

# EFEITO DE DANOS MECÂNICOS SIMULANDO HERBIVORIA SOBRE A PRODUÇÃO DE NÉCTAR E O RECRUTAMENTO DE FORMIGAS EM *Inga laterifolia* (Leguminosae: Mimosoideae)

Flávia Tavares Colpas

## 1. INTRODUÇÃO

Embora restrita aos trópicos, a interação mutualística entre plantas e formigas envolve mais de 100 gêneros de angiospermas e 40 gêneros destes insetos (Davidson & McKey, 1993), sendo um importante componente no funcionamento de comunidades tropicais. Para atrair seus parceiros mutualistas, as plantas produzem recompensas alimentares, entre as quais corpos de alimentação e néctar extrafloral (Heil & McKey, 2003). Além de formigas, nectários extraflorais (NEFs) são visitados por vespas, moscas e outros predadores que buscam satisfazer suas necessidades energéticas e nutricionais, porém com efeitos geralmente benéficos sobre as plantas, incluindo proteção direta e indireta contra herbívoros (Koptur, 1994).

A susceptibilidade dos herbívoros a predadores, parasitas, patógenos e doenças pode ser influenciada por características das plantas induzidas após a ocorrência de injúrias (Karban & Baldwin, 1997), tais como o aumento da visitação por formigas em folhas danificadas artificialmente ou por herbivoria (Agrawal, 1998; Agrawal & Dubin-Thaler, 1999; Wäckers & Wunderlin, 1999; Heil *et al.*, 2000, 2001; Ness, 2003; Mondor & Addicott, 2003). Tal visitação correlaciona-se freqüentemente ao aumento na produção de néctar extrafloral (um a dois dias após o tratamento indutor) e/ou alteração de seu conteúdo de açúcares ou, ainda, ao aumento no número de nectários produzidos (uma semana após o tratamento indutor). Isso sugere uma ligação entre herbivoria, produção de néctar e recrutamento de formigas (Ness, 2003), possivelmente direcionada por pistas químicas (Agrawal, 1998; Agrawal & Dubin-Thaler, 1999), e reforça a idéia de que a produção de néctar extrafloral pode ser uma resposta de defesa induzida (Heil *et al.*, 2000).

Quase todas as espécies de Mimosoideae (Leguminosae) têm relações com formigas através das glândulas extraflorais (Ribeiro *et al.*, 1999). O gênero *Inga* é um componente freqüente de florestas úmidas, apresentando folhas paripinadas com nectários foliares entre cada par de folíolos (Pennington, 1997). A produção de néctar extrafloral neste gênero de plantas também parece estar associada a visitação por formigas (Wickers, 1993; Koptur, 1994).

Dada a freqüente associação entre *Inga* e formigas e visto que em outras espécies vegetais a produção de néctar extrafloral associada ao recrutamento destes insetos pode ser induzida, este trabalho procurará responder às seguintes perguntas:

(1) Danos mecânicos sobre folhas de *Inga lateriflora*

simulando herbivoria induzem o recrutamento de formigas?

(2) Danos mecânicos em folhas de *I. lateriflora* de planta simulando herbivoria induzem a produção de néctar nos NEFs?

## 2. MATERIAL & MÉTODOS

### 2.1. ESPÉCIE E ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi conduzido com plantas jovens de *Inga lateriflora* que ocorre ao longo da estrada de acesso da Reserva do Km 41 (02°24'26"-02°25'31"S; 59°43'40"-59°45'50"W), localizada a 80 km de Manaus, pertencente ao Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (INPA/Smithsonian Institution), de 25 a 29 de julho de 2004. Trata-se de uma floresta de terra firme na Bacia do Rio Negro, que apresenta médias anuais de chuva entre 2000 e 2200 mm e pequena variação nas temperaturas médias mensais, entre 25,8°C (fevereiro-abril) e 27,9°C (setembro) (Oliveira & Daly, 2001).

*Inga lateriflora* é uma árvore de subdossel, de base geralmente acanalada, ritidoma cinza e exsudação vermelha na casca viva (Ribeiro *et al.*, 1999). Apresenta ráquis estreita ou marginada e estípulas lineares, ocorrendo principalmente em vertentes, na Amazônia e Guianas.

