



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA**

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

**FATORES RESPONSÁVEIS PELA PRESENÇA DE POPULAÇÕES DA
MIRMECÓFITA *TOCOCA GUIANENSIS* EM ÁREAS DE CERRADO SEM
FORMIGAS MUTUALISTAS OBRIGATÓRIAS**

ALESSANDRA BARTIMACHI NEVES

ALESSANDRA BARTIMACHI NEVES

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. Heraldo Luis de Vasconcelos

UBERLÂNDIA
Julho – 2014

ALESSANDRA BARTIMACHI NEVES

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

Aprovada em: ____ de julho de 2014

Prof. Dr Ricardo Idelfonso de Campos
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr Thiago Junqueira Izzo
Instituto de Biologia
Universidade Federal de Mato Grosso

Prof. Dr Celine de Melo
Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr Kátia Gomes Facure Giaretta
Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. Heraldo Luis de Vasconcelos
Universidade Federal de Uberlândia (Orientador)

UBERLÂNDIA
Julho – 2014

“Sou como você me vê.
Posso ser leve como uma brisa ou forte como
ventania;
Depende de quando e como você me vê passar”.

Clarice Lispector

Agradecimentos

Gostaria primeiramente de agradecer a Deus por tudo o que tem feito por mim e pela minha família, pois sem Ti Senhor nada seria possível. Por falar em família, como sou grata a todos, principalmente pelo Amor, Força, Carinho e Confiança. Meu querido Otávio que desde bebê ajudou a mamãe ficando bonzinho na escolinha sem reclamar; Meu Jorge que é meu Companheiro, Amor e Amigo te todos os momentos; Ao meu Sogrão Eurico a quem dedico mais esta conquista, sem sua ajuda seria muito difícil à realização deste trabalho; Dona Antônia (Minha 2^a Mãe) que por tantas vezes, ‘abandonou’ sua casa para nos ajudar; Meu compadre Marcello M. Barbosa por me levar no campo sempre que precisei; e por fim aos meus pais Geralda e Sabino Bartimarchi e irmãos que tanto amo.

Ao meu querido orientador Dr. Heraldo Luis de Vasconcelos pela oportunidade, confiança, orientação, amizade e compreensão. Mesmo em momentos difíceis foi nosso alicerce e me deu coragem e força para realizar este trabalho. A querida Doris Braunger que tão bem nos recebeu e tanto carinho e apoio tem nos dado. Enfim, agradeço imensamente toda ajuda tanto pessoal, acadêmica e profissional.

À minha querida Amiga-irmã e companheira de muitos anos Laura Vivian Barbosa Silva que sempre esteve e está ao nosso lado em todos os momentos.

Ao Dr. Emílio Bruna pelas sugestões, amizade, apoio e por nos fornecer o “Miguelito” que tanto nos ajuda no campo.

A todos os colegas e companheiros do LEIS por todos estes anos de convivência. Pelas sugestões e ajuda no campo agradeço a Sarah Groc, Flávio Camarota, Elmo Koch, Jonas Maravalhas, Renata Pacheco, Lilian Suelen, Jésica Vieira, Tito Leon e Karen Neves.

A todos meus amigos que sempre me deram força e me ajudaram em campo quando precisei: Ana Cristina dos Santos Silva (minha comadre), Adriana Mohr, Flávia R. Pirani, Gláucia R. Olivieri e Robson da Silva Lopes e tantos outros.

Ao professor Dr. Fernando Pedroni por ter me ajudado a encontrar a área de estudo em Aragarças-GO e pelo incentivo.

A professora Dra. Ana Silvia F. P. Moreira por ter cedido o laboratório para a realização das análises químicas e pelas sugestões.

E Finalmente, agradeço ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação em Recursos Naturais da Universidade Federal de Uberlândia pela estrutura oferecida e pela oportunidade de realização do meu curso de doutorado e a CAPES pela concessão da Bolsa.

Sumário

	páginas
Resumo	vii
Abstract	viii
Introdução geral	01
Referências bibliográficas	08
CAPÍTULO 1: Condicionalidade no papel das formigas e dos tricomas na defesa da planta mirmecófita <i>Tococa guianensis</i>	11
Resumo	11
Introdução	12
Material e métodos	15
Resultados	19
Discussão	22
Referências bibliográficas	25
CAPÍTULO 2: Variações na herbivoria e no investimento em defesas químicas e bióticas entre populações da planta mirmecófita <i>Tococa guianensis</i>	29
Resumo	29
Introdução	30
Material e métodos	34
Resultados	38
Discussão	44
Referências bibliográficas	48
CAPÍTULO 3: Colonização de rainhas de <i>Alomerus octoarticulatus</i> em plantas de <i>Tococa guianensis</i> em áreas de Cerrado com e sem a presença do parceiro mutualístico obrigatório.....	53
Resumo	53
Introdução.....	54
Material e métodos.....	56
Resultados.....	59
Discussão.....	60
Referências bibliográficas	62
Conclusões gerais.....	65

Resumo

Neste estudo foram determinados os fatores que possibilitam a ocorrência de populações de *Tococa guianensis* em algumas áreas de Cerrado sem a presença de formigas mutualistas obrigatórias. Mais especificamente, foi investigada (1) a influência dos tricomas e das formigas oportunistas e obrigatórias sobre a herbivoria foliar de *T. guianensis*, (2) se a pressão de herbivoria sobre *T. guianensis* difere entre locais com e sem a presença da formiga obrigatória e se (3) existe um investimento diferencial em defesas não bióticas (concentração de tanino, densidade de tricomas, e dureza das folhas) entre plantas originadas de locais com e sem a presença de parceiros mutualistas obrigatórios. Também foi avaliado se traços da planta relacionados ao mutualismo (tamanho das dománcias) são alterados em função da ausência do parceiro mutualista. Além disso, foi avaliado o fator que limita a ocorrência da formiga obrigatória *Allomerus octoarticulatus* em algumas áreas do Cerrado. O estudo foi realizado em três locais no Brasil central, sendo dois deles Aragarças (ARA) em Goiás, Cachoeira da Fumaça (CACHO) no Mato Grosso e Uberlândia (UDI) em Minas Gerais. Para avaliar o efeito dos tricomas e das formigas foi desenvolvido um experimento fatorial em duas populações com formigas obrigatórias (*A. octoarticulatus*) em ARA e CACHO e uma sem a presença da formiga obrigatória em UDI. Para avaliar se a pressão de herbivoria difere entre locais com e sem a presença da formiga associada e se existe um investimento em defesas não bióticas foi feito um experimento de transplante recíproco com plântulas originadas de locais que a espécie ocorre com e sem o parceiro mutualístico. Além disso, também foram feitas medições morfológicas das dománcias das diferentes populações. Para saber qual fator biótico e/ ou abiótico impede a ocorrência da formiga em UDI foi comparada a sobrevivência e o tamanho das colônias de rainhas de *A. octoarticulatus* sobreviventes em ARA e em UDI depois de um período de seis meses. Os tricomas afetaram a herbivoria em todas as três populações, mas as diferenças na herbivoria entre as plantas com ou sem tricomas foi relativamente pequena. Formigas oportunistas não afetaram a taxa de herbivoria em UDI. A formiga obrigatória teve um forte efeito sobre a taxa de herbivoria em ARA, mas surpreendentemente, não em CACHO. Todas as plântulas transplantadas, independente da origem, foram mais atacadas em ARA do que em CACHO e UDI. Em UDI, as plântulas foram menos danificadas do que nos demais locais. A população de UDI apresentou maior conteúdo de tanino, tanto na fase adulta quanto na de plântulas. A densidade de tricomas também diferiu entre os locais, ARA apresentou mais tricomas do que os demais locais e os indivíduos de CACHO apresentaram maior dureza foliar do que ARA e UDI. A sobrevivência de rainhas de *A. octoarticulatus* foi menor em UDI do que em ARA, mas a diferença dependeu do número de rainhas que colonizaram a planta. No entanto, o tamanho das colônias das rainhas sobreviventes até o final do experimento não diferiu entre os locais. De modo geral, os resultados deste estudo sugerem que *T. guianensis* conta com mais de uma estratégia de defesa contra os insetos herbívoros e esta plasticidade de defesas pode estar favorecendo a ocorrência da população em locais em que a espécie ocorre sem a presença da formiga obrigatória. Já a ausência de *A. octoarticulatus* em UDI parece estar mais relacionada com a capacidade de dispersão das rainhas e a distância da fonte de rainhas do que com as condições abióticas do local.

Palavras-chave: herbivoria, tricomas, tanino foliar, colonização, transplante recíproco

Abstract

This study determined the factors that enable the occurrence of populations *Tococa guianensis* in some areas the Cerrado without obligate ants. More specifically, it was investigated (1) influence of trichomes, opportunistic and obligate ants on leaf herbivory *T. guianensis*, (2) the pressure of herbivores on *T. guianensis* differs between these locations and (3) there is a differential investment (tannin concentration, trichomes of density and leaves toughness) between plants from sites with and without obligate ants. It was also assessed whether traits related to mutualism plant (domatia size) are changed due to the lack of mutual partner. Furthermore, we evaluated the factor limiting the occurrence of obligate ants *Allomerus octoarticulatus* in some sites in do Cerrado. This study was realized in three locations in central Brazil, two of them Aragarças (ARA) in Goiás, Cachoeira da Fumaça (CACHO) in Mato Grosso and Uberlândia (UDI) in Minas Gerais. The effect of trichomes and ants was assessed by a factorial experiment in two populations with obligate ants (*A. octoarticulatus*) in ARA and CACHO and in an absence of obligate ants in UDI. To investigate the effect if the pressure of herbivory differs between sites with and without associated ant and if there is an investment non-biotic defense was made a reciprocal transplant experiment with seedling originated from sites where the species occurs with and without the mutualistic partner. Moreover, it was also made morphological measurements of domatia different populations. To know which biotic and/or abiotic factor limits the occurrence of ant in UDI was compared to the survival and queen's size of *A. octoarticulatus* in ARA and in UDI after six months. The trichomes affected herbivory in all three populations, but the differences between herbivory in plants with or without trichomes was relatively small. Opportunistic ants did not affect herbivory rate in UDI. Obligate ants had a strong effect on the herbivory rate in ARA, but surprisingly, not in CACHO. All seedling transplanted, regardless of source, were attacked in more in ARA than CACHO and UDI. In UDI plants were less damaged than in other places. The UDI population showed higher tannin content both in adult and in seedling. The trichomes density also differed between sites, ARA had more trichomes than other places and individuals CACHO showed higher leaf toughness than ARA and UDI. The survival of queen's *A. octoarticulatus* was lower in UDI than in ARA, but the difference depended on the number of queens that colonized the plant. However, the size of the colonies of queens surviving until the end experiment did not differ between sites. Overall, the results of this study suggest that *T. guianensis* has more of a defense strategy against herbivory insects and this plasticity defenses maybe favoring the occurrence of local population without the presence of obligate ants. The absence of *A. octoarticulatus* in UDI seems to be more related to dispersal ability of queens and distance from local that queens occurs in greater quantities than with abiotic conditions sites.

Keywords: herbivory, trichomes, leaf tannin, colonization, reciprocal transplant

Introdução geral

Mutualismo pode ser definido como uma interação interespecífica de benefícios mútuos onde, os membros envolvidos obtêm maior aptidão quando ocorrem juntos do que quando estão separados (Bronstein 1998). Estas interações podem ser divididas em dois tipos: facultativa e obrigatória (Fiedler 1991, Pierce et al. 2002). Nas interações facultativas não existe especificidade entre os mutualistas, mas ainda assim existe um efeito positivo sobre o *fitness* das espécies. Por outro lado, nas interações obrigatórias existe maior especificidade entre os membros da associação e, em geral, nenhum pode persistir sem o outro (Boucher et al. 1982).

Um dos melhores exemplos de interações mutualísticas é a associação entre plantas e formigas (Bronstein 1998). As mirmecófitas (*ant-plants*) apresentam estruturas especializadas, denominadas dománcias, que possibilitam a nidificação de colônias de formigas em seu interior. Em alguns casos, as plantas oferecem também recursos alimentares, como corpúsculos alimentares ou néctar extrafloral, às formigas associadas (Benson 1985). Em troca destes benefícios, as formigas protegem as plantas hospedeiras dos herbívoros, de plantas competidoras e ainda fornecem nutrientes essenciais para o seu desenvolvimento (Janzen 1966; Benson 1985; Vasconcelos 1991; Alvarez et al. 2001; Heil & McKey 2003; Romero & Izzo 2004, Palmer & Brody 2007). Estas plantas ocorrem em alguns gêneros de *Acacia*, *Cecropia*, *Leonardoxa*, *Piper*, *Macaranga*, *Tococa*, entre outras, e são permanentemente habitadas por colônias de formigas especializadas (Davidson & McKey 1993, Heil & McKey 2003, Rico-Gray & Oliveira 2007).

A proteção fornecida pelas formigas contra a ação dos herbívoros varia de acordo com a abundância das formigas e dos herbívoros (Barton 1986), tipos de herbívoros presentes (Koptur 1984; Yu & Pierce 1998), microhabitat (de La Fuente & Marques 1999) e as espécies de formigas envolvidas (Davidson & McKey 1993). Vasconcelos & Davidson (2000) estudando as formigas associadas à *Maieta guianensis* verificaram que embora as duas espécies de formigas associadas defendam a planta hospedeira, esta apresenta uma maior aptidão quando está

associada com a formiga *Pheidole minutula* do que com *Crematogaster laevis*. Além disso, é importante considerar que as associações entre formigas e mirmecófitas também podem variar geograficamente, uma vez que os limites de ocorrência de uma dada espécie de planta nem sempre coincide com os de uma dada espécie de formiga e vice-versa (Guimarães et al. 2007). Isso acaba gerando um complexo mosaico de interações, quando considerado em ampla escala, o que pode determinar o estabelecimento e permanência de diferenciados mutualismos em diferentes locais (Lapola et al. 2004).

Apesar desta especificidade entre mirmecófitas e as formigas especialistas, já foram encontradas algumas populações de mirmecófitas sem suas formigas associadas em altas altitudes e em ilhas remotas (Wheeler 1942, Janzen 1973, Putz & Holbrook 1988, Michelangeli 2005). De acordo com Janzen (1973) a ocorrência destas populações pode estar sendo favorecida pela baixa densidade de herbívoros e/ou as mirmecófitas podem apresentar defesas alternativas, como por exemplo, constitutivas ou morfológicas induzidas contra a ação dos herbívoros (Stapley 1998, Heil et al. 2002, Dicke & Baldwin 2010).

Até então, populações de mirmecófitas sem associação com formigas mutualistas obrigatórias tinham sido encontradas somente em ambientes extremos ou isolados, mas foram descobertas populações de *Tococa guianensis* persistindo em algumas áreas do Cerrado a mais de quinze anos sem a presença das formigas (Moraes & Vasconcelos 2009). De acordo com estes autores a persistência destas populações nestes locais pode estar relacionada com (i) a baixa pressão de herbívoros, já que estas populações por estarem localizadas próximas do limite de sua distribuição em áreas mais restritas e isoladas (próximas a nascentes de rio) podem sofrer menos danos quando comparado com outras populações amplamente distribuídas (Michelangeli 2003, Dejean et al. 2006); (ii) um aumento no nível de defesas químicas; (iii) a presença de defesas físicas (morfológicas) contra a ação dos insetos herbívoros, já que *T. guianensis* produz folhas mais duras e com mais tricomas quando desprovidas de formigas; e/ou (iv) com a defesa biótica,

já que as formigas oportunistas podem desempenhar o mesmo papel das formigas obrigatórias nestas áreas.

Diante disto, o objetivo geral deste trabalho foi determinar os fatores que podem limitar a ocorrência de populações de *Tococa guianensis* em áreas de Cerrado sem formigas mutualistas obrigatórias. Mais especificamente, no Capítulo 1 foi avaliada a influência dos tricomas e das formigas sobre a herbivoria foliar de *Tococa guianensis*. No Capítulo 2 foi avaliado se a pressão de herbivoria sobre *Tococa guianensis* difere entre os locais em que a espécie ocorre com e sem a formiga obrigatória e se há um investimento diferenciado em defesas não bióticas (concentração de taninos e dureza das folhas) entre estas populações. Além disso, também foi avaliado se traços da planta relacionados ao mutualismo (especificamente o tamanho das dománcias) são alterados em função da ausência do parceiro mutualista. Por fim, no Capítulo 3 foi avaliado o fator que pode estar limitando a ocorrência da formiga obrigatória *Allomerus octoarticulatus* em algumas áreas do Cerrado: as condições climáticas da região e/ou a capacidade de dispersão das rainhas.

Para isto, foram comparadas populações de *T. guianensis* que ocorre sem a presença da formiga obrigatória em Uberlândia/MG e com a presença da formiga em Aragarças/GO e Cachoeira da Fumaça, distrito pertencente ao Município de Novo São Joaquim/MT (Figura 1).



Figura 1. Mapa mostrando a localização das três áreas de estudo: Aragarças/GO (ARA) e Cachoeira da Fumaça/MT (CACHO) e Uberlândia/MG (UDI).

Caracterização das áreas de estudo

As populações de Uberlândia e Aragarças encontram-se em um habitat de nascente, ambiente com cobertura arbórea superior a 85% e rico em matéria orgânica, que permanece alagado por pelo menos seis meses. Já a população de Cachoeira está presente em uma mata de galeria de solo arenoso com baixo conteúdo de matéria orgânica e sujeita a inundações torrenciais. A densidade de plantas nas três populações ficou entre 0,12 e 0,15 indivíduos/m² (Tabela 1). A cobertura arbórea das populações foi obtida por meio fotos digitais tiradas no início da manhã ou final da tarde com uma câmera digital (Fujifilm AX200: lente 25 mm) posicionada a um metro do

solo. As fotos foram analisadas no programa Adobe Photoshop 14.0 de acordo com a metodologia descrita por Engelbrecht & Herz (2001). Para estimar a densidade de indivíduos foram estabelecidos dez áreas de 10 x 10 m nos três locais. Em cada transecto foram quantificados todos os indivíduos encontrados.

Tabela 1. Localização geográfica das populações estudadas de *T. guianensis* e características dos ambientes.

População	Coordenadas	<i>Allomerus</i> / <i>Azteca</i>	Cobertura arbórea (%)	Densidade de Plantas (m ²)	Habitat
Aragarças/GO	15° 53' 49" S 52° 07' 37" O	Presente	90,5 ± 1,5	0,15	Mata de Galeria/Nascente
Cachoeira da Fumaça/MT	15° 03' 37" S 52° 46' 19" O	Presente	76,8 ± 11,4	0,12	Mata de Galeria/Beira do Riacho
Uberlândia/MG	18° 57' 28" S 48°12' 37" O	Ausente	88,9 ± 2,0	0,14	Mata de Galeria/Nascente

Caracterização das espécies

Entre as diferentes espécies de formigas encontradas nidificando em *T. guianensis*, duas - *Allomerus octoarticulatus* Mayr (Myrmicinae) e *Azteca* sp. (Dolichoderinae) - são habitantes obrigatórios, ou seja, utilizam a planta como único sítio de nidificação, apresentando colônias completas, com rainhas, operárias e imaturos. *Allomerus octoarticulatus* é encontrada no norte da América do Sul, no Peru e na Amazônia brasileira (Fernandez 2007). Já *Azteca* sp. apresenta uma ampla distribuição na região Neotropical desde o sul do México até o Brasil (Bolton 1995). *Allomerus octoarticulatus* foi a espécie mais comum nas localidades do Cerrado estudadas por Moraes & Vasconcelos (2009), sendo também a espécie mais comum em Aragarças e Cachoeira da Fumaça. Já em Uberlândia as plantas de *T. guianensis* não têm formigas obrigatórias, mas apresentam espécies oportunistas do gênero *Wasmannia*, *Brachymyrmex*, *Camponotus*, *Cephalotes*, *Crematogaster*, *Linepithema* ou *Pheidole* que utilizam a planta como sítio de

forrageamento ou eventualmente como ninho satélite, mantendo na planta algumas operárias e imaturos (Moraes & Vasconcelos 2009).

O gênero *Tococa* (Melastomataceae) é amplamente distribuído na região Neotropical, desde o sul do México até a Bolívia e leste do Brasil (Michelangeli 2005). Geralmente é representado por espécies arbustivas, sendo encontrada no sub-bosque de diversas formações vegetais, como em florestas tropicais e matas de galeria e também eventualmente em campos úmidos. A espécie *Tococa guianensis* Aublet (Melastomataceae) é uma das poucas espécies mirmecófitas que ocorrem no bioma Cerrado, porém existem poucos trabalhos sobre a ecologia das interações desta espécie com formigas neste bioma (Bizerril & Vieira 2002, Moraes & Vasconcelos 2009). As mirmecófitas deste gênero apresentam dománcias localizadas na base foliar ou entre a folha e o pecíolo (Figura 2 A - D).

