

Otimização do tempo de recrutamento máximo de operárias de *Allomerus octoarticulatus* (Hymenoptera: Formicidae) frente à herbivoria induzida em *Hirtella mirmecophila* (Chrysobalanaceae)

Emília Zoppas de Albuquerque

1. Introdução

As plantas que possuem estruturas especializadas para abrigar colônias de formigas são chamadas de plantas mirmecófitas (Janzen 1966). Essas estruturas especializadas são conhecidas como domáceas e podem ocorrer em folhas, galhos, ramos ocos e raízes externas (Hölldobler & Wilson 1990). Além de fornecer às formigas locais para nidificação, algumas plantas ainda oferecem recursos alimentares através de nectários extraflorais e/ou corpúsculos alimentares (Janzen 1966).

A mirmecófita *Hirtella myrmecophila* (Chrysobalanaceae) é uma arvoreta que apresenta estruturas ocas na base de suas folhas (domáceas), sendo muito freqüente nos platôs e vertentes da Amazônia central (Ribeiro *et al.* 1999). As domáceas são ocupadas exclusivamente pela formiga *Allomerus octoarticulatus* (Fonseca 1999; Izzo & Vasconcelos 2002) e cada planta é ocupada por apenas uma colônia, que ocorre em todas as domáceas disponíveis. Indivíduos de *H. myrmecophila* fornecem apenas locais de nidificação para as formigas, não sendo até hoje relatado nenhuma estrutura que possa produzir alimento para a formiga, que se alimentam basicamente dos insetos que atacam as folhas da planta (Izzo & Vasconcelos 2002).

A colônia de *A. octoarticulatus* ocupa principalmente as domáceas das folhas jovens, pois as domáceas das folhas maduras com o tempo tendem a secar e cair. Além disso, folhas jovens sofrem mais herbivoria, e portanto, a probabilidade da formiga capturar um herbívoro é maior. Essa é uma

estratégia da planta para conseguir produzir inflorescências, uma vez que as formigas cortam os botões florais dos ramos jovens, dificultando a reprodução da planta (Izzo & Vasconcelos 2002).

Romero & Izzo (2004) demonstraram que *A. octoarticulatus* reduz substancialmente a herbivoria em folhas de *H. mirmecophila*, principalmente das folhas jovens, e que essas formigas respondem significativamente a estímulos químicos (compostos produzidos pela planta) recrutando frente a estes. Adicionalmente, operárias de *Allomerus* já foram observadas recrutando em resposta a experimentos de danificação de folhas e estímulos químicos simulando herbivoria (Hölldobler & Wilson 1990).

A resposta das formigas frente a estímulos químicos que simulam a herbivoria pode aumentar conforme a freqüência de ocorrência do estímulo. Assim, podemos esperar que as formigas apresentem uma otimização na resposta ao identificar mais rapidamente estes sinais, recrutando mais operárias para combater o herbívoro. Dessa forma, formigas residentes em mirmecófitas são massivamente recrutadas quando as folhas são danificadas. No entanto, pouco se sabe sobre quais sinais químicos induzem essas respostas agressivas das formigas, bem como a dinâmica natural de defesa da planta pelas formigas (Agrawal 1998; Brouat *et al.* 2000). A vantagem oferecida em recrutar formigas em um menor tempo é que a chance do herbívoro ser encontrado será maior. Dessa forma, podemos hipotetizar que existe uma espécie de memória

análoga ao sistema imunológico dos animais frente a um patógeno (Agrawal & Rutter 1998).

Neste sentido, este trabalho visa determinar se existe uma modificação no comportamento de recrutamento de formigas frente a um aumento na frequência de ataque de herbívoros e se essa suposta modificação do comportamento ocorre de forma local na folha ou na planta como um todo. Para tanto, hipotetizei que simulando o ataque do herbívoro em dias consecutivos as formigas teriam uma resposta cada vez mais rápida ao ataque (memória). Além disso, esperei que uma eventual redução do tempo de resposta com o passar dos dias poderia ser resultado de uma realocação de operárias na domácea da folha que está recebendo o estímulo químico.

