

Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Biologia
Ciências Biológicas

Ladiel Aparecido de Oliveira Filho

Interação entre larvas de *Rhinoleucophenga myrmecophaga* (Diptera: Drosophilidae) e formigas em frutos com nectários pericarpiais de *Cordia elliptica* (Rubiaceae) no cerrado

Orientador: Dr. Kleber Del Claro

Coorientador: Dr. Eduardo Calixto Soares

Uberlândia-MG
2019

LADIEL APARECIDO DE OLIVEIRA FILHO

Interação entre larvas de *Rhinoleucophenga myrmecophaga* (Diptera: Drosophilidae) e formigas em frutos com nectários pericarpiais de *Cordia elliptica* (Rubiaceae) no cerrado

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de graduação em Ciências Biológicas, do Instituto de Biologia Universidade Federal de Uberlândia – MG como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, sob a orientação do Professor Dr. Kleber Del Claro e Coorientação Dr. Eduardo Calixto Soares

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Ladiel Aparecido de Oliveira e Silvana Manuel Fagundes de Oliveira, por sempre estar ao meu lado, me motivando sempre em busca do melhor, por me apoiar nas decisões difíceis da vida e por me aconselhar da melhor maneira possível e sempre acreditar no meu potencial.

Agradecimento

Agradeço primeiramente a Deus, por ser minha fortaleza e refúgio e por sempre me dar forças quando preciso.

Agradeço a minha família por sempre estar ao meu lado, me apoiando, dando forças para seguir sempre em frente!

Agradeço aos padrões da minha mãe e pai, Rene Parrini, e Vera Maria de Moura Leme, por sempre se preocupar em me ajudar sempre que preciso e por sempre me dar força e apoio!

Agradeço aos meus amigos que me aturaram durante toda minha caminhada, me apoiando e sempre estando ao meu lado nos momentos mais difíceis longe da família, em especial “Casa do Zebu” ao Fernando Oliveira, Ivan Papani Basso, Marcelo de Vito Filho e ao Leonardo de Barros Sousa (Pupu) por se tornarem mais que companheiros de Rep, e sim irmãos que sempre está lá para ajudar e conversar sobre tudo, convivendo dia após dia como uma família construída em Uberlândia-MG

Agradeço aos melhores amigos que a Universidade poderia me apresentar, Anelise Gradovski Shreiber, Arthur Bezerra, Bruna Gentil, Júlia Inocência, Gabriel de Freitas Cantarim, Guilherme Fernandes de Jesus, Helvécio Mazon, Victória Marchetto Tavares e Maria Cecília, que sempre estão presentes ao meu lado em momentos bons e ruins sempre me ajudando com palavras de conforto e amor!

Agradeço a Turma 83 biológicas, a qual fiz parte durante minha graduação, em especial ao Gabriel Nogueira Melo, Thalys Felipe e ao João Vitor Rocha (Suricato) por comporem sempre a melhor equipe de apresentação de trabalho e melhores jogadores de truco que possa existir nesta Universidade!

Agradeço a cada Professor que moldou a minha vida, ensinando sempre com amor por sua profissão e dedicação aos seus alunos.

Agradeço ao meu coorientador Dr. Eduardo Calixto Soares, por ter aceitado me ajudar, a ter paciência, e ensinar sempre, me ajudando a melhorar a cada dia!

Agradeço ao meu Orientador Dr. Kleber Del Claro por ter aberto as portas do Laboratório de Ecologia Comportamental e Interações (LECI) e aceitado a me orientar e ajudar no desenvolvimento de todo o projeto.

Agradeço ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa de estudos e auxílio financeiro do programa de Iniciação Científica com parceria a FAPEMIG que possibilitou a dedicação integral ao programa de pós-graduação e ao desenvolvimento do projeto.

Agradeço a Reserva Particular do Patrimônio Natural do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU), por abrirem as portas, e possibilitarem o desenvolvimento de todo o projeto em sua área de reserva do Cerrado.

Agradeço a todos do Laboratório de Ecologia e Comportamental e Interações por seus conselhos e dicas, em especial ao Danilo Ferreira Borges dos Santos, por me ajudar e aconselhar durante os dias de campo sempre que possível!

Muito Obrigado a todos que fizeram parte durante esta jornada em minha vida!

Dúvidas nos tornam sábios, nos impulsionam a novas descobertas! Assim, enquanto estiver sobre dúvidas estarei feliz!

(Autor desconhecido)

SUMARIO:

DEDICATÓRIA.....	3
SUMARIO:.....	6
RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUÇÃO.....	9
JUSTIFICATIVA E OBJETIVO	11
MATERIAIS E MÉTODOS	12
ÁREA DE ESTUDO	12
ESPÉCIE DE PLANTA ESTUDADA.....	12
COLETA DE DADOS	12
DESIGN EXPERIMENTAL	12
MIRMECOFAUNA	13
VALOR ADAPTATIVO DA LARVA E DA PLANTA.....	13
ANÁLISE DOS DADOS	14
MIRMECOFAUNA	14
VALOR ADAPTATIVO DA LARVA E DA PLANTA.....	15
RESULTADOS	15
MIRMECOFAUNA	15
VALOR ADAPTATIVO DA LARVA E DA PLANTA.....	17
DISCUSSÃO	18
CONCLUSÃO.....	20
REFERÊNCIAS.....	20

