as quantidades de silício em suas folhas dependendo da produção de néctar, atividade das formigas e herbivoria. Uma manipulação experimental com a remoção das formigas fez com que as plantas mudassem suas estratégias de defesa de biótica para física ao longo do tempo.

Por outro lado, embora exista variação nas defesas das plantas entre indivíduos e espécies, a atividade de insetos herbívoros no Cerrado atinge seu pico na estação chuvosa, provavelmente uma resposta ao início da produção de folhas (Andersen & Lonsdale 1990). De acordo com Wolda (1988), a disponibilidade de recursos alimentares representa um papel importante na sazonalidade de insetos em geral. Marquis *et al.* (2001) avaliando os efeitos da herbivoria em folhas jovens e adultas de 25 espécies de plantas do Cerrado evidenciaram que a maior parte da herbivoria ocorreu durante as primeiras semanas das folhas jovens. O mesmo foi evidenciado por Marquis (1991), Marquis & Braker (1994) e Coley & Barone (1996) para outras regiões. Todos esses fatos reforçam a idéia de que, no caso do presente estudo, houve

uma intensificação no efeito protetor das formigas para com as plantas estudadas no período de expansão foliar. Nesse período, espera-se um maior índice de herbivoria devido ao pico de atividade dos herbívoros, porém a herbivoria foi significativamente menor que no período de folhas adultas devido a atratividade dos NEFs para as formigas. O forrageamento diferencial das formigas em folhas de diferentes idades tem sido em geral relacionado com a distribuição de recursos alimentares oferecidos pelas plantas, como NEFs e corpúsculos alimentares (Mckey 1974; Vasconcelos 1991). Dessa forma, a atividade dos NEFs é considerada também uma estratégia de defesa das plantas contra a herbivoria, pois mediam defesas bióticas com formigas e outros artrópodes predadores (Bentley 1977; Horvitz & Schemske 1984; Del-Claro *et al.* 1996; Suzuki *et al.* 2004; Nahas *et al.* 2012).

A intensificação da interação formiga-planta pela atividade dos NEFs pôde também ser constatada na propriedade da rede nos dois momentos da interação. O primeiro momento, no qual os NEFs não estiveram ativos, a quantidade de interações entre esses dois grupos de organismos foi equivalente a menos da metade em comparação ao período em que os NEFs estiveram ativos. Além disso, a riqueza de espécies de formigas que visitaram as plantas foi maior com a atividade dos NEFs (Tabela 1). Por outro lado, com o aumento no número de espécies na rede, a conectância da mesma diminuiu. Esse fato está relacionado com as características das espécies que passaram a fazer parte da rede. A entrada de espécies oportunistas na rede como *Gnamptogenys semiferox*, *Forelius brasiliensis* e algumas espécies do gênero *Camponotus* e *Pheidole*, causa diminuição na conectância, pois possuem baixo número de interação. Essas espécies, que passam a forragear em plantas nos períodos de atividades dos NEFs, possuem, na maioria das vezes, baixa frequência no ambiente, ou mesmo podem estar aproveitando a diminuição de competição entre as espécies devido à abundância de recurso nas plantas naquele momento. Outros autores também evidenciaram diminuição na conectância devido à entrada de espécies raras na rede (Jordano 1987; Dunne 2006). Entretanto, apesar da variação nas propriedades da rede, o padrão generalista (baixo H_2') e aninhado (NODF com $p < 0,05$) da rede permaneceu o mesmo (Tabela 1). De acordo com Guimarães *et al.* (2007), interações entre formigas e plantas com NEFs são aninhadas, por serem associações facultativas e oportunistas. A característica generalista dessa interação foi descrita por Blüthgen *et al.* (2007), em que a média do H_2' de diversas redes envolvendo interação entre formigas e plantas com NEFs foi 0,2, semelhante ao encontrado no presente estudo, tanto no período de atividade quanto no período de não atividade dos NEFs. O padrão generalista foi encontrado em todos os estudos envolvendo redes de interações formigas-plantas com NEFs (Guimarães *et al.* 2006, 2007; Blüthgen *et al.* 2007; Chamberlain *et al.*

2010; Díaz-Castelazo *et al.* 2010; Sugiura 2010). Esse fato está relacionado com as próprias características da comunidade de formigas. Comunidades de formigas são estruturadas por um mosaico (*ant mosaic* – ver Leston 1973) composto por poucas espécies abundantes (dominantes) e muitas espécies raras. Essa estrutura faz com que redes que envolvem interações facultativas com formigas, as quais não há especialização entre as espécies dos grupos, sejam centradas nas espécies dominantes da comunidade. Essas espécies detêm a maior parte das interações da rede, sendo denominadas *hubs* (ver Bastolla *et al.* 2009; Mello *et al.* 2011). Dessa forma, as interações em redes aninhadas são centradas em poucas espécies, sendo essas as mais generalistas e mais abundantes da interação. Assim, essas redes são consideradas robustas e dificilmente a sua estrutura sofrerá alteração (Díaz-Castelazo *et al.* 2010; Mello *et al.* 2011).

Com os resultados do presente estudo, pode-se evidenciar a complexidade da interação formiga-planta com NEFs no Cerrado. Tal relação apresenta variação sazonal no resultado da associação para ambos os grupos, mas mantém um padrão estrutural característico de aninhamento. Em ambientes naturais, os sistemas mutualistas frequentemente envolvem uma série de efeitos diretos e indiretos aos vários níveis tróficos adjacentes, e o impacto da sua variação sazonal pode ocasionar efeitos em cascata (*top-down* e *bottom-up*), além da interação em pares (ver Bronstein & Barbosa 2002). Com base em dados de associação entre formigas-plantas-herbívoros (e.g. Oliveira & Del-Claro 2005; Moreira & Del-Claro 2005; Cushman & Whitham 1989; ver revisão de Rico-Gray & Oliveira 2007) sugere-se que o mesmo padrão aqui observado também se repita em interações plantas-formigas-hemípteros (Aphididae, Membracidae) e plantas-formigas-borboletas (Lycaenidae, Riodinidae). Por esse motivo, é importante compreender os impactos dessas variações para os mais diversos níveis tróficos da comunidade. O conhecimento desses efeitos poderá contribuir para o entendimento dos fatores que moldam as comunidades dos mais variados ecossistemas e colaborar com estratégias de conservação de suas espécies, servindo como tópico principal para estudos futuros na área da ecologia de comunidades.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aide, T.M. 1993. Patterns of leaf development and herbivory in a tropical understory community. **Ecology** 74: 455-466.
- Almeida-Neto, M.; Guimarães, P.; Guimarães, P.R.; Loyola, R.D. & Ulrich, W. 2008. A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and measurement. **Oikos** 117: 1227–1239.
- Andersen, A.N. & Lonsdale, W.M. 1990. Herbivory by insects in Australian tropical savannas: A review. **Journal of Biogeography** 17: 433-444.
- Appolinario, V. & Shiavini, I. 2002. Levantamento fitossociológico de espécies arbóreas de cerrado (*stricto sensu*) em Uberlândia, Minas Gerais. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer** 10: 57-75.
- Atsatt, P.R & O' Dowd, D.J. 1976. Plant Defense Guilds. **Science** 193: 24-29.
- Bascompte, J.; Jordano, P.; Melián, C.J. & Olesen, J.M. 2003. The nested assembly of plant–animal mutualistic networks. **Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)** 100: 9383–9387.
- Bascompte, J. & Jordano, P. 2007. Plant–animal mutualistic networks: the architecture of biodiversity. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics** 38: 567–593.
- Bastolla, U.; Fortuna, M.A.; Pascual-Garcia, A.; Ferrera, A.; Luque, B. & Bascompte, J. 2009. The architecture of mutualistic networks minimizes competition and increases biodiversity. **Nature** 458: 1018-1021.
- Bentley, B.L. 1977. The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixa orellana* L. (Bixaceae). **Journal Ecology** 65: 27-38.
- Blüthgen, N. 2012. Interações plantas-animais e a importância funcional da biodiversidade. In: Del-Claro, K. & Torezan-Silingardi, H.M. (eds.) **Ecologia das interações Animais-Plantas: Interações Planta-Animais e a importância funcional da biodiversidade**. Technical Books Editora. Rio de Janeiro, Brasil. p. 261-272.

Blüthgen, N.; Menzel, F. & Blüthgen, N. 2006. Measuring specialization in species interactions networks. **BMC. Ecology** 6: 9.

Blüthgen, N. & Stork, N.E. 2007. Ant mosaics in a tropical rainforest in Australia and elsewhere: a critical review. **Austral Ecology** 32: 93-104.

Blüthgen, N.; Menzel, F.; Hovestadt, T.; Fiala, B. & Blüthgen, N. 2007. Specialization, constraints, and conflicting interests in mutualistic networks. **Current Biology** 17: 341– 346.

Bronstein, J.L. 1998. The Contribution of Ant-Plant Protection Studies to Our Understanding of Mutualism. **Biotropica** 30: 150–161.

Bronstein, J.L. 2012. Antagonismos e mutualismos: interações entre plantas e animais. In: Del-Claro, K. & Torezan-Silingardi, H.M. (eds.) **Ecologia das interações Animais-Plantas: Interações Planta-Animais e a importância funcional da biodiversidade**. Technical Books Editora. Rio de Janeiro, Brasil. p. 293-304.

Bronstein, J.L. & Barbosa, P. 2002. Multitrophic/multispecies mutualistic interactions: the role of non - mutualists in shaping and mediating mutualisms. In: Tscharnkte, T. & Hawkins, B.A. (eds.) **Multitrophic Level Interactions**. Cambridge University Press. p. 44–46.

Byk, J. & Del-Claro, K. 2011. Ant-plant interaction in the Neotropical savanna: direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. **Population Ecology** 53(2): 327-332.

Carrol, C.R. & Janzen, D.H. 1973. Ecology of foraging by ants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 4: 231-257.

Chamberlain, S.A.; Kilpatrick, J.R. & Holland, J.N. 2010. Do extrafloral nectar resources, species abundances, and body sizes contribute to the structure of ant-plant mutualistic networks? **Oecologia** 164: 741-750.

Coley, P.D.; Bryant, J.P. & Chapin, F.S. 1985. Resource availability and plant antiherbivory defense. **Science** 230: 895-899.

Coley, P.D. & Barone, J.A. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of Ecology and Systematics** 27: 305-335.

Coley, P.D.; Lokvam, J.; Rudolph, K.; Bromberg, K.; Sackett, T.E.; Wright, L.; Brenes-Arguedas, T.; Dvoretz, D.; Ring, S.; Clark, A.; Baptiste, C.; Pennington, R.T. & Kursar, T.A. 2005. Divergent defensive strategies of young leaves in two species of *Inga*. **Ecology** 6: 2633-2643.

Cushman, J.H. & Whitham, T.G. 1989. Conditional mutualism in a membracid-ant association: temporal, age-specific, and density-dependent effects. **Ecology** 70: 1040–1047.

Davidson, D.W. 1997. The role of resource imbalances in the evolutionary ecology of tropical arboreal ants. **Biological Journal of the Linnean Society** 61: 153–181.

Davidson, D.W.; Cook, S.C. & Snelling, R.R. 2003. Explaining the abundance of ants in lowland tropical rainforest canopies. **Science** 300: 969-972.

De La Fuente, M.A.S. & Marquis, R.J. 1999. The role of ant-tended extrafloral nectaries in the protection and benefit of a Neotropical rainforest tree. **Oecologia** 118: 192-202.