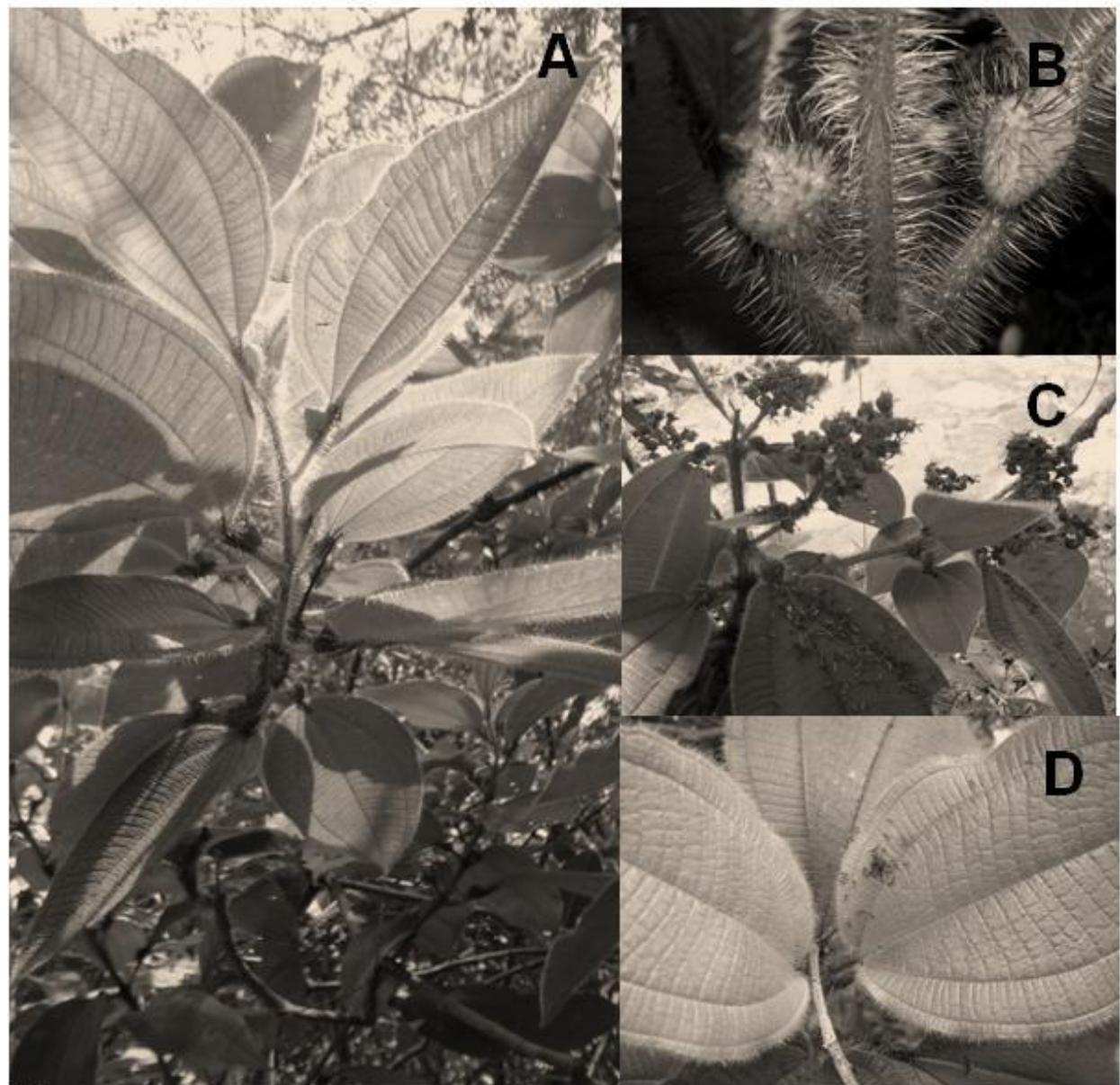


Figura 2. (A) *Tococa guianensis*; (B) Domácia – na base da folha, onde abriga formigas; (C) Inflorescência e (D) Formigas sobre a folha.

Referências bibliográficas

- ALVAREZ, G., ARMBRECHT, I., JIMENEZ, E., ARMBRECHT, H. AND ULLOA-CHACON, P., 2001. Ant-plant association in two *Tococa* species from a primary rain forest of Colombian Choco (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 38: p.585-602
- BARTON, A. M., 1986. Spatial variation in the effect of ants on an extrafloral nectary plant. *Ecology* 67: p.495-504.
- BENSON, W.W., 1985. Amazon ant-plants. Pages 239–266 In: G.T. Prance and T.E Lovejoy, editors. *Amazonia*. Pergamon Press, Oxford, UK.
- BIZERRIL, M. X. A. AND VIEIRA, E. M., 2002. *Azteca* ants as antiherbivore agents of *Tococa formicaria* (Melastomataceae) in Brazilian Cerrado. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 37: p.145-149.
- BOLTON, B., 1995. A taxonomic and zoogeographical census of the extant ant taxa (Hymenoptera: Formicidae). *Journ. of Nat. Hist.* 29: p. 1037-1056.
- BOUCHER, D.H., JAMES S. AND KEELER K.H., 1982. The ecology of mutualisms. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13: p.315-342.
- BRONSTEIN, J.L., 1998. The contribution of ant plant protection studies to our understanding of mutualism. *Biotropica* 30: p.150-161.
- DAVIDSON, D.W. AND MCKEY, D., 1993. The evolutionary ecology of ant-plant relationships. *Journal of Hymenopterological Researches* 2: p.13–83.
- DEJEAN, A., DELABIE, J.H.C., CERDAN, P., GIBERNAU, M. AND CORBARA B., 2006. Are myrmecophytes always better protected against herbivores than other plants? *Biological Journal of the Linnean Society* 89: p.91-98.
- de la FUENTE, M.A.S. AND MARQUES, R.J., 1999. The role of ant-tende dextra floral nectaries in the protection and benefit of a Neotropical rain forest tree. *Oecologia* 118: p. 192–202.
- DICKE, M. AND BALDWIN, I.T., 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help'. *Trends in Plant Science* 15: p.167-175.
- ENGELBRECHT, B.M.J. AND HERZ, H.M., 2001. Evaluation of different methods to estimate understory light conditions in tropical forests. *Journal of Tropical Ecology* 17: p. 207-224.
- FERNÁNDEZ, F., 2007. The myrmecine ant genus *Allomerus* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *Caldasia* 29: p.159-175.
- FIEDLER, K., 1991. Systematic, evolutionary, and ecological implications of myrmecophily within the *Lycaenidae* (Insecta: Lepidoptera: Papilioidea). *Bonner Zoologische Monographien* 31: p.1-201.

- GUIMARÃES, P.R., RICO-GRAY, V., OLIVEIRA, P.S., IZZO, T.J., REIS, S.F.D. AND THOMPSON, J.N., 2007. Interaction intimacy affects structure and coevolutionary dynamics in mutualistic networks. *Current Biology* 17: p.1797–1803.
- HEIL, M., DELSINNE, T., HILPERT, A., SCHURKENS, S., ANDARY, C., LINSENMAIR, K.E., SOUSA, M.S. AND MCKEY, D., 2002. Reduced chemical defence in ant-plants? A critical re-evaluation of a widely accepted hypothesis. *Oikos* 99: p.457-468.
- HEIL, M. AND MCKEY, D., 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary researche. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 34: p.425-553.
- JANZEN, D.H., 1966. Coevolution of a mutualism between ants and *Acacias* in Central America. *Evolution* 20: p.249–275.
- JANZEN, D.H., 1973. Dissolution of mutualism between *Cecropia* and its *Azteca* ants. *Biotropica* 5: p.15-28.
- KOPTUR, S., 1984. Experimental-evidence for defense of *Inga* (Mimosoideae) saplings by ants. *Ecology* 65: p.1787-1793.
- LAPOLA, D.M., BRUNA, E.M. AND VASCONCELOS, H.L., 2004. Mutualismo entre plantas e formigas na Amazônia. *Ciência Hoje*, n. 204, 34: p.28-33.
- MICHELANGELI, F.A., 2003. Ant protection against herbivory in three species of *Tococa* (Melastomataceae) occupying different environments. *Biotropica* 35: p.181-188.
- MICHELANGELI, F.A., 2005. *Tococa* (Melastomataceae). *Flora Neotropica Monograph* 98: p.1-115.
- MORAES, S.C. AND VASCONCELOS, H.L., 2009. Long-term persistence of a Neotropical ant-plant population in the absence of obligate plant-ants. *Ecology* 90: p.2375-2383.
- PALMER, T.M. AND BRODY, A., K., 2007. Mutualism as reciprocal exploitation: African plant-ants defend foliar but not reproductive structures. *Ecology* 88: p.3004-3011.
- PIERCE, N.E., BRABY, M.F., HEATH, A., LOHMAN, D.J., MATHEW, J., RAND, D.B. AND TRAVASSOS, M.A., 2002. The ecology and evolution of ant association in the *Lycaenidae* (Lepidoptera). *Annual Review of Entomology* 47: p.733-771.
- PUTZ, F.E. AND HOLBROOK, M., 1988. Further observations on the dissolution of mutualism between *Cecropia* and its ants: The Malaysian case. *Oikos* 53: p.121–125.
- RICO-GRAY, V. AND OLIVEIRA, P.S., 2007. The ecology and evolution of ant-plant interactions. University of Chicago Press, Illinois, USA.
- ROMERO, G.Q. AND IZZO T.J., 2004. Leaf damage induces ant recruitment in the Amazonian ant-plant *Hirtella myrmecophila*. *Journal of Tropical Ecology* 20: p.675–682.
- STAPLEY, L., 1998. The interaction of thorns and symbiotic ants as an effective defence mechanism of swollen-thorn *Acacias*. *Oecologia* 115: p.401-405.
- 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: p.295-298

- VASCONCELOS, H.L. AND DAVIDSON, D.W., 2000. Relationship between plant size and ant associates in two Amazonian ant-plants. *Biotropica* 32: p.100-111.
- WHEELER, W.M., 1942. Studies of Neotropical ant-plants and their ants. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 90: p.1-262.
- Yu, D.W. AND N.E. PIERCE, 1998. A castration parasite of an ant-plant mutualism. *Proc. R. Soc. London Ser. B-Biological Sci.* 265: p.375-382.

CAPÍTULO 1

Condisionalidade no papel das formigas e dos tricomas na defesa da planta mirmecófita *Tococa guianensis*

Resumo

Defesas físicas e interações bióticas são diferentes estratégias utilizadas pelas plantas contra os herbívoros. As defesas físicas (tricomas) atuam como uma barreira física para os insetos herbívoros. Interações mutualísticas obrigatórias entre plantas e formigas também iniciam um importante papel na defesa indireta contra os herbívoros, já que as formigas fornecem proteção para sua planta hospedeira em troca de abrigo (domácia). *Tococa guianensis* é uma planta Neotropical associada com formigas do gênero *Allomerus* ou *Azteca*. Entretanto, no limite sul de sua distribuição, populações de *T. guianensis* foram encontradas persistindo na ausência de *Allomerus* e *Azteca*. Duas hipóteses foram propostas para explicar persistência destas populações: (i) formigas oportunistas podem estar desempenhando o mesmo papel das espécies obrigatórias e/ou (ii) a herbivoria é evitada devido aos tricomas foliares. Para testar estas hipóteses foi desenvolvido um experimento fatorial com duas populações que *T. guianensis* ocorre com formigas obrigatórias (*Allomerus octoarticulatus*) em Aragarças/GO (ARA) e Cachoeira da Fumaça/MT (CACHO) e uma sem a formiga obrigatória em Uberlândia/MG (UDI). Neste experimento foi manipulada a presença de formigas (presença/ausência) e de tricomas (intactos/raspados). Além disso, também foi quantificada a densidade de tricomas foliares das populações estudadas. A taxa de herbivoria sobre as folhas produzidas depois do início do experimento foi medida a cada dois meses durante um período de seis meses e a quantificação dos tricomas foi feito sob a lupa no laboratório. A remoção dos tricomas resultou num aumento da herbivoria em duas das três populações estudadas (ARA e UDI), mas esta diferença foi relativamente pequena. A densidade de tricomas também diferiu entre as populações na fase adulta, ARA apresentou mais tricomas do que os demais locais. As formigas oportunistas não afetaram a taxa de herbivoria em UDI. No entanto, a formiga obrigatória teve um forte efeito sobre a taxa de herbivoria em ARA, mas surpreendentemente não em CACHO. A taxa de herbivoria total foi maior em ARA do que em CACHO e UDI. Estes resultados sugerem que a importância da formiga obrigatória como defensora da planta é condicionada pela taxa de herbivoria experimentada pelas plantas. Em ARA, onde a taxa de herbivoria foi alta, a defesa da formiga foi extremamente eficiente para as plantas, mas em CACHO a formiga obrigatória não afetou a herbivoria. Em locais onde *T. guianensis* ocorrem sem a formiga obrigatória, as plantas também parecem contar com a defesa física, já que a herbivoria foliar foi afetada pelos tricomas em UDI. Além disso, em ARA (local com maior herbivoria) as plantas também apresentaram maiores densidades de tricomas foliares, sugerindo que *T. guianensis*, além de se beneficiar da proteção fornecida pelas formigas, em caso de alta herbivoria, a planta se beneficia da defesa física. Assim, esta plasticidade em defesas contra os insetos herbívoros em *T. guianensis* pode ajudar a explicar a permanência de populações em locais onde às formigas obrigatórias não ocorrem.

Palavras-chave: *Allomerus octoarticulatus*, experimento exclusão, formigas oportunistas, tricomas

1. Introdução

As plantas apresentam uma variedade de estratégias de defesas contra os herbívoros que tendem a reduzir a herbivoria e assim aumentar o fitness da planta (Pullin & Gilbert 1989, Strauss & Agrawal 1999, Rautio et al. 2002). Tais estratégias podem ser físicas (morfológicas) quando há produção de tricomas, espinhos e esclerificação foliar que impedem ou dificultam o consumo da planta pelo herbívoro (Dalin & Björkman 2003, Lucas et al. 2000) e bióticas que se caracterizam pela associação da planta com outro organismo, geralmente formigas, que defende a planta atacando os potenciais herbívoros (Heil & McKey 2003, Campbell et al. 2013).

A produção de tricomas é um importante componente da resistência contra os insetos herbívoros (Agren & Schemske 1994, Levin 1973, Karban & Myers 1989, Brian Traw & Dawson 2002), pois representa uma barreira física e/ou química para os insetos (Levin 1973). Como barreira física, os tricomas interferem no movimento dos insetos e outros pequenos artrópodes sobre a superfície da planta tornando o acesso dos insetos mais difícil (Levin 1973, Baur et al. 1991). Já como barreira química, alguns tricomas chamados de glandulares apresentam células secretoras que liberam metabólitos secundários que podem ser tóxicos ou repelentes voláteis a vários tipos de insetos herbívoros (Schoener 1988, Rautio et al. 2002, Heil et al. 2001, Kobayashi et al. 2008).

Muitas espécies de plantas depois de serem danificadas pelos herbívoros passam a produzir folhas novas com um aumento na densidade de tricomas e os insetos passam a consumir menos folhas e crescem menos comparados àqueles insetos que se desenvolvem em plantas onde não houve uma indução na produção de tricomas (Agrawal 1999, Dalin & Björkman 2003). Letourneau & Barbosa (1999) observaram em *Endospermum labios* que os insetos brocadores evitavam consumir tanto as plantas que estavam colonizadas por formigas da espécie *Camponotus quadriceps*, quanto os indivíduos ou galhos da planta que apresentavam maior densidade de tricomas em suas folhas. A densidade de tricomas foliar nestas árvores foi bem

maior nas plantas que tinham sido anteriormente danificadas pelos insetos brocadores do que naquelas árvores que não tinham sido danificadas.

Muitos estudos têm demonstrado que os danos causados pelos insetos herbívoros são negativamente correlacionados com a densidade de tricomas (Agren & Schemske 1994, Mauricio 1998, Valverde et al. 2001, Hare & Elle 2002, Handley et al. 2005). No entanto, esta relação pode ser alterada pelas condições do ambiente, tais como, temperatura, fotoperíodo (Gianfagna et al. 1992) e também pela variação na pressão de herbivoria (Baur et al. 1991).

Algumas espécies de plantas também contam com a defesa biótica que pode ser, em alguns casos, um recurso menos dispendioso para as plantas (Bronstein 2001). Um dos melhores exemplos de associação mutualística é a relação entre plantas e formigas. A defesa anti-herbívoro fornecida pelas formigas é um recurso utilizado por muitas espécies de plantas tropicais (Heil & McKey 2003, Moraes & Vasconcelos 2009, Rico-Gray & Oliveira 2007, Campbell et al. 2013). As plantas associadas às formigas fornecem alimentos através de nectários extraflorais, corpúsculos alimentares (Hölldobler & Wilson 1990, Fiala & Maschwitz 1991, Fiala et al. 1999), via excreção de hemípteros trofobiontes (Order Hemiptera: Sternorrhyncha e Auchenorrhyncha), do elaiossomo que cobrem as sementes de algumas espécies de plantas (Beattie 1985). Além disso, algumas espécies também oferecem abrigo às formigas (Janzen 1966, Heil & McKey 2003, Rico-Gray & Oliveira 2007). Em troca destes benefícios as formigas protegem as plantas contra os insetos herbívoros e plantas competidoras (Fiala & Maschwitz 1991, Fiala et al. 1999, Rico-Gray & Oliveira 2007), dispersam suas sementes ou ainda fornecem nutrientes essenciais para o seu desenvolvimento (Sagers et al. 2000, Dejean et al. 2013).

Associações entre plantas e formigas podem ser facultativas ou obrigatórias (Fiedler 1991; Pierce et al. 2002). Nas associações facultativas não existe especificidade entre os mutualistas, mas mesmo assim existe um efeito positivo sobre a aptidão das espécies. Já nas

obrigatórias existe especificidade entre os membros da associação e, em geral, nenhum pode persistir sem o outro (Boucher et al. 1982). Plantas mirmecofílicas caracterizam-se por apresentar uma relação facultativa com as formigas. Estas plantas fornecem alimentos (nectários extraflorais e corpúsculos alimentares) que podem ser utilizados pelas formigas em troca de defesa contra o ataque dos insetos herbívoros. No entanto, estas plantas não são regularmente habitadas por colônias de formigas e várias espécies de formigas podem estar envolvidas nesta relação (Webber et al. 2007, Heil & McKey 2003).

Apesar da maioria das interações entre plantas e formigas serem facultativas e não obrigatórias (Beattie 1985), as mirmecófitas (*Ant-plants*) apresentam uma relação mais específica e são permanentemente habitadas por colônias de formigas durante a maior parte de sua vida (Benson 1985, Webber et al. 2007). As mirmecófitas apresentam estruturas especializadas, denominadas dománcias que servem de sítio de nidificação para as formigas. Estas estruturas podem ocorrer em formato de uma bolsa localizada na base das folhas, de espinhos inchados, no caule oco de algumas espécies de plantas, nas raízes, bulbos e tubérculos (Janzen 1966, Heil & McKey 2003, Rico-Gray & Oliveira 2007). Várias espécies dos gêneros *Acacia*, *Cecropia*, *Leonardoxa*, *Maieta*, *Macaranga*, *Miconia*, *Piper*, *Tococa*, entre outras, são permanentemente habitadas por colônias de formigas formando uma associação mutualística obrigatória (Davidson & McKey 1993, Heil & McKey 2003, Rico-Gray & Oliveira 2007).

A especialização entre as mirmecófitas e formigas é tão alta que as rainhas, muitas vezes, reconhecem os voláteis emitidos pela sua planta hospedeira no momento da colonização, sendo um mecanismo fundamental para a estruturação da comunidade de formigas que habitam as mirmecófitas (Edwards et al. 2006, Dattilo et al. 2009). Uma única planta hospedeira pode se associar com múltiplas espécies de formigas simbióticas, embora geralmente cada planta individual se associe em um dado momento a uma única espécie de formiga (Fonseca & Ganade 1996; Campbell et al. 2013).