RESUMO

Nectários extraflorais (NEFs) são estruturas de grande importância na interação inseto-planta, pois podem atrair formigas predadoras que defenderão as plantas contra o ataque de herbívoros. Entretanto, outros insetos se especializaram na utilização desse recurso, como é o caso de larvas de uma espécie de Diptera que se desenvolvem nos NEFs de algumas plantas e predam formigas que forrageiam nessas estruturas. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi verificar se as larvas de *Rhinoleucophenga myrmecophaga* (Diptera: Drosophilidae) apresentam algum efeito sobre o valor adaptativo (desenvolvimento e produção de frutos) de *Cordia elliptica* (Rubiaceae), uma planta de Cerrado. Adicionalmente, foi verificado se a ausência de formigas influencia no desenvolvimento e sobrevivência da larva. O estudo foi desenvolvido em uma área de cerrado sentido restrito, entre setembro de 2018 e janeiro de 2019, onde foi avaliado o desenvolvimento dos frutos e sementes, bem como o desenvolvimento e sobrevivência das larvas, em três grupos experimentais: com a presença de larvas da mosca e de formigas, sem a presença de formigas, e sem a presença de larvas. Os resultados mostraram que: o valor adaptativo de *C. elliptica* é negativamente influenciado pela presença das larvas de *R. myrmecophaga*; a presença de larvas diminuiu a abundância de formigas; a ausência de formigas influenciou negativamente no desenvolvimento das larvas; frutos com larvas e sem formigas apresentaram menor volume e peso. Assim, nós mostramos que os resultados da relação multitrófica entre formigas, larvas de *R. myrmecophaga*, e uma planta portadora de NEFs em frutos é diretamente e indiretamente influenciado pelas larvas predadoras, o que indica resultados condicionais dessa relação multitrófica.

Palavras-chave: Defesa biótica, Predação, Nectários extraflorais, Valor adaptativo da planta.

Abstract

Extrafloral nectaries (EFN) are very important structures in insect-plant interaction because they can attract predatory ants that will defend plants against herbivorous attack. However, other insects have specialized in the use of this resource, such as larvae of a species of Diptera that grow in the EFNs of some plants and prey on ants that forage in these structures. In this sense, the objective of this study was to verify if larvae of *Rhinoleucophenga myrmecophaga* (Diptera: Drosophilidae) have any effect on the fitness (development and production of fruits) of *Cordia elliptica* (Rubiaceae), a Cerrado plant. Additionally, it was verified if the absence of ants influences the larval development and survival. The study was carried out in a cerrado sensu stricto area between September 2018 and January 2019, where fruit development, as well as the development of *R. myrmecophaga* larvae, were evaluated in three experimental groups: with the presence of larvae of the fly, and adult ant workers; without the presence of ants; and without the presence of larvae. The results showed that: *C. elliptica* fitness is negatively influenced by the presence of *R. myrmecophaga* larvae; the presence of larvae decreased ant abundance; the absence of ants negatively influenced larval development; fruits with larvae and without ants presented lower volume and weight. Thus, we show that the results of the multitrophic relationship between ants, *R. myrmecophaga* larvae, and a plant bearing EFNs on fruits are directly and indirectly influenced by predatory larvae, which indicates conditional results of this multitrophic relationship.

Keywords: Biotic defense, Predation, Extrafloral nectaries, Parasitism, Plant fitness.

INTRODUÇÃO

Os ecossistemas são constituídos por uma vasta diversidade de organismos, os quais formam uma extensa rede de interações, resultando em interações desarmônicas, como as relações predador-presa e parasita-hospedeiro, ou harmônicas, como a relação mutualística entre insetos e plantas (DEL-CLARO; TOREZAN-SILINGARDI, 2012). Nesse último caso, a relação mutualística entre esses dois grupos, insetos e plantas, pode ser representada, principalmente, pela polinização e pela proteção de plantas por formigas. Formigas interagem com plantas desempenhando um papel defensivo contra o ataque de herbívoros, enquanto que plantas oferecem em troca recursos alimentares e/ou locais de nidificação (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2018; DEL-CLARO et al., 2016).

Plantas oferecem diferentes fontes de alimento para formigas, onde o principal recurso alimentar oferecido é o néctar extrafloral. Este líquido, o qual é secretado pelos nectários extraflorais (NEFs), é rico em carboidratos, mas pode apresentar outros compostos diluídos, como proteínas, lipídios, fenóis, alcaloides, enzimas e compostos orgânicos voláteis (GONZÁLEZ-TEUBER; HEIL, 2009; KOPTUR, 1994; NICOLSON; THORNBURG, 2007). Essas estruturas podem ser encontradas em diversas espécies de plantas vasculares, aproximadamente 4.000, representando cerca de 745 gêneros (WEBER; KEELER, 2013), onde esse número continua crescendo (PIRES et al., 2017). No Cerrado, esses NEFs representam de 8 a 31% dos indivíduos e de 15 a 26% das espécies da flora arbórea em regiões tropicais, especificamente de diferentes localidades do Cerrado (OLIVEIRA; LEITÃO-FILHO, 1987).

