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

Influência da identidade e padrões comportamentais das formigas e da qualidade do recurso
mediador (*honeydew*) nos resultados da interação formiga-planta-hemíptero

Vitor Miguel da Costa Silva

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

(2021)

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

Influência da identidade e padrões comportamentais das formigas e da qualidade do recurso
mediador (*honeydew*) nos resultados da interação formiga-planta-hemíptero

Vitor Miguel da Costa Silva

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: Kleber Del Claro

Ribeirão Preto - SP

(2021)

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Costa-Silva, Vitor Miguel da

Influência da identidade e padrões comportamentais das formigas e da qualidade do recurso mediador (*honeydew*) nos resultados da interação formiga-planta-hemíptero. Ribeirão Preto, 2021.100 p.

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área: Entomologia

Orientador: Dr. Kleber Del Claro.

1. Interação Formiga-planta-hemíptero. 2. Herbívoro. 3. Proteção. 4. Mutualismo. 5. Dependente de Contexto.

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

aos meus pais, Miguel e Tânia, e às minhas irmãs, Lillian e Lilliane, por sempre acreditarem e me apoiarem em meus objetivos;

à minha família e amigos, que sempre torceram pelas minhas conquistas;

à minha namorada, Camilla, que esteve comigo nos momentos mais difíceis, e me deu todo o apoio para superar as dificuldades. Obrigado pela paciência, carinho e companheirismo;

ao meu orientador e coorientador, Kléber Del Claro e Eduardo Calixto, por terem aceitado me orientar, e por proporcionarem todo o suporte necessário para o meu desenvolvimento profissional, sou muito grato por todos os conselhos, ensinamentos, oportunidades e puxões de orelha;

ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelo apoio financeiro para a produção da dissertação;

a todos os integrantes do Laboratório de Ecologia Comportamental e de Interações (LECI); aos alunos, profissionais e professores do programa de pós graduação em entomologia da USP de Ribeirão Preto; a Universidade de São Paulo.

Sumário

INTRODUÇÃO GERAL.....	11
REFERÊNCIAS	16
Capítulo 1	21
Resumo	22
1. Introdução.....	25
2. Materiais e Métodos	30
2.1 Área de estudo	30
2.2 Espécies de estudo	30
2.3 Estrutura da assembleia de formigas e sobrevivência de <i>E. brasiliensis</i>	31
2.4 Observações comportamentais.....	33
2.5 Análise de dados	34
3. Resultados.....	35
3.1 Estrutura da comunidade de formigas	35
3.2 Sobreivência de <i>E. brasiliensis</i>	42
3.3 Observações comportamentais.....	45
4. Discussão	47
5. Referência.....	52
Capítulo 2	57
Resumo	58
1. Introdução.....	61
2. Materiais e Métodos	64
2.1 Área e espécie de estudo	64
2.2 Design experimental	66
2.3 Alocação de recurso.....	67
2.4 Abundância de formigas	71
2.5 Herbívoros e danos foliares	71
2.6 Eficiência defensiva.....	72
2.7 Análise de dados	73
3. Resultados.....	75
3.1 Alocação de recursos	75
3.2 Abundância de formigas	77

3.3	Herbívoros e danos foliares	81
3.4	Eficiência defensiva	85
4.	Discussão	87
5.	Referência bibliográficas	94
CONCLUSÃO GERAL.....		101

RESUMO

Costa-Silva VM. **Influência da identidade e padrões comportamentais das formigas e da qualidade do recurso mediador (*honeydew*) nos resultados da interação formiga-planta-hemíptero.** Dissertação – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2021, 100 folhas.

As interações entre formigas e plantas são amplamente diversificadas, variando de relações antagônicas (e.g., herbivoria) a relações mutualísticas (e.g., dispersão de sementes, polinização e mutualismo de proteção). No caso do mutualismo de proteção, essas relações podem ser mediadas por diferentes recursos, como os nectários extraflorais (NEFs) e/ou as exsudações de hemípteros (i.e., *honeydew*). Associações hemípteros-formigas podem representar um mecanismo de defesa indireta para as plantas contra o ataque de herbívoros. Essa defesa biótica das plantas (associação com formigas) está condicionada a diferentes fatores, como a identidade e competição entre as formigas pelo acesso aos recursos e a qualidade desses recursos. Dessa forma, a presente dissertação teve como objetivo avaliar como a identidade e os padrões comportamentais das formigas e a qualidade do recurso alimentar mediador da interação formiga-planta, nesse caso o exsudato dos hemípteros (*honeydew*), influenciam nos resultados da interação formiga-planta-hemíptero. Para alcançar esse objetivo, essa dissertação foi dividida em dois capítulos. No Capítulo 1 foram avaliados os impactos espaço-temporais de duas diferentes estratégias de dominância de formigas (alta agressividade e nidificação no solo, e baixa agressividade e nidificação na planta) mediadas pelo *honeydew* na interação formiga-*Solanum lycocarpum* (Solanaceae)-*Enchenopa brasiliensis* (Hemiptera). Os resultados desse capítulo mostraram que a identidade e a estratégia de dominância das formigas é um fator chave para os resultados finais dessas interações. As espécies de formigas mais agressivas são mais propícias a

dominar plantas com membracídeos e apresentam um impacto expressivo e positivo sobre as agregações dos hemípteros. No Capítulo 2 foi avaliado se a qualidade do *honeydew* varia conforme o local em que os membracídeos estão se alimentando (estruturas reprodutivas ou vegetativas), e se essa variação influencia a efetividade da defesa biótica nas plantas hospedeiras. Os resultados desse capítulo mostraram que o *honeydew* é amplamente variável a depender do local em que os membracídeos estão hospedados. Entretanto, tais variações na qualidade do *honeydew* não influenciaram na abundância das formigas sobre as regiões mais e menos concentradas, e a presença desse recurso afetou positivamente a riqueza, abundância e atividade dos herbívoros. Conclui-se que a interação formigas-*S. lycocarpum*-*E. brasiliensis* mediada por *honeydew* é altamente dependente de contexto, variando com a identidade e padrões comportamentais das formigas, bem como a qualidade do recurso mediador (concentração de açúcar do *honeydew*). Efeitos dependentes de contexto resultam em impactos diretos e indiretos nas interações formigas-plantas-hemípteros, podendo ser negativos, neutros ou positivos, podendo influenciar nos padrões de biodiversidade do local.

Palavras-chave: Interação Formiga-planta-hemíptero, herbívoro, proteção, mutualismo, dependente de contexto.

Abstract

Interactions between ants and plants are widely diverse, ranging from antagonistic relationships (e.g., herbivory) to mutualistic relationships (e.g., seed dispersal, pollination, and protective mutualism). In the case of protection mutualism, these relationships can be mediated by different resources, such as extrafloral nectaries (EFNs) and/or hemipterans exudations (i.e., honeydew). Hemipteran-ant associations may represent an indirect defense mechanism for plants against

attack by herbivores. This biotic defense of plants (association with ants) is conditioned by different factors, such as identity and competition among ants for access to resources and the quality of these resources. This dissertation evaluated how the identity and behavior patterns of ants and the quality of food resource that mediates the ant-plant interaction, in this case the hemipterans exudate (“honeydew”), influence the outcomes of the ant-plant-hemipteran interaction. To achieve this goal, this dissertation was divided into two chapters. In Chapter 1, we evaluated the spatiotemporal impacts of two different ant dominance strategies (high aggressiveness and nest in the ground, and low aggressiveness and nest on plants) mediated by honeydew on the ant-*Solanum lycocarpum* (Solanaceae)-*Enchenopa brasiliensis* (Hemiptera) interaction. The results of this chapter showed that the ant identity and dominance strategy significantly influenced the outcomes of the interaction. The more aggressive ant species are more likely to dominate plants with membracids and have an expressive and positive impact on hemipterans aggregations. In Chapter 2, it was evaluated whether honeydew quality varies according to the place where the membracids are feeding (reproductive or vegetative structures) and whether this variation influences the effectiveness of the biotic defense in host plants. The result of this chapter showed that honeydew is widely variable depending on where the membracids are hosted. However, such variation in honeydew quality did not influence the abundance of ants over the more and less concentrated regions, and the presence of this resource positively affected the richness, abundance, and activity of herbivores. It is concluded that the ant-*S. lycocarpum*-*E. brasiliensis* interaction mediated by honeydew is highly context-dependent, varying with the identity and behavior patterns of ants, as well as the quality of the mediating resource (sugar concentration of honeydew). Context-dependent effects result in direct and

indirect impacts on ants-plants-hemipterans interactions, which can be negative, neutral, or positive, and can influence the local biodiversity patterns.

Keywords: Ant-plant-hemipteran interaction, herbivore, protection, mutualism, context-dependent.

INTRODUÇÃO GERAL

Interações entre insetos e plantas são extremamente antigas e amplamente presentes nos ambientes terrestres (DEL-CLARO; TOREZAN-SILINGARDI, 2021a). Diversos indícios mostram que o primeiro tipo de associação entre esses dois grupos foi uma interação antagônica, representada pela herbivoria (LABANDEIRA; SEPKOSKI, 1993; LABANDEIRA, 1998; DEL-CLARO; TOREZAN-SILINGARDI, 2021b). Em função da alta pressão evolutiva imposta pelos insetos herbívoros, as plantas desenvolveram diferentes estratégias defensivas capazes de resistir e/ou combater os danos causados por esses insetos (AGRAWAL, 2007; MARQUIS; RICKLEFS; ABDALA-ROBERTS, 2012; SALAZAR; MARQUIS, 2012; KANT et al., 2015; DEL-CLARO; TOREZAN-SILINGARDI, 2021b). Um tipo de estratégia defensiva desenvolvida foi a interação mutualística com artrópodes predadores, uma associação conhecida como defesa biótica de plantas (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2018; PEARSE et al., 2020; MOURA et al., 2021). Nessa interação, artrópodes predadores defendem as plantas contra o ataque de herbívoros e invasores e, em troca, recebem benefícios como moradia e/ou recurso alimentar (DEL-CLARO et al., 2016). Embora aranhas (DEL-CLARO et al., 2016; NAHAS; GONZAGA; DEL-CLARO, 2016) e vespas (TORRES-HERNÁNDEZ et al., 2000; ALVES-SILVA et al., 2013) também apresentem um papel protetivo para as plantas, as formigas são os principais organismos a desempenharem esse papel (RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; ROSUMÉK et al., 2009; TRAGER et al., 2010).

O mutualismo de defesa entre formigas e plantas pode estar condicionado à presença de diferentes recursos alimentares (RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; LACH; PARR; ABBOTT, 2010), tais como os nectários extraflorais, que são glândulas produtoras de néctar, mas que não

estão ligados à polinização (KOPTUR, 2005); os “corpúsculos Beltianos”, que são recursos ricos em proteínas e lipídeos (JANZEN, 1966); as secreções de larvas de Lepidoptera, que são substâncias açucaradas produzidas por lagartas que se alimentam principalmente de partes reprodutivas das plantas hospedeiras (KAMINSKI; FREITAS; OLIVEIRA, 2010; LIMA; TRIGO; KAMINSKI, 2020); e o *honeydew*, que consiste em exsudações ricas em açúcares e aminoácidos produzido por hemípteros fitófagos (e.g. aphidae, membracidae, cicadellidae, coccoidae) que se associam às plantas (WAY M.J., 1963; DEL-CLARO; OLIVEIRA, 1999). Todos esses recursos representam uma parcela importante da dieta de diferentes grupos de formigas por serem ricos em água, carboidratos, lipídeos e aminoácidos (DAVIDSON et al., 2003; RIBEIRO et al., 2019), componentes essenciais para a sobrevivências de muitas espécies de formigas (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2021). Dessa forma, como resultado da qualidade nutritiva esses diferentes recursos mediadores acabam influenciando nos padrões de forrageamento das formigas (ANJOS et al., 2017; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017; PACELHE et al., 2019; CALIXTO et al., 2021c). Por exemplo, Calixto et al. (2021c) mostraram que a mesma espécie de formiga pode variar sua efetividade defensiva de acordo com a espécie de planta que ela forrageia, resultado da alta variação da qualidade nutritiva do néctar extrafloral ofertado (LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017).

