



**Universidade
Federal de
Uberlândia**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS**

**EFEITOS NEGATIVOS DA INTERAÇÃO FORMIGA-PLANTA
NA POLINIZAÇÃO EM UMA ESPÉCIE DE CERRADO**

RODRIGO DO ROSÁRIO NOGUEIRA

2019

RODRIGO DO ROSÁRIO NOGUEIRA

**EFEITOS NEGATIVOS DA INTERAÇÃO FORMIGA-PLANTA
NA POLINIZAÇÃO EM UMA ESPÉCIE DE CERRADO**

**Dissertação de Mestrado apresentada à Coordenação
do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e
Conservação de Recursos Naturais da Universidade
Federal de Uberlândia para obtenção do título de
Mestre em Ecologia e Conservação de Recursos
Naturais.**

**Orientadora: Professora Dra. Helena Maura Torezan
Silingardi**

Coorientador: Professor Dr. Kleber Del Claro

**UBERLÂNDIA, MG
FEVEREIRO DE 2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

N778e
2019 Nogueira, Rodrigo do Rosário, 1991
 Efeitos negativos da interação formiga-planta na polinização em
 uma espécie de Cerrado [recurso eletrônico] / Rodrigo do Rosário
 Nogueira. - 2019.

Orientadora: Helena Maura Torezan Silingardi.

Coorientador: Kleber Del-Claro.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos
Naturais.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1237>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Ecologia. 2. Cerrados. 3. Polinização. 4. Mutualismo. I. Silingardi,
Helena Maura Torezan, 1968, (Orient.). II. Del-Claro, Kleber, 1965,
(Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. IV. Título.

CDU: 574

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais

Av. Pará, 1720, Bloco 2D, Sala 26 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38405-320

Telefone: (34) 3225-8641 - www.ppgeco.ib.ufu.br - ecologia@umuarama.ufu.br



ATA

ATA DA 269ª APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO JUNTO AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS, INSTITUTO DE BIOLOGIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Aos dezoito dias de fevereiro de dois mil e dezenove (18/02/2019), às nove horas, na sala 14A, bloco 2D, *Campus* Umuarama, situado na Avenida Pará, 1720, Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, teve início a 269ª Apresentação de Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais do(a) discente **Rodrigo do Rosário Nogueira**, matrícula número **11712ECR012**, título "**Efeitos negativos da interação formiga-planta na polinização em uma espécie de cerrado**", área de concentração **Ecologia**, linha de pesquisa **Ecologia comportamental e de interações**, vinculado ao projeto de pesquisa **Riqueza e distribuição de interações entre plantas, formigas e herbívoros trofobiontes em vegetação de Cerrado**, com os seguintes doutores compondo a banca examinadora: **Helena Maura Torezan Silingardi (INBIO-UFU)**, presidente, **Juliana Marzinek (INBIO-UFU)** e **Maria Rosângela Sigrist (UFMS)**. Iniciando os trabalhos, o(a) Presidente, Helena Maura Torezan Silingardi, apresentou a comissão examinadora e o(a) candidato(a), além disso, agradeceu a presença do público e concedeu ao(à) discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) discente, o tempo de arguição e resposta foram estabelecidos conforme as normas do Programa. A seguir, o(a) Senhor(a) Presidente concedeu a palavra aos examinadores, que passaram a arguir o(a) candidato(a). Finalizada a arguição, que ocorreu dentro dos termos regimentais, a banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais. Em face do resultado obtido, a banca examinadora considerou o(a) candidato(a) **Aprovado(a)**, sugerindo novo título para o trabalho (quando couber): ____ .Esta defesa é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre. O competente diploma será expedido após o cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da Universidade. Nada mais havendo a tratar, foram encerrados os trabalhos às **12 horas e 08 minutos**. Foi lavrada a presente ata que, após lida e aprovada, foi assinada pela banca examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Helena Maura Torezan Silingardi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 18/02/2019, às 12:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARIA ROSÂNGELA SIGRIST, Usuário Externo**, em 18/02/2019, às 12:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Juliana Marzinek, Professor(a) do Magistério Superior**, em 18/02/2019, às 12:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1021924** e o código CRC **E290FABA**.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus familiares que me apoiaram desde sempre e que me ajudaram a seguir até aqui, sem nunca desistir. Em especial, dedico a pesquisa à minha mãe, que me ajudou durante a pesquisa como motorista, em um momento difícil, em que o país passa por uma forte crise e em que a Universidade, com falta de verbas, não conseguia oferecer transporte diário até a reserva onde o trabalho foi feito. Foram muitos dias de sol a pino trabalhando arduamente para conseguir coletar todos os dados da pesquisa. Sem a ajuda dela, o trabalho teria sido impossível. Dedico também aos meus irmãos pelo apoio moral, em especial ao meu irmão Wesley, por sempre me incentivar a não desistir da pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro oferecido ao longo do mestrado, sem o qual seria difícil a conclusão deste projeto e ao Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU) pela disponibilização do espaço onde este trabalho foi realizado. Agradeço também à Universidade Federal de Uberlândia (UFU) pelo apoio e estrutura oferecida durante a realização da pesquisa, aos meus orientadores Maura e Kleber e ao colega Danilo, pelo auxílio oferecido durante o trabalho e pelas valiosas sugestões no texto. Também gostaria de agradecer ao Laboratório de Ecologia Comportamental e de Interações (LECI) pelo apoio ao longo do trabalho e, finalmente, mas não menos importante, agradeço à minha família, por toda a ajuda que sempre me ofereceram, em especial à minha mãe, Rosana, pelo apoio moral e ajuda no transporte até o local da pesquisa e também ao meu irmão Wesley, pelo incentivo em continuar na pesquisa, apesar das dificuldades.

ÍNDICE

RESUMO:	vi
ABSTRACT:	vii
INTRODUÇÃO	1
METODOLOGIA	3
Área de estudo	3
Planta modelo	4
Experimento	5
Análise estatística	8
RESULTADOS	8
DISCUSSÃO	12
CONCLUSÃO	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17

RESUMO:

NOGUEIRA, R. N. 2019. Efeitos negativos da interação formiga-planta na polinização em uma espécie de Cerrado. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais. 20 páginas.

O Cerrado é uma importante fitofisionomia que está em rápida degradação, devido às atividades humanas, como o crescimento das cidades e a agropecuária. Estudos envolvendo sistemas de polinização são importantes para auxiliar nas estratégias de manejo e conservação de áreas degradadas. O mutualismo formiga-planta, que é conhecido por reduzir as taxas de herbivoria pode ser prejudicial à polinização por abelhas, quando as formigas que forrageiam nas plantas atacam os polinizadores. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi investigar se existe um impacto negativo da interação formiga-planta afetando a visitação e a frutificação de uma espécie comum do cerrado, *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). O estudo foi realizado em área de cerrado sentido restrito em Uberlândia, MG, Brasil. Foi conduzido um experimento com quatro grupos: controle (sem alteração, livre visitação de formigas), isolamento completo (ramos sem formigas), formigas artificiais (ramos isolados, mas com formigas artificiais nas flores) e círculos de plástico (ramos isolados, mas com círculos artificiais nas flores). Foram feitas observações sobre quem eram os visitantes florais e sua interação com cada um dos grupos, assim como sobre o resultado das visitas às flores (formação de frutos). Os resultados mostraram que os polinizadores hesitaram frente às flores com formigas artificiais, afetando negativamente a polinização, mas não hesitaram com os círculos de plástico, mostrando que eles reconhecem a morfologia das formigas. Os resultados ainda mostraram que os polinizadores gastaram mais tempo por flor no grupo isolamento, sem qualquer perturbação. E ainda, a taxa de frutificação foi mais baixa no grupo com formigas artificiais. Portanto, o mutualismo de proteção pode afetar de forma negativa as interações de polinização em *B. malifolia*, prejudicando sua reprodução.