Devido a esse número de plantas extranectaríferas, a localização, estrutura e morfologia dessas glândulas também é bastante diversificada. Os NEFs podem ocorrer em diversas estruturas da planta acima do solo, inclusive em órgãos reprodutivos (DÍAZ-CASTELAZO et al., 2005; KOPTUR, 1992; OLIVEIRA; LEITÃO-FILHO, 1987). Algumas espécies de plantas apresentam NEFs nas sépalas, nos botões florais e inflorescências (DÍAZ-CASTELAZO et al., 2005; RICO-GRAY, 1989), ou mesmo em frutos, os quais são conhecidos como nectários pericarpiais – NPs (DEL-CLARO et al., 2013; WEBER; KEELER, 2013). Nectários pericarpiais ou nectários nupciais são estruturas que ocorrem em plantas que possuem nectários florais, e mesmo após a queda de sua corola, o anel séptico permanece e mantém seus nectários ativos sobre o ovário (Figura 1a) durante todas as etapas do desenvolvimento do fruto (DEL-CLARO et al., 2013). No caso de *Cordia elliptica* esta estrutura forma uma elevação sobre os frutos, que

continuam a produção ativa de néctar. Entretanto, independentemente da estrutura da planta onde são encontrados, formigas são atraídas pelo néctar e realizam comportamentos agressivos contra invasores herbívoros, diminuindo consideravelmente os danos em estruturas vegetativas e reprodutivas ocasionados por eles (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2015; LANGE; DEL-CLARO, 2014), influenciando diretamente na produção de frutos (NASCIMENTO; DEL-CLARO, 2010; TRAGER et al., 2010).

Além de atrair formigas, os NEFs também são um grande atrativo a uma alta diversidade de animais que se alimentam de seu néctar ou se aproveitam de seus visitantes (CALIXTO; SOUSA-LOPES; DEL-CLARO, 2018; VIDAL; SENDOYA; OLIVEIRA, 2016). Pode-se citar, por exemplo, insetos pertencentes às ordens Hymenoptera, Coleoptera, Diptera, Blattodea e Hemiptera. Além desses exemplos, aranhas também podem complementar sua alimentação consumindo néctar extrafloral, e fornecendo proteção para plantas (DEL-CLARO et al., 2017; NAHAS; GONZAGA; DEL-CLARO, 2012; SOUSA-LOPES et al., 2019). Recentemente uma nova espécie de mosca, *Rhinoleucophenga myrmecophaga* (Diptera: Drosophilidae), foi descrita no Cerrado brasileiro (VIDAL; VILELA, 2015), a qual foi vista se desenvolvendo nos NEFs de *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae) e predando as formigas mutualistas que eram atraídas em busca de recursos (VIDAL; SENDOYA; OLIVEIRA, 2016). Além disso, essa nova espécie de mosca foi vista em NPs (observações pessoais, Figura 1), localizados nos frutos de *Cordia elliptica* (Rubiaceae), conduzindo para o surgimento das seguintes questões: até que ponto as larvas de *R. myrmecophaga* podem afetar a relação mutualística formiga-planta? Será que elas causam algum efeito direto no valor adaptativo da planta devido sua localização? Será que a ausência de formigas, as quais parecem ser seu principal alimento, influenciam no valor adaptativo da mosca?



Figura 1 – Flor (~10mm de comprimento) e disco nectarífero produzindo néctar logo após a queda da flor, constituindo assim o nectário pericarpial – NP (a); *Crematogaster* sp. forrageando nos NPs (b); ovo (~1,5mm de comprimento) (c) e abrigo em estágio intermediário de desenvolvimento (~2mm de comprimento) (d) de *Rhinoleucophenga myrmecophaga* (Diptera: Drosophilidae) em *Cordia elliptica* (Rubiaceae) em uma área de cerrado brasileiro.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVO

A literatura revela a importância de estudar e entender as relações e as condicionalidades que existem dentro das interações, especialmente aquelas entre insetos e plantas com NPs no Cerrado, mostrando a interdependência entre as espécies e como as cadeias tróficas podem ser alteradas e/ou afetadas pelos seus interagentes. O objetivo principal deste estudo foi verificar como a presença das larvas de *R. myrmecophaga* pode influenciar o valor adaptativo de *Cordia elliptica*. A principal hipótese é que essas larvas causam efeitos negativos no valor adaptativo da planta, seja diretamente por drenar recursos que seriam alocados para o desenvolvimento dos frutos, ou indiretamente através da predação de formigas mutualísticas.

Desta maneira, buscou-se alcançar os seguintes objetivos específicos: (i) verificar se a riqueza e a abundância de formigas variam em plantas com e sem larvas; (ii) avaliar se a ausência de formigas interfere no valor adaptativo da larva, influenciando o tamanho do abrigo ao longo do tempo; e (iii) observar se a larva influencia no sucesso reprodutivo da planta através da avaliação do volume do fruto.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi desenvolvido na Reserva Particular do Patrimônio Natural do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU), Brasil (18°55'23" S e 48°17'19" W). A área está localizada no Cerrado, sendo a principal fitofisionomia o cerrado sentido restrito, composto por árvores entre 2 a 8 m de altura entremeadas por arbustos e gramíneas (ALVES-SILVA; BÄCHTOLD; DEL-CLARO, 2018; VILELA; TOREZAN-SILINGARDI; DEL-CLARO, 2014). O local apresenta duas estações bem definidas, sendo uma seca (de maio a setembro) e uma chuvosa (de outubro a abril) constituída por uma média anual de precipitação de 1550 mm e temperatura média de 22°C (REU; DEL-CLARO, 2005).