### 2.2. DESENHO EXPERIMENTAL

Para verificar o melhor momento para se realizar os experimentos, o ritmo diário de produção do néctar extrafloral foi analisado em seis plantas diferentes, sendo coletada a secreção de todos os nectários de folhas completamente expandidas, três jovens (próximo ao meristema apical) e três adultas (distante pelo menos duas folhas do meristema apical).

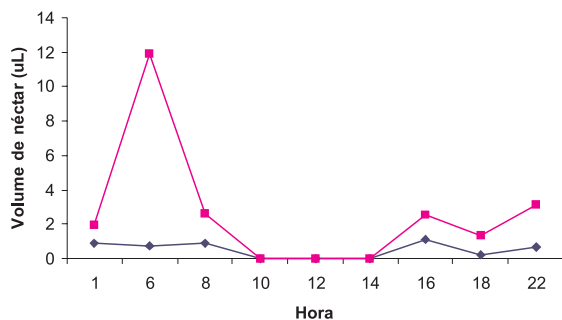
Para verificar o efeito da herbivoria sobre a produção de néctar, os tratamentos foram realizados em folhas jovens completamente expandidas (duas folhas terminais) de nove plantas, submetidas aos tratamentos: (1) remoção de 2,8 cm<sup>2</sup> da área foliar de todos os folíolos com auxílio de um furador e (2) controle não-danificado. Um anel de graxa foi aplicado ao redor dos ramos das plantas em estudo para evitar contato inicial com as formigas e, para a proteção contra insetos voadores e chuva, as folhas foram envolvidas por redes. O néctar extrafloral acumulado foi removido das folhas no início do experimento pela lavagem com água (cf. Heil *et al.*, 2000). O início das coletas foi realizado próximo das 10:00 h para garantir que qualquer produção de néctar fosse resultante do tratamento e então 1, 4 e 24 h depois. O volume de néctar foi estimado pelo método de Baker (1979) e a hipótese de

efeito do tempo e do tratamento foi testada através de uma ANOVA de medidas repetidas (Zar, 1999) e de um teste t pareado.

Para verificar o efeito da herbivoria sobre o recrutamento de formigas, as plantas foram submetidas aos mesmos tratamentos, mas não foram isoladas por graxa ou por rede. O número de formigas visitando estas plantas foi contado imediatamente antes da realização dos danos e então 4, 8, 12, 16 e 20 min e 1, 2, 4 e 24 h após a manipulação (cf. Agrawal, 1998). O efeito do tempo após manipulação sobre o número de formigas por folíolo foi avaliado nos dois tratamentos através de uma regressão logística (Zar, 1999).

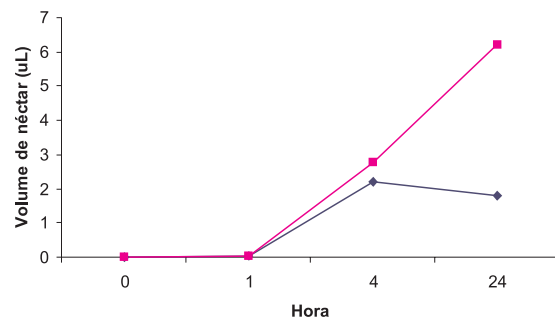
### 3. RESULTADOS

O ritmo diário de produção de néctar em *Inga lateriflora* foi diferente para folhas jovens e adultas (Figura 1). Folhas jovens mostraram maior volume de néctar comparado a folhas adultas durante a maior parte do dia, atingindo níveis mais altos durante a noite e um pico de produção às 6:00 h da manhã. Assim, foram usadas folhas jovens completamente expandidas, sendo iniciados os experimentos aproximadamente às 10:00 h de modo a garantir que alterações na produção de néctar fossem uma resposta aos tratamentos e não um pico natural de produção.

