

Respostas induzidas em epífitas associadas a jardins de formigas: plantas que não oferecem recursos alimentares também tem vez?

Leonardo Carreira Trevelin

“Natural selection cannot possibly produce any modification in a species exclusively for the good of another species; though throughout nature one species incessantly takes advantage of, and profits by, the structures of others. If it could be proved that any part of the structure of any one species had been formed for the exclusive good of another species, it would annihilate my theory, for such could not have been produced through natural selection.”

Charles Darwin (1859)

Introdução

O mutualismo é fundamentalmente uma relação de troca entre duas espécies que possuem diferentes habilidades, e que se beneficiam porque podem se especializar em produtos que o parceiro produz mais eficientemente, gerando benefícios líquidos para cada parceiro (Begon *et al.*, 2006; Yu & Heil, 2007). Por exemplo, o sucesso reprodutivo de muitas plantas vasculares é intimamente relacionado a relações mutualísticas com insetos (Brounstein *et al.*, 2006). Estas plantas desenvolveram um conjunto de estratégias de defesas em resposta à pressão seletiva de herbívoros, dentre elas a defesa biológica, que é baseada nas interações mutualísticas (Coley & Barone, 1996). Nestes casos, as plantas e os insetos devem juntos produzir mais abrigo, alimento e proteção do que produziriam separadamente, maximizando seu sucesso reprodutivo (Yu & Heil, 2007).

Formigas atraídas por recursos alimentares derivados de plantas, por exemplo, servem como um importante

mecanismo de defesa biológica em comunidades tropicais. Estas interações variam desde associações facultativas, atraindo formigas de outras colônias para as plantas que produzem estes recursos até relações mutualísticas obrigatórias (Izzo & Vasconcelos, 2002; Heil & McKey, 2003).

Os “Jardins de formigas” são um tipo especial destas associações, muito comuns em florestas Neotropicais e considerados o mais complexo tipo de mutualismo entre formigas e plantas (Hölldobler & Wilson, 1990; Vieira-Neto *et al.*, 2006). Estruturas formadas por epífitas enraizadas em colônias de formigas arborícolas, estes jardins são formados quando as formigas coletam os frutos destas plantas e descartam as sementes em câmaras no ninho; essas sementes muitas vezes germinam e, nutridas pelos detritos trazidos pelas formigas, crescem sobre a colônia e suas raízes tornam-se parte integrante da estrutura do ninho (Hölldobler & Wilson, 1990; Vieira-Neto *et al.*, 2006). Na floresta Amazônica, os jardins são formados por diferentes espécies de formigas, sendo

Crematogaster, *Solenopsis*, *Azteca*, e *Camponotus* os gêneros mais comuns (Davidson, 1988), enquanto que as espécies mais comuns de plantas pertencem principalmente às famílias Araceae e Gesneriaceae (Ribeiro *et al.*, 1999).

Além de se beneficiarem da estruturação dos ninhos, as formigas também podem utilizar as plantas epífitas como recurso alimentar, através do consumo de seus frutos e produtos de nectários extraflorais, e através da exploração de homópteras (Hölldobler & Wilson, 1990). No ponto de vista das plantas, entretanto, os benefícios decorrentes deste mutualismo ainda não são tão evidentes (Jakovac, 2006). Existem, porém, indícios de benefícios relacionados à aptidão dos indivíduos (Davidson, 1988; Jakovac, 2006), semelhante ao que foi demonstrado para o sistema formiga-planta, interação mutualística estreita onde as plantas gozam de defesas biológicas induzidas mediante herbivoria (Agrawal & Dubin-Thaler, 1999; Izzo & Vasconcelos, 2002; Christianini & Machado, 2004; Romero & Izzo, 2004). Respostas induzidas a herbivoria são comuns na maioria dos grupos de plantas vasculares e estão relacionadas a tratos que podem ser ajustados em resposta a herbivoria, levando a um aumento na aptidão individual em espécies que apresentam estas respostas (Agrawal, 1998; Karban *et al.*, 1999).

Em trabalho realizado por Mundim *et al.* (2007) no Arquipélago de Anavilhanas, Amazônia Central, foi demonstrado que este tipo de defesa ocorre para a espécie *Codonanthes crassifolia*, espécie frequentemente encontrada em jardins de formiga que apresenta nectários extraflorais, o que pode representar um avanço para o entendimento dos benefícios trocados nesta relação mutualística. Entretanto, em muitas das espécies de epífitas que ocorrem nesta associação nectários extraflorais estão ausentes, fazendo com que estas plantas não representem fontes de recurso alimentar significativas para as formigas. Poderiam estas plantas estarem se beneficiando da associação das formigas com plantas que possuem nectários extraflorais?