Palavras-chave: Malpighiaceae, mutualismo, área tropical, frutificação, Brasil.

ABSTRACT:

NOGUEIRA, R. N. 2019. Negative effects of the ant-plant interaction on pollination in a species from Cerrado. Master's Dissertation in Ecology and Conservation of Natural Resources. Federal University of Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais. 20 pages.

The Cerrado is an important phytophysiognomy that is rapidly deteriorating due to human activities, such as the growth of cities and agriculture. Studies involving pollination systems are important to assist in the strategies of management and conservation of degraded areas. The ant-plant mutualism, which is known to reduce rates of herbivory, may be detrimental to bee pollination, when ants foraging on plants attack pollinators. Thus, the objective of this study was to investigate whether there is a negative impact of the ant-plant interaction affecting visitation and fruiting production of a common Cerrado species, *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). The study was carried out in an area of Cerrado restricted sense in Uberlândia, MG, Brazil. An experiment was carried out with four groups: control (no change, free visitation of ants), complete isolation (ant-free branches), artificial ants (isolated branches but with artificial ants in flowers) and plastic circles (isolated branches but with artificial circles in flowers). Observations were made about who were the flower visitors and their interaction with each of the groups, as well as about the result of visits to the flowers (fruit formation). The results showed that pollinators hesitated against flowers with artificial ants, negatively affecting pollination, but did not hesitate with plastic circles, showing that they recognize the morphology of the ants. The results also showed that the pollinators spent more time per flower in the isolation group, without any disturbance. In addition, the fruiting rate was lower in the group with artificial ants. Therefore, protection mutualism can negatively affect the interactions of pollination in *B. malifolia*, impacting its reproduction.

Key-words: Malpighiaceae, mutualism, tropical area, fructification, Brazil.

INTRODUÇÃO

As áreas naturais com alto endemismo de espécies e com rápida degradação ambiental (pelo menos 0,5% de espécies endêmicas e 70% ou mais de perda da vegetação primária) são definidas como “hotspots” e no Brasil temos o Cerrado e a Mata Atlântica nessa situação (Myers, 1988). O Cerrado brasileiro apresenta cerca de 1,5% de suas plantas como endêmicas e apenas 20% de sua cobertura natural original restantes, ou seja, com cerca de 80% de área degradada (Myers et al., 2000), sendo considerado o segundo maior bioma do país, depois da Amazônia, ocupando cerca de 21% do território brasileiro. Apesar de seu solo ser considerado antigo, intemperizado, pobre em nutrientes e com altas concentrações de alumínio, essas características não impedem que a região seja utilizada para a agropecuária, com plantações e pastagens. Dos mais de 2.000.000 Km² de área original, boa parte já se encontra degradada e cerca de 880.000 Km² já foram modificados pela ação humana, com apenas 33.000 Km² preservados como áreas de conservação (Klink; Machado, 2005). Os principais motivos para a degradação desse bioma são a alteração do solo para a agricultura, principalmente para o plantio de monoculturas, como a soja, e pastagens, que podem incluir o plantio de gramíneas africanas que servem de alimento para o gado, além da dispersão de espécies exóticas (Klink; Moreira, 2002, Klink; Machado, 2005).

Nas áreas tropicais, 94% das plantas necessitam de um agente polinizador e apenas uma pequena quantidade de espécies pode se reproduzir pela autopolinização espontânea ou pela agamospermia, independente dos polinizadores (Ollerton et al. 2011). Entretanto, está bem documentado que a autogamia pode elevar as chances de ocorrer depressão por endogamia, reduzindo a diversidade gênica nas espécies vegetais (Franzon et al., 2010 Angeloni, et al., 2011) e reduzindo a frutificação (Amorim et al., 2012). Neste sentido, a polinização cruzada é importante para o ajuste gênico das plantas ao permitir a troca de gametas entre indivíduos, aprimorando a diversidade genética e aumentando a habilidade competitiva no ecossistema (Dafni, 1992, Gottsberger; Silberbauer-Gottsberger, 2006).

Além dos polinizadores, herbívoros florais ou florívoros também podem ser encontrados nas flores e todos esses animais servem de alimento para artrópodes, os quais proporcionam uma defesa biótica ao vegetal (Del-Claro; Torezan-Silingardi, 2009), muitas vezes, afugentando as presas, que não permanecem na planta (Junker, et al., 2007). Os predadores mais comuns encontrados em áreas naturais são as formigas, que, além das presas, também utilizam secreções adocicadas dos nectários extraflorais (NEFs) como alimento e

fonte de carboidratos (Del-Claro et al., 2016). Como exemplo, os NEFs de *Chamaecrista debilis* são visitados por formigas que podem também caçar herbívoros presentes nas plantas, aumentando a produção de frutos em mais de 50% (Nascimento; Del-Claro, 2010). Esse é um exemplo de interação mutualística facultativa entre insetos e plantas comum em ambientes tropicais.

Mesmo com muitos estudos ressaltando que as formigas são importantes mutualistas na defesa contra herbívoros (Rico-Gray; Oliveira, 2007, Del-Claro; Torezan-Silingardi, 2009, Del-Claro et al., 2016), também há casos onde seu impacto é negativo no *fitness* do vegetal. Por exemplo, Byk e Del-Claro (2010) demonstraram que *Camponotus pusillus* não é uma protetora efetiva de *Ouratea spectabilis* (Ochnaceae), planta típica de Cerrado. Os autores acreditam que isso se deve ao fato de que essa espécie de formiga não apresenta uma mandíbula adaptada para agarrar, mastigar ou cortar os herbívoros de maneira eficiente, além de afetar negativamente a polinização, por se alimentar do pólen das flores, reduzindo a viabilidade dos grãos de pólen. Em outro estudo, realizado com *Heteropterys pteropetala* (Malpighiaceae), também no Cerrado, Assunção et al. (2014) demonstraram através de manipulação experimental que as formigas podem ter um impacto negativo na planta ao atacar ou afugentar polinizadores. Essas plantas têm NEFs que atraem formigas, as quais visitam as folhas e também suas inflorescências. Os autores utilizaram modelos de formigas de plástico próximas às flores e perceberam que o formato e a cor das formigas são facilmente reconhecidos pelos polinizadores, o que reduz significativamente sua taxa de visita floral, limitando a frutificação e causando um custo indireto para o mutualismo.

