UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

“Formigas visitantes de nectários pericarpiais de Rubiaceae:
impactos de uma relação mutualística”

Danilo Ferreira Borges dos Santos

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo, como parte das exigências para obtenção do
título de Mestre em Ciências, obtido no Programa de
Pós-Graduação em Entomologia.

Ribeirão Preto - SP
(2020)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

“Formigas visitantes de nectários pericarpiais de Rubiaceae:
impactos de uma relação mutualística”

Danilo Ferreira Borges dos Santos

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo, como parte das exigências para obtenção do
título de Mestre em Ciências, obtido no Programa de
Pós-Graduação em Entomologia.

Orientador: Prof. Dr. Kleber Del Claro

Ribeirão Preto - SP

(2020)

SANTOS, Danilo Ferreira Borges. **Formigas visitantes de nectários pericarpiais de Rubiaceae: impactos de uma relação mutualística**. 2020, 41p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento _____

*Aos meus pais,
que se dedicaram aos filhos da melhor forma que lhes foi ensinado*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas de minha família, em especial a minha mãe, por ter acreditado e confiado em minhas escolhas, todo esse apoio familiar me ajudou a conquistar e chegar onde estou. Também agradeço a Ilda, Jael e Jaime, tios de minha mãe, por oferecer abrigo, suporte e carinho em um momento crítico de minha vida.

Agradeço ao Prof. Dr. Kleber Del Claro pela tutoria científica, oportunidade de pesquisa, e também por todo apoio e amparo emocional.

Agradeço ao Dr. Eduardo Calixto, meu coorientador e amigo, pela tutoria científica, mas também pela paciência e apoio emocional em momentos difíceis.

Agradeço aos meus queridos amigos pela força e motivação, minha vida e o meu trabalho seriam penosos sem esse suporte. Agradeço a Drielly Queiroga, Fernanda Barros, Fernando Valdivia, Gabriela Medeiros, Isamara Mendes, Júlia Lima, Paula Cauhy e Rodolfo Santos.

Agradeço a todos os meus professores, meus heróis e inspiração de carreira.

Aos integrantes do LECI pela contribuição científica, apoio e amizade.

Aos diretores do CCPIU, por disponibilizar a área de estudo.

A CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

RESUMO

SANTOS, Danilo Ferreira Borges. **Formigas visitantes de nectários pericarpiais de Rubiaceae: impactos de uma relação mutualística.** 2020, 41p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

O mutualismo é uma interação de exploração mútua na qual as espécies interagentes se beneficiam. Um exemplo é o mutualismo de proteção formado entre formigas e plantas portadoras de nectários extraflorais. Nesse caso, as formigas defendem a planta ao forragearem em busca do néctar, diminuindo danos foliares e florais, e consequentemente aumentando o fitness da planta. Algumas espécies de plantas apresentam nectários florais que após a queda da corola continuam a produzir néctar sobre o fruto em desenvolvimento, denominado nectário pericarpial (NP). Embora comum nos Neotrópicos, poucos estudos tem dado atenção para a interação entre formigas e NPs. O principal objetivo deste estudo foi avaliar na savana brasileira, a comunidade e o comportamento das formigas associadas a plantas portadoras de NPs; e descrever a estrutura da rede formiga-planta. A hipótese levantada foi que essa rede terá uma estrutura aninhada, e que as principais formigas associadas serão a de comportamento agressivo em plantas com maior concentração e volume de néctar pericarpial, como as formigas *Camponotus crassus* e *Ectatomma tuberculatum*. O estudo de campo foi conduzido em uma área de cerrado durante o período de frutificação das espécies. As espécies de plantas utilizadas pertencem a família Rubiaceae: *Cordia elliptica*, *Declieuxia fruticosa* e *Palicourea rigida*. Foram feitas observações em campo para avaliar a rede ecológica, e diferentes manipulações experimentais foram realizadas para a avaliação da agressividade das formigas e taxa de herbivoria foliar. O néctar pericarpial foi mensurado em volume e concentração de açúcar assim como sua relação com a abundância de formigas nas plantas. Os resultados mostraram que os NPs podem mediar a interação entre formigas e plantas no cerrado, influenciando na estrutura da rede, bem como no comportamento e na diversidade de formigas associadas. As redes apresentaram uma estrutura aninhada para duas espécies de plantas. E como esperado, as formigas *C. crassus* e *E. tuberculatum* estiveram presentes nas três espécies de plantas e apresentaram altos valores de grau e força de interação. As formigas associadas a essas plantas oferecem uma defesa efetiva contra a herbivoria foliar em *Cordia elliptica* e *Palicourea rigida*, mas não em *Declieuxia fruticosa*. A abundância e agressividade das formigas são influenciadas de acordo com a concentração do néctar pericarpial oferecido pelas plantas. E por fim, tanto as características das formigas,

como dominância e agressividade quanto as características das plantas como concentração do néctar, são fatores que contribuem para estruturação da rede.

Palavras-chave: Nectário pericarpial, Rubiaceae, Mutualismo de proteção

ABSTRACT

SANTOS, Danilo Ferreira Borges. **Formigas visitantes de nectários pericarpiais de Rubiaceae: impactos de uma relação mutualística.** 2020, 41p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

Mutualism is an interaction of mutual exploitation in which interacting species benefit. An example is the protective mutualism formed between ants and plants that carry extrafloral nectaries. In this case, the ants defend the plant by foraging in search of nectar, reducing leaf and flower damage, and consequently increasing the plant's fitness. Some plant species have floral nectaries that, after the fall of the corolla, continue to produce nectar on the developing fruit, called pericarpial nectary (NP). Although common in the Neotropics, few studies have given attention to the interaction between ants and NPs. The main objective of this study was to evaluate in the Brazilian savannah, the community and the behaviour of ants associated with plants carrying NPs; and describe the structure of the ant-plant network. The hypothesis raised was that this network will have a nested structure, and that the main associated ants will be aggressive in plants with higher concentration and volume of pericarpial nectar, such as the ants *Camponotus crassus* and *Ectatomma tuberculatum*. The field study was conducted in an area of Cerrado during the period of fruiting of the species. The plant species used belong to the Rubiaceae family: *Cordia elliptica*, *Declieuxia fruticosa* and *Palicourea rigida*. Field observations were made to assess the ecological network, and different experimental manipulations were carried out to assess the ant's aggressiveness and leaf herbivory rate. The pericarpial nectar was measured in volume and concentration of sugar as well as its relationship with the abundance of ants in the plants. The results showed that NPs can mediate the interaction between ants and plants in the Cerrado, influencing the structure of the network, as well as the behaviour and diversity of associated ants. The nets presented a nested structure for two species of plants. And as expected, the ants *C. crassus* and *E. tuberculatum* were present in the three species of plants and showed high values of degree and strength of interaction. The ants associated with these plants offer an effective defence against leaf herbivory in *Cordia elliptica* and *Palicourea rigida*, but not in *Declieuxia fruticosa*. Ants' abundance and aggressiveness are influenced according to the concentration of pericarpial nectar offered by plants. And finally, both the characteristics of ants, such as dominance and aggressiveness as well as the characteristics of plants such as concentration of nectar, are factors that contribute to the structuring of the network.

Keyword: Pericarpial nectary, Rubiaceae, Mutualism of protection

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. MATERIAIS E MÉTODOS	15
2.1 Área de estudo	15
2.2 Espécies em estudo.....	15
2.3 Redes de interações.....	17
2.4 Efetividade da defesa e agressividade.....	18
2.5 Influência do volume e concentração do néctar na diversidade e abundância de formigas	19
3. RESULTADOS	20
3.1 Rede de interações	20
3.2 Efetividade da defesa e agressividade.....	25
3.3 Impactos do volume e concentração do néctar na diversidade e abundância de formigas	27
4. DISCUSSÃO.....	29
4.1 Rede de interações	30
4.3 Impactos do volume e concentração do néctar na diversidade e abundância de formigas	34
5. CONCLUSÃO	35
6. REFERÊNCIAS.....	35

1. INTRODUÇÃO

Insetos e plantas estabeleceram cedo suas relações ecológicas após a conquista do ambiente terrestre por ambos os táxons (LABANDEIRA, 2002). Registros fósseis datando do Período Devoniano inferior (420-395 Ma) mostram folhas de plantas com marcas de herbivoria, similares àquelas realizadas por insetos que possuem o aparelho bucal do tipo sugador-picador (SCHOONHOVEN; LOON; DICKE, 2005), evidenciando uma relação antagonica entre plantas e insetos. No entanto, essas relações nem sempre apresentaram esse caráter negativo. Ao longo do tempo as interações evolutivas resultaram em uma gama de associações que variam entre o antagonismo e o mutualismo (ABRAHAMSON, 1989; COLEY; BARONE, 1996). Essas associações garantiram, em grande parte, o sucesso de ambos os grupos nesse novo ambiente (DEL-CLARO; TOREZAN-SILINGARDI, 2012), onde insetos geralmente exercem efeitos do tipo *top-down*, enquanto que plantas exercem efeitos do tipo *bottom-up* dentro das cadeias tróficas.