Em exemplos de resposta pós herbivoria para sistemas facultativos de associação formiga-planta, o recrutamento das formigas sempre esteve associado com aumento de volume ou constituição de recursos provenientes de nectários extraflorais (Agrawal & Dubin-Thaler, 1999). Entretanto, em sistemas de associação mutualística obrigatória estas respostas também já foram observadas em casos onde a planta não dispõem de glândulas fontes de recursos alimentares, porém os mecanismos que possibilitam este fenômeno ainda são pouco entendidos. Uma hipótese é que a aptidão da colônia está tão intimamente ligada ao vigor da planta que as formigas são "auto-induzidas"

a defendê-la, possivelmente a partir de sinais químicos liberados mediante ao dano foliar (Agrawal & Rutter, 1998).

Neste contexto teórico, este trabalho teve como objetivo responder a seguintes perguntas: (1) Existe resposta induzida pelas formigas, mediante herbivoria, em plantas presentes em jardins de formigas que não oferecem recurso alimentar? (2) Esta resposta varia entre jardins que apresentam espécies de plantas associadas com recurso e espécies associadas sem recurso? A hipótese que foi trabalhada é que a resposta induzida vai existir porque a planta sem recurso se beneficia desta associação mesmo sem apresentar uma oferta significativa de recurso alimentar, entretanto, a resposta será mais intensa em jardins com espécies que oferecem este recurso.

Materiais & métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado em setembro de 2007, na Reserva Km 41 (59°43'40" O; 02°24'26" S), área distante aproximadamente 80 km de Manaus, pertencente ao Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF-INPA), na Amazônia Central. A fitofisionomia predominante na reserva é floresta de terra-firme. Foram amostradas, arbitrariamente, as trilhas de acesso e à estrada que circunda a reserva buscando maximizar o encontro de jardins que

estivessem no máximo a 5 – 6 m de altura. Procurou-se também percorrer trilhas de forma a amostrar áreas de platô, vertente e baixio.

Coleta de dados

Foram identificados os jardins que continham indivíduos de espécies do gênero *Philodendron* e *Anthurium* (Araceae) para a realização do experimento. Estas são espécies epífitas ou hemiepífitas, muito freqüentes em jardins de formigas, e foram escolhidos como objetos de estudo por não apresentarem estruturas que possam servir como fontes de alimentos para as formigas, como triquílias ou nectários extraflorais (Ribeiro *et al.*, 1999). Pelos mesmos motivos, procurou-se amostrar de forma balanceada jardins que continham espécies do gênero *Codonanthes* (Gesneriaceae), cujas folhas carnosas apresentam nectários extraflorais, conhecidamente explorados pelas formigas. A presença ou não de espécies de *Codonanthes* foi utilizada como tratamento para responder se a resposta das formigas varia entre jardins que apresentam espécies de plantas associadas com recurso e espécies associadas sem recurso.

Em cada jardim, após a identificação das formigas e plantas que compunham o sistema, foram escolhidas três folhas, cada uma em um ramo diferente. Em uma das folhas foi aplicado o tratamento "corte", no qual a folha foi cortada com uma tesoura em sua metade, transversalmente à sua nervura

principal. Em outra foi aplicado o tratamento "toque", que era um controle de procedimento, no qual o meio da folha foi pressionado suavemente com uma pinça, sem danificá-la. A terceira folha experimental foi usada como "controle" e permaneceu intacta. Os critérios de seleção das folhas experimentais eram apresentar danos causados por herbivoria similares e não superiores a 50% e que não apresentassem formigas forrageando sobre o limbo foliar no tempo zero. Todos os tratamentos foram aplicados ao mesmo tempo e os experimentos duraram 10 minutos. Durante este tempo, foi contabilizado o número de formigas caminhando pelas folhas durante cada minuto.

Os resultados obtidos no experimento foram analisados com uma Análise de Variância de medidas repetidas, na qual cada indivíduo alvo em cada jardim recebia os três níveis de procedimento do experimento. No caso de diferenças significativas foram executadas comparações planejadas pelo

método de contrastes ortogonais. Em todos os casos esses contrastes foram feitos entre o procedimento "corte" e os outros dois procedimentos ("pinça" + "controle") e subsequentemente entre os procedimentos "pinça" e "controle" (Zar, 1984).