A frutificação da maioria das espécies vegetais nos trópicos depende da polinização biótica (Ollerton et al. 2011). Por exemplo, plantações de café podem ter um incremento de 30% na frutificação em fazendas com alta abundância de polinizadores (Hipólito, et al. 2018). A dependência da sociedade humana pelos serviços de polinização animal demonstra a importância dessa interação para a economia mundial, com um benefício de 153 bilhões de euros anualmente (Ollerton et al., 2011). No Brasil, esse benefício foi calculado em 43 bilhões de reais (cerca de 11.5 bilhões de dólares) para o ano de 2018 e mais de um terço dos principais cultivos do país têm uma dependência essencial dos polinizadores (Wolowski, et al. 2018).

Considerando que *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae) é uma espécie vegetal abundante no Cerrado, com a frutificação incrementada pela presença de abelhas (Torezan-Silingardi et al., artigo em preparação), e com visita simultânea por formigas (atraídas por herbívoros trofobiontes e NEFs) e polinizadores (Torezan-Silingardi, 2007), o objetivo deste

estudo foi investigar o impacto das formigas visitantes de inflorescências de *B. malifolia* sobre a visitação floral por possíveis polinizadores, o tempo gasto em cada visita e a formação de frutos. Foi testada a hipótese de que as formigas visitantes interferem negativamente na visitação, hesitação, tempo gasto pelos polinizadores e frutificação por afugentarem e/ou inibirem os polinizadores específicos.

As seguintes hipóteses foram testadas:

1. A presença de formigas (modelos artificiais) sobre as pétalas influencia na frequência da visita, na taxa de hesitação e no tempo gasto sobre a flor pelos polinizadores.
2. A presença de formigas (modelos artificiais) influencia no sucesso reprodutivo, medido pela formação de frutos.
3. Plantas com círculos de plástico (modelos artificiais) não sofrem as mesmas influências na visita, na hesitação, no tempo gasto sobre as flores e na frutificação, que as plantas com formigas artificiais.
4. O mutualismo protetivo entre formigas e plantas tem como contrapartida a inibição da ação de polinizadores, dependendo das espécies envolvidas.

METODOLOGIA

Área de estudo

O estudo de campo foi realizado de março a maio de 2018 em uma área de savana tropical, no cerrado brasileiro, dentro da reserva ecológica do Clube Caça e Pesca Itororó na cidade de Uberlândia, estado de Minas Gerais, Brasil (18° 59' S, 48° 18' W) (Fig. 1). Esta região possui duas estações bem definidas, chuvosa, com clima quente e úmido de outubro a março, precipitação média de 270 ± 50 mm e temperatura média de $23 \pm 5^\circ\text{C}$, e seca, com o clima frio e seco de abril a setembro, precipitação média de 22 ± 20 mm e temperatura média de $19 \pm 3^\circ\text{C}$ (Vilela, et al. 2017), configurando o clima do tipo Aw de Köpen. A reserva ecológica está cercada por pastagens e propriedades com diferentes níveis de conservação das áreas naturais.



FIGURA 1 - Imagem de Satélite mostrando o transecto utilizado durante a pesquisa na reserva Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (Fonte: Google Maps)

Planta modelo

Banisteriopsis malifolia (Nees & Mart.) B. Gates é uma planta arbustiva da família Malpighiaceae, comum em áreas de cerrado, e sua floração é de março a junho (Vilela, et al. 2014). Apresenta inflorescência do tipo panícula, sendo que as flores oferecem óleo e pólen aos visitantes florais e possuem cinco pétalas longipedunculadas (Vogel, 1974). A flor pode gerar de um a três frutos esquizocárpicos do tipo samarídeo (Barroso et al. 1999) dispersos

pelo vento e a filotaxia é alterna. Exsicatas foram depositadas no Herbário Uberlandensis sob número HUFU 00013413.

Experimento

Para testar as nossas hipóteses, foram marcados ao longo de um transecto de 3 Km, 48 indivíduos de *B. malifolia*, com altura semelhante, com as mesmas características fenológicas e separados em pelo menos 10 metros entre si, todos apresentando ramos reprodutivos. Os indivíduos foram separados, de forma aleatória, em quatro grupos, conforme descrito abaixo:

1. Controle (C) – Neste tratamento, foi aplicada a resina *Tanglefoot* (Tree Tanglefoot® pest barrier - Rapids, Michigan, USA) na metade da circunferência da base do caule, para controlar um possível efeito da resina na planta ou nos animais. Dessa forma, o acesso de formigas e outros artrópodes era mantido. Foram marcados 65 botões florais, utilizando-se linhas de algodão e foram quantificadas as taxas de visitação e de hesitação (se o visitante pousa diretamente na flor ou hesita, para e se dirige a outra flor), o tempo de visita gasto pelos polinizadores para visitar cada flor e a formação de frutos.
2. Isolamento completo (I) – Neste grupo, o mesmo procedimento do grupo controle e a mesma coleta de dados foram realizados, porém, essas plantas receberam na sua base, a 10 cm do solo, a aplicação da resina *Tanglefoot* (sobre uma fita adesiva) em toda a circunferência do caule, que impede o acesso de formigas às plantas. A seguir, as formigas foram removidas manualmente dos vegetais. Também foram removidas as vegetações do entorno para evitar a formação de pontes de contato.
3. Formigas Artificiais (FA) – Este grupo também recebeu a mesma manipulação experimental e as mesmas observações que o grupo Isolamento Completo, porém, foram coladas formigas artificiais feitas de plástico preto sobre as pétalas das flores, utilizando-se cola comum branca de papel (Fig. 2 A). Foi escolhido esse modelo pelo fato de que formigas pretas são as mais comuns forrageando essa planta (Fig. 3). As formigas artificiais foram removidas no fim de cada observação.
4. Círculos de Plástico (CP) – Neste grupo, foi feito o mesmo procedimento realizado com o grupo Formigas Artificiais. Porém, foram colocados círculos de plástico preto,

do mesmo material das formigas artificiais, sobre as pétalas das flores (Fig. 2 B). Foram realizadas as mesmas observações dos grupos anteriores para este grupo.