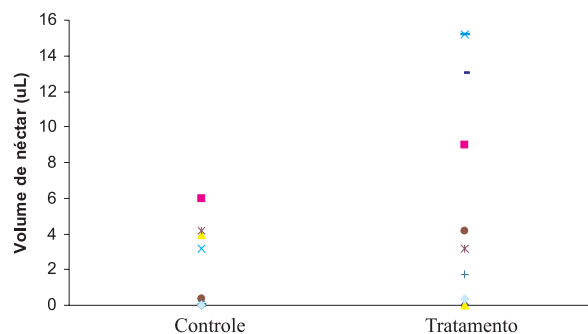


**Figura 1:** Ritmo diário de produção de néctar extrafloral em folhas jovens (linha rosa) e adultas (linha azul) de *Inga lateriflora*, Reserva do Km 41.

O volume de néctar aumentou em função do dano simulando herbivoria tanto 4 quanto 24 h após o tratamento, atingindo um valor, em média, 2,5 vezes maior que o controle para este último (Figura 2). A resposta das plantas tratadas em relação a plantas controle foi muito variável de indivíduo para indivíduo (Figura 3), não sendo estatisticamente significativa segundo a ANOVA de medidas repetidas ( $F = 1,74$ ,  $p = 0,21$ ) ou o teste t pareado ( $t = -2,09$ ,  $p = 0,06$ ;  $N = 10$ ). Já quando se considera apenas o tempo, independente do tratamento utilizado, a produção de néctar aumenta significativamente ao longo do tempo ( $F = 6,64$ ;  $gl = 9$ ;  $p = 0,004$ ; Figura 2).



**Figura 2:** Ritmo de produção de néctar extrafloral em folhas com danos simulando herbivoria (linha rosa) e folhas controle (linha azul) de *Inga lateriflora*, Reserva do Km 41.



**Figura 3:** Produção de néctar extrafloral em folhas controle e folhas com danos simulando herbivoria em *Inga lateriflora* 24 h após o início do experimento, Reserva do Km 41. Símbolos iguais representam os pares de folhas utilizados na análise.

Entre as espécies de formigas observadas sobre as plantas de *Inga* sp. estavam *Cephalotes attratus* e *Crematogaster brasiliensis* (Myrmicinae), além de indivíduos pertencentes aos gêneros *Ectatomma* (duas espécies) (Ponerinae) e *Pseudomyrmex* (Pseudomyrmicinae). Na maior parte das plantas, mais de uma espécie de formiga foi observada sobre

**Tabela 1:** Espécies de formiga observadas sobre plantas de *Inga lateriflora* ao longo da estrada de acesso a Reserva do Km 41.

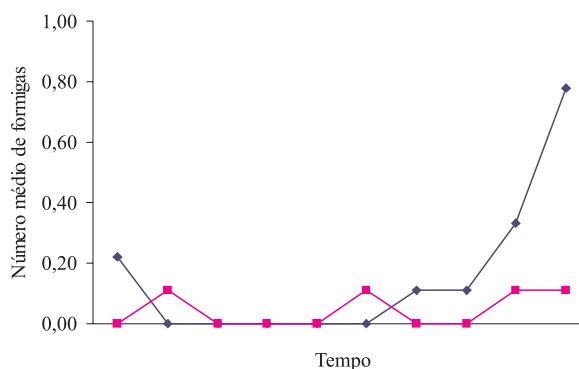
Planta	Espécie de formiga
1	<i>Ectatomma</i> sp. 1 + <i>Pseudomyrmex</i> sp.
2	<i>C. brasiliensis</i> + <i>Ectatomma</i> sp. 2
3	<i>C. attratus</i>
4	<i>Ectatomma</i> sp. 1 + <i>Pseudomyrmex</i> sp.
5	<i>Ectatomma</i> sp.2
6	<i>Ectatomma</i> sp. 1 + <i>Pseudomyrmex</i> sp.
7	sem formigas
8	<i>C. attratus</i> + <i>C. brasiliensis</i>
9	<i>Ectatomma</i> sp. 1

as plantas, sendo a associação mais freqüente aquela entre *Ectatomma* sp. 1 e *Pseudomyrmex* sp. (Tabela 1). Nesta associação, um ou dois indivíduos de *Pseudomyrmex* sp. freqüentemente apresentavam comportamento furtivo, permanecendo na face abaxial das folhas até que os indivíduos de *Ectatomma*, que claramente monopolizavam o recurso, abandonassem as mesmas.