Apesar da aparente co-dependência entre formigas e plantas, foram encontradas populações de *Tococa guianensis* persistindo em algumas áreas do Cerrado sem a presença destas formigas (Moraes & Vasconcelos 2009) e os fatores atribuídos a persistência destas populações foi um maior investimento em defesa física (tricomas) contra a ação dos insetos herbívoros e/ou a defesa biótica, já que as formigas oportunistas podem estar desempenhando o mesmo papel das formigas obrigatórias nestas áreas, mas parcialmente.

Diante disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influencia dos tricomas e/ou das formigas (oportunistas ou obrigatórias) contra a ação dos insetos herbívoros em áreas de Cerrado em que a população ocorre com e sem formigas mutualistas obrigatórias. Mais especificamente avaliou se: (i) a presença de tricomas nas folhas efetivamente protege *T. guianensis* contra a ação de insetos herbívoros, (ii) as formigas oportunistas e obrigatórias fornecem algum grau de proteção contra herbívoros à *T. guianensis* e se (iii) há um investimento diferenciado em defesa morfológica induzida (densidade de tricomas) entre os locais em que *T. guianensis* ocorre com e sem a presença da formiga obrigatória. Além disso, também foi feito um experimento laboratorial adicional para avaliar se os herbívoros evitam consumir folhas com tricomas através de um teste de preferência utilizando lagartas generalistas.

2. Material e Métodos

2.1. Desenho experimental e tratamentos

2.1.1. Remoção dos tricomas e exclusão das formigas

Para saber se os tricomas ou as formigas (oportunistas ou obrigatórias) influenciam a herbivoria foliar de *T. guianensis*, no mês de outubro de 2011 foi selecionada uma população de *T. guianensis* sem formigas obrigatórias em Uberlândia (UDI) e duas populações com formigas obrigatórias em Aragarças (ARA) e Cachoeira da Fumaça (CACHO). Em cada população

selecionou-se 44 indivíduos (11 por tratamento), os quais tiveram suas folhas novas (sem danos) marcadas e submetidas a quatro tratamentos: (i) Controle, onde se manteve os tricomas e o acesso das formigas; (ii) Sem formigas e sem tricomas; (iii) Sem formigas com tricomas e (iv) Sem tricomas com formigas. No tratamento onde o acesso das formigas foi impedido aplicou-se a resina *Tanglefoot* no caule das folhas marcadas e as formigas pré-existentes nas domáciais foram removidas com o auxílio de uma seringa com inseticida a base de Cipermetrina (Barrage), a uma concentração de 0,5 mL por litro. Após a remoção das formigas, a entrada das domáciais foi fechada usando-se tufo de algodão de forma a evitar colonização por rainhas de *Allomerus octoarticulatus* nos locais onde a formiga estava presente. Os tricomas foram retirados da parte superior e inferior das folhas com o auxílio de um aparelho de barbear elétrico, sem danificar a folha (Figura 1 A - E). Os experimentos foram monitorados durante um período de seis meses e a cada dois meses foram quantificados a porcentagem de danos causados pelos herbívoros em todas as folhas marcadas no início do experimento e também naquelas que surgiram durante o experimento nas plantas experimentais (com e sem tricomas, com e sem formigas). A porcentagem de danos foi calculada da seguinte forma: (área danificada/área foliar total) *100. A área danificada de cada folha foi determinada utilizando-se uma folha de transparência contendo uma grade retangular de pontos com espaçamento de um centímetro entre os pontos (Figura 1 F).



Figura 1. Diferentes métodos usados nos tratamentos aplicados nas folhas de *T. guianensis*: (A) remoção dos tricomas das folhas, (B) remoção das formigas preexistentes com inseticida, (C) isolamento das domácia com tufo de algodão, (D e E) isolamento com *Tanglefoot* e (F) medindo a taxa de herbivoria.

2.1.2. Investimento em defesa física (tricomas)

Para quantificar a densidade de tricomas dos indivíduos adultos e das plântulas de cada população foram coletadas aleatoriamente três folhas novas e três folhas maduras de 15

indivíduos adultos e de todas as folhas presentes em 26 plântulas de cada população. O número de tricomas foi quantificado em uma área de 0,25 cm² em três posições diferentes da parte superior e inferior das folhas (excluindo as nervuras), totalizado uma área de 1,5 cm² por folha.

2.1.3. Teste de preferência

Para a realização do teste de preferência foram colocadas 50 lagartas generalistas (Lepidoptera: Noctuidae) em potes plásticos juntamente com fragmentos de folhas novas (9 cm²) de *T. guianensis*. Em cada pote havia uma lagarta e dois fragmentos de uma mesma folha (com e sem tricomas), totalizando 50 réplicas por tratamento. Este experimento foi monitorado por um período de 72 horas e a área consumida das folhas foi calculado utilizando-se o programa ImageJ versão 1.42 (Rasband, 2009). A duração desse experimento corresponde ao período de maior atividade das lagartas.

3. Análise de dados

Para analisar os experimentos de exclusão de tricomas e formigas, investimento em defesa morfológica induzida e o teste de preferência foi utilizado ANOVA fatorial. Os dados de herbivoria (proporção da área foliar danificada) do experimento de exclusão de tricomas e formigas foram transformados antes da análise, usando-se a transformação Logit, a qual é especialmente indicada para dados de proporção (Warton & Hui 2011).

4. Resultados

Os tricomas atuaram como um mecanismo de defesa contra a herbivoria foliar de *T. guianensis* ($F_{(1,120)} = 4,493$; $p = 0,036$), independente da formiga (obrigatória e oportunista) estar presente ou não (Tabela 1). Tanto em Aragarças quanto em Uberlândia, as folhas sem tricomas tiveram um aumento médio de 50% da herbivoria comparado com as plantas com tricomas. Já na Cachoeira da Fumaça os tricomas não influenciaram a herbivoria, pois esta se manteve baixa, mesmo nas plantas em que os tricomas foram retirados (Figura 2).

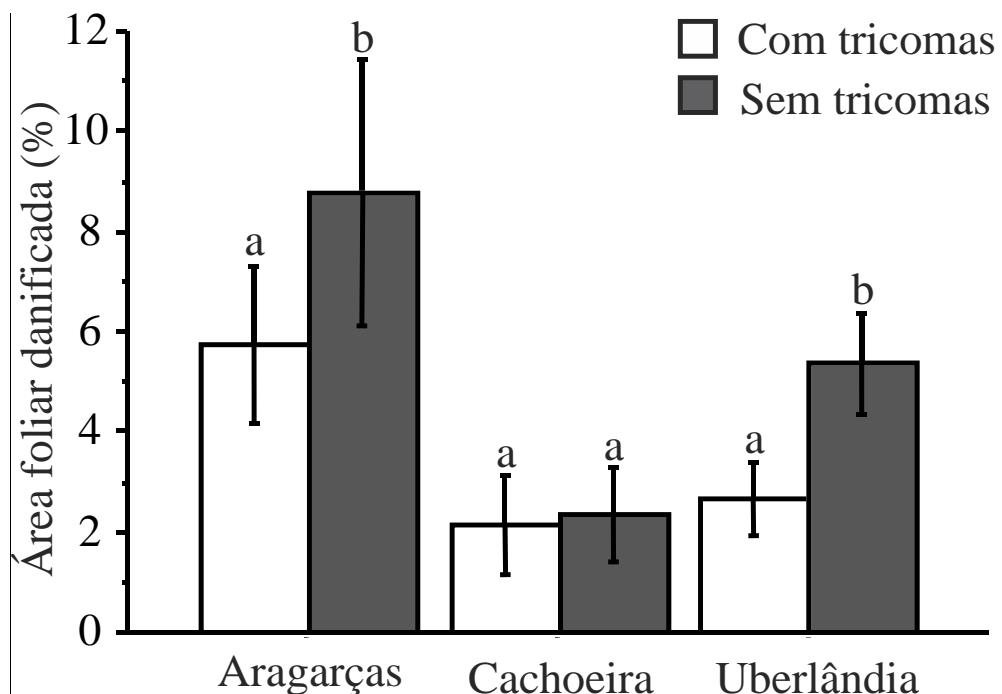


Figura 2. Herbivoria foliar média de populações de *T. guianensis* com e sem presença de tricomas. Letras minúsculas indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) e linhas verticais o desvio padrão.

As formigas obrigatorias tiveram um forte efeito sobre a taxa média de herbivoria, mas este efeito dependeu do local ($F_{(2,120)} = 14,515$; $p \leq 0,0001$) (Tabela 2). Em Aragarças, a exclusão experimental de *A. octoarticulatus* resultou em uma alta taxa de herbivoria foliar (1% com e 13% sem a formiga). Mas, a herbivoria foliar de *T. guianensis* na Cachoeira da Fumaça,

permaneceu baixa, independente da formiga obrigatória estar presente ou não. Já em Uberlândia, local onde a população ocorre sem a presença da formiga obrigatória, as formigas oportunistas também não afetaram a taxa de herbivoria foliar (Figura 3).

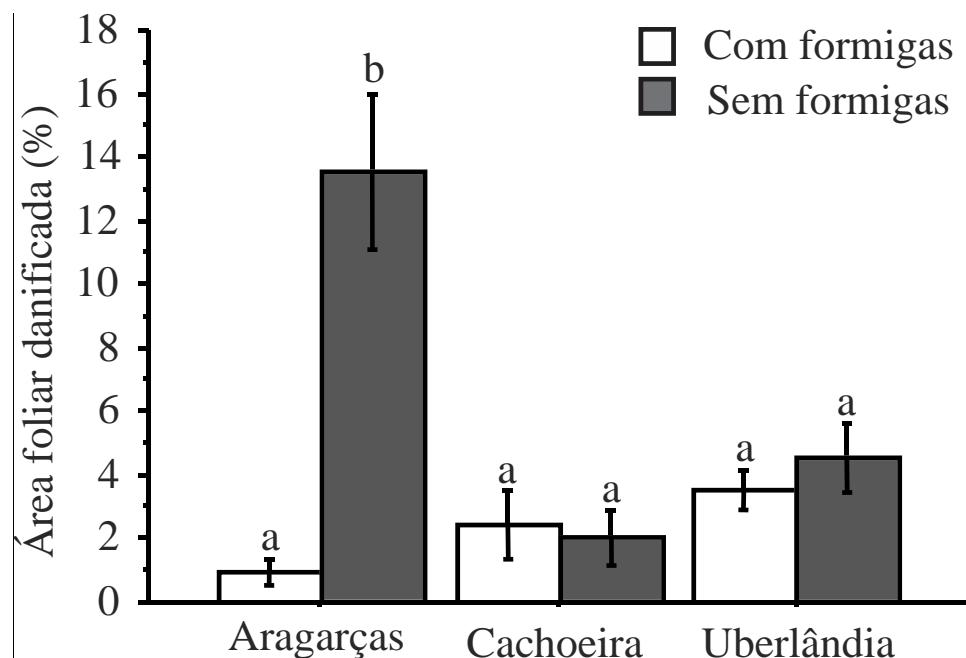


Figura 3. Herbivoria foliar média de populações de *T. guianensis* com e sem a presença de formigas obrigatórias e oportunistas nas diferentes localidades. Letras minúsculas indicam diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$) e linhas verticais o desvio padrão.

Tabela 1. Resultados da análise de variância (ANOVA) da herbivoria foliar de *T. guianensis* submetida a diferentes tratamentos.

Tratamentos	Soma dos quadrados	gl	Quadrado médio	F	P
Tricomas	2,161	1	2,161	4,493	0,036
Formigas	11,247	1	11,247	23,385	<0,0001
Local	7,154	2	3,577	7,437	0,001
Tricomas*Formigas	1,183	1	1,183	2,459	0,119
Tricomas*Local	0,725	2	0,362	0,753	0,473
Formigas*Local	13,962	2	6,981	14,515	<0,0001
Tricomas*Formigas*Local	1,678	2	0,839	1,744	0,179

A densidade de tricomas diferiu entre os locais para os indivíduos adultos ($F_{2,177} = 4,923$; $p = 0,008$), mas não diferiu para os indivíduos na fase de plântulas. Aragarças foi o local que apresentou maior densidade média de tricomas na fase adulta ($11,0 \pm 5,8 \text{ cm}^2$), seguido da Cachoeira da Fumaça ($9,0 \pm 5,0 \text{ cm}^2$) e Uberlândia ($8,5 \pm 3,0 \text{ cm}^2$). Na fase de plântulas a densidade de tricomas foliar foi de ($10,5 \pm 4,3 \text{ cm}^2$) em Aragarças, ($9,3 \pm 3,7 \text{ cm}^2$) em Cachoeira e ($9,0 \pm 3,5 \text{ cm}^2$) em Uberlândia (Figura 4A e B).

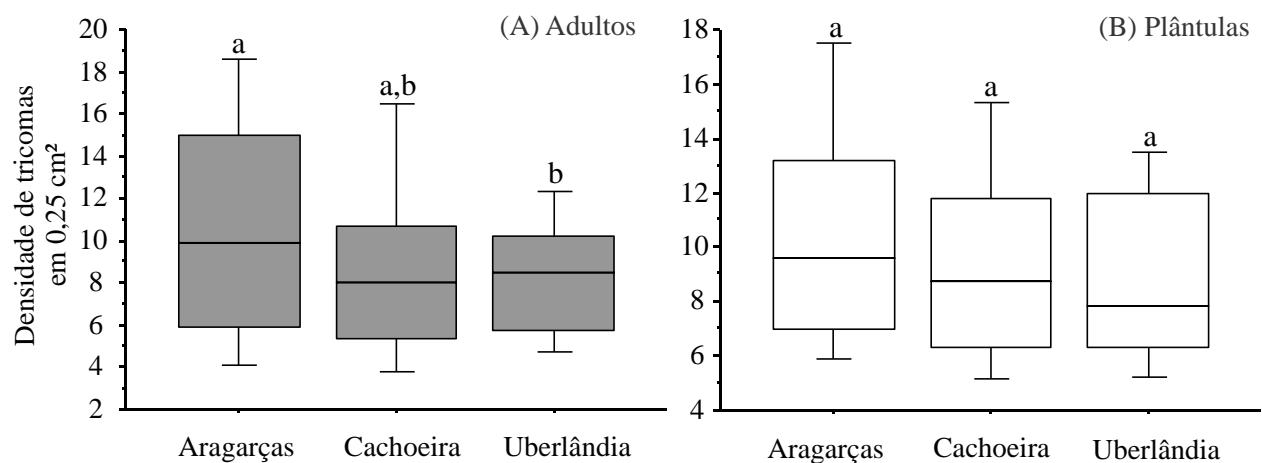


Figura 4. Densidade média de tricomas dos indivíduos adultos (A) e de plântulas (B) das populações de Aragarças, Cachoeira da Fumaça e Uberlândia. Linhas verticais representam o erro padrão.

O teste de preferência usando lagartas generalistas e fragmento de folhas novas mostrou que as lagartas preferiram consumir folhas sem tricomas ($F_{1,72} = 6,929$; $p = 0,010$). A herbivoria dos fragmentos foliares sem os tricomas foi duas vezes maior do que nas folhas com tricomas (Figura 5).

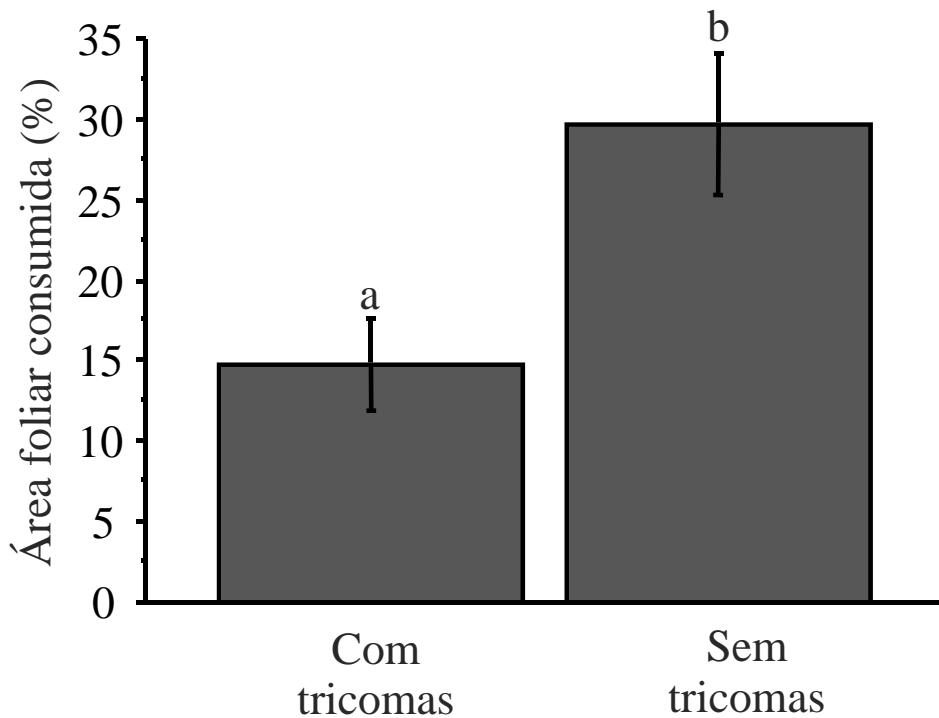


Figura 5. Herbivoria foliar média causada por lagartas generalistas em fragmentos de folhas jovens de *T. guianensis* com e sem a presença de tricomas (realizado em laboratório). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos e linhas verticais o erro padrão.

5. Discussão

Apesar da diferença na herbivoria entre plantas com e sem tricomas ter sido relativamente pequena, a retirada dos tricomas resultou num aumento na herbivoria foliar de *T. guianensis* em dois dos três locais onde este estudo foi realizado (Aragarças e Uberlândia). Provavelmente os herbívoros evitam consumir folhas com tricomas, já que os tricomas podem dificultar e/ou impedir a locomoção dos herbívoros sobre as folhas o que acaba influenciando o nível do dano causado pelos herbívoros (Levin 1973, Baur et al. 1991). Já em relação à população da Cachoeira a retirada dos tricomas não afetou a herbivoria talvez devido à baixa herbivoria encontrada no local ou até mesmo porque esta população pode estar investindo em outras defesas contra a ação dos herbívoros, como por exemplo, defesas induzidas e/ou químicas (Stapley 1998, Heil et al. 2002, Dicke & Baldwin 2010).

Também foi observado através do teste de preferência que as lagartas consumiram uma maior quantidade de folhas de *T. guianensis* quando estas estavam desprovidas de tricomas, o que reforça a hipótese da influencia dos tricomas sobre a herbivoria. Muitos estudos também tem demonstrado que há uma relação negativa entre os tricomas e a herbivoria (Schoener 1988, Rios et al. 2008, Baur et al. 1991). Lill et al. (2006) observaram que a densidade de lagartas generalistas da família Limacodidae foi maior sobre as folhas de *Quercus velutina* desprovidas de tricomas e que estas lagartas também preferiram consumir folhas sem tricomas. De qualquer forma estes resultados, em parte, dão apoio à hipótese proposta por Moraes & Vasconcelos (2009) de que os tricomas contribuem para a reduzir a herbivoria foliar em *T. guianensis*.

No entanto, ao contrário dos resultados encontrados por Moraes & Vasconcelos (2009), neste estudo foi observado que onde *T. guianensis* foi mais atacada pelos herbívoros (Aragarças) a planta apresentou maior densidade de tricomas na fase adulta, sugerindo que além da espécie contar com a defesa biótica fornecida pelas formigas, em caso de alta herbivoria, a planta pode também induzir a produção de mais tricomas foliares contra os insetos herbívoros. Neste caso, o investimento em defesa física parece ser uma resposta induzida da planta em resposta à herbivoria, sendo que em locais com alta herbivoria a planta tende a ter mais tricomas do que em locais com baixa herbivoria. Letourneau & Barbosa (1999) também encontraram que a defesa física (tricomas) em *Endospermum* foi induzida tanto na presença quanto na ausência da defesa biótica (formiga). Portanto, este estudo demonstrou que *T. guianensis* além de contar com a defesa biótica fornecida pelas formigas especialista, em locais com alta herbivoria, a planta também conta com a defesa física.