Dentre as interações inseto-planta, o mutualismo é um sistema de exploração mútua que beneficia os organismos que participam da interação (HERRE et al., 1999). Um exemplo é o mutualismo de proteção, o qual constitui uma defesa importante para as plantas, denominada defesa biótica (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2018). Essa defesa pode ser mediada por exsudatos de hemípteros, conhecido como *honeydew*, secreções de larvas de lepidópteros, e/ou pelos nectários extraflorais (NEFs) (BENTLEY, 1977; BUCKLEY, 1987; DEL-CLARO; OLIVEIRA, 1999; HEIL, 2015; KOPTUR, 1992; ROSUMEK et al., 2009a). Os NEFs são glândulas secretoras de uma solução aquosa rica em açúcares e pequenas quantidades de aminoácidos, compostos voláteis e outros compostos orgânicos (GONZÁLEZ-TEUBER; HEIL, 2009). Dependendo da espécie de planta, esses nectários apresentam diferentes morfologias, na qual alguns não possuem uma estrutura evidente e outros são conspicuos e com uma complexa ultraestrutura interna (AGUIRRE et al., 2013; MACHADO et al., 2008). Esses nectários não estão relacionados com a polinização e estão presentes em 108 famílias e em mais de 745 gêneros de gimnospermas e angiospermas (WEBER; KEELER, 2013) representando de 15 a 26% da flora arbórea em regiões tropicais (HEIL, 2011; OLIVEIRA; LEITÃO-FILHO, 1987). O néctar extrafloral atrai de forma indireta diversos artrópodes, muitos deles predadores de herbívoros (ELIAS, 1983; KOPTUR, 1992; MARAZZI; BRONSTEIN; KOPTUR, 2013a). Os visitantes mais comuns dos NEFs são, em sua maioria, as formigas (RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; ROSUMEK et al., 2009b), mas também podem ser encontradas aranhas (DEL-CLARO et al., 2016; NAHAS; GONZAGA;

DEL-CLARO, 2012; STEFANI et al., 2015) e vespas (ALVES-SILVA; DEL-CLARO, 2016; CALIXTO; SOUSA-LOPES; DEL-CLARO, 2018; MARAZZI; BRONSTEIN; KOPTUR, 2013b). Os NEFs podem ocorrer em virtualmente todos os órgãos da planta, como em folhas, pecíolos, pedúnculo de flores, haste de inflorescência, e outras partes aéreas (DÍAZ-CASTELAZO et al., 2005; HEIL, 2011). Algumas espécies de plantas apresentam nectários florais que após a queda da corola continuam a produzir néctar sobre o fruto em desenvolvimento. Um tipo especial de nectário extrafloral, denominado nectário pericarpial (NP), podendo também serem chamados de extra-nupciais (DEL-CLARO et al., 2013). Os NPs possuem, além da morfologia (PAIVA; MACHADO, 2009), similaridades funcionais com os NEFs, na qual ambos contribuem para a proteção da planta (DEL-CLARO et al., 2013; NICOLSON; THORNBURG, 2007). Porém, a formação dos NPs se inicia em algumas plantas junto com a formação do ovário (PAIVA; MACHADO, 2009), tornando-se funcionais apenas após a abscisão da corola. Eles permanecem ativos até as células do pericarpo se diferenciarem e demonstrarem sinais de maturação, tornando-se senescentes quando esse tecido começa a secar (PAIVA; MACHADO, 2009). A produção de néctar em fruto pode constituir uma vantagem adaptativa, pois atraem formigas e estas podem proteger o fruto em seu desenvolvimento (KEELER, 1981), o qual demanda altas reservas energéticas das plantas, sendo conseqüentemente de alto valor adaptativo (COURSENS et al., 2008). Vários estudos têm mostrado que as plantas realizam mais investimento em defesas associadas aos órgãos de reprodução e dispersão quando comparados a outros órgãos (CARTER et al., 2007; CIPOLLINI; LEVEY, 1997; HERRERA, 1982; THORNBURG et al., 2003), principalmente, por estarem diretamente associados ao sucesso reprodutivo (CIPOLLINI; LEVEY, 1997; DEL-CLARO et al., 2016; HOLLAND; CHAMBERLAIN; HORN, 2009).

As formigas, além de serem os insetos mais frequentes e abundantes em plantas com NEFs, também podem apresentar, dependendo da espécie, comportamento agressivo e de patrulha, passando a ser consideradas os principais agentes bióticos de defesa das plantas (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2018; TRAGER et al., 2010). Vários estudos têm evidenciado a efetividade das formigas como defesa biótica, como por exemplo, Nascimento e Del-Claro (2010), mostraram que formigas são agentes eficientes contra herbivoria, reduzindo não só a área danificada na folha, mas também aumentando a quantidade de frutos produzidos, permitindo à planta maiores chances de perpetuação no ambiente. Rosumek et al. (2009), mostraram que a exclusão de formigas diminui significativamente o *fitness* da planta, e que muitas dessas plantas dependem das formigas (terceiro nível trófico) para sua proteção contra os herbívoros (segundo nível trófico) (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2015).

Essa eficiência da defesa biótica pode ser explicada em parte, pelo fato de que os herbívoros coevoluíram ao longo do tempo com suas plantas hospedeiras, dessa forma, foram capazes de desenvolver adaptações que lhes permitiram sobrepujar as defesas químicas e físicas das plantas. Porém, até mesmo pelo caráter facultativo na relação mutualística entre plantas com NEFs e formigas, a maioria dos herbívoros parecem não ter desenvolvido defesas contra as formigas, restando-lhes fugir ou serem predados (COLEY; KURSAR, 1996; DEJEAN et al., 2006; RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007).

Sistemas envolvendo plantas com NPs (e também os demais tipos de NEFs), herbívoros e formigas caracterizam relações mutualísticas, as quais podem ser estudadas do ponto de vista das redes complexas de interações (BASCOMPTE; JORDANO, 2007). Nessas redes ecológicas, as espécies são representadas por pontos, enquanto as interações entre as espécies são representadas por linhas. Geralmente, interações entre formigas e plantas com NEFs geram uma rede com estrutura aninhada e baixa especialização (BASCOMPTE; JORDANO, 2007; CHAMBERLAIN; KILPATRICK; HOLLAND, 2010; DÁTTILO et al., 2015; DÁTTILO; GUIMARÃES; IZZO, 2013; GUIMARÃES et al., 2007; NOGUEIRA et al., 2012). Em redes aninhadas, algumas espécies (e.g. formigas) que apresentam menor grau interagem com um subconjunto de espécies (e.g. plantas) que por sua vez interagem com outro subconjunto de espécies mais generalistas (e.g. formigas dominantes), resultando em uma estrutura aninhada de rede (BASCOMPTE et al., 2003; DÁTTILO et al., 2015). Como mostrado por alguns autores, essas relações podem ser bastante variáveis no tempo e no espaço (DÁTTILO; GUIMARÃES; IZZO, 2013; LANGE; DÁTTILO; DEL-CLARO, 2013), o que resulta em variações condicionais nos resultados, principalmente influenciadas por fatores meteorológicos e sazonais (BRONSTEIN, 1994; LANGE; DEL-CLARO, 2014; ROSUMEK et al., 2009b; TRAGER et al., 2010).

Como a defesa biótica pode ser induzida (BIXENMANN; COLEY; KURSAR, 2011; CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2018; GONZÁLEZ-TEUBER et al., 2012; HEIL et al., 2000), essa fica sujeita à influência de vários fatores que vão testar a plasticidade fenotípica das plantas na tentativa de otimizar o *trade-off* existente entre secretar néctar e receber os benefícios da defesa (HOLLAND; CHAMBERLAIN; HORN, 2009). O benefício da proteção recebido pelas plantas vai depender das espécies de formigas que interagem, pois elas podem diferir quanto ao seu comportamento de forrageamento, número de indivíduos recrutados, habilidade de patrulha, e principalmente agressividade (DEL-CLARO; MARQUIS, 2015). Por ser uma interação facultativa, algumas espécies de formigas vão atacar ou afugentar os herbívoros presentes sobre a planta, enquanto que outras vão apenas coletar o néctar sem

oferecer nenhuma proteção ou benefício (BRONSTEIN, 2004; BYK; DEL-CLARO, 2011; DEL-CLARO et al., 2016). Por outro lado, as plantas também podem regular o grau de proteção recebido. Por exemplo, plantas que produzem néctar em uma maior concentração ou em maior volume, terão uma maior abundância e riqueza de espécies de formigas associadas (BIXENMANN; COLEY; KURSAR, 2011; BLÜTHGEN et al., 2000; DEL-CLARO, 2004). Consequentemente, isso muda a estrutura e o resultado das interações mutualísticas (CHAMBERLAIN; KILPATRICK; HOLLAND, 2010; LANGE; DÁTTILO; DEL-CLARO, 2013; LANGE; DEL-CLARO, 2014), resultando em maior ou menor proteção para a planta.

As plantas pertencentes à família Rubiaceae possuem várias espécies produtoras de NPs no Cerrado, porém, a interação mediada por NPs e seus impactos para a planta bem como a estrutura de suas redes ecológicas é praticamente ignorada pela ciência. O principal objetivo deste estudo foi avaliar na savana brasileira, a comunidade e o comportamento das formigas associadas a plantas portadoras de NPs; e descrever a estrutura da rede formiga-planta. Para isso, buscou-se elucidar algumas questões: *i*) As redes ecológicas formadas pela interação entre formigas e plantas portadoras de NPs apresentam um padrão aninhado? Espera-se que as redes entre plantas com NPs e formigas apresentarão uma estrutura aninhada, seguindo o padrão que ocorre nas demais interações mutualísticas já conhecidas entre formigas e plantas (BASCOMPTE et al., 2003; DÁTTILO et al., 2014); *ii*) Quais as espécies de formigas mais representativas (maior força de interação e maior grau de interação) dentro dessas redes? Espera-se que as formigas *Camponotus crassus* e *Ectatomma tuberculatum* apresentem uma alta representatividade nessas redes de interação, visto que essas formigas são dominantes e frequentes (ANJOS et al., 2017; FAGUNDES et al., 2017; LANGE et al., 2019; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017; PIRES et al., 2017a) e com forte poder de associação com plantas produtoras de NEFs no Cerrado (DÁTTILO et al., 2014; DAVIDSON; COOK; SNELLING, 2004; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017); *iii*) As formigas associadas a essas plantas realizam uma defesa efetiva contra herbivoria foliar? As formigas reduzirão significativamente os danos foliares causados por herbívoros, visto que vários estudos têm mostrado o papel defensivo de formigas que se associam às plantas com NEFs no cerrado (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2018); *iv*) A concentração de açúcar e o volume do néctar pericarpial influenciam na diversidade e abundância de formigas? Como uma alta concentração de açúcares e/ou volume de néctar atrai um maior número de formigas (BIXENMANN; COLEY; KURSAR, 2011), espera-se que plantas que produzam maior quantidade e qualidade de néctar pericarpial apresentem maior abundância de formigas. Além disso, plantas portadoras de NEFs produzem diferentes quantidades e qualidades de néctar

extrafloral, o qual pode influenciar nos padrões de forrageamento (e.g. abundância de formigas recrutadas), agressividade e diversidade de formigas (FLORES-FLORES et al., 2018; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017; PACELHE et al., 2019). Sendo assim, deve ocorrer variação da diversidade de formigas que forrageiam nas espécies de plantas com NPs.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O estudo de campo foi desenvolvido na Reserva Particular do Patrimônio Natural do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU - 48°17'27.0'' W; 18°58'30.6'' S), Minas Gerais. A reserva está compreendida dentro do Cerrado *lato sensu*, sendo a principal fitofisionomia o cerrado sentido restrito (BÄCHTOLD; ALVES-SILVA; DEL-CLARO, 2013; VILELA; TOREZAN-SILINGARDI; DEL-CLARO, 2014). A área possui uma vegetação visualmente dominada por arbustos e árvores que podem atingir 3-8 metros de altura. O local possui duas estações bem definidas, uma seca de maio a setembro e uma chuvosa de outubro a abril, com média anual de precipitação de 1550 mm e temperatura média de 22° C (VELASQUE; DEL-CLARO, 2016). O Cerrado corresponde aproximadamente a 22% da extensão territorial do Brasil, coincidindo em grande parte com o Planalto Central brasileiro, sendo ainda a savana tropical mais diversa em fauna e flora (GOTTSBERGER; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, 2006). Sua importância também pode ser vista pelo grande número de espécies endêmicas somadas a uma rápida degradação ambiental e diminuição na sua área preservada, o que torna o cerrado um dos *hotspots* de biodiversidade ameaçada (MYERS et al., 2000).