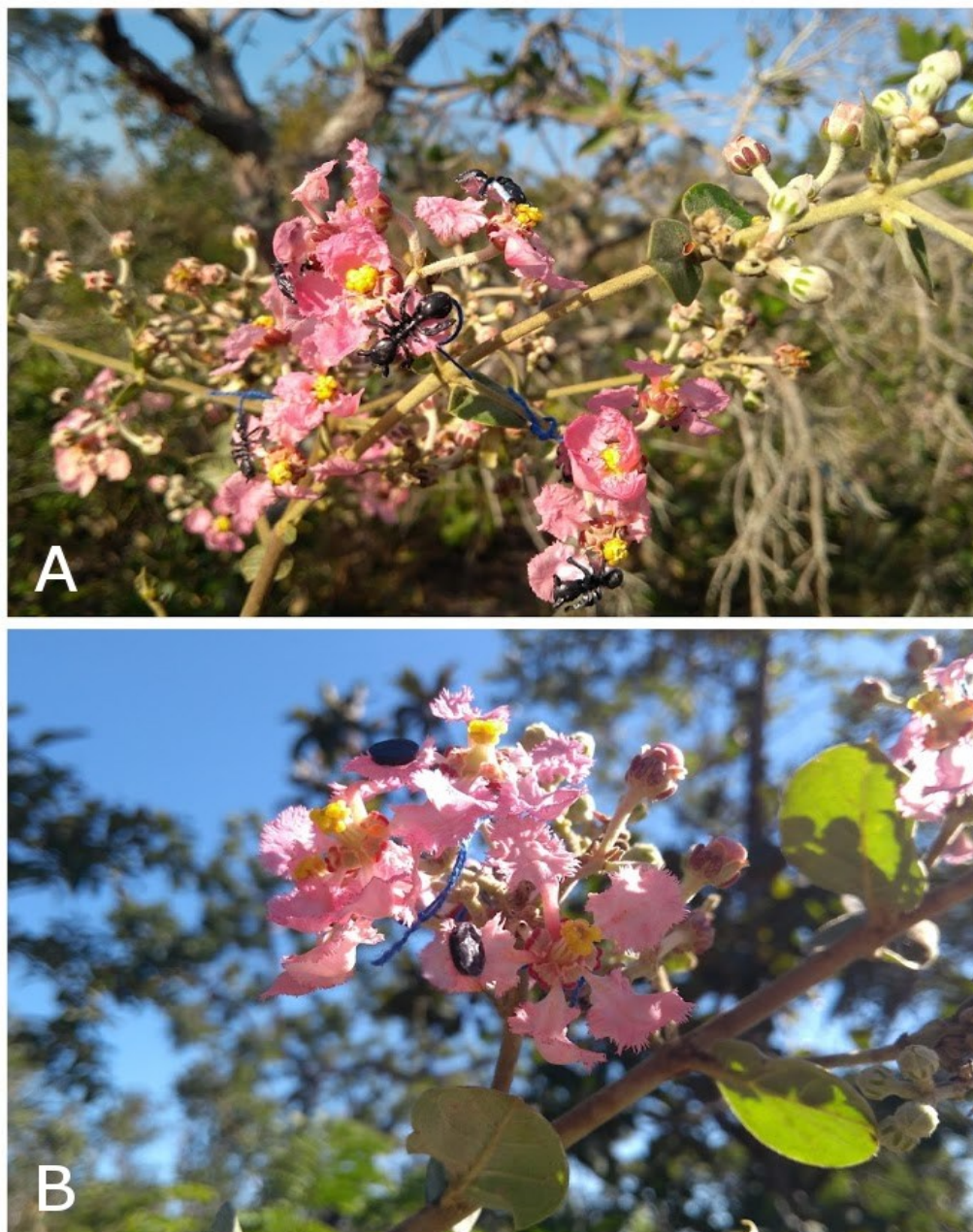


FIGURA 2 - Flores de *Banisteriopsis malifolia*, destacando os tratamentos Formigas Artificiais (A) e Círculos de Plástico (B)



FIGURA 3 - Formiga preta (*Camponotus crassus*) encontrada frequentemente forrageando as plantas do estudo

Em todos os grupos, os botões florais foram marcados com linhas de algodão para garantir que a antese da flor pesquisada não ocorreu antes de sua observação. Além disso, os botões florais em pré-antese foram previamente ensacados com sacos de Voile e a visitação pelos polinizadores só foi permitida no momento da atividade de campo. Após os experimentos, as flores foram ensacadas novamente. Após cerca de 20 a 30 dias, foram contados os frutos formados em cada grupo. Cada tratamento teve 12 plantas e 65 flores analisadas, dando um total de 48 arbustos e 260 flores no experimento todo.

A taxa de visitação foi contabilizada contando-se o número de abelhas visitantes florais que foram observadas coletando recursos como óleo e pólen sobre as flores. O tempo de duração das visitas nas flores foi determinado com o uso de um cronômetro (Sport Timer). A contabilização dos frutos formados foi feita no campo. A taxa de hesitação foi contabilizada contando-se o número de polinizadores que voaram em direção à flor, se aproximaram, porém, sem realizar a visita floral.

Análise estatística

Os dados foram analisados no programa Bioestat 5.3, onde foi feita uma análise com teste de qui-quadrado para comparar os comportamentos de visitação e de hesitação de polinizadores entre os grupos, uma análise com teste G de independência para comparar a frutificação entre os quatro grupos estudados. Testada a normalidade dos dados (Lilliefors), foi feita uma análise de ANOVA para comparar o tempo de visita floral pelos polinizadores entre os quatro grupos.

RESULTADOS

O período de maior visitação das flores pelos polinizadores ocorreu entre 8h e 11h, por isso as coletas de dados se concentraram na parte da manhã. A frequência de visitação nas flores foi dependente do tratamento feito em cada grupo ($\chi^2 = 127.315$, d.f = 3, $p < 0.0001$). O grupo Formigas Artificiais apresentou a menor taxa de visitação quando comparado aos demais grupos, indicando que a presença constante de formigas inibe a ação de visitantes florais. Já os tratamentos Isolamento e Círculos de Plástico tiveram a maior taxa de visitação entre todos, não diferindo estatisticamente entre si, sendo o grupo controle o intermediário, apresentando mais visitas que Formigas Artificiais e menos visitas que Isolamento e Círculos de Plástico (Fig. 4).

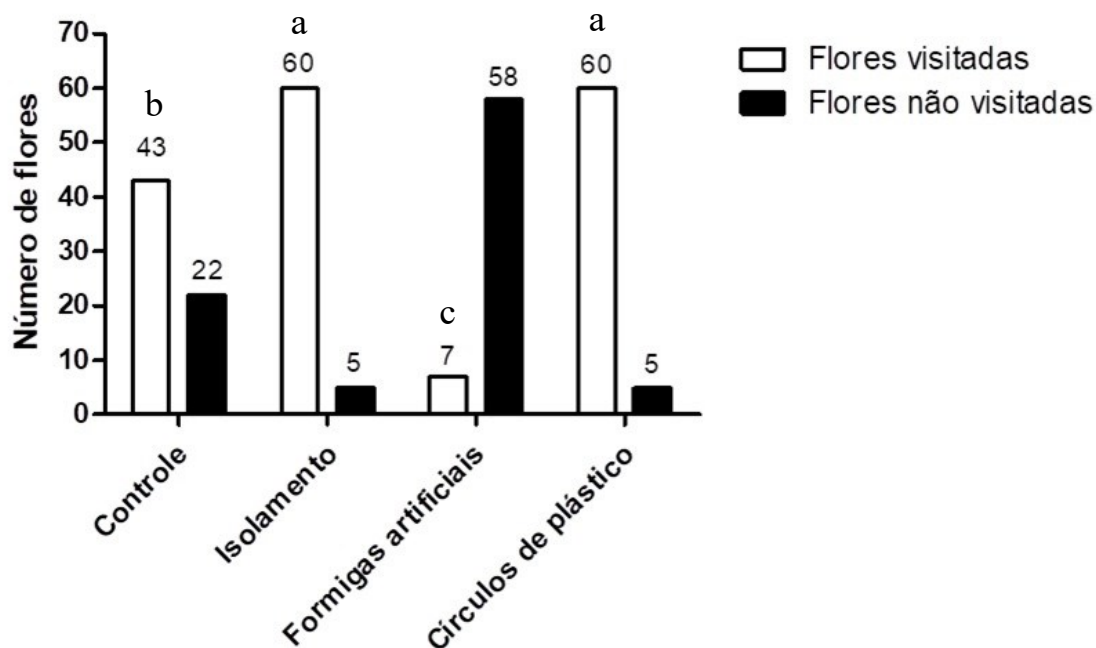


FIGURA 3 - Gráfico de barras representando o número de flores que receberam ou não visita de polinizadores, em cada tratamento. Tratamentos diferem entre si por letras diferentes. Qui-quadrado ($\chi^2 = 127.315$, d.f = 3, $p < 0.0001$).