A exclusão experimental das formigas mostrou que *A. octoarticulatus* eficientemente protegeu *T. guianensis* contra os insetos herbívoros, mas a eficiência desta defesa parece estar condicionada com a intensidade de herbivoria do local. A exclusão experimental da formiga obrigatória resultou em um significativo aumento na taxa de herbivoria em um dos locais

estudados (Aragarças), o que corrobora com outros estudos de mutualismos entre plantas e formigas (Rosumek et al. 2009, Trager et al. 2010, Campbell et al. 2013), mas surpreendentemente não afetou a herbivoria em outro (Cachoeira da Fumaça). A presença de *Allomerus* provavelmente não influenciou a herbivoria na população de *T. guianensis* da Cachoeira da Fumaça porque este local apresentou baixa taxa de herbivoria. Esse resultado apoia a ideia de que muitas vezes os benefícios da interação entre plantas e formigas dependem da abundância dos herbívoros (Bronstein 1998). Barton (1986) estudando a variação do efeito da formiga sobre o sucesso reprodutivo de *Cassia fasciculata* observou que locais onde havia maior herbivoria a presença das formigas teve um forte efeito sobre o sucesso reprodutivo das plantas, mas em locais com baixa herbivoria, a formiga não afetou o *fitness* da planta. Bronstein (1998) argumenta que o mutualismo é somente efetivo quando há necessidade de investir em algum produto (por ex., defesa biótica) devido à presença dos insetos herbívoros. Geralmente, os benefícios obtidos da associação entre plantas e formigas são positivos quando há alta herbivoria (Strauss et al. 2002), mas quando há baixa herbivoria, como no caso da Cachoeira da Fumaça, a manutenção desta relação pode tornar-se custosa, e desnecessária para a planta. Em Uberlândia, a exclusão experimental das formigas oportunistas também não afetou a herbivoria provavelmente porque essas formigas utilizam suas plantas hospedeiras somente esporadicamente para forragear ou nidificar (Moraes & Vasconcelos 2009). Portanto, a baixa taxa de herbivoria observada em Uberlândia, pode ser porque as plantas, alternativamente, estão investindo em outros mecanismos de defesa (p.ex. físico e químico) ou porque neste local a pressão de herbivoria é muito baixa.

Este estudo sugere que a importância da formiga obrigatória como defensora da planta foi condicionada pela taxa de herbivoria experimentada pelas plantas. Em Aragarças, onde a taxa de herbivoria foi alta, a defesa por *Allomerus* foi extremamente eficiente para as plantas, mas na Cachoeira da Fumaça a presença dessa formiga não afetou a herbivoria. Já onde *Allomerus* estava ausente não houve um efeito de outras formigas (oportunistas), apenas da presença dos

tricomas. Assim, além de *T. guianensis* contar com a defesa biótica, fornecida pelas formigas, parece também contar com a defesa física e estes mecanismos parecem ser eficazes contra a herbivoria, principalmente em casos de alta herbivoria, e isto potencialmente pode ajudar a explicar ocorrência de populações de mirmecófitas sem a formiga obrigatória.

6. Referências Bibliográficas

- AGRAWAL, A.A., 1999. Induced responses to herbivory in wild radish: effects on several herbivores and plant fitness. *Ecology* 80: p.1713–1723.
- AGREN, J., AND D.W. SCHEMSKE, 1994. Evolution of trichome number in a naturalized population of *Brassica rapa*. *Am. Nat.* 143: p.1–13
- BARTON, A., 1986. Spatial variation in the effect of ants on extrafloral nectary plant. *Ecology*. 67: p. 495–504.
- BAUR, R., S. BINDER, AND G. BENZ, 1991. Nonglandular leaf trichomes as short-term inducible defense of the gray alder, *Alnus incana* (L), against the chrysomelid beetle, *agelastica-alni* L. *Oecologia* 87: p.219–226.
- BEATTIE, A.J., 1985. *The Evolutionary Ecology of Ant–Plant Mutualisms*, Cambridge: Cambridge University Press.
- BENSON, W.W., 1985. Amazon ant-plants. Pages 239–266 In G.T. Prance and T.E Lovejoy, editors. *Amazonia*. Pergamon Press, Oxford, UK.
- BOUCHER, D.H., S. JAMES, AND K.H. KEELER, 1982. The ecology of mutualism. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 13: p.315–347.
- BRIAN TRAW, M., AND T.E. DAWSON, 2002. Reduced performance of two specialist herbivores (lepidoptera: pieridae, coleoptera: chrysomelidae) on new leaves of damaged black mustard plants. *Environ. Entomol.* 31: p.714–722.
- BRONSTEIN, J.L., 1998. The contribution of ant plant protection studies to our understanding of mutualism. *Biotropica* 30: p.150–161.
- BRONSTEIN, J.L., 2001. THE COSTS OF MUTUALISM. *AM. ZOOL.* 41: P.825–839.
- CAMPBELL, H., I.R. TOWNSEND, M.D.E. FELLOWES, AND J.M. COOK, 2013. Thorn-dwelling ants provide antiherbivore defence for camelthorn trees, *Vachellia erioloba* , in Namibia. *Afr. J. Ecol.* 51: p.590–598.
- DALIN, P., AND C. BJÖRKMAN, 2003. Adult beetle grazing induces willow trichome defence against subsequent larval feeding. *Oecologia* 134: p.112–8

- DATTILO, W.F.C., T.J. IZZO, B.D. INOUYE, H.L. VASCONCELOS, AND E.M. BRUNA, 2009. Recognition of host plant volatiles by *Pheidole minutula* Mayr (Myrmicinae), an Amazonian ant-plant specialist. *Biotropica* 41: p.642–646.
- DAVIDSON, D.W., AND D. MCKEY, 1993. Ant plant symbioses - stalking the chuyachaqui. *Trends Ecol. Evol.* 8: p.326–332.
- DEJEAN, A., J. ORIVEL, V. ROSSI, O. ROUX, J. LAUTH, P.-J.G. MALÉ, R. CÉRÉGHINO, AND C. LEROY, 2013. Predation success by a plant-ant indirectly favours the growth and fitness of its host myrmecophyte. *PLoS One* 8: p.e59405.
- DICKE, M., AND I.T. BALDWIN, 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the “cry for help.” *Trends Plant Sci.* 15: p.167–175.
- EDWARDS, D.P., M. HASSALL, W.J. SUTHERLAND AND D. W. YU, 2006. Assembling a mutualism: ant symbionts locate their host plants by detecting volatile chemicals. *Insectes Sociaux* 53: p.172–176.
- FIALA, B., AND U. MASCHWITZ, 1991. Extrafloral Nectaries in the Genus *Macaranga* (Euphorbiaceae) in Malaysia - Comparative-Studies of Their Possible Significance as Predispositions for Myrmecophytism. *Biol. J. Linn. Soc.* 44: p.287–305.
- FIALA, B., A. JAKOB, AND U. MASCHWITZ, 1999. Diversity, evolutionary specialization and geographic distribution of a mutualistic ant-plant complex: *Macaranga* and *Crematogaster* in South East Asia. *Biol. J. Linn. Soc.* 66: p.305–331.
- FIEDLER K., 1991. Systematic, evolutionary, and ecological implications of myrmecophily within the Lycaenidae (Insecta: Lepidoptera: Papilionoidea). *Bonner Zoologische Monographien*. 31: p.1-201.
- FONSECA C. AND G. GANADE, 1996. Asymmetries, compartments and null interactions in an Amazonian ant-plant community. *Journal of Animal Ecology* 65: p.339-347.
- GIANFAGNA, T.J., C.D. CARTER, AND J.N. SACALIS, 1992. Temperature and photoperiod influence trichome density and sesquiterpene content of *Lycopersicon hirsutum f. hirsutum*. *Plant Physiol.* 100: p.1403–5.
- HANDLEY, R., B. EKBOM, AND J. ÅGREN, 2005. Variation in trichome density and resistance against a specialist insect herbivore in natural populations of *Arabidopsis thaliana*. *Ecol. Entomol.* 30: p.284–292.
- HARE, J.D., AND E. ELLE, 2002. Variable Impact of Diverse Insect Herbivores on Dimorphic *Datura wrightii*. *Ecology* 83: p.2711–2720.
- HEIL, M., B. FIALA, U. MASCHWITZ, AND K.E. LINSENMAIR, 2001. On benefits of indirect defence: short- and long-term studies of antiherbivore protection via mutualistic ants. *Oecologia* 126: p.395–403.
- HEIL, M., A. HILPERT, B. FIALA, R. BIN HASHIM, E. STROHM, G. ZOTZ, AND K.E. LINSENMAIR, 2002. Nutrient allocation of *Macaranga triloba* ant plants to growth, photosynthesis and indirect defence. *Funct. Ecol.* 16: p.475–483.

- HEIL, M., AND D. MCKEY, 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34: p.425–553.
- HÖLLDOBLER, B., AND WILSON, E., O. 1990. *The ants*. Springer-Verlag, Berlin, p 732.
- JANZEN, D., 1966. Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution (N. Y.)*. 20: p.249–275.
- KARBAN, R., AND J.H. MYERS, 1989. Induced plant responses to herbivory. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 20: p.331–348.
- KOBAYASHI, S., T. ASAI, Y. FUJIMOTO, AND S. KOHSHIMA, 2008. Anti-herbivore structures of *Paulownia tomentosa*: Morphology, distribution, chemical constituents and changes during shoot and leaf development. *Ann. Bot.* 101: p.1035–1047.
- LETOURNEAU, D.K., AND P. BARBOSA, 1999. Ants, stem borers, and pubescence in *Endospermum* in Papua New Guinea. *Biotropica* 31: p.295–302.
- LEVIN, D.A., 1973. The role of trichomes in plant defense. *Q. Rev. Biol.* 48: p.3–15.
- LILL, J.T., R.J. MARQUIS, R.E. FORKNER, J. LE, N. HOLMBERG, N.A. BARBER, AND J.L.E. CORFF, 2006. Leaf pubescence affects distribution and abundance of generalist slug caterpillars (Lepidoptera : Limacodidae) leaf pubescence affects distribution and abundance of generalist slug caterpillars (Lepidoptera : Limacodidae). 35: p.797–806.
- LUCAS, P.W., I.M. TURNER, N.J. DOMINY, AND N. YAMASHITA, 2000. Mechanical Defences to Herbivory. *Ann. Bot.* 86: p.913–920.
- MAURICIO, R., 1998. Costs of resistance to natural enemies in field populations of the annual plant *Arabidopsis thaliana*. *Am. Nat.* 151: p.20–28.
- MORAES, S.C., AND H.L. VASCONCELOS, 2009. Long-term persistence of a Neotropical ant-plant population in the absence of obligate plant-ants. *Ecology* 90: p.2375–2383.
- PULLIN, A.S., AND J.E. GILBERT, 1989. The stinging nettle , *Urtica dioica* , increases trichome density after herbivore and mechanical damage. 54: p.275–280.
- PIERCE, N.E., BRABY, M.F., HEATH, A., LOHMAN, D.J., MATHEW, J., RAND, D.B. and TRAVASSOS M.A., 2002. The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). *An. Rev.of Entom.* 47: p.733-771.
- RASBAND, W., 2009. ImageJ: Image processing and analysis in Java. Available from the National Institutes of Health, Maryland, USA *In:* <<http://imagej.nih.gov/ij/>>
- RAUTIO, P., A. MARKKOLA, J. MARTEL, J. TUOMI, E. HÄRMÄ, A. SIITONEN, I.L. RIESCO, M. ROITTO, E. HARMA, AND K. KUIKKA, 2002. Developmental plasticity in birch leaves: defoliation causes a shift from glandular to nonglandular trichomes.
- RICO-GRAY, V., AND P.S. OLIVEIRA, 2007. *The Ecology and Evolution of Ant-Plant Interactions*, University of Chicago Press.

- RIOS, R.S., R.J. MARQUIS, AND J.C. FLUNKER, 2008. Population variation in plant traits associated with ant attraction and herbivory in *Chamaecrista fasciculata* (Fabaceae). *Oecologia* 156: p.577–588.
- ROSUMEK, F., F. SILVEIRA, F. DE S. NEVES, N. DE U. BARBOSA, L. DINIZ, Y. OKI, F. PEZZINI, G. FERNANDES, AND T. CORNELISSEN, 2009. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia* 160: p.537–549.
- SAGERS, C.L., S.M. GINGER, AND R.D. EVANS, 2000. Carbon and nitrogen isotopes trace nutrient exchange in an ant-plant mutualism. *Oecologia* 123: p.582–586.
- SCHOENER, T.W., 1988. Leaf damage in island buttonwood , *Conocarpus erectus* : correlations with pubescence , island area , isolation and the distribution of major carnivores. 53: p.253–266.
- STAPLEY, L., 1998. The Interaction of Thorns and Symbiotic Ants as an Effective Defence Mechanism of Swollen-Thorn Acacias. *Oecologia* 115: p.401–405.
- STRAUSS, S., AND A. AGRAWAL, 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Trends Ecol. Evol.* 14: p.179–185.
- STRAUSS, S.Y., J. A. RUDGERS, J. A. LAU, AND R.E. IRWIN, 2002. Direct and ecological costs of resistance to herbivory. *Trends Ecol. Evol.* 17: p.278–285.
- TRAGER, M.D., S. BHOTIKA, J. A HOSTETLER, G. V ANDRADE, M. A RODRIGUEZ-CABAL, C.S. MCKEON, C.W. OSENBERG, AND B.M. BOLKER, 2010. Benefits for plants in ant-plant protective mutualisms: a meta-analysis. *PLoS One* 5: p.e14308.
- VALVERDE, P.L., J. FORNONI, AND J. NÚÑEZ-FARFÁN, 2001. Defensive role of leaf trichomes in resistance to herbivorous insects in *Datura stramonium*. *J. Evol. Biol.* 14: p.424–432.
- WARTON, D., AND F. HUI, 2011. The arcsine is asinine: the analysis of proportions in ecology. *Ecology* 92: p.3–10.
- WEBBER, B.L., J. MOOG, A.S.O. CURTIS, AND I.E. WOODROW, 2007. The diversity of ant-plant interactions in the rainforest understorey tree, *Ryparosa* (Achariaceae): food bodies, domatia, prostomata, and hemipteran trophobionts. *Bot. J. Linn. Soc.* 154: p.353–371.

CAPÍTULO 2

Variações na herbivoria e no investimento em defesas químicas e bióticas entre populações da planta mirmecófita *Tococa guianensis*

Resumo

Vários fatores foram propostos para explicar a ocorrência de *T. guianensis* em áreas de Cerrado sem a formiga obrigatória. Um dos fatores que pode possibilitar a permanência da espécie é um efeito local, já que a população, por estar localizada próximo ao limite de sua distribuição, em áreas mais restritas e isoladas, pode sofrer menos danos quando comparada com outras populações amplamente distribuídas e/ou a planta, em decorrência da ausência da formiga obrigatória, pode investir em outras defesas alternativas (físicas e químicas). Assim, para determinar quais fatores (menor herbivoria ou defesas alternativas) favorecem a ocorrência destas populações foi feito um experimento de transplante recíproco com plântulas originadas de locais que a espécie ocorre com (Aragarças e Cachoeira da Fumaça) e sem formigas obrigatórias (Uberlândia). Também foi observado se traços relacionados ao mutualismo (tamanho da domácia) são alterados em função da ausência da formiga. Plântulas de diferentes origens foram distribuídas em matas de galeria em Aragarças, Cachoeira da Fumaça e em Uberlândia e a herbivoria foi quantificada durante um período de seis meses. Além disso, foi quantificado o conteúdo de tanino e dureza foliar, tanto nas plântulas transplantadas quanto nos indivíduos adultos das populações. Todas as plântulas transplantadas, independente da origem, foram mais atacadas em Aragarças do que na Cachoeira e Uberlândia. Além disso, houve um aumento da herbivoria com o passar do tempo em todos os locais, mas as populações de Cachoeira e Uberlândia continuaram a apresentar menos herbivoria. A população de Cachoeira e de Uberlândia apresentaram maior quantidade de tanino foliar na fase de plântulas, mas na fase adulta somente a população de Uberlândia apresentou maior conteúdo. Em relação a dureza foliar, os indivíduos da Cachoeira da Fumaça apresentaram maior dureza do que os demais locais. Estes resultados indicam que *T. guianensis* conta com mais de uma estratégia de defesa contra os insetos herbívoros e esta plasticidade de defesas pode estar favorecendo a ocorrência da espécie onde a formiga obrigatória não está presente.

Palavras-chave: transplante-recíproco, tricomas, tanino, mirmecófita, herbivoria

1. Introdução

As plantas podem exibir uma variação intraespecífica significativa em defesas contra os herbívoros, que podem surgir como um resultado da plasticidade fenotípica ou da variabilidade genética das plantas (Massad et al. 2011). A plasticidade fenotípica permite que as plantas respondam a condições variáveis do ambiente, como por exemplo, na disponibilidade de luz, de nutrientes, água, CO₂ e/ou na pressão de herbivoria (Arimura et al. 2000, Karban et al. 2000, Karban 2001, Massad & Dyer 2010). O genótipo também pode afetar a produção de metabólitos secundários em plantas (Marquis 1992, Keinänen et al. 1999, Hamilton & Zangerl 2001, Ivey et al. 2009) e esta variabilidade genética pode ser expressa como diferenças na identidade ou na concentração dos compostos químicos produzidos por genótipo (Massad et al. 2011).

As interações entre plantas e herbívoros representam um dos primeiros exemplos de coevolução (Ehrlich & Peter 1964, Pellmyr 2003, Stenberg et al. 2006, Pauw et al. 2009). Em geral, a herbivoria reduz o crescimento, a fecundidade e/ou a sobrevivência das plantas (Crawley 1989, Strauss 1991). Ao diminuir o fitness das plantas (Marquis 1984, Maschinski & Whitham 1989), a herbivoria pode mudar os resultados das interações competitivas (Bentley & Whittaker 1979) e modificar o processo de sucessão (Brown et al. 1987). O impacto causado pelos herbívoros também é considerado uma das forças seletivas que mais colaboram com a evolução do mirmecofitismo em plantas (Beattie 1985).

O mirmecofitismo e os compostos secundários são estratégias de defesas alternativas que reduzem a disponibilidade da planta como fonte de alimento para os herbívoros, e consequentemente, aumentam o fitness das plantas (Janzen 1967). Plantas mirmecófitas oferecem abrigo e nutrientes para colônias de formigas específicas que vivem dentro das domárias e em troca deste benefício, as formigas patrulham a superfície da folha e removem os potenciais herbívoros (Hölldobler & Wilson 1990). Já os compostos secundários, como por exemplo, fenóis, taninos e alcaloides são substâncias tóxicas que podem alterar o metabolismo

ou o comportamento do herbíboro e, desta forma, também reduzir a herbivoria (de Bruxelles & Roberts 2001, Mello & Silva-filho 2002).

Apesar dos benefícios obtidos por estas estratégias de defesas, a produção e manutenção destes mecanismos pode ser metabolicamente dispendioso para as plantas. Por exemplo, as mirmecófitas investem uma quantidade considerável de nutrientes, os quais variam com a intensidade da relação mutualística, para atrair as formigas e reforçar a relação com elas (Janzen 1966, Rehr et al. 1973, Heil et al. 1997). Já os metabólitos secundários reduzem a quantidade de nutrientes e produtos fotossintéticos disponíveis que poderiam ser utilizados para promover o crescimento e a reprodução das plantas (Simms & Rausher 1987). Mas, estes custos são presumivelmente recompensados pelos benefícios associados com o baixo nível de herbivoria (Zangerl & Bazzaz 1992, Simms 1992). No entanto, quando os recursos são limitados é difícil para a planta manter ambas as estratégias de defesas, devido ao alto custo de produção e manutenção, sendo assim, é esperado que ocorram *trade-offs* de defesas química e biótica (Rehr et al. 1973, Simms 1992). Por exemplo, plantas com defesa biótica efetiva reduzem seu investimento em defesa abiótica (química), já que investir em ambas as estratégias de defesas seria um gasto metabólico desnecessário para a planta (Janzen 1966, Gershenson 1994).

A hipótese de redução de defesa química em plantas mirmecófitas foi originalmente proposta por Janzen (1966), que sugeriu que a defesa química tende a ser perdida em mirmecófitas, provavelmente devido ao alto custo de manutenção de ambas, defesas biótica e química. O primeiro estudo experimental sobre defesa química em plantas mirmecófitas foi realizado por Rehr (1973) que observou um forte efeito negativo sobre o crescimento de lagartas que se alimentavam de uma dieta contendo estratos de folhas da espécie não mirmecófita *Acacia farnesiana*, comparado com lagartas que se alimentavam de estratos de folhas da mirmecófita *Acacia cornigera*.