Espécie de planta estudada

A planta analisada no estudo pertence à família Rubiaceae, gênero *Cordia*, o qual compreende aproximadamente 25 espécies, apresenta uma ampla distribuição pelo território brasileiro, e seus representantes são compostos por árvores e arbustos (COBRA et al., 2015). A espécie escolhida para o estudo foi *Cordia elliptica*, uma espécie endêmica do Brasil, presente nas regiões da Amazônia, Cerrado e Caatinga. Está associada a margens de florestas estacionais e cerrados. Suas folhas apresentam aproximadamente 3,5 a 5 cm de comprimento (BORGES; JARDIM; ROQUE, 2017), sua floração ocorre entre os meses de setembro e fevereiro e frutificação entre os meses de outubro e fevereiro, e os frutos são do tipo baga (SOUSA; BAUTISTA; JARDIM, 2013).

Coleta de dados

Design experimental

Durante os meses de agosto de 2018 a janeiro de 2019, foram selecionados indivíduos de *C. elliptica* (o número de amostras está definido em cada um dos experimentos detalhados abaixo) pelo menos cinco metros de distância uns dos outros e com características fenológicas semelhantes (0,80 a 1,5 m de altura, 60 a 90 frutos por planta), os quais foram divididos em três tratamentos: plantas com a presença de larvas e formigas (Controle); plantas com a presença de formigas, mas sem a presença de larvas, as quais foram removidas manualmente e semanalmente (SL); plantas com a presença de larvas, mas sem a presença de formigas (SF). Para isolar as plantas no tratamento SF, foi utilizada uma faixa de resina Tanglefoot ao redor da base do caule de cada indivíduo (~15cm do solo), e removidos galhos que pudessem atuar como pontes para que as formigas chegassem até as plantas analisadas. Também foram aplicada uma pequena faixa da mesma resina nas plantas do grupo Controle e SL, mas sem impedir a passagem das formigas.

Mirmecofauna

Para avaliar a abundância e a diversidade da mirmecofauna associada aos NPs e às larvas de *R. myrmecophaga*, foram observados diferentes indivíduos dos tratamentos Controle (14 plantas), e SL (12 plantas), durante 5 minutos por indivíduo de 07:00 a 11:00 e de 14:00 a 18:00 horas. No total foram feitas quatro campanhas no período da manhã e três no período da tarde. Em cada avaliação, foi realizada a contabilidade da abundância e a riqueza de formigas. Foram coletados representantes da mirmecofauna, visitantes de cada planta, armazenado em potes preenchidos com álcool 70% e conduzidos para o Laboratório de Ecologia Comportamental e de Interações (LECI) na Universidade Federal de Uberlândia, onde foram identificados e depositados.

Valor adaptativo da larva e da planta

Nesse experimento e no início de agosto, foram marcados 30 indivíduos de *C. elliptica*, as quais foram conduzidas às mesmas manipulações experimentais dos tratamentos do tópico *Mirmecofauna* (Controle, SF, SL; 10 indivíduos por tratamento). Entretanto nem todos os indivíduos frutificaram, diminuindo o número de amostras. O tratamento Controle apresentou oito indivíduos, e o SF e SL apresentaram seis cada. Em cada planta, foram selecionados dois frutos com larva no tratamento Controle e SF, e dois frutos sem larva no tratamento SL, os quais

foram acompanhados em campo durante quatro semanas entre os meses de setembro e outubro. Todos os frutos e larvas estavam em estágio inicial de desenvolvimento (frutos: ~2mm de diâmetro; larvas: ~1mm de comprimento). Em cada análise foram avaliados o desenvolvimento da larva (apenas no caso do tratamento Controle e SF) e do fruto, através do comprimento do abrigo e do diâmetro do fruto, os quais foram medidos com auxílio de um paquímetro manual.

Análise dos dados

As análises estatísticas e gráficos foram realizados usando o software livre RStudio 3.6.1 a 5% de probabilidade. Em cada análises, foram verificados os resíduos para observar adequação do modelo (normalidade e homogeneidade de variância) e também se havia superdispersão dos dados. Modelos Lineares Generalizados Mistos (GLMM) foram utilizados através do pacote “lme4” (BATES et al., 2015). A função Anova foi usada para verificação de significância dos modelos através do pacote “car” (FOX; WEISBERG, 2011) e testes a posteriori foram conduzidos com o pacote “emmeans” (LENTH, 2018). NMDS (“Non-Metric Multidimensional Scaling”) e ANOSIM (“Analysis of Similarities”) com 999 permutações foram utilizados através do pacote “vegan” (OKSANEN et al., 2018)

Mirmecofauna

Para comparar a abundância da Mirmecofauna entre os tratamentos (Controle e SL) foi realizado uma análise considerando apenas formigas. Está análise foi realizada para avaliar o efeito direto das larvas sobre a abundância de formigas, já que as formigas parecem ser as principais presas das larvas (VIDAL; SENDOYA; OLIVEIRA, 2016). Então, foram utilizados a abundância total de formigas por planta na análise. GLMM com distribuição de Poisson seguido por teste de Wald foi aplicado para a análise. A abundância total de formigas por planta foram consideradas como variável resposta, os tratamentos foram considerados como variável preditora, e o momento de coleta (1|Coleta) foi ajustado como efeito aleatório para controlar medidas repetidas temporais.

Além disso, foi construída uma matriz de abundância baseada na interação entre as plantas de cada grupo e as espécies de formigas. Desta maneira, a diversidade da mirmecofauna entre os tratamentos foi comparada através de NMDS seguido por ANOSIM.