2.2 Espécies em estudo

A família Rubiaceae é a quarta maior dentre as angiospermas, com 13.143 espécies distribuídas em 611 gêneros (DAVIS et al., 2009). Possuem hábito arbustivo, folhas simples opostas, flores com corolas gamopétalas, estípula interpeciolar e ovário ínfero (DAVIS et al., 2009; DELPRETE; JARDIM, 2012). Dentro dessa família estão algumas espécies de grande importância comercial como o café e plantas medicinais. Está distribuída principalmente na região Neotropical, porém, a família é cosmopolita. No Brasil, é representada por 1.392 espécies, majoritariamente nas regiões da Amazônia, Mata Atlântica e no Cerrado, respectivamente (Barbosa *et al.*, 2007).

Cordia elliptica (Fig. 1a) é uma planta endêmica do Brasil ocorrendo nos biomas Amazônia, Caatinga e Cerrado (BORGES; JARDIM; ROQUE, 2017). Tem hábito arbustivo podendo alcançar aproximadamente 1,5 m de altura. Possui ramos eretos e cilíndricos, folhas pecioladas com base arredondadas e ápice agudo a arredondado. Possui flores sésseis, corola de 3-4 mm de comprimento, coloração creme com ápice da corola na cor creme ou lilás na margem. Frutos puberulentos (cobertura de pelos invisíveis aos olhos). Seu período de floração e frutificação ocorre na estação chuvosa (BORGES; JARDIM; ROQUE, 2017).

Declieuxia fruticosa (Fig. 1b) é uma planta com ampla distribuição no território brasileiro ocorrendo em todos os estados e domínios fitogeográficos. Tem hábito arbustivo com aproximadamente 30 cm de altura (BORGES; JARDIM; ROQUE, 2017). Os ramos são cilíndricos e lisos, folhas opostas pecioladas com limbo ovalado e ápice agudo. Flores sésseis com cerca de 5 mm de comprimento, coloração branca, rosa ou lilás. Frutos de coloração enegrecida quando maduros. Seu período de floração e frutificação ocorre mais de uma vez ao (LONGHI-WAGNER et al., 2001).

Palicourea rigida (Fig. 1c) é uma planta com ampla distribuição pelo Brasil ocorrendo em diversas formações vegetais, mas com centro de ocorrência em áreas de Cerrado. Tem hábito arbustivo podendo atingir até 1,5 m de altura, ramos cilíndricos, estriados e puberulentos, folhas pecioladas com folhas largas, elípticas e coriáceas. Flores com corola gibosa e amarela, fruto globoso verde a vináceo. Seu período reprodutivo ocorre na estação chuvosa (BORGES; JARDIM; ROQUE, 2017). Todas as espécies apresentam NPs os quais são frequentemente visitados por formigas (Fig. 1).

Figura 1 – Espécies de Rubiaceae no Cerrado com nectários pericarpiais e algumas formigas visitantes: (A e D) *Cordia elliptica* com *Camponotus crassus*; (B e E) *Declieuxia fruticosa* com *Ectatomma tuberculatum*; e (C e F) *Palicourea rigida* com *C. crassus*. Setas azuis indicam NPs, na qual pode ser notado sua localização no ápice do fruto.

2.3 Redes de interações

Foram selecionados 15 indivíduos de cada uma das três espécies de plantas, com características fenológicas semelhantes (altura entre a base e o ápice da planta, e todas em início da frutificação) e com pelo menos cinco metros de distância entre os indivíduos. Para cada planta foram feitas observações de todas as formigas visitantes de NPs no período matutino (8:00 às 11:00) e vespertino (14:00 às 18:00). Cada observação teve duração de dez minutos, realizadas duas vezes por semana durante um mês, no período de outubro a dezembro de 2018 (um mês para cada planta, pois o início da frutificação de cada espécie ocorre em sequência). Indivíduos representantes de cada espécie de formiga foram coletados e fixado em álcool 70% para posterior identificação no Laboratório de Ecologia Comportamental e de Interações (LECI).

ológicas semelhantes (altura entre a base e o ápice da planta, e todas em início da frutificação) e com pelo menos cinco metros de distância entre os indivíduos. Para cada planta foram feitas observações de todas as formigas visitantes de NPs no período matutino (8:00 às 11:00) e vespertino (14:00 às 18:00). Cada observação teve duração de dez minutos, realizadas duas vezes por semana durante um mês, no período de outubro a dezembro de 2018 (um mês para cada planta, pois o início da frutificação de cada espécie ocorre em sequência). Indivíduos representantes de cada espécie de formiga foram coletados e fixado em álcool 70% para posterior identificação no Laboratório de Ecologia Comportamental e de Interações (LECI).

Para verificar a estrutura da rede de interações entre as formigas e plantas portadoras de NPs, foi usada a rede pareada (planta-formiga) usando o pacote “Bipartite” (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011). As redes foram estruturadas com uma abordagem

baseada em indivíduos (para as plantas) e analisada de forma ponderada (frequência de interação). Portanto, para análise de aninhamento foi utilizado a métrica “WNODA”. A métrica WNODA é uma modificação de “WNODF” (Weighted Nestedness based on overlap and decreasing fill), a qual não demanda decrescimento binário da matriz (PINHEIRO et al., 2019); dessa forma, a maneira em que a matriz é disposta tem menor interferência na medida de aninhamento. Para avaliar a representatividade de cada espécie de formiga, duas métricas foram consideradas, a métrica grau (Species Degree) e a força de interação (Species Strength). A métrica grau é mensurada através do número de interações realizadas por cada espécie (número de linhas que incidem sobre um nó), por exemplo, um nó (espécie ou indivíduo) que realiza várias interações com outros nós tem grau alto, enquanto que um nó que faz poucas interações tem grau baixo. E a métrica força de interação, que mensura a quantidade de vezes que um nó estabelece conexão com outro determinado nó (ex: número de visitas de uma mesma espécie de formiga). Se um nó estabelece uma interação com alta frequência com outro nó, então terá uma alta força de interação.

2.4 Efetividade da defesa e agressividade

Para análise de herbivoria, 30 indivíduos de cada uma das três espécies de plantas com características fenológicas semelhantes (altura entre a base e o ápice da planta e início da frutificação). A partir disso, dois grupos com 15 indivíduos cada um, foram formados, compondo o grupo controle e o grupo tratamento. No grupo tratamento, todas as formigas e outros visitantes foram retirados manualmente e as plantas foram isoladas utilizando *Tanglefoot* (resina entomológica atóxica para exclusão de artrópodes ápteros). Para isso, foi feita uma faixa com esse produto ao redor do caule a 10 cm de distância do solo, semelhante a um anel, e todos os galhos de plantas próximas foram removidos para evitar pontes de contato. Folhas em momento de brotação ou folhas jovens foram selecionadas em três diferentes ramos da planta e fotos foram tiradas no início e final da coleta de dados para verificar o quanto de área foliar foi perdida (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2015).

Para análise comportamental das formigas (agressividade), foram utilizados 10 indivíduos de cada uma das três espécies de plantas diferentes dos utilizados nas observações para rede. Para o teste de agressividade e remoção de herbívoros pelas formigas visitantes, foram utilizados operários de cupins *Nasutitermes* sp., os quais são comumente utilizados nesses experimentos de agressividade e predação (FAGUNDES et al., 2017). Os cupins são facilmente achados e manipulados, são presas de formigas, e podem representar um herbívoro

padrão dentro do experimento, isto é, como fazemos replicações, precisamos ter um controle do herbívoro utilizado, apresentando tamanho e comportamento semelhante. Então, para esse teste foi colocado no ramo mais alto de cada indivíduo de planta, pelo dorso, com cola branca um operário de cupim vivo. A quantidade de cola era suficiente para evitar a locomoção do cupim, mas não impedia a remoção pela formiga, caso essa o encontrasse. Os cupins só eram colocados se as plantas apresentassem pelo menos uma formiga forrageando e se essas, as formigas, estivessem ao menos 15 cm de distância do ápice do ramo. A interação entre as formigas e o cupim foi analisada a partir da observação da quantidade de formigas presentes na planta, do tempo necessário para encontrar o cupim e qual o comportamento realizado (e.g. predação, expulsão da planta, ignorou). Cada planta selecionada foi analisada durante 15 minutos entre 08:00 e 11:00 da manhã.

Para avaliar se existe variação na taxa de herbivoria entre as plantas do grupo controle (com presença de formigas) e plantas do grupo tratamento (ausência de formigas), foi feito um GLM (Modelo Linear Generalizado) com distribuição Gaussiana, seguido por “Likelihood-ratio Chisquare”, utilizando os pacotes ‘stats’ (R CORE TEAM, 2019) e ‘car’ (FOX; WEISBERG, 2011), respectivamente. Cada espécie de planta foi considerada separadamente nas análises, onde a média da taxa de herbivoria por planta foi ajustada como variável resposta e a os tratamentos como variável preditora.

Para avaliar a agressividade das formigas e, conseqüentemente, o potencial de defesa da planta, foi realizada uma análise de sobrevivência observando se a atividade predatória das formigas (remoção de cupins) é influenciada pela espécie de planta em que essas formigas estão forrageando. Para isso, foi utilizado um modelo de sobrevivência considerando o tempo e a taxa de predação dos cupins como variável resposta e a espécie de planta como variável preditora. Foi implementado a família G-rho de Harrington e Fleming (1982) usando a função `survdiff` no pacote “survival” (THERNEAU, 2015) seguido por comparações pareadas usando o teste Log-Rank e correção do valor p de Benjamini e Hochberg no pacote “survminer” (KASSAMBARA; KOSINSKI, 2018).