Além de serem influenciadas pela quantidade e qualidade do recurso mediador, os resultados da interação formiga-planta são amplamente variáveis no tempo e no espaço (DEL-CLARO; OLIVEIRA, 2000; RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; BELCHIOR; SENDOYA; DEL-CLARO, 2016; ANJOS et al., 2017; CALIXTO et al., 2021b). Embora esses diferentes tipos de recursos mediadores apresentem uma composição nutricional semelhante, importantes para muitas espécies de formigas (DAVIDSON et al., 2003; BLÜTHGEN; GOTTSBERGER;

FIEDLER, 2004; RIBEIRO et al., 2019), ainda não está claro como que vários desses recursos mediadores, especialmente o *honeydew*, influenciam na dinâmica de interações entre formigas e plantas (BLÜTHGEN et al., 2000; RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007). Vários estudos têm mostrado resultados condicionais dependendo da qualidade nutricional dos recursos e das espécies de formigas nas plantas (DEL-CLARO; OLIVEIRA, 2000; DEL-CLARO; MARQUIS, 2015; ANJOS et al., 2017; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017; VILELA et al., 2018; CALIXTO et al., 2021a). Dessa forma, a relação entre o comportamento agressivo de certas espécies de formigas e a alta concentração dos recursos pode ser encarada como benéfica para a defesa das plantas (FAGUNDES et al., 2017; PACELHE et al., 2019; CALIXTO et al., 2021a). Por outro lado, em virtude de comportamentos e/ou características morfológicas, algumas espécies de formigas não defendem as plantas contra o ataque de herbívoros, embora usufruam dos recursos disponíveis (BYK; DEL-CLARO, 2010). Assim, embora formigas e plantas interagindo em um mutualismo trófico representem o padrão desse tipo de interação, cenários em que há variações do valor nutritivo dos recursos e, conseqüentemente, do comportamento das formigas nas plantas, têm mostrado que a defesa biótica de plantas é altamente dependente de contexto (BLÜTHGEN et al., 2000; ANJOS et al., 2017; FAGUNDES et al., 2017).

Por influenciar no comportamento das formigas, os recursos mediadores podem indiretamente influenciar a assembleia de formigas que forrageiam na planta hospedeira (BLÜTHGEN et al., 2000; RIBEIRO et al., 2019), possivelmente conduzindo a uma variação do resultado do mutualismo. A presença de recursos ricos em nutrientes necessários para a sobrevivência de muitas espécies de formigas favorece a competição intraespecífica e interespecífica, levando a padrões de exclusão e coexistência entre diferentes espécies (ANDERSEN, 1992; BLÜTHGEN et al., 2000; GIBB; HOCHULI, 2004; RIBEIRO et al., 2019).

Assim, muitos estudos têm mostrado que algumas espécies de formigas capazes de monopolizar as fontes de recursos têm atuado como espécies dominantes dentro de diferentes sistemas (FAGUNDES et al., 2016, 2017; CAMAROTA et al., 2020). Nesse sentido, essas espécies não só controlam a ocorrência de outras formigas, mas também possuem um importante papel sobre a comunidade de insetos e, conseqüentemente, no sucesso reprodutivo das plantas (CAMPOS; CAMACHO, 2014; FAGUNDES et al., 2017). No caso do *honeydew*, diante do seu alto valor nutritivo, a presença dessas espécies de caráter dominante tem se mostrado prevalentes nessas interações (BLÜTHGEN et al., 2000; CAMPOS; CAMACHO, 2014; RIBEIRO et al., 2019); embora seja bastante negligenciado no que diz respeito à forma com que essas espécies estabelecem o seu domínio, a composição dessas estruturas hierárquicas e aos impactos sobre as plantas em que elas ocorrem.

Em interações mediadas pelo *honeydew*, os hemípteros como afídeos, jovens ou adultos com suas massas de ovos, podem infestar os tecidos reprodutivos e vegetativos das plantas, representando uma rica fonte de alimento às formigas (WAY M.J., 1963; BUCKLEY, 1987). Embora esteja clara a relação desse recurso com espécies de formigas capazes de monopolizar as plantas (BLÜTHGEN et al., 2000; RIBEIRO et al., 2019), a forma como diferentes espécies atingem um grau de dominância dentro das assembleias, e como esse padrão de dominância reflete na defesa biótica de plantas ainda não está clara e carece de uma abordagem mais completa, incluindo o componente comportamental. Para colaborar com o preenchimento dessas lacunas, a presente dissertação teve como objetivo geral avaliar como a identidade e os padrões comportamentais das formigas e a qualidade do recurso alimentar mediador da interação formiga-planta, nesse caso o *honeydew*, influenciam nos resultados da interação formiga-planta-hemíptero. Para atingir esse objetivo, a dissertação foi dividida em dois capítulos. No primeiro

capítulo, foram avaliados os impactos espaço-temporais de duas diferentes estratégias de dominância de formigas (alta agressividade e nidificação no solo, e baixa agressividade e nidificação na planta) mediadas por *honeydew* na interação formiga-*Solanum lycocarpum* (Solanaceae)- *Enchenopa brasiliensis* (Hemiptera). No segundo capítulo, foi avaliado se a qualidade do *honeydew* varia conforme o local em que os membracídeos estão hospedados (estruturas reprodutivas ou vegetativas), e se essa variação influencia na efetividade da defesa biótica de plantas em *S. lycocarpum*.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, A. A. Macroevolution of plant defense strategies. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 22, n. 2, p. 103–109, 2007.
- ALVES-SILVA, E.; BARÔNIO, G. J.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Foraging behavior of *Brachygastra lecheguana* (Hymenoptera: Vespidae) on *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae): Extrafloral nectar consumption and herbivore predation in a tending ant system. **Entomological Science**, v. 16, n. 2, p. 162–169. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/ens.12004>>.
- ANDERSEN, A. N. Regulation of “Momentary” Diversity by Dominant Species in Exceptionally Rich Ant Communities of the Australian Seasonal Tropics. **The American Naturalist**, v. 140, n. 3, p. 401–420, 1992.
- ANJOS, D. V.; CASERIO, B.; REZENDE, F. T.; RIBEIRO, S. P.; DEL-CLARO, K.; FAGUNDES, R. 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.
- BELCHIOR, C.; SENDOYA, S. F.; DEL-CLARO, K. Temporal variation in the abundance and richness of foliage-dwelling ants mediated by extrafloral nectar. **PLoS ONE**, v. 11, n. 7, p. 1–17, 2016.
- BLÜTHGEN, N.; VERHAAGH, M.; JAFFÉ, W. G. K.; MORAWETZ, W.; WILHELM, B. How plants shape the ant community in the Amazonian rainforest canopy: The key role of extrafloral nectaries and homopteran honeydew. **Oecologia**, v. 125, n. 2, p. 229–240, 2000.
- BLÜTHGEN, N.; GOTTSBERGER, G.; FIEDLER, K. Sugar and amino acid composition of ant-attended nectar and honeydew sources from an Australian rainforest. **Austral Ecology**, v. 29, n. 4, p. 418–429, 2004.
- BUCKLEY, R. Ant-Plant-Homopteran Interactions. **Advances in Ecological Research**, v. 16, p. 53–85, 1987.
- BYK, J.; DEL-CLARO, K. Nectar- and pollen-gathering Cephalotes ants provide no protection against herbivory: A new manipulative experiment to test ant protective capabilities. **Acta Ethologica**, v. 13, n. 1, p. 33–38, 2010.
- CALIXTO, E. S.; LANGE, D.; BRONSTEIN, J.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Optimal Defense Theory in an ant–plant mutualism: Extrafloral nectar as an induced defence is maximized in the most valuable plant structures. **Journal of Ecology**, v. 109, n. 1, p. 167–178, 2021a.
- CALIXTO, E. S.; NOVAES, L. R.; SANTOS, D. F. B.; LANGE, D.; MOREIRA, X.; DEL-CLARO, K. Climate seasonality drives ant–plant–herbivore interactions via plant phenology in

an extrafloral nectary-bearing plant community. **Journal of Ecology**, v. 109, n. 2, p. 639–651, 2021b. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1365-2745.13492>>.

CALIXTO, E. S.; LANGE, D.; MOREIRA, X.; DEL-CLARO, K. Plant species specificity of ant–plant mutualistic interactions: Differential predation of termites by *Camponotus crassus* on five species of extrafloral nectaries plants. **Biotropica**, p. 1–9, 2021c. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/btp.12991>>.

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.; LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Net benefits of a mutualism: Influence of the quality of extrafloral nectar on the colony fitness of a mutualistic ant. **Biotropica**, p. 1–11, 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/btp.12925>>.

CAMAROTA, F.; VASCONCELOS, H. L.; MARQUIS, R. J.; POWELL, S. Revisiting ecological dominance in arboreal ants: how dominant usage of nesting resources shapes community assembly. **Oecologia**, v. 194, n. 1–2, p. 151–163, 2020.

CAMPOS, R. I.; CAMACHO, G. P. Ant–plant interactions: the importance of extrafloral nectaries versus hemipteran honeydew on plant defense against herbivores. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 8, n. 6, p. 507–512, 2014.

DAVIDSON, D. W.; COOK, S. C.; SNELLING, R. R.; CHUA, T. H. Explaining the Abundance of Ants in Lowland Tropical Rainforest Canopies. **Science**, v. 300, n. 5621, p. 969–972, 2003.

DEL-CLARO, K.; RICO-GRAY, V.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; ALVES-SILVA, E.; FAGUNDES, R.; LANGE, D.; DÁTTILO, W.; VILELA, A. A.; AGUIRRE, A.; RODRIGUEZ-MORALES, D. 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.

DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. **Plant-Animal Interactions**. Cham: Springer International Publishing, 2021a.

DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. An Evolutionary Perspective on Plant-Animal Interactions. In: DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. (Ed.). **Plant-Animal Interactions**. Cham: Springer International Publishing, 2021b. p. 2–13.

FAGUNDES, R.; DÁTTILO, W.; RIBEIRO, S. P.; RICO-GRAY, V.; DEL-CLARO, K. Food source availability and interspecific dominance as structural mechanisms of ant-plant-hemipteran multitrophic networks. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 10, n. 3, p. 207–220, 2016.

FAGUNDES, R.; DÁTTILO, W.; RIBEIRO, S. P.; RICO-GRAY, V.; JORDANO, P.; DEL-CLARO, K. 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.

GIBB, H.; HOCHULI, D. F. Removal Experiment Reveals Limited Effects of a Behaviorally Dominant Species on Ant Assemblages. **Ecology**, v. 85, n. 3, p. 648–657, 2004.

JANZEN, D. H. Coevolution of Mutualism Between Ants and Acacias in Central America. **Society for the Study of Evolution**, v. 20, n. 3, p. 249–275, 1966.

KAMINSKI, L. A.; FREITAS, A. V. L.; OLIVEIRA, P. S. Interaction between mutualisms: Ant-tended butterflies exploit enemy-free space provided by ant-treehopper associations. **American Naturalist**, v. 176, n. 3, p. 322–334, 2010.

KANT, M. R.; JONCKHEERE, W.; KNEGT, B.; LEMOS, F.; LIU, J.; SCHIMMEL, B. C. J.; VILLARROEL, C. A.; ATAIDE, L. M. S.; DERMAUW, W.; GLAS, J. J.; EGAS, M.; JANSSEN, A.; VAN LEEUWEN, T.; SCHUURINK, R. C.; SABELIS, M. W.; ALBA, J. M. Mechanisms and ecological consequences of plant defence induction and suppression in herbivore communities. **Annals of Botany**, v. 115, n. 7, p. 1015–1051, 2015.

KOPTUR, S. Nectar as fuel for plant protectors. In: WACKERS, F. L.; van RIJN, P. C. J.; BRUIN, J. (Ed.). **Plant-Provided Food and Herbivore–Carnivore Interactions**. Cambridge University Press, 2005. p. 75–108.

LABANDEIRA, C. C. Early history of arthropod and vascular plant associations. **Annual Review of Earth and Planetary Sciences**, v. 26, p. 329–377, 1998.

LABANDEIRA, C. C.; SEPKOSKI, J. J. Insect diversity in the fossil record. **Science**, v. 261, n. 5119, p. 310–315, 1993.

LACH, L.; PARR, C. L.; ABBOTT, K. L. **Ant Ecology**. Oxford: Oxford University Press, 2010.

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.

LIMA, L. D.; TRIGO, J. R.; KAMINSKI, L. A. Chemical convergence between a guild of

- facultative myrmecophilous caterpillars and host plants. **Ecological Entomology**, p. 1–10, 2020.
- MARQUIS, R. J.; RICKLEFS, R. E.; ABDALA-ROBERTS, L. Testing the low latitude/high defense hypothesis for broad-leaved tree species. **Oecologia**, v. 169, n. 3, p. 811–820, 2012.
- MOURA, R. F.; COLBERG, E.; ALVES-SILVA, E.; MENDES-SILVA, I.; FAGUNDES, R.; STEFANI, V.; DEL-CLARO, K. Biotic Defenses Against Herbivory. In: DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. (Ed.). **Plant-Animal Interactions**. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 95–105.
- NAHAS, L.; GONZAGA, M. O.; DEL-CLARO, K. Wandering and web spiders feeding on the nectar from extrafloral nectaries in neotropical savanna. **Journal of Zoology**, p. 1–8, 2016.
- PACELHE, F. T.; COSTA, F. V.; NEVES, F. S.; BRONSTEIN, J.; MELLO, M. A. R. Nectar quality affects ant aggressiveness and biotic defense provided to plants. **Biotropica**, v. 51, n. 2, p. 196–204, 2019. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/btp.12625>>.
- PEARSE, I. S.; LOPRESTI, E.; SCHAEFFER, R. N.; WETZEL, W. C.; MOONEY, K. A.; ALI, J. G.; ODE, P. J.; EUBANKS, M. D.; BRONSTEIN, J. L.; WEBER, M. G. Generalising indirect defence and resistance of plants. **Ecology Letters**, v. 23, n. 7, p. 1137–1152, 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ele.13512>>.
- RIBEIRO, L. F.; SOLAR, R. R. C.; SOBRINHO, T. G.; MUSCARDI, D. C.; SCHOEREDER, J. H.; ANDERSEN, A. N. Different trophic groups of arboreal ants show differential responses to resource supplementation in a neotropical savanna. **Oecologia**, v. 190, n. 2, p. 433–443, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00442-019-04414-z>>.
- RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P. S. **The Ecology and Evolution of Ant-Plant Interactions**. Chicago: University of Chicago Press, 2007.
- ROSUMEK, F. B.; SILVEIRA, F. A. O.; NEVES, F. S.; BARBOSA, N. P. U.; DINIZ, L.; OKI, Y.; PEZZINI, F.; FERNANDES, G. W.; CORNELISSEN, T. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. **Oecologia**, v. 160, n. 3, p. 537–549, 2009.
- SALAZAR, D.; MARQUIS, R. J. Herbivore pressure increases toward the equator. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 31, p. 12616–12620, 2012.
- TORRES-HERNÁNDEZ, L.; RICO-GRAY, V.; CASTILLO-GUEVARA, C.; VERGARA, J. A. Effect of nectar-foraging ants and wasps on the reproductive fitness of *Turnera ulmifolia* (Turneraceae) in a coastal sand dune in Mexico. **Acta zoológica mexicana**, n. 81, p. 13–21, 2000.
- TRAGER, M. D.; BHOTIKA, S.; HOSTETLER, J. A.; ANDRADE, G. V.; RODRIGUEZ-CABAL, M. A.; KEON, C. S. M.; OSENBURG, C. W.; BOLKER, B. M. Benefits for plants in ant-plant protective mutualisms: A meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 5, n. 12, 2010.