Não foi observado recrutamento para a maioria das espécies de formigas com relação ao tempo de indução ou ao tratamento indutor, exceto para as espécies de *Ectatomma* analisadas em conjunto e *Ectatomma* sp. 2, tanto em folhas controle quanto em folhas tratadas (Tabela 2). Já *Pseudomyrmex* sp. recrutou apenas em folhas tratadas, ao passo que *C. attratus* e o total de espécies de formiga recrutaram somente em folhas controle (Tabela 2). As espécies de *Ectatomma* em conjunto mostram um aumento considerável do número médio de indivíduos (0,8) em relação ao controle (0,2) (Figura 4).

**Tabela 2:** Resultado da regressão logística para as diferentes espécies de formiga em resposta ao tempo em folhas controle e danificadas artificialmente ao longo da estrada de acesso a Reserva do Km 41. Valores em negrito indicam as espécies que apresentaram recrutamento significativo sob os diferentes tratamentos.

Tratamento	Espécie	Inclinação	$\chi^2$	P
dano	<i>Ectatomma</i> sp.1	0,0010	2,32	0,13
	<b><i>Ectatomma</i> sp. 2</b>	<b>0,0070</b>	<b>4,71</b>	<b>0,03</b>
	<b><i>Ectatomma</i></b>	<b>0,0010</b>	<b>4,71</b>	<b>0,03</b>
	<i>C. attratus</i>	0,0002	0,01	0,91
	<i>C. brasiliensis</i>	0,0002	0,01	0,91
	<b><i>Pseudomyrmex</i> sp.</b>	<b>0,0073</b>	<b>4,71</b>	<b>0,03</b>
	total	0,0004	0,58	0,45
controle	<i>Ectatomma</i> sp.1	0,0009	0,96	0,33
	<b><i>Ectatomma</i> sp. 2</b>	<b>0,0073</b>	<b>4,71</b>	<b>0,03</b>
	<b><i>Ectatomma</i></b>	<b>0,0015</b>	<b>3,69</b>	<b>0,05</b>
	<b><i>C. attratus</i></b>	<b>0,0018</b>	<b>4,87</b>	<b>0,03</b>
	<i>C. brasiliensis</i>	-0,0005	0,07	0,80
	<i>Pseudomyrmex</i> sp.	-0,0005	0,29	0,59
	<b>total</b>	<b>0,0013</b>	<b>5,72</b>	<b>0,02</b>



**Figura 4:** Número médio de formigas do gênero *Ectatomma* observado sobre folhas controle (linha rosa) e folhas tratadas (linha azul) de *Inga lateriflora*, Reserva do Km 41. O tratamento consistiu da retirada de discos de 2,8 cm<sup>2</sup> de cada folíolo.

#### 4. DISCUSSÃO

O ritmo de secreção da espécie estudada é bastante semelhante ao observado por Wickers (1993) em quatro espécies de *Inga* em uma floresta úmida da Guiana Francesa, cujo pico de produção de néctar ocorre às 6 h e diminui ao longo da manhã até cessar totalmente ao meio dia. E, da mesma forma como observado por esta autora, os diferentes nectários tiveram uma produção variável em diferentes folhas (dados não mostrados), porém sempre mais pronunciada em folhas jovens.

No entanto, a ausência de significância estatística sobre a indução do pico de néctar parece ser reflexo do pequeno número amostral (10 indivíduos), embora a grande variabilidade da resposta das folhas tratadas em relação ao controle possa indicar que as plantas estão respondendo diferentemente em função de sua idade, tamanho, número de folhas, exposição à luz, porcentagem de folhas atacadas por herbívoros, estado nutricional e condições microclimáticas do ambiente (Agrawal & Rutter, 1998; Bronstein, 1998).