2.5 Influência do volume e concentração do néctar na diversidade e abundância de formigas

Para avaliar a produção de néctar pericarpial (volume e concentração de açúcar) e se a diversidade e abundância de formigas varia de acordo com essa produtividade, foram analisados 10 indivíduos de cada uma das três espécies de plantas, diferentes dos utilizados anteriormente. Foram selecionados três NPs em diferentes ramos de cada indivíduo em

momentos iniciais de desenvolvimento, uma vez que a produção decai com a senescência do fruto (Paiva, 2009). Os NPs foram mensurados uma única vez nos estágios iniciais do fruto, começando às 08:00 horas e terminando às 11:00 horas. Para coleta do néctar pericarpial, foram utilizados microcapilares graduados de 5 μ L e para a análise da concentração e açúcar, um refratômetro manual (Eclipse). Os nectários foram lavados com água destilada e ensacados 24h antes da coleta para que a amostra de néctar correspondesse apenas ao intervalo de um dia e também para evitar que visitantes consumissem o néctar produzido (e.g. Lange; Calixto; Del-Claro, 2017).

Para verificar se o volume e concentração variam entre as espécies foi feita uma Anova de um fator considerando o volume e a concentração como variáveis resposta, e a espécie como variável preditora. Teste de Tukey HSD foi utilizado como método comparativo par a par. Para analisar se a diversidade de formigas varia entre as espécies de plantas foi feita uma Escala Multidimensional Não-Métrica (NMSD) seguida de uma Análise de Similaridade (ANOSIM). Ambas análises foram conduzidas com o pacote “vegan” (OKSANEN et al., 2015), utilizando o método de “Bray-Curtis”, com 999 permutações. Como teste a posteriori, foram conduzidas múltiplas análises de similaridade (ANOSIM) par a par. Para analisar se o volume e a concentração do néctar influenciam na abundância de formigas, foi conduzido um GLM com distribuição Binomial Negativa seguido por “Likelihood-ratio Chisquare”. Nós utilizamos distribuição Binomial Negativa para controlar super dispersão dos dados. A abundância de formigas foi considerada a variável resposta e a interação entre o volume e a concentração do néctar foi ajustada como variável preditora.

2.6 Análise dos dados

Todas as análises foram realizadas utilizando o software R 3.6.1 (R CORE TEAM, 2019) a 5 % de probabilidade. Os pacotes e procedimentos utilizados estão descritos em cada experimento. Normalidade, super dispersão e heterocedasticidade dos dados foram conferidos antes das análises.

3. RESULTADOS

3.1 Rede de interações

No total, foram registradas 14 espécies de formigas visitantes de NPs, representando oito gêneros e seis subfamílias (Tabela 1). A abundância de formigas variou de acordo com a espécie de planta. *Camponotus crassus* e *Ectatomma tuberculatum* foram mais abundantes em *C. elliptica*, constituindo 43,7 e 38,5% da abundância total para essa planta, respectivamente. Já *Cephalotes pusillus* e *Solenopsis* sp. foram as mais abundantes em *D. fruticosa*, compondo 29 e 23,4% da abundância total de formigas para essa planta, respectivamente. Por fim, *C. crassus* e *Solenopsis* sp. foram as mais abundantes em *P. rigida*, constituindo 31,8 e 28,5% da abundância total de formigas para essa planta, respectivamente.

Tabela 1. Abundância e riqueza de formigas visitantes de *Cordia elliptica*, *Declieuxia fruticosa* e *Palicourea rigida* em uma área de Cerrado. Números representam: abundância absoluta (abundância relativa em %).

Subfamília	Espécies de plantas		
	<i>C. elliptica</i>	<i>D. fruticosa</i>	<i>P. rigida</i>
Dolichoderinae			
<i>Dorymyrmex</i> sp.	0(0%)	12(8,5%)	0(0%)
Ectatomminae			
<i>Ectatomma edentatum</i> Forel, 1912	3(3,1%)	0(0%)	0(0%)
<i>Ectatomma tuberculatum</i> (Olivier, 1792)	37(38,5%)	4(2,8%)	46(13,6%)
Formicinae			
<i>Camponotus blandus</i> (Smith F., 1858)	9(9,3%)	3(2,1%)	18(5,3%)
<i>Camponotus crassus</i> Mayr, 1862	42(43,7%)	19(13,4%)	107(31,8%)
<i>Camponotus leydigii</i> Forel, 1886	0(0%)	0(0%)	2(0,5%)
<i>Camponotus</i> sp1	0(0%)	0(0%)	1(0,2%)
<i>Camponotus</i> sp2	2(2%)	0(0%)	0(0%)
<i>Camponotus trapeziceps</i> Forel, 1908	2(2%)	0(0%)	0(0%)
<i>Brachymyrmex</i> sp. Mayr, 1868	0(0%)	27(19,1%)	62(18,4%)
Myrmicinae			
<i>Cephalotes pusillus</i> (Klug, 1824)	0(0%)	41(29%)	0(0%)
<i>Solenopsis</i> sp.	0(0%)	33(23,4%)	96(28,5%)
Ponerinae			
<i>Neoponera villosa</i> (Fabricius, 1804)	1(1%)	(0%)	2(0,5%)
Pseudomyrmecinae			
<i>Pseudomyrmex gracilis</i> (Fabricius, 1804)	0(0%)	2(1,4%)	2(0,5%)

Na rede de interação, as formigas *C. crassus* e *E. tuberculatum* fizeram parte do núcleo generalista das três redes. As formigas *Dorymyrmex* sp. e *C. pusillus* foram exclusivas para *D. fruticosa* (Figura 2, Tabela 1). As formigas *Brachymyrmex* sp. e *Solenopsis* sp. foram exclusivas para *D. fruticosa* e *P. rigida*. A espécie de planta que mostrou maiores valores de aninhamento foi *C. elliptica* (WNODA = 33,67), seguida por *P. rigida* (WNODA = 25,46) e *D. fruticosa* (WNODA = 12,62) respectivamente (Tabela 2). Com relação ao “grau das espécies”, *C. crassus* e *E. tuberculatum* foram as formigas com maior grau de interação nas três espécies

de plantas, com apenas uma exceção na interação realizada com a planta *D. fruticosa*, na qual *Brachymyrmex* sp. apresentou o maior número de interações (Tabela 2).

Nas três redes foi possível observar diferenças na força de interação realizada entre as diferentes espécies de formigas (Tabela 2). As formigas *C. crassus* e *E. tuberculatum* também mostraram valores altos de força de interação quando comparados com as medidas de outras formigas (Tabela 2). A formiga *C. crassus* mostrou maior força de interação com a planta *P. rigida*, seguida por *D. fruticosa* e *C. elliptica* (Tabela 2). Já a formiga *E. tuberculatum* mostrou maior variação na força de interação entre as redes, na qual obteve a maior medida (9,90) na interação com a planta *C. elliptica*. Porém, obteve uma baixa força de interação quando comparada com outras formigas em *D. fruticosa* e também *P. rigida* (Tabela 2). Outras formigas que também tiveram uma alta força de interação foram *Brachymyrmex* sp. (3,74) e *Solenopsis* sp. (3,55) na interação com *D. fruticosa* e *P. rigida*, respectivamente.

Figura 2 – Redes de interações baseada em indivíduos amostrados em uma reserva natural de Cerrado envolvendo três espécies de plantas, da esquerda para a direita *Cordiera elliptica*, *Declieuxia fruticosa* e *Palicourea rigida*; e suas formigas associadas. Para cada espécie de planta foi feita uma rede de interação formiga-planta usando observações no período matutino e vespertino. Cada nó da rede representa indivíduos de plantas (esquerda) ou espécie de formiga (direita), e linhas representam a interação formiga-planta. Os nós estão dispostos de forma aleatória. Largura dos retângulos e linhas são proporcionais ao número de interações feitas por cada espécie.

Tabela 2. Resultado das análises de redes entre formigas e plantas com nectários pericarpiais no cerrado considerando as seguintes métricas: grau de interação, força de interação e aninhamento.

Espécies de plantas	Grau de interação	Força de interação	“WNODA” (Aninhamento)
Espécies de formigas			
<i>Cordia elliptica</i>			33,67
<i>Ectatomma tuberculatum</i>	12	9,909	
<i>Camponotus crassus</i>	7	3,101	
<i>Camponotus blandus</i>	1	0,642	
<i>Camponotus sp. 2</i>	2	0,590	
<i>Ectatomma edentatum</i>	1	0,333	
<i>Neoponera villosa</i>	1	0,200	
<i>Camponotus trapeziceps</i>	1	0,066	
<i>Camponotus leydigi</i>	0	0	
<i>Camponotus sp. 1</i>	0	0	
<i>Brachymyrmex sp.</i>	0	0	
<i>Solenopsis sp.</i>	0	0	
<i>Cephalotes pusillus</i>	0	0	
<i>Dorymyrmex sp.</i>	0	0	
<i>Pseudomyrmex gracilis</i>	0	0	
<i>Declieuxia fruticosa</i>			12,62
<i>Brachymyrmex sp.</i>	6	3,744	
<i>Camponotus crassus</i>	5	3,356	
<i>Solenopsis sp.</i>	2	1,583	
<i>Pseudomyrmex gracilis</i>	2	1,333	
<i>Camponotus blandus</i>	1	1,000	
<i>Cephalotes pusillus</i>	1	0,953	
<i>Ectatomma tuberculatum</i>	3	0,778	
<i>Dorymyrmex sp.</i>	1	0,250	
<i>Camponotus sp. 1</i>	0	0	
<i>Camponotus sp. 2</i>	0	0	
<i>Camponotus leydigi</i>	0	0	
<i>Camponotus trapeziceps</i>	0	0	
<i>Ectatomma edentatum</i>	0	0	
<i>Neoponera villosa</i>	0	0	
<i>Palicourea rigida</i>			25,46
<i>Camponotus crassus</i>	10	5,484	
<i>Solenopsis sp.</i>	6	3,553	
<i>Brachymyrmex sp.</i>	5	2,368	
<i>Ectatomma tuberculatum</i>	9	1,961	
<i>Camponotus blandus</i>	3	1,229	
<i>Camponotus leydigi</i>	1	0,090	
<i>Camponotus sp. 1</i>	1	0,052	
<i>Neoponera villosa</i>	2	0,138	
<i>Pseudomyrmex gracilis</i>	2	0,119	
<i>Camponotus trapeziceps</i>	0	0	
<i>Camponotus sp. 2</i>	0	0	
<i>Ectatomma edentatum</i>	0	0	
<i>Cephalotes pusillus</i>	0	0	
<i>Dorymyrmex sp.</i>	0	0	

3.2 Efetividade da defesa e agressividade

Os resultados para herbivoria mostraram que para *C. elliptica* e *P. rigida* houve uma diferença significativa na taxa de herbivoria entre o grupo controle e o grupo tratamento (*C. elliptica*: GLM: $\chi^2 = 6,513$, $p < 0,05$, Figura 4a; *P. rigida*: GLM: $\chi^2 = 8.627$, $p < 0,05$, Figura 4b). Já para *D. fruticosa* não existe diferença significativa para herbivoria entre os grupos (GLM: $\chi^2 = 0,116$, $p = 0,73$, Figura 4c). Em *C. elliptica* a média da taxa de herbivoria ($3,4 \pm 1,4$; média $\pm$ desvio padrão) foi 1,8 vezes menor do que a média da taxa de herbivoria apresentada por *P. rigida* ($6,2 \pm 4,2$). Portanto, *P. rigida* apresentou a maior diferença na taxa de herbivoria foliar ao comparar-se o grupo controle e isolamento.