Muitos trabalhos têm relatado um baixo investimento em defesa química em mirmecófitas (Seigler & Ebinger 1987, Dyer et al. 2001, Heil & McKey 2003). Em *Acacias* neotropicais Heil et al. (2000) observaram que espécies mirmecófitas exibem uma redução na produção de quitinases comparado com *Acacia farnesiana* (não mirmecófita) e outras três espécies não mirmecófitas da família Fabaceae. De acordo com estes autores, provavelmente a produção de quitinases é reduzida em espécies de plantas mirmecófitas devido à eficiente defesa fornecida pelas formigas e também para evitar gastos supérfluos de defesas redundantes. Outro caso de *trade-offs* entre defesa química e biótica foi demonstrado por Eck et al. (2001), que observaram que plantas não mirmecófitas do gênero *Macaranga* apresentam um maior conteúdo de tanino do que as mirmecófitas do mesmo táxon. Além disso, também observaram uma tendência para um baixo conteúdo de tanino em mirmecófitas que são precocemente colonizadas quando comparado com espécies que são tardivamente colonizadas.

Apesar das plantas mirmecófitas dependerem em maior ou menor grau das formigas como forma de defesa contra os herbívoros, alguns estudos mostram que existem locais onde estas plantas podem ocorrer sem a presença de seus parceiros mutualistas (Wheeler 1942, Janzen 1973, Putz & Holbrook 1988, Michelangeli 2005). Há, por exemplo, populações de *Cecropia pelata* L. em ilhas, onde as formigas do gênero *Azteca* não ocorrem (Putz & Holbrook 1988), populações de *Cecropia* em altas altitudes onde *Azteca* também não ocorre (Janzen 1973) e de *Tococa guianensis* que ocorrem próximo ao limite sul de sua distribuição geográfica onde os seus habitantes obrigatórios, *Allomerus octoarticulatus* e *Azteca* sp. também não ocorrem (Moraes & Vasconcelos 2009).

Neste estudo, duas hipóteses, não mutuamente exclusivas, foram propostas para explicar a persistência de populações de mirmecófitas em locais onde seus parceiros mutualistas não ocorrem. A primeira sugere que as plantas podem persistir nestes locais em função de uma baixa densidade de herbívoros, enquanto que a segunda sugere que na ausência de defesas bióticas

(formigas mutualistas) as mirmecófitas investem em outros tipos de defesas (Stapley 1998, Heil et al. 2002, Dicke & Baldwin 2010). Desta forma, para testar estas hipóteses foi feito um experimento de transplante recíproco com plântulas da mirmecófita *Tococa guianensis* (Melastomataceae) para locais com e sem o parceiro mutualista. Através deste transplante foi possível avaliar se plantas originadas de diferentes populações e transplantadas para um mesmo local (onde eram mantidas sem formigas) sofreriam diferentes níveis de danos por herbívoros e/ou se haveria diferenças entre os locais independente da população de origem da planta.

Caso a primeira hipótese esteja correta, espera-se que plantas originadas de populações sem formigas mutualistas, por investirem mais em defesas não bióticas apresentem menor taxa de dano, enquanto que se a segunda hipótese estiver correta, espera-se que plantas transplantadas para locais onde as formigas mutualistas não ocorrem, elas também sofreram menos dano, já que nestes locais a densidade de herbívoros deve ser menor. Como teste adicional à primeira hipótese (investimento diferencial em defesas não bióticas) foi comparado a concentração de taninos e o investimento em defesa física (dureza foliar) dos indivíduos adultos e de plântulas das diferentes populações e como teste da segunda hipótese foi comparado a taxa de herbivoria de indivíduos adultos de diferentes populações após a remoção experimental das formigas associadas (Capítulo 1) com a taxa de herbivoria das plântulas transplantadas nos diferentes locais. Por fim, também foi avaliado se traços da planta relacionados ao mutualismo (especificamente o tamanho das dománcias) são alterados em função da ausência do parceiro mutualista. Caso haja um custo elevado para a planta produzir e manter estas estruturas então espera-se que na ausência das formigas mutualistas houvesse um menor investimento na manutenção dessas estruturas.

2. Material e métodos

2.1. Desenho experimental e tratamentos

2.1.1. Efeito da herbivoria

Para determinar se a persistência de *Tococa guianensis* em algumas áreas de Cerrado pode ser favorecida pela menor pressão de herbívoros (efeito local) ou a um maior investimento em defesa química (adaptação local) foi feito um experimento de transplante recíproco. Este tipo de experimento em populações naturais permite uma avaliação mais realista dos efeitos locais e genéticos sobre o desempenho da planta, além de considerar fatores bióticos que podem ser importantes para o desenvolvimento de adaptações locais (Antonovics & Primack 1982).

Todos os indivíduos utilizados no experimento de transplante apresentavam tamanho de 15 a 30 cm e foram coletados em Aragarças - ARA, Cachoeira da Fumaça – CACHO e em Uberlândia – UDI (Figura 1 A). De agora em diante estes indivíduos serão chamados apenas de plântulas. Para tentar minimizar os efeitos da variação ambiental, assim como possíveis influências bióticas, as plântulas foram plantadas em copos plásticos de 500 mL e mantidas em casa de vegetação com as mesmas condições de umidade e temperatura durante um período de quatro meses (Figura 1 B). No total foram utilizadas 180 plântulas, 60 de cada população. Vinte plântulas de cada população foram plantadas em 20 pontos distribuídos ao acaso em Aragarças, Cachoeira da Fumaça e Uberlândia, onde *T. guianensis* ocorre naturalmente. Cada ponto era formado por um grupo de três plântulas uma de cada origem (Figura 1 C). O transplante foi feito em julho e agosto de 2012 nas três localidades e as plântulas que não sobreviveram até uma semana após o transplante foram substituídas e a mortalidade nesse estágio foi atribuída ao estresse do transplante (Abdala-Roberts & Marquis 2007; Eichhorn & Compton 2008).

Antes do transplante, o número de folhas e a porcentagem de danos das plântulas também foram registrados. O experimento teve duração de seis meses e a cada dois meses foram quantificados os danos (porcentagem de herbivoria) em todas as folhas marcadas no início do

experimento (Figura 1 D). Para evitar que as plântulas fossem colonizadas, as dománcias foram lacradas com tufos de algodão. A porcentagem de dano foi calculada da seguinte forma: (área danificada/área foliar total) *100. A área danificada de cada folha foi determinada utilizando-se uma folha de plástico transparente contendo uma grade retangular de pontos com espaçamento de um centímetro entre os pontos (Figura 1 F, Capítulo 1).

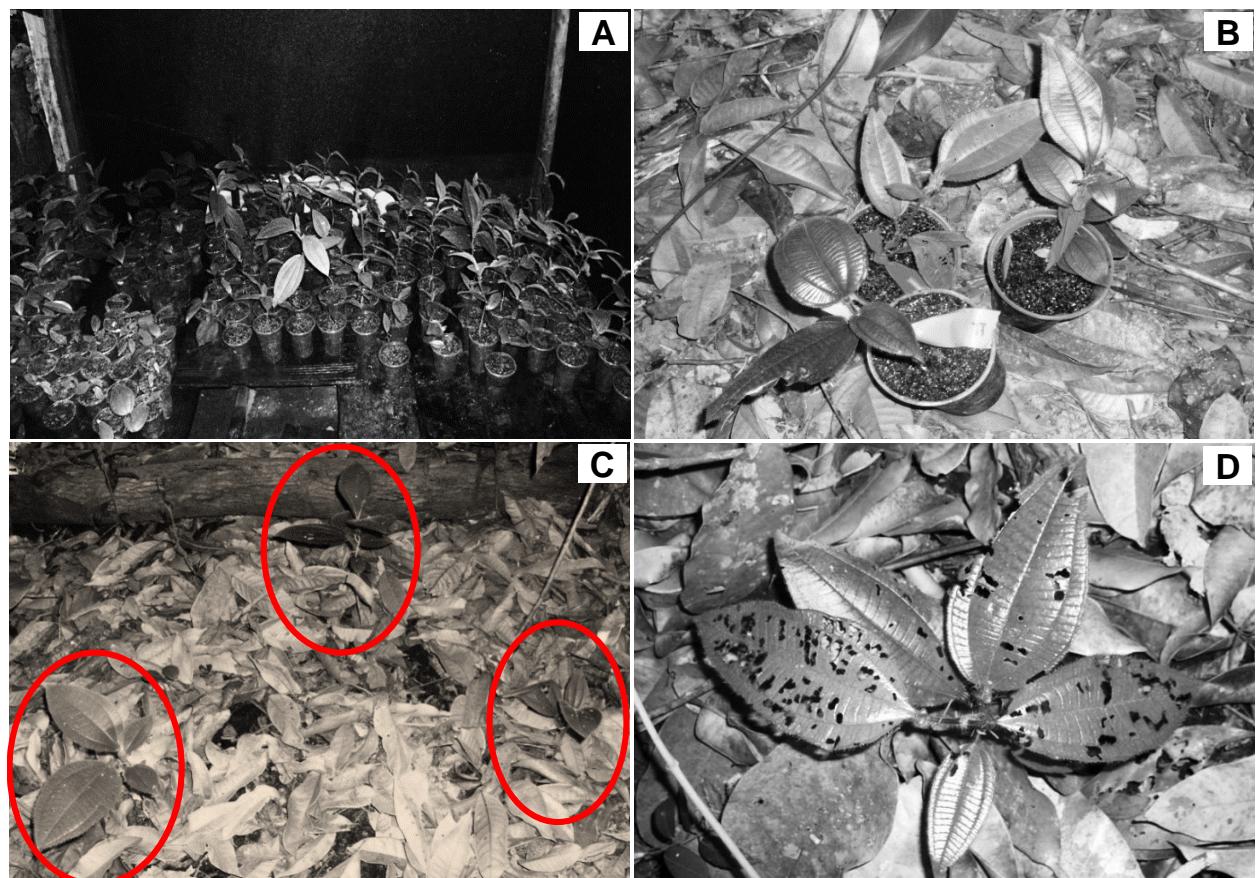


Figura 1. (A) Produção de plântulas de *T. guianensis* na casa de vegetação; (B) Grupo de plântulas de diferentes origens (Aragarças, Cachoeira e Uberlândia), (C) Ponto experimental com as plântulas transplantadas no campo e (D) Plântulas com as folhas danificadas marcadas para a quantificação da herbivoria.

Com este experimento foi possível separar os efeitos do local (Aragarças, Cachoeira da Fumaça e Uberlândia) e também da adaptação local (características geneticamente fixadas para um determinado fenótipo em resposta as condições locais) da planta sobre a taxa de herbivoria

em *T. guianensis*. Caso a herbivoria, independente da origem das plântulas, difira entre os locais para onde foram transplantadas, então teremos evidência do efeito do local, ao passo que, se a herbivoria for menor em plântulas de origem Uberlândia, independentemente do local onde forem plantadas, então teremos evidência de que houve uma seleção em favor de um maior investimento em defesas constitutivas nos locais onde o parceiro mutualista obrigatório não ocorre, o que ajudaria a explicar porque as plantas de *T. guianensis* conseguem permanecer em Uberlândia na ausência do parceiro mutualista.

2.2.2. Efeito da defesa química

Para avaliar se existe diferença no investimento em defesa química (concentração de tanino foliar) entre os indivíduos adultos das populações de Aragarças, Cachoeira da Fumaça e Uberlândia foram coletadas 20 folhas jovens expandidas e sem danos (até o terceiro par de folhas do ramo) de 15 indivíduos de cada população. Já para avaliar a concentração de tanino foliar dos indivíduos na fase de plântulas foram selecionadas 15 plântulas (com aproximadamente 15 cm) de cada população e todas as suas folhas foram coletadas para análise. Além disso, também foi observado se as plântulas já estavam colonizadas, ou seja, se apresentavam rainhas e operárias. Todas as folhas dos indivíduos adultos e das plântulas foram levadas para o laboratório onde foram secas em estufa a uma temperatura de 50 °C durante um período de 72 horas e moídas para a obtenção dos extratos. O método utilizado foi o proposto por Hagerman & Butler (1989), o qual se baseia na propriedade dos taninos de precipitar em solução aquosa na presença de proteína, que pode ser medida em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 510 nm. Para esta técnica, utilizou-se 2 mL da solução de 1mg/mL de albumina sérica bovina e 1 mL do extrato das folhas em solução tampão de hidróxido de sódio 0,1M (pH 4,9) contendo 11,4 mL de ácido acético glacial e 9,86 g de cloreto de sódio para precipitar os taninos em solução. Além disso, também foi utilizado a solução detergente de SDS/Trietanolamina para separar os taninos

da proteína no precipitado e solução de FeCl_3 , a qual foi utilizada como solução cromogênica. Todas as análises químicas foram feitas no Laboratório de Fisiologia Vegetal (LAFIVE) da Universidade Federal de Uberlândia.

2.2.3. Efeito de defesa física (dureza foliar)

Para estimar a dureza foliar das populações foram coletadas aleatoriamente três folhas novas e três folhas maduras de 15 indivíduos. A dureza foi estimada através da esclerofilia foliar. A esclerofilia foi indiretamente medida através do índice de esclerofilia (IE), onde IE é igual ao peso foliar específico (PFE) dividido pela área foliar (AF) (Witkowski & Lamont 1991).

2.2.4. Investimento em defesa biótica (domácia)

Em associações mutualísticas entre formigas e plantas mirmecófitas, o espaço para nidificação é um recurso essencial e limitado já que existe uma relação positiva entre o tamanho da domácia e a quantidade de formigas que nela vive (Fonseca 1993, 1999). Então, para avaliar se o investimento em defesa biótica (tamanho das domácias) difere entre os locais foram selecionadas três folhas maduras de 15 indivíduos de cada população e medido o comprimento e a largura máxima da folha e das domácias, para estimar tanto a área total da folha quanto da domácia. A razão entre a área da domácia pela área da folha representa um índice do investimento em defesa biótica contra herbívoros em função do investimento em área foliar por parte desses indivíduos.

3. Análise de dados

Para avaliar o efeito do local e do tempo sobre a herbivoria de *T. guianensis* foi usada análise de variância de medidas repetidas (ANOVA). Os dados de herbivoria (proporção da área

foliar danificada) foram transformados antes da análise, usando-se a transformação Logit, a qual é especialmente indicada para dados de proporção (Warton & Hui 2011).

A ANOVA fatorial também foi usada para avaliar se o investimento em defesa abiótica (tanino e dureza foliar) diferem entre as populações de *T. guianensis* e com a idade da planta. Para comparações múltiplas das médias foi usado o teste *a posteriori* de Tukey.

Para avaliar se traços da planta relacionados ao mutualismo (tamanho da domácia) são alterados em função da ausência da formiga obrigatória foi usada análise de covariância (ANCOVA). A área da domácia foi incluída como variável dependente, o local como fator e área da folha como covariável.

4. Resultados

4.1. Efeito da herbivoria

A herbivoria foliar em plântulas de *T. guianensis* diferiu entre os locais, mas não houve efeito da origem das plântulas e nem uma interação entre local e origem (Tabela 1). Além disso, foi observado um aumento da herbivoria com o passar do tempo em todos os locais e uma interação entre o tempo e o local (Tabela 1). As plântulas em Uberlândia tiveram menor taxa de herbivoria do que as plântulas em Aragarças ao longo de todo o período do experimento. As plântulas em Cachoeira também apresentaram menor herbivoria do que as plântulas em Aragarças, porém este efeito só foi detectado seis meses após transplante (Figura 2). A taxa de herbivoria dos indivíduos adultos seguiu o mesmo padrão das plântulas. Depois de seis meses de observação, na ausência da formiga, Aragarças foi o local que apresentou a maior taxa de herbivoria (13%), seguido de Uberlândia (4%) e Cachoeira (2%) (ver figura 3, Capítulo 1).

Tabela 1. Resultados da ANOVA de medidas repetidas da taxa de herbivoria foliar de plântulas de *T. guianensis* de diferentes origens (Aragarças, Cachoeira da Fumaça e Uberlândia) transplantadas em locais com (Aragarças e Cachoeira da Fumaça) e sem (Uberlândia) a presença da formiga obrigatória.

Tratamentos	Soma dos quadrados	gl	Quadrado médio	F	p
Local	71,274	2	35,617	7,379	0,001
Origem	5,647	2	2,823	0,585	0,559
Local*Origem	9,908	4	2,477	0,513	0,726
Tempo	39,831	2	19,915	31,051	< 0,0001
Tempo*Local	20,394	4	5,098	7,949	< 0,0001
Tempo*Origem	3,157	4	0,789	1,231	0,298
Tempo*Local*Origem	6,028	8	0,753	1,175	0,314

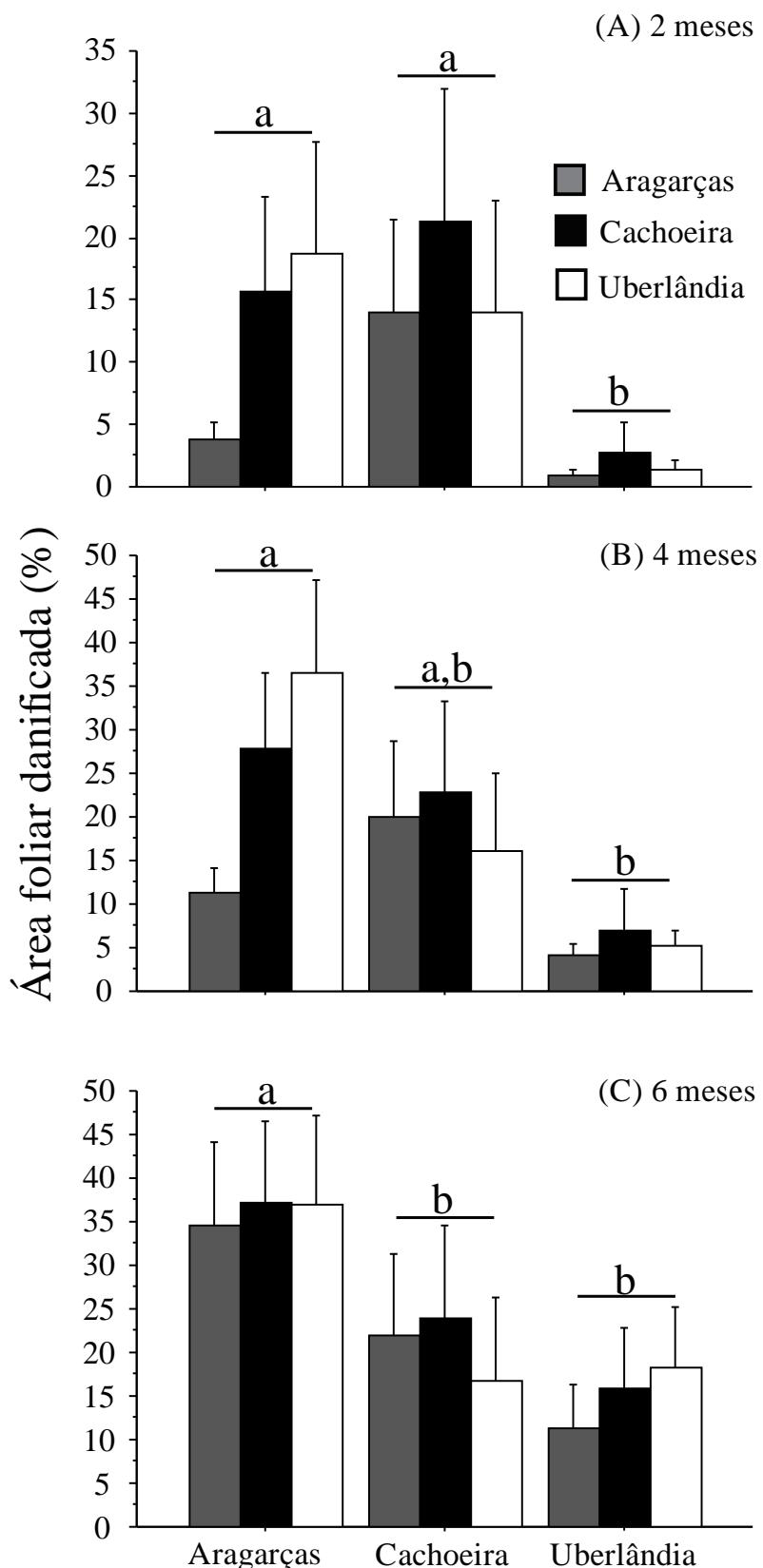


Figura 2. Variação temporal da taxa de herbivoria das plântulas de diferentes origens (ARA, CACHO e UDI) em locais com (Aragarças e Cachoeira da Fumaça) e sem (Uberlândia) a presença de formigas obrigatórias. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas ($p \leq 0,05$) entre os locais e linhas verticais o erro padrão.