VILELA, A. A.; DEL-CLARO, K. Effects of different ant species on the attendance of neighbouring hemipteran colonies and the outcomes for the host plant. **Journal of Natural History**, v. 52, n. 7–8, p. 415–428, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/00222933.2018.1432774>>.

WAY M.J. Mutualism between ants and honeydew producing homoptera. **Annual review of entomology**, n. 8, p. 307–344, 1963.

Capítulo 1

**Impactos espaço-temporais de diferentes estratégias de dominância de formigas na
interação formiga-hemíptero**

Impactos espaço-temporais de diferentes estratégias de dominância de formigas na interação formiga-hemíptero

Resumo

As assembleias de formigas que forrageiam por alimento em plantas são estruturadas de acordo com diferentes aspectos comportamentais impostos na maioria das vezes por espécies dominantes, tais como agressividade, recrutamento e capacidade de forrageio, os quais podem ocorrer em conjunto ou isoladamente. Esses comportamentos resultam em uma hierarquia de dominância onde os aspectos intrínsecos dessas formigas dominantes podem ditar os resultados da interação entre a formiga e o provedor de recurso. O presente estudo avaliou o impacto do exsudato açucarado do hemíptero Membracidae, *Enchenopa brasiliensis* (i.e., *honeydew*) na hierarquia de dominância de formigas, e como diferentes estratégias de dominância podem influenciar nos resultados da interação formiga-hemíptero. Através da avaliação da hierarquia de dominância antes e após a exclusão da formiga dominante e através da avaliação dos aspectos de sobrevivência das agregações de hemípteros em plantas (*Solanum lycocarpum*; Solanaceae) dominadas por formigas agressivas que nidificam no solo (i.e., *Camponotus crassus*), e não agressivas que nidificam na planta (i.e., *Cephalotes pusillus*) nossos resultados mostraram que (i) diferentes estratégias de dominância conduzem a diferentes assembleias de formigas na planta; (ii) na ausência da dominante primária, espécies mais agressivas assumem o posto de dominante nas plantas; (iii) com o passar do tempo, as assembleias de formigas se tornaram similares, por compartilharem a mesma formiga dominante; (iv) as mudanças na hierarquia de dominância entre formigas afetaram o desenvolvimento e a sobrevivência das agregações de membracídeos, e (v) o comportamento agressivo e o forrageio intenso representaram os dois principais comportamentos responsáveis pelos efeitos positivos sobre a sobrevivência das agregações de membracídeos.

Esses resultados mostram como a identidade das formigas e os padrões comportamentais expressados pelas espécies dominantes podem influenciar na estrutura das assembleias de formigas e na sobrevivência dos membracídeos.

Palavras-chave: Hierarquia de dominância, Assembleia de formigas, *Camponotus crassus*, *Cephalotes pusillus*, Comportamento agressivo.

Abstract

Ant assemblages that forage for plant-based resources are usually structured according to different behavioral aspects imposed most often by dominant species, such as aggressiveness, recruitment and foraging capacity, which can occur together or in isolation. These behaviors result in a dominance hierarchy where the intrinsic aspects of these dominant ants can dictate the result of the interaction between the ant and the resource provider. The present study evaluated the impact of sugary exudate (i.e., honeydew) of *Enchenopa brasiliensis* (Hemiptera: Membracidae) on the ant dominance hierarchy, and how different dominance strategies can influence the result of the ant-hemipteran interaction. Through the evaluation of the dominance hierarchy before and after the dominant ant exclusion and through the evaluation of the survival aspects of hemipteran aggregations on plants (*Solanum lycocarpum*; Solanaceae) dominated by aggressive ants that nest in the ground (i.e., *Camponotus crassus*), and non-aggressive ants that nest in the plant (i.e., *Cephalotes pusillus*), our results showed that (i) different dominance strategies lead to different ant assemblages on the plant; (ii) in the absence of the primary dominant ant, more aggressive species assume the dominant position in plants; (iii) over time, ant assemblages became similar, as they share the same dominant ant; (iv) changes in the dominance hierarchy among ants affected the development and survival of membracids aggregations, and (v)

aggressive behavior and intense foraging represented the two main behavior responsible for the positive effects on the survival of membracids aggregations. These results show how the identity of ants and the behavioral patterns expressed by the dominant species can influence the structure of ant assemblages and the survival of membracids, ultimately influencing the ant-plant-hemipteran outcomes.

Keywords: Dominance hierarchy, Ant assemblages, *Camponotus crassus*, *Cephalotes pusillus*, Aggressive behavior.

1. Introdução

A estrutura das comunidades de formigas são amplamente variáveis no tempo e no espaço (DEL-CLARO, 2004; LANGE; DEL-CLARO, 2014), sendo a competição uma das principais interações responsáveis por moldar a estrutura dessas comunidades (SAVOLAINEN; VEPSALAINEN, 1988). Devido a maioria das espécies de formigas possuírem hábito alimentar onívoro e um amplo nicho de nidificação (LACH; PARR; ABBOTT, 2010), algumas espécies apresentam forte sobreposição de hábitos alimentares e estão sujeitas a competição interespecífica por recursos (RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; LACH; PARR; ABBOTT, 2010; VILELA; DEL-CLARO, 2018). Nessa perspectiva, algumas espécies de formigas podem utilizar comportamentos agonísticos e/ou territoriais para estabelecerem domínio sobre determinados recursos. Essa monopolização resulta em padrões de dominância dentro das assembleias de formigas, onde determinadas espécies acabam por sobrepujar as demais formigas em função de suas características comportamentais (SAVOLAINEN; VEPSALAINEN, 1988; ARNAN; GAUCHEREL; ANDERSEN, 2011). Assim, a estrutura das assembleias de formigas está alinhada às relações de exclusão e/ou coexistência entre as diferentes espécies, levando à formação de hierarquias de dominância (SAVOLAINEN; VEPSALAINEN, 1988; ANDERSEN; PATEL, 1994; BLÜTHGEN et al., 2000).

Essas hierarquias de dominância são estabelecidas através de comportamentos agressivos, territoriais, sorrateiros e/ou de submissão (SAVOLAINEN; VEPSALAINEN, 1988; ARNAN; GAUCHEREL; ANDERSEN, 2011). De acordo com a teoria de mosaico de formigas, espécies dominante são mutuamente excludentes quanto aos seus territórios (LESTON, 1973). Por geralmente serem agressivas e territoriais, essas formigas coexistem apenas com espécies submissas e/ou oportunistas (ROOM, 1971; LESTON, 1973, 1978; MAJER, 1976;

SAVOLAINEN; VEPSALAINEN, 1988; ARNAN; GAUCHEREL; ANDERSEN, 2011). Uma espécie pode se tornar dominante tanto por agressividade quanto por sítio de nidificação e/ou abundância numérica (FONSECA, 1993; DEJEAN et al., 2007, 2010; CAMAROTA et al., 2020). Essa dominância está sujeita a diferentes níveis de intensidade a depender dos hábitos alimentares, organização social, distância dos ninhos, disponibilidades e qualidade dos recursos, hábito de forrageio e capacidade de recrutamento (SAVOLAINEN; VEPSALAINEN, 1988; RIBAS; SCHOEREDER, 2002; BLÜTHGEN; STORK, 2007; DEJEAN et al., 2007).

Alguns dos recursos presentes sobre as plantas que podem mediar a estrutura das hierarquias de dominância em formigas são o néctar extrafloral e as secreções açucaradas de hemípteros, *honeydew* (BLÜTHGEN et al., 2000; FAGUNDES et al., 2016). Segundo Blüthgen et al. (2000) as formigas que se associam aos hemípteros produtores de *honeydew* são comumente formigas dominantes e territoriais. Nessas associações, as formigas protegem esses hemípteros e monopolizam as plantas em que eles ocorrem (BLÜTHGEN et al., 2000; CAMPOS; CAMACHO, 2014). Dessa forma, as formigas acabam promovendo a sobrevivência desses hemípteros e também moldando a composição das assembleias de formigas nas plantas em que eles ocorrem (BLÜTHGEN et al., 2000; CAMPOS; CAMACHO, 2014). Todavia, embora exista um certo consenso sobre as formigas protegerem esses hemípteros (MOREIRA; DEL-CLARO, 2005), o efeito positivo sobre a abundância e sobrevivência desses insetos tende a depender da espécie (FAGUNDES et al., 2016; VILELA et al., 2018; DEVEGILI et al., 2020) e potencialmente da estratégia de dominância da formiga associada. Entretanto, a extensão pela qual essas estratégias de dominância podem influenciar nos resultados das interações formigas-hemípteros é desconhecida.

Partindo das premissas de que os hemípteros estão associados a espécies de formigas dominantes (BLÜTHGEN et al., 2000; CAMPOS; CAMACHO, 2014), e que a agressividade representa um dos principais fatores responsáveis por moldar a estrutura das assembleias de formigas (ANDERSEN, 1992; GIBB; HOCHULI, 2004), o presente estudo avaliou os impactos espaço-temporais de duas diferentes estratégias de dominância de formigas (alta agressividade e nidificação no solo, e baixa agressividade e nidificação na planta) mediadas por *honeydew* na interação formiga-planta-hemíptero. Para isso, foram elaboradas as seguintes questões: (i) existe diferença na composição das assembleias de formigas mediadas por *honeydew* onde predominam espécies de formigas com distintas estratégias de dominância? (ii) Após exclusão da colônia da formiga dominante, serão formigas mais agressivas que nidificam no solo ou formigas menos agressivas que nidificam nas plantas que assumirão o topo da hierarquia? Quais os impactos após a exclusão das colônias das formigas dominantes (iii) na estrutura das assembleias de formigas e (iv) na sobrevivência dos membracídeos envolvidos nessas associações? (v) Caso haja variação na sobrevivência dos membracídeos, quais comportamentos das formigas estão ditando essas mudanças? A partir dessas questões, foram postuladas as seguintes hipóteses: (H1) a composição das assembleias de formigas variam conforme o tipo de domínio estabelecido pelas espécies dominantes; (H2) formigas mais agressivas tendem a assumir o posto de dominante na exclusão da dominante primária; (H3) em cenários de exclusão da espécie dominante, só haverá mudanças na composição das assembleias de formigas caso exista diferença entre as estratégias de dominância apresentadas pela dominante excluída e a nova dominante; (H4) espécies mais agressivas possuem um efeito maior e positivo sobre a sobrevivência das agregações de membracídeos; e, assumindo que H4 seja verdadeira, (H5) a agressividade e o potencial de

forrageio são os principais comportamentos promotores da sobrevivência das populações de membracídeos entre espécies de formigas dominantes.

Para responder essas questões, foi utilizada uma planta abundante no Cerrado, *Solanum lycocarpum* St. Hill (Solanaceae), na qual se observa frequentemente a presença de duas formigas dominantes e diurnas com clara variação comportamental, *Camponotus crassus* Mayr, 1862 que é uma formiga extremamente agressiva que nidifica no solo (LANGE et al., 2019; CALIXTO et al., 2021c); e *Cephalotes pusillus* (Klug, 1824) que é uma formiga pouco agressiva, mas que pode dominar plantas devido ao sítio de nidificação ou abundância de indivíduos (POWELL, 2008). Além disso, a presença dessas formigas nas plantas é mediada pela presença do membracídeo *Enchenopa brasiliensis* Strümpel & Strümpel, 2007 (Hemiptera: Membracidae). Esse sistema se mostra vantajoso para se avaliar os impactos do nível de agressividade de formigas dominantes na assembleia de formigas diurnas que forrageia na planta bem como na sobrevivência das agregações de membracídeos.