A produção de néctar relatada por Wickers (1993), por exemplo, foi observada apenas em áreas perturbadas. Assim, diferenças entre locais revelam a importância de fatores ecológicos durante a secreção, tais como umidade e condições edáficas. Esses fatores atuam indiretamente sobre as taxas fotossintéticas, uma vez que, sob condições climáticas ótimas, os fotossintatos excedentes poderiam ser eliminados através dos NEFs (Wickers, 1993). Dado que a área de estudo localiza-se na borda de uma floresta de terra firme onde a disponibilidade de luz é grande, altas taxas fotossintéticas seriam garantidas, oferecendo açúcar em excesso para a secreção de néctar.

O pico de produção de néctar extrafloral um dia após a indução foi acompanhado pelo recrutamento de poucas espécies de formiga. Porém, a ausência de diferenças entre folhas tratadas e controle sugere que esta atração está sendo efetuada via pistas químicas. Como folhas tratadas e controle encontravam-se espacialmente muito próximas, é possível que, ainda que o néctar tenha sido induzido apenas nas folhas tratadas, o sinal químico seria percebido pelas formigas no ápice das plantas, levando-as a inspecionar ambas as folhas em busca do recurso. Esse comportamento pode ser bastante vantajoso para esta espécie, já que o patrulhamento das formigas sobre toda a planta poderia conferir-lhe proteção contra herbívoros a baixo custo, uma vez que a secreção de néctar é induzida apenas nas folhas atacadas.

Além disso, para quase todos os indivíduos estudados, observou-se mais de uma espécie de formiga sobre as plantas, assim como relatado por Koptur (1983) em *I. densiflora* e *I. punctata*. E, da mesma forma como observado por Koptur (1983) e Wickers (1993), os picos de atividade dos nectários foram acompanhados por picos de atividade das formigas, indicando o papel dos nectários extraflorais na atração desses insetos. As espécies mais comuns foram *Pheidole biconstricta* (Koptur, 1983), *Ectatomma tuberculatum* e *Crematogaster* sp. (Wickers, 1993).

Entre os visitantes mais comuns de *I. lateriflora*, estavam espécies de *Ectatomma*. Esta e outras Ponerinae visitam nectários extraflorais transportando líquido para seus ninhos em gotas entre as mandíbulas, o que caracteriza o comportamento de trofolaxia (Hölldobler & Wilson, 1990), fato também observado neste estudo. É importante salientar que operárias de formigas tratam os nectários extraflorais da mesma maneira como agregações de homópteros e iscas de açúcar, sendo que as espécies mais agressivas os defendem de modo a estender seu território sobre toda a planta (Hölldobler & Wilson, 1990). Assim, as espécies de *Ectatomma* poderiam estar exercendo o papel de proteção contra herbívoros.

Porém, algumas espécies de formigas não conferem benefício algum e até podem ocasionar um custo a suas plantas hospedeiras, podendo evitar contato com o herbívoros e/ou usar comida e espaço que estariam disponíveis para espécies mutualistas (Brontein, 1998). Vale salientar que a maioria das plantas com nectários extraflorais não têm formigas residentes, sendo a relação planta vs. formiga não necessariamente especializada (i.e., qualquer espécie de formiga que tenha o ninho mais próximo da planta tende a visitar o NEF) ou obrigatória (as plantas são capazes de sobreviver sem formigas, embora com uma aptidão presumivelmente diminuída) (Koptur, 1983; Agrawal & Rutter, 1998).

A expressão intraespecífica de nectários extraflorais parece ser às vezes dependente da presença de formigas, enquanto em outros casos os nectários estão presentes e secretam néctar mesmo na ausência de formigas protetoras (Agrawal & Rutter, 1998). Experimentos de exclusão mostram que as formigas podem de fato beneficiar as plantas, geralmente

reduzindo o impacto da herbivoria (Brontein, 1998); no entanto, a magnitude deste benefício varia muito devido a variações dentro de espécies individuais estudadas em diferentes tempos e lugares.

