

Resposta biótica induzida em três espécies mirmecófitas: formigas respondem a pistas de herbivoria de acordo com a recompensa alimentar produzida pela planta hospedeira?

Thiago Gonçalves-Souza

Introdução

As interações mutualísticas envolvem uma rede de benefícios mútuos na qual duas espécies obtêm uma maior aptidão quando ocorrem juntas do que quando estão separadas (Bronstein, 1998). Uma interação mutualística comum na natureza é a associação de plantas mirmecófitas e formigas (Fonseca & Ganade, 1996). As mirmecófitas oferecem abrigos (i.e. domáceas) e/ou recompensas alimentares (e.g. nectários extra-florais) para as formigas, enquanto as formigas defendem as mirmecófitas contra inimigos naturais (Agrawal, 1998; Bronstein, 1998) e, geralmente, diminuem a herbivoria da planta (Agrawal & Rutter, 1998). Essa defesa da planta hospedeira se dá pelo recrutamento de operárias para regiões com herbívoros ou com pistas de herbivoria, tais como compostos voláteis do tecido das folhas que são liberados em função do dano (Bruna *et al.*, 2004). De fato, estudos experimentais demonstraram que simulações de herbivoria, como corte em folhas ou extratos de compostos voláteis de folhas jovens, estimulam o recrutamento de formigas nas áreas danificadas e são usados para entender os mecanismos envolvidos no processo conhecido como defesa biótica induzida (Christianini & Machado, 2004; Romero & Izzo, 2004).

A velocidade e o número de formigas recrutadas para áreas danificadas por herbivoria podem depender de características da planta como o tipo de recurso oferecido às formigas. Dentre as mirmecófitas conhecidas para a Amazônia Central, algumas produzem recursos alimentares e abrigos para as formigas (e.g. *Maieta*) e outras produzem somente estruturas que são usadas como abrigo (e.g. *Hirtela*) (Vasconcelos & Davidson, 2000; Izzo & Vasconcelos, 2002; Christianini & Machado, 2004; Romero & Izzo, 2004). Formigas que se associam com plantas que produzem alimento têm a vantagem de ter acesso fácil a uma fonte rica em energia e não deveriam responder a danos pequenos nas folhas. Por outro lado, formigas que se associam a plantas que não produzem recursos e dependem exclusivamente da captura de pequenos invertebrados que forrageiam sobre sua planta hospedeira deveriam responder prontamente a danos foliares, mesmo os menos extensos.

Neste estudo comparei a resposta de formigas residentes em três sistemas formiga-planta a diferentes concentrações de extratos foliares. Pretendo entender os padrões de resposta induzida nestes sistemas. Mais especificamente, pretendo responder à seguinte pergunta: a intensidade do recrutamento de operárias em diferentes sistemas

mutualísticos formiga-planta depende da extensão do dano foliar? Minha previsão é que formigas respondem mais rapidamente e em maior número a maiores concentrações de extrato de compostos voláteis de folhas jovens. Além disso, espero que espécies de formiga que necessitam se alimentar de pequenos invertebrados que forrageiam sobre sua planta hospedeira respondam prontamente aos extratos de baixa concentração. Já em espécies que obtêm recompensas alimentares de suas plantas hospedeiras, o recrutamento de operárias é indiferente em relação à concentração do extrato foliar.

Material & métodos

Área de estudo e organismos

Realizei este estudo em uma floresta de terra firme da Reserva 1501 (Km 41) sob administração do Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF) e do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), localizada cerca de 80 km ao norte da cidade de Manaus, Amazonas. O clima local é tropical úmido, com a estação chuvosa variando de novembro a maio e a estação seca de junho a outubro. Usei a mirmecófita *Maieta guianensis* (Melastomataceae), um arbusto com cerca de 0,5 – 1,5 m de altura que ocorre em moitas ou como indivíduos isolados no sub-bosque e possui interação obrigatória com *Pheidole minutula* (Christianini & Machado, 2004). Indivíduos de *P. minutula* se alimentam