A frequência de hesitações nas visitas às flores foi também dependente do tratamento ($\chi^2 = 120.865$, d.f. = 3, $p < 0.0001$). Os grupos Isolamento, Controle e Círculos de Plástico não apresentaram diferença significativa nessa variável. Já o grupo Formigas Artificiais teve uma maior taxa de hesitação nas visitas feitas pelos potenciais polinizadores em relação aos outros três grupos (Fig. 5).

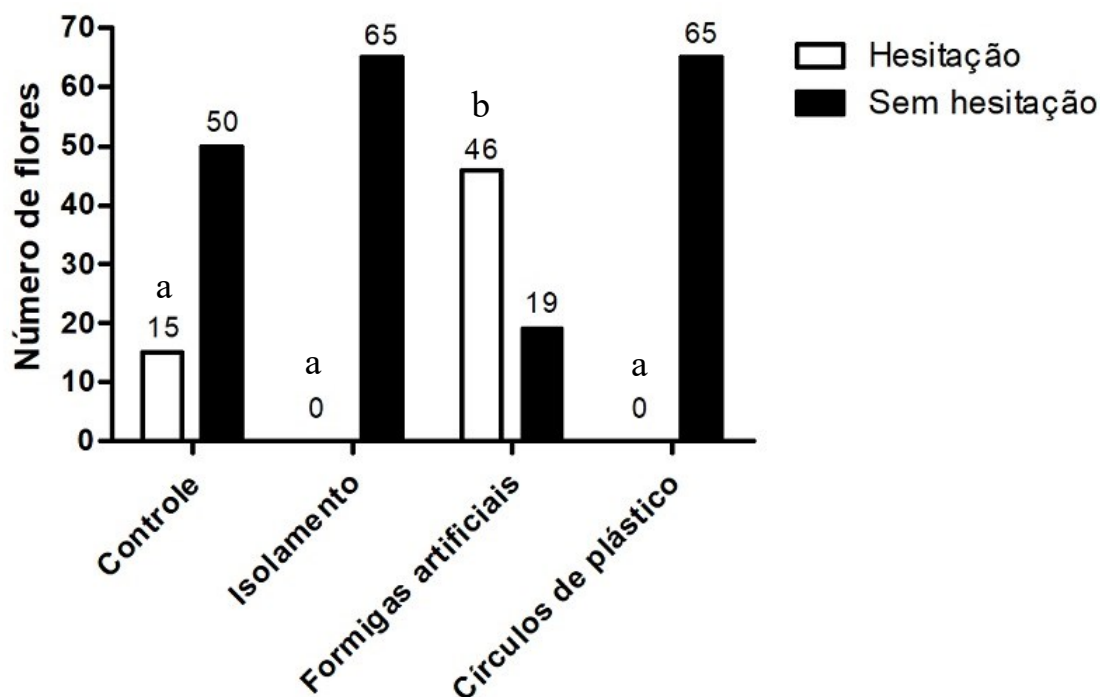


FIGURA 4 - Gráfico de Barras representando o número de flores que tiveram ou não hesitação dos polinizadores, em cada tratamento. Tratamentos diferem entre si por letras diferentes. Qui-quadrado ($\chi^2 = 120.865$, d.f. = 3, $p < 0.0001$).

O tempo de visita também foi dependente do tratamento ($F_{2,27} = 4.2624$, $p = 0.0240$), sendo que, no grupo Controle, os polinizadores gastavam significativamente menos tempo em relação ao grupo Isolamento (confirmado por Tukey, $p < 0.05$) mas não em relação ao grupo Círculos de Plástico. Nos grupos Isolamento e Círculos de Plástico, os visitantes florais não apresentaram diferença significativa em relação ao tempo de visita. Antes de submeter os dados ao teste de ANOVA, a normalidade dos mesmos foi testada utilizando-se um teste de Lilliefors (a um nível de significância de 5 %: $p = 0.2580$), comprovando a normalidade dos dados. O grupo Formigas Artificiais não entrou na estatística de tempo, pois o número de visitas deste grupo foi tão baixo que não houve medições suficientes de tempo para uma análise (Fig. 6).

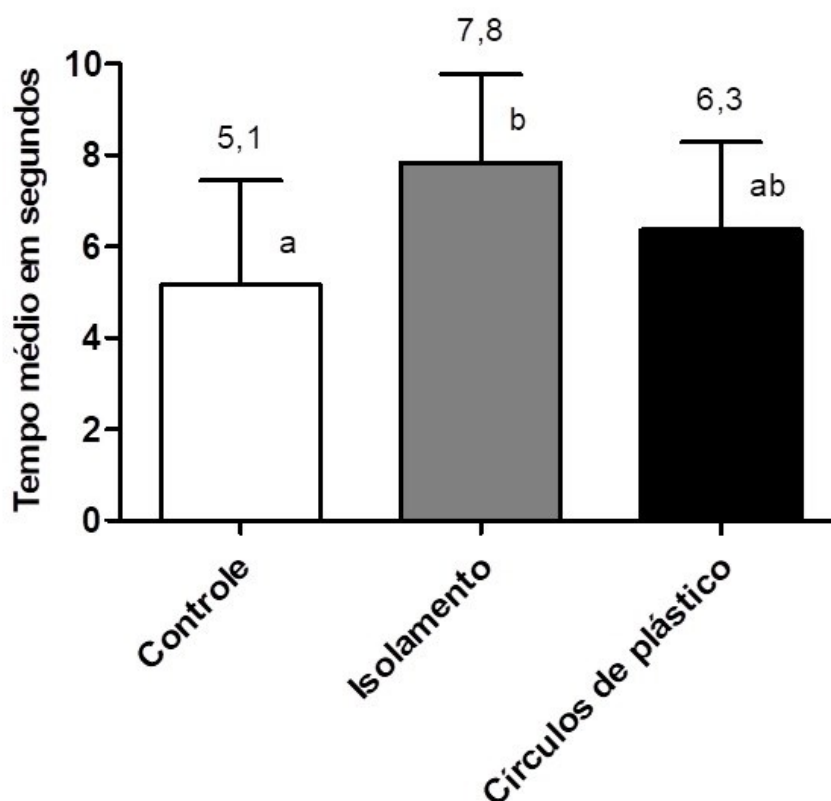


FIGURA 6 - Gráfico de Barras representando o tempo médio, em segundos, gasto pelos polinizadores nas visitas das flores. As barras representam a média e as linhas em cima representam o erro padrão da média. ANOVA ($F_{2,27} = 4.2624$, $p = 0.0240$). Letras diferem entre si pelo teste de Tukey. O grupo “Formigas artificiais” não pôde ser analisado dado o reduzido número de visitas.