Figura 1. Espécies utilizadas no presente estudo: (a) *Solanum lycocarpum* (Solanaceae; ~ 2m de altura), (b) *Cephalotes pusillus* (Myrmicinae; ~0,6 cm) forrageando na região reprodutiva próximo aos membracídeos, (c) *Camponotus crassus* (Formicidae; ~0,7 cm) atendendo ninfas de membracídeos; e (d) adulto (~0,9 cm) e (e) ninfas (~0,6 cm) do membracídeo *Enchenopa brasiliensis* se alimentando da planta hospedeira.

2. Materiais e Métodos

2.1 Área de estudo

Esse estudo foi realizado em uma área de transição de cerrado sentido restrito para campo sujo na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU), Uberlândia, Brasil (48°17'27.0'' W; 18°58'30.6'' S). A vegetação dessa região é composta por plantas herbáceas e algumas plantas arbustivas bem espaçadas entre si (DEL-CLARO et al., 2019). A região é caracterizada por apresentar invernos secos e verões chuvosos, precipitação e temperatura anual variando em torno de 1.550 mm e 22°C, e duas estações bem definidas, uma chuvosa de outubro a março e uma seca de abril a setembro (ALVARES et al., 2013; NOVAES et al., 2020; CALIXTO et al., 2021b).

2.2 Espécies de estudo

A espécie *S. lycocarpum* é uma planta característica de área aberta de Cerrado com perturbações ambientais, sendo encontrada na forma de arbusto lenhoso, podendo atingir de 1 a 3 m de altura (Figura 1a). Essa espécie possui troncos ocos, floração contínua, fruto do tipo baga, ausência de nectários extraflorais e é constantemente infestada pelo hemíptero sugador de seiva *E. brasiliensis* (Figura 1d-e). Em virtude da presença desse membracídeo produtor de *honeydew*, essa planta é comumente visitada por diferentes espécies de formigas, como *C. pusillus* (Figura 1b) e *C. crassus* (Figura 1c), espécies diurnas características do Cerrado e comuns na localidade do estudo (LANGE; DEL-CLARO, 2014; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017; PIRES et al., 2017; DEL-CLARO et al., 2019; LANGE et al., 2019; CALIXTO et al., 2021c; CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2021). A espécie *C. crassus* nidifica no solo, muitas vezes construindo

vários ninhos satélites, sendo uma das formigas mais frequentes e abundantes em diferentes espécies de plantas, comumente classificada como uma espécie dominante em virtude da sua capacidade de monopolizar as fontes de recursos e inibir a presença de outras formigas (FAGUNDES et al., 2016, 2017; ANJOS et al., 2017; LANGE et al., 2019). Por outro lado, *C. pusillus* são formigas arborícolas, que nidificam em troncos ocos de árvores e que também representam uma espécie bastante comum em diversas espécies de plantas (FAGUNDES et al., 2016; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017; PIRES et al., 2017). No entanto, *C. pusillus* apresenta comportamento difuso em meio as interações ecológicas, onde existem registros de comportamentos agressivos (POWELL, 2008; FAGUNDES et al., 2017), dominantes (CAMAROTA et al., 2020), submissos (Calixto et al. *em revisão*) e de parasitismo (SENDOYA; FREITAS; OLIVEIRA, 2009; BYK; DEL-CLARO, 2010; LANGE; DEL-CLARO, 2014). Em virtude da abundância numérica e capacidade de monopolizar arbustos de *S. lycocarpum*, *C. crassus* e *C. pusillus* foram classificadas como espécies dominantes nesse sistema. Contudo, ambas as espécies diferem quanto ao tipo de domínio estabelecido nas plantas, visto que *C. crassus* é mais agressiva e nidifica no solo e *C. pusillus* é menos agressiva e nidifica nas plantas. Além disso, essas espécies não coexistiam em abundância em um mesmo indivíduo de *S. lycocarpum* com agregações de membracídeos presentes, diferentemente do que é visto em outros estudos com plantas portadoras de nectários extraflorais (Calixto et al. *em revisão*).

2.3 Estrutura da assembleia de formigas diurnas e sobrevivência de Enchenopa brasiliensis

Para avaliar a estrutura da comunidade de formigas diurnas em plantas onde predominam formigas com diferentes estratégias de dominância, foram marcados 20 indivíduos adultos de *S.*

lyocarpum com estado fenológico semelhante (1-2 metros de altura, 50% de folhas jovens e 50% de folhas adultas) e distância mínima de 15 metros uns dos outros. Essa distância foi determinada a fim de evitar a marcação de clones das plantas. Todos os indivíduos de plantas apresentavam agregados de *E. brasiliensis*. A partir dos 20 indivíduos selecionados, 10 eram dominados por *C. crassus* (tratamento Camponotus), e 10 por *C. pusillus* (tratamento Cephalotes). Para verificação dessa dominância, foram utilizados os seguintes fatores: abundância na planta, sítio de nidificação ou territorialidade (patrulhamento de todas as partes da planta pelos indivíduos da potencial formiga dominante), e/ou comportamentos agressivos. Para isso, anterior a qualquer manipulação experimental, foram realizadas observações de 30 minutos por planta identificando e contabilizando as formigas presentes, bem como avaliando os comportamentos interespecíficos. As observações foram feitas de 08:00 a 12:00h, representando o horário de maior atividade de ambas as espécies (LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017; LANGE et al., 2019; CALIXTO et al., 2021c).

Para avaliar se espécies dominantes agressivas que nidificam no solo assumem o controle de assembleias dominadas por espécies menos agressivas que nidificam na planta ou por espécies mais agressivas que nidificam no solo (quando as outras não estão presentes), os ninhos e os indivíduos das espécies dominantes foram excluídos das plantas logo após as observações para verificação da dominância, na primeira semana. A exclusão dos ninhos ocorreu da seguinte forma: para *C. pusillus*, os ramos em que os ninhos estavam presentes foram arrancados e depositados a 200 m de distância das plantas mãe e todos os indivíduos de todas as formigas presentes na planta foram removidos manualmente. Para *C. crassus*, os ninhos (de solo) foram escavados e transferidos para 200 m de distância da sua localização original. Anterior à escavação dos ninhos de *C. crassus*, indivíduos dessa espécie que deixavam a planta e os próprios

ninhos foram acompanhados para verificação de ninhos satélites. Para garantir que a formiga dominante não fosse da mesma colônia, foi checado se a rainha e/ou câmaras com imaturos (ovos, larvas e pupas) também foram removidas durante a exclusão. Geralmente câmaras com imaturos nos ninhos estão associadas com a presença da rainha (LANGE et al., 2019).

As plantas foram observadas semanalmente durante três semanas consecutivas entre outubro e novembro de 2017, começando exatamente uma semana após a exclusão das dominantes. Em cada avaliação, sessões de 30 minutos de observações foram feitas identificando e quantificando as espécies de formigas presentes em cada planta. Durante essas observações, também foram avaliados o número total de ovos, ninfas e adultos de *E. brasiliensis* na planta.

2.4 Observações comportamentais

Para avaliar se e quais comportamentos de *C. crassus* e *C. pusillus* influenciam na sobrevivência dos membracídeos, outras 20 plantas em que essas espécies de formigas eram dominantes foram selecionadas (10 plantas por espécie de formiga). Nessas plantas, foram observados os comportamentos apresentados por essas duas espécies em relação aos membracídeos e a presença de outros insetos. As observações foram feitas utilizando do método do animal focal (ALTMANN, 1974; DEL-CLARO, 2010), através do qual foi registrada a frequência em que as formigas atendiam os membracídeos em seus diferentes estágios de desenvolvimento (ovos, ninfas e adultos), a quantidade de interações agonísticas (predação de insetos, embate agressivos com outras formigas, afugentar outros insetos e/ou formigas) e a quantidade de vezes em que *C. crassus* e *C. pusillus* transitavam entre as agregações de membracídeos presentes em diferentes regiões das plantas. As observações ocorreram de 8:00 e

12:00h e tiveram um total de 10 horas para cada uma das espécies de formiga, sendo que cada sessão teve duração de 30 minutos.

2.5 Análise de dados

Para avaliar se a composição das assembleias de formigas varia conforme o tipo de domínio estabelecido pelas espécies dominantes (H1), foi realizado escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) e Análise de similaridade (ANOSIM) com distância Euclidiana e 999 permutações. Foi comparada a composição da assembleia de formigas entre as plantas dominadas por *C. crassus* e *C. pusillus* antes da exclusão da espécie dominante.

Para avaliar se houve alteração da composição de formigas caso a estratégia de dominância fosse diferente da espécie anterior (H3), também foi realizado NMDS e ANOSIM. Foi comparada a composição da assembleia de formigas nas plantas dominadas por *C. crassus* e *C. pusillus* após a exclusão dessas espécies. Caso houvesse diferença significativa nessa composição, múltiplos testes de ANOSIM foram empregados para avaliação par a par. Para testar se ao longo do tempo a composição da assembleia de formigas seria a mesma caso as novas hierarquias fossem dominadas por formigas com a mesma estratégia de dominância, também foi realizado NMDS seguido de ANOSIM. Nesse caso, foi feita uma comparação entre a última avaliação da assembleia de formigas (censo da quarta semana) entre as plantas dos dois grupos tratamentos (*Camponotus* e *Cephalotes*).

Para verificar se espécies mais agressivas possuem um efeito positivo sobre a sobrevivência dos membracídeos (H4), foram utilizados Modelos Lineares Generalizados Mistos (GLMMs), ajustando a número de ovos, ninfas, adultos e o total de indivíduos das agregações de membracídeos como variáveis repostas, e a interação entre plantas tratamento (plantas com *C.*

crassus e plantas com *C. pusillus*) e os censos (observações semanais) como variável preditoras. Censos também foram ajustados como efeito aleatório controlando dependência temporal dos dados. Os modelos foram ajustados com distribuição de Poisson ou binomial negativa, caso houvesse superdispersão dos dados.

Por fim, para avaliar se a agressividade e o potencial de forrageio são os principais comportamentos promotores da sobrevivência das populações de membracídeos entre espécies de formigas dominantes (H5), foi realizado GLM ajustando os comportamentos avaliados como variáveis resposta e o grupo de plantas (*Camponotus* ou *Cephalotes*) como variável preditora. Os modelos foram ajustados com distribuição de Poisson ou binomial negativa, caso houvesse superdispersão dos dados.

Todas as análises foram realizadas utilizando o software RStudio versão 4.0.1 (R CORE TEAM, 2020). NMDS e ANOSIM foram rodados usando o pacote “vegan” (OKSANEN et al., 2019). GLMM e GLM foram conduzidos com os pacotes “glmmTMB” (BROOKS et al., 2017) e “stats”, respectivamente. Significância dos modelos foram analisados com teste de Wald (GLMM) e Likelihood Ratio (GLM) usando o pacote “car” (FOX; WEISBERG, 2011).

3. Resultados

3.1 Estrutura da comunidade de formigas

Ao longo do estudo um total de nove espécies de formigas distribuídas em quatro subfamílias foram registradas nos indivíduos de *S. lycocarpum* fazendo uso do *honeydew* de *E. brasiliensis* (Tabela 1). Anterior à exclusão, a espécie *C. crassus* correspondeu a 94,5% de todas as formigas presentes nas plantas no tratamento *Camponotus*, enquanto a espécie *C. pusillus* representou 82,72% de todas as formigas do tratamento *Cephalotes*. Dentre as espécies de

formigas com ocorrência secundária nas plantas dominadas por *C. crassus* ou *C. pusillus*, estão *C. blandus*, *Camponotus sp.*, *Crematogaster sp.*, *Ectatomma brunneum*, *Pseudomyrmex gracilis*, *Ectatomma tuberculatum*, *C. crassus* no tratamento Cephalotes ou *C. pusillus* no tratamento *Camponotus* (Tabela1).

Tabela 1. Abundância total de formigas ao longo do tempo em *Solanum lycocarpum* antes (C1) e após (C2-C4) a exclusão das colônias das espécies dominantes, *Camponotus crassus* e *Cephalotes pusillus*. Os dados presentes nas colunas (C1) representam dados antes da exclusão das colônias dominantes, enquanto que os dados presentes nas colunas (C2, C3 e C4) representam dados após a exclusão das colônias dominantes. Cada censo (C1-C4) apresenta uma semana de diferença. Valores representam a abundância absoluta e relativa (%).

