

Reconhecimento da mirmecófita *Hirtella myrmecophila* (Chrysobalanaceae) pelas rainhas da formiga *Allomerus octoarticulatus* (Myrmicinae)

Gustavo Requena, Leonardo Trevelin, Melina Leite & Thaís Postali

Introdução

Mirmecófitas são plantas que apresentam uma relação mutualística obrigatória com formigas. Algumas dessas plantas são incapazes de completar seus ciclos de vida se não forem colonizadas pelas espécies correspondentes de formigas, da mesma forma, algumas espécies de formiga típicas de mirmecófitas não conseguem estabelecer suas colônias fora das plantas hospedeiras (Fonseca, 1999). As mirmecófitas apresentam estruturas ocas, chamadas domáceas, que podem se localizar nas raízes, nos troncos, nos pecíolos ou nas folhas, oferecendo sítios de nidificação ou de refúgio para as formigas. Em troca, as formigas podem proteger suas plantas hospedeiras contra uma grande variedade de herbívoros. Além disso, diversas espécies de formigas que vivem em mirmecófitas impedem o estabelecimento de epífitas e da vegetação ao redor da planta hospedeira, reduzindo a competição por nutrientes, água e luz. Por fim, algumas plantas hospedeiras apresentam adaptações específicas para incorporar nutrientes estocados pelas formigas como lixo nas domáceas, incluindo exúvias, restos de

artrópodes predados ou larvas e operárias mortas (revisão em Heil & McKey, 2003).

A rede de relações formada entre as espécies de formigas e as espécies de mirmecófitas tende a ser bem compartimentalizada, com cada espécie de formiga especializada em apenas uma ou poucas espécies de mirmecófitas como hospedeira, e vice-versa (Fonseca & Ganade, 1996). Dessa forma, deve existir uma forte competição dentro destes compartimentos e mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie de formiga para colonizar as plantas hospedeiras, uma vez que a disponibilidade de mirmecófitas não colonizadas é muito baixa em campo (Izzo & Vasconcelos, 2002). Esse cenário ecológico exerce forte pressão seletiva para o surgimento e aperfeiçoamento de mecanismos que auxiliem a rápida localização e colonização de rainhas de formigas em suas respectivas plantas hospedeiras.

A formiga *Allomerus octoarticulatus* (Myrmicinae) apresenta ampla distribuição na América do Sul, estando sempre associada a domáceas de uma ou algumas mirmecófitas (Fernandéz, 2007). Na Amazônia Central, esta espécie de formiga utiliza como planta hospedeira as mirmecófitas *Duroia saccifera*

(Rubiaceae), *Hirtella physophora* e *Hirtella myrmecophila* (Crysobalanaceae), sendo esta última mais abundante do que as duas primeiras. Estudos realizados com o sistema *A. octoarticulatus* e *H. myrmecophila* mostraram que a formiga diminui drasticamente a herbivoria em folhas jovens da planta (Izzo & Vasconcelos, 2002) e que as operárias reconhecem compostos químicos liberados durante um dano foliar na planta hospedeira (Romero & Izzo, 2004). Outra população de *A. octoarticulatus*, na Amazônia peruana, está associada apenas a uma espécie de mirmecófito, a *Cordia nodosa* (Boraginaceae). Já foi demonstrado experimentalmente que as rainhas dessa população reconhecem voláteis da planta hospedeira e utilizam-nos como pistas para localizá-la durante a colonização (Edwards *et al.*, 2006). No entanto não é conhecido como ocorre o reconhecimento da mirmecófito por *A. octoarticulatus* na Amazônia brasileira. Este trabalho teve como objetivo testar se existe reconhecimento químico da planta *H. myrmecophila* por rainhas de *A. octoarticulatus* em uma população da Amazônia Central. Se isto ocorre, é esperado que as rainhas se orientem preferencialmente na direção da planta hospedeira por meio de voláteis, compostos químicos de longo alcance.

Material & métodos

O trabalho foi realizado em cerca de 2 km de trilhas no interior da Reserva do Km 41

(2°24' S; 59°44' O), localizada na Fazenda Esteio, na área do Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF), cerca de 80 km ao norte de Manaus (Oliveira, 1987). Rainhas de *Allomerus octoarticulatus* foram coletadas em domáceas de indivíduos jovens de *Hirtella myrmecophila*. Todas as rainhas foram levadas para o laboratório para a realização de um experimento de escolha em tubo Y, que é um túnel circular de vidro em forma de Y. Ao final de uma das extremidades do Y (tratamento) foi colocado um saco plástico com a abertura presa ao tubo, com uma folha de *H. myrmecophila*, cujas domáceas foram previamente removidas e a folha lavada por 1 min em água corrente para evitar a interferência do odor da colônia residente da planta. As folhas utilizadas no experimento foram coletadas de plantas diferentes, cuja rainha não foi coletada. No final da outra extremidade do tubo, foi colocado um saco plástico vazio, também com a abertura presa na extremidade do tubo, como controle. Em ambos os sacos plásticos, foram conectadas mangueiras ligadas a uma bomba de ar, que gerou uma corrente vento de 400 mL/min em cada lado, formando um túnel de vento no interior do tubo.