Del-Claro, K. 2004. Multitrophic Relationships, Conditional Mutualisms, and the Study of Interaction Biodiversity in Tropical Savannas. **Neotropical Entomology** 33(6): 665-672.

Del-Claro, K. 2012. Origem e importância das relações plantas-animais para a ecologia e conservação. In: Del-Claro, K. & Torezan-Silingardi, H.M. (eds.) **Ecologia das interações Animais-Plantas: Interações Planta-Animais e a importância funcional da biodiversidade**. Technical Books Editora. Rio de Janeiro, Brasil. p. 37-50.

Del-Claro, K.; Berto, V. & Réu, W. 1996. Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). **Journal of Tropical Ecology** 12: 887-892.

Del-Claro, K. & Oliveira, P.S. 2000. Conditional outcomes in a neotropical treehopper-ant association: temporal and species-specific variation in ant protection and homopteran fecundity. **Oecologia** 124:156-165.

Díaz-Castelazo, C.; Guimarães, P.R.; Jordano, P.; Thompson, J.N.; Marquis, R.J. & Rico-Gray, V. 2010. Changes of a mutualistic network over time: reanalysis over a 10-year period. **Ecology** 91(3): 793-801.

- Dirzo, R. 1984. Herbivory, a phytocentric overview. In: Dirzo, R. & Sarukhan, J. (eds.) **Perspectives in plant population biology**. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, Mass, USA. p. 279-289.
- Dirzo, R. & Domingues, C. 1995. Plant-animal interactions in Mesoamerican tropical dry forest. In: Bullock, S.H.; Money, S.H. & Medina, H.A. (eds.) **Seasonally dry tropical forests**. Cambridge University Press, Cambridge. p. 304-325.
- Dunne, J.A. 2006. The Network Structure of Food Webs. In: Pascual, M. & Dunne, J.A. (eds.) **Ecological Networks: linking structure to dynamic in food webs**. Oxford University Press, Oxford, UK. p. 325-347.
- Feeny, P. 1970. Seasonal Changes in Oak Leaf Tannins and Nutrients as a Cause of Spring Feeding by Winter Moth Caterpillars. **Ecology** 51: 565–581.
- Feeny, P. 1976. Biochemical interaction between plants and insects. **Recent Advances Phytochemistry** 10: 1-36.
- González-Teuber, M. & Heil, M. 2009. Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. **Plant Signaling & Behavior** 4: 809-813.
- Guimarães, P.R. & Guimarães, P. 2006. Improving the analyses of nestedness for large sets of matrices. **Environmental Modelling and Software** 21: 1512-1513.
- Guimarães, P.R.; Rico-Gray, V.; Reis, S.F. & Thompson, J.N. 2006. Asymmetries in specialization in ant–plant mutualistic networks. **Proceedings of the Royal Society: Biological Science** 273: 2041–2047.
- Guimarães, P.R.; Rico-Gray, V.; Oliveira, P.S.; Izzo, T.J.; dos Reis, S.F. & Thompson, J.N. 2007. Interaction intimacy affects structure and coevolutionary dynamics in mutualistic networks. **Current Biology** 17: 1-7.
- Harris, P. 1979. The biological control of leafy spurge. Proceedings: **Leafy Spurge Symposium**, June 26-27. Bismark, North Dakota. p. 25-34.
- Hölldobler, B. & Wilson, E.O. 1990. **The ants**. Harvard University Press, Cambridge, MA. 732p.

- Horvitz, C.C. & Schemske, D.W. 1984. Effects of ants and attended herbivore on seed production of a neotropical herb: effects on demographic fates. **Ecology** 65: 1369–1378.
- Jordano, P. 1987. Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: connectance, dependence, and coevolution. **American Naturalist** 129: 657-677.
- Kogan, M. 1986. Natural chemicals in plant resistance to insects. **Iowa State Journal of Research** 60(4): 5001-527.
- Koptur, S. 1992. Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. In: Bernays, E. (ed.) **Insect-Plant Interactions**. Boca raton, CRC Press. p. 81-129.
- Korndörfer, A.P. & Del-Claro, K. 2006. Ant defense versus induced defense in *Lafoensia pacari* (Lythraceae), a myrmecophilous tree of the Brazilian Cerrado. **Biotropica** 38: 786-788.
- Leston, D. 1973. The ant mosaic, tropical tree crops and the limiting of pests and diseases. **Pest Articles and News Summaries** 19: 311-341.
- Lewinsohn, T.M.; Prado, P.I.; Jordano, P.; Bascompte, J. & Olesen, J. 2006. Structure in plant–animal interaction assemblages. **Oikos** 113: 174–184.
- Marquis, R.J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. **Science** 226: 537–39.
- Marquis, R.J. 1991. Herbivore fauna of *Piper* (Piperaceae) in a Costa Rican wet forest. Diversity, specificity and impact. In: Price, P.W.; Lewinsohn, T.M.; Fernandes, G.W. & Benson, W.W. (eds.) **Plant–animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions**. Wiley and Sons, New York, New York, USA. p. 197–208.
- Marquis, R.J. & Braker, H.E. 1994. Plant–herbivore interactions: diversity, specificity and impact. In: McDade, L.A.; Bawa, K.S.; Hespenheide, H.A. & Hartshorn, G.S. (eds.) **La Selva, ecology and natural history of a Neotropical rain forest**. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA. p. 261–281.
- Marquis, R.J.; Diniz, I.R. & Morais, H.C. 2001. Patterns and correlates of interspecific variation in foliar insect herbivory and pathogen attack in Brazilian Cerrado. **Journal of Tropical Ecology** 17: 127-148.

- McKey, D. 1974. Adaptive patterns in alkaloid physiology. **American Naturalist** 108: 305–320.
- Mello, M.A.R.; Santos, G.M.M.; Mechi, M.R. & Hermes, M.G. 2011. High generalization in flower-visiting networks of social wasps. **Acta Oecologica** 167: 131-140.
- Mody, K. & Linsenmair, E. 2004. Plant-attracted ants affect arthropod community structure but not necessarily herbivory. **Ecology Entomology** 29: 217-225.
- Moreira, V.S.S. & Del-Claro, K. 2005. The outcomes of an ant-treehopper association on *Solanum lycocarpum* St. Hill: Increased membracid fecundity and reduced damage by chewing herbivores. **Neotropical Entomology** 34(6): 881-887.
- Nahas, L.; Gonzaga, M.O. & Del-Claro, K. 2012. Intraguild interactions between ants and spiders reduce herbivory in an extrafloral nectaried tree of tropical savanna. **Biotropica** (no prelo).
- Nascimento, E.A. & Del-Claro, K. 2010. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. **Flora** 205: 754-756.
- O'Dowd, D.J. & Catchpole, E.A. 1983. Ants and extrafloral nectaries: no evidence for plant protection in *Helichrysum spp.* - ant interactions. **Oecologia** 59: 191-200.
- Oliveira, P.S. & Leitão-Filho, H.F. 1987. Extrafloral nectaries: Their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of cerrado vegetation in Southeast Brazil. **Biotropica** 19: 140-148.
- Oliveira, P.S.; Rico-Gray, V.; Díaz-Castelazo, C. & Castillo-Guevara, C. 1999. Interaction between ants, extrafloral nectaries and insect herbivores in Neotropical coastal sand dune: herbivore deterrence by visiting ants increases fruit set in *Opuntia stricta* (Cactaceae). **Functional Ecological** 13: 623-631.
- Oliveira, P.S. & Marquis, R.J. 2002. **The Cerrados of Brazil. Ecology and natural history of a neotropical savanna.** Columbia University Press, New York, USA. 367p.
- Oliveira, P.S. & Freitas, A.V.L. 2004. Ant-Plant-Herbivore Interactions in the Neotropical Cerrado Savanna. **Naturwissenschaften** 91: 557-570.

Oliveira, P.S. & Del-Claro, K. 2005. Multitrophic Interactions in a Neotropical savanna: Ant-hemipteran systems, Associated Insect Herbivores, and a Host Plant. In: Burslem, D.F.R.P.; PInard, M.A. & Hartley, S.E. (eds.) **Biotic interactions in the tropics**. Cambridge: Cambridge University Press. p. 414-438.

Oliveira-Filho, A.T. & Ratter, J.A. 2002. Vegetation physiognomies and woody flora of the Cerrado Biome. In: Oliveira, P.S. & Marquis, R.J. (eds.) **The cerrados of Brazil**. New York, Columbia University Press. p. 91-120.

Rashbrook, V.K.; Compton, S.G. & Lawton, J.H. 1992. Ant-herbivore interactions: reasons for the absence of benefits to a fern with foliar nectaries. **Ecology** 73(6): 2167-2174.

Rico-Gray, V. 1993. Use of plant-derived food resources by ants in the dry tropical lowlands of coastal Veracruz, Mexico. **Biotropica** 25: 301-315.

Rico-Gray, V.; Oliveira, P.S.; Parra-Tabla, V.; Cuautle, M. & Díaz-Castelazo, C. 2004. Ant-plant interactions: their seasonal variation and effects on plant fitness. In: Martínez, M.L. & Psuty, N. (eds.) **Coastal Sand Dunes: Ecology and Restoration**. Ecological Studies 171. Springer-Verlag, Berlin. p. 221-239.

Rico-Gray, V. & Oliveira, P.S. 2007. **The ecology and evolution of ant-plant interactions**. The University of Chicago Press, Chicago. 331p.

Santos, J.C. & Del-Claro, K. 2001. Interactions between Ants, Herbivores and Extrafloral Nectaries in *Tocoyena formosa* (Cham. e schlechtd) K. schum. (rubiaceae) in Cerrado Vegetation. **Revista Brasileira de Zoociências** 3(1): 35-44.

Silva Junior, M.C. 2005. **100 Árvores do Cerrado. Guia de Campo**. Rede de Sementes do Cerrado. Brasília, DF. 278p.

Silvério, D.V. & Lenza, E. 2010. Fenologia de espécies lenhosas em um cerrado típico no Parque Municipal do Bacaba, Nova Xavantina, Mato Grosso, Brasil. **Biota Neotropical** 10(3): 205-216.

Sugiura, S. 2010. Species interactions-area relationships: biological invasions and network structure in relation to island area. **Proceedings of the Royal Society: Biological Science**. February: 1-9.

Suzuki, N.; Ogura, K. & Katayama, N. 2004. Efficiency of herbivore exclusion by ants attracted to aphids on the vetch *Vicia angustifolia* L. (Leguminosae). **Ecological Review** 19: 275-282.

Vasconcelos, H.L. 1991. Mutualism between *Maieta guianensis* Aubl., a myrmecophytic melastome, and one of its ant inhabitants: ant protection against insect herbivores. **Oecologia** 87: 295-298.

Waltz, A.M. & Whitham T.G. 1997. Plant Development affects Arthropod Communities: Opposing Impacts of Species Removal. **Ecology** 78: 2133-2144.

Waterman, P.G. & Mole, S. 1989. Soil nutrients and plant secondary compounds. In: Proctor, J. (ed.) **Mineral Nutrients in Tropical Forest and Savanna Ecosystems**. Oxford: Blackwell Scientific Publications. p. 241-254.

Wolda, H. 1988. Insect seasonality: Why? **Annual Review Ecology and Systematics** 19: 1-18.