Resultados

Foi amostrado um total de 31 jardins durante três dias de amostragem, 14 dos quais possuíam espécies do gênero *Codonanthes* e 17 não as possuíam. Quanto às formigas, quatro espécies foram encontradas em associação aos jardins, e a Tabela 1 apresenta a frequência de ocorrência de cada espécie, bem como a frequência de resposta por espécie. A única formiga que respondeu a todos os experimentos a que foi submetida foi *C. femuratus*, assim optou-se por restringir as análises subsequentes a somente os jardins onde ela ocorria (n=25).

Tabela 1- Espécies de formigas encontradas nos jardins amostrados, dispostas por ordem decrescente de frequência de ocorrência, porcentagens de ocorrência e porcentagem de resposta ao estímulo (N=31).

Espécie	Ocorrência (%)	Resposta (%)
<i>Camponotus femuratus</i> (Formicinae) *	80,6	100
<i>Creumatogaster parabiatica</i> (Myrmicinae) *	74,2	13
<i>Odontomachus</i> sp. (Ponerinae)	9,7	0
<i>Azteca</i> sp. (Dolichorderinae)	3,2	0

* Em 67,7% dos jardins (n=21) estas espécies co-ocorreram.

Durante os experimentos, o número máximo de indivíduos de *C. femuratus* sobre o limbo da folha de Araceae após 10 minutos foi significativamente diferente entre os três níveis de procedimento ($F = 45,930$; g.l. = 2; $p < 0,001$), confirmando uma resposta mediante os tratamentos aplicados. O teste de contrastes ortogonais revelou ainda que existe diferença significativa entre cada um dos três níveis, sendo o dano foliar através do "corte" o de maior importância no recrutamento de indivíduos de *C. femuratus*, diferindo significativamente dos outros dois ($F = 27,224$; g.l.=2; $p < 0,001$). O estímulo com "pinça"

também diferiu significativamente do controle ($F = 9,59$; g.l.= 2; $p = 0,001$), o que sugere que tanto o estímulo físico quanto o dano foliar funcionam como sinais para as formigas (Figuras 1 e 2).

Não houve diferença significativa no número de formigas em plantas com e sem a presença de indivíduos de *Codonanthes* ($F = 1,059$, g.l. = 1, $p = 0,314$). Isto sugere que não existe diferença na possível proteção recebida pelos indivíduos de Araceae entre jardins que apresentam plantas com recurso alimentar e aqueles que não apresentam.

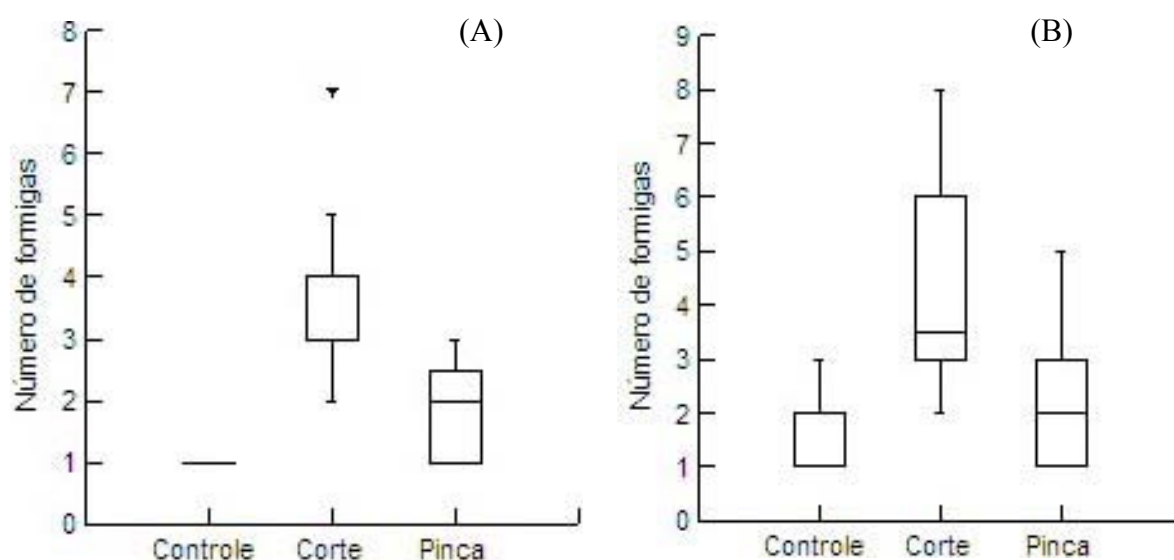


Figura 1. Número máximo de formigas de *Camponotus femuratus* que frequentou o limbo foliar durante os 10 min subsequentes à aplicação dos tratamentos "corte", "pinça" e "controle". Em (A) indivíduos que compartilham jardins de formigas com espécie(s) de *Codonanthes* e (B) em indivíduos que não compartilham jardins de formigas com espécie(s) de *Codonanthes*. Os traços representam a média, o box representam o desvio padrão e as barras representam os intervalos de confiança.

