

Recrutamento de *Allomerus octoarticulatus* (Myrmicinae) é afetado pela intensidade da herbivoria em *Hirtella myrmecophila* (Chrysobalanaceae)?

João Capurucho, Gláucia M. A. de Oliveira, Laura C. Leal, Pedro R. Vieira & Rodrigo Marciente

Introdução

As plantas desenvolveram diversas estratégias de defesa contra herbivoria ao longo do processo evolutivo. Essas estratégias são classificadas em defesas diretas e indiretas. Defesas diretas representam barreiras físicas contra o consumo das folhas, como tricomas, espinhos e compostos do metabolismo secundário (Schaller 2008). Em contraste, defesas indiretas são caracterizadas pela interação com organismos do terceiro nível trófico, que ao consumir herbívoros, reduzem a pressão de herbivoria sobre a planta (Bruinsma & Dicke 2008). Estas interações animais-plantas geralmente são mediadas por estruturas específicas como domáceas, nectários extra-florais e tricomas glandulares. A atração de predadores e parasitóides ocorre pela indução de compostos voláteis após danos causados por herbívoros (Schaller 2008).

A associação entre formigas e plantas mirmecófilas, i.e., aquelas que possuem estruturas atrativas às formigas

(sítio de nidificação e/ou alimento), consiste em um dos mais bem conhecidos exemplos de defesa indireta contra herbivoria em ecossistemas tropicais (Hölldobler & Wilson 1990, Heil & McKey 2003). Muitas destas interações entre mirmecófilas e formigas parecem ser ocasionais e não especializadas (Beattie 1985). Contudo, em plantas mirmecófitas, i.e., aquelas que oferecem abrigos (domáceas) às formigas (Huxley & Cutler 1991), as interações formigas-plantas são mais especializadas (Benson 1985). Muitas espécies de mirmecófitas ainda apresentam nectários extra-florais ou produzem corpos alimentares ricos em lipídios ou glicogênio usados como alimento pelas formigas (Heil & McKey 2003).

Estudos sobre interações entre *Cecropia* spp. e formigas *Azteca* spp. foram os pioneiros em demonstrar indução de defesas bióticas em mirmecófitas (Agrawal 1998). Nesses sistemas formigas mutualistas possuem a capacidade de detectar compostos

secundários voláteis liberados pelos tecidos lesionados da planta hospedeira. Essa detecção permite uma rápida resposta de defesa pelas formigas. Vale destacar que em *Cecropia* spp. o comportamento de formigas *Azteca* spp. ocorre em defesa do recurso alimentar oferecido pela planta. Este mesmo mecanismo de indução de formigas foi observado em mirmecófitas que não disponibilizam recurso alimentar para as formigas mutualísticas (Romero & Izzo 2004). Neste caso, os compostos voláteis sinalizam às formigas a disponibilidade de recurso alimentar. Então, em resposta ao sinal químico, operárias são recrutadas para o consumo do herbívoro indutor da volatilização dos compostos voláteis.

Tendo em vista que a atração de predadores é mediada pela liberação dos compostos voláteis pelos tecidos vegetais lesionados (Schaller 2008), o presente estudo simulou a liberação desses compostos com a utilização de extratos foliares. Utilizamos as informações obtidas para investigar como a intensidade da herbivoria, representada pela concentração dos extratos, influencia a indução de defesa biótica por formigas. Nossas hipóteses são que (1) quanto maior a intensidade do estímulo causado pelo herbívoro,

maior o recrutamento de formigas *Allomerus octoarticulatus* em *Hirtella myrmecophilla* e que (2) a eficiência da resposta das formigas ao estímulo é dependente do tamanho da colônia associada a planta. Sendo assim, esperamos que o número de formigas *Allomerus octoarticulatus* recrutadas seja maior ao longo do tempo de observação em folhas que receberam extratos aquosos mais concentrados de folhas de *Hirtella myrmecophylla* e que mais formigas sejam recrutadas em plantas com maior número de domáceas.