Apêndice 1. Frequência relativa das espécies de formigas encontradas nas nove espécies de plantas estudadas no período de setembro de 2008 a agosto de 2010 na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG. As abreviações das espécies de plantas significam: (Cb) *Caryocar brasiliense*, (Lp) *Lafoensia pacari*, (Os) *Ouratea spectabilis*, (Oh) *Ouratea hexasperma*, (Sa) *Stryphnodendron adstringens*, (Sp) *Stryphnodendron polyphyllum*, (Qg) *Qualea grandiflora*, (Qm) *Qualea multiflora* e (Qp) *Qualea parviflora*. Os códigos (Cd.) das espécies de formigas indicam a posição das mesmas na Figura 4.

Subfamílias/Espécies		Espécies de Plantas									Média
Cd.		Cb	Lp	Os	Oh	Sa	Sp	Qg	Qm	Qp	
Formicinae											
1	<i>Brachymyrmex</i> sp.1	4,16	5,09	1,27	6,13	2,46	3,38	2,42	5,91	2,49	3,80
2	<i>Camponotus</i> sp.1	0,00	0,00	0,00	0,38	0,98	0,00	1,21	0,00	0,00	0,20
3	<i>C. crassus</i> (Mayr, 1887)	12,48	37,92	28,49	20,31	19,65	25,52	27,41	26,82	23,23	23,80
4	<i>C. blandus</i> (Fr. Smith, 1858)	7,04	10,75	18,99	19,55	7,37	8,61	10,89	5,91	9,96	10,80
5	<i>C. trapeziceps</i> (Forel, 1908)	1,28	0,00	3,80	10,35	4,42	1,84	1,21	9,55	3,32	3,90
6	<i>C. leydigi</i> (Forel, 1886)	0,32	0,00	1,27	1,92	0,98	0,61	0,00	0,00	0,00	0,50
7	<i>C. lespesii</i> (Forel, 1886)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,49	0,00	0,00	0,45	0,00	0,05
8	<i>C. vittatus</i> (Forel, 1904)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	1,24	0,05
Myrmicinae											
9	<i>Crematogaster</i> sp.1	0,32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05
10	<i>C. erecta</i> (Mayr, 1866)	5,76	0,00	3,17	0,77	2,95	0,61	1,61	0,00	0,83	1,90
11	<i>C. bruchi</i> (Forel, 1912)	0,00	0,00	0,63	0,77	0,49	2,77	1,21	0,45	12,86	2,20
12	<i>C. quadriformis</i> (Roger, 1863)	0,00	1,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05
13	<i>Pheidole</i> sp.1	0,00	0,57	0,63	0,00	0,98	0,61	0,81	0,45	0,00	0,30
14	<i>P.</i> sp.2	0,00	0,00	0,00	0,38	0,00	0,61	0,40	0,00	0,41	0,20
15	<i>Solenopsis</i> sp.1	1,28	1,70	3,80	1,53	0,00	1,23	4,84	0,45	0,00	1,50
16	<i>S.</i> sp.2	0,32	0,57	3,80	0,38	0,00	0,00	0,40	0,00	0,41	0,50
17	<i>Cephalotes</i> sp.1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05
18	<i>C. pusillus</i> (Klug, 1824)	22,09	8,49	17,09	21,85	16,70	25,21	23,79	19,09	24,89	21,00
19	<i>C. bruchi</i> (Forel, 1912)	0,00	0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
20	<i>C. atratus</i> (Linnaeus, 1758)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05
21	<i>Nesomyrmex spininodis</i> (Mayr, 1887)	1,28	0,00	0,00	1,15	7,86	0,00	0,40	0,00	0,83	1,10
Dolichoderinae											
22	<i>Azteca</i> sp.1	16,97	23,21	0,00	1,53	14,74	11,38	4,43	2,73	13,28	10,00
23	<i>Linepithema aztecoides</i> (Wild, 2007)	0,32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05
24	<i>Linepithema</i> sp.1	0,00	0,00	0,00	0,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
25	<i>Forelius brasiliensis</i> (Forel, 1908)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	0,00	0,05
Pseudomyrmicinae											
26	<i>Pseudomyrmex</i> sp.1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,54	0,40	0,45	0,00	0,30
27	<i>P.</i> sp.2	0,00	0,00	1,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
28	<i>P. gracilis</i> (Fabricius, 1804)	5,76	6,23	8,23	4,60	2,95	4,30	8,47	10,00	2,07	5,80
29	<i>P. flavidulus</i> (Smith, 1858)	19,53	1,13	5,70	2,30	3,93	9,53	2,42	5,00	2,49	6,50
Ectatomminae											
30	<i>Ectatomma tuberculatum</i> (Olivier, 1792)	1,28	1,70	0,63	4,60	9,33	1,84	6,85	8,18	0,83	3,80
31	<i>E. edentatum</i> (Roger, 1863)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,64	0,00	0,30
32	<i>E. planidens</i> (Borgmeier, 1939)	0,00	0,00	0,63	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
33	<i>Gnamptogenys semiferox</i> (Brown, 1958)	0,00	0,00	0,63	0,38	0,49	0,31	0,00	0,00	0,41	0,20
Ponerinae											
34	<i>Pachycondyla villosa</i> (Fabricius, 1804)	0,00	0,57	0,00	0,00	1,96	0,31	1,21	0,00	0,83	0,60

Apêndice 2. Herbívoros observados forrageando nas nove espécies de plantas estudadas no período de setembro de 2008 a agosto de 2010 na reserva ecológica do CCPIU, Uberlândia, MG. Ver Apêndice 1 para as abreviações das espécies de plantas.

Ordem/Família	Tipo	Espécie de planta
Coleoptera		
Chrysomelidae	Folívoro	<i>Cb, Lp, Os, Oh, Sa, Sp, Qg, Qm, Qp</i>
Cerambycidae	Folívoro	<i>Os</i>
Coccinellidae	Folívoro	<i>Sp, Qg, Qm</i>
Curculionidae	Folívoro	<i>Cb, Lp, Os, Oh, Sa, Sp, Qg, Qm, Qp</i>
Meloidae	Folívoro	<i>Lp, Os</i>
Scarabaeidae	Folívoro	<i>Qm, Qp</i>
Staphylinidae	Folívoro	<i>Cb</i>
Hemiptera		
Alydidae	Sugador	<i>Os, Sp, Qm</i>
Aphididae	Sugador	<i>Cb, Lp</i>
Cicadellidae	Sugador	<i>Cb, Lp, Os, Oh, Qg, Qm, Qp</i>
Coccidae	Sugador	<i>Cb, Lp, Sp, Qg, Qm</i>
Coreidae	Sugador	<i>Os, Oh, Qg, Qm</i>
Diaspididae	Sugador	<i>Os</i>
Membracidae	Sugador	<i>Lp, Oh, Sa, Qm, Qp</i>
Pentatomidae	Sugador	<i>Cb, Os, Qm</i>
Margarodidae	Sugador	<i>Os, Oh, Qg, Qm</i>
Miridae	Sugador	<i>Oh</i>
Ortheziidae	Sugador	<i>Cb, Qg, Qm,</i>
Scutelleridae	Sugador	<i>Os</i>
Hymenoptera		
Formicidae	Folívoro	<i>Os</i>
Lepidoptera		
Geometridae	Folívoro	<i>Cb</i>
Hesperiidae	Folívoro	<i>Os, Oh</i>
Limacotidae	Folívoro	<i>Os, Sa, Qg</i>
Lycaenidae	Folívoro	<i>Sa, Qm</i>
Larvas não identificadas	Folívoro	<i>Os, Qg, Qp</i>
Orthoptera		
Acrididae	Folívoro	<i>Cb, Lp, Os, Oh, Sa, Sp, Qg, Qm, Qp</i>
Gryllidae	Folívoro	<i>Cb, Lp, Os, Sa, Sp, Qg, Qm, Qp</i>
Proscopidae	Folívoro	<i>Cb, Os, Oh, Sa, Sp, Qg, Qm, Qp</i>
Tettigoniidae	Folívoro	<i>Lp, Oh, Qg, Qp</i>
Phasmatodae	Folívoro	<i>Oh, Qm</i>
Thysanoptera		
Thripidae	Folívoro	<i>Cb, Os, Oh, Qg</i>

CAPÍTULO 3

PRODUTIVIDADE DOS NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM UMA COMUNIDADE DO CERRADO E SUA INFLUENCIA NA INTERAÇÃO FORMIGA-PLANTA

Resumo: O néctar extrafloral é um recurso chave nas interações estabelecidas entre formigas e plantas nos mais diversos ambientes. Em uma relação considerada mutualística, formigas forrageiam nas plantas em busca do néctar extrafloral e passam a contribuir para diminuir a herbivoria nessas plantas. Estudos verificando essa relação são comuns na literatura, entretanto, devido à grande diversidade de espécies relacionadas, assim como a variação nos resultados para ambos os grupos envolvidos, os fatores que moldam esse tipo de interação não são totalmente compreendidos. Assim, o presente estudo objetivou conhecer a variação da produtividade dos nectários extraflorais em uma comunidade e seus efeitos sobre o forrageamento das formigas. Para isso, trinta indivíduos de sete espécies de plantas abundantes de uma área de cerrado foram monitorados em três períodos do dia para avaliar o volume e valor energético do néctar produzido pelos nectários extraflorais, assim como verificar as espécies de formigas visitantes. Os resultados indicaram que houve variação na produção de néctar entre as espécies e entre períodos do dia e que essa variação interferiu na riqueza e frequência de visita das formigas em cada espécie de planta, sendo constatada maior riqueza e forrageamento de formigas no período de maior oferta do recurso. Também foi evidenciada partição temporal do recurso entre as espécies de formigas, indicando forte adaptação das espécies ao sistema. Esses resultados reforçam a idéia de que interações formiga-planta com nectários extraflorais são relações complexas, resultado de um processo evolutivo contínuo e interdependente.

Palavras-chave: atratividade das plantas, defesas bióticas, competição, partição temporal de recurso.

INTRODUÇÃO

O néctar extrafloral é um recurso chave para o mutualismo de proteção das plantas por insetos predadores (Koptur 1994; Blüthgen *et al.* 2000). Essa substância líquida é produzida por estruturas glandulares, denominadas nectários extraflorais (NEFs), os quais são extremamente variáveis quanto à estrutura e morfologia (Elias 1983) podendo ocorrer em

praticamente todos os órgãos da planta que não estão relacionados com a polinização (Elias 1983; Oliveira & Leitão-Filho 1987). Essas glândulas são encontradas em 93 famílias de angiospermas (Koptur 1992) e em pelo menos 2.200 espécies (Keeler 1989). Em regiões tropicais, mais especificamente em áreas de Cerrado, plantas com NEFs podem representar 31% dos indivíduos e 25% das espécies da flora arbórea (Oliveira & Leitão-Filho 1987).