Figura 4 – Taxa de herbivoria foliar em a) *Cordia elliptica*, b) *Declieuxia fruticosa* e *Palicourea rigida* nos grupos controle e isolamento. Os gráficos estão representados por média (barras horizontais), máximos e mínimos, dados brutos (pontos), e “violin plot” baseado em funções de densidade de Kernel.

Houve uma variação significativa na agressividade das formigas entre as diferentes espécies de plantas estudadas ($\chi^2 = 10.5$, $df = 2$, $p < 0.01$; Figura 3). As formigas mostraram um comportamento mais agressivo em *P. rigida*, na qual, em aproximadamente 20 segundos 50% dos cupins haviam sido predados, e em 60 segundos apenas 20% (quatro indivíduos) sobreviveram, culminando na menor taxa de sobrevivência dos cupins quando comparados com as outras duas plantas. Em *C. elliptica* as formigas levaram o dobro do tempo (40 segundos) para remover 50% dos cupins, e em um minuto a taxa de sobrevivência foi de 35%. Já na planta *D. fruticosa*, em 60 segundos apenas 20% tinha dos cupins tinham sido predados, tendo essa planta a maior taxa de sobrevivência dos cupins ao longo do tempo comparada com as outras duas plantas.

Figura 3 – Tempo gasto pelas formigas para remover os cupins vivos das plantas durante o período de frutificação. Letras diferentes ao final da curva diferenciam umas das outras pelo teste pareado de Log-Rank com valor de p com correção de Benjamini and Hochberg. Os números da tabela “Number at risk” significam número absoluto e porcentagem de indivíduos sobreviventes, respectivamente.

3.3 Impactos do volume e concentração do néctar na diversidade e abundância de formigas

Os resultados para volume do néctar tiveram resultados significativos entre as três espécies de plantas (ANOVA: $F_{(2, 42)} = 45,46$, $p < 0,05$, Figura 5a). A espécie com maior média de volume foi *P. rigida* ($3,08 \pm 0,56 \mu\text{l}$, média $\pm$ desvio padrão), seguida por *C. elliptica* ($1,90 \pm 1,12 \mu\text{l}$) e *D. fruticosa* ($0,41 \pm 0,19 \mu\text{l}$). Para concentração também houve resultados significativos entre as espécies de plantas (ANOVA: $F_{(2,42)} = 44,09$, $p < 0,05$, Figura 5b). A espécie com maior concentração de néctar foi *P. rigida* ($15,43 \pm 6,90\%$), seguida por *D. fruticosa* ($3,80 \pm 2,01\%$) e *C. elliptica* ($2,00 \pm 1,36\%$).

Figura 5 – A) Volume em μl para cada espécie de planta *Cordia elliptica*, *Declieuxia fruticosa* e *Palicourea rigida*. ANOVA: $F_{(2, 42)} = 45,46$, $p < 0,05$. B) Concentração do néctar (% Brix) produzido pelos nectários pericarpiais das espécies *Cordia elliptica*, *Declieuxia fruticosa* e *Palicourea rigida*. ANOVA: $F_{(2,42)} = 44,09$, $p < 0,05$. Letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Barras representam média e desvio padrão.

Houve uma variação significativa na diversidade de formigas entre as três espécies de plantas estudadas (ANOSIM: $R = 0,16$; Stress = 0,20; $p = 0,001$; Figura 6). Na comparação par a par *C. elliptica* apresentou variação significativa na diversidade de formigas quando comparada a *P. rigida* (ANOSIM: $R = 0,17$, $p < 0,05$). Porém, *C. elliptica* não se diferiu de *D. fruticosa* (ANOSIM: $R = 0,07$, $P = 0,07$). Também, *D. fruticosa* não se diferenciou de *P. rigida* (ANOSIM: $R = 0,08$, $p = 0,06$).

Figura 6 – NMDS para diversidade de espécies nas três plantas estudadas: *Cordia elliptica*, *Declieuxia fruticosa* e *Palicourea rigida*. Letras fora das elipses diferem entre si por múltiplas análises de similaridade (ANOSIM).

Os resultados mostraram que a interação conjunta dos fatores volume e concentração de néctar não influenciaram na abundância de formigas ($\chi^2=2,222$, $p = 0,13$), assim como o fator volume isoladamente ($\chi^2=0,008$, $p = 0,92$). Por outro lado, a concentração tem uma influência significativa na abundancia de formigas ($\chi^2=4,713$, $p < 0,05$, Figura 7). Apesar de não existir variação em função da interação dos fatores, a concentração parece influenciar o padrão de forrageamento das formigas, na qual maiores concentrações levam à presença de mais formigas (Figura 7).

Figura 7 – Correlação entre a abundância de formigas e os fatores volume e concentração de néctar pericarpial produzido por *Cordia elliptica*, *D. fruticosa* e *P. rigida*. GLM (volume: $\chi^2 = 0,008$, $p = 0,9$; concentração: $\chi^2 = 4,713$, $p = 0,02$; volume*concentração: $\chi^2 = 2,222$, $p = 0,1$).

4. DISCUSSÃO

Neste estudo foi mostrado que as três plantas da família Rubiaceae produtoras de NPs no cerrado influenciam na atratividade das formigas visitantes, e adicionalmente, as características comportamentais das formigas podem contribuir para estrutura aninhada da rede. A concentração do néctar pode explicar algum padrão de diversidade das formigas visitantes. E por fim, as formigas são capazes de proteger as plantas de danos foliares, apresentando comportamento agressivo que varia de acordo com a espécie de planta. De forma mais detalhada, foi mostrado que: (i) as redes formadas pela interação entre as Rubiaceae produtoras de NPs (*C. elliptica*, *D. fruticosa* e *P. rigida*) e a comunidade de formigas visitantes dessas plantas apresentam um padrão aninhado, corroborando parcialmente nossa predição; (ii) as formigas *C. crassus* e *E. tuberculatum* estiveram presentes nas três espécies de plantas e apresentaram altos valores de grau e força de interação, estando de acordo com a predição levantada; (iii) as formigas associadas a essas plantas podem oferecer uma defesa efetiva contra a herbivoria foliar em plantas com NPs, mas isso é variável; (iv) a concentração do néctar pode ser um fator explicativo da

distribuição da comunidade de formigas nessas plantas, porém o volume não tem influência nessa distribuição.

4.1 Rede de interações

As interações entre formigas e duas das três plantas estudadas da família Rubiaceae produtoras de NPs apresentaram redes com padrão aninhado. Estes resultados são similares aos encontrados por outros estudos que também realizaram uma abordagem baseada em indivíduos (ANJOS et al., 2019; DÁTILLO et al., 2014). Dáttilo et al. (2014), ao estudar a comunidade de formigas em plantas produtoras de NEFs do cerrado comparando os períodos diurno e noturno na visitação de formigas, obteve redes aninhadas com alto grau de generalização. Adicionalmente, Anjos et al. (2019), ao observar a organização temporal e a influência do clima na estrutura da rede de formigas colheitadeiras, encontrou um padrão aninhado com alto grau de generalização em redes também baseadas em indivíduos. Além disso, a estrutura aninhada obtida por este estudo também é similar aos padrões encontrados nas redes com abordagem em níveis mais elevados de interação, como no caso de comunidades, no qual as redes também são aninhadas (BLÜTHGEN et al., 2007; DÁTILLO, 2012; DÍAZ-CASTELAZO et al., 2013; LANGE; DÁTILLO; DEL-CLARO, 2013). Comparando esses estudos nota-se que apesar da mudança dos intermediadores da interação (NEFs, NPs e sementes), as redes mantêm um padrão aninhado ao utilizarem a abordagem baseada em indivíduos. Além disso, mesmo com a mudança no nível de abordagem, intrapopulacional ou comunidade, o mesmo padrão da rede para a métrica aninhamento é encontrado. Portanto, as interações inseto-plantas envolvendo formigas e plantas da família Rubiaceae do Cerrado parece conservar, pelo menos para a métrica aninhamento, a característica aninhada de redes mutualísticas, confirmando a hipótese vigente sobre estruturas aninhadas para relações mutualísticas (BASCOMPTE et al., 2003).