A taxa de frutificação também dependeu do tratamento utilizado ($G = 8.084$, d.f. = 3, $p = 0.0443$, Fig. 7), sendo que Controle, Isolamento e Círculos de Plástico não apresentaram diferença significativa nessa variável, enquanto que o grupo Formigas Artificiais teve uma taxa de frutificação significativamente menor do que os outros grupos.

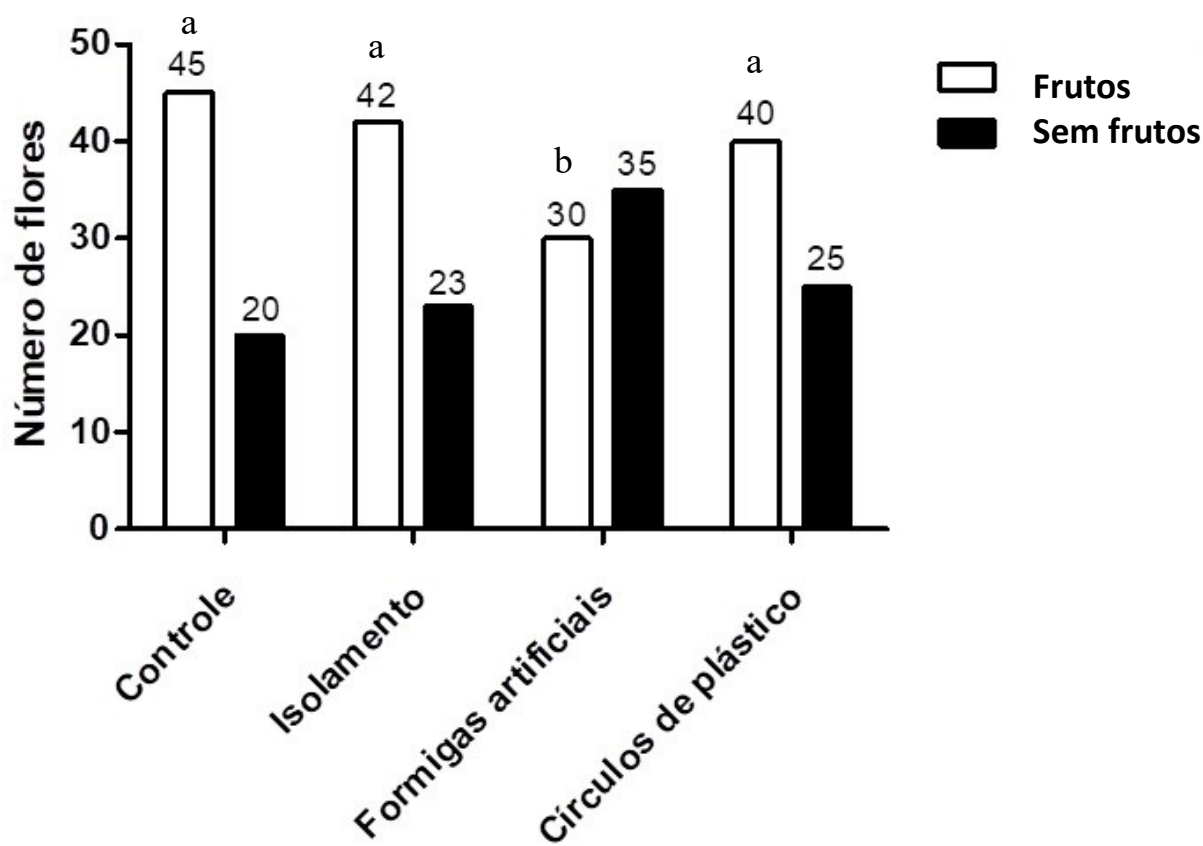


FIGURA 7 - Gráfico de barras, representando o número de flores que frutificaram ou não, em cada tratamento. Tratamentos diferem entre si por letras diferentes. Teste G de independência ($G = 8.084$, d.f. = 3, $p = 0.0443$).

DISCUSSÃO

Nosso estudo mostrou que quando as formigas visitantes de NEFs (grupo formigas artificiais) permanecem sobre as flores, elas têm um efeito negativo na visitação por afetar os polinizadores e a consequente frutificação das plantas. O somatório dos resultados do comportamento de hesitação, com os de visitas efetivas e formação de frutos, corroboram a hipótese de que pode haver custos (efeitos colaterais) nesse mutualismo protetivo. Esses resultados estão de acordo com o trabalho de Assunção et al. (2014), no qual o tratamento com formigas artificiais também influenciou negativamente as visitas dos polinizadores e levou a uma menor frutificação nas flores de outra Malpighiaceae, *Heteropterys pteropetala*, na mesma área de estudo. O grupo controle do presente estudo não apresentou diferença significativa nas taxas de frutificação em relação aos grupos Isolamento e Círculos de Plástico e o grupo Formigas Artificiais foi o que apresentou as menores taxas de frutificação, o que

também confirma os resultados obtidos por Assunção et al. (2014). Porém, o nosso estudo apresentou um resultado interessante não demonstrado por Assunção et al. (2014). O grupo Controle teve uma menor taxa de visitação em relação a Isolamento e Círculos de Plástico, o que demonstra que a presença das formigas naturais pode afetar as taxas de polinização de *B. malifolia*. Além disso, os polinizadores também gastaram menos tempo visitando as plantas do grupo controle em relação ao grupo isolamento, o que demonstra que a presença de formigas pode afugentar os possíveis polinizadores da espécie estudada, fazendo com que os mesmos façam uma polinização mais rápida para evitar um possível confronto com as formigas presentes nas plantas.

Dessa forma, a nossa primeira hipótese foi confirmada e o grupo Formigas Artificiais apresentou uma menor frequência de visitas e mais hesitação perante um possível predador, em relação aos outros grupos. A segunda hipótese também foi confirmada, porque o grupo Formigas Artificiais influenciou negativamente a frutificação das plantas. E, finalmente, confirmamos também a terceira hipótese, porque o grupo Círculos de Plástico apresentou maiores taxas de visita e frutificação, além de menores taxas de hesitação em relação ao grupo Formigas Artificiais, não sofrendo as mesmas influências desse grupo. Tendo em vista que o grupo Círculos de Plástico teve mais visitas, nenhuma hesitação e maior frutificação em relação ao grupo Formigas Artificiais e que essas peças são feitas do mesmo material plástico e da mesma cor preta, podemos afirmar que os polinizadores foram capazes de reconhecer o formato das formigas (Fig. 8), diferenciando claramente sua aparência, confirmando o que foi encontrado por Assunção et al. (2014). Dessa forma, as abelhas apresentaram um comportamento de evitação em relação ao grupo Formigas Artificiais.