Por ser um líquido rico em carboidratos, aminoácidos, lipídios, fenóis, alcalóides e compostos orgânicos voláteis (González-Teuber & Heil 2009), o néctar extrafloral atrai grande diversidade de artrópodes predadores, inclusive formigas (Oliveira & Oliveira-Filho 1991; Koptur 1992). O néctar extrafloral é possivelmente o alimento mais comum oferecido pelas plantas às formigas (Blüthgen *et al.* 2000). Recentemente, Byk & Del-Claro (2011) evidenciaram que o consumo de néctar extrafloral por formigas da espécie *Cephalotes pusillus* Klug (Myrmicinae) aumenta a sobrevivência, tamanho corporal dos indivíduos e quantidade de ovos das colônias. Por outro lado, muitos autores têm demonstrado que a visitação de formigas em NEFs pode gerar um benefício para a planta hospedeira, no sentido em que as formigas predam ou reduzem a atividade de herbívoros na planta (Bentley 1977; Oliveira *et al.* 1987; Del-Claro 2004; Koptur 2005; Rico-Gray & Oliveira 2007; Nascimento & Del-Claro 2010). Assim, formigas são consideradas os principais agentes bióticos de defesa contra herbivoria (ver revisão de Rico-Gray & Oliveira 2007; Rosumek *et al.* 2009). Apesar de muitos estudos terem constatado que os NEFs podem desempenhar papel importante na defesa das plantas contra herbívoros (ver revisão de Rico-Gray & Oliveira 2007; Rosumek *et al.* 2009), pouco é conhecido sobre os mecanismos de atratividade dessas plantas para formigas por meio do néctar extrafloral. De acordo com O'Dowd (1979), “se a função primária da produção de néctar extrafloral é a atração de agentes anti-herbivoria em potencial, como formigas, o entendimento das relações entre a produção de néctar, visitação de formigas e desenvolvimento foliar é particularmente importante”.

A influência da produtividade e composição do néctar nas relações mutualísticas entre animais e plantas foi estudada principalmente para interações polinizador-planta (ver Stiles & Freeman 1993; Adler 2000; Corbet 2003 e citações). Existem poucos estudos analisando a influência das interações formigas-plantas com NEFs. A maioria dos estudos verifica a morfologia e anatomia dos NFFs (Paiva *et al.* 2001; Díaz-Castelazo *et al.* 2005; Machado *et al.* 2008; Paiva & Machado 2006; ver também Nicolson *et al.* 2007) ou a variação sazonal da produtividade (Heil *et al.* 2000). Há estudos que comparam a composição química entre néctar floral e extrafloral de apenas uma espécie de planta (Durkee 1982; Koptur 1994;

Blüthgen *et al.* 2004) ou que verificam o valor adaptativo de organismos alimentados com néctar extrafloral, como parasitóides (Irvin *et al.* 2000), aranhas (Taylor & Pfannenstiel 2009) e formigas (Byk & Del-Claro 2011). Também existem na literatura estudos que comprovam que a presença de NEFs aumenta o forrageamento de predadores nas plantas (Oliveira *et al.* 1987; Oliveira 1997; Kost & Heil 2005).

Apesar da interação entre formigas e plantas com NEFs chamar a atenção de naturalistas há mais de um século (Rico-Gray & Oliveira 2007), devido à enorme diversidade e abundância desses dois grupos de organismos e a ampla variação nos resultados de suas interações, pouco se sabe sobre os fatores moduladores dessa relação (ver Rosumek *et al.* 2009). Assim, o estudo da produtividade dos NEFs como mediador de interações com formigas torna-se fundamental para compreender as variáveis que moldam as interações formigas-plantas com NEFs no contexto da comunidade (O'Dowd 1979; Blüthgen *et al.* 2004).

O presente estudo objetivou conhecer o padrão da produção de néctar (volume e valor energético) dos NEFs e sua atratividade sobre a comunidade de formigas em uma área de cerrado. Buscou-se responder às seguintes perguntas: Algumas espécies produzem néctar extrafloral em maior volume e qualidade (quantidade de calorias) que outras? O volume e a qualidade do néctar estão relacionados? A produção dos NEFs é a mesma ao longo do dia? Qual o período do dia em que há maior oferta desse recurso? Se existe variação na produção do néctar ao longo do dia e entre as espécies de plantas, as formigas respondem de forma positiva a essas variações?

METODOLOGIA

Área de estudo e espécies avaliadas

O estudo foi realizado na reserva particular do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, MG (18 ° 57'45"S; 48 ° 17'30"W) entre o período de setembro a novembro de 2010, que corresponde ao período de pico da atividade dos NEFs das espécies avaliadas (Lange & Del-Claro, em preparação). A vegetação dominante é o cerrado *sensu strictu*, composta por árvores de 2-8 m de altura, com um sub-bosque contendo arbustos, gramíneas e ervas perenes espalhadas (ver Réu & Del-Claro 2005, para uma caracterização mais detalhada

da área). O clima na região é chuvoso e úmido de setembro a abril (primavera-verão) e seco de maio a agosto (outono-inverno) (Rosa *et al.* 1991).

Para o estudo foram escolhidas sete espécies de plantas arbóreas com NEFs dentre as mais abundantes na região (ver Appolinario & Schiavini 2002): *Lafoensia pacari* (A. St.-Hil.) (Lythraceae), *Ouratea spectabilis* (Mart.) Engl. (Ochnaceae), *Ouratea hexasperma* (A. St.-Hil.) Baill (Ochnaceae), *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae), *Stryphnodendron polyphyllum* (Mart.) (Fabaceae), *Qualea grandiflora* (Mart.) (Vochysiaceae) e *Qualea multiflora* (Mart.) (Vochysiaceae). Para descrição da localização dos NEFs em cada espécie, assim como sua morfologia, veja Oliveira & Leitão-Filho (1987) e Machado *et al.* (2008), respectivamente.

Produtividade dos NEFs e atividade das formigas

Foram avaliados três NEFs pré-apicais de dez indivíduos das sete espécies de plantas selecionadas. Cada NEF avaliado foi proveniente de três ramos distintos de cada planta. As avaliações foram iniciadas com a primeira atividade dos NEFs e encerradas com a necrose dos mesmos (ver Oliveira & Leitão-Filho 1987). O néctar produzido pelos NEFs foi coletado três vezes ao dia (entre períodos de oito horas: 6h, 14h e 22h). Em seguida, era dado um intervalo de dois dias e retomadas as avaliações até a necrose dos nectários. O volume do néctar e a concentração de sacarose foram estimados com auxílio de microcapilar de 10µL graduada e refratômetro (Eclipse®), respectivamente. Os três NEFs avaliados de cada planta foram provenientes de folhas próximas ao meristema apical de três ramos distintos, os quais eram lavados com água destilada e secos com papel de filtro após cada avaliação para garantir que a produção do néctar fosse referente ao período amostral. Após a lavagem dos NEFs, os ramos eram cobertos e amarrados com sacos plásticos para evitar a remoção do néctar por animais, assim como a sua diluição pela chuva e orvalho (ver Blüthgen *et al.* 2004 e Bixenmann *et al.* 2011).

Nos horários de avaliação da produtividade dos NEFs foram também registradas a abundância e riqueza das formigas nas plantas. Um indivíduo de cada espécie de formiga não identificada em campo foi coletado nas plantas avaliadas e fixado em álcool 70% para posterior identificação em laboratório.

Análise dos dados

A partir dos dados de volume e concentração do néctar de cada solução retirada dos NEFs foi calculada a concentração de açúcar da solução (equivalentes de sacarose), correspondendo a quantidade de miligramas (mg) de açúcar por microlitros (μL) como proposto por Bolten *et al.* (1979). Esse cálculo foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Dafni *et al.* (2005) utilizando a seguinte equação: $y = 0,00226 + (0,00937 x) + (0,0000585 x^2)$, sendo “x” o valor da concentração (a leitura do refratômetro) e “y” a quantidade de açúcares totais em $1\mu\text{L}$. O total de açúcar no néctar foi calculado multiplicando os mg totais de açúcar por μL . A quantidade de açúcar encontrada em cada NEF foi posteriormente convertida em calorias de acordo com Dafni *et al.* (2005), sendo cada 1 mg de açúcar equivalente à 4 calorias, correspondendo ao valor energético da solução. Quando os nectários apresentaram volume muito baixo (menor ou igual a $0,1\mu\text{L}$) não foi possível a avaliação da concentração dessas soluções e posterior análise de calorias.

Para comparar o volume, a concentração do néctar e a quantidade de calorias (valor energético) entre as espécies e entre os períodos do dia foi utilizada ANOVA com teste a posteriori de Tukey. Os dados de volume e calorias foram transformados em raiz quadrada ($x+0,5$) para atingir a distribuição normal segundo teste de Kolmogorov-Smirnov ($p>0,05$). Essas análises foram feitas usando o software Systat 12.0. Para verificar a relação entre o volume de cada solução (néctar), a sua concentração e o valor energético foi feita correlação de Spearman utilizando o software BioEstat 5.0. A regressão linear foi utilizada para verificar relação entre frequência total de formigas nas sete espécies de plantas e a produtividade dos seus NEFs (volume e valor energético total para cada espécie e período). Para essa análise, os dados foram transformados em log10 para atingir a linearidade (Gotelli & Ellison 2011).

Com o objetivo de verificar a similaridade na composição das espécies de formigas entre as amostras ($n=21$; compreendendo as sete espécies de planta em cada um dos três períodos do dia) foi feita a Análise de Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS) e posteriormente o “*joint plot*”. Em seguida, os escores dessa ordenação foram relacionados (Pearson) com as médias de volume e caloria das amostras e também com a frequência de cada uma das espécies de formigas. Foram consideradas relações significativas apenas as que apresentaram valor $r^2 \geq 0,3$, de acordo com McCune & Mefford (2006). O índice de similaridade utilizado para o NMDS foi Bray-Curtis, partindo de uma matriz de frequência das espécies de formigas nas amostras. Para essas análises foram utilizadas 250

interações e a significância foi testada com a proporção de aleatorizações com stress menor ou igual ao stress observado. Para essas análises foi utilizado o programa PC-ORD 5.10 (McCune & Mefford 2006).

RESULTADOS

Produtividade dos NEFs

Houve diferença significativa na produtividade dos NEFs entre as espécies de plantas arbóreas do cerrado. O volume diário de néctar produzido pelas sete espécies de plantas foi significativamente diferente (Tabela 1). O mesmo foi evidenciado para a quantidade total de calorias diária (Tabela 1). *Stryphnodendron adstringens* foi a espécie que apresentou maior produtividade (volume e calorias) diária dos NEFs. Já as espécies que produziram menor volume e quantidade de calorias no néctar diário foram *O. hexasperma* e *L. pacari*. Para essas duas espécies, o volume de néctar produzido algumas vezes foi tão pequeno que não foi possível medir a concentração da solução por meio do refratômetro.

Ao avaliar a produção de néctar nos três períodos do dia, observou-se maior volume e quantidade de calorias no período entre às 22h e 6h para quase todas as espécies, com exceção de *Q. grandiflora* e *Q. multiflora*, as quais apresentaram maior produtividade no período das 14h às 22h (Tabela 1). Quando somados o volume do néctar de todas as espécies, evidenciou-se diferença significativa entre os horários avaliados. A quantidade de calorias também variou significativamente para os três horários observados, com maiores valores para o período das 14h às 22h, seguidos pelos períodos de produção entre as 6h e 14h e entre as 22h e 6h (Tabela 1). Já a concentração do néctar variou entre os períodos, com maiores valores para o néctar coletado às 14h e às 22h (Figura 1), mas não entre as espécies de plantas ($F_{6,401}=1,31$; $p=0,248$).

Assim como o volume, a quantidade de calorias e a concentração do néctar, a quantidade de NEFs ativos também variou entre os três períodos observados, com maiores valores para o período entre as 22h e 6h (Figura 2). Ao verificar a relação entre o volume, a concentração e a quantidade de calorias presente em cada solução, foi verificada relação positiva para todas as variáveis (volume*concentração $r=0,22$; $p<0,01$; volume*calorias $r=0,89$; $p<0,01$; e calorias*concentração $r=0,64$; $p<0,01$; com $n=350$), evidenciando que essas três variáveis estão relacionadas entre si.