2. Material & métodos

2.1 Área de estudo

O trabalho foi desenvolvido na reserva do Km 41 (02°24'S; 59°52'O), administrada pelo projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (INPA/Instituto Smithsonian) e localizada a cerca de 80 km ao norte de Manaus, AM. O clima da região é quente e úmido com temperatura média anual de 26,7°C. Essa reserva é uma área de floresta contínua de terra-firme, com três ambientes bem distintos (platô, vertente e baixio) determinados pela inclinação do terreno, pela constituição do solo e pela presença dos alagadiços dos igarapés (Ribeiro *et al.* 1999).

2.2 Experimento

Para o experimento foram selecionados 11 indivíduos de *Hirtella myrmecophilla* com presença de *Allomerus octoarticulatus* nas domáceas. Os

indivíduos selecionados deveriam possuir pelo menos três ramos com folhas jovens e altura máxima de 2 m. Em cada planta, foi selecionada uma folha jovem de um dos ramos e contado o número de formigas que estavam patrulhando a folha (tempo zero). Depois da contagem inicial foram pingadas três gotas de um extrato feito a partir de 5 g de folhas jovens maceradas em 80 ml de água e foi contado o número de formigas patrulhando a folha a cada 1 min, até o tempo máximo de 10 min. Em seguida, as folhas utilizadas para o experimento foram marcadas com um pequeno arame de metal, a fim de identificá-las para posterior utilização. Esse procedimento foi repetido por três dias consecutivos e no último dia o extrato também foi aplicado em outra folha jovem de outro ramo para verificar se a resposta à herbivoria induzida estava sendo local ou se toda a planta estava sendo afetada. Três horas após o tratamento, as folhas, juntamente com suas respectivas domáceas foram cortadas e ensacadas para posterior contagem do número de formigas presentes em cada domácea. Também foram cortadas folhas e domáceas de outros ramos (controle) para comparação.

2.3 Análise estatística

O teste não paramétrico de Wilcoxon foi utilizado para comparar o tempo de recrutamento máximo e o número máximo de formigas recrutadas entre os diferentes dias do tratamento. Foram consideradas como variáveis respostas, o tempo de recrutamento máximo de formigas e o número máximo de formigas recrutadas em cada dia. Como variável preditora, foi usada a duração do estímulo, que foi de três ou um dia. E para comparar o número de formigas encontradas nas domáceas das folhas do tratamento e as do controle foi utilizado o teste *t* de student.

3. Resultados

O número de formigas encontradas patrulhando as folhas jovens de *Hirtella myrmecophila* antes da realização do experimento variou de zero a 20 indivíduos (média $6,4 \pm 1,2$). Foi encontrada uma resposta associada à memória das formigas em relação ao tempo de recrutamento das formigas. No primeiro dia, o tempo necessário para se alcançar o pico de recrutamento foi, em média, de 5,2 min, variando de 2 min a 9 min. No segundo dia, houve uma redução significativa no tempo necessário para se alcançar o pico de recrutamento ($Z=-2,623$; $n=11$; $p=0,009$). O tempo médio do pico de recrutamento foi de 2,9 min, variando de 1 min até 6 min. No terceiro dia, a média do tempo necessário para atingir o pico de recrutamento não diminuiu, mas houve uma tendência de se manter nos 4 min, porém não significativa ($Z=-1,304$; $n=11$; $p=0,192$). O tempo necessário para atingir o pico de recrutamento na folha que recebeu estímulo somente no último dia foi, em média de 4,8 min, não ocorrendo uma diferença significativa em relação as médias dos demais tempos ($Z=-0,141$; $n=11$; $p=0,888$; Figura 1).

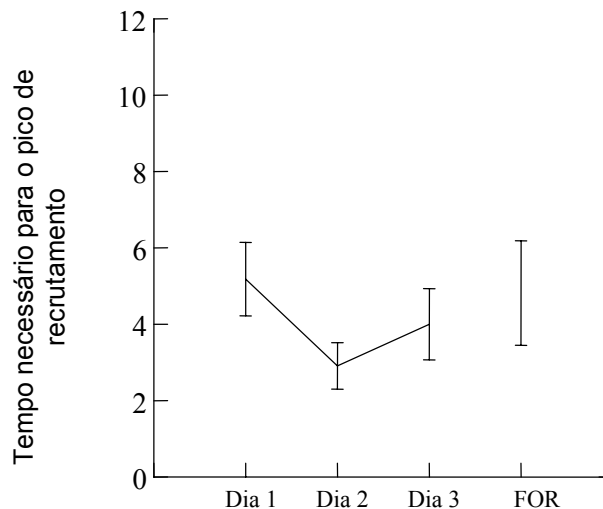


Figura 1. Tempo necessário para o pico de recrutamento (\pm erro padrão) de *Allomerus octoarticulatus* nos três dias de experimento e na folha de outro ramo (FOR) a partir da indução de herbivoria com extrato de folhas jovens em arbustos de *Hirtella myrmecophila* na reserva do Km 41, Amazônia central, AM.