principalmente dos corpúsculos alimentares produzidos dentro da domécea na parte abaxial da folha e de insetos mortos sobre sua planta hospedeira (Vasconcelos & Davidson, 2000). A segunda mirmecófita, *Hirtela myrmecophila* (Chrysobalanaceae), é um arbusto com cerca de 0,5 – 8 m de altura comum no sub-bosque das florestas de terra-firme da Amazônia Central que está associado com a formiga *Allomerus octoarticulatus* (Fonseca, 1999). As operárias de *A. octoarticulatus* se alimentam exclusivamente de insetos que forrageiam sobre as folhas de *H. myrmecophila*, pois as plantas não oferecem nenhum recurso alimentar para as formigas (Romero & Izzo, 2004). A terceira mirmecófita, *Tococa bullifera* (Melastomataceae) é um arbusto de sub-bosque com cerca de 0,5 – 1,5 m de altura encontrado principalmente em platôs, que possui duas bolsas na base de cada folha onde rainhas de *Azteca* estabelecem sua colônia. Esta mirmecófita produz corpúsculos perolados que são usados pelas formigas como suplemento alimentar (Vasconcelos & Davidson, 2000). Daqui em diante todos os organismos estudados serão referidos apenas pelo gênero.

Efeito da concentração do extrato de folhas jovens no recrutamento de formigas

Para analisar como a concentração de extrato de folhas jovens afeta a velocidade de recrutamento e o número de formigas na folha, selecionei 30 plantas de *Hirtela* com altura variando entre 0,5-2,5 m. Apenas uma folha jovem de cada

planta foi utilizada para o experimento. Dez plantas receberam três gotas de um extrato com concentração de 20 g de tecido de folhas jovens para 80 ml de água (0,25 g/ml), 10 receberam extrato com concentração 1 g de folhas jovens para 80 ml de água (0,0125 g/ml) e 10 receberam três gotas de água (controle). Em cada tratamento, contei o número de formigas que estava sobre a folha ou na junção pecíolo-folha após 0, 1, 3, 5, 8 e 10 min do início do tratamento. Este mesmo experimento foi replicado para os sistemas *Pheidole* – *Maieta* e *Azteca* - *Tococa*.

Análise estatística

A análise dos experimentos foi feita usando-se uma análise de variância de medidas repetidas, sendo o tratamento e as plantas o efeito fixo, e o tempo o fator de repetição. O teste Greenhouse-Geiser foi usado para corrigir a esfericidade. Para garantir os pressupostos da análise de medidas repetidas os dados foram transformados com raiz quadrada. Testei hipóteses específicas (e.g. diferença no número de formiga após 10 min em tratamento com baixa e alta concentração) com comparações planejadas, por meio de contrastes ortogonais (Zar, 1996).

Resultados

O número médio (\pm DP) de domáceas com formigas presentes em *Maieta* foi 19,03 (\pm 10,41),

em *Hirtela* foi 50,4 (\pm 36,56) e em *Tococa* foi 60,46 (\pm 29,60). Em todas as espécies estudadas o número de formigas em folhas experimentais (alta e baixa concentração) foi maior do que em folhas controle (Tabela 1). A simulação de dano em *Maieta* com o extrato foliar aumentou 5,07 vezes o número de operárias de *Pheidole* na folha quando comparado à quantidade de formigas antes da simulação de herbivoria. Em *Hirtela* o número de operárias de *Allomerus* na folha aumentou 2,89 vezes e em *Tococa* o número de operárias na folha de *Azteca* aumentou 4,96 vezes. O número de formigas em folhas de *Maieta* após 10 min do estímulo com extrato foliar não foi diferente entre extrato de alta e baixa concentração ($F_{1,27} = 2,30$; $p = 0,14$), porém ambos foram significativamente diferentes de folhas controle ($F_{1,27}=69,35$; $p < 0,001$; Figura 1A). Em *Hirtela*, após 10 min, o número de formigas foi maior em folhas com o extrato mais concentrado do que em folhas com extrato de baixa concentração ($F_{(1,27)} = 8,66$; $p = 0,006$) e maior do que no controle ($F_{(1,27)} = 8,57$; $p = 0,006$; Figura 1B). Em *Tococa* o número de formigas não foi diferente em folhas com extrato mais e menos concentrados ($F_{1,23}=0,71$; $p=0,407$) e ambos foram diferentes das folhas controle ($F_{1,23}=13,66$; $p=0,001$; Figura 1C). Entretanto, após 5 min do estímulo com extrato foliar, o número de formigas em folhas de *Tococa* foi maior no extrato mais concentrado ($F_{1,23}=5,39$; $p=0,029$; Figura 1C).