Espécies de formiga	<i>Camponotus crassus</i>				<i>Cephalotes pusillus</i>			
	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
<i>Camponotus blandus</i> (Smith, 1858)	0	2 (0,4)	18 (3,4)	36 (7,5)	0	0	0	0
<i>Camponotus crassus</i> Mayr, 1862	635 (94,5)	403 (78,7)	393 (74)	295 (61,2)	67 (12,8)	77 (25,4)	127 (38,4)	215 (52,3)
<i>Camponotus leydigi</i> Foral, 1886	2 (0,3)	0	1 (0,2)	0	20 (3,83)	4 (1,32)	1 (0,30)	3 (0,73)
<i>Camponotus sp.</i>	0	1 (0,2)	10 (1,9)	17 (3,5)	0	30 (9,9)	15 (4,5)	25 (6,1)
<i>Cephalotes pusillus</i> (Klug, 1824)	7 (1)	15 (2,9)	8 (1,5)	5 (1)	431 (82,7)	167 (55,1)	165 (50)	132 (32,1)
<i>Crematogaster sp.</i>	23 (3,5)	86 (16,8)	94 (17,7)	128 (26,5)	0	6 (1,9)	18 (5,4)	31 (7,5)
<i>Ectatomma brunneum</i> F. Smith, (1858)	0	0	0	0	0	17 (5,6)	3 (0,9)	5 (1,2)
<i>Ectatomma tuberculatum</i> (Oliver, 1792)	0	0	0	0	1 (0,2)	0	0	0
<i>Pseudomyrmex gracilis</i> (Fabricius, 1804)	5 (0,7)	5 (1)	7 (1,3)	1 (0,2)	2 (0,4)	2 (0,6)	1 (0,3)	0

Antes da exclusão da espécie dominante, a composição das assembleias de formigas dominadas por *C. crassus* ou *C. pusillus* foram significativamente diferentes entre si (ANOSIM= 0,350; $p= 0,001$; Figura 2a). Nas plantas dominadas por *C. crassus*, foram registradas as espécies *Crematogaster sp.*, *C. pusillus*, *C. leydigi* e *Pseudomyrmex gracilis*. Nas plantas dominadas por *C. pusillus*, foram registradas as espécies *C. crassus*, *C. leydigi*, *Pseudomyrmex gracilis* e *Ectatomma brunneum* (Tabela1). Nas plantas dominadas por *C. crassus*, a espécie *Crematogaster sp.* foi a formiga não dominante mais abundante. Nas plantas dominadas por *C. pusillus*, as espécies *C. crassus* e *C. leydigi* foram as espécies não dominantes mais abundantes (Tabela1).

Figura 2. (a) Variação da composição das assembleias de formigas em *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) na presença das colônias das espécies dominantes, *Camponotus crassus* ou *Cephalotes pusillus*. CC representa as plantas dominadas por *C. crassus*. CP representa as plantas dominadas por *C. pusillus*. (b) Variação da composição das assembleias de formigas em *S. lycocarpum* três semanas após a exclusão das colônias das espécies dominantes, *C. crassus* ou *C. pusillus*. CC representa as plantas anteriormente dominadas por *C. crassus*. CP representa as plantas anteriormente dominadas por *C. pusillus*. ANOSIM com 999 permutações e distância Euclidiana. Linhas representam elipses de covariância com 95% do intervalo de confiança.

Com a exclusão das dominantes primárias, espécies agressivas que nidificavam no solo assumiram o posto de dominante nas plantas. No tratamento *Camponotus*, indivíduos de *C. crassus* de outras colônias começaram a forragear nas plantas após a exclusão da colônia dominante, o que fez com que *C. crassus* fosse responsável por mais de 60% das formigas presentes nas plantas nos registros após a exclusão. Assim, a espécie continuou a representar a

formiga mais abundante e presente nessas plantas, assumindo o papel de dominante (Tabela1). Após exclusão da colônia dominante no tratamento Cephalotes, espécies como *C. crassus*, *Camponotus sp.* e *Ectatomma brunneum* se tornaram mais abundantes nas plantas, e estiveram presentes em todos os registros após a exclusão. No entanto, *C. crassus* foi amplamente a formiga mais abundante assumindo o posto de dominante (Tabela1), representando mais de 50% das formigas registradas nessas plantas na última semana de coleta.

Após a exclusão das colônias dominantes nas plantas tratamento Camponotus, foi observado uma maior frequência de formigas que antes da exclusão eram muito pouco abundantes (Tabela1), mas não houve mudança na estrutura hierárquica da assembleia (ANOSIM= -0,01; $p= 0,526$; Figura 3a). Nessas plantas, espécies como *Camponotus blandus* e *Crematogaster sp.* aumentaram a sua abundância e se mostraram presentes nas três semanas subsequentes à exclusão de *C. crassus*. Por outro lado, foi observado uma variação significativa (ANOSIM= 0,153; $p<0,001$; Figura 3b) na composição da assembleia de formigas no tratamento Cephalotes (Tabela 2). A nova espécie dominante, *C. crassus*, influenciou significativamente e gradualmente na composição de formigas ao longo do tempo (Tabela 2; Figura 3b).

Visto que as plantas de ambos os tratamentos (Camponotus e Cephalotes) foram dominadas por colônias de *C. crassus* após a exclusão da dominante primária, foi possível testar a hipótese 3 desse estudo. Foi visto que a presença da mesma estratégia de dominância influenciou gradualmente na assembleia de formigas resultando em uma assembleia similar entre os tratamentos no final dos experimentos (ANOSIM= 0,003; $p= 0,4$; Figura 2b).

Figura 3. Variação da composição das assembleias de formigas em *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) antes e depois da exclusão das colônias das espécies dominantes, *Camponotus crassus* (a) ou *Cephalotes pusillus* (b). ANOSIM com 999 permutações e distância Euclidiana. Linhas representam elipses de covariância com 95% do intervalo de confiança. C1 representa observação antes da exclusão da espécie dominante. C2 a C4 representam as subsequentes análises semanais. Letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas das assembleias de formigas entre os censos.

Tabela 2. Comparação da composição de formigas ao longo do tempo em *Solanum lycocarpum* após a exclusão da espécie dominante no tratamento Cephalotes. O Censo 1 representa os dados antes da exclusão da espécie dominante, *Cephalotes pusillus*. Os Censos 2, 3 e 4 representam os dados após a exclusão de *C. pusillus*. Valores da Análise de Similaridade (ANOSIM) e significância (valor de p) estão na parte de cima e de baixo da diagonal, respectivamente.

	Censo 1	Censo 2	Censo 3	Censo 4
Censo 1	—	0,165	0,279	0,314
Censo 2	0,005	—	-0,026	0,143
Censo 3	0,001	0,657	—	0,038
Censo 4	0,001	0,016	0,168	—

3.2 Sobrevivência de *Enchenopa brasiliensis*

Foi observado um impacto significativo da formiga dominante ao longo tempo no número de ovos (Figura 5a), ninfas (Figura 5b), adultos (Figura 5c), e no número total de indivíduos das agregações dos membracídeos (Figura 5d e Tabela 3). Anterior à exclusão, a abundância de todos os estágios de desenvolvimento dos membracídeos foi maior nas plantas dominadas por *C. crassus* que nas plantas dominadas por *C. pusillus* (Figura 5). Após a exclusão das espécies dominantes, houve um aumento significativo no número de indivíduos dos diferentes estágios de desenvolvimento dos membracídeos tanto nas plantas anteriormente dominadas por *C. crassus* (exceto número de adultos) quanto nas plantas anteriormente dominadas por *C. pusillus* (Tabela 3-4, Figura 5). Também foi observado que esse aumento significativo dos indivíduos de membracídeos após as plantas do tratamento Cephalotes serem dominadas por *C. crassus* resultou em um número similar ou maior do que a primeira avaliação do tratamento Camponotus (Tabela 3-4, Figura 5).

Figura 5. Abundância dos diferentes estágios de desenvolvimento de *Enchenopa brasiliensis* em *Solanum lycocarpum* antes e após a exclusão das espécies dominantes *Camponotus crassus* ou *Cephalotes pusillus*. (a) Número de massas de ovos; (b) abundância de ninfas; (c) número de adultos; e (d) abundância total de membracídeos. Gráficos estão representados por boxplots, dados brutos e média (asterisco preto no interior do boxplot). As linhas verticais representam o primeiro e quarto quartis, as caixas representam o segundo e terceiro quartis e as linhas dentro das caixas representam a mediana. Letras diferentes representam diferenças estatística significativa pela estimação das médias marginais. C1 representa observação antes da exclusão da espécie dominante. C2 a C4 representam as subsequentes análises semanais.

Tabela 3. Resultado da variação da sobrevivência das agregações de *Enchenopa brasiliensis* em *Solanum lycocarpum* atendidas por diferentes formigas dominantes, *Camponotus crassus* e *Cephalotes pusillus*.

	Teste de Wald	Graus de liberdade	Valor de p
Ovos			
Tratamento	570,56	1	2,2e-16
Tempo	370,23	3	2,2e-16
Tratamento*Tempo	76,79	3	2,2e-16
Ninfas			
Tratamento	3165,05	1	2,2e-16
Tempo	4231,43	3	2,2e-16
Tratamento*Tempo	117,19	3	2,2e-16
Adultos			
Tratamento	502,119	1	2,2e-16
Tempo	36,592	3	5,613e-08
Tratamento*Tempo	43,378	3	2,045e-09
Total			
Tratamento	4268,86	1	2,2e-16
Tempo	4312,37	3	2,2e-16
Tratamento*Tempo	141,91	3	2,2e-16

Tabela 4. Medidas de variação das agregações de *Enchenopa brasiliensis* em *Solanum lycocarpum* ao longo do tempo para os grupos Camponotus e Cephalotes. C1 representa os dados anterior a exclusão de *Camponotus crassus* ou *Cephalotes pusillus*. C2, C3 e C4 representam os dados referentes ao momento após a exclusão dessas espécies dominantes.

	<i>Camponotus crassus</i>		<i>Cephalotes pusillus</i>	
	Média	SD	Média	SD
Ovos				
C1	60,7	54,55	15,7	18,06
C2	80,1	39,56	34,2	42,83
C3	95,5	75,74	48,5	44,07
C4	108,3	52,80	66,5	46,88
Ninfas				
C1	75,2	96,34	25,1	42,99
C2	179,6	253,13	38,6	65,67
C3	447,3	353,51	147,3	238,94
C4	415,9	341,30	173,3	251,41
Adultos				
C1	39,9	35,78	6,8	11,87
C2	44,7	40,82	18,7	22,96
C3	49,8	54,03	15,2	19,15
C4	47,5	53,87	20,7	18,34
Total				
C1	175,8	167,80	48,6	58,89
C2	304,4	288,17	91,5	124,29
C3	592,6	439,01	211,0	283,61
C4	571,7	405,23	260,5	289,84

3.3 Observações comportamentais

Não houve diferença significativa da frequência com que *C. crassus* e *C. pusillus* atenderam as massas de ovos de *E. brasiliensis* em *S. lycocarpum* ($\chi^2= 6,913$; $df= 1$; $p= 0,404$; Figura 6a). Entretanto, houve uma diferença marginalmente significativa da frequência para as ninfas ($\chi^2= 2,840$; $df= 1$; $p= 0,091$; Figura 6b) e adultos ($\chi^2= 3,077$; $df= 1$; $p= 0,0793$; Figura 6c). *Camponotus crassus* atendeu $39,30 \pm 16,60$ (média $\pm$ desvio padrão) vezes as ninfas e $5,80 \pm 8,85$ vezes os adultos, enquanto *C. pusillus* atendeu $30,80 \pm 11,60$ vezes as ninfas e $0,95 \pm 2,40$ vezes os adultos. Além disso, *C. crassus* foi amplamente mais frequente forrageando nas

diferentes aglomerações de *E. brasiliensis* nas plantas do que *C. pusillus* ($\chi^2 = 6,913$; $df = 1$; $p < 0,01$; Figura 6d). *Camponotus crassus* mudou de aglomerações $3,35 \pm 3,49$ vezes, enquanto *C. pusillus* mudou de aglomerações apenas $1,10 \pm 1,60$ vezes. Por fim, *C. crassus* apresentou uma maior quantidade de interações agressivas do que *C. pusillus* ($\chi^2 = 15,733$; $df = 1$; $p < 0,001$; Figura 6e), apresentando em média 2,9 vezes mais comportamentos agressivos do que *C. pusillus* ($1 \pm 1,16$).

Figura 6. Variação da frequência de atendimento (a) às massas de ovos, (b) ninfas, e (c) adultos, (d) frequência de transições entre diferentes agregações de *Enchenopa brasiliensis* presentes nas plantas; e (e) do número de interações agressivas com outros insetos. Gráficos estão representados por boxplots, dados brutos, média (círculo preto no interior do boxplot).

4. Discussão

Esse estudo avaliou pela primeira vez os impactos espaço-temporais de duas diferentes estratégias de dominância de formigas (alta agressividade e nidificação no solo, e baixa agressividade e nidificação na planta) mediadas por *honeydew* na interação formiga-planta-hemíptero. Foi mostrado que a composição das assembleias de formigas varia conforme o tipo de domínio estabelecido pelas espécies dominantes (H1). Formigas mais agressivas tendem a assumir o posto de dominante na exclusão da dominante primária (H2). Houve uma alteração da composição de formigas com a mudança de estratégia de dominância pelas espécies dominantes ao longo do tempo, e a composição da assembleia de formigas foi a mesma em novas hierarquias dominadas por formigas com a mesma estratégia de dominância (H3). As espécies mais agressivas tiveram um efeito maior e positivo sobre a sobrevivência dos membracídeos (H4). Finalmente, a agressividade e o potencial de forrageio foram os principais comportamentos promotores do crescimento diferencial das populações de membracídeos entre espécies de formigas dominantes (H5). Com esses resultados, todas as hipóteses levantadas foram corroboradas.