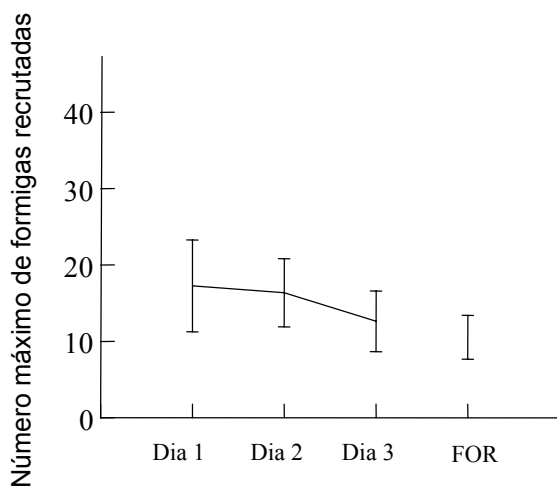


Figura 2. Média do número máximo (\pm erro padrão) de indivíduos de *Allomerus octoarticulatus* recrutados ao longo dos três dias de experimento e na folha de outro ramo (FOR) a partir da indução de herbivoria com extrato de folhas jovens em arbustos de *Hirtella myrmecophila* na reserva do Km 41, Amazônia central, AM.

O número máximo de formigas recrutadas no primeiro dia foi, em média, 17,3 variando de 2 a 53 indivíduos recrutados. No segundo dia, houve um leve decréscimo no número médio de formigas recrutadas (16,4) o que aconteceu também para o terceiro dia (12,6). Na folha que recebeu o estímulo somente no último dia, o número máximo de formigas recrutadas foi, em média, 10,5 indivíduos. Entretanto, não houve uma diferença significativa ($Z=-1,66$; $n=11$; $p=0,097$) entre o número médio de formigas recrutadas no decorrer dos três dias e na folha que foi estimulada somente no último dia (Figura 2).

O número de formigas encontradas nas domáceas dos ramos em que as folhas foram estimuladas durante os três dias consecutivos foi em média $50,3 \pm 2,73$ e nas domáceas das folhas que foram estimuladas somente no último dia foi em média $40,45 \pm 7,6$. Entretanto, não houve uma diferença significativa entre elas ($t=0,68$; g.l.=10; $p=0,513$).

4. Discussão

Nas arvoretas de *Hirtella. myrmecophila* são encontradas poucas formigas patrulhando a planta constantemente. Na maior parte do tempo, as formigas ficam dentro das domáceas esperando algum sinal de perturbação, seja ele físico ou químico. Diversos trabalhos relataram que o recrutamento das formigas pode se dar através de estímulos químicos de compostos voláteis, que as plantas liberam após sofrerem algum dano foliar (Benson 1985; Fonseca 1999; Brouat *et al.* 2000). No entanto, Romero & Izzo (2004) demonstraram que *H. myrmecophila* não possui compostos voláteis, pois as folhas jovens não danificadas de áreas adjacentes às folhas danificadas não mostraram uma alteração no número de formigas recrutadas. Da mesma forma, foi constatado neste trabalho que as formigas somente respondiam ao extrato após antenar a substância e que o recrutamento de formigas era local. Além disso, Romero & Izzo (2004) relataram no seu experimento que o composto feito a partir das folhas jovens maceradas perdem as suas propriedades cerca de duas ou três horas após preparado, e portanto, o efeito somatório do composto pode ser descartado neste trabalho.

Minha hipótese de trabalho foi corroborada, já que encontrei uma otimização no tempo de resposta das formigas frente à herbivoria simulada em apenas dois dias. No entanto, observei um decréscimo significativo no tempo até atingir o pico máximo de recrutamento, mas este padrão não ocorreu no terceiro dia. Nesse caso, as formigas podem ter aprendido a reconhecer este falso estímulo, pois quando elas percebem o estímulo químico elas saem em busca do herbívoro intruso, mas quando elas não o encontram, voltam à domácea.