Em cada teste, uma rainha foi colocada na extremidade oposta aos tratamentos, para onde o vento convergia, e foi observada qual extremidade era escolhida pela formiga. Para evitar um possível efeito da luminosidade, o tubo em Y foi coberto com

papel celofane vermelho, filtrando os comprimentos de onda visíveis pelas formigas. Foi considerado como reposta quando a formiga passava da metade do túnel com a opção do tratamento ou do controle, em um período máximo de 10 min. Todas as formigas que não alcançaram a metade do tubo em até 10 min foram descartadas do experimento. Após cada teste, o tubo em Y era limpo com álcool para evitar pistas odoríferas entre as rainhas testadas e eram trocadas as extremidades controle e tratamento.

Como o número de respostas das formigas ao teste do tubo em Y foi baixo, foi realizado um teste de premissa para avaliar se, independentemente do tipo de estímulo, as rainhas de *A. octoarticulatus* são capazes de localizar folhas de *H. myrmecophila*. Para isso, foi realizado um segundo experimento de escolha, no qual as mesmas rainhas testadas no experimento anterior foram colocadas em uma placa de Petri, com dois tratamentos em lados opostos: um recorte de 4 cm² de folha de *H. myrmecophila* e um pedaço de papel sulfite de mesmo tamanho. As rainhas foram posicionadas no centro da placa, a uma distância igual dos dois tratamentos e, após 30 minutos, foi verificado o local onde a formiga havia parado.

Resultados

Foram encontradas e coletadas 35 rainhas de *Allomerus octoarticulatus*, porém somente 23 formigas puderam ser utilizadas

nos experimentos. Os outros 12 indivíduos chegaram mortos ou com injúrias que visivelmente dificultaram a locomoção dos indivíduos durante o experimento. Das rainhas que efetivamente foram submetidas ao experimento, apenas seis apresentaram algum tipo de resposta ao teste do tubo em Y. Neste experimento, apenas duas escolheram o tratamento (folhas de *Hirtella myrmecophila*), enquanto as outras quatro caminharam em direção ao controle (sem folhas). No teste de premissa, realizado *a posteriori*, sete indivíduos responderam ao experimento: cinco que haviam respondido ao experimento do tubo em Y e outros dois que não haviam se movimentado no experimento anterior. Todos os indivíduos pararam sobre a folha de *H. myrmecophila* e não no papel sulfite.

Foi realizado um teste qui-quadrado para testar a propensão de cada uma das rainhas em responder ao experimento ($\chi^2=10,729$; g.l.= 1; $p < 0,001$) e observou-se que, dos 23 indivíduos submetidos aos dois testes de escolha, 15 não responderam consistentemente a nenhum experimento.

Discussão

A associação entre formigas e plantas oferece um dos melhores exemplos de interações mutualísticas e têm contribuído muito para o entendimento da evolução dos mutualismos (Bronstein, 1998). A coevolução que favorece as relações mutualísticas leva a relações estreitas, normalmente espécie-

específicas, entre formigas e plantas mirmecófitas. Para a associação entre *Hirtella myrmecophila* e *Allomerus octoarticulatus* estudada na Amazônia Central, apresentamos indícios que o reconhecimento da planta pela formiga rainha parece não ocorrer por voláteis produzidos pela hospedeira, diferentemente do que foi encontrado em uma população da mesma espécie de formiga estudada no Peru (Edward *et al.*, 2006).

No presente estudo foi observada uma frequência muito baixa de respostas pelas rainhas a ambos os experimentos realizados. Problemas metodológicos devem ter interferido na execução do trabalho. Uma possível causa desses problemas podem ser as injúrias nas formigas durante a coleta e transporte para o laboratório. Outra possibilidade de interferência é a ausência de um período de aclimação para que as rainhas se acostumassem às condições experimentais em laboratório. Este resultado apóia a idéia de estresse durante a manipulação e estudos futuros devem atentar para estes dois pontos durante a manipulação das rainhas.

Apesar do baixo número de respostas do experimento de escolha do tubo em Y, a localização dos indivíduos de *H. myrmecophila* pelas rainhas da formiga *A. octoarticulatus* parece não ser realizada à longa distância, mediada por voláteis da planta hospedeira. É possível que a planta não produza nenhum tipo de composto volátil que possa ser

utilizado como sinalização pela rainha para detectá-la. Outra possibilidade é que a formiga não seja capaz de reconhecer qualquer volátil que seja liberado pela planta hospedeira. Futuros estudos devem abordar a realização de análises olfatométricas das folhas de *H. myrmecophila*, a fim de descobrir se existem voláteis sendo liberados.