Tabela 1. Produtividade diária dos nectários extraflorais (média±erro padrão) de sete espécies de plantas extranectaríferas abundantes no cerrado. Estudo realizado no período de setembro a novembro de 2010 em Uberlândia, MG. As letras demonstram as diferenças estatísticas (teste a posteriori de Tukey) nos totais da produção do néctar (volume e calorias) entre as espécies e os períodos. Volume diário entre as espécies ($F_{6,295}=9,70$; $p<0,01$) e volume entre os períodos ($F_{2,295}=58,51$; $p<0,01$). Caloria diária do néctar entre as espécies ($F_{6,295}=5,84$; $p<0,01$) e entre os períodos ($F_{2,295}=2,78$; $p<0,01$). As letras “nm” demonstram os valores de calorias não avaliados devido ao pouco volume.

Espécies de Planta	(N)	Volume (µL)				Calorias			
		22h – 6h	6h – 14h	14h – 22h	Produtividade diária	22h – 6h	6h – 14h	14h – 22h	Produtividade diária
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	43	2,103±0,288	0,413±0,158	0,802±0,251	3,346±0,342^a	0,739±0,131	0,197±0,104	1,061±0,559	1,998±0,551^a
<i>Qualea grandiflora</i>	54	1,087±0,191	0,124±0,039	1,562±0,299	2,774±0,447^{ab}	0,213±0,039	0,069±0,042	0,067±0,130	0,956±0,172^b
<i>Qualea multiflora</i>	52	0,734±0,152	0,086±0,027	1,091±0,245	1,912±0,306^{bc}	0,242±0,081	0,007±0,004	0,614±0,219	0,864±0,242^b
<i>Stryphnodendron polyphyllum</i>	39	1,520±0,291	0,079±0,027	0,210±0,117	1,810±0,289^{bc}	0,454±0,133	0,032±0,021	0,057±0,042	0,544±0,139^b
<i>Ouratea spectabilis</i>	45	0,760±0,160	0,108±0,047	0,352±0,162	1,221±0,237^c	0,252±0,083	0,049±0,038	0,122±0,060	0,424±0,114^b
<i>Ouratea hexasperma</i>	41	0,421±0,061	0,031±0,014	0,270±0,078	0,724±0,108^c	0,083±0,014	nm	0,083±0,029	0,169±0,032^b
<i>Lafoensia pacari</i>	28	0,396±0,079	0,039±0,001	0,158±0,074	0,594±0,105^c	0,091±0,025	nm	0,041±0,015	0,133±0,029^b
Produtividade por período	302	1,027±0,081^a	0,130±0,026^c	0,712±0,087^b		0,301±0,034^a	0,053±0,018^b	0,418±0,093^a	

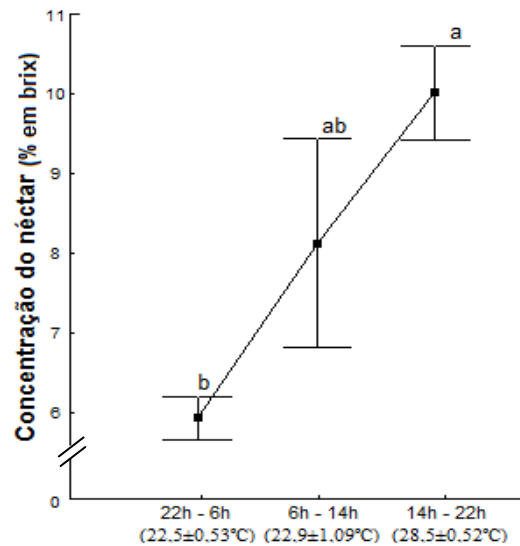


Figura 1. Concentração do néctar produzido por sete espécies de plantas extranectaríferas abundantes no cerrado em três períodos do dia. As barras representam média±erro padrão. ANOVA ($F_{2,401}=22,78$; $p<0,01$); as letras descrevem a diferença estatística (teste a posteriori de Tukey) entre os períodos. Os números entre parêntesis abaixo dos períodos indicam a temperatura média (média±erro padrão) de cada período.

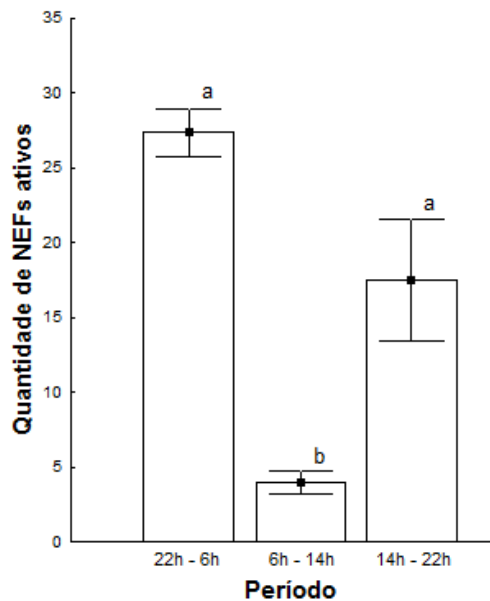


Figura 2. Quantidade de NEFs ativos nas sete espécies de plantas extranectaríferas abundantes no cerrado nos três períodos do dia observado. ANOVA ($F_{2,18}=22,71$; $p<0,01$); as letras descrevem a diferença estatística (teste a posteriori de Tukey) entre os períodos. As barras representam média±erro padrão.

Atividade das formigas

Durante os períodos de observação, foram encontradas 25 espécies de formigas forrageando nas 70 plantas. As espécies de formigas encontradas pertencem às subfamílias: Formicinae, Myrmicinae, Dolichoderinae, Pseudomyrmicinae, Ectatomminae, Ponerinae (Tabela 2). As espécies de plantas que apresentaram maior riqueza de formigas foram *S. adstringens* e *O. spectabilis* com 10 espécies, e as plantas que apresentaram menor riqueza foram *L. pacari* e *Q. grandiflora*, com um total de cinco espécies cada uma. *Stryphnodendron polyphyllum* e *O. spectabilis* foram as espécies mais visitadas por formigas em termos de frequência, enquanto *L. pacari* e *Q. grandiflora* foram as menos visitadas. Entretanto, não foi observada variação na frequência de formigas entre as espécies de plantas ($F_{6,13}=2,37$; $p=0,085$).

Verificou-se também que para cada horário observado, diferentes espécies de formigas estavam presentes nas plantas (Tabela 2). Algumas formigas foram encontradas apenas durante o dia e outras apenas à noite. Das 25 espécies de formigas, 13 foram encontradas somente durante o dia (entre 6h e 14h) e cinco somente à noite. *Camponotus crassus*, *Crematogaster bruchi*, *Solenopsis* sp.1 e *Solenopsis* sp.2 foram as únicas espécies que estiveram presentes nos três horários observados (Tabela 2). A espécie de formiga mais frequente nas plantas foi *C. crassus*, enquanto *Cephalotes pusillus* foi a espécie que visitou todas as espécies de plantas observadas, com exceção apenas de *Q. grandiflora*. Oito espécies de formigas estiveram presentes em apenas uma espécie de planta e em um único período. Essas espécies são: *Pseudomyrmex gracilis*, *Pachycondyla villosa*, *Gnampogenys semiferox*, *Camponotus* sp.3, *Camponotus* sp.4, *Camponotus* sp.5, *Camponotus trapeziceps* e *Pheidole* sp.1. Em relação à frequência de formigas presentes nas plantas, o horário das 6h apresentou os maiores valores (41,7%) comparado às 14h (39,72%) e 22h (18,23%).

Apesar de ter havido maior frequência de formigas nas plantas no período de maior produtividade dos NEFs, não foi evidenciada nenhuma relação entre a frequência de formigas com o volume e a quantidade de calorias produzidos nos NEFs (para volume $r^2=0,01$; $p>0,05$; para calorias $r^2=0,02$; $p>0,05$; com $n=21$). Por outro lado, quando comparadas as assembléias de formigas para cada período do dia e entre as espécies de plantas, verificou-se maior similaridade entre as espécies de plantas nos períodos diurnos (manhã e tarde, Figura 3). A ordenação representou 69% (eixo1=39%; eixo2=30%) das distâncias originais das amostras, sendo o posicionamento das amostras no espaço bi-dimensional significativamente

relacionado com a frequência de duas espécies de formigas (*Camponotus* sp.1, *Camponotus* sp.2 e *Cephalotes pusillus*); não sendo relacionada com o volume (coeficiente de Pearson para eixo 1=0,043 e eixo 2=0,004) e caloria do néctar (coeficiente de Pearson para eixo 1=0,072 e eixo 2=0,024).

Tabela 2. Frequência e período de atividade das formigas encontradas em sete espécies de plantas abundantes no cerrado em Uberlândia, MG, avaliadas no período de setembro a novembro de 2010. As letras significam: (Sa) *Stryphnodendron adstringens*, (Qg) *Qualea grandiflora*, (Qm) *Q. multiflora*, (Sp) *S. polyphyllum*, (Os) *Ouratea spectabilis*, (Oh) *O. hexasperma* e (Lp) *Lafoensia pacari*.

Espécies de formigas	*Período de atividade	Nº de observações (%)	Espécies de plantas associadas
Formicinae			
<i>Brachymyrmex</i> sp.1	manhã, tarde	5(3,25)	Sp, Os, Oh
<i>Brachymyrmex</i> sp.2	noite	3(1,95)	Oh, Sp
<i>Camponotus</i> sp.1	noite	4(2,60)	Sa, Qg, Lp
<i>Camponotus</i> sp.2	manhã, noite	8(5,20)	Sa, Qm, Os, Oh
<i>Camponotus</i> sp.3	noite	3(1,95)	Sp
<i>Camponotus</i> sp.4	noite	1(0,65)	Sa
<i>Camponotus</i> sp.5	noite	1(0,65)	Lp
<i>C. crassus</i> Mayr, 1862	manhã, tarde, noite	33(21,40)	Sa, Qm, Sp, Os
<i>C. blandus</i> F. Smith, 1858	manhã, tarde	8(5,20)	Qm, Sp, Os, Oh
<i>C. trapeziceps</i> Forel, 1908	tarde	1(0,65)	Qm
Myrmicinae			
<i>Crematogaster</i> sp.1	manhã, noite	5(3,25)	Qm, Sp
<i>Crematogaster</i> sp.2	manhã, tarde	2(1,30)	Qg, Sp
<i>C. erecta</i> Mayr, 1866	manhã, tarde	1(0,65)	Qg
<i>C. bruchi</i> Forel, 1912	manhã, tarde, noite	15(9,75)	Qm, Oh, Lp
<i>Solenopsis</i> sp.1	manhã, tarde, noite	5(3,25)	Qm, Os
<i>Solenopsis</i> sp.2	manhã, tarde, noite	10(6,50)	Sa, Qg, Os, Oh
<i>Cephalotes pusillus</i> Klug, 1824	manhã, tarde	31(20,10)	Sa, Qm, Sp, Os, Oh, Lp
<i>Pheidole</i> sp.1	manhã	1(0,65)	Sa
Dolichoderinae			
<i>Dorymyrmex</i> sp.1	tarde, noite	2(1,30)	Oh
Pseudomyrmicinae			
<i>Pseudomyrmex gracilis</i> Fabricius, 1804	tarde	1(0,65)	Sa
<i>P. flavidulus</i> F. Smith, 1858	manhã, tarde	7(4,55)	Sa, Sp, Os, Lp
Ectatomminae			
<i>Ectatomma tuberculatum</i> Olivier, 1792	manhã	2(1,30)	Qg, Oh
<i>E. planidens</i> Borgmeier, 1939	manhã, tarde	2(1,30)	Os
<i>Gnamptogenys semiferox</i> Brown, 1958	manhã	2(1,30)	Os
Ponerinae			
<i>Pachycondyla villosa</i> Fabricius, 1804	manhã	1(0,65)	Sa

* Período do dia em que as espécies foram encontradas nas plantas.