Anterior à exclusão das espécies dominantes, tanto as plantas dominadas por *C. crassus* quanto aquelas dominadas por *C. pusillus* apresentavam estruturas hierárquicas com uma série de características bastante consistentes com a teoria de mosaico de formigas, uma vez que *C. crassus* e *C. pusillus* não coexistiam em abundância, eram extremamente numerosas nas plantas em que dominavam, e as espécies subordinadas ou oportunistas ocorreram de forma bastante discreta (ROOM, 1971; LESTON, 1973, 1978; MAJER, 1976; MAJER; DELABIE; SMITH, 1994). Uma espécie pode ser classificada como dominante por apresentar um elevado número de indivíduos, territorialidade, intenso hábito de forrageio, capacidade para defender território e/ou

monopolizar fontes de recursos (LESTON, 1973; SAVOLAINEN; VEPSALAINEN, 1988). Todos esses fatores podem agir de forma isolada e/ou simultânea promovendo hierarquias de dominância. Enquanto *C. crassus* estabelece domínio principalmente através de seu comportamento agressivo e forrageio intenso (LANGE; DEL-CLARO, 2014; FAGUNDES et al., 2017; LANGE et al., 2019), *C. pusillus* estabelece domínio através de abundância numérica e local de nidificação (POWELL, 2008; CAMAROTA et al., 2020). Essas diferentes estratégias de dominância conduziram a diferentes resultados na interação formiga-planta-hemíptero estudada: as assembleias de formigas dominadas por *C. crassus* ou *C. pusillus* foram amplamente diferentes entre si, corroborando a nossa hipótese de que a composição das assembleias de formigas varia conforme o tipo de domínio apresentado pela espécie dominante. Dentre os fatores que podem explicar essa distinção, o fato de *C. crassus* forragear ativamente pela planta e interagir de forma agressiva com outras formigas claramente impactou os níveis de riqueza e abundância de outras formigas na planta (FAGUNDES et al., 2017; LANGE et al., 2019). Por outro lado, o nível de agressividade e intensidade de forrageio apresentado por *C. pusillus* não parece inibir a presença de outras espécies como ocorre nas plantas dominadas por *C. crassus* (POWELL, 2008; CAMAROTA et al., 2020), ou parece permitir a presença de outras espécies. Assim, o comportamento agressivo e a estratégia de forrageio parecem ser os principais responsáveis pelas diferenças na composição e abundância de formigas em plantas dominadas por *C. crassus* e *C. pusillus*.

No Cerrado, diversos estudos têm demonstrado a eficiência de *C. crassus* em encontrar as fontes de recursos, recrutar operárias e estabelecer domínio sobre as outras espécies de formigas em plantas com recursos alimentares (ANJOS et al., 2017; FAGUNDES et al., 2017; LANGE et al., 2019; CALIXTO et al., 2021c). Além do mais, *C. crassus* tem sido caracterizada como uma

espécie agressiva, abundante e uma forrageadora intensa em meio às interações com plantas portadoras de NEFs no Cerrado (NAHAS; GONZAGA; DEL-CLARO, 2012; LANGE; DEL-CLARO, 2014; FAGUNDES et al., 2016, 2017; LANGE et al., 2019; CALIXTO et al., 2021c). Esses comportamentos explicam a alta probabilidade dessa espécie em dominar uma planta com recursos alimentares sem a presença de uma formiga dominante. Portanto, pelo menos para área de estudo, é esperado que espécies agressivas, especialmente *C. crassus*, assumam a posição de dominante em hierarquias desestruturadas ou que não apresentem espécies dominantes, como mostrado nesse estudo, corroborando assim a nossa hipótese de que formigas mais agressivas assumem o posto de dominante na exclusão da dominante primária. Por outro lado, *C. pusillus* tem sido classificada de diferentes maneiras devido à sua variação de comportamento agressivo e hábito de forrageio em diferentes sistemas. Enquanto que para Sendoya et al. (2009) e Byk e Del-Claro (2010) *C. pusillus* se mostrou uma espécie limitada no que diz respeito a comportamento agressivo e de forrageio, Del-Claro et al. (2002), Powell (2008) e Fagundes et al. (2017) mostraram registros de comportamentos agressivos, e de recrutamento e forrageio para essa espécie. Dessa forma, em função dessa ambiguidade comportamental, parece pouco provável que *C. pusillus* se estabeleça como dominante em sistemas com a presença de outras espécies agressivas (DEL-CLARO; SANTOS; JUNIOR, 2002; SENDOYA; FREITAS; OLIVEIRA, 2009; BYK; DEL-CLARO, 2010), como mostrado no presente estudo.

Após a exclusão das espécies dominantes, formigas mais agressivas assumiram o posto de dominante. Essa modificação da espécie dominante, bem como da estratégia de dominância em relação a dominante antes da exclusão, resultou em uma alteração da composição da assembleia de formigas, corroborando a hipótese de que a estratégia de dominância está relacionada com a composição das assembleias. Com o passar do tempo essa modificação conduziu a uma

similaridade das assembleias entre hierarquias dominadas por espécies com a mesma estratégia de dominância, corroborando assim a nossa hipótese de que estratégias de dominância similares resultam em assembleias de formigas semelhantes. Tais aspectos podem estar relacionados com as características que diferem as espécies dominantes, como a agressividade, o hábito de forrageio, o potencial de recrutamento e o local de nidificação (FAGUNDES et al., 2017; LANGE et al., 2019). Estudos que mostram as consequências da exclusão de espécies dominantes dentro das assembleias, mostraram que geralmente espécies subordinadas tendem assumir o protagonismo (ANDERSEN, 1992; ANDERSEN; PATEL, 1994; GIBB; HOCHULI, 2004), possivelmente levando a alterações da composição das assembleias. Nesse contexto, como nas plantas que eram dominadas por *C. crassus* não houve mudança na estratégia de dominância pelas novas espécies dominantes, a composição das assembleias não diferiu ao longo do experimento, diferentemente para plantas com *C. pusillus*, onde houve uma mudança na estratégia de dominância.

Formigas mais agressivas possuíram um efeito maior e positivo sobre a sobrevivência das agregações de membracídeos, onde os comportamentos agressivos e o frequente forrageio em diferentes agregações na mesma planta foram os principais comportamentos promotores do crescimento diferencial dessas agregações. Tais aspectos corroboram as nossas hipóteses de que espécies mais agressivas e forrageadoras mais intensas são mais influentes na sobrevivência dos membracídeos. Ao avaliar a abundância de *E. brasiliensis* entre as espécies dominantes e ao longo do tempo, os resultados mostraram que a sobrevivência das agregações de membracídeos produtores de *honeydew* está claramente associada com a formiga dominante, como visto por Fagundes et al. (2013) e Vilela et al. (2018). Esse resultado é perfeitamente coerente com as observações comportamentais realizadas para *C. crassus* e *C. pusillus*, mostrando que *C. crassus*

apresentou maior frequência de comportamentos agressivos e forrageio entre as agregações de membracídeos presentes nas plantas que *C. pusillus* (FAGUNDES et al., 2017). Tais comportamentos afetam diretamente na sobrevivência dos membracídeos (WAY, 1963; DEL-CLARO; OLIVEIRA, 2000; MOREIRA; DEL-CLARO, 2005; FAGUNDES; RIBEIRO; DEL-CLARO, 2013; DEVEGILI et al., 2021), explicando assim os diferentes níveis de abundância de *E. brasiliensis* a depender da espécie dominante. Por exemplo, Devegili et al. (2020) mostraram como espécies mais e menos agressivas influenciam de diferentes formas sobre a sobrevivência de insetos trofobiontes.

No mutualismo planta-formiga, as hierarquias de dominância são moldadas por diferentes fatores ligados tanto às plantas quanto às formigas. Nesse contexto, com base nos resultados encontrados, pode-se concluir que espécies de formigas que apresentam comportamentos agressivos e forrageio intenso sobre as plantas apresentam maior potencial para atuarem como dominantes dentro das assembleias, e que a depender da estratégia de dominância empregada pelas formigas, a interação formiga-hemíptero tende a impactar diferentemente na sobrevivência das agregações de hemípteros. Embora não tenham sido avaliados os impactos das diferentes assembleias de formigas sobre o valor adaptativo das plantas, os resultados desse estudo representam um importante preditor de que diferentes estratégias de dominância apresentadas pelas formigas podem resultar em diferentes efeitos sobre as plantas.

5. Referência

- ALTMANN, J. Observational Study of Behavior: Sampling Methods. **Behaviour**, v. 49, n. 3, p. 227–267, 1974. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/4533591>>.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; MORAES GONÇALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- ANDERSEN, A. N. Regulation of “Momentary” Diversity by Dominant Species in Exceptionally Rich Ant Communities of the Australian Seasonal Tropics. **The American Naturalist**, v. 140, n. 3, p. 401–420, 1992.
- ANDERSEN, A. N.; PATEL, A. D. Meat ants as dominant members of Australian ant communities: an experimental test of their influence on the foraging success and forager abundance of other species. **Oecologia**, v. 98, n. 1, p. 15–24, 1994.
- ANJOS, D. V.; CASERIO, B.; REZENDE, F. T.; RIBEIRO, S. P.; DEL-CLARO, K.; FAGUNDES, R. 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.
- ARNAN, X.; GAUCHEREL, C.; ANDERSEN, A. N. Dominance and species co-occurrence in highly diverse ant communities: a test of the interstitial hypothesis and discovery of a three-tiered competition cascade. **Oecologia**, v. 166, n. 3, p. 783–794, 2011.
- BLÜTHGEN, N.; VERHAAGH, M.; JAFFÉ, W. G. K.; MORAWETZ, W.; WILHELM, B. How plants shape the ant community in the Amazonian rainforest canopy: The key role of extrafloral nectaries and homopteran honeydew. **Oecologia**, v. 125, n. 2, p. 229–240, 2000.
- BLÜTHGEN, N.; STORK, N. E. Ant mosaics in a tropical rainforest in Australia and elsewhere: A critical review. **Austral Ecology**, v. 32, n. 1, p. 93–104, 2007.
- BROOKS, M. E.; KRISTENSEN, K.; van BENTHEM, K. J.; MAGNUSSON, A.; BERG, C. W.; NIELSEN, A.; SKAUG, H. J.; MACHLER, M.; BOLKER, B. M. glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. **The R Journal**, v. 9, n. 2, p. 378–400, 2017.
- BYK, J.; DEL-CLARO, K. Nectar- and pollen-gathering Cephalotes ants provide no protection against herbivory: A new manipulative experiment to test ant protective capabilities. **Acta Ethologica**, v. 13, n. 1, p. 33–38, 2010.
- CALIXTO, E. S.; NOVAES, L. R.; SANTOS, D. F. B.; LANGE, D.; MOREIRA, X.; DEL-CLARO, K. Climate seasonality drives ant–plant–herbivore interactions via plant phenology in an extrafloral nectary-bearing plant community. **Journal of Ecology**, v. 109, n. 2, p. 639–651, 2021b. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1365-2745.13492>>.

CALIXTO, E. S.; LANGE, D.; MOREIRA, X.; DEL-CLARO, K. Plant species specificity of ant–plant mutualistic interactions: Differential predation of termites by *Camponotus crassus* on five species of extrafloral nectaries plants. **Biotropica**, p. 1–9, 2021c. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/btp.12991>>.

CALIXTO, E. S.; LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Net benefits of a mutualism: Influence of the quality of extrafloral nectar on the colony fitness of a mutualistic ant. **Biotropica**, p. 1–11, 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/btp.12925>>.

CAMAROTA, F.; VASCONCELOS, H. L.; MARQUIS, R. J.; POWELL, S. Revisiting ecological dominance in arboreal ants: how dominant usage of nesting resources shapes community assembly. **Oecologia**, v. 194, n. 1–2, p. 151–163, 2020.

CAMPOS, R. I.; CAMACHO, G. P. Ant–plant interactions: the importance of extrafloral nectaries versus hemipteran honeydew on plant defense against herbivores. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 8, n. 6, p. 507–512, 2014.

DEJEAN, A.; CORBARA, B.; ORIVEL, JÉRÔME.; LEPONCE, M. Rainforest canopy ants: the implications of territoriality and predatory behavior. **Funct. Ecosyst. Communit.**, v. 1, n. 2 , p. 105–120, 2007.

DEJEAN, A.; FISHER, B. L.; CORBARA, B.; RAREVOHITRA, R.; RANDRIANOIVO, R.; RAJEMISON, B.; LEPONCE, M. Spatial distribution of dominant arboreal ants in a Malagasy coastal rainforest: Gaps and presence of an invasive species. **PLoS ONE**, v. 5, n. 2, 2010.

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

DEL-CLARO, K. **Introdução à Ecologia Comportamental: um manual para o estudo do comportamento animal**. Technical Books Editora, 2010.

DEL-CLARO, K.; RODRIGUEZ-MORALES, D.; CALIXTO, E. S.; MARTINS, A. S.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. Ant pollination of *Paepalanthus lundii* (Eriocaulaceae) in Brazilian savanna. **Annals of Botany**, v. 123, n. 7, p. 1159–1165, 2019.

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.