4.2. Efeito da defesa química

A porcentagem média de tanino presente nas folhas de *T. guianensis* diferiu entre os locais e a idade da planta. Além disso, também foi observada uma interação entre a idade da planta e o local (Tabela 2, Figura 3). Na fase adulta, os indivíduos da população de Uberlândia apresentaram maior conteúdo de tanino foliar ($8,0 \pm 2,19$) comparado com os de Aragarças ($4,8 \pm 2,57$) e Cachoeira da Fumaça ($3,5 \pm 2,32$). Já na fase de plântulas, Uberlândia e Cachoeira apresentaram os maiores conteúdos de tanino foliar ($5,3 \pm 2,82$ e $4,0 \pm 3,2$, respectivamente), comparados com Aragarças ($2,28 \pm 1,51$) (Figura 3).

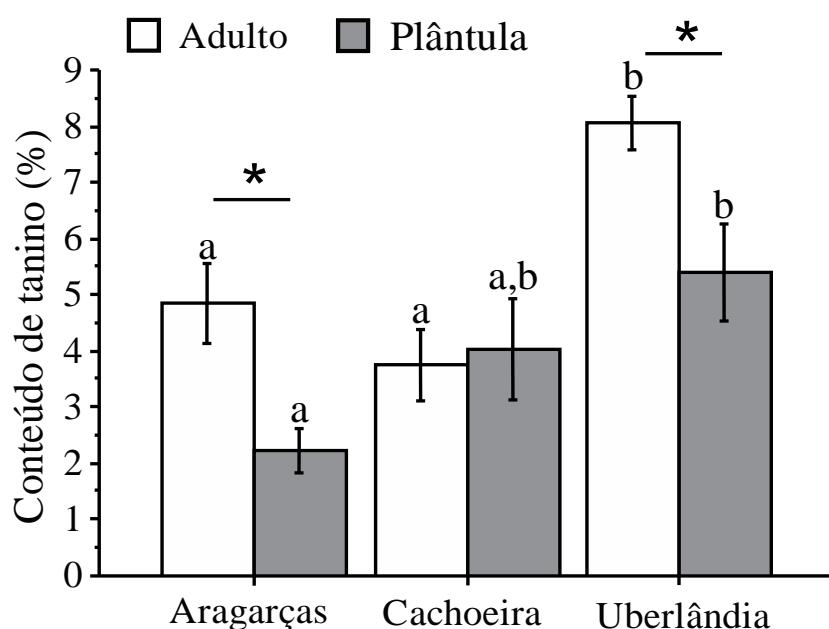


Figura 3. Conteúdos de tanino foliar das populações de *T. guianensis* de diferentes idades (adultos e plântulas) que ocorrem em associação com o parceiro mutualístico obrigatório em Aragarças e Cachoeira da Fumaça e sem em Uberlândia. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre a idade e linhas verticais o erro padrão. * indicam diferenças significativas do conteúdo de tanino entre plantas adultas e as plântulas.

Tabela 2. Resultados da ANOVA fatorial da porcentagem média de tanino foliar de indivíduos adultos e de plântulas de *T. guianensis* de locais com (Aragarças e Cachoeira da Fumaça) e sem (Uberlândia) a formiga obrigatória.

Tratamentos	Soma dos quadrados	gl	Quadrado médio	F	p
Local	54,798	2	77,399	12,846	< 0,0001
Idade	47,148	1	47,148	7,825	0,007
Local*Idade	41,902	2	20,951	3,477	0,036

4.3. Efeito da defesa física (dureza foliar)

A esclerofilia foliar também diferiu entre os locais tanto para os indivíduos adultos ($F_{2,42} = 10,059$; $p \leq 0,0001$) quanto para as plântulas ($F_{2,40} = 5,426$; $p = 0,008$). Além disso, foi observada uma diferença entre as idades. Na fase adulta a população de Cachoeira apresentou o maior índice ($0,0060 \pm 0,002$ g/ cm²) do que Aragarças ($0,0044 \pm 0,001$ g/ cm²) e Uberlândia ($0,0037 \pm 0,00061$ g/ cm²). Na fase de plântulas Cachoeira também apresentou maior índice ($0,0042 \pm 0,0013$ g/ cm²), seguido de Aragarças ($0,0035 \pm 0,0005$ g/ cm²) e Uberlândia ($0,0031 \pm 0,0005$ g/ cm²) (Figura 4).

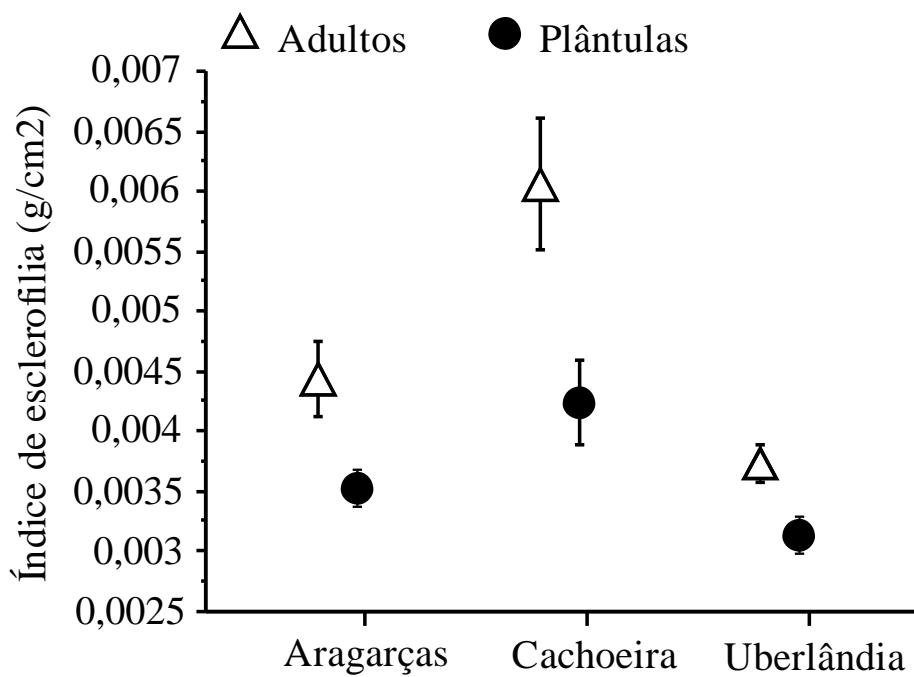


Figura 4. Índice de esclerofilia de indivíduos adultos e de plântulas de *T. guianensis* das populações de Aragarças, Cachoeira da Fumaça e Uberlândia. Linhas verticais representam o erro padrão.

4.4. Efeito da defesa biótica (tamanho das domácia)

O tamanho das domácia também diferiu entre as populações ($F_{2,129} = 10,375$; $p \leq 0,0001$) e foi encontrada uma interação entre a área foliar e o local ($F_{2,129} = 18,071$; $p \leq 0,0001$). A população de Uberlândia apresentou a menor área média das domácia ($10,6 \text{ mm}^2$) e o seu tamanho se manteve independente da área foliar. Ao passo que as populações de Aragarças e Cachoeira, além de apresentarem as maiores áreas média das domácia (136 mm^2 e 107 mm^2 , respectivamente), este tamanho aumentou com a área foliar (Figura 5). Também foi observada uma diferença significativa no tamanho das domácia entre as populações de Aragarças e Cachoeira da Fumaça ($F_{1,87} = 10,252$; $p = 0,002$), sendo que Aragarças apresentou domácia maiores do que a Cachoeira da Fumaça.

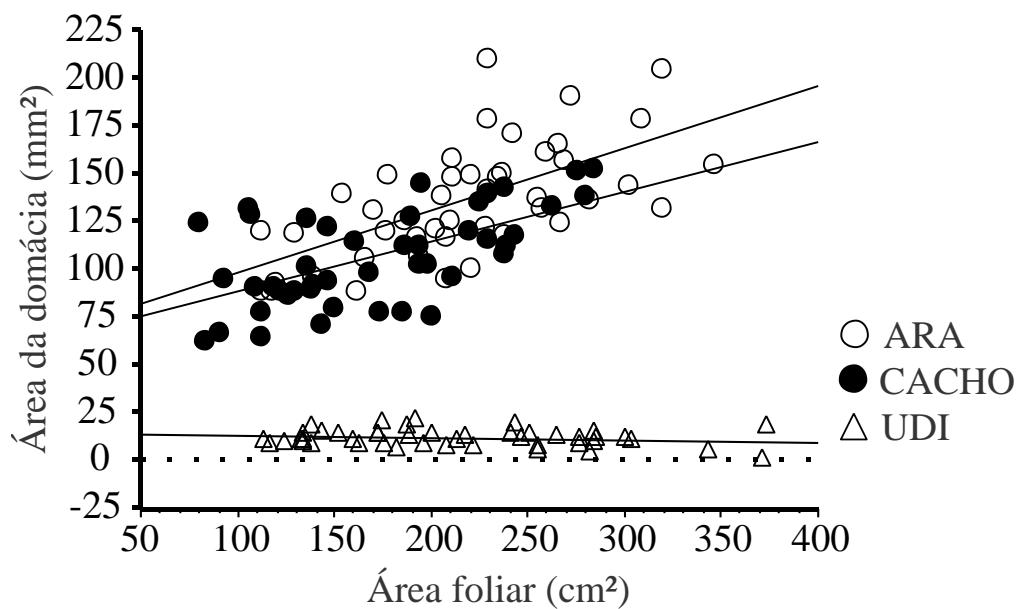


Figura 5. Relação entre a área da domácia e a área foliar de *T. guianensis* com a presença (Aragarças e Cachoeira da Fumaça) e sem a presença do parceiro mutualístico obrigatório (Uberlândia).

5. Discussão

O experimento de transplante recíproco mostrou que há uma variação na taxa de herbivoria entre os locais. Todas as plântulas, independente da origem, em média, sofreram danos similares em todos os locais. Além disso, também foi observado um aumento da herbivoria com o passar do tempo em todos os locais. Aragarças, além de ser o local em que as plântulas foram mais danificadas, também apresentou o maior aumento da herbivoria com o passar do tempo (interação entre tempo e local). Já Uberlândia foi o local que apresentou a menor taxa de herbivoria ao longo dos seis meses de estudo. Assim como as plântulas, a população adulta de *T. guianensis* presente em Uberlândia (que ocorre sem a formiga associada) apresentou menor taxa de herbivoria do que a população de Aragarças, com a remoção experimental da formiga obrigatória (Capítulo 1), sugerindo que a baixa pressão de herbívoros pode ser um fator importante para explicar a ocorrência de populações de *T. guianensis* em locais onde as formigas obrigatórias não ocorrem.

Como comentado anteriormente, todas as plântulas de diferentes origens, inclusive as de Uberlândia, foram igualmente danificadas em todos os locais, apesar das plântulas de Uberlândia apresentar maior conteúdo de tanino do que as plântulas dos demais locais (Figura 5). Este resultado sugere que na fase de plântulas somente o tanino não seja suficiente para conter a herbivoria e que a planta necessite de outros mecanismos de defesa, como no caso dos tricomas, conforme observado na população adulta de Uberlândia que, além da defesa química também conta com a defesa física (tricomas). Além disso, a maioria das plântulas transplantadas em Aragarças foram mais atacadas por saúvas e os tricomas não representam uma barreira para estas formigas, já que elas cortam as folhas na base do pecíolo (Obs. pessoal).

Estes resultados corroboram com a primeira hipótese proposta, de que a população de *T. guianensis* em Uberlândia pode persistir devido à baixa herbivoria do local. Putz & Holbrook (1988) observaram que a ocorrência de plantas mirmecófitas do gênero *Cecropia* que ocorrem na Malásia sem a formiga associada *Azteca* também é favorecida pela baixa herbivoria. De acordo com Janzen (1973) em locais isolados que apresentam condições adversas (por exemplo, alta altitude, temperaturas) a densidade de herbívoros é baixa, o que pode possibilitar a existência de mirmecófitas sem as suas formigas associadas.

No entanto, foi observado que a população adulta de *T. guianensis* que ocorre sem a presença da formiga obrigatória (Uberlândia) apresentou maior conteúdo de tanino foliar do que as populações que ocorrem com a formiga associada (Aragarças e Cachoeira). Este maior investimento em defesa química em Uberlândia pode explicar a menor taxa de herbivoria encontrada nesta população, o que sugere que em decorrência da ausência da formiga obrigatória a planta pode aumentar o investimento em defesa química. Este resultado parece estar de acordo com o modelo proposto por (McKey 1984) de que quando há um baixo investimento em defesa biótica, há um aumento no investimento em defesa química, e vice-versa. Muitos estudos têm demonstrado a ocorrência de *trade-offs* em defesas biótica e abiótica em mirmecófitas (Seigler &

Ebinger 1987; Heil et al. 1999, 2000; Dyer et al. 2001). No entanto, a maioria destes estudos fez comparações do investimento em defesa abiótica (química) e biótica em plantas mirmecófitas e não mirmecófitas do mesmo gênero. Um resultado similar a este estudo foi o de Eck et al. (2001) que demonstraram que plantas mirmecófitas do gênero *Macaranga* que são tardivamente colonizadas por formigas obrigatórias tendem a apresentar maior concentração de tanino do que as mirmecófitas que são precocemente colonizadas, sugerindo que na ausência da formiga as plantas podem aumentar o investimento em defesa química.

O conteúdo de tanino também foi maior nas plântulas de Uberlândia do que nas plântulas de Aragarças. Provavelmente, estas plântulas apresentaram um maior conteúdo de tanino, devido à ausência da formiga obrigatória. Ao passo que as plântulas de Aragarças apresentaram um baixo conteúdo de tanino. O menor conteúdo de tanino encontrado nesta população pode ser porque a maioria destas plântulas já apresentavam colônias de *A. octoarticulatus* (Obs. pessoal) quando coletadas, sugerindo que a planta por contar com a defesa biótica fornecida pela formiga obrigatória, reduz o investimento em defesa química, já que investir em ambos os mecanismos de defesa seria um gasto metabólico desnecessário para a planta (Janzen 1966; Gershenson 1994). Além disso, também foi observado que os indivíduos na fase de plântulas apresentaram menor conteúdo de tanino do que os indivíduos na fase adulta. O menor conteúdo de tanino encontrado nestas plântulas pode estar relacionado com mudanças ontogenéticas das plantas ou porque as plantas só passam a investir em defesa química, a partir do momento em que são induzidas, provavelmente para evitar gastos desnecessários.

Em relação à dureza, tanto os indivíduos adultos quanto os indivíduos na fase de plântulas da população de Cachoeira da fumaça apresentaram maiores índices de esclerofilia do que as demais populações. Neste caso, provavelmente o maior peso foliar encontrado nesta população parece não ser uma resposta induzida da herbivoria, já que este local apresentou menor taxa de herbivoria, e sim uma resposta da planta ao próprio ambiente (a beira de um

riacho, com solo mais arenoso). Vários estudos mostram que plantas que crescem em solos arenosos, com baixa retenção de água e de nutrientes, possuem folhas com características xeromórficas (caules carnudos, folhas mais duras ou coreáceas, etc), mesmo que pertençam a ambientes de florestas tropicais (Turner et al. 1995, Medina et al. 1990, Cao 2000). Essas características são consideradas vantajosas para as plantas, nessas áreas, pois podem reduzir a perda de água (Boeger & Wisniewski 2003).

A população de *T. guianensis* de Uberlândia, devido à ausência da formiga obrigatoria e a baixa herbivoria do local, parece alterar traços relacionados ao mutualismo, pois o tamanho das domácias neste local, além de ser bem menor do que os locais em que a planta ocorre com a formiga associada não teve relação com a área foliar. Frederickson et al. (2012) observaram que *Cordia nodosa* em resposta da herbivoria aumenta o volume das domácias, independente da presença das formigas, já que domácias maiores podem abrigar mais operárias e garantir proteção contra os insetos herbívoros. Provavelmente, o investimento em defesa biótica é um recurso dispendioso para a planta e, neste caso, seria um gasto desnecessário, já que a planta não além de não se beneficiar da presença da formiga há uma baixa taxa de herbivoria neste local. Vários estudos têm reportado alterações nos traços relacionados ao mutualismo em plantas onde a formiga associada não está presente. Janzen (1973) observou que espécies de *Cecropia* que não são habitadas por formigas não produzem corpúsculos alimentares, já que a planta não conta com a defesa biótica fornecida pelas formigas. Keeler (1985) também observou que o número de plantas com nectários extraflorais foi significativamente menor em altas elevações onde as formigas estavam ausentes. Eck et al. (2001) observaram que a mirmecófita *Macaranga pruinosa* que é tardivamente colonizada pela formiga associada também reduz a produção de alimento para as formigas (corpúsculos alimentares) em comparação com as outras mirmecófitas que são precocemente colonizadas, já que a planta não se beneficia da proteção fornecida pelas formigas nesta fase.

Por outro lado, as populações de *T. guianensis* que ocorrem com *A. octoarticulatus* em Aragarças e Cachoeira da Fumaça apresentaram maiores domárias do que a população de Uberlândia. Provavelmente o maior investimento em domárias nestes locais é para atrair as formigas, já que domárias maiores podem abrigar um maior número de formigas e o espaço para a nidificação é um recurso limitado (Fonseca 1993, 1999). Além disso, o investimento em domácia pode fornecer uma vantagem seletiva para as plantas por facilitar a defesa biótica através da presença da formiga (Gaume *et al.* 2005). Portanto, *T. guianensis* parece alterar o tamanho das domárias onde a formiga obrigatória não ocorre, sugerindo que o investimento em defesa biótica vai depender se a planta é beneficiada ou não pela proteção fornecida pela formiga.

Os resultados encontrados neste estudo sugerem que *T. guianensis* conta com mais de uma estratégia de defesa contra os insetos herbívoros e dependendo da condição (presença ou ausência da formiga, maior ou menor herbivoria) elas podem induzir o investimento em outros mecanismos de defesa. Frederickson *et al.* (2012) observou que *Cordia nodosa* também utiliza defesa química como uma segurança contra variações no nível de proteção fornecido pelas formigas. Portanto, esta plasticidade em defesas pode ajudar a explicar a permanência de populações de *T. guianensis* em locais onde a planta ocorre sem a presença da formiga mutualista.

6. Referências bibliográficas

- ABDALA-ROBERTS, L., AND R.J. MARQUIS, 2007. Test of local adaptation to biotic interactions and soil abiotic conditions in the ant-tended Chamaecrista fasciculata (Fabaceae). *Oecologia* 154: p.315–326.
- ANTONOVICS, J. AND PRIMACK, R., B., 1982. Experimental ecological genetics in *Plantago*. VI. The demography of seedling transplants of *P. lanceolata*. *J. Ecol.* 70: p.55-75.
- BEATTIE, A.J., 1985. The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms, Cambridge: Cambridge University Press.

- BENTLEY, S., AND J. WHITTAKER, 1979. Effects of grazing by a chrysomelid beetle, *Gastrophysa viridula*, on competition between *Rumex obtusifolius* and *Rumex crispus*. *J. Ecol.* 67: p.79–90.
- BOEGER, M., AND C. WISNIEWSKI, 2003. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. *Rev. Bras. Botânica* 26: p.61–72.
- BROWN, V.K., A.C. GANGE, I.M. EVANS, AND A.L. STORR, 1987. The effect of insect herbivory on the growth and reproduction of two annual vicia species at different stages in plant succession. *J. Ecol.* 75: p.1173–1189.
- CAO, K., 2000. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. *Can. J. Bot.* 78: p.1245–1253.
- CRAWLEY, M., 1989. Insect herbivores and plant population dynamics. *Annu. Rev. Entomol.* 34: p.531–564.
- DE BRUXELLES, G.L., AND M.R. ROBERTS, 2001. Signals regulating multiple responses to wounding and herbivores. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 20: p.487–521.
- DICKE, M., AND I.T. BALDWIN, 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the “cry for help.” *Trends Plant Sci.* 15: p.167–175.
- DYER, L.A., C.D. DODSON, J. BEIHOFFER, AND D.K. LETOURNEAU, 2001. Trade-offs in antiherbivore defenses in *Piper cenocladum*: Ant mutualists versus plant secondary metabolites. *J. Chem. Ecol.* 27: p.581–592.
- ECK, G., B. FIALA, K.E. LINSENMAIR, R. BIN HASHIM, AND P. PROKSCH, 2001. Trade-off between chemical and biotic antiherbivore defense in the south east Asian plant genus *Macaranga*. *J. Chem. Ecol.* 27: p.1979–1996.
- EHRLICH, P. AND PETER H., R., 1964. Butterflies and Plants : A study in coevolution. *Evolution* 18: p.586–608.
- EICHHORN, M., P. AND COMPTON, S., G., 2008. The influence of soil type on rain forest insect herbivore communities. *Biotropica* 40, 704-713.
- FONSECA, C., 1993. Nesting space limits colony size of the plant-ant *Pseudomyrmex concolor*. *Oikos* 67: p.473–482.
- FONSECA, C.R., 1999. Amazonian ant-plant interactions and the nesting space limitation hypothesis. *J. Trop. Ecol.* 15: p.807–825.
- FREDERICKSON, M., A. RAVENSCRAFT, L. M. A. HERNANDEZ, G. BOOTH,V. ASTUDILLO And G. A. MILLER, 2012. What happens when ants fail at plant defence? *Cordia nodosa* dynamically adjusts its investment in both direct and indirect resistance traits in response to herbivore damage. *Journal of Ecology* doi: 10.1111/1365-2745.12034.
- GAUME, L., M. ZACHARIAS, V. GROSBOIS, AND R.M. BORGES, 2005. The fitness consequences of bearing domatia and having the right ant partner: experiments with protective and non-protective ants in a semi-myrmecophyte. *Oecologia* 145: p.76–86.
- GERSHENZON, J., 1994. The cost of plant chemical defense against herbivory: A biochemical per- spective, pp. 105–173, In: E. Bernays (ed.). *Insect–Plant Interactions*, Vol. V. CRC Press, Boca Raton, Flordia.
- HAGERMAN, A.E., AND L.G. BUTLER, 1989. Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. *J. Chem. Ecol.* 15: p.1795–1810.