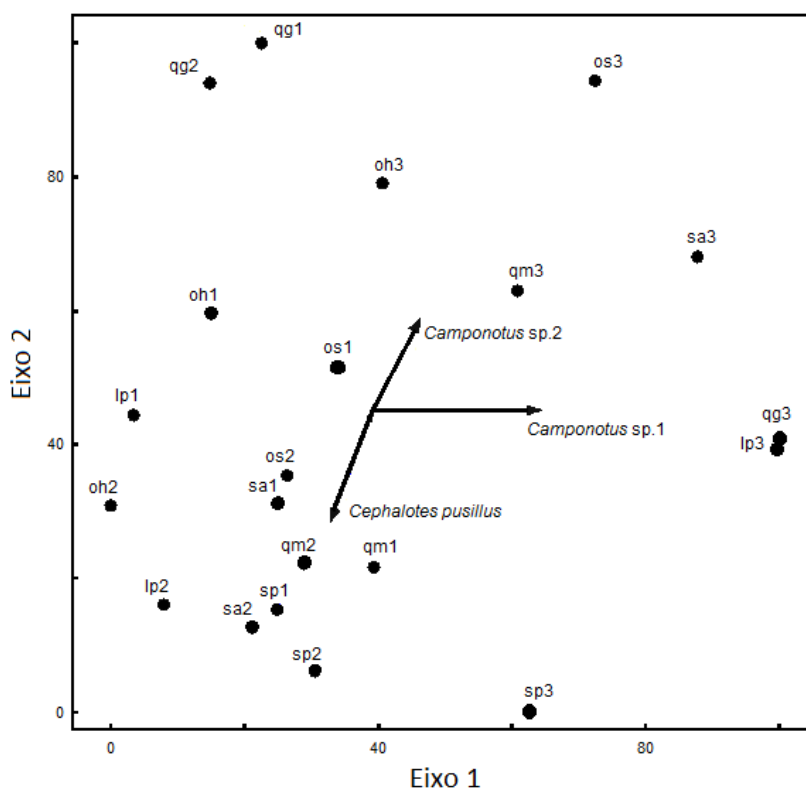


Figura 3. Ordenação das espécies de plantas em função da composição de espécies de formigas (r^2 cutoff = 0,3) usando a Análise de Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS). Os vetores com setas indicam as três espécies de formigas que significativamente explicaram a ordenação (*Camponotus* sp.1, *Camponotus* sp.2 e *Cephalote pusillus*). A direção das duas setas indica se as espécies de formigas são positivamente (em direção às setas) ou negativamente relacionadas e seu comprimento indica a magnitude da relação. As letras significam: (sa) *Stryphnodendron adstringens*, (qg) *Qualea grandiflora*, (qm) *Q. multiflora*, (sp) *S. polyphyllum*, (os) *Ouratea spectabilis*, (oh) *O. hexasperma* e (lp) *Lafoensia pacari*. Os números indicam o período do dia de cada observação: (1) 6h, (2) 14h e (3) 22h.

DISCUSSÃO

Produtividade dos NEFs

A existência de variação na produtividade dos NEFs entre as espécies de plantas arbóreas mais abundantes do cerrado brasileiro foi evidenciada no presente estudo. Esse resultado demonstra que algumas espécies de plantas podem ser mais atrativas para insetos consumidores de néctar que outras. Segundo Blüthgen *et al.* (2004), a quantidade e a qualidade no néctar podem ser fatores decisivos para a atividade de forrageamento de insetos em plantas, podendo ocasionar competição acirrada entre espécies de formigas. Esse mecanismo de competição de formigas por plantas tem impulsionado a especialização evolutiva desses dois grupos, sendo o fator determinante na convergência ou paralelismo das interações (Davidson & McKey 1993). Entretanto, apesar de estudos envolvendo interações formiga-planta com NEFs serem comuns na literatura, a atratividade de plantas às formigas tem sido pouco estudada comparada a grande diversidade de espécies que possuem NEFs e a importância desse fator para o mutualismo desses dois grupos.

Neste estudo, as espécies de plantas produziram diferentes quantidades de néctar entre si e entre os períodos do dia. A quantidade de açúcar da solução, apesar de não ter apresentado forte variação entre as espécies, comparado com o volume, também apresentou variação ao longo do dia. Outros estudos também encontraram variabilidade na produção de néctar extrafloral entre espécies (Koptur 1994; Hossaert-Mackey *et al.* 2001) e entre períodos do dia (O'Dowd 1979; Heil *et al.* 2000; Wäckers *et al.* 2001). A variação na produtividade dos nectários entre as espécies, além de ser um fator genético (Gottsberger *et al.* 1984; Nicolson & Van Wyk 1998; Mitchell 2004; Leiss & Klinkhamer 2005), pode estar relacionada também com o índice de herbivoria de cada indivíduo (Pulice & Packer 2008; Heil *et al.* 2000; Koptur 1994). De acordo com Pulice & Packer (2008), a herbivoria interfere diretamente na produtividade de NEFs, resultando em uma secreção adicional de néctar com o intuito de recrutar parceiros mutualísticos. Calixto *et al.* (dados em preparação) evidenciaram resultados semelhantes com uma das espécies avaliadas no presente estudo (*Qualea multiflora*). Wäckers *et al.* (2001), além de evidenciar a maior secreção de néctar pelos NEFs após ataque de herbívoros em folhas de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) e *Gossypium herbaceum* (Malvaceae), notaram o aumento na concentração de carboidratos no néctar. Dessa forma, o néctar extrafloral pode agir como defesa induzida das plantas para atrair predadores de seus herbívoros (ver Karban & Meyer 1989; Karban & Baldwin 1997).

Outros fatores importantes que podem estar relacionados à maior produtividade são o tamanho da glândula e o tamanho da superfície capaz de reter o líquido. Espécies como *S. adstringens* e *Q. grandiflora* possuem NEFs maiores que as demais espécies (ver Machado *et al.* 2008). Outras espécies como *L. pacari*, *O. spectabilis* e *O. hexasperma*, as quais apresentaram menor produtividade diária, além de possuírem nectários com tamanhos menores que as demais espécies estudadas, não possuem cavidade de retenção de néctar. Além disso, os nectários de *O. spectabilis* e *O. hexasperma*, estão localizados sobre as estípulas das folhas jovens e permanecem funcionais por um curto período de tempo (até a expansão das folhas), necrosando em seguida.

A variação temporal na produtividade dos NEFs encontrada no presente estudo pode estar relacionada a vários fatores. Condições ambientais como temperatura e umidade podem influenciar na concentração do néctar, tanto floral como extrafloral (Corbet *et al.* 1979; Koptur 1992; Nicolson 1994; Nicolson & Nepi 2005; Nicolson *et al.* 2007; Petanidou 2007). Segundo Nicolson *et al.* (2007), altas temperaturas podem colaborar com a evaporação da água presente no néctar, fazendo com que o mesmo fique mais concentrado durante os períodos mais quentes do dia. Esse fato pode ter influenciado a concentração do néctar no presente estudo, no qual todas as espécies apresentaram maior concentração no período das 14h às 22h, correspondendo os horários mais quentes no dia (Figura 1).

Além disso, as condições ambientais podem influenciar ritmos fisiológicos das plantas como a abertura e fechamento dos estômatos para regular o estresse hídrico e a absorção de nutrientes do solo (Raven *et al.* 2001). Algumas espécies possuem estômatos em seus NEFs, podendo influenciar diretamente a sua atividade e a concentração do néctar. No presente estudo, três das sete espécies estudadas apresentam estômatos em seus NEFs (*O. spectabilis*, *O. hexasperma* e *L. pacari*, ver Machado *et al.* 2008), sendo a sua produtividade influenciada tanto pela evaporação da água do néctar quanto pelo fechamento dos estômatos em horários de alta temperatura. Nesses horários, o néctar fica tão concentrado a ponto dos solutos se cristalizarem sobre os nectários, tornando-o imperceptível a olho humano e impossível de ser coletado com microcapilares. Esse fato foi evidenciado no presente estudo nas espécies *O. hexasperma* e *L. pacari* (Tabela 1). Por outro lado, na maioria das espécies, nos horários de temperatura mais baixas, os estômatos estão abertos e o fluxo de água e nutrientes na planta aumenta (Raven *et al.* 2001), fazendo com que os NEFs produzam néctar em maior quantidade.

Da mesma forma, a diferença na quantidade de nectários ativos entre os períodos pode ser explicada pelas condições ambientais e as adaptações fisiológicas das plantas. Em flores, o

néctar é secretado em ritmos particulares de secreção e absorção, denominada dinâmica de produção (Dafni *et al.* 2005), sendo essa dinâmica geralmente associada às condições climáticas (Nicolson 1994; Nicolson & Nepi 2005) ou ao comportamento dos visitantes dos nectários (Nicolson 2007). Assim como plantas sincronizam a produtividade dos nectários florais com o comportamento de seus polinizadores, a produtividade dos NEFs pode ser um padrão de adaptação evolutivo de cada espécie e local, como descrito por McKey (1974) e Rhoades (1979) por meio da “*optimal defence theory*”. De acordo com esses autores, plantas sincronizam a produção de defesas à atividade de seus herbívoros. Nesse caso, a produção do néctar extrafloral pode ser maximizada no período de maior atividade dos herbívoros, fazendo com que haja uma maior oferta de recurso para insetos predadores que se alimentam de néctar extrafloral, e conseqüentemente, maior proteção dessas plantas contra herbívoros nesses horários. Em adição, Bentley (1977) sugeriu que plantas controlam a produção de néctar extrafloral para minimizar seu custo de produção. Esse modelo pode explicar o fato de as espécies terem picos de produtividade dos NEFs diferentes, como observado no presente estudo (veja também Korndörfer & Del-Claro 2006).

Nesse contexto, evidencia-se que a produtividade dos NEFs é resultado de vários mecanismos interligados, formando uma complexa rede, sendo as características individuais de cada espécie e suas interações essenciais para compreender a atividade dos NEFs.

Atividade das formigas

A importância do néctar extrafloral para formigas foi demonstrada por diversos autores (Davidson *et al.* 2003; Blüthgen *et al.* 2004; Byk & Del-Claro 2011), sendo considerado, juntamente com o *honeydew* de hemípteros, o recurso chave para formigas que forrageiam em plantas (Blüthgen *et al.* 2000). Dessa forma, a produção do néctar extrafloral pode influenciar a distribuição e abundância de formigas nas plantas, como evidenciado por O’Dowd (1979). No presente estudo foi evidenciado maior frequência e riqueza de formigas nos períodos de maior produtividade dos NEFs, apesar de não ter sido encontrada relação quando essas variáveis foram correlacionadas. Esse resultado pode ser explicado pela variação na produtividade dos NEFs entre as espécies, assim como a variação na frequência das formigas nessas plantas.