Métodos

Realizamos este trabalho na reserva do Km 41, pertencente ao Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF/STRI), localizada a 70 Km ao norte de Manaus, AM, Brasil (02° 24' S, 59° 52' O). Utilizamos como sistema de estudo a mirmecófito *Hirtella myrmecophila* (Chrysobalanaceae), uma espécie arbustivo-arbórea do sub-bosque de florestas de terra firme da Amazônia Central. Esta espécie possui um par de domáceas totalmente integradas na base das folhas que são colonizadas por formigas da espécie *Allomerus octoarticulatus* (Myrmicinae) (Fonseca

1999). *Hyrtella myrmecophila* não produz estruturas alimentares às formigas *A. octoarticulatus*. Estas formigas se alimentam principalmente dos insetos que pousam sobre as folhas (Izzo & Vasconcelos 2002).

Para testar o efeito da intensidade de estímulos de herbivoria em *H. myrmecophila* sobre o recrutamento de *A. octoarticulatus*, utilizamos dez plantas de *H. myrmecophila* e selecionamos uma folha recém expandida no ápice de três ramos diferentes em cada planta. Selecionamos folhas jovens pois formigas apresentam maior atividade de patrulhamento e defesa destas folhas em comparações com as mais velhas. Isso ocorre porque cada folha jovem consiste em um sítio novo para a expansão da colônia. Quando a folha envelhece, as domáceas ressecam e caem e as formigas migram para as domáceas de folhas mais novas.

Determinamos qual folha receberia cada tratamento através de sorteio e contamos o número de formigas presentes em cada folha antes da aplicação do tratamento. Medimos o número de formigas presentes nas folhas antes da aplicação dos tratamentos com o objetivo de inferir se o incremento de formigas em resposta

aos estímulos voláteis está relacionado com o número inicial de formigas presentes nas folhas. Usamos três tratamentos que simularam a liberação de compostos voláteis (estímulos) em resposta a diferentes intensidades de danos foliares: (i) maior intensidade de estímulo, (ii) menor intensidade de estímulo (iii) ausência de estímulo. Para simular o estímulo usamos extratos aquosos de folhas de *H. myrmecophila* em concentrações de $0,075 \text{ g.mL}^{-1}$ (maior intensidade) e $0,0125 \text{ g.mL}^{-1}$ (menor intensidade), respectivamente. Como controle, usamos água. Aplicamos quatro gotas de cada tratamento, sendo duas gotas em cada lado da nervura central da folha. Após aplicação, nós contamos o número de formigas recrutadas em intervalos de dois minutos durante 10 minutos. Em cada planta, contamos o número de folhas com domáceas e usamos essa medida como estimativa do tamanho da colônia de *A. octoarticulatus*.

Usamos modelos lineares gerais (GLM) para testar se o número de formigas recrutadas variou ao longo de cada tempo de observação em função da intensidade do estímulo de dano foliar. Para esse teste usamos o número de formigas em cada tempo de observação como variável resposta, os diferentes

tratamentos como variável preditora categórica, cada planta como bloco e o número de formigas patrulhando as folhas antes do experimento como covariável. Para testar a influência do tamanho da colônia sobre o recrutamento das formigas, usamos modelos lineares gerais. Usamos o número de formigas recrutadas ao final do período de observação como variável resposta, o número de domáceas em cada planta como variável preditora contínua e o número de formigas presentes nas folhas antes do experimento como covariável.

Resultados

O número de formigas recrutadas ao longo do tempo não variou em função das diferentes concentrações dos extratos das folhas ($F_{(8,68)}=1,715$; $p=0,089$; Figura 1). Os extratos com menor e maior

concentração recrutaram em média $3,1 \pm 3,38$ (média±erro padrão) e $4,1 \pm 6,27$ formigas por folha, respectivamente, enquanto o controle recrutou em média $0,6 \pm 1,38$ indivíduos por folha.

O número de formigas recrutadas ao final do experimento foi positivamente relacionado com o número de formigas patrulhando as folhas no início do experimento ($F_{(1,17)}=170,08$; $p<0,001$; Figura 2). Antes da aplicação dos estímulos, não observamos formigas antes da aplicação dos estímulos em 37% das folhas selecionadas. Nessas folhas, o recrutamento de formigas ao término das observação foi em média 4,8 vezes menor que nas folhas onde as formigas estavam patrulhando antes da aplicação dos tratamentos. Esse recrutamento não foi afetado pelo número de domáceas na planta ($F_{(1,27)}=1,56$; $p=0,22$).