O aninhamento de uma rede de interação pode ocorrer por consequência de diferentes fatores, esses fatores podem ser características do tipo de interação das espécies, e.g. mutualismo facultativo e/ou fatores comportamentais das espécies como agressividade, territorialidade, espécies generalistas e outros. Por exemplo, a nível de comunidade, esses fatores podem ser disponibilidade de um recurso ao longo das estações (e.g. sazonalidade do néctar) (DÍAZ-CASTELAZO et al., 2004, 2013; RIBAS et al., 2010). Assim, no período em que não há disponibilidade desse recurso, as formigas forrageiam em busca de outras fontes de alimentos, acarretando em uma interação menos especializada, resultando no aninhamento

(RIBAS et al., 2010). Outro fator pode ser a quantidade de um recurso, como consequência pode haver uma redução em competições interespecíficas, logo, espécies ditas periféricas podem vir a usufruir desse recurso, portanto, o oportunismo devido a quantidade de recurso disponível pode favorecer o aninhamento da rede (Bastolla *et al.*, 2009). Já no caso de redes com abordagem em indivíduos segundo Dáttilo et al. (2014), características das formigas como dominância, hábitos generalistas e forte associação com néctar, além do estabelecimento de territórios e monopólio do recurso são fatores que contribuem para a estruturação aninhada da rede. Esses fatores citados são características de algumas das espécies de formigas visitantes de NPs neste estudo. Como por exemplo, as espécies *C. crassus* e *E. tuberculatum* são duas espécies generalistas dentro da rede. O gênero *Camponotus* geralmente possui forte associação com néctar, além disso, essas duas espécies de formigas são abundantes em plantas produtoras de NEFs (DAVIDSON; COOK; SNELLING, 2004), e são conhecidas pela dominância e territorialidade (DAVIDSON; COOK; SNELLING, 2004; HEIL, 2009; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017). Portanto, a estrutura aninhada da rede apresentada por formigas e plantas produtoras de NPs no cerrado pode ser explicada pelas características das formigas visitantes. No entanto, a variação na visita recebida por cada espécie de planta (336 para *P. rigida*, 141 para *D. fruticosa* e 96 para *C. elliptica*) é uma evidência de que a abundância pode não ser um bom preditor para aninhamento da rede, pelo menos para o sistema em estudo, uma vez que para *D. fruticosa* o número de formigas foi maior do que para *C. elliptica*. Dessa forma, as características comportamentais das formigas parecem explicar melhor o padrão estrutural das redes para as interações com NPs baseadas em indivíduos. Olhando pelo ponto de vista da planta, a disponibilidade de recurso oferecido também pode ser um fator que contribui para o aninhamento (BASTOLLA et al., 2009). No caso deste estudo, explicações para o padrão aninhado da rede podem ser levantadas com base na comparação da produção e concentração do néctar entre as três espécies de plantas estudadas. As duas plantas que apresentaram maior produção no volume e concentração, *C. elliptica* e *P. rigida*, tiveram os valores de aninhamento maiores. Portanto, o recurso, nesse caso o néctar de plantas produtoras de NPs, também parece explicar o aninhamento da rede obtida, estando de acordo com a literatura (Bastolla *et al.*, 2009).

A rede gerada por *D. fruticosa* mostrou um valor baixo para a métrica aninhamento quando comparada com as outras duas redes deste estudo e também quando comparada com outras pesquisas (ANJOS et al., 2019; DÁTILLO et al., 2014). O néctar extrafloral é um recurso chave para interação entre formigas e plantas, e esse recurso pode regular alguns

padrões de forrageamento e comportamento das formigas (BIXENMANN; COLEY; KURSAR, 2011; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017). Considerando que *D. fruticosa* não apresentou uma produção de néctar equivalente a produção das outras duas plantas, pode-se deduzir que essa planta ofereceu um recurso pobre e, conseqüentemente, formigas como *C. crassus* e *E. tuberculatum* não foram atraídas com a mesma frequência como foram por *C. elliptica* e *P. rigida*, deixando de contribuir para o padrão aninhado da rede. No entanto, ainda pode-se considerar que a distância dos ninhos dessas duas formigas eram maiores em relação aos indivíduos de *D. fruticosa*, o que pode influenciar na taxa de visitaço (DE ASSIS DANSA; DUARTE ROCHA, 1992). Portanto, tanto pelo ponto de vista da planta quanto da formiga, existem fatores que podem explicar o no aninhamento da rede para essa planta.

As formigas *C. crassus* e *E. tuberculatum*, apresentaram um alto grau e fora de interao dentre as formigas visitantes. Isso significa que essas formigas interagiram com vrios indivduos de plantas e tambm fizeram com frequncia. Uma das possveis explicaes para esse padro pode estar relacionada com a dinmica de produtividade dos NPs, uma vez que vrios estudos j mostraram a influncia dos NEFs na frequncia e/ou no nmero de formigas recrutadas (BIXENMANN; COLEY; KURSAR, 2011; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017). Dessa forma, os resultados encontrados por este estudo similar ao da literatura, pois, para as plantas *C. elliptica* e *P. rigida* as quais produziram maiores volume e concentrao de nctar quando comparadas com *D. fruticosa*, as formigas *C. crassus* e *E. tuberculatum*, mostraram valores maiores para grau e fora de interao quando comparada com as mesmas mtricas para *D. fruticosa*. No entanto, importante ressaltar nesse caso que as caractersticas comportamentais de *C. crassus* e *E. tuberculatum* tambm podem ter contribuído para essas mtricas. Novamente, essas formigas possuem comportamentos agressivos e de dominncia, alm de serem abundantes em ambiente de Cerrado (ANDRADE; MARQUES; DEL-CLARO, 2007; LANGE et al., 2019; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017; NAHAS; GONZAGA; DEL-CLARO, 2012; STEFANI et al., 2015). Portanto, novamente existem fatores tanto sob controle das plantas quanto caractersticas das formigas que contribuem para os valores obtidos nessas duas mtricas.

4.2 Efetividade da defesa e agressividade

Diversos estudos tm mostrado a eficincia das formigas como defesa bitica, na qual alm diminurem o dano foliar tambm contribuem para o sucesso reprodutivo da planta (DEL-CLARO; MARQUIS, 2015; NASCIMENTO; DEL-CLARO, 2010; RICO-GRAY;

OLIVEIRA, 2007; ROSUMEK et al., 2009a). Porém, o sucesso da defesa pode variar dependendo da espécie de formiga que interage com a planta (DEJEAN et al., 2000; DEL-CLARO; MARQUIS, 2015; SENDOYA; FREITAS; OLIVEIRA, 2009). Neste estudo, as formigas *C. crassus* e *E. tuberculatum*, duas das formigas mais representativas na rede são conhecidas por serem dominantes e territorialistas (DAVIDSON; COOK; SNELLING, 2004; HEIL, 2009; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017). Além disso, como mostrado pelas métricas da rede, essas formigas apresentaram grau e força de interação altos, logo, interagiram com vários indivíduos e de forma frequente. Esses resultados aliado ao conhecimento disponível na literatura sobre a eficiência de *C. crassus* e *E. tuberculatum* como defesa biótica (DEL-CLARO; MARQUIS, 2015; DEL-CLARO; OLIVEIRA, 2000; FAGUNDES et al., 2017) são evidências do sucesso na proteção do dano foliar de *C. elliptica* e *P. rigida*. Portanto, as formigas que visitam NPs também oferecem uma defesa eficiente, mas de forma indireta, pois os NPs estão localizados nos frutos e não nas folhas. Já a ausência de variação na taxa de herbivoria em *D. fruticosa* pode ser baseada nas espécies de formigas visitantes. Duas das formigas conhecidas pela eficiência como defesa biótica estabeleceram uma fraca interação com *D. fruticosa* quando comparada com as outras plantas. *Camponotus crassus* realizou interações com apenas um terço dos indivíduos de *D. fruticosa* e *E. tuberculatum* interagiu com apenas um quinto dos indivíduos. Além disso, a frequência da interação (força de interação) dessas duas formigas com os indivíduos também foi baixa.

Considerando que as três espécies de plantas foram visitadas em diferentes proporções pelas duas formigas mais representativas (*C. crassus* e *E. tuberculatum*) com literatura conhecida na eficiência da defesa e comportamentos de dominância (DAVIDSON; COOK; SNELLING, 2004; DEL-CLARO; MARQUIS, 2015; FAGUNDES et al., 2017; HEIL, 2009; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017), o segundo fator mais provável que pode contribuir para uma maior ou menor taxa de sobrevivência dos cupins é a qualidade e quantidade do néctar. Lange et al. (2017), mostrou que diferentes plantas produzem diferentes concentrações e volumes de néctar, logo, algumas plantas se tornam mais atrativas do que outras. Além disso, Ness et al. (2009) mostrou que a presença do néctar pode deixar algumas espécies de formigas mais agressivas. No presente estudo, a planta *P. rigida* produziu a maior concentração e volume de néctar, consequentemente foi a planta em que os cupins tiveram a menor taxa de sobrevivência ao longo do tempo. Com base nisso podemos dizer que o comportamento das formigas foi influenciado pela concentração e volume do néctar nessa planta, acarretando em uma maior agressividade. Em contrapartida, as plantas *C. elliptica* e *D. fruticosa* apresentaram valores similares para a concentração, obtendo taxas maiores para

sobrevivência dos cupins. Logo, as formigas foram menos influenciadas pelo recurso, acarretando em um comportamento não tão agressivo. No entanto, fatores como a arquitetura da planta também pode contribuir no resultado final de eficiência das formigas. Apesar de não ter sido mensurado, pode-se destacar que a planta *P. rigida* possui folhas grandes e pouco numerosas, ao contrário de *C. elliptica* e *D. fruticosa*, dessa forma, o padrão de forrageamento da formiga pode ser influenciado em decorrência de fatores estruturais da planta, uma vez que o acesso ao NP pode ter um caminho mais curto ou não. Portanto, são vários os fatores que podem contribuir para a eficiência de proteção da planta no que diz respeito à taxa de herbivoria e agressividade, como a espécie de formiga, a estrutura física da planta e também a quantidade e qualidade do néctar produzido.

4.3 Impactos do volume e concentração do néctar na diversidade e abundância de formigas

Neste estudo foi encontrado apenas uma correlação parcial entre volume e concentração do néctar e diversidade e abundância de formigas. Bixemmann et al. (2011), ao introduzir diferentes concentrações de néctar artificial em plantas do gênero *Inga* mostrou que quanto mais concentrada é a solução maior é o número de formigas visitantes. O presente estudo mostrou um resultado similar do efeito da concentração na abundância de formigas, *P. rigida* foi planta que apresentou maior concentração de néctar, recebendo 3,5 vezes a mais o número de formigas visitantes que *C. elliptica* e 2,3 vezes a mais que *D. fruticosa*. Porém, o volume do néctar não mostrou correlação com a abundância de formigas. Em alguns casos, existe uma relação entre a quantidade de nectários ativos e a abundância de formigas (MADUREIRA; SOBRINHO; SCHOEREDER, 2018), que é uma outra forma de analisar o impacto dos nectários nas formigas visitantes. Pires et al. (2017), encontrou uma correlação positiva na produtividade de NEFs e a abundância de formigas, já Lange et al. (2017), mostrou que há uma relação entre o período de maior produtividade de néctar e a frequência e riqueza de formigas visitantes. Mas, isso também pode variar, Dáttilo et al. (2014), não encontrou uma relação entre a quantidade de NEFs e a abundância de formigas visitantes ao estudar o mesmo sistema plantas-NEFs-formigas. Neste estudo, a diversidade de formigas só foi significativa entre as plantas *P. rigida* e *C. elliptica*, mas não entre *P. rigida* e *D. fruticosa* ou *C. elliptica* e *D. fruticosa*. Apesar do número de frutos dessas plantas não ter sido mensurado, *P. rigida* produz uma quantidade superior em número de NPs comparada com as outras duas plantas (Figura 1), logo, esse pode ser um dos fatores que explique a diferença nessa diversidade.