A partir do teste de premissa *a posteriori*, pode-se inferir que as rainhas reconhecem *H. myrmecophila*, utilizando outras pistas, como visuais, táteis, químicas ou a combinação delas. Estudando a resposta de operárias desta mesma espécie de formiga a danos foliares na mesma planta hospedeira, Romero & Izzo (2002) observaram que os indivíduos encostavam as antenas e as mandíbulas na área injuriada da folha, sugerindo que líquidos em associação a compostos voláteis são necessários para estimular as formigas. Estudos futuros podem investigar especificamente qual tipo de pista ou combinação de pistas é utilizada pelas rainhas durante a procura de um sítio para nidificação.

A baixa disponibilidade de *H. myrmecophila* não colonizadas não gerou um mecanismo de reconhecimento químico nas rainhas de *A. octoarticulatus*, uma vez que estas formigas não usam mecanismos de reconhecimento à longa distância. Se o reconhecimento da hospedeira em *A. octoarticulatus* se dá apenas à curta distância, devem existir outros mecanismos que

permitam a alta ocupação dessas plantas, já que a grande maioria dos indivíduos de *H. myrmecophila* possui colônias de formigas (Izzo & Vasconcelos, 2002). É possível que a colônia produza uma grande quantidade de rainhas aladas ou que a longevidade das rainhas produzidas seja muito alta, permitindo que esses indivíduos, procurando ao acaso a planta hospedeira, consigam colonizar todas as plantas disponíveis. Uma dessas estratégias, ou até mesmo a combinação delas, poderia compensar a baixa eficiência de encontro da planta hospedeira à longa distância.

Os resultados encontrados neste estudo contrastam com os encontrados na Amazônia peruana, cujas rainhas são capazes de reconhecer os voláteis emitidos pela planta hospedeira (Edward *et al.*, 2006). A população de *A. octoarticulatus* peruana utiliza apenas uma espécie de planta hospedeira (*Cordia nodosa*), enquanto que a população encontrada na Amazônia central utiliza três espécies de planta para nidificar (Izzo & Vasconcelos, 2002). Assim, acreditamos que as rainhas da população estudada no presente trabalho devem ser menos especialistas em plantas hospedeiras que as rainhas da população peruana. Isto implica que as rainhas têm contato com uma gama maior de voláteis produzidos por espécies de famílias botânicas diferentes, provavelmente tendo menor eficiência em reconhecer cada um individualmente. Sugerimos que as pressões

seletivas para o reconhecimento à longa distância dos voláteis de *H. myrmecophila*, na população brasileira, pelas rainhas de *A. octoarticulatus* devem ser mais fracas do que as pressões exercidas por um ajuste co-evolutivo mais estreito entre a formiga e a planta hospedeira no Peru (*Cordia nodosa*). Este fato sugere que padrões de especialização nestas associações podem ocorrer no nível de populações locais.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer ao prof. Dr. Thiago Izzo pela orientação e ajuda em todas as etapas do trabalho. Ao grande Léo Marajó, pela ajuda em campo. Aos demais professores e colegas do curso de campo "Ecologia da Floresta Amazônica 2007" pelos valiosos comentários e ajuda na elaboração do projeto. Aos revisores pelas mudanças sugeridas e por conduzir nosso trabalho ao "céu".

Referências bibliográficas

Brouat, C.; D. Mckey; J.M. Bessiére; L. Pascal & M. Hossaert-Mckey. 2000. Leaf volatile compounds and the distribution of ant patrolling in an ant-plant protection mutualism: preliminary results on *Leonardoxa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and *Petalomyrmex* (Formicidae: Formicinae). *Acta Oecologica*, 21:349–357.

- Edwards, D.P.; M. Hassall; W.J. Sutherland & D.W. Yu. 2006. Assembling a mutualism: ant symbionts locate their host plants by detecting volatile chemicals. *Insectes Sociaux*, 53: 172–176.
- Fernandéz, F. 2007. The myrmicine ant genus *Allomerus* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *Caldasia*, 29: 159-175.
- Fonseca, C.R.S. 1999. Amazonian ant-plant interactions and the nesting space limitation hypothesis. *Journal of Tropical Ecology*, 15: 807–825.
- Fonseca, C.R. & G. Ganade. 1996. Asymmetries, compartments and null interactions in an Amazonian ant-plant community. *Journal of Animal Ecology*, 65: 339-347.
- Heil, M. & D. McKey. 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology and Evolutionary Systematics*, 34 :425–453.
- 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.
- Oliveira, A.A. 1987. Diversidade, estrutura e dinâmica do comportamento arbóreo de uma floresta de terra firme de Manaus, AM. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 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.

Orientação: Thiago Izzo