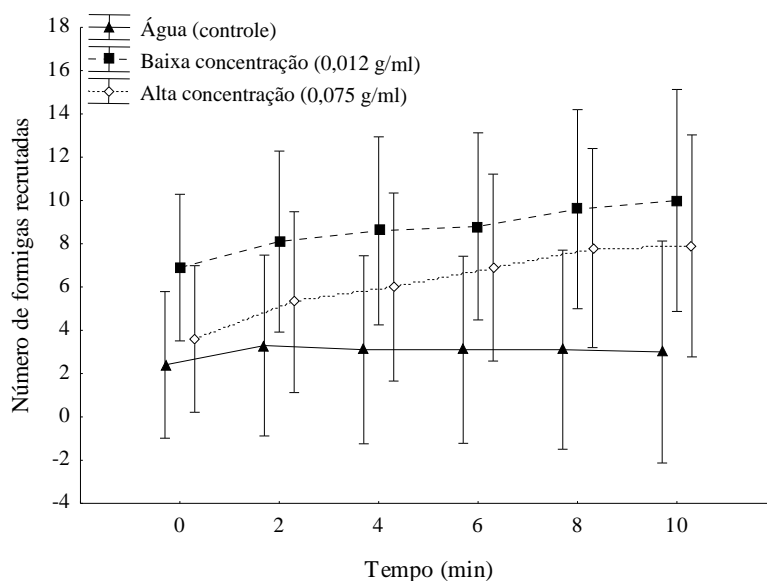


Figura 1. Número médio de formigas *Allomerus octoarticulatus* em folhas jovens de *Hirtella myrmecophila* que receberam diferentes concentrações de extrato de folhas de *H. myrmecophila* e água (controle). Pontos representam médias e as barras verticais o intervalo de confiança ($\pm 95\%$).

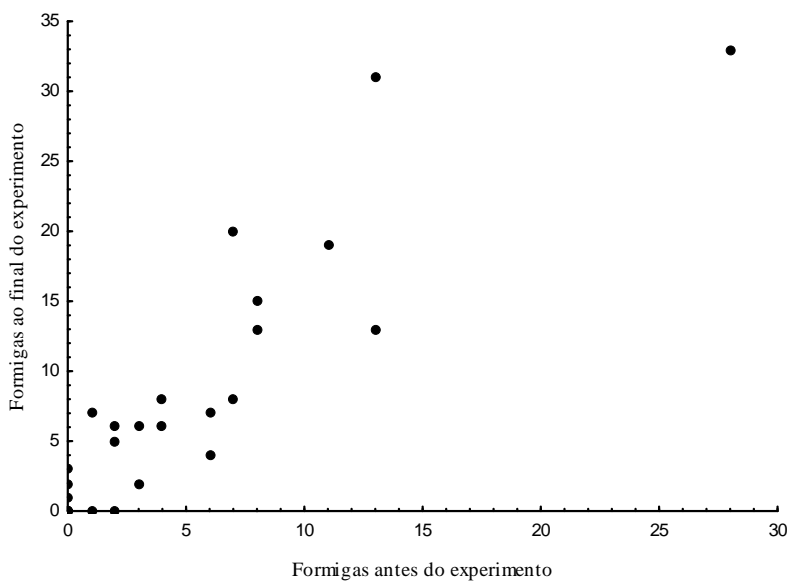


Figura 2. Número de formigas *Allomerus octoarticulatus* em folhas jovens de *Hirtella myrmecophila* antes e depois de receberem extrato de folhas de *H. myrmecophila* em diferentes concentrações e água (controle).