Apesar do tempo do pico de recrutamento máximo ter diminuído, também diminuiu o número médio de formigas recrutadas. O esperado era que o número de indivíduos recrutados aumentasse, pois estaria ocorrendo uma realocação de formigas para

capturar o herbívoro. Essa grande variação no número de formigas recrutadas pode simplesmente representar as diferenças entre as plantas amostradas, como por exemplo número de domáceas ocupadas por formigas ou tamanho da colônia.

Associações entre formigas e plantas mirmecófitas parecem ter evoluído em resposta a vantagens adaptativas para ambos os organismos, sendo considerada uma associação mutualística (Hölldobler & Wilson 1990). No entanto, hipóteses alternativas envolvendo parasitismo, oportunismo e relações assimétricas entre organismos já foram levantadas (Hölldobler & Wilson 1990; Fonseca 1999). No sistema *H. myrmecophila* e *A. octoarticulatus* a planta fornece local para nidificação e em troca as formigas defendem a planta contra herbívoros (Romero & Izzo 2004). Essa relação mutualística aparentemente pode ser oportunista para as formigas, uma vez que elas utilizam esses herbívoros como alimento e podem não defender a planta como um todo (obs. pess.). No entanto, se a formiga otimiza e aumenta o recrutamento de operárias, ela aumenta a probabilidade de capturar mais herbívoros e assim diminui o tempo de exposição da planta à herbivoria. Dessa forma, a interação entre formiga-planta se estreita e isso deve acarretar em uma seleção da planta por espécies de formigas com recrutamento mais rápido e com comportamento mais agressivo (Agrawal 1998), tornando o sistema mais vantajoso para ambos os organismos envolvidos.

5. Agradecimentos

Ao Tiago J. Izzo pela idéia do trabalho, apresentação da *Hirtella* e da *Allomerus* e auxílio nas atividades de campo. Ao Paulinho e a Wal pela companhia em campo. Ao Polletti II e a Wal (de novo) pelas sugestões e leituras e finalmente ao Glauco pelas correções e liberação para entrar no paraíso.

6. Referências bibliográficas

- Agrawal, A.A. & Rutter, M.T. 1998. Dynamic anti-herbivore defense in ant-plants: the role of induced responses. *Oikos* 83: 227-236.
- Agrawal, A.A. 1998. Leaf damage and associated cues induce aggressive ant recruitment in a neotropical ant-plant. *Ecology* 79: 2100-2112.
- Benson, W.W. 1985. Amazon ant-plant, pp. 239-266. *In* Amazonia, Prance, G.T. & Lovejoy, T. (eds.). Pergamon Press, New York.
- Brouat, C.; McKey, D.; Bessi re, J.M.; Pascal, L. & Hossaert-McKey, M. 2000. Leaf volatile compounds and the distribution of ant patrolling in a ant-plant protection mutualism: Preliminary results on *Leonardoxa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and *Petalomyrmex* (Formicidae: Formicinae). *Acta Oecologica* 21: 349-357.
- Fonseca, C.R. 1999. Amazonian ant-plant interactions and the nesting space limitation hypothesis. *Journal of Tropical Ecology* 15: 807-825.
- Hölldobler, B. & Wilson, E.O. 1990. *The Ants*. The Belknap Press, Cambridge, Massachusetts.
- Izzo, T.J. & Vasconcelos, H.L. 2002. Cheating the cheater: domatia loss minimizes the effects of ant castration in a Amazonian ant-plant. *Oecologia* 133: 200-205.
- Janzen, D.H. 1966. Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution* 20: 249-275.
- Ribeiro, J.E.L.S.; Hopkins, M.J.G.; Vicentini, A.; Sothers, C.A.; Costa, M.A.S.; Brito, J.M.; Souza, M.A.; Martins, L.H.; Lohmann, L.G.; Assun o, P.A.C.L.; Pereira, E.C.; Silva, C.F.; Mesquita, M.R. & Procópio, L.C. 1999. *Flora da Reserva Ducke: Guia de Identifica o das Plantas Vasculares de Terra-Firme na Amazônia Central*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais, AM.
- Romero, G.Q. & Izzo, T.J. 2004. Leaf damage induces ant recruitment in the Amazonian ant-plant *Hirtella myrmecophila*. *Journal of Tropical Ecology* 20: 675-682.