FIGURA 8 - Abelha coletando óleo, em uma das flores do grupo Círculo de Plástico, demonstrando que os visitantes florais não hesitam frente às flores com esse tratamento. Também é possível ver uma quantidade significativa de pólen armazenado nas patas traseiras.

Outra observação que fizemos foi que quando as formigas estavam próximas das flores ou até mesmo em cima delas (Fig. 9), os polinizadores hesitavam mais para fazer a visita floral, mostrando assim um comportamento que pode auxiliar a evitar a predação. Dessa forma, nas plantas do grupo Controle que abrigavam uma quantidade maior de formigas, os polinizadores apresentaram maior hesitação do que em plantas que abrigavam menos formigas, o que pode significar que a densidade de formigas por planta também influencia nas taxas de visitas e hesitações.



FIGURA 9 - Flor de *B. malifolia*, destacando a presença de uma formiga sobre as pétalas da flor.

Barônio e Del-Claro (2017) também constataram que as formigas afugentam e predam polinizadores de *B. malifolia*, reduzindo sua frequência de visitas e sua frutificação. Porém, podem também ter um efeito positivo, quando atacam principalmente as abelhas pequenas, reduzindo a sobreposição de nichos das abelhas maiores, que, normalmente, são os polinizadores efetivos de *Malpighiaceae*.

Nossos resultados, de maneira geral, demonstram que o mutualismo formiga-planta pode ter um impacto negativo nas taxas de polinização e de frutificação, reduzindo as capacidades reprodutivas e o fitness de *B. malifolia*. Apesar de bem documentado na literatura sobre os efeitos positivos desse mutualismo para a planta na defesa contra herbívoros (e.g. Nascimento; Del-Caro, 2010; Fagundes, et al., 2017), esses efeitos benéficos da presença de formigas para proteger as plantas contra herbívoros já foram questionados em vários estudos.

Alves-Silva et al. (2014), por exemplo, não constataram uma defesa efetiva contra besouros (em especial gorgulhos) pela formiga *Camponotus blandus* em *B. malifolia*. Em outro estudo (Alves-Silva; Del-Claro, 2015), envolvendo as plantas *B. malifolia*, *B. laevifolia* e *B. stellaris*, a formiga *C. blandus* também foi ineficaz em proteger as plantas contra Thrips, que conseguiam se esconder em fendas dos botões florais. Apenas em *B. stellaris*, no qual os botões não possuíam as tais fendas, impedindo que os Thrips conseguissem se esconder, que as formigas foram realmente eficazes na defesa contra herbivoria causada por esses insetos.

Quando ocorrem queimadas em regiões do Cerrado, algumas plantas podem rebrotar e produzir mais NEFs, atraindo formigas e Thrips, como no caso de *B. malifolia*, em um estudo (Alves-Silva, Del-Claro, 2014) em que *Camponotus crassus* também não foi eficaz em proteger as plantas contra Thrips herbívoros, que inclusive secretavam uma substância de seu abdômen que afastava as formigas. Em outro estudo desses autores (Alves-Silva, Del-Claro, 2016), foi demonstrado que vespas (*Brachygastra lecheguana*) podem ter também um importante papel na defesa contra herbívoros de *Ouratea spectabilis*, auxiliando na defesa já proporcionada por *Pseudomyrmex gracilis*, inclusive tendo predado mais larvas de gorgulhos que as formigas (88%).

Byk e Del-Claro (2010) demonstraram que *Cephalotes pusillus* não proveu nenhuma proteção contra herbivoria foliar em *Ouratea spectabilis*, apesar de terem auxiliado na frutificação e na produção de sementes, juntamente com a presença de outras formigas, além de *C. pusillus*. Apesar disso, *C. pusillus* ganha um incremento na sobrevivência, crescimento e reprodução quando possui à disposição uma dieta com néctar extrafloral (Byk, Del-Claro, 2011).

Podemos perceber a quantidade de estudos que demonstram que os efeitos positivos do mutualismo formiga-planta podem ser muito reduzidos ou nulos, quando as formigas que forrageiam são ineficientes em proteger contra os herbívoros (Byk; Del-Claro, 2010, Alves-Silva et al., 2014, Alves-Silva; Del-Claro, 2014, Alves-Silva; Del-Claro, 2015, Alves-Silva, Del-Claro, 2016). Além disso, essas formigas podem atacar polinizadores e reduzir as taxas de polinização e de frutificação (como em nosso estudo e em Assunção, et al. 2014). Dessa forma, esse mutualismo facultativo pode, aos poucos, perder força na seleção natural e decrescer em alguns grupos de plantas.

Apesar de ter recebido significativamente menos visitas em relação aos grupos Isolamento e Círculos de Plástico, o grupo Controle não apresentou diferença significativa na taxa de frutificação, sendo inclusive o grupo que apresentou a maior frutificação entre todos. Isso pode ser explicado pelo fato de que as flores de *B. malifolia* podem se reproduzir por

autopolinização espontânea, sem a necessidade de um agente polinizador (informação de Torezan-Silingardi). Porém, já está bem relatado na literatura que a autopolinização nas plantas pode provocar depressão por endogamia (Franzon, et al. 2010 e Herlihy; Eckert, 2002), pois a redução do fluxo gênico entre indivíduos diferentes de uma espécie leva à diminuição da variação genética natural das espécies, o que pode ser prejudicial no caso de uma mudança climática mais brusca.

O presente estudo foi importante para demonstrar os efeitos negativos da presença de formigas sobre o serviço de polinização nas flores de *B. malifolia*. E, considerando-se a importância que os polinizadores têm na reprodução das plantas, reduzindo a depressão por endogamia e aumentando a diversidade genética (essencial em um hábitat que está em constante mudança, como o Cerrado), percebe-se a importância de trabalhos que investigam os serviços de polinização e seus interagentes.