Tabela 1. Análise de variância de medidas repetidas com os efeitos de extratos foliares de diferentes concentrações no recrutamento de formigas em três espécies de mirmecófitas.

Planta	Efeito	gl	QM	F	p
<i>Maieta guianensis</i>	Tratamento	2	152,01	35,245	< 0,001
	Erro	27	4,31		
	Tempo	5	19,41	75,264	< 0,001
	Tempo x tratamento	10	4,64	17,984	< 0,001
	Erro	135	0,26		
<i>Hirtela mirmecophila</i>	Tratamento	2	48,87	6,339	0,006
	Erro	27	7,71		
	Tempo	5	9,57	27,835	< 0,001
	Tempo x tratamento	10	1,19	3,452	< 0,001
	Erro	135	0,34		
<i>Tococa bullifera</i>	Tratamento	2	61,85	12,72	< 0,001
	Erro	23	4,86		
	Tempo	5	5,41	12,41	< 0,001
	Tempo x tratamento	10	2,12	4,86	< 0,001
	Erro	115	0,43		

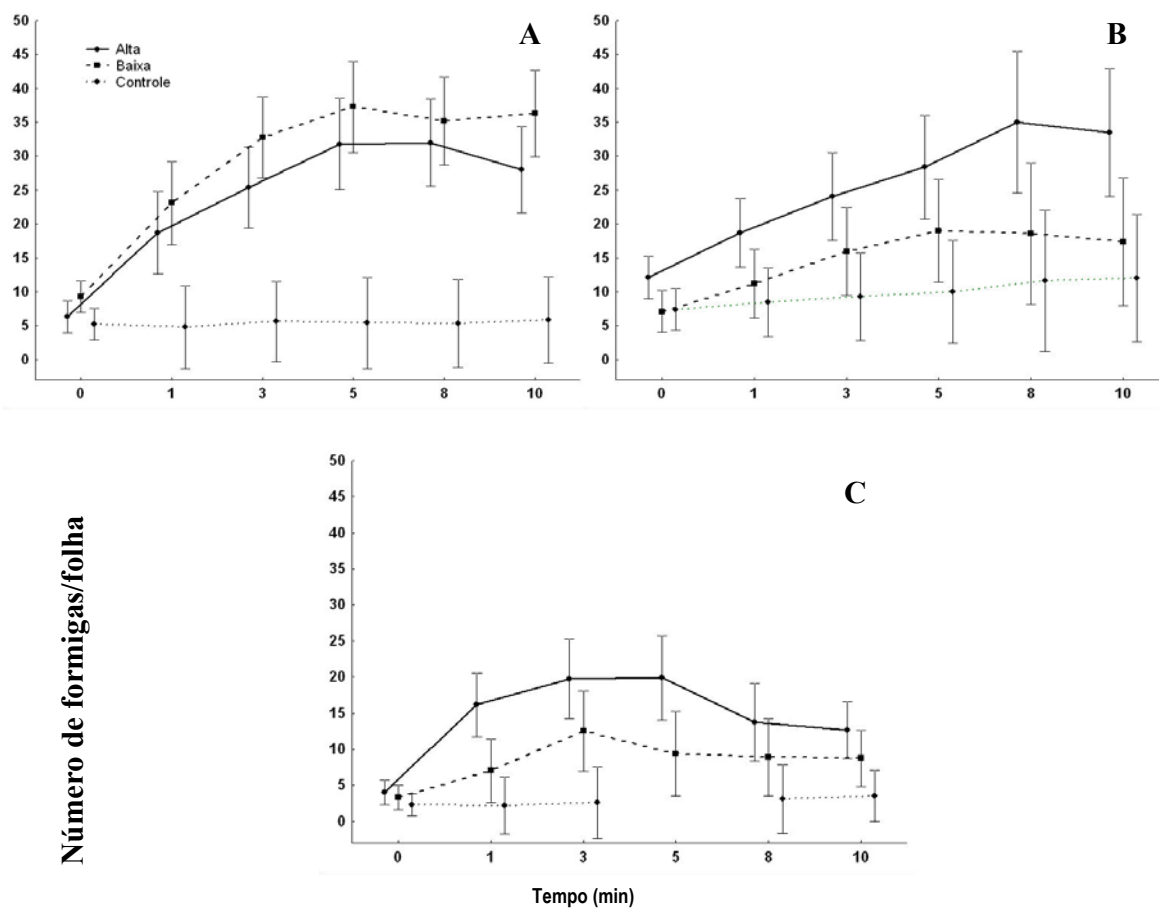


Figura 1. Número médio (± 1SE) de formigas em folhas jovens de (A) *Maieta guianensis*, (B) *Hirtela mirmecophila* e (C) *Tococa bullifera* submetidas aos tratamentos com alta e baixa concentração de extratos voláteis e controle durante 10 minutos de experimento.