Neste estudo, foram levantadas evidências da existência de respostas induzidas mediante herbivoria em plantas associadas a jardins de formigas que não possuem recursos alimentares. Este resultado reforça a ocorrência deste padrão de resposta em plantas associadas a jardins de formigas, demonstrando que respostas induzidas podem ocorrer independentemente da presença de recursos alimentares na planta beneficiada.

Sendo assim, será que existem espécies que se “beneficiam” da associação mutualística que ocorre nestes jardins? O fato de não encontrar diferenças nas respostas induzidas das formigas entre jardins com plantas associadas que oferecem recursos e os que não tem plantas que oferecem recursos pode ser um passo nesta direção. Estudos recentes demonstraram que vários mecanismos, além de mudanças induzidas na produção de recurso alimentar, podem estar relacionados à indução do recrutamento de formigas. A aptidão da colônia pode estar tão ligada à saúde da planta que ocorre uma auto-indução por parte das formigas, sem a necessidade de uma recompensa direta (Agrawal & Rutter, 1998). Assim, a formiga pode se utilizar de outras pistas que a estimulam ao recrutamento foliar. Neste estudo, nossos dados sugerem que tanto estímulos físicos, quanto estímulos químicos, possivelmente voláteis liberados após o dano,

contribuem, sendo os últimos mais importantes no recrutamento.

A seleção natural deve favorecer o aparecimento de tratos defensivos de forma que benefícios de proteção são maximizados e os custos minimizados, o que favorece uma defesa mais eficaz em partes vitais da planta, ou mesmo em indivíduos específicos nos casos de associações multi-específicas, como os jardins (Heil & McKey, 2003). Em situações onde a dependência entre parceiros é mais estreita, a dependência da condição saudável do parceiro pode garantir uma auto-indução na resposta, enquanto em interações facultativas mais oportunísticas, esta relação pode ser mais dependente de “recompensa” durante a indução (Agrawal & Rutter, 1998). Neste cenário, era de se esperar diferenças nas respostas observadas em plantas associadas aos jardins, uma vez que já foi demonstrado nos jardins que algumas espécies são freqüentemente encontradas e outras apenas eventualmente (Jakovac, 2006), levando à idéia de parceiros obrigatórios e facultativos. Entretanto este não foi o padrão observado em nosso sistema, o que nos deixa a dúvida: o que será que acontece então?

Uma hipótese plausível seria que a ocorrência deste tipo de resposta induzida está relacionada a outros benefícios e não somente à produção de recursos alimentares. Assim, plantas que não possuem nectários extraflorais devem oferecer outras vantagens a seus parceiros, como estruturação do ninho,

por exemplo, um benefício já reportado em outros estudos (Davidson, 1988). Esta hipótese vai de encontro com uma das possíveis explicações para a formação dos Jardins, a hipótese da seleção por formigas, onde as formigas selecionam as sementes que levam para o ninho, “escolhendo” características das epífitas que compõem os jardins de formigas que as beneficiem (Davidson, 1988; Jakovac, 2006). Estudos futuros que venham a elucidar o papel diferenciado das espécies nestes outros aspectos de recurso podem enriquecer muito esta discussão.

Mutualismos de proteção aparentam ter evoluído múltiplas vezes, apresentando uma ampla e altamente difusa distribuição de ocorrência, tanto taxonômica quanto biogeográfica. Dada a aparente frequência com que estes mutualismos apareceram, é provável que não exista uma hipótese adaptativa que explique a origem e benefícios decorrentes destas interações. Na verdade uma diversidade de condições parece selecionar a mesma “solução” para dados “problemas” (Bronstein *et al.*, 2006). No sistema estudado, foi demonstrado que a resposta induzida à herbivoria pode ser um destes benefícios compartilhados por todos os associados, mesmo que alguns deles estejam se “aproveitando” de forma oportunista destes benefícios.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente ao Seu Cardoso e ao Leo Marajó, por todos os jardins de formigas encontrados e as impressionantes lições sobre a Mata. Agradeço meus queridos revisores que tentaram a todo custo linearizar minhas idéias que insistem seguir pelos caminhos tortuosos... acho que conseguiram. À Juju, Manô e Glauco pela ajuda providencial nas coletas. A todos os professores que passaram pelo EFA 2007, em especial ao Glauco, pelas conversas e ajudas nos momentos chaves e por me mostrar o lado bacana do mundo científico; ao Marco, pelo seu humor de “tirinhas do Calvin” e pela morcegada; ao Paulo e seu divã, pela paciência e ajuda na organização das idéias e por me chamar para jogar no time dele (fui o único que saiu ileso...); ao Thiago, pela ajuda no mundo das interações formiga-planta e por sempre dar idéias e me manter animado com o trabalho; e ao Zé; grande ecólogo que me passou muitos ensinamentos nas conversas nos fins de tarde e por também me mostrar o lado bacana do mundo científico. Também aos monitores André e Juju, pela ajuda e por compartilharem conosco sua experiência amazônica. Ao Cabocão pela seleção musical que incluía o grande Barry White. A todas as pessoas envolvidas neste curso agradeço do fundo do coração a oportunidade!