A maior riqueza de formigas foi evidenciada no período de maior produtividade dos NEFs, sugerindo que há maior co-ocorrência de espécies nas plantas nesse período e menor competição. Segundo Lange & Del-Claro (em preparação), no cerrado, a maioria das espécies

que possuem NEFs apresentam o pico de atividade dessas glândulas no início da estação chuvosa, fazendo com que haja diminuição na competição entre as espécies de formigas por esse recurso. Além disso, apesar da importância do néctar extrafloral para formigas, estudos têm mostrado que a monopolização de recursos por formigas é incomum em plantas (Floren & Linsenmair 2000), e que as interações entre formigas e plantas com NEFs são geralmente oportunistas, em que diferentes espécies de formigas compartilham as mesmas fontes de alimento (Schemske 1982; Dejean *et al.* 1997; Blüthgen *et al.* 2000).

Entretanto, outros fatores devem ser levados em consideração quando verificada a relação entre oferta de recurso e forrageamento de formigas. Estudos têm demonstrado que os padrões de forrageamento de espécies de formigas que se alimentam de néctar ou de *honeydew* estão relacionadas com a demanda nutricional de formigas (Rissing & Pollock 1984; Sudd & Sudd 1985), com as características nutricionais dos recursos alimentares (Crawford & Rissing 1983; Breed *et al.* 1987, 1996; Bonser *et al.* 1998), com a distribuição espacial de recursos (Breed *et al.* 1987) e com a distância até o alimento (Breed *et al.* 1996; Bonser *et al.* 1998). Além disso, o sucesso ecológico das formigas depende da sua capacidade de ajustar as suas estratégias de forrageamento aos recursos e às suas restrições ambientais (Hölldobler & Wilson 1990). Segundo Cerdá *et al.* (1998), a temperatura tem sido considerada o fator determinante na escolha do horário de forrageamento de formigas. Diferenças nos horários diários de forrageamento das espécies são frequentemente associados com faixas de temperatura e umidade distintas toleradas por cada espécie, especialmente em habitats tropicais (Levings 1983, Torres 1984). Essa partição temporal resultante de tais diferenças ecofisiológicas entre as espécies pode vir a reduzir a competição interespecífica em fontes de alimento previsíveis (Hölldobler & Wilson 1990; Albrecht & Gotelli 2001). Tal partição temporal foi evidenciada por outros autores (Del-Claro & Oliveira 1999; Hossaert-Mackey *et al.* 2001; Blüthgen *et al.* 2004) e também no presente estudo, onde a ordenação das amostras nos três diferentes períodos do dia foi significativamente explicada pela composição das espécies de formigas e não pela oferta de recurso (néctar extrafloral).

Entretanto, apesar de haver partição temporal no presente estudo, a maioria das espécies de formigas foram encontradas forrageando no período diurno, destacando *C. pusillus*, espécie arbórea muito comum no cerrado, sendo considerada oportunista e parasita do sistema mutualístico formiga-planta com NEFs (Byk & Del-Claro 2010). De todas as espécies, *C. crassus* foi a mais frequente, forrageando nos três períodos do dia e na maioria das espécies observadas. Espécies desse gênero são dominantes e geralmente ocorrem em grande abundância, além de serem forrageiras generalistas e estabelecerem associações com

hemípteros produtores de *honeydew* (Hölldobler & Wilson 1990). A dominância dessas duas espécies de formigas em plantas com NEFs no cerrado também foi observada em outros estudos (Oliveira & Brandão 1991; Del-Claro *et al.* 1996; Korndörfer & Del-Claro 2006; Nahas & Del-Claro 2011; Nahas *et al.* 2012), demonstrado sua forte adaptação a esse ambiente.

Embora não tenha sido encontrada relação positiva significativa entre produtividade dos nectários em cada espécie de planta e a frequência de formigas, o presente estudo demonstra existir maior riqueza e frequência de formigas forrageando no período em que existe uma maior oferta de recurso (abundância de NEFs ativos, maior volume e calorias). Sugere-se que esse padrão seja fruto de um processo de adaptação entre as espécies que culminou na partição temporal do recurso entre as espécies de formigas. Assim, o sistema formiga-planta com NEFs pode ser visto hoje como resultado de um processo complexo com várias particularidades que precisam ser compreendidas no âmbito da comunidade para o melhor entendimento de como as relações formigas-plantas extranectaríferas são estabelecidas e organizadas. Espera-se que os conhecimentos aqui produzidos e apresentados possam subsidiar, juntamente com a literatura já existente, outros estudos sobre as relações plantas e formigas e a importância de ambos os grupos para a determinação da estrutura dessa interação mutualística.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adler, S.A. 2000. The ecological significance of toxic nectar. **Oikos** 91: 409-420.
- Albrecht, M. & Gotelli, N.J. 2001. Spatial and temporal niche partitioning in grassland ants. **Oecologia** 126: 134-141.
- Appolinario, V. & Schiavini, I. 2002. Levantamento fitossociológico de espécies arbóreas de cerrado (*stricto sensu*) em Uberlândia, Minas Gerais. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer** 10: 57-75.
- Bentley, B.L. 1977. The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixaorellana* L. (Bixaceae). **Journal of Ecology** 65: 27-38.

- Bixenmann, R.J.; Coley, P.D. & Kursar, T.A. 2011. Is extrafloral nectar production induced by herbivores or ants in a tropical facultative ant-plant mutualism? **Oecologia** 165: 417-425.
- Blüthgen, N.; Verhaagh, M.; Goitía, W.; Jaffé, K.; Morawetz, W & Barthlott, W. 2000. How plants shape the ant community in the Amazonian rainforest canopy: the key role of extrafloral nectaries and homopteran honeydew. **Oecologia** 125: 229–240.
- Blüthgen, N.; Fiedler, K. & Blüthgen, N. 2004. Competition for composition: lessons from nectar-feeding ant communities. **Ecology** 85: 1479-1485.
- Blüthgen, N.; Gottsberger, G. & Fiedler, K. 2004. Sugar and amino acid composition of ant-attended nectar and honeydew sources from an Australian rainforest. **Austral Ecology** 29: 418–429.
- Bolten, A.B.; Feinsinger, P.; Baker, H.G. & Baker, I. 1979. On the calculation of sugar concentration in flower nectar. **Oecologia** 41: 301-304.
- Bonser, R.; Wright, P.J.; Bament, S. & Chukwu, U.O. 1998. Optimal patch use by foraging workers of *Lasius fuliginosus*, *L. niger* and *Myrmica ruginodis*. **Ecological Entomology** 23: 15–21.
- Breed, M.D.; Fewel, J.H.; Moore, A.J. & William, K.R. 1987. Graded recruitment in a Ponerinae ant. **Behavioral Ecology and Sociobiology** 20: 407–411.
- Breed, M.D.; Bowden, R.M.; Garry, M.F. & Weicker, A.L. 1996. Giving-up time variation in response to differences in nectar volume and concentration in the giant tropical ant *Paraponera clavata* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Insect Behavior** 9: 659–672.
- Byk, J. & Del-Claro, K. 2010. Nectar- and pollen-gathering *Cephalotes* ants provide no protection against herbivory: a new manipulative experiment to test ant protective capabilities. **Acta Ethologica** 13: 33–38.
- Byk, J. & Del-Claro, K. 2011. Ant-plant interaction in the Neotropical Savanna: direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. **Population Ecology** 53: 327–332.
- Cerdá, X.; Retana, J. & Cros, S. 1998. Critical thermal limits in Mediterranean ant species: trade-off between mortality risk and foraging performance. **Functional Ecology** 12: 45-55.

Corbet, S.A. 2003. Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field. **Apidologie** 34: 1-10.

Corbet, S.A.; Unwin, D.M. & Prys-Jones, O.E. 1979. Humidity, nectar and insects visits to flowers, with special reference to *Crataegus*, *Tilia* and *Echium*. **Ecological Entomology** 4: 9-22.

Crawford, D.L. & Rissing, S.W. 1983. Regulation of recruitment by individual scouts in *Formica oreas* Wheeler (Hymenoptera, Formicidae). **Insectes Sociaux** 30(2): 177-183.

Dafni, A.; Kevan, P.G. & Husband, B.C. 2005. **Practical Pollination Biology**. Ontario, Canada. 590p.

Davidson, D.W. & McKey, D. 1993. The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationships. **Journal Hymenoptera Research** 2: 13-83.

Davidson, D.W.; Cook, S.C. & Snelling, R.R. 2003. Explaining the abundance of ants in lowland tropical rainforest canopies. **Science** 300: 969-972.

Dejean, A.; Bourgoin, T. & Gibernau, M. 1997: Ant species that protect figs against other ants: result of territoriality induced by a mutualistic homopteran. **Ecoscience** 4: 446-453.

Del-Claro, K. 2004. Multitrophic relationships, conditional mutualisms and the study of interaction biodiversity in tropical savannas. **Neotropical Entomology** 33(6): 665-672.

Del-Claro, K.; Berto, V. & Réu, W. 1996. Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). **Journal of Tropical Ecology** 12: 887-892.

Del-Claro, K. & Oliveira, P. S. 1999. Ant-homoptera interactions in a Neotropical savanna: the honeydew-producing treehopper *Guayaquila xiphias* (Membracidae) and its associated ant fauna on *Didymopanax vinosum* (Araliaceae). **Biotropica** 31(1): 135-144.

Díaz-Castelazo, C.; Rico-Gray, V.; Ortega, F. & Ángeles, G. 2005. Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of Coastal Veracruz, Mexico. **Annals of Botany** 96(7): 1175-1189.

- Durkee, L.T. 1982. The floral and extrafloral nectaries of *Passiflora*. II. The extra-floral nectary. **American Journal of Botany** 69(9): 1420-1428.
- Elias, T.S. 1983. Extrafloral Nectaries: their structure and distribution. In: Bentley, B. & Elias, T.S. (eds.) **The Biology of Nectaries**. New York, Columbia University Press. p. 174-203.
- Floren, A. & Linsenmair, K.E. 2000. Do ant mosaics exist in pristine lowland rain forest? **Oecologia** 123: 129-137.
- González-Teuber, M. & Heil, M. 2009. Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. **Plant Signaling & Behavior** 4: 809-813.
- Gotelli, N.J. & Ellison, A.M. 2011. **Princípios de estatística em ecologia**. Editora Artmed, Porto Alegre. 527p.
- Gottsberger, G.; Schauen, J. & Linskens, H.F. 1984. Amino acids and sugars in nectar, and their putative evolutionary significance. **Plant Systematics Evolution** 145: 55-77.
- Heil, M.; Fiala, B.; Baumann, B. & Linsenmair, K.E. 2000. Temporal, spatial and biotic variations in extrafloral nectar secretion by *Macaranga tanarius*. **Functional Ecology** 14: 749–757.
- Hölldobler, B. & Wilson, E.O. 1990. **The ants**. Harvard University Press, Cambridge, MA. 732p.
- Hossaert-Mackey, M.; Orivel, J.; Labeyrie, E.; Pascal, L.; Delabie, J. & Dejean, A. 2001. Differential associations with ants of three co-occurring extrafloral nectary-bearing plants. **Ecoscience** 8(3): 325-335.
- Irvin, N.A.; Wratten, S.D. & Frampton, C.M., 2000. Understorey management for the enhancement of the leafroller parasitoid *Dolichogenidea tasmanica* (Cameron) in orchards at Canterbury, New Zealand. In: Austin, A.D. & Dowton, M. (eds.) **Hymenoptera: Evolution, Biodiversity and Biological Control. Proceedings of the Fourth International Hymenoptera Conference, Canberra, Australia, January 1999**. CSIRO, Canberra, Australia. p. 396–403.