Discussão

A velocidade de resposta e o número de formigas recrutadas para áreas danificadas por herbivoria ou por simulações de herbivoria podem variar de acordo com a espécie de formiga e a planta hospedeira que está associada (Bruna *et al.*, 2004). Esta diferença varia desde plantas que produzem recursos alimentares preferencialmente na presença de formigas protetoras (Risch & Rickson, 1981; Heil *et al.*, 1997) até plantas que não produzem nenhum recurso alimentar para as formigas que as defendem (Izzo & Vasconcelos, 2002). Neste estudo mostrei que o número de operárias de *Pheidole*, *Allomerus* e *Azteca* aumentou rapidamente após a simulação de herbivoria com compostos voláteis de folhas jovens. Ao contrário do esperado, o número de operárias de *Allomerus* foi três vezes maior em folhas com extrato mais concentrado do que em folhas com extrato menos concentrado e do que no controle. Minha previsão era que estas formigas respondessem igualmente a diferentes concentrações de extratos foliares, já que qualquer pista que indique a presença de um herbívoro seria uma informação confiável de alimento para a colônia. Porém, é possível que operárias de *Allomerus* respondam apenas a estímulos mais fortes por que plantas de *Hirtela* são muito grandes e com uma arquitetura muito complexa (veja Izzo & Vasconcelos, 2005) e, por isso, estímulos mais fracos poderiam não ser

suficientes para iniciar uma resposta rápida e em grande número para o local danificado. De fato, em *Hirtela* o número de operárias em folhas com extratos foliares de baixa concentração não foi diferente do controle (água).

Meus resultados foram semelhantes a estudos anteriores que mostraram que as formigas respondem a compostos voláteis aumentando o recrutamento para áreas danificadas (e.g. Agrawal, 1998; Bruna *et al.*, 2004; Christianini & Machado, 2004; Romero & Izzo, 2004; revisão em Agrawal & Rutter, 1998). Porém, não houve diferença no número de formigas em folhas com extratos mais e menos concentrados nas plantas *Maieta* e *Tococa*. Ao contrário do esperado, o número de operárias de *Azteca* e *Pheidole* não foi maior em folhas com extratos foliares mais concentrados. É possível que, pelo fato dessas plantas serem pequenas e grande parte das domáceas estarem colonizadas por formigas, danos foliares mínimos que indicassem a presença de um possível ataque de herbívoros seria suficiente para iniciar o processo indutivo de operárias. Desta maneira, quanto mais rápida for esta resposta a qualquer nível de dano foliar, maior a possibilidade de conseguir proteger sua parceira mutualística. Agrawal & Rutter (1998) sugeriram que a resposta induzida das formigas a pistas que indiquem danos foliares pode estar relacionada com a prevenção de um futuro dano na planta que poderia levar a

um declínio da qualidade do recurso oferecido pelas mirmecófitas. Então, em plantas com um número pequeno de folhas, conseqüentemente, com oferta de corpúsculos alimentares limitada, o recrutamento rápido de operárias a qualquer nível de dano foliar seria uma maneira eficaz de proteger a planta e garantir recurso alimentar para a colônia.

Pistas químicas associadas a herbivoria aumentaram significativamente o número de formigas para áreas danificadas em três espécies de mirmecófitas da Amazônia Central. Meus dados mostram que plantas mirmecófitas que produzem recursos alimentares possuem parceiros mutualísticos que defendem a planta a qualquer pista que indique a presença de um possível herbívoro. Por outro lado, mirmecófitas que não produzem esses recursos abrigam formigas que defendem-nas principalmente com extratos foliares mais concentrados, ou seja, em caso de danos mais extensos. A intensidade de resposta induzida parece estar principalmente relacionada ao tamanho da planta e à quantidade de domáceas colonizadas por formigas. Sugiro que estudos futuros avaliem características arquiteturais das plantas (e.g. número de ramos, folhas) e as relacionem ao tempo de resposta do recrutamento de formigas em diferentes sistemas formiga-planta.