Valor adaptativo da larva e da planta

Para comparar se existe variação no tamanho da larva e do fruto em função do tempo e dos tratamentos, foi realizada primeiramente a média dos dados coletados nos dois frutos em cada planta, obtendo apenas um valor por planta. Então, calculado o valor do volume do abrigo através da fórmula de volume do cilindro ($V_{\text{cilindro}} = \pi r^2 h$; onde π representa 3,14, e “r” o raio e “h” a altura do abrigo da larva); e calculado o volume do fruto através da fórmula de volume da esfera ($V_{\text{esfera}} = (4\pi r^3)/3$; onde π representa 3,14, e “r” o raio do fruto medido horizontalmente). Essas fórmulas foram utilizadas devido ao formato do abrigo e do fruto (Figura 1d) e também como uma forma de padronizar a análise considerando as medidas avaliadas durante as coletas. Em seguida, foi utilizado um GLMM com distribuição de erro gaussiana seguido por teste de Wald, onde o volume do abrigo e do fruto foi ajustado como variável resposta. A interação dos tratamentos (Controle, SF e SL) e do momento de coleta (quatro coletas) foi considerada variável preditora. Foi também ajustado o momento de coleta como fator aleatório para controlar dependência temporal dos dados. Na análise do volume do abrigo, foram usados apenas os dados dos tratamentos Controle e SF, uma vez que o tratamento SL não apresentava larva (ver *Design experimental*).

Resultados

Mirmecofauna

Foi encontrado um total de 15 espécies de formigas distribuídas em seis subfamílias. As espécies mais abundantes foram *Azteca* sp. e *Camponotus crassus* em ambos tratamentos Controle e SL (Tabela 1).

A abundância total de formigas por planta variou significativamente entre os tratamentos (Figura 2). Plantas sem a presença de larvas, tratamento SL, apresentaram o dobro de formigas do que plantas com a presença de larvas, tratamento Controle [SL: $13,76 \pm 7,9$; Controle: $6,72 \pm 4,75$; média \pm Desvio padrão (DP)] (Figura 2). A diversidade de formigas variou significativamente entre os tratamentos (ANOSIM: 0,183, $p < 0,01$, stress = 0,25).

Tabela 1 – Abundância absoluta e relativa (%), e riqueza de formigas em diferentes tratamentos de *Cordia elliptica* (Rubiaceae) em área de cerrado. Controle – com larva e formiga, SL – sem larva. Ab.a – abundância absoluta, Ab.r – abundância relativa (%).

Subfamília Espécie	Controle		SL	
	Ab.a	Ab.r (%)	Ab.a	Ab.r (%)
Dolichoderinae				
<i>Azteca</i> sp.	116	34,8	130	22,5
<i>Dolichoderinae</i> sp.	0	0,0	17	2,9
Ectatomminae				
		0,0		0,0
<i>Ectatomma tuberculatum</i> (Olivier, 1792)	35	10,5	55	9,5
<i>Ectatomma</i> sp.1	10	3,0	17	2,9
<i>Ectatomma</i> sp.2	4	1,2	6	1,0
Formicinae				
<i>Brachymyrmex</i> sp.	30	9,0	71	12,3
<i>Camponotus blandus</i> (Smith, F. 1858)	24	7,2	57	9,8
<i>C. crassus</i> (Mayr, 1862)	59	17,7	102	17,6
<i>Camponotus</i> sp.	8	2,4	25	4,3
Myrmicinae				
<i>Cephalotes pusillus</i> (Klug, 1824)	10	3,0	17	2,9
<i>Crematogaster</i> sp.1	18	5,4	12	2,1
<i>Crematogaster</i> sp.2	12	3,6	19	3,3
Ponerinae				
<i>Neoponera rostrata</i> (Emery, 1890)	3	0,9	11	1,9
Pseudomyrmicinae				
<i>Pseudomyrmex</i> sp.	3	0,9	38	6,6
<i>Pseudomyrmex termitarius</i> (Smith, 1855)	1	0,3	2	0,3
Total	333	100	579	100

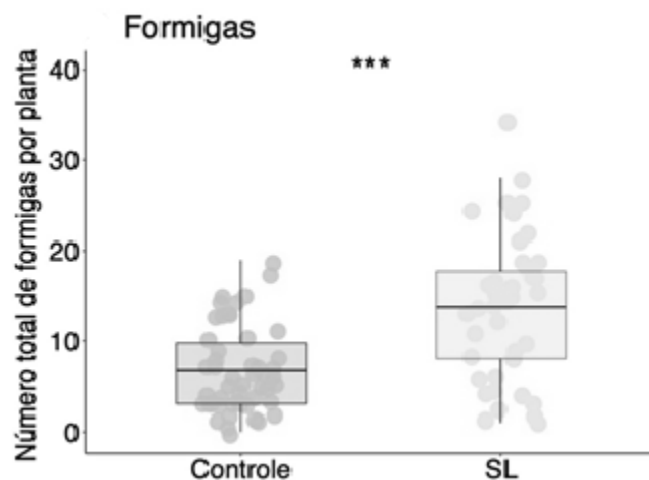


Figura 2 – Abundância total de formigas por planta em *Cordia elliptica* (Rubiaceae) nos diferentes tratamentos. Control – Com larva e formiga; e SL – Sem larva. Figuras representam boxplots com médias, whiskers e dados brutos. Letras diferentes diferem entre si através do cálculo das médias marginais estimadas.