- HAMILTON, J., AND A. ZANGERL, 2001. The carbon–nutrient balance hypothesis: its rise and fall. *Ecol.* 4: p.86–95.
- HEIL, M., B. FIALA, K.E. LINSENMAIR, G. ZOTZ, P. MENKE, AND U. MASCHWITZ, 1997. Food body production in *Macaranga triloba* (Euphorbiaceae): a plant investment in anti-herbivore defence via symbiotic ant partners. *J. Ecol.* 85: p.847–861.
- HEIL, M., FIALA, B., LINSENMAIR, K. E., AND BOLLER, T., 1999. Reduced chitinase activities in ant plants of the genus *Macaranga*. *Naturwissenschaften* 86:146–149.
- HEIL, M., STAHELLIN, C., MCKEY, D., 2000. Low chitinase activity in *Acacia* myrmecophytes: a potential trade-offs between biotic and chemical defences? *Naturwissenschaften* 87: p.555–558.
- HEIL, M., A. HILPERT, B. FIALA, R. BIN HASHIM, E. STROHM, G. ZOTZ, AND K.E. LINSENMAIR, 2002. Nutrient allocation of *Macaranga triloba* ant plants to growth, photosynthesis and indirect defence. *Funct. Ecol.* 16: p.475–483.
- HEIL, M., AND D. MCKEY, 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary researche. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34: p.425–553.
- HÖLLODOBLER, B., AND WILSON, E., O. 1990. The ants. Springer-Verlag, Berlin, p 732.
- IVEY, C.T., D.E. CARR, M.D. EUBANKS, 2009. Genetic variation and constraints on the evolution of defense against spittlebug (*Philaenus spumarius*) herbivory in *Mimulus guttatus*. *Heredity*102: p.303–311.
- JANZEN, D., 1966. Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution (N. Y.)*. 20: p.249–275.
- JANZEN, D., 1967. Interaction of the bull's horn acacia (*Acacia cornigerai* L.) with an ant inhabitant (*Pseudomyrmex ferruginea* F. Smith) in eastern Mexico. *Univ. Kans. Sci. Bull.* 47: p.315-558.
- JANZEN, D.H., 1973. Dissolution of mutualism between *Cecropia* and its *Azteca* ants. *Biotropica* 5: p.15–28.
- KARBAN, R., I.T. BALDWIN, K.J. BAXTER, G. LAUE, AND G.W. FELTON, 2000. Communication between plants: induced resistance in wild tobacco plants following clipping of neighboring sagebrush. *Oecologia* 125: p.66–71.
- KARBAN, R., 2001. Communication between sagebrush and wild tobacco in the field. *Biochem. Syst. Ecol.* 29: p.995–1005.
- KEELER, K., H., 1985. Extrafloral nectaries on plants in communities without ants: Hawaii. *Oikos* 44: p.407–414.
- KEINÄNEN, M., R. JULKUNEN-TIITTO, P. MUTIKAINEN, M. WALLS, J. OVASKA, AND E. VAPAAVUORI, 1999. Trade-Offs in phenolic metabolism of silver birch: Effects of Fertilization, Defoliation, and Genotype. *Ecology* 80: p.1970–1986.
- MARQUIS, R.J., 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science* 226: p.537–9.
- MARQUIS, R.J., 1992. A bite is a bite is a bite? Constraints on response to folivory in *Piper arieianum* (Piperaceae). *Ecology* 73: p.143–152.
- MASCHINSKI, J., AND T.G. WHITHAM, 1989. The continuum of plant responses to herbivory: the influence of plant association, nutrient availability, and timing. *Am. Nat.* 134: p.1–19.

- MASSAD, T.J., AND L. A. DYER, 2010. A meta-analysis of the effects of global environmental change on plant-herbivore interactions. *Arthropod. Plant. Interact.* 4: p.181–188.
- MASSAD, T.J., R.M. FINCHER, A.M. SMILANICH, AND L. DYER, 2011. A quantitative evaluation of major plant defense hypotheses, nature versus nurture, and chemistry versus ants. *Arthropod. Plant. Interact.* 5: p.125–139.
- MCKEY, D., 1984. Interaction of the ant-plant *Leonardoxa africana* (Caesalpiniaceae) with its obligate inhabitants in a rainforest in Cameroon. *Biotropica* 16: p.81–99.
- MEDINA, E., V. GARCIA, AND E. CUEVAS, 1990. Sclerophyllly and oligotrophic environments: relationships between leaf structure, mineral nutrient content, and drought resistance in tropical rain forests of the upper rio negro region. *Biotropica* 22: p.51–64.
- MELLO, M.O., AND M.C. SILVA-FILHO, 2002. Plant-insect interactions : an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. 14: p.71–81.
- MICHELANGELI, F., A., 2005. *Tococa* (Melastomataceae). *Flora Neotropica Monograph*. 98: p.1-115.
- MORAES, S.C., AND H.L. VASCONCELOS, 2009. Long-term persistence of a Neotropical ant-plant population in the absence of obligate plant-ants. *Ecology* 90: p.2375–2383.
- PAUW, A., J. STOFBERG, AND R.J. WATERMAN, 2009. Flies and flowers in Darwin's race. *Evolution* 63: p.268–79.
- PELLMYR, O., 2003. Yuccas, yucca moths, and coevolution: A review. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 90: p.35–55.
- PUTZ, F., E. AND HOLBROOK, N., M., 1988. Further observations on the dissolution of mutualism between *Cecropia* and its ants: the Malaysian case. *Oikos* 53: p.121–125.
- REHR, S.S., P.P. FEENY, AND D.H. JANZEN, 1973. Chemical defence in central american non-ant-acacias. *J. Anim. Ecol.* 42: p.405–416.
- SEIGLER, D.S., AND J.E. EBINGER, 1987. Southwestern association of naturalists cyanogenic glycosides in ant-acacias of Mexico and Central America. 32: p.499–503.
- SIMMS, E. L., 1992. Cost of plant resistance to herbivory. In: *Plant Resistance to Herbivores and Pathogens* (eds R. S. Fritz & E. L. Simms) p. 216–239. The University of Chicago Press, Chicago.
- STAPLEY, L., 1998. The interaction of thorns and symbiotic ants as an effective defence mechanism of swollen-thorn acacias. *Oecologia* 115: p.401–405.
- STENBERG, J.A., J. WITZELL, AND L. ERICSON, 2006. Tall herb herbivory resistance reflects historic exposure to leaf beetles in a Boreal Archipelago age-gradient. *Oecologia* 148: p.414–425.
- STRAUSS, S.Y., 1991. Direct, indirect, and cumulative effects of three native herbivores on a shared host plant. *Ecology* 72: p.543–558.
- TURNER, I.M., B.L. ONG, AND H.T.W. TAN, 1995. Vegetation analysis, leaf structure and nutrient status of a Malaysian health community. *Biotropica* 27: p.2–12.
- WARTON, D., AND F. HUI, 2011. The arcsine is asinine: the analysis of proportions in ecology. *Ecology* 92: p.3–10.
- WHEELER,W.M., 1942. Studies of neotropical ant-plants and their ants. *Museum of Comparative Zoology, Harvard College, Cambridge,MA.*

- WITKOWSKI, E., AND B. LAMONT, 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* 94:486–493.
- ZANGERL A. R., AND BAZZAZ F. A., 1992. Theory and pattern in plant defense allocation. In: *Plant Resistance to Herbivores and Pathogens* (eds R. S. Fritz & E. L. Simms) p. 363–391. The University of Chicago Press, Chicago.

CAPÍTULO 3

Colonização de rainhas de *Allomerus octoarticulatus* em plantas de *Tococa guianensis* em áreas de Cerrado na presença e ausência do parceiro mutualístico obrigatório

Resumo

Mirmecófitas ou plantas de formigas são plantas que fornecem estruturas especializadas que permitem e facilitam o estabelecimento e crescimento de colônias de formigas. A fase de plântulas é o período mais importante do seu ciclo de vida, pois nesta fase muitas plantas adquirem uma colônia de formigas. O sucesso da colonização pode depender de vários fatores abióticos (tipo de habitat, condições climáticas) e bióticos (competição, parasitismo e capacidade de dispersão das rainhas). Neste estudo, foi comparada a sobrevivência e o tamanho das colônias de rainhas de *Allomerus octoarticulatus* sobreviventes em locais onde *Tococa guianensis* ocorre associada (Aragaças) ou não (Uberlândia) com a formigas mutualistas para saber qual fator biótico e/ ou abiótico impede a ocorrência da formiga em Uberlândia. A taxa de sobrevivência das rainhas foi menor em Uberlândia do que em Aragarças, embora a diferença na sobrevivência dependeu do número inicial de rainhas colonizadas. No entanto, o tamanho das colônias das rainhas sobreviventes até o final do experimento não diferiu entre os locais. Isto sugere que a ausência de *A. octoarticulatus* em Uberlândia pode estar relacionada com as condições climáticas e/ou bióticas do local, mas este fator por si só não explica a ausência da formiga. Provavelmente, a capacidade de dispersão das rainhas associada à distância da fonte de rainhas são fatores mais importantes e que limitam a ocorrência de *A. octoarticulatus* neste local.

Palavras-chave: rainhas fundadoras, condições climáticas, dispersão, distância, mirmecófita

1. Introdução

As mirmecófitas ou plantas de formigas (*ant-plants*) fornecem estruturas especializadas, denominadas dománcias, que permitem e facilitam o estabelecimento e crescimento de colônias de formigas (Benson 1985). Em troca deste benefício, as formigas efetivamente protegem suas plantas hospedeiras contra a herbivoria (Beattie 1985, Davidson & McKey 1993). Estas associações raramente são espécies-específicas já que, frequentemente, “guildas” de formigas com funções ecologicamente similares, ou várias formigas relacionadas interagem com a ‘guilda’ de plantas hospedeiras que apresentam características morfológicas e fisiológicas semelhantes (Ward 1991, Davidson & McKey 1993, Chenuil & McKey 1996, Agosti et al. 1999, Fiala et al. 1999).

A fase de plântulas das mirmecófitas é o período mais importante do seu ciclo de vida, pois é nesta fase que muitas plantas adquirem uma colônia de formiga. Neste estágio de vida da planta várias rainhas da mesma espécie ou de espécies diferentes podem encontrar a planta hospedeira adequada e colonizá-la, mas somente uma colônia irá se estabelecer e dominar a planta (McKey 1984, Maschwitz & Fiala 1995, Dejean & Djieto-Lordon 1996). O sucesso da localização da planta hospedeira e o estabelecimento das colônias podem ser influenciados pela competição inter e intraespecífica (Longino 1989, Yu & Davidson 1997), pelas características morfológicas da planta (Broaut et al. 2001), pela capacidade das rainhas fundadoras reconhecerem os sinais químicos da planta (Inui et al. 2001), preferências de habitats por ambos os associados (Yu & Davidson 1997), predação, parasitismo, ou ataque de patógenos (Mckey 1988).

A importância relativa destes fatores pode variar de acordo com o habitat onde a planta hospedeira está crescendo (Nery & Vasconcelos 2003). As condições do habitat, especialmente luz, podem afetar a taxa de recursos disponíveis (produção de alimento e espaço para nidificação) fornecidos para as formigas (Davidson & Fisher 1991, Folgarait & Davidson 1994)

e desta forma, indiretamente, afetar a sobrevivência e o crescimento das colônias de formigas associadas. Por exemplo, em *Cecropia*, o ataque às rainhas fundadoras por vespas parasitoides é intenso em plantas que ficam próximas a riachos, mas ausente em manchas de plantas distribuídas em áreas abertas da floresta (Yu & Davidson 1997).

Além disso, a colonização também pode depender da distância da fonte de novas rainhas fundadoras. Plântulas de *Maieta guianensis* tem maior chance de serem colonizadas por formigas quando estão crescendo próximo de plantas adultas da mesma espécie do que quando estão distantes das populações de plantas, sugerindo que a probabilidade das plântulas serem colonizadas diminui com o aumento da distância da fonte de rainhas (Vasconcelos 1993). De forma similar, em *Leonardoxa africana*, a proporção de plântulas colonizadas por formigas varia conforme a distância das árvores adultas (McKey 1984). Esses estudos sugerem fortemente que a colonização de plantas mirmecófitas depende da capacidade de dispersão das rainhas fundadoras.

Populações de mirmecófitas sem colônias de formigas específicas já foram encontradas em lugares com condições extremas de temperatura (em altas altitudes) (Janzen 1973) e em ilhas remotas (Putz & Holbrook 1988) onde provavelmente a ocorrência de formigas é menor, devido às condições estressantes do ambiente ou até mesmo a limitações da própria rainha fundadora, como por exemplo, menor capacidade de dispersão (Vasconcelos 1993, Yu et al. 2004). Mas, recentemente foram descobertas populações de *Tococa guianensis* persistindo em algumas áreas do Cerrado no Triângulo Mineiro, a mais de quinze anos, sem a presença da formiga obrigatória *Allomerus octoarticulatus*, uma espécie comumente encontrada em associação com *T. guianensis* em Jataí-GO, Mineiros-GO e Água Boa-MT no estudo realizado por Moraes & Vasconcelos (2009) e neste estudo em Aragarças-GO e Cachoeira da Fumaça-MT (Capítulo 1 e 2). Uma das hipóteses propostas para explicar a ausência desta formiga neste local seria às condições climáticas da região (por exemplo, um inverno mais rigoroso) que poderia estar impedindo a sobrevivência da formiga e/ou condições bióticas (por exemplo, parasitoides) ou simplesmente

resultado da menor capacidade de dispersão da rainha, já que rainhas de *A. octoarticulatus* são caracterizadas como sendo ‘pobres’ dispersoras (Debout et al. 2010).

Diante disto, o objetivo deste estudo foi comparar a sobrevivência de rainhas fundadoras de *Allomerus octoarticulatus* e o crescimento inicial das colônias entre duas localidades, Aragarças, onde *T. guianensis* ocorre na presença desta espécie de formiga e Uberlândia, onde a formiga não ocorre. O intuito foi o de testar as duas hipóteses anteriormente comentadas, de que a ausência de *A. octoarticulatus* em Uberlândia pode estar relacionada (i) com as condições climáticas e/ou biótica dos locais (ii) a capacidade limitada de dispersão das rainhas fundadoras. Caso as condições climáticas ou bióticas (por exemplo, parasitoides) em Uberlândia sejam impróprias para a sobrevivência das rainhas fundadoras então se espera uma taxa de sobrevivência significativamente menor em Uberlândia do que em Aragarças. Já se a ausência de *A. octoarticulatus* em Uberlândia estiver associada a incapacidade das rainhas em chegar e colonizar as plantas de *Tococa guianensis* presentes nesta localidade então se espera que as rainhas transplantadas para Uberlândia tenham sobrevivência parecida com as transplantadas em Aragarças.

2. Material e Métodos

2.1. História natural de *Allomerus octoarticulatus*

A fundação de colônias de *Allomerus octoarticulatus* é independente e a dispersão das rainhas aladas ocorre pelo voo. As rainhas são consideradas “pobres” dispersoras, mas suas colônias apresentam alta fecundidade de fêmeas aladas. Em áreas com alta densidade de plântulas, onde há pouca necessidade de dispersão, as rainhas podem colonizar mais plântulas por unidade de tempo, do que outras rainhas (como por exemplo, as de *Azteca*), o que permite que elas dominem o local (Debout et al. 2010). Geralmente as rainhas competem intraespecificamente por suas plantas hospedeiras, de modo que muitas rainhas colonizam

plantas individuais, mas somente uma colônia sobrevive e se estabelece na planta (Davidson et al. 1989, Yu & Pierce 1998, Frederickson 2006). A dieta parece consistir principalmente de insetos que são capturados na superfície das folhas da planta hospedeira (Davidson et al. 2003, Dejean et al. 2005).

2.2. Desenho experimental e tratamento

Uberlândia situa-se próximo do limite sul da distribuição de *T. guianensis*. Portanto, a ausência de sua parceira obrigatória, *Allomerus octoarticulatus*, nesta região pode ser simplesmente resultado da menor capacidade de dispersão da formiga. Outra possibilidade é que as condições climáticas da região (por exemplo, um inverno mais rigoroso) impeça a sobrevivência da formiga. Para testar estas hipóteses, 50 plântulas de *T. guianensis* provenientes de Aragarças-GO foram mantidas em casa de vegetação, sob as mesmas condições de umidade e temperatura, durante um período de quatro meses. Após este período, quando as plântulas já apresentavam de 15 a 30 cm de altura e mais de três dománcias, elas foram manualmente colonizadas por rainhas de *Allomerus octoarticulatus* (Figura 1 B). A colonização foi feita da seguinte forma: rainhas coletadas em Aragarças foram inseridas nas novas plântulas e transferidas para as duas áreas de estudo, de forma que cada área recebeu 25 plântulas (com uma ou duas rainhas por planta) (Tabela 1). Nas plântulas com duas rainhas as formigas estavam separadas, ou seja, foram inseridas em lados opostos da domácia. As plântulas experimentais foram colonizadas por uma ou duas rainhas, porque foi observado que naturalmente algumas plântulas apresentam duas rainhas fundadoras, enquanto outras apresentam apenas uma. Para prevenir futuras colonizações, as plântulas foram colocadas dentro de pequenas gaiolas cobertas por uma rede de malha fina (2 mm), e para prevenir o acesso de possíveis invasores terrestres, tais como formigas, o acesso a todas as plântulas foi impedido usando *Tanglefoot* (Figura 1 A e C). Ao final de seis meses foi determinado o número de colônias vivas e mortas e também foram

coletadas todas as colônias vivas para determinar o tamanho da colônia (número de larvas, pupas e operárias).