5. CONCLUSÃO

Esse estudo mostrou que os NPs mediam interação entre formigas e plantas no cerrado, resultando em uma estrutura aninhada da rede e influenciando no comportamento e diversidade das formigas associadas. Esses resultados estão ligados às características das formigas (e.g. abundantes, agressivas, frequentes) e das plantas (e.g. concentração de néctar pericarpial oferecido), o que pode influenciar diretamente a taxa de predação de herbívoros pelas formigas e a taxa de herbivoria foliar das plantas. Portanto, tanto as características intrínsecas das formigas, como das plantas, são fatores que contribuem para a estruturação da rede e os resultados dessa interação. Esse foi o primeiro estudo a comparar a estrutura de redes de interação e o comportamento e a comunidade de formigas associadas em plantas portadoras de NPs. Os NPs se localizam em estruturas diretamente relacionadas ao sucesso reprodutivo das plantas, os frutos, e, portanto, são estruturas importantes na mediação dessas interações. Estudar essas glândulas e os seres que usufruem dos líquidos produzidos por elas é um importante passo para o entendimento das relações mutualísticas, especialmente em ambientes como o Cerrado, o qual apresenta um ambiente rico em interações mutualísticas medidas por recursos provenientes de plantas (Del-Claro e Torezan-Silingardi, 2009).

6. REFERÊNCIAS

- ABRAHAMSON, W. G. Plant-animal interactions: an overview. **Plant-animal interactions**, p. 1–22, 1989.
- AGUIRRE, A. et al. Morphological characterization of extrafloral nectaries and associated ants in tropical vegetation of Los Tuxtlas, Mexico. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 208, n. 2, p. 147–156, 2013.
- ALVES-SILVA, E.; DEL-CLARO, K. On the inability of ants to protect their plant partners and the effect of herbivores on different stages of plant reproduction. **Austral Ecology**, v. 41, n. 3, p. 263–272, 2016.
- ANDRADE, T.; MARQUES, G. D. V; DEL-CLARO, K. Diversity of ground dwelling ants in cerrado: An analysis of temporal variations and distinctive physiognomies of vegetation (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 50, n. 1, p. 121–134, 2007.
- ANJOS, D. V. et al. Structural changes over time in individual-based networks involving a harvester ant, seeds, and invertebrates. **Ecological Entomology**, p. 1–9, 2019.
- ANJOS, D. V et al. Extrafloral-nectaries and interspecific aggressiveness regulate day/night turnover of ant species foraging for nectar on *Bionia coriacea*. **Austral Ecology**, v. 42, n. 3, p. 317–328, 2017.

BÄCHTOLD, A.; ALVES-SILVA, E.; DEL-CLARO, K. Lycaenidae larvae feeding on *Peixotoa parviflora* (Malpighiaceae) in a semi-deciduous forest in Southeastern Brazil. **Journal of the Lepidopterists' Society**, v. 67, n. 1, p. 65–67, 2013.

BASCOMPTE, J. et al. The nested assembly of plant-animal mutualistic networks. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 16, p. 9383–9387, 2003.

BASCOMPTE, J.; JORDANO, P. Plant-Animal Mutualistic Networks: The Architecture of Biodiversity. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 38, n. 1, p. 567–593, 2007.

BASTOLLA, U. et al. The architecture of mutualistic networks minimizes competition and increases biodiversity. **Nature**, v. 458, n. 7241, p. 1018–1020, 2009.

BENTLEY, B. L. The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixa orellana* (Bixaceae). **Journal of Ecology**, v. 65, n. 1, p. 27–38, 1977.

BIXENMANN, R. J.; COLEY, P. D.; KURSAR, T. A. Is extrafloral nectar production induced by herbivores or ants in a tropical facultative ant-plant mutualism? **Oecologia**, v. 165, n. 2, p. 417–425, 2011.

BLÜTHGEN, N. et al. How plants shape the ant community in the Amazonian rainforest canopy: the key role of extrafloral nectaries and homopteran honeydew. **Oecologia**, v. 125, p. 229–240, 2000.

BLÜTHGEN, N. et al. Specialization, Constraints, and Conflicting Interests in Mutualistic Networks. **Current Biology**, v. 17, n. 4, p. 341–346, 2007.

BORGES, R. L.; JARDIM, J. G.; ROQUE, N. Rubiaceae na Serra Geral de Licínio de Almeida, Bahia, Brasil. **Rodriguesia**, v. 68, n. 2, p. 581–621, 2017.

BRONSTEIN, J. L. Conditional outcomes in mutualistic interactions. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 9, n. 6, p. 214–217, 1994.

BRONSTEIN, J. L. The Exploitation of mutualisms. **Ecology Letters**, v. 4, p. 277–287, 2004.

BUCKLEY, R. C. Interactions involving plants, homoptera, and ants. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v. 18, p. 111–135, 1987.

BYK, J.; DEL-CLARO, K. Ant-plant interaction in the Neotropical savanna: Direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. **Population Ecology**, v. 53, n. 2, p. 327–332, 2011.

CALIXTO, E. S.; LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Foliar anti-herbivore defenses in *Qualea multiflora* Mart. (Vochysiaceae): Changing strategy according to leaf development. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 212, p. 19–23, 2015.

CALIXTO, E. S.; LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Protection mutualism: an overview of ant-plant interactions mediated by extrafloral nectaries. **Oecologia Australis**, v. 22, n. 4, p. 410–425, 2018.

CALIXTO, E. S.; SOUSA-LOPES, B.; DEL-CLARO, K. Are rare velvet ants (Hymenoptera: Mutillidae) to feed on extrafloral nectar? **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 3, n. 4, p. 406–409, 2018.

CARTER, C. et al. Tobacco nectaries express a novel NADPH oxidase implicated in the defense of floral reproductive tissues against microorganisms. **Plant Physiology**, v. 143, n. 1, p. 389–399, 2007.

CHAMBERLAIN, S. A.; KILPATRICK, J. R.; HOLLAND, J. N. Do extrafloral nectar resources, species abundances, and body sizes contribute to the structure of ant-plant mutualistic networks? **Oecologia**, v. 164, n. 3, p. 741–750, 2010.

CIPOLLINI, M. L.; LEVEY, D. J. Secondary metabolites of fleshy vertebrate-dispersed fruits: adaptive hypotheses and implications for seed dispersal. **The American Naturalist**, v. 150, n. 3, p. 346–372, 1997.

COLEY, P. D.; BARONE, J. A. Herbivory and Plant Defenses in Tropical Forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 27, n. 1, p. 305–335, 1996.

COLEY, P. D.; KURSAR, T. A. **Anti-Herbivore Defenses of Young Tropical Leaves: Physiological Constraints and Ecological Trade-offs**. [s.l: s.n.].

DÁTTILO, W. Different tolerances of symbiotic and nonsymbiotic ant-plant networks to species extinctions. **Network Biology**, v. 2, n. 4, p. 127–138, 2012.

DÁTTILO, W. et al. Individual-based ant-plant networks: Diurnal-nocturnal structure and species-area relationship. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, 2014.

DÁTTILO, W. et al. Secretory activity of extrafloral nectaries shaping multitrophic ant-plant-herbivore interactions in an arid environment. **Journal of Arid Environments**, v. 114, p. 104–109, 2015.

DÁTTILO, W.; GUIMARÃES, P. R.; IZZO, T. J. Spatial structure of ant-plant mutualistic networks. **Oikos**, v. 122, n. 11, p. 1643–1648, 2013.

DAVIDSON, D. W.; COOK, S. C.; SNELLING, R. R. International Association for Ecology Liquid-Feeding Performances of Ants (Formicidae): Ecological and Evolutionary Implications. **Source: Oecologia**, v. 139, n. 2, p. 255–266, 2004.

DAVIS, A. P. et al. A Global Assessment of Distribution, Diversity, Endemism, and Taxonomic Effort in the Rubiaceae 1. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 96, n. 1, p. 68–78, 2009.

DE ASSIS DANSA, C. V.; DUARTE ROCHA, C. F. An ant-membracid-plant interaction in a cerrado area of Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 8, n. 3, p. 339–348, 1992.

DEJEAN, A. et al. Pioneer plant protection against herbivory: Impact of different ant species (Hymenoptera: Formicidae) on a proliferation of the variegated locust. **Sociobiology**, v. 36, n. 1, p. 227–236, 2000.

DEJEAN, A. et al. Are myrmecophytes always better protected against herbivores than other plants? **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 89, n. 1, p. 91–98, 2006.

DEL-CLARO, K. Multitrophic Relationships , Conditional Mutualisms , and the Study of Interaction Biodiversity in Tropical Savannas. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 6, p. 665–672, 2004.

DEL-CLARO, K. et al. Ants visiting the post-floral secretions of pericarpial nectaries in *Palicourea rigida*(Rubiaceae) provide protection against leaf herbivores but not against seed parasites. **Sociobiology**, v. 60, n. 3, p. 217–221, 2013.

DEL-CLARO, K. et al. Loss and gains in ant–plant interactions mediated by extrafloral nectar: fidelity, cheats, and lies. **Insectes Sociaux**, v. 63, n. 2, p. 207–221, 2016.

DEL-CLARO, K.; MARQUIS, R. J. Ant Species Identity has a Greater Effect than Fire on the Outcome of an Ant Protection System in Brazilian Cerrado. **Biotropica**, v. 47, n. 4, p. 459–467, 2015.

DEL-CLARO, K.; OLIVEIRA, P. S. Ant-homoptera interactions in a neotropical savanna: The honeydew-producing treehopper, *Guayaquila xiphias*(Membracidae), and its associated ant fauna on *Didymopanax vinosum*(Araliaceae). **Biotropica**, v. 31, n. 1, p. 135–144, 1999.

DEL-CLARO, K.; OLIVEIRA, P. S. Conditional outcomes in a neotropical treehopper-ant association: temporal and species-specific variation in ant protection and homopteran fecundity. **Oecologia**, v. 124, n. 2, p. 156–165, 2000.

DELPRETE, P. G.; JARDIM, J. G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: An overview about the current status and future challenges. **Rodriguesia**, v. 63, n. 1, p. 101–128, 2012.

DÍAZ-CASTELAZO, C. et al. Extrafloral nectary-mediated ant-plant interactions in the coastal vegetation of Veracruz, Mexico: Richness, occurrence, seasonality, and ant foraging patterns. **Ecoscience**, v. 11, n. 4, p. 472–481, 2004.