Valor adaptativo da larva e da planta

O volume do abrigo apresentou diferença significativa entre os tratamentos Controle e SF (fator Grupo;). Por outro lado, o fator Coleta (semanas de coleta) e a interação de ambos não apresentaram resultado significativo. Foi observado que o volume dos abrigos no grupo Controle ($11,73 \pm 5,41 \text{ mm}^3$; média \pm DP) foi maior do que no grupo SF ($8,59 \pm 4,44 \text{ mm}^3$) (Figura 3a). Além disso, foi observado que o volume dos frutos de *C. elliptica* foram significativamente influenciados pela interação entre os tratamentos (fator Grupo) e o momento de coleta (fator Coleta), bem como pelos dois fatores isoladamente. Os frutos com os maiores valores de volume foram do tratamento SL ($21,17 \pm 16,3 \text{ mm}^3$; média \pm DP), seguido por Controle ($15,39 \pm 11,64 \text{ mm}^3$) e SF ($13,40 \pm 16,38 \text{ mm}^3$) respectivamente (Figura 3b).

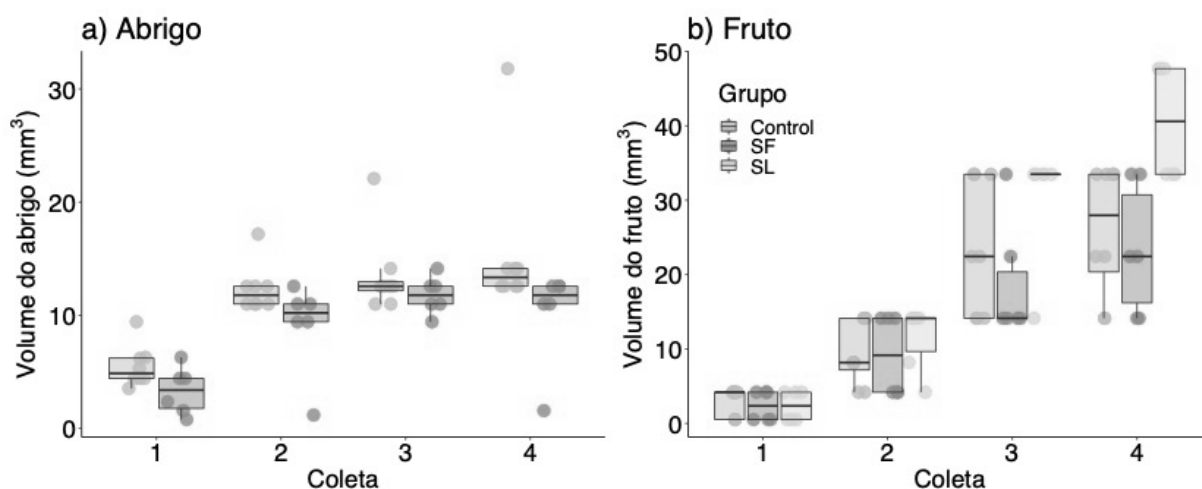


Figura 3 – Volume do abrigo (a) de *Rhinoleucophenga myrmecophaga* (Diptera) e do fruto (b) de *Cordia elliptica* (Rubiaceae) em diferentes tratamentos (fator Grupo) e ao longo do tempo (fator Coleta). Grupo: Control – Com larva e formiga; SF – Sem formiga; SL – Sem larva. Figuras representam boxplots com médias, whiskers e dados brutos.

Discussão

Os resultados mostraram que o valor adaptativo de *Cordia elliptica* é negativamente influenciado pela presença da larva de *R. myrmecophaga*, corroborando a principal hipótese desse estudo. Foi encontrado que: (i) a presença de larvas diminuiu a abundância de formigas; (ii) a ausência de formigas influenciou negativamente no volume do abrigo da larva; e (iii) frutos com larvas e sem formigas apresentaram menor volume. Assim, mostra-se que os resultados da relação multitrófica entre formigas, larvas de *R. myrmecophaga*, e uma planta portadora de NPs, é diretamente e indiretamente influenciado pelas larvas predadoras, o que indica resultados condicionais dessa relação multitrófica.

Observou-se uma alta representatividade de formigas coletando ou se alimentando no néctar pericarpial, especialmente por dois gêneros de formigas, *Azteca* e *Camponotus*. Byk e Del-Claro (BYK; DEL-CLARO, 2011) mostraram que colônias de formigas que se alimentam de néctar extrafloral apresentam impacto positivo em sua sobrevivência, crescimento e reprodução. Além disso, *Camponotus* é um gênero muito frequente em plantas com NEFs no Cerrado o que pode explicar essa alta representatividade nos resultados (ANJOS et al., 2017; LANGE et al.,

2019). Desta maneira, espera-se uma alta diversidade e abundância desses artrópodes consumidores de néctar pericarpial, como foi mostrado neste estudo.

A ausência de formigas influenciou negativamente no valor adaptativo da larva, mensurado através do volume do abrigo. Apesar de não selecionar suas presas e serem consideradas oportunistas (VIDAL et al., 2018), isto é, se alimentar de diferentes visitantes que ficam presos nos abrigos pegajosos, então percebe-se que as formigas são as presas mais capturadas pelas larvas, assim como mostrado por Vidal et al. (2018). Esse resultado pode estar ligado à alta abundância e frequência das formigas em plantas portadoras de NEFs e NPs (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2018; DEL-CLARO et al., 2016). Essas estruturas são frequentemente visitadas por formigas, uma vez que são fundamentais para o desenvolvimento das colônias (BYK; DEL-CLARO, 2011). Vidal et al. (2018) mostraram que as formigas são os visitantes mais comuns em NEFs de *Qualea grandiflora* Mart (Vochysiaceae), e dessa forma, seriam também mais capturadas devido sua abundância, em comparação com outros visitantes menos frequentes.