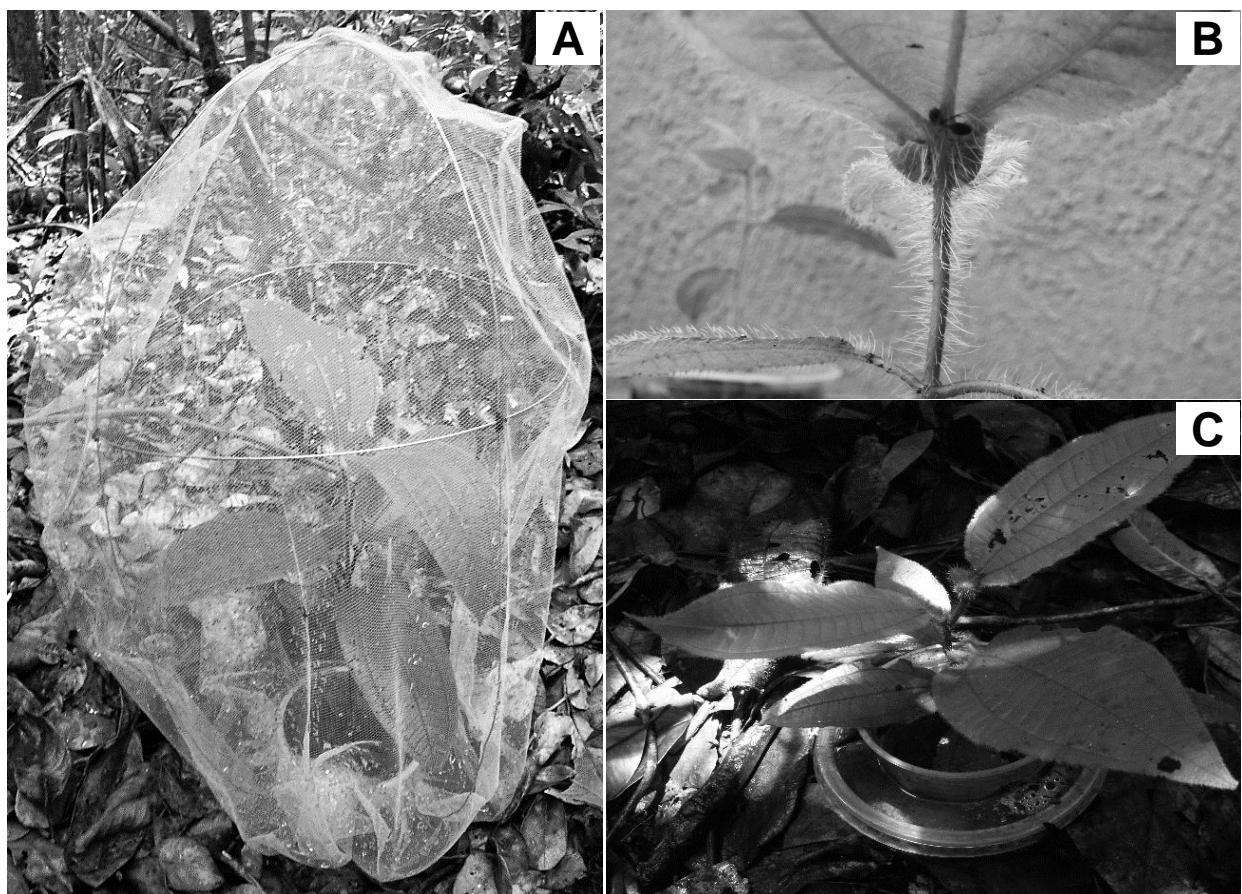


Figura 1. Isolamento da planta com gaiolas cobertas com malha fina, para prevenir futuras colonizações (A), colonização manual da rainha de *A. octoarticulatus* nas plântulas (B) e impedimento do acesso de invasores terrestres (formigas) nas plântulas com a utilização de *Tanglefoot* (C).

3. Análise de dados

Para avaliar a sobrevivência das colônias em Aragarças e Uberlândia depois de seis meses do início do experimento foi utilizado o teste Qui-quadrado e para saber se o tamanho da colônia (número de larvas, pupas e operárias) difere entre os locais foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskall-Wallis.

4. Resultados

A sobrevivência das rainhas em plantas colonizadas com apenas uma rainha diferiu entre Aragarças e Uberlândia ($\chi^2 = 4,54$, gl = 1, $P = 0,03$). Em Aragarças somente duas das 14 rainhas morreram, ao passo que nove das 16 rainhas transplantadas em Uberlândia morreram. Já a sobrevivência das rainhas em plantas colonizadas simultaneamente com duas rainhas não diferiu entre as duas localidades ($\chi^2 = 0,28$, gl = 1, $P = 0,605$), embora neste experimento também tenha sido notado uma tendência de maior mortalidade em Uberlândia do que em Aragarças (Tabela 1).

Entre as rainhas que sobreviveram até o final do experimento o número de operárias, larvas e pupas produzidas por rainha não diferiu significativamente entre Aragarças e Uberlândia ($U = 222,5$; $N_1 = 19$, e $N_2 = 22$; $P = 0,710$) (Figura 2).

Tabela 1. Sobrevivência de rainhas de *A. octoarticulatus* em plântulas de *T. guianensis* transplantadas para Aragarças ou Uberlândia.

Local	Nº de plântulas experimentais	Nº de rainhas por plântulas	Nº inicial de rainhas	Nº de rainhas mortas	Situação depois de 180 dias	
					% sobrevivência	
Aragarças	14	1	14	2	85,7	
	11	2	22	10	54,5	
Uberlândia	16	1	16	9	43,7	
	8	2	16	10	37,5	

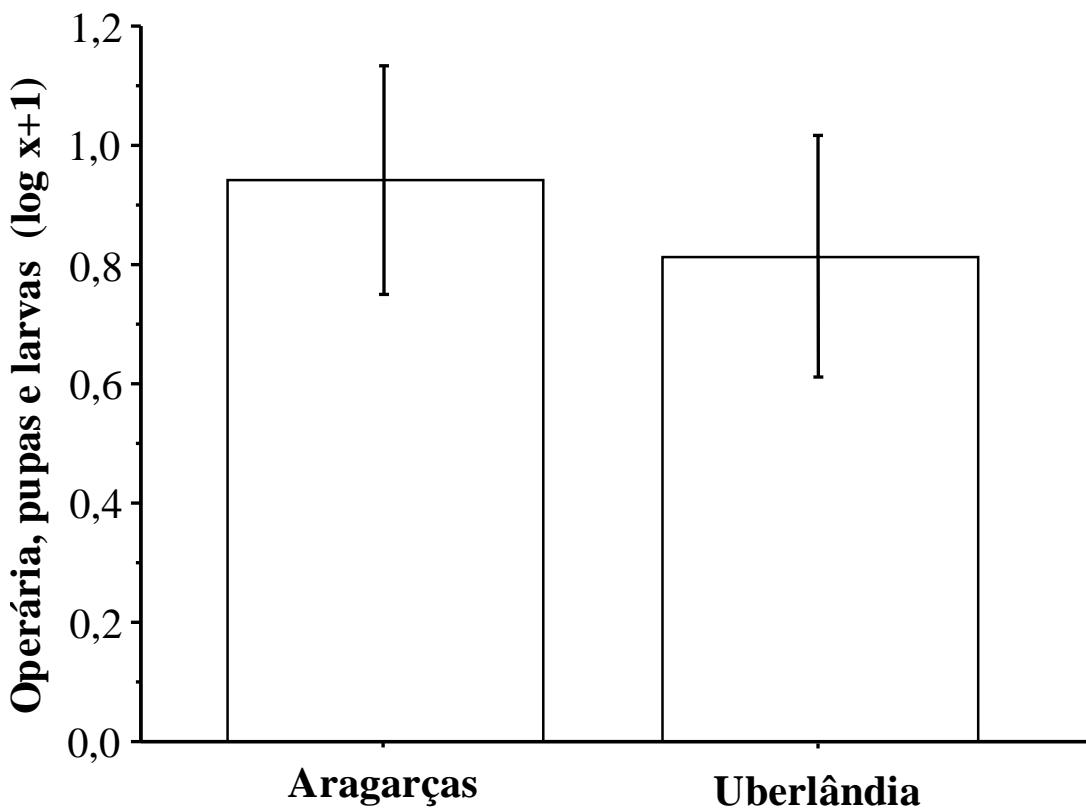


Figura 2. Número médio de larvas, pupas e operárias por plântulas produzidas por rainhas de *A. octoarticulatus* em Aragarças e Uberlândia depois de seis meses do transplante. Linhas verticais indicam o erro padrão.

5. Discussão

De modo geral, os resultados deste estudo demonstraram que a sobrevivência de rainhas fundadoras de *Allomerus octoarticulatus* diferiu entre os locais, mas esta diferença variou em função do número inicial de rainhas fundadoras. A sobrevivência de rainhas em plântulas colonizadas por apenas uma rainha em Uberlândia foi menor do que em Aragarças, sugerindo que condições intrínsecas do local, como por exemplo, condições climáticas da região (por exemplo, um inverno mais rigoroso) e/ou bióticas (parasitóides) podem impedir ou até mesmo dificultar estabelecimento das colônias de *A. octoarticulatus* neste local.

No entanto, a sobrevivência de rainhas em plântulas colonizadas por duas rainhas simultaneamente não diferiu entre os locais, embora também tenha sido notado uma tendência de

maior mortalidade em Uberlândia do que em Aragarças. Provavelmente, a mortalidade destas rainhas pode estar relacionada com a competição entre as rainhas, uma vez que em condições naturais as rainhas de *Allomerus octoarticulatus* tendem a competir intraespecificamente por suas plantas hospedeiras (Yu & Pierce 1998). Frederickson (2006) observou que muitas rainhas de *A. octoarticulatus* chegam para colonizar plântulas individuais de *Cordia nodosa*, mas a partir do momento em que as operárias passam a estar evidentes nas plantas, ocasionalmente a planta apresenta mais de uma rainha, sugerindo que a competição intraespecífica entre as rainhas pela planta hospedeira é alta durante a fase de colonização e que somente uma rainha se estabelece na planta com o passar do tempo. Segundo este mesmo autor, a fase de acasalamento, dispersão e fundação de colônias de *A. octoarticulatus* é a mais perigosa para as rainhas do que outro estágio do ciclo de vida da formiga. Isto ocorre em muitas outras espécies de formigas (Höldobler & Wilson 1990; Sommer & Hölldobler 1995, Gordon & Kulig 1996).

Embora a sobrevivência das rainhas fundadoras a princípio pareça ser afetada pelas condições intrínsecas do local, o tamanho das colônias formadas por rainhas que sobreviveram até o final do experimento tanto em Uberlândia quanto em Aragarças não diferiu entre os locais. Estes resultados sugerem que apesar das rainhas sofrerem uma maior mortalidade em Uberlândia, caso elas consigam chegar, as mesmas conseguem se estabelecer e formar colônias. Assim, provavelmente, a ausência de *A. octoarticulatus* em Uberlândia também pode estar relacionada com a capacidade de dispersão da rainha, já que alguns autores têm observado que a capacidade de dispersão de rainhas de *A. octoarticulatus* é limitada (Frederickson 2006; Debout et al. 2010). Além disso, a ocorrência mais próxima de *A. octoarticulatus* em *T. guianensis* está localizada a mais de 600 km de Uberlândia no município de Jataí-GO (Moraes & Vasconcelos 2009) e esta distância talvez possa explicar porque essa espécie de formiga está ausente em Uberlândia. De fato, alguns estudos mostram que a probabilidade de colonização de plântulas de mirmecófitas por rainhas fundadoras diminui com o aumento da distância da fonte de rainhas (Vasconcelos 1993; Bruna et al. 2011).

Além disso, durante a dispersão a mortalidade das rainhas também pode ser um resultado da predação, parasitismo, fome ou dessecação (Gordon & Kulig 1996, Nery & Vasconcelos 2003) e o espaço de tempo em que uma rainha passa fora do ninho, provavelmente aumenta seu risco de mortalidade. Desta forma, as rainhas preferencialmente procuram nidificar em sítios mais próximos para melhorar sua chance de sobrevivência (Frederickson 2006). Assim, estes resultados sugerem que a colonização de plantas mirmecófitas também depende da capacidade de dispersão das rainhas fundadoras e da distância da fonte de rainhas.

Os resultados deste estudo sugerem que a ausência de *A. octoarticulatus* em Uberlândia pode estar relacionada com as condições climáticas e/ou bióticas do local, já que a sobrevivência das rainhas é menor em Uberlândia do que em Aragarças. No entanto foi observado que as condições climáticas e/ou bióticas do local não tiveram efeito sobre a sobrevivência das rainhas, sugerindo que este fator por si só, não explica a ausência de *A. octoarticulatus* em Uberlândia. A capacidade limitada de dispersão das rainhas fundadoras juntamente com a grande distância entre Uberlândia e outras localidades com populações estabelecidas de *A. octoarticulatus* parecem ser os fatores de maior importância e que melhor explicam a ausência da formiga neste local.

6. Referências Bibliográficas

- AGOSTI, D., MOOG, J. AND MASCHWITZ, U., 1999. Revision of the oriental plant-ant genus *Cladomyrma*. America. Muse. Novitates 3283: p.1- 24.
- BEATTIE, A.J., 1985. The Evolutionary Ecology of Ant–Plant Mutualisms, Cambridge: Cambridge University Press.
- BENSON, W.W., 1985. Amazon ant–plants. In: Prance, G.T., Lovejoy, T.E. (Eds.), Amazonia. Pergamon Press, New York, p. 239–266.
- BROUAT, C., GARCIA, N., ANDARY, C., MCKEY, D., 2001. Plant lock and ant key: pairwise co-evolution of an exclusion filter in an ant–plant mutualism. Proceedings of the Royal Society of London Series B 268: p.2131–2141.
- BRUNA, E. M., T. IZZO, B. D. INOUYE, M. URIARTE AND H. L. VASCONCELOS. 2011. Asymmetric dispersal and colonization success of Amazonian plant-ants queens. PLOS ONE 6: p. e22937.

- CHENUIL, A. AND MCKEY, D.B., 1996. Molecular phylogenetic study of a myrmecophyte symbiosis: Did *Leonardoxa*/ant associations diver-sify via cospeciation? Mol. Phylogen. Evol. 6: p.270-286.
- DAVIDSON, D.W., R.R. SNELLING, AND J.T. LONGINO, 1989. Competition among ants for myrmecophytes and the significance of plant trichomes. Biotropica 21: p.64–73.
- DAVIDSON, D.W. AND FISHER, B. L., 1991. Symbioses of ants with *Cecropia* as a function of light regime. In: Ant-Plant Interactions (C.R. Huxley and D.K. Cutler, Eds.), Oxford University Press, Oxford, p.289–309.
- DAVIDSON, D.W., AND D. MCKEY, 1993. Ant-plant symbioses: Stalking the chuyachaqui. Trends Ecol. Evol. 8: p.326–32.
- DAVIDSON, D.W., S.C. COOK, R.R. SNELLING, AND T.H. CHUA, 2003. Explaining the abundance of ants in lowland tropical rainforest canopies. Science 300: p.969–72.
- DEBOUT, G.D.G., M.E. FREDERICKSON, S. ARON, AND D.W. YU, 2010. Unexplained split sex ratios in the neotropical plant-ant, *Allomerus octoarticulatus* var. demerarae (Myrmicinae): a test of hypotheses. Evolution 64: p.126–41.
- DEJEAN, A., DIJÉTO-LORDON, C., 1996. Ecological studies on the relationships between ants (Hymenoptera, Formicidae) and the myrmecophyte *Scaphopetalum thonneri* (Sterculiaceae). Sociobiology 28: 91–102.
- DEJEAN, A., P.J. SOLANO, J. AYROLES, B. CORBARA, AND J. ORIVEL, 2005. Insect behaviour: arboreal ants build traps to capture prey. Nature 434: p.973.
- FIALA, B., A. JAKOB, AND U. MASCHWITZ, 1999. Diversity, evolutionary specialization and geographic distribution of a mutualistic ant-plant complex: *Macaranga* and *Crematogaster* in South East Asia. Biol. J. Linn. Soc. 66: p.305–331.
- FOLGARAIT, P.J., AND D.W. DAVIDSON, 1994. Antiherbivore defenses of myrmecophytic *Cecropia* under different light regimes. Oikos 71: p.305–320.
- FREDERICKSON, M.E., 2006. The reproductive phenology of an Amazonian ant species reflects the seasonal availability of its nest sites. Oecologia 149: p.418–427.
- GORDON, D.M., AND A.W. KULIG, 1996. Founding, foraging, and fighting: colony size and the spatial distribution of harvester ant nests. Ecology 77: p.2393–2409.
- HÖLLOBLER, B., AND WILSON, E., O. 1990. The ants. Springer-Verlag, Berlin, p 732.
- INUI, Y., T. ITIOKA, K. MURASE, R. YAMAOKA, AND T. ITINO, 2001. Chemical recognition of partner plant species by foundress ant queens in *Macaranga-Crematogaster* myrmecophytism. J. Chem. Ecol. 27: p.2029–2040.
- JANZEN, D.H., 1973. Dissolution of mutualism between *Cecropia* and its *Azteca* ants. Biotropica 5: p.15–28.
- LONGINO, J.T., 1989. Geographic-variation and community structure in an ant plant mutualism - *Azteca* and *Cecropia* in Costa-Rica. Biotropica 21: p.126–132.
- MASCHWITZ, U., AND B. FIALA, 1995. Investigations on ant plant associations in the southeast-asian genus *Neonauclea merr* (Rubiaceae). Acta Oecologica-International J. Ecol. 16: p.3–18.
- MCKEY, D., 1984. Interaction of the ant-plant *Leonardoxa africana* (Caesalpiniaceae) with its obligate inhabitants in a rainforest in Cameroon. Biotropica 16: p.81–99.

- MCKEY, D., 1988. Promising new directions in the study of ant-plant mutualisms. In: Greter W, Zimmer ? (eds) Proceedings of the XIV International Botanical Congress Koeltz, Konigstein/ Taunus, Germany, p. 335-355.
- MORAES, S.C., AND H.L. VASCONCELOS, 2009. Long-term persistence of a Neotropical ant-plant population in the absence of obligate plant-ants. *Ecology* 90: p.2375–2383.
- NERY, A.S., AND H.L. VASCONCELOS, 2003. Growth and survival of incipient ant colonies in two Amazonian ant-plants: Effects of habitat, host-plant, and mode of colony founding (Hymenoptera : Formicidae). *Sociobiology* 42: p.151–162.
- PUTZ, F., E. AND HOLBROOK, N., M., 1988. Further observations on the dissolution of mutualism between *Cecropia* and its ants: the Malaysian case. *Oikos* 53: p.121–125.
- SOMMER, K., AND B. HÖLLODBLER, 1995. Colony founding by queen association and determinants of reduction in queen number in the ant *Lasius niger*. *Anim. Behav.* p.287–294.
- VASCONCELOS, H.L., 1993. Ant colonization of *Maieta guianensis* seedlings, an Amazon ant-plant. *Oecologia* 95: p.439–443.
- WARD, P. S., 1991. Phylogenetic analysis of pseudomyrmecine ants associated with domatia-bearing plants, p. 335–352, In: C. Huxley and D. Culter (eds.). *Ant–Plant Interactions*. Oxford University Press, Oxford.
- YU, D.W., AND D.W. DAVIDSON, 1997. Experimental studies of species-specificity in *Cecropia*-ant relationships. *Ecol. Monogr.* 67: p.273–294.
- YU, D.W., AND N.E. PIERCE, 1998. A castration parasite of an ant-plant mutualism. *Proc. R. Soc. London Ser. B-Biological Sci.* 265: p.375–382.
- YU, D.W., WILSON, H. B., FREDERICKSON, M. E., PALOMINO, W., DE LA COLINA, R. EDWARDS, D.P., AND BALARESO, A. A., 2004. Experimental demonstration of species coexistence enabled by dispersal limitation. *J. Anim. Ecol.* 73: p.1102–1114.

Conclusões gerais

1. A importância da formiga obrigatoria como defensora da planta parece ser condicionada pela taxa de herbivoria experimentada pelas plantas. Em locais onde a taxa de herbivoria foi alta, *Allomerus octoarticulatus* eficientemente defendeu a planta hospedeira, mas em locais com baixa taxa de herbivoria a presença desta formiga não afetou a herbivoria. Já onde *A. octoarticulatus* não está presente não houve um efeito de outras formigas (oportunistas), mas a presença dos tricomas diminuiu a herbivoria. Provavelmente *T. guianensis*, além do contar com a defesa biótica fornecida pelas formigas, também conta com a defesa física e estes mecanismos parecem ser eficazes contra a herbivoria.
2. *Tococa guianensis* parece contar com mais de uma estratégia de defesa contra os insetos herbívoros e esta variedade de estratégias de defesa pode favorecer a existência das populações em locais onde a planta ocorre sem a presença de formigas obrigatorias. Além disso, a planta também parece investir menos em traços relacionados ao mutualismo (tamanho da domácia) quando as formigas estão ausentes, provavelmente para evitar gastos desnecessários.
3. A ausência de *A. octoarticulatus* em Uberlândia pode estar relacionada com as condições climáticas e/ou bióticas do local, já que a sobrevivência das rainhas foi menor em Uberlândia do que em Aragarças. Mas, este efeito por si só parece não explicar a ausência das formigas e sim a capacidade de dispersão das rainhas fundadora associada à distância de Uberlândia a outras localidades com populações estabelecidas de *A. octoarticulatus*.
4. De maneira geral, *T. guianensis* parece contar com mais de um mecanismo de defesa contra os insetos herbívoros e esta plasticidade em defesas associado a menor herbivoria do local parece ser fatores relevantes e que facilitam o estabelecimento e a permanência da população em Uberlândia.