Discussão

Nossos resultados indicam que *Allomerus octoarticulatus* não respondem a simulações de diferentes

intensidades de estímulos causados por herbívoros. Em contraste, Romero & Izzo (2004) estudaram esse mesmo sistema e mostraram que estas formigas

recrutam após aplicação de solução aquosa com extratos foliares de *H. myrmecophilla* em concentração de 0,062 g/mL. No nosso experimento a variação na indução de defesa biótica pode ser dependente da condição atmosférica durante a coleta de dados em campo. Durante a execução do experimento a iminência de chuva pode ter reduzido a atividade de *A. octoarticulatus*, resultando na diminuição do patrulhamento das folhas de *H. myrmecophilla*. De fato, *A. octoarticulatus* abriga-se no interior das domáceas antes da chuva (G.Q. Romero, comunicação pessoal). A redução da atividade das formigas frente às alterações de umidade, temperatura e chuva é bem documentada na literatura (Hölldobler & Wilson 1990).

O recrutamento ocorreu somente após a formiga ter o contato físico (mandíbulas ou antenas) com o extrato de folhas ou água. Portanto, é possível que as formigas possam ter outros meios para identificar a presença de herbívoros independentemente da intensidade da sinalização. Um possível mecanismo é a identificação dos herbívoros pelo contato seguido pelo recrutamento do resto da colônia. Nossos resultados fornecem indícios

que esse mecanismo ocorre em nosso sistema, já que em folhas onde houve mais formigas antes do tratamento experimental o recrutamento tendeu a ser mais rápido. O gotejamento do extrato e da água (estímulo) pode ter sido percebido pelas formigas como sinal da presença de um herbívoro e por isso, as formigas responderam de forma similar aos tratamentos com extrato foliar.

Não encontramos relação entre recrutamento e tamanho da colônia. Possivelmente cada par de domáceas na base das folhas abriga as formigas que são responsáveis pelo patrulhamento da mesma. Assim, cada folha pode ser patrulhada por operárias que atuam independentemente do tamanho da colônia.

O número inicial de formigas patrulhando a folha foi mais eficiente para o recrutamento que a concentração e natureza do extrato utilizado no experimento. Sendo assim, a integridade da colônia pode estar relacionada ao comportamento de patrulhamento e forrageio de *A. octoarticulatus*. Sugerimos estudos que incluam a presença de herbívoros juntamente com a utilização de extratos foliares para a elucidação dos mecanismos de defesa indireta em *Hirtella myrmecophilla*.

Referências

- Agrawal, A.A. 1998. Leaf damage and associated cues induce aggressive ant recruitment in a neotropical ant-plant. *Ecology*, 79:2100-2112.
- Beattie, A. J. 1985. The evolutionary ecology of ant-plant interactions. Cambridge: University Press. 182 pp.
- Benson, W. W. 1985. Amazon ant plants, pp. 239–266. In: Amazonia (Prance G. T. & T. E. Lovejoy, eds.). Pergamon Press, Oxford.
- Bruinsma, M & Dicke, M. 2008. Herbivore-induced indirect defense: from induction mechanisms to community ecology, pp. 31-60. In: Induced plant resistance to herbivory (Schaller, A., ed.). Berlin: Springer.
- Hölldobler, B. & E.O. Wilson 1990. *The ants*. Cambridge: Harvard University Press.
- Huxley, C.R. & D.F. Cutler. 1991. Ant-Plant Interactions. Oxford: Oxford University Press.
- Heil, M. & D. Mckey. 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology and Systematics* 34:425–453.
- Romero, G.Q. 2002. Danos foliares induzem recrutamento de formigas habitantes de domáceas em *Hirtella myrmecophylla* (Chrysobalanaceae) na Amazônia central, pp.81-84. In: Ecologia da Floresta Amazônica: curso de campo 2002. (E. Venticinquê & J. Zuanon, eds.). Manaus: Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais.
- Romero, G.Q. & T.J. Izzo. 2004 Leaf damage induces ant recruitment in the Amazonian ant-plant. *Journal of Tropical Ecology*, 20:675–682.
- Schaller, A. 2008. Induced plant resistance to herbivory. Berlin: Springer.
- Fonseca, C.R. 1999. Amazonian ant-plant interactions and the nesting space limitation hypothesis. *Journal of Tropical Ecology*, 15: 807-825.
- 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.