Além disso, pode-se afirmar que as formigas representam um recurso fundamental para o desenvolvimento da larva. Larvas do grupo Controle, as quais tiveram “acesso” a diferentes visitantes dos NPs, especialmente formigas, apresentaram uma melhor performance do que larvas do grupo SF, as quais não tinham acesso às formigas. Apesar de não avaliado diretamente os artrópodes apreendidos por *R. myrmecophaga*, essas larvas podem capturar uma diversidade enorme de presas, especialmente formigas, as quais podem suprir suas necessidades, pelo menos para sobrevivência. Alguns estudos têm mostrado que geralmente proteínas e lipídios representam os principais compostos para o desenvolvimento de larvas, enquanto que adultos geralmente usam carboidratos para suprir as necessidades de seu metabolismo (NATION, 2015). Sendo assim, a diminuição do número de presas, nesse caso formigas, pode prejudicar o desenvolvimento da larva através da falta de nutrientes disponibilizados; e mesmo predando outros insetos visitantes, estes não são tão abundantes nos NEFs e NPs quanto as formigas.

As larvas representam um fator negativo determinante no sucesso reprodutivo da planta, uma vez que podem atuar como inibidor e predador das formigas. As formigas podem diminuir ou parar por completo o forrageamento devido a sinais de alerta encontrados no local onde a larva se encontra, como por exemplo a presença do exoesqueleto de outras formigas em NEFs ou NPs, ou devido aos sinais químicos liberados por formigas presas no abrigo (VIDAL; VILELA,

2015). Desta forma, sem a presença da formiga, a planta acaba por ficar desprotegida resultando em uma diminuição do volume do fruto; uma relação similar àquela presente em plantas que têm seus polinizadores afetados pela presença de aranhas predadoras nas flores (GONÇALVES-SOUZA et al., 2008).

CONCLUSÃO

Nectários extraflorais, especialmente os pericarpiais, são estruturas de grande importância na interação inseto-planta, que fornece uma importante proteção às estruturas foliares e reprodutivas das plantas em troca de recursos alimentares. Os resultados do presente estudo demonstram que a relação mutualística entre formigas e *C. elliptica* é interferida negativamente pela presença da larva de *R. myrmecophaga*, a qual diminui o valor adaptativo da planta seja diretamente através da utilização do néctar pericarpial ou indiretamente através da predação das formigas. Esse é o primeiro estudo a analisar o impacto direto e indireto de larvas predadoras de formigas sobre o valor adaptativo das plantas (desenvolvimento), e como a ausência de formigas podem influenciar no valor adaptativo dessas larvas. Estudos multitróficos, especialmente entre formigas e plantas, têm crescido nos últimos anos, e uma das lacunas ou interesses dos pesquisadores nesses sistemas mutualísticos de proteção, é o estudo das condicionalidades e do papel de cada um dos interagentes dentro dessas relações (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2018). Resultados dessas pesquisas fornecerão subsídios para um melhor entendimento dessas relações e dos papéis desses seres nas cadeias tróficas, especialmente se esses estudos forem realizados em plantas com NPs, já que essas estruturas estão ligadas a partes extremamente importantes para as plantas, os frutos.

REFERÊNCIAS

- ALVES-SILVA, E.; BÄCHTOLD, A.; DEL-CLARO, K. Florivorous myrmecophilous caterpillars exploit an ant-plant mutualism and distract ants from extrafloral nectaries. **Austral Ecology**, v. 43, n. 6, p. 643–650, set. 2018.
- ANJOS, D. V. et al. Extrafloral-nectaries and interspecific aggressiveness regulate day/night turnover of ant species foraging for nectar on *Bionia coriacea*. **Austral Ecology**, v. 42, n. 3, p. 317–328, 2017.

- BATES, D. et al. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. **Journal of Statistical Software**, v. 67, n. 1, p. 1–48, 2015.
- BORGES, R. L.; JARDIM, J. G.; ROQUE, N. Rubiaceae na Serra Geral de Licínio de Almeida, Bahia, Brasil. **Rodriguesia**, v. 68, n. 2, p. 581–621, 2017.
- BYK, J.; DEL-CLARO, K. Ant-plant interaction in the Neotropical savanna: Direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. **Population Ecology**, v. 53, n. 2, p. 327–332, 2011.
- CALIXTO, E. S.; LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Foliar anti-herbivore defenses in *Qualea multiflora* Mart. (Vochysiaceae): Changing strategy according to leaf development. **Flora**, v. 212, p. 19–23, 2015.
- CALIXTO, E. S.; LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Protection mutualism: an overview of ant-plant interactions mediated by extrafloral nectaries. **Oecologia Australis**, v. 22, n. 4, p. 410–425, 2018.
- CALIXTO, E. S.; SOUSA-LOPES, B.; DEL-CLARO, K. Are rare velvet ants (Hymenoptera: Mutillidae) to feed on extrafloral nectar? **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 3, n. 4, p. 406–409, 2018.
- COBRA, S. S. DE O. et al. Biologia reprodutiva de *Cordia macrophylla* (K. Schum.) Kuntze (Rubiaceae), espécie dioica da região sudoeste do Estado de Mato Grosso, Brasil. **Revista Ceres**, v. 62, n. 6, p. 516–523, 2015.
- DEL-CLARO, K. et al. Ants visiting the post-floral secretions of pericarpial nectaries in *Palicourea rigida* (Rubiaceae) provide protection against leaf herbivores but not against seed parasites. **Sociobiology**, v. 60, n. 3, p. 217–221, 2013.
- DEL-CLARO, K. et al. Loss and gains in ant–plant interactions mediated by extrafloral nectar: fidelity, cheats, and lies. **Insectes Sociaux**, v. 63, n. 2, p. 207–221, 2016.
- DEL-CLARO, K. et al. Spiders as plant partners: complementing ant services to plants with extrafloral nectaries. In: VIERA, C.; GONZAGA, M. O. (Eds.). . **Behaviour and Ecology of Spiders**. [s.l.] Springer, 2017. p. 215–226.

DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. **Ecologia das interações plantas-animais: uma abordagem ecológico-evolutiva**. Uberlândia: Composer, 2012.

DÍAZ-CASTELAZO, C. et al. Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of coastal Veracruz, Mexico. **Annals of Botany**, v. 96, n. 7, p. 1175–1189, 2005.

FOX, J.; WEISBERG, S. **An {R} Companion to Applied Regression**. Second ed. California: SAGE, 2011.

GONÇALVES-SOUZA, T. et al. Trait-mediated effects on flowers: artificial spiders deceive pollinators and decrease plant fitness. **Ecology**, v. 89, n. 9, p. 2392–2398, 2008.

GONZÁLEZ-TEUBER, M.; HEIL, M. The role of extrafloral nectar amino acids for the preferences of facultative and obligate ant mutualists. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 4, p. 459–468, 2009.

KOPTUR, S. Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. In: BERNAYS, E. (Ed.). **Insect-Plant Interactions**. Boca raton: CRC Press, 1992. p. 81–129.

KOPTUR, S. Floral and extrafloral nectars of Costa Rican Inga trees a comparison of their constituents and composition. **Biotropica**, v. 26, n. 3, p. 276–284, 1994.

LANGE, D. et al. Natural history and ecology of foraging of the *Camponotus crassus* Mayr, 1862 (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Natural History**, v. 53, n. 27–28, p. 1737–1749, 2019.

LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Ant-plant interaction in a tropical Savanna: May the network structure vary over time and influence on the outcomes of associations? **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, p. e105574, 2014.

LENTH, R. **emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Mean**. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=emmeans>>.

NAHAS, L.; GONZAGA, M. O.; DEL-CLARO, K. Emergent impacts of ant and spider interactions: Herbivory reduction in a tropical savanna tree. **Biotropica**, v. 44, n. 4, p. 498–505, 2012.

NASCIMENTO, E. A.; DEL-CLARO, K. 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**, v. 205, n. 11, p. 754–756, 2010.

NATION, J. L. **Insect physiology and biochemistry**. Boca Raton: CRC press, 2015.

NICOLSON, S. W.; THORNBURG, R. W. Nectar chemistry. In: NICOLSON, S. W.; NEPI, M.; PACINI, E. (Eds.). **Nectaries and nectar**. [s.l.] Springer, 2007. p. 215–264.

OKSANEN, J. et al. **vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-3**.

Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=vegan>>.

OLIVEIRA, P. S.; LEITÃO-FILHO, H. F. Extrafloral nectaries: Their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of Cerrado vegetation in southeast Brazil. **Biotropica**, v. 19, n. 2, p. 140–148, 1987.

PIRES, M. S. et al. A new extrafloral nectary-bearing plant species in the Brazilian savanna and its associated ant community: nectary structure, nectar production and ecological interactions. **Sociobiology**, v. 64, n. 3, p. 228, 2017.

REU, W. F.; DEL-CLARO, K. Natural history and biology of *Chlamisus minax* Lacordaire (Chrysomelidae: Chlamisinae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. June, p. 357–362, 2005.

RICO-GRAY, V. The importance of floral and circum-floral nectar to ants inhabiting dry tropical lowlands. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 38, n. 2, p. 173–181, 1989.

SOUSA-LOPES, B. et al. Antiherbivore protection and plant selection by the lynx spider *Peucetia flava* (Araneae: Oxyopidae) in the Brazilian Cerrado. **Journal of Zoology**, v. 2, p. 1–7, 2019.

SOUSA, L. A.; BAUTISTA, H. P.; JARDIM, J. G. Diversidade florística de Rubiaceae na Serra da Fumaça – complexo de Serras da Jacobina, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 13, n. 3, p. 289–314, 2013.

TRAGER, M. D. et al. Benefits for plants in ant-plant protective mutualisms: A meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 5, n. 12, p. e14308, 2010.

VIDAL, M. C. et al. Natural history of a sit-and-wait dipteran predator that uses extrafloral nectar as prey attractant. **Environmental Entomology**, v. 47, n. 5, p. 1165–1172, 2018.

VIDAL, M. C.; SENDOYA, S. F.; OLIVEIRA, P. S. Mutualism exploitation: predatory drosophilid larvae sugar-trap ants and jeopardize facultative ant-plant mutualism. **Ecology**, v. 97, n. 7, p. 1650–1657, 2016.

VIDAL, M. C.; VILELA, C. R. A new species of *Rhinoleucophenga* (Diptera: Drosophilidae) from the Brazilian cerrado biome associated with extrafloral nectaries of *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 108, n. 5, p. 932–940, 2015.

VILELA, A. A.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Conditional outcomes in ant-plant-herbivore interactions influenced by sequential flowering. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 209, p. 359–366, 2014.

WEBER, M. G.; KEELER, K. H. The phylogenetic distribution of extrafloral nectaries in plants. **Annals of Botany**, v. 111, n. 6, p. 1251–1261, 2013.