DEL-CLARO, K.; SANTOS, J. C.; JUNIOR, A. D. Etograma da formiga arborícola *Cephalotes pusillus*. **Revista de etologia**, 2002.

DEVEGILI, A. M.; LESCANO, M. N.; GIANOLI, E.; FARJI-BRENER, A. G. Defence variation within a guild of aphid-tending ants explains aphid population growth. **Ecological Entomology**,

2020.

DEVEGILI, A. M.; LESCANO, M. N.; GIANOLI, E.; FARJI-BRENER, A. G. Evidence of indirect biotic resistance: native ants decrease invasive plant fitness by enhancing aphid infestation. **Oecologia**, p. 1–12, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00442-021-04874-2>>.

FAGUNDES, R.; DÁTTILO, W.; RIBEIRO, S. P.; RICO-GRAY, V.; DEL-CLARO, K. Food source availability and interspecific dominance as structural mechanisms of ant-plant-hemipteran multitrophic networks. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 10, n. 3, p. 207–220, 2016.

FAGUNDES, R.; DÁTTILO, W.; RIBEIRO, S. P.; RICO-GRAY, V.; JORDANO, P.; DEL-CLARO, K. 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.

FAGUNDES, R.; RIBEIRO, S. P.; DEL-CLARO, K. Tending-Ants Increase Survivorship and Reproductive Success of *Calloconophora pugionata* Drietch (Hemiptera, Membracidae), a Trophobiont Herbivore of *Myrcia obovata* O.Berg (Myrtales, Myrtaceae). **Sociobiology**, v. 60, n. 1, p. 11–19, 2013.

FONSECA, C. R. Nesting Space Limits Colony Size of the Plant-Ant *Pseudomyrmex concolor*. **Oikos**, v. 67, n. 3, p. 473, 1993.

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

GIBB, H.; HOCHULI, D. F. Removal Experiment Reveals Limited Effects of a Behaviorally Dominant Species on Ant Assemblages. **Ecology**, v. 85, n. 3, p. 648–657, 2004

LACH, L.; PARR, C. L.; ABBOTT, K. L. **Ant Ecology**. Oxford: Oxford University Press, 2010.

LANGE, D.; CALIXTO, E. S.; ROSA, B. B.; SALES, T. A.; DEL-CLARO, K. 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.; 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. 1–10, 2014.

LESTON, D. The Ant Mosaic - Tropical Tree Crops and the Limiting of Pests and Diseases. **Pest Articles and News Summaries**, v. 19, n. 3, p. 311–341, 1973.

- LESTON, D. A Neotropical Ant Mosaic. **Entomological Society of America**, v. 71, n. 4, p. 649–653, 1978.
- MAJER, J. D. The Maintenance of the Ant Mosaic in Ghana Cocoa Farms. **The Journal of Applied Ecology**, v. 13, n. 1, p. 123–144, 1976.
- MAJER, J. D.; DELABIE, J. H. C.; SMITH, M. R. B. Arboreal Ant Community Patterns in Brazilian Cocoa Farms. **Biotropica**, v. 26, n. 1, p. 73–83, 1994.
- MOREIRA, V. S. S.; DEL-CLARO, K. The Outcomes of an Ant-Treehopper Association on *Solanum lycocarpum* St. Hill: Increased Membracid Fecundity and Reduced Damage by Chewing Herbivores. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 6, p. 881–887, 2005.
- 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.
- NOVAES, L. R.; CALIXTO, E. S.; OLIVEIRA, M. L.; ALVES-DE-LIMA, L.; ALMEIDA, O.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. Environmental variables drive phenological events of anemocoric plants and enhance diaspore dispersal potential: A new wind-based approach. **The Science of the total environment**, v. 730, p. 139039, 2020.
- OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; FRIENDLY, M.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MCGLINN, D.; MINCHIN, P. R.; O'HARA, R. B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, M. H. H.; SZOECS, E.; WAGNER, H. **Vegan: community ecology package**. R package version 2.5-6, 2019.
- PIRES, M. S.; CALIXTO, E. S.; OLIVEIRA, D. C.; DEL-CLARO, KLEBER. 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, 2017.
- POWELL, S. Ecological specialization and the evolution of a specialized caste in *Cephalotes* ants. **Functional Ecology**, v. 22, n. 5, p. 902–911, 2008.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria., 2020.
- RIBAS, C. R.; SCHOEREDER, J. H. Are all ant mosaics caused by competition? **Oecologia**, v. 131, n. 4, p. 606–611, 2002.
- RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P. S. **The Ecology and Evolution of Ant-Plant Interactions**. Chicago: University of Chicago Press, 2007.
- ROOM, P. M. The Relative Distributions of Ant Species in Ghana's Cocoa Farms. **Journal of Animal Ecology**, v. 40, n. 3, p. 735–751, 1971.

SAVOLAINEN, R.; VEPSALAINEN, K. A competition hierarchy among boreal ants : impact on resource and community structure partitioning. **Nordic Society Oikos**, v. 51, n. 2, p. 135–155, 1988.

SENDOYA, S. F.; FREITAS, A. V. L.; OLIVEIRA, P. S. Egg-laying butterflies distinguish predaceous ants by sight. **American Naturalist**, v. 174, n. 1, p. 134–140, 2009.

VILELA, A. A.; DEL-CLARO, K. Effects of different ant species on the attendance of neighbouring hemipteran colonies and the outcomes for the host plant. **Journal of Natural History**, v. 52, n. 7–8, p. 415–428, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/00222933.2018.1432774>>.

WAY, M. J. Mutualism Between Ants and Honeydew-Producing Homoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 8, n. 1, p. 307–344, 1963.

Capítulo 2

Alocação diferencial de recursos (Teoria da Defesa Ótima) atua nas interações formigas-plantas-hemípteros trofobiontes, sem resultar em benefício mutualístico

Alocação diferencial de recursos (Teoria da Defesa Ótima) atua nas interações formigas-plantas-hemípteros trofobiontes, sem resultar em benefício mutualístico

Resumo

Plantas promovem associações mutualísticas com formigas protetoras através da presença de diferentes recursos, seja diretamente, como a oferta de néctar extrafloral, ou indiretamente, como através das exsudações de herbívoros trofobiontes (e.g. *honeydew* de hemípteros). A Teoria da Defesa Ótima (TDO) de plantas, postula que partes reprodutivas são mais valiosas e passíveis de serem atacadas do que partes vegetativas; portanto, é esperado que inflorescências sejam mais defendidas do que ramos foliares. Embora, exista um crescente número de estudos avaliando a TDO em sistemas mediados por néctar extrafloral, não está claro se as predições dessa teoria podem ser aplicadas a interações formiga-plantas mediadas indiretamente via *honeydew*. O presente estudo avaliou se as premissas da TDO podem ser aplicadas na defesa biótica de plantas mediada indiretamente pela produção de *honeydew* por hemípteros membracídeos. Assim, em *Solanum lycocarpum* (Solanaceae), uma espécie característica de Cerrado, comumente infestada por *Enchenopa brasiliensis* (Membracidae), foram conduzidos diferentes experimentos (presença x ausência de membracídeos) avaliando a alocação de recursos da planta (concentração de açúcar na seiva) e dos membracídeos (a concentração de açúcar do *honeydew*) em partes reprodutivas e vegetativas. Os resultados mostraram que a concentração de açúcar do *honeydew* e da seiva da planta foram maiores nas regiões reprodutivas. A abundância de formigas não diferiu entre ramos reprodutivos e vegetativos com membracídeos, mas foi estatisticamente maior do que nos ramos sem hemípteros. A herbivoria foi mais intensa em ramos com membracídeos, sendo significativamente maior em ramos reprodutivos. A riqueza e abundância de herbívoros também foi superior nas plantas que hospedavam membracídeos. As formigas foram mais eficientes em

removerem insetos que não possuem potencial para se defenderem. Portanto, conclui-se que apesar da alocação de recursos em *S. lycocarpum* seguir as premissas da TDO, a presença dos membracídeos não beneficiou as plantas hospedeiras através da defesa biótica de plantas. Assim sendo, os custos em hospedar um herbívoro trofobiontes, nesse caso superaram os benefícios.

Palavras-chave: Defesa biótica, Herbivoria, Formigas, Membracídeos, *honeydew*.

Abstract

Plants promote mutualistic associations with protective ants through the presence of different resources, either directly, as extrafloral nectar supply, or indirectly, as through the exudations of trophobiont herbivores (e.g., hemipteran honeydew). The Optimal Defense Theory (ODT) of plants postulates that reproductive parts are more valuable and likely to be attacked than vegetative parts; therefore, it is expected that inflorescences are more defended than leaves. Although there is a growing number of studies evaluating ODT in systems mediated by extrafloral nectar, it is unclear whether the prediction of this theory can be applied to ant-plant interactions mediated indirectly via *honeydew*. The present study evaluated whether the premises of ODT can be applied in the biotic defense of plants indirectly by the production of honeydew. Thus, different experiments were carried out (manipulation of the presence/absence of membracids) on *Solanum lycocarpum* (Solanaceae), a characteristic plant species of the Brazilian savannah (Cerrado), which is commonly infested by *Enchenopa brasiliensis* (Membracidae). It was evaluated the plant resource allocation (concentration of sugar in the sap) and the sugar concentration of honeydew on membracids located in reproductive and vegetative parts, as well the impact of honeydew on ant abundance and protective behavior. The results showed that the

sugar concentration of *honeydew* and plant sap was higher in reproductive regions. Ant abundance did not differ between reproductive and vegetative branches with membracids but was statistically higher in branches with membracids than in branches without membracids. Herbivory was more intense in branches with membracids, being significantly higher in reproductive branches. The richness and abundance of herbivores were also higher in plants that hosted membracids. Ants were more efficient in removing insects that do not have the potential to defend themselves. Therefore, it is concluded that despite the allocation of resources in *S. lycocarpum* to follow the premises of the ODT, the presence of the membracids did not benefit the host plants through the biotic defense of plants. Therefore, the cost of hosting a trophobionts herbivore in this case might outweighed the benefits.

Keywords: Biotic Defense, Herbivory, Ants, Membracids, honeydew.

1. Introdução

As interações entre insetos e plantas são extremamente antigas e diversificadas nos ambientes terrestres (LABANDEIRA, 1998; DEL-CLARO; TOREZAN-SILINGARDI, 2021a). Ao longo do tempo, insetos herbívoros têm imposto uma intensa pressão evolutiva sobre as plantas ao se alimentarem de suas estruturas vegetativas e/ou reprodutivas (LABANDEIRA, 1998; SCHOONHOVEN; DICKE; VAN LOON, 2005; DEL-CLARO; TOREZAN-SILINGARDI, 2021b). Nesse cenário, as plantas desenvolveram diferentes estratégias defensivas capazes de resistir e/ou combater os danos causados por esses insetos, como a produção de compostos químicos e/ou estruturas físicas (COLEY; BARONE, 1996; CLISSOLD et al., 2009; DYER; JEFFREY, 2021). Além dessas duas estratégias defensivas, plantas podem produzir direta e/ou indiretamente recursos que servem de alimento e/ou sítio de nidificação para artrópodes predadores que se associam de forma mutualística a essas plantas (NAHAS; GONZAGA; DEL-CLARO, 2012; ALVES-SILVA; DEL-CLARO, 2016a; DEL-CLARO et al., 2016; PEARSE et al., 2020), uma estratégia defensiva conhecida como defesa biótica (DEL-CLARO et al., 2016; MOURA et al., 2021).

Apesar de aranhas e vespas se associarem de forma defensiva às plantas (NAHAS; GONZAGA; DEL-CLARO, 2012; ALVES-SILVA; DEL-CLARO, 2016a), formigas representam os principais agentes promotores desse tipo de defesa (RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; ROSUMEK et al., 2009; TRAGER et al., 2010; CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2018). Esse mutualismo de proteção pode ser mediado por diferentes tipos de recursos, como a presença de nectários extraflorais – NEFs, e/ou indiretamente pela presença de hemípteros fitófagos produtores de *honeydew* (RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; HEIL, 2015; DEL-CLARO et al., 2016). Em ambos os casos, por representarem recursos altamente nutritivos e essenciais

para o crescimento das colônias (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2021), a presença desses recursos nas plantas atrai grandes aglomerações de formigas, conferindo uma forma de defesa indireta contra os herbívoros. No entanto, no caso do *honeydew*, essa interação só é benéfica quando os benefícios em hospedar os trofobiontes sobrepuja os custos em mantê-los (MOREIRA; DEL-CLARO, 2005; DEVEGILI et al., 2021).

A defesa biótica de plantas pode apresentar diferentes resultados a depender de diversos fatores (DEL-CLARO; OLIVEIRA, 2000; DEL-CLARO et al., 2016). Por exemplo, a qualidade do néctar extrafloral oferecido pela planta pode influenciar diretamente na efetividade de proteção das formigas (FAGUNDES et al., 2017; PACELHE et al., 2019; CALIXTO et al., 2021c). Vários estudos têm mostrado que recursos mais concentrados em açúcar atraem um maior número de formigas e influenciam positivamente na eficiência protetiva das formigas (BLÜTHGEN et al., 2000; CAMPOS; CAMACHO, 2014; CALIXTO et al., 2021a, 2021c). Essas variações na eficiência protetiva das formigas podem depender, por exemplo, do tipo e qualidade do recurso ofertado (BLÜTHGEN et al., 2000; BLÜTHGEN; GOTTSBERGER; FIEDLER, 2004; CAMPOS; CAMACHO, 2014) bem como do local em que eles estão presentes nas plantas (CALIXTO et al., 2021a), evocando as premissas da teoria da defesa ótima (“TDO”) de plantas (MCKEY, 1974; RHOADES, 1979).