Por fim, gostaria de agradecer a todas as pessoas que, como eu, ganharam uma passagem para este mundo paralelo temporário e provavelmente também não

serão a mesma depois de retornar... Risadas intermináveis, ajudas estatísticas, mais risadas, apresentações memoráveis, mais risadas, caminhadas na Mata... e é claro, Igarafest e suas pseudoréplicas... enfim, amigos, obrigado!

À grande floresta amazônica, cujas escalas impressionam...

Referências bibliográficas

- Agrawal, A.A. 1998. Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science*, 279: 1201-1202.
- Agrawal, A.A. & B.J. Dubin-Thaler. 1999. Induced responses to herbivory in the Neotropical ant-plant association between *Azteca* ants and *Cecropia* trees: response of ants to potential inducing cues. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 45: 47-54.
- Agrawal, A.A. & M.T. Rutter. 1998. Dynamic anti-herbivore defense in ant-plants: the role of induced responses. *Oikos*, 83: 227–223.
- Begon, M.; C.R. Townsend & J.L. Harper. 2006. *Ecology: from individuals to ecosystems*. Blackwell Publishing, Oxford.
- Bronstein, J.L.; R. Alarcón & M. Geber. 2006. The evolution of plant-insects mutualisms. *New Phytologist*, 172: 412–428.
- 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.
- Coley, P.D. & J.A. Barone. 1996. Herbivory and plant defenses. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27: 305-335.
- Davidson, D.W. 1988. Ecological studies of neotropical ant gardens. *Ecology*, 69: 1138-1152.
- Hölldobler, B. & E.O. Wilson 1990. *The ants*. Harvard University Press, Cambridge.
- Heil, M. & D. Mckey. 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 34: 425-426.
- 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.
- Jakovac, A.C.C. 2006. Jardins suspensos da Amazônia: composição florística e sucessão de espécies em jardins de formiga. In: Livro do curso de campo “Ecologia da Floresta Amazônica” (J.L. Camargo & G. Machado, eds.). PDBFF/INPA, Manaus.
- Karban, R.; A.A. Agrawal; J.S. Thaler & L.S. Adler. 1999. Induced plant responses and information content about risk of herbivory. *Trends in Ecology and Evolution*, 14: 443–447.
- Mundim, F.; G. Requena; L. Trevelin; M. Borges & W. Almeida. 2007. Resposta comportamental da formiga *Camponotus*

- femuratus* (Formicinae) induzida por dano foliar de *Codonanthera crassiflora* (Gesneriaceae) em jardins de formiga. In: Livro do curso de campo "Ecologia da Floresta Amazônica" (J.L. Camargo & G. Machado, eds.). PDBFF/INPA, Manaus.
- Ribeiro, J.E.L.; M.J.G. Hopkins; A. Vicentini; C.A. Sothers; M.A.S. Costa; J.M. Brito; L.H.P. Martins; L.G. Lohmann; P.A.C.L. Assunção; E.C. Pereira; S.M.R. Mesquita & L.C. Procópio. 1999. Flora da Reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. INPA-DFID, Manaus.
- 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.
- Vieira-Neto, E; A. Maciel; D. Kasper & R. Souza. 2006. Jardins suspensos da Amazônia Central: história natural e um teste de hipótese sobre interações entre formigas e epífitas. In: Livro do curso de campo "Ecologia da Floresta Amazônica" (J.L. Camargo & G. Machado, eds.). PDBFF/INPA, Manaus.
- Yu, D.W. & M. Heil. 2007. The evolution of mutualism between ants and plants. *Proceedings of the Royal Society of London B, Invited review series*. Submetido.
- Zar, J.H. 1984. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Englewoods Cliffs, New Jersey.