CONCLUSÃO

Dessa forma, percebemos que a presença de formigas sobre a flor pode afetar negativamente as taxas de polinização, diminuindo a frequência de visitas, aumentando a frequência de hesitações, reduzindo o tempo gasto pelos polinizadores na flor e diminuindo as taxas de frutificação, o que pode afetar a habilidade competitiva das plantas, fator essencial em um ambiente que está em rápida degradação, como o Cerrado. Trabalhos como esse, que investigam os serviços de polinização e suas consequências, são cada vez mais necessários para aumentar nossa compreensão nessas relações tritróficas entre plantas-polinizadores-predadores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves-Silva, E., Bächtold, A., Barônio, G.J., Torezan-Silingardi, H.M., Del-Claro, K., 2014. Ant-herbivore interactions in an extrafloral nectaried plant: are ants good plant guards against curculionid beetles? *Journal of Natural History* 49, 841–851. <https://doi.org/10.1080/00222933.2014.954020>

- Alves-Silva, E., Del-Claro, K., 2014. Fire triggers the activity of extrafloral nectaries, but ants fail to protect the plant against herbivores in a neotropical savanna. *Arthropod-Plant Interactions* 8, 233–240. <https://doi.org/10.1007/s11829-014-9301-8>
- Alves-Silva, E., Del-Claro, K., 2015. On the inability of ants to protect their plant partners and the effect of herbivores on different stages of plant reproduction. *Austral Ecology* 41, 263–272. <https://doi.org/10.1111/aec.12307>
- Alves-Silva, E., Del-Claro, K., 2016. Wasps are better plant-guards than ants in the extrafloral nectaried shrub *Ouratea spectabilis* (Ochnaceae). *Sociobiology* 63, 705–711. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v63i1.908>
- Amorim, F.W., Galetto, L., Sazima, M., 2012. Beyond the pollination syndrome: nectar ecology and the role of diurnal and nocturnal pollinators in the reproductive success of *Inga sessilis* (Fabaceae). *Plant Biology* 15, 317–327. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00643.x>
- Angeloni, F., Ouborg, N.J., Leimu, R., 2011. Meta-analysis on the association of population size and life history with inbreeding depression in plants. *Biological Conservation* 144, 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.08.016>
- Assunção, M.A., Torezan-Silingardi, H.M., Del-Claro, K., 2014. Do ant visitors to extrafloral nectaries of plants repel pollinators and cause an indirect cost of mutualism? *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 209, 244–249. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2014.03.003>
- Barônio, G.J., Del-Claro, K., 2017. Increase in ant density promotes dual effects on bee behaviour and plant reproductive performance. *Arthropod-Plant Interactions* 12, 201–213. <https://doi.org/10.1007/s11829-017-9573-x>
- Barroso, G.M., Morim, M.P., Peixoto, A.L., Ichaso, C.L.F., 1999. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de Dicotiledôneas. UFV, Viçosa.
- Byk, J., Del-Claro, K., 2010. Nectar- and pollen-gathering *Cephalotes* ants provide no protection against herbivory: a new manipulative experiment to test ant protective capabilities. *Acta Ethologica* 13, 33–38. <https://doi.org/10.1007/s10211-010-0071-8>
- Byk, J., Del-Claro, K., 2011. Ant–plant interaction in the Neotropical savanna: direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. *Population Ecology* 53, 327–332. <https://doi.org/10.1007/s10144-010-0240-7>
- Dafni, A., 1992. *Pollination Ecology: A Practical Approach*. Oxford University Press, Oxford.

- Del-Claro, K., Torezan-Silingardi, H.M., 2009. Insect-plant interactions: new pathways to a better comprehension of ecological communities in Neotropical savannas. *Neotropical Entomology* 38, 159–164. <https://doi.org/10.1590/s1519-566x2009000200001>
- Del-Claro, K., Rico-Gray, V., Torezan-Silingardi, H.M., Alves-Silva, E., Fagundes, R., Lange, D., Dáttilo, W., Vilela, A.A., Aguirre, A., Rodriguez-Morales, D., 2016. Loss and gains in ant–plant interactions mediated by extrafloral nectar: fidelity, cheats, and lies. *Insectes Sociaux* 63, 207–221. <https://doi.org/10.1007/s00040-016-0466-2>
- Fagundes, R., Dáttilo, W., Ribeiro, S.P., Rico-Gray, V., Jordano, P., Del-Claro, K., 2017. Differences among ant species in plant protection are related to production of extrafloral nectar and degree of leaf herbivory. *Biological Journal of the Linnean Society* 122, 71–83. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blx059>
- Franzon, R.C., Gonçalves, R.D.S., Antunes, L.E.C., Raseira, M.D.C.B., 2010. Propagação vegetativa de genótipos de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) do Sul do Brasil por enxertia de garfagem. *Revista Brasileira de Fruticultura* 32, 262–267. <https://doi.org/10.1590/s0100-29452010005000003>
- Gottsberger, G., Silberbauer-Gottsberger, I., 2006. Life in the cerrado: a South American tropical seasonal ecosystem. Selbstverl.
- Herlihy, C.R., Eckert, C.G., 2002. Genetic cost of reproductive assurance in a self-fertilizing plant. *Nature* 416, 320–323. <https://doi.org/10.1038/416320a>
- Hipólito, J., Boscolo, D., Viana, B.F., 2018. Landscape and crop management strategies to conserve pollination services and increase yields in tropical coffee farms. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 256, 218–225. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.09.038>
- Junker, R., Chung, A.Y.C., Blüthgen, N., 2007. Interaction between flowers, ants and pollinators: additional evidence for floral repellence against ants. *Ecological Research* 22, 665–670. <https://doi.org/10.1007/s11284-006-0306-3>
- Klink, C.A., Moreira, A.G., 2002. Past and Current Human Occupation and Land Use, in: Oliveira, P.S.; Marquis, R.J (Eds.), *The Cerrados of Brazil: Ecology and natural history of a Neotropical savanna*. Columbia University Press, New York, pp. 69-88. <https://doi.org/10.7312/oliv12042-004>
- Klink, C.A., Machado, R.B., 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conservation Biology* 19, 707–713. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00702.x>
- Myers, N., 1988. Threatened biotas: "Hot spots" in tropical forests. *The Environmentalist* 8, 187–208. <https://doi.org/10.1007/bf02240252>

- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B.D., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Nascimento, E.A.D., Del-Claro, K., 2010. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 205, 754–756. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2009.12.040>
- Ollerton, J., Winfree, R., Tarrant, S., 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120, 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>
- Rico-Gray, V., Oliveira, P.S., 2007. *The Ecology and Evolution of Ant-Plant Interactions*. Univ. of Chicago Press, Chicago. <https://doi.org/10.7208/chicago/9780226713540.001.0001>
- Torezan-Silingardi, H.M., 2007. A influência dos herbívoros florais, dos polinizadores e das características fenológicas sobre a frutificação das espécies da família Malpighiaceae em um cerrado de Minas Gerais. Dr. Sci. Thesis. Universidade de São Paulo, Brasil.
- Vilela, A.A., Torezan-Silingardi, H.M., Del-Claro, K., 2014. Conditional outcomes in ant–plant–herbivore interactions influenced by sequential flowering. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 209, 359–366. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2014.04.004>
- Vilela, A.A., Claro, V.T.S.D., Torezan-Silingardi, H.M., Del-Claro, K., 2017. Climate changes affecting biotic interactions, phenology, and reproductive success in a savanna community over a 10-year period. *Arthropod-Plant Interactions* 12, 215–227. <https://doi.org/10.1007/s11829-017-9572-y>
- Vogel, S., 1974. Ölblumen und ölsammelnde Bienen. *Tropische und subtropische Pflanzenwelt* 7, 285–547.
- Wolowski, M., Agostini, K., Rech, A.R., Varassin, I.G., Maués, M., Freitas, L., Carneiro, L.T., Bueno, R.O., Consolaro, H., Carvalheiro, L., Saraiva, A.M., Silva, C.I., 2019. Relatório Temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil. Plataforma Brasileira de Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos, pp. 8-178.