DÍAZ-CASTELAZO, C. et al. Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of coastal Veracruz, Mexico. **Annals of Botany**, v. 96, n. 7, p. 1175–1189, 2005.

DÍAZ-CASTELAZO, C. et al. Long-term temporal variation in the organization of an ant-plant network. **Annals of Botany**, v. 111, n. 6, p. 1285–1293, 2013.

ELIAS, T. S. Extrafloral Nectaries: their structure and distribution. In: ELIAS, T. S. (Ed.). . **The Biology of Nectaries**. [s.l.] New York, Columbia University Press, 1983. p. 174–203.

FAGUNDES, R. et al. Differences among ant species in plant protection are related to production of extrafloral nectar and degree of leaf herbivory. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 122, n. 1, p. 71–83, 2017.

FLORES-FLORES, R. V. et al. Food source quality and ant dominance hierarchy influence the outcomes of ant-plant interactions in an arid environment. **Acta Oecologica**, v. 87, p. 13–19, 2018.

FOX, J.; WEISBERG, S. **An R Companion to Applied Regression**. California: SAGE, 2011.

GONZÁLEZ-TEUBER, M. et al. Increased host investment in extrafloral nectar (EFN) improves the efficiency of a mutualistic defensive service. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, 2012.

GONZÁLEZ-TEUBER, M.; HEIL, M. The role of extrafloral nectar amino acids for the preferences of facultative and obligate ant mutualists. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 4, p. 459–468, 2009.

GOTTSBERGER, G.; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. **Life in the Cerrado: a South American Tropical Seasonal Ecosystem**. Ulm: Reta Verlag, 2006.

GUIMARÃES, P. R. et al. Build-up mechanisms determining the topology of mutualistic networks. **Journal of Theoretical Biology**, v. 249, n. 2, p. 181–189, 2007.

HARRINGTON, D. P.; FLEMING, T. R. A Class of Rank Test Procedures for Censored Survival Data. **Biometrika**, v. 69, n. 3, p. 553–566, 1982.

HEIL, M. et al. Temporal, spatial and biotic variations in extrafloral nectar secretion by *Macaranga tanarius*. **Functional Ecology**, v. 14, n. 6, p. 749–757, 2000.

HEIL, M. Damaged-self recognition in plant herbivore defence. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 7, p. 356–363, 2009.

HEIL, M. Nectar: generation, regulation and ecological functions. **Trends in Plant Science**, v. 16, n. 4, p. 191–200, 2011.

HEIL, M. Extrafloral Nectar at the Plant-Insect Interface: A Spotlight on Chemical Ecology, Phenotypic Plasticity, and Food Webs. **Annual Review of Entomology**, v. 60, n. 1, p. 213–232, 2015.

HERRE, E. A. et al. The evolution of mutualisms: exploring the paths between conflict and cooperation. **Elsevier Science Ltd**, v. 14, n. 2, p. 49–53, 1999.

HERRERA, C. M. Defence of ripe fruit from pests: its significance in relation to plant-disperser interactions. **American Naturalist**, v. 120, n. 2, p. 218–241, 1982.

HOLLAND, J. N.; CHAMBERLAIN, S. A.; HORN, K. C. Temporal variation in extrafloral nectar secretion by reproductive tissues of the senita cactus, *Pachycereus schottii*

(Cactaceae), in the Sonoran Desert of Mexico. **Journal of Arid Environments**, v. 74, n. 6, p. 712–714, 2009.

KASSAMBARA, A., and M. KOSINSKI. Survminer: Drawing Survival Curves using “ggplot2”. R package version 0.4.3. <https://cran.r-project.org/package=survminer>. 2018.

KEELER, K. H. Function of *Mentzelia nuda* (Loasaceae) Postfloral Nectaries in Seed Defense. **Journal of B**, v. 68, n. 2, p. 295–299, 1981.

KOPTUR, S. Plants with extrafloral nectaries and ants in everglades habitats. **The Florida Entomologist**, v. 75, n. 1, p. 38–50, 1992.

LABANDEIRA, C. C. The history of associations between plants and animals In: Herrera C., Pellmyr O., eds., *Plant-Animal Interactions: An Evolutionary Approach*. **Oxford, UK: Blackwell Science Pp**, v. 26, n. 74, p. 248–261, 2002.

LANGE, D. et al. Natural history and ecology of foraging of the *Camponotus crassus* Mayr, 1862 (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Natural History**, v. 53, n. 27–28, p. 1737–1749, 2019.

LANGE, D.; CALIXTO, E. S.; DEL-CLARO, K. Variation in extrafloral nectary productivity influences the ant foraging. **PLoS ONE**, v. 12, n. 1, p. 1–13, 2017.

LANGE, D.; DÁTTILO, W.; DEL-CLARO, K. Influence of extrafloral nectary phenology on ant-plant mutualistic networks in a neotropical savanna. **Ecological Entomology**, v. 38, n. 5, p. 463–469, 2013.

LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Ant-plant interaction in a tropical Savanna: May the network structure vary over time and influence on the outcomes of associations? **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, p. e105574, 2014.

LONGHI-WAGNER, H. M. et al. **Volume 1. Poaceae**. [s.l: s.n.]. v. 11

MACHADO, S. R. et al. Morphological patterns of extrafloral nectaries in woody plant species of the Brazilian *cerrado*. **Plant Biology**, v. 10, n. 5, p. 660–673, 2008.

MADUREIRA, M. S.; SOBRINHO, T. G.; SCHOEREDER, J. H. The influence of extrafloral nectaries on arboreal ant species richness in tree communities. **Sociobiology**, v. 65, n. 2, p. 162–169, 2018.

MARAZZI, B.; BRONSTEIN, J. L.; KOPTUR, S. The diversity, ecology and evolution of extrafloral nectaries: Current perspectives and future challenges. **Annals of Botany**, v. 111, n. 6, p. 1243–1250, 2013a.

MARAZZI, B.; BRONSTEIN, J. L.; KOPTUR, S. The diversity, ecology and evolution of extrafloral nectaries: Current perspectives and future challenges. **Annals of Botany**, v. 111, n. 6, p. 1243–1250, 2013b.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, fev. 2000.

NAHAS, L.; GONZAGA, M. O.; DEL-CLARO, K. Emergent impacts of ant and spider interactions: Herbivory reduction in a tropical savanna tree. **Biotropica**, v. 44, n. 4, p. 498–505, 2012.

NASCIMENTO, E. A.; DEL-CLARO, K. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 205, n. 11, p. 754–756, 2010.

NESS, J. H.; MORRIS, W. F.; BRONSTEIN, J. L. For ant-protected plants, the best defense is a hungry offense. **Ecology**, v. 90, n. 10, p. 2823–2831, 2009.

NICOLSON, S. W.; THORNBURG, R. W. Nectar chemistry. **Nectaries and nectar**, p. 215–264, 2007.

NOGUEIRA, A. et al. Do extrafloral nectaries present a defensive role against herbivores in two species of the family Bignoniaceae in a Neotropical savannas? **Plant Ecology**, v. 213, n. 2, p. 289–301, 2012.

OKSANEN, A. J. et al. Vegan: Community Ecology Package. **World Agroforestry Centre**, 2015.

OLIVEIRA, P. S.; LEITÃO-FILHO, H. F. Extrafloral nectaries: Their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of Cerrado vegetation in southeast Brazil. **Biotropica**, v. 19, n. 2, p. 140–148, 1987.

PACELHE, F. T. et al. Nectar quality affects ant aggressiveness and biotic defense provided to plants. **Biotropica**, p. 1–9, 2019.

PAIVA, É. A. S.; MACHADO, S. R. Ontogênese, anatomia e ultra-estrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae - Caesalpinioideae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 2, p. 471–482, 2009.

PINHEIRO, R. B. P. et al. A new model explaining the origin of different topologies in interaction networks. **Ecology**, v. 100, n. 9, p. 1–10, 2019.

PIRES, M. S. et al. A New Extrafloral Nectary-Bearing Plant Species in the Brazilian Savanna and its Associated Ant Community: Nectary Structure, Nectar Production and Ecological Interactions. **Sociobiology**, v. 64, n. 3, p. 228, 2017a.

PIRES, M. S. et al. A new extrafloral nectary-bearing plant species in the Brazilian Savanna and its associated ant community: Nectary structure, nectar production and ecological interactions. **Sociobiology**, v. 64, n. 3, p. 228–236, 2017b.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**, 2019.

RIBAS, C. et al. The arboreal ant community visiting extrafloral nectaries in the Neotropical cerrado savanna. **Terrestrial Arthropod Reviews**, v. 3, n. 1, p. 3–27, 2010.

RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P. S. **The ecology and evolution of ant-plant**

interactions. Chicago: The University of Chicago Press, 2007.

ROSUMEK, F. B. et al. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. **Oecologia**, v. 160, n. 3, p. 537–549, 2009a.

ROSUMEK, F. B. et al. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. **Oecologia**, v. 160, n. 3, p. 537–549, 2009b.

SCHOONHOVEN, L.; LOON, J. J. A. VAN; DICKE, M. Insect-Plant Biology Second Edition. n. August 2016, 2005.

SENDOYA, S. F. F.; FREITAS, A. V. L. V. L.; OLIVEIRA, P. S. S. Egg-Laying Butterflies Distinguish Predaceous Ants by Sight. **The American Naturalist**, v. 174, n. 1, p. 134–140, 2009.

STEFANI, V. et al. Beneficial effects of ants and spiders on the reproductive value of *Eriotheca gracilipes* (Malvaceae) in a tropical savanna. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, p. 1–12, 2015.

THERNEAU, T. M. A Package for Survival Analysis in S_. version 2.38. <https://cran.rproject.org/package=survival>. 2015.

THORNBURG, R. W. et al. A major function of the tobacco floral nectary is defense against microbial attack. **Plant Systematics and Evolution**, v. 238, n. 1–4, p. 211–218, 2003.

TRAGER, M. D. et al. Benefits for plants in ant-plant protective mutualisms: A meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 5, n. 12, p. e14308, 2010.

VELASQUE, M.; DEL-CLARO, K. Host plant phenology may determine the abundance of an ecosystem engineering herbivore in a tropical savanna. **Ecological Entomology**, v. 41, n. 4, p. 421–430, 2016.

VILELA, A. A.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Conditional outcomes in ant-plant-herbivore interactions influenced by sequential flowering. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 209, p. 359–366, 2014.

WEBER, M. G.; KEELER, K. H. The phylogenetic distribution of extrafloral nectaries in plants. **Annals of Botany**, v. 111, n. 6, p. 1251–1261, 2013.