- Karban, R. & Myers, J.H. 1989. Induced plant responses to herbivory. **Annual Review of Ecology and Systematics** 20: 331-348.
- Karban, R. & Baldwin, I.T. 1997. **Induced Responses to Herbivory**. Chicago University Press, Chicago. 317p.
- Keeler, K.H. 1989. Ant-plant interactions. In: Abrahamson, W.G. (ed.) **Plant—animal interaction**. McGraw Hill. New York. p. 207-242.
- Koptur, S. 1992. Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. In: Bernays, E. (ed.) **Insect-Plant Interactions**. Boca raton, CRC Press. p. 81-129.
- Koptur, S. 1994. Floral and extrafloral nectars of neotropical *Inga* trees: a comparison of their constituents and composition. **Biotropica** 26(3): 276-284.
- Koptur, S. 2005. Nectar as fuel for plant protectors. In: Wäckers, F.L; van-Rijn, P.C.J. & Bruin, J. (eds.) **Plant-provided food for carnivorous insects: a protective mutualism and its applications**. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p. 75–108.
- Korndörfer, A.P. & Del-Claro, K. 2006. Ant defense versus induced defense in *Lafoensia pacari* (Lythraceae), a myrmecophilous tree of the Brazilian Cerrado. **Biotropica** 38: 786-788.
- Kost, C. & Heil, M. (2005) Increased availability of extrafloral nectar reduces herbivory in Lima bean plants (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae). **Basic and Applied Ecology** 6: 237–248.
- Leiss, K.A. & Klinkhamer, P.G.L. 2005. Spatial distribution of nectar production in a natural *Echium vulgare* population: implications for pollinator behavior. **Basic and Applied Ecology** 6: 317-324.
- Levings, S.C. 1983. Seasonal, annual, and among-site variation in the ground ant community of a deciduous tropical forest: some causes of patchy species distributions. **Ecological Monographs** 53: 435-455.
- Machado, S.R.; Morellato, L.P.C.; Sajo, M.G. & Oliveira, P.S. 2008. Morphological patterns of extrafloral nectaries in woody plant species of the Brazilian Cerrado. **Plant Biology** 10: 660-673.

- McCune, B. & Mefford, M.J. 2006. **PC-ORD**, version 5.0, Multivariate analysis of ecological data. MjM Software Desing, Glaneden Beach. 40p.
- McKey, D. 1974. Adaptive patterns in alkaloid physiology. **The American Naturalist** 108: 305–320.
- Mitchell, R.J. 2004. Heritability of nectar traits: why do we know so little? **Ecology** 85:1527-1533.
- Nahas, L. & Del-Claro, K. 2011. Ant-Plant Interactions: Absolute Frequency as a Better Method to Sample Visiting Ants in The Extrafloral Nectary-Bearing Plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). **Sociobiology** 57: 253-259.
- Nahas, L.; Gonzaga, M.O. & Del-Claro, K. 2012. Intraguild Interactions Between Ants And Spiders Reduce Herbivory In An Extrafloral Nectaried Tree Of Tropical Savanna. **Biotropica** (no prelo).
- Nascimento, E.A. & Del-Claro, K. 2010. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. **Flora** 205: 754-756.
- Nicolson, S.W. 1994. *Eucalyptus* nectar: production, variability, composition and osmotic consequences for the larva of the eucalypt nectar fly, *Drosophila flavohirta*. **South African Journal of Science** 90: 75–80.
- Nicolson, S.W. 2007. Nectar consumers. In: Nicolson, S.W.; Nepi, M. & Pacini, E. (eds.) **Nectaries and Nectar**. Springer, Dordrecht. p. 289-342.
- Nicolson S.W. & Van Wyk B.E. 1998. Nectar sugars in Proteaceae: patterns and processes. **Australian Journal of Botany** 46: 489-504.
- Nicolson, S.W. & Nepi, M. 2005. Dilute nectar in dry atmosphere: nectar secretion patterns in *Aloe castanea* (Asphodelaceae). **International Journal of Plant Sciences** 166: 227–233.
- Nicolson, S.W.; Nepi, M. & Pacini, E. 2007. **Nectaries and Nectar**. Springer, Dordrecht. 395p.

- O'Dowd, D.J. 1979. Foliar nectar production and ant activity on a neotropical tree, *Ochroma pyramidale*. **Oecologia** 43: 233–248.
- Oliveira, P.S. 1997. The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). **Functional Ecology** 11: 323-330.
- Oliveira, P.S. & Leitão-Filho, H.F. 1987. Extrafloral Nectaries: Their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of Cerrado vegetation in Southeast Brazil. **Biotropica** 19: 140-148.
- Oliveira, P.S.; Silva, A.F. da & Martins, A.B. 1987. Ant foraging on extrafloral nectaries of *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) in cerrado vegetation: ants as potential antiherbivore agents. **Oecologia** 74: 228-230.
- Oliveira, P.S. & Brandão, C.R.F. 1991. The ant community associated with extrafloral nectaries in the Brazilian Cerrados. In: Cutler, D.F. & Huxley, C.R. (eds.) **Ant- Plant Interactions**. Oxford Univ. Press, Oxford. p. 198–212.
- Oliveira, P.S. & Oliveira-Filho, A.T. 1991. Distribution of extrafloral nectaries in the woody flora of tropical communities in Western Brazil. In: Price, P. W., Lewinsohn, T. M.; Fernandes, G. W. & Benson, W. W. (eds.) **Plant-Animal Interactions**. p. 163-175
- Paiva, E.A.S.; Moraes, H.C.; Isaias R.M.S.; Rocha, D.M.S. & Oliveira, P.E. 2001. Occurrence and structure of extrafloral nectaries in *Pterodon pubescens* Benth. and *Pterodon polygalaeiflorus* Benth. (Fabaceae-Papilionoideae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 36(2): 219-224.
- Paiva, E.A.S. & Machado, S.R. 2006. Colleters in *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae), ontogenesis, ultrastructure and secretion. **Brazilian Journal of Biology** 66: 301-308.
- Petanidou, T. 2007. Ecological and evolutionary aspects of floral nectars in Mediterranean habitats. In: Nicolson SW, Nepi M & Pacini E (eds.) **Nectaries and nectar**. Springer, Dordrecht. p. 343-376.
- Pulice, C.E. & Packer, A.A. 2008. Simulated herbivory induces extrafloral nectar production in *Prunus avium*. **Functional Ecology** 22: 801–807.

- Raven, P.H.; Evert, R.F. & Eichhorn, S.E. 2001. **Biologia vegetal**. 6ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 906p.
- Réu, W.F & Del-Claro, K. 2005. Natural history and biology of *Chlamisus minax* Lacordaire (Chrysomelidae: Chlamisinae). **Neotropical Entomology** 34: 357–362.
- Rhoades, D.F. 1979. Evolution of plant chemical defense against herbivores. In: Risenthal, G.A. & Janzen, D.H. **Herbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolites** (eds.) Academic Press, New York, London. p. 4–53.
- Rico-Gray, V. & Oliveira, P.S. 2007. **The ecology and evolution of ant-plant interactions**. The University of Chicago Press, Chicago. 331p.
- Rissing, S.W. & Pollock, G.B. 1984. Worker size variability and foraging efficiency in *Veromessor pergandei* (Hymenoptera: Formicidae). **Behavioral Ecology and Sociobiology** 15: 121-126.
- Rosa, R., S. C. Lima, and W. L. Assunção. 1991. Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia, MG. **Sociedade e Natureza** 3: 91-108.
- Rosumek, F.B.; Silveira, F.A.O.; Neves, F.S.; Barbosa, N.P.; Diniz, L.; OKI, Y.; Pezzini, F.; Fernandes, G.W. & Cornelissen, T. 2009. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. **Oecologia** 160: 537-549.
- Schemske, D.W. 1982. Ecological correlates of a neotropical mutualism: Ant assemblages at *Costus* extrafloral nectaries. **Ecology** 63: 932-941.
- Stiles, F.G. & Freeman, C.E. 1993. Patterns in floral nectar characteristics of some bird-visited plant species from Costa Rica. **Biotropica** 25:191-205.
- Sudd, J.H. & Sudd, M.E. 1985. Seasonal changes in the response of wood-ants (*Formica lugubris*) to sucrose baits. **Ecological Entomology** 10: 89–97.
- Taylor, R.M. & Pfannenstiel, R.S. 2009. How Dietary Plant Nectar Affects the Survival, Growth, and Fecundity of a Cursorial Spider *Cheiracanthium inclusum* (Araneae: Miturgidae). **Environmental Entomology** 38(5): 1379-1386.

Torres, J.A. 1984. Diversity and distribution of ant communities in Puerto Rico. **Biotropica** 16: 296-303.

Wäckers, F.L.; Zuber, D.; Wunderlin, R. & Keller, F. 2001. The effect of herbivory on temporal and spatial dynamics of foliar nectar production in cotton and castor. **Annual Botany** 87: 365-370.

CONCLUSÃO GERAL

Com os resultados encontrados nesse estudo pôde-se evidenciar que a associação entre formigas e planta com NEFs no Cerrado forma uma rede de interação complexa, e que apesar de existir variação temporal em suas propriedades, mantém seu padrão estrutural e o benefício para a comunidade de plantas. Além disso, os resultados do Capítulo 1 fornecem evidências de que um módulo da rede de interações apresenta os mesmos padrões encontrados em redes completas envolvendo esse tipo de interação e demais interações mutualísticas. Nesse estudo, também foi observado que as espécies de plantas mais abundantes da fitofisionomia de cerrado sentido restrito são visitadas por um grande número de espécies de formigas. Também foi evidenciado que formigas exercem um efeito protetor às plantas, diminuindo a herbivoria foliar nos dois anos do estudo. Entretanto, o resultado do mutualismo entre plantas e formigas, evidenciado por meio da herbivoria foliar, varia ao longo do tempo e entre as espécies e pode ser relacionado com as mudanças nas propriedades da rede e a abundância de formigas nas plantas.

No Capítulo 2, pôde-se observar que a interação formiga-planta é intensificada no início da estação chuvosa, coincidindo com o período de brotação das folhas e atividade dos NEFs. A intensificação na interação promove menores índices de herbivoria foliar, sendo essa diretamente relacionada com a maior abundância de formigas nas plantas. Apesar de existir variação sazonal da interação formiga-planta com NEFs, o padrão generalista da rede formiga-planta se manteve nos períodos distintos da interação: de maior e menor intensidade de associação.

No Capítulo 3 foi observado que as espécies de plantas que compõe o módulo da comunidade estudada apresentam diferença na produtividade dos NEFs entre elas e ao longo do dia. Entretanto, não foi evidenciada relação positiva entre espécies que produzem maior quantidade e qualidade de néctar e frequência de formigas. Essa relação só foi positiva para o período do dia que houve maior produção dos NEFs, encontrando maior riqueza e frequência de formigas nas plantas nesse período. Além disso, foi observada partição temporal das espécies pelo recurso, demonstrando a existência de competição interespecífica para as formigas que forrageiam em plantas.

Com os resultados do presente estudo é possível compreender melhor a estrutura da interação formiga-planta com nectário extrafloral no Cerrado, sua variação temporal e seu efeito na efetividade da proteção das formigas para com as plantas. Além disso, esse estudo demonstrou que avaliar um módulo da rede de interações é viável para a aplicação de manipulação experimental, podendo ser considerado uma importante ferramenta para estudos envolvendo interações em comunidades.