Agradecimentos

“O que ficou pra trás, não deve te prender! O que você ganhou, o que você

perdeu? São mais do que lições...” (Dead Fish). Gostaria de agradecer pesadamente aos professores / monitores Glauco Machado, José Camargo (Zé), Rogelio Macías-Ordóñez, Adriano Melo, Marco Mello, Paulo de Marco Jr., Juju (valeu pela escova de dentes providencial...sem elas eu teria mais problemas de comunicação!), André e Jorge Nessimian por todas as dicas, sugestões, críticas e bons papos nestes 30 dias de EFA, foi realmente *play*. A galera do igarafest (“pseudoréplicas”) pelas noites de bate papo sem nenhum cunho científico, regados a uma boa pinga manaura, que foram uma boa válvula de escape para a enxurrada de informações diárias. Aos novos amigos, por compartilharem os dias incríveis na AMAZÔNIA CENTRAL: saudações Alisson, Ana, Bia, Biu (alminha sebosa), Billy Onário, Débora, Fabi manaura, Fabi berlândia, Fumaça (xitará), Leo (entusiasta), Lele, Maíra, Manu, Melina (rasta!!), Murilo (PWA), Pedro (boto fé), Thais, Tora e Wanessinha, foi CEnixtro. Só para loucos, isso é só para os raros, aaaahhhhhhh!! Agradeço muito também à Leo, Seu Cardoso, Cabocão, Dona Eduarda e Didi.

Referências bibliográficas

Agrawal, A.A. 1998. Leaf damage and associated cues induce aggressive ant recruitment in a Neotropical ant-plant. *Ecology*, 79: 2100-2112.

- Agrawal, A.A. & M.T. Rutter. 1998. Dynamic anti-herbivore defense in ant-plants: the role of induced responses. *Oikos*, 83: 227-236.
- Bronstein, J.L. 1998. The contribution of ant-plant protection studies to our understanding of mutualism. *Biotropica*, 30: 150-161.
- Bruna, E.M.; D.M. Lapola & H.L. Vasconcelos. 2004. Interspecific variation in the defensive responses of obligate plant-ants: experimental tests and consequences for herbivory. *Oecologia*, 138: 558-565.
- Christianini, A.V. & G. Machado. 2004. Induced biotic responses to herbivory and associated cues in the Amazonian ant-plant *Maieta poeppigii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 112: 81-88.
- Fonseca, C.R. & G. Ganade. 1996. Asymmetries, compartments and null interactions in an Amazonian ant-plant community. *Journal of Animal Ecology*, 65: 339-347.
- Fonseca, C.R. 1999. Amazonian ant-plant interactions and the nesting space limitation hypothesis. *Journal of Tropical Ecology*, 15:807-825.
- Heil, M.; B. Fiala; K.E. Linsenmair; G. Zotz & P. Menke. 1997. Food body production in *Macaranga triloba* (Euphorbiaceae): a plant investment in anti-herbivore defence via symbiotic ant partners. *Journal of Ecology*, 85: 847-861.
- Izzo, T.J. & H.L. Vasconcelos. 2002. Cheating the cheater: domatia loss minimizes the effects of ant castration in an Amazonian ant-plant. *Oecologia*, 133: 200-205.
- Izzo, T.J. & H.L. Vasconcelos. 2005. Ants and plant size shape the structure of the arthropod community of *Hirtella myrmecophila*, an Amazonian ant-plant. *Ecological Entomology*, 30: 650-656.
- Risch, S.J. & F.R. Rickson. 1981. Mutualism in which ants must be present before plants produce food bodies. *Nature*, 291: 149-150.
- Romero, G.Q. & T.J. Izzo. 2004. Leaf damage induces ant recruitment in the Amazonian ant-plant *Hirtella myrmecophila*. *Journal of Tropical Ecology*, 20: 675-682.
- Vasconcelos, H.L. & D.W. Davidson. 2000. Relationship between plant size and ant associates in two Amazonian ant-plants. *Biotropica*, 32: 100-111.
- Zar, J.H. 1996. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.