Assim, a interação entre *Inga lateriflora* e formigas (principalmente *Ectatomma*) na borda da floresta parece ser mediada pela produção de néctar extrafloral garantida pela grande disponibilidade de luz, o que possibilita que fotossintatos em excesso sejam desviados sem maiores custos para a planta. Mesmo que a resposta seja bastante variável, isto sugere o possível papel destes insetos na defesa desta espécie contra herbívoros. Experimentos de exclusão poderiam confirmar esta hipótese. Também a comparação entre plantas de ambientes diferentes com, por exemplo, menor disponibilidade de luz, poderia auxiliar na estimativa dos custos de produção de néctar extrafloral, seja por alterações em seu volume ou concentração, contribuindo para o melhor entendimento da interação entre *I. lateriflora* e formigas.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrawal, A.A. 1998. A leaf-damage and associated cues induce aggressive ant recruitment in a neotropical ant-plant. *Ecology*, 79: 2100-2112.
- Agrawal, A.A. & B.J. Dubin-Thaler. 1999. Induced responses to herbivory in neotropical ant-plant association between *Azteca* ants and *Cecropia* trees: response of ants to potential inducing cues. *Behav. Ecol. Soc.*, 45: 47-54.
- Agrawal, A.A. & M.T. Rutter. 1998. Dynamic anti-herbivore defense in ant-plants: the role of induced responses. *Oikos*, 83: 227-236.
- Baker, I. 1979. Methods for the determination of volumes and sugar concentrations from nectar spots on paper. *Phytochem. Bull.*, 12: 40-42.
- Bronstein, J.L. 1998. The contribution of ant-plant protection studies to our understanding of mutualism. *Biotropica*, 30: 150-161.
- Davidson, D.W. & D. McKey. 1993. The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationships. *J. Hym. Res.*, 2: 13-83.
- Heil, M.; B. Fiala; B. Bauman & K.E. Linsenmair, K.E. 2000. Temporal, spatial and biotic variations in extrafloral nectar secretion by *Macaranga tanarius*. *Func. Biol.*, 14: 749-757.
- Heil, M.; T. Koch; A. Hilpert; B. Fiala; W. Boland & K.E. Linsenmair. 2001. Extrafloral nectar production of the ant-associated plant, *Macaranga tanarius*, is an induced, indirect, defensive response elicited by jasmonic acid. *Proc. Nat. Ac. Sci., USA* 98: 1083-1088.
- Heil, M. & D. McKEY. 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 34: 425-453.
- Hölldobler, B. & E.O. Wilson. 1990. *The Ants*. Harvard University Press, Springer-Verlag.

- Karban, R. & I.T. Baldwin. 1997. Induced resistance against herbivores. In: Induced responses to herbivory, pp. 104-166, R. Karban & I.T. Baldwin (eds.). Chicago University Press, Chicago.
- Koptur, S. 1994. Experimental evidence for defense of *Inga* (Mimosoideae) saplings by ants. *Ecology*, 65: 1787-1793.
- Mondor, E.B. & J.F. Addicott. 2003. Conspicuous extra-floral nectarines are inducible in *Vicia faba*. *Ecol. Lett.*, 6: 495-497.
- Ness, J.H. 2003. *Catalpa bignonioides* alters extrafloral nectar production after herbivory and attracts ant bodyguards. *Oecologia*, 134: 210-218.
- Oliveira, A.A. & D.C. Daly. 2001. Florestas do Rio Negro. Companhia das Letras, São Paulo.
- Pennington, T.D. 1997. The genus *Inga*. Royal Botanical Gardens, Kew.
- Ribeiro, J.E.L.S.; M.J.G. Hopkins; A. Vicentini; C.A. Sothers; M.A.S Costa; J.M. Brito; M.A.D. Souza; L.H.P. Martins; L.G. Lohmann; P.A.C.L. Assunção; E.C. Pereira; C.F. Silva; M.R. Mesquita & L.C. Procópio. 1999. Flora da Reserva Ducke. Guia de identificação de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. Inpa, Manaus.
- Wäckers, F.L. & R. Wunderlin, R. 1999. Induction of cotton extrafloral nectar production in response to herbivory does not require a herbivore-specific elicitor. *Entomol. Exp. Appl.*, 91: 149-154.
- Wickers, S. 1993. La secretion des nectarines extra-florales de quelques *Inga* en Guyane française. *Acta Bot. Gall.*, 140: 169-181.
- Zar, J.H. Biostatistical Analysis. Upper Saddle River, Prentice Hall.