De acordo com a TDO, as plantas apresentam uma alocação diferencial de recursos defensivos entre as suas diferentes estruturas (MCKEY, 1974; GODSCHALX et al., 2016), isto é, plantas tendem a investir mais recursos defensivos em estruturas reprodutivas do que vegetativas, uma vez que as primeiras apresentam um maior valor e probabilidade de ataque (MCKEY, 1974). Nesse contexto, estudos têm mostrado que essa alocação diferencial de energia dentro das plantas tem atuado diretamente sobre os diferentes mecanismos de defesa

apresentados pelas plantas, como por exemplo, as defesas químicas (BACKMANN et al., 2019) e bióticas (RADHIKA et al., 2008; CALIXTO et al., 2021a). Entretanto, apesar de muitas vezes a defesa biótica quando mediada por NEFs atuar seguindo as premissas da TDO (CALIXTO et al., 2021a), na presença de hemípteros produtores de *honeydew*, se desconhece quaisquer efeitos relacionados a uma alocação diferencial de recursos entre diferentes partes das plantas. Dada a abundância de interações entre plantas-formigas e herbívoros trofobiontes, especialmente nos Neotropicos (DEL-CLARO, 2004) é importante entendermos como uma alocação diferencial de recursos nas plantas (seiva) pode atuar nas interações entre formigas e plantas mediadas por hemípteros produtores de *honeydew*.

Assim, o presente estudo avaliou se as premissas da TDO podem ser aplicadas na defesa biótica de plantas mediadas pela oferta de *honeydew* por hemípteros. Para isso, buscou-se responder as seguintes questões: (i) A concentração de açúcar da seiva e o *honeydew* diferem entre si e são maiores em regiões reprodutivas do que em regiões vegetativas? (ii) Caso exista diferença na qualidade do *honeydew* produzido nas regiões reprodutivas e vegetativas, tal efeito afeta a abundância das formigas? (iii) A efetividade de proteção pelas formigas difere entre regiões reprodutivas e vegetativas? (iv) A eficiência das formigas em removerem os herbívoros das plantas independem das características específicas do herbívoro? Para responder a essas questões, foram postuladas as respectivas predições: (P1a) a concentração do *honeydew* será maior do que da seiva, visto que os membracídeos tendem a modificar positivamente a qualidade do recurso (BLÜTHGEN; FIEDLER, 2004; BLÜTHGEN; GOTTSBERGER; FIEDLER, 2004; YAO, 2014); (P1b) tanto a seiva como o *honeydew* terão maiores concentrações de açúcar nas regiões reprodutivas que vegetativas. A seiva devido ao maior valor e probabilidade de ataque dessas regiões, seguindo a TDO; e o *honeydew* por aprimorar uma seiva enriquecida (MCKEY,

1974; CALIXTO et al., 2021a); (P1c) estruturas caulinares de brotos foliares de regiões reprodutivas tendem a apresentar uma maior alocação de recursos do que estruturas vegetativas; (P2) as formigas serão mais abundantes nas regiões reprodutivas do que nas regiões vegetativas, visto que o *honeydew* será proveniente de uma seiva supostamente mais rica em açúcar (CALIXTO et al., 2021a); (P3) a efetividade de proteção pelas formigas será maior nas regiões reprodutivas que vegetativas, devido à maior concentração de açúcar no *honeydew* de membracídeos alojados nas regiões reprodutivas; (P4) as formigas serão mais eficientes em removerem herbívoros com defesas físicas inferiores.

2. Materiais e Métodos

2.1 Área e espécie de estudo

O estudo de campo foi realizado na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU), Uberlândia, Brasil (48°17'27.0'' W; 18°58'30.6'' S), em uma área de cerrado sentido restrito. A região possui duas estações claramente bem definidas, uma chuvosa de outubro a março e uma seca de abril a setembro (NOVAES et al., 2020). A vegetação predominante nessa região é composta por plantas herbáceas e algumas plantas arbustivas bem espaçadas entre si (DEL-CLARO et al., 2019).

A espécie de planta utilizada foi *Solanum lycocarpum* St. Hill (Solanaceae), a qual ocorre em áreas abertas de Cerrado, geralmente encontrada na forma de arbusto lenhoso podendo atingir de 1 a 3m de altura (Figura 1a). Essa espécie é constantemente infestada pelo hemíptero sugador de seiva *Enchenopa brasiliensis* Strümpel (Membracidae) (Figura 1b-c) (MOREIRA; DEL-CLARO, 2005). Em virtude da presença desse hemíptero produtor de *honeydew*, diferentes espécies de formigas forrageiam em *S. lycocarpum* (MOREIRA; DEL-CLARO, 2005). Dentre

essas espécies, *Camponotus crassus* Mayr 1862 é uma das formigas mais presentes e abundantes em *S. lycocarpum*, bem como em plantas extranectaríferas na localidade de estudo (Figura 1d) (LANGE; DEL-CLARO, 2014; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017; PIRES et al., 2017; LANGE et al., 2019; CALIXTO et al., 2021c, 2021a).

Figura 1. (a) *Solanum lycocarpum* (Solanaceae; ~ 2m de altura); (b-c) adulto (~0,9 cm) e ninfas (~0,6 cm) do membracídeo *Enchenopa brasiliensis* na planta hospedeira; (d) *Camponotus crassus* (Formicinae; ~0,7 cm) atendendo ninfas do membracídeo.

2.2 Design experimental

Para responder as questões levantadas nesse estudo, foram selecionados 30 indivíduos adultos de *S. lycocarpum* com características fenológicas e estruturais semelhantes (aproximadamente 50% folhas jovens e 50% folhas maduras, 1-2 metros de altura, número similar de folhas por ramos) distanciados pelo menos 10 m uns dos outros. Todas as plantas, apresentavam estruturas reprodutivas (botões e/ou flores) e possuíam agregações do membracídeo *E. brasiliensis* tanto em ramos com estruturas reprodutivas quanto em ramos apenas com estruturas vegetativas. Essas 30 plantas foram classificadas como plantas Tratamento. Em cada planta tratamento foram selecionados dois ramos com membracídeos, sendo um na parte vegetativa (tratamento “VegT”) e outro na parte reprodutiva (tratamento “RepT”), e seus correspondentes ramos adjacentes, os quais estavam dispostos como em uma bifurcação (Figura 2 a-b). Esses ramos adjacentes (vegetativo: “VegAT”; reprodutivo: “RepAT”) não continham membracídeos, tinham entre 30 e 60 centímetros de comprimento (similar aos ramos com membracídeos), e angulação com o ramo com membracídeos (VegT ou RepT) de 30° a 45°. Ramos com essas proporções foram selecionados para não haver discrepâncias significativas com relação ao tamanho e a distâncias entre os ramos vegetativos e reprodutivos e os seus ramos adjacentes. A seleção de um ramo adjacente teve como objetivo mensurar o impacto da defesa biótica de plantas no entorno dos ramos em que os membracídeos estivessem presentes. Para padronização das plantas experimentais e dos efeitos dos membracídeos sobre as diferentes estruturas avaliadas, agregações de *E. brasiliensis* presentes em outras partes da planta foram removidas, e em cada ramo com membracídeos foram mantidas agregações entre cinquenta e cem ninfas durante todo o experimento.

Figura 2. Padrão de seleção dos tratamentos com e sem o membracídeo *Enchenopa brasiliensis* em *Solanum lycocarpum*. (a) Ramo vegetativo (com membracídeos) e seu respectivo ramo adjacente (sem membracídeos); (b) Ramo reprodutivo (com membracídeos) e seu respectivo ramo adjacente (sem membracídeos).

Como forma de validação da presença de membracídeos na planta como um todo, no mesmo período, foram marcadas outras 17 plantas que não possuísem membracídeos. Essas 17 plantas foram classificadas como plantas Controle. Foram selecionados ramos de forma semelhante ao descrito anteriormente, mas sem a presença de membracídeos, isto é, foram selecionados um ramo vegetativo e um ramo reprodutivo (“VegC” e “RepC”, respectivamente) e seus correspondentes ramos adjacentes (“VegAC” e “RepAC”, respectivamente). Dessa forma, foi possível identificar possíveis efeitos causado pela presença dos membracídeos nas plantas como um todo.

2.3 Alocação de recurso

Para avaliar se existe diferença na alocação de recursos entre partes vegetativas e reprodutivas, bem como entre o *honeydew* e a seiva de plantas, foi analisada a concentração de sacarose do *honeydew* dos membracídeos nas plantas tratamento (P1a), a concentração de sacarose dos vasos condutores de seiva de partes vegetativas e reprodutivas (P1b), e a variação do

peso dos caules de brotos foliares (P1c). Essas três variáveis foram utilizadas como indicativo de maior quantidade de carboidratos alocados ou não em regiões reprodutivas e/ou vegetativas seguindo as premissas da TDO; assim como se há ou não variação na qualidade do *honeydew*.

Para mensuração do *honeydew*, as aglomerações de *E. brasiliensis* foram ensacadas com saco de tecido voal entre 7:00 e 8:00 da manhã (Figura 3a). Após 24 horas, as aglomerações foram desensacadas e o *honeydew* foi coletado de três ninfas de último instar por aglomeração (Figura 3b). A utilização do saco voal permite coletar o *honeydew* desses hemípteros de maneira fiel, sem interferência das formigas e outros artrópodes. Os membracídeos eram coletados lateralmente com pinça flexível e levemente pressionados para a secreção do *honeydew* (Figura 3c). Em seguida, foram medidos o volume e a concentração do *honeydew* com o auxílio de um tubo microcapilar graduado e refratômetro manual (modelo Eclipse), respectivamente (veja LANGE et al., 2017; CALIXTO et al., 2021b, para detalhes). Em testes anteriores, foi observado que essa manipulação não altera o volume e concentração do *honeydew* produzido naturalmente pelos membracídeos, ou quando a secreção do exsudato é induzida pelas formigas. Devido ao baixo volume de *honeydew* produzido (0,1-0,2 μL), as secreções foram diluídas com água destilada para avaliação da concentração de sacarose no refratômetro. Posteriormente, foi feita uma análise corretiva proporcional para verificar a real concentração de sacarose no exsudato.

Figura 3. Metodologia utilizada para a coleta do *honeydew* de *Enchenopa brasiliensis* em *Solanum lycocarpum*. (a) Ramo com membracídeos ensacado um dia antes da coleta; (b) Colônias de *Enchenopa brasiliensis* se alimentando nas folhas de *Solanum lycocarpum*; (c) *Honeydew* de *Enchenopa brasiliensis* sendo coletado com o auxílio de uma pinça entomológica e um microcapilar graduado de 5µl. Note a pequena gota de *honeydew* na parte posterior da ninfa começando a ser secretada.

Para avaliar a concentração de açúcar dos vasos condutores de seiva entre estruturas reprodutivas e vegetativas, foram utilizadas vinte plantas diferentes das utilizadas nos experimentos anteriores. Essas plantas foram selecionadas para evitar uma resposta induzida da planta aos cortes feitos nos ramos para mensuração da seiva (NESS, 2003; RAUPP et al., 2020; CALIXTO et al., 2021a). Foram selecionados um ramo vegetativo e um reprodutivo em cada planta com exatamente quinze centímetros de comprimento e sem qualquer evidência de danos

foliares ou doenças. Esses ramos foram cortados transversalmente com o auxílio de uma tesoura e, em seguida, com o auxílio de um microcapilar encostado no ponto de corte, foi coletado a seiva nessas duas regiões (Figura 4 a-b). De forma similar às secreções de *honeydew*, foi possível coletar apenas 0,1-0,2 μL de seiva. Portanto, o mesmo processo de diluição explicado anteriormente foi feito para a análise de concentração de sacarose da seiva.

Para avaliar a alocação diferencial de recursos entre ramos jovens em partes vegetativas e reprodutivas, foi aferido o peso úmido e seco de ramos em desenvolvimento em um novo conjunto de vinte plantas. Em cada planta, foram selecionados brotos foliares (0,5 – 1cm) que estavam começando a emergir em ramos reprodutivos e vegetativos (Figura 4c), os quais foram acompanhados até que atingissem 10 centímetros de comprimento. Nesse momento, cada planta teve um broto de ramo reprodutivo e um broto de ramo vegetativo cortados, fornecendo o mesmo tempo de crescimento dos brotos em cada parte da planta. Os cortes foram feitos entre nós, e a 2 cm de cada nó. Após coleta dos brotos, eles foram etiquetados e colocados em um recipiente térmico refrigerado para evitar dessecação (adaptado de MUNIQUE; CALIXTO, 2018), onde foram levados para laboratório para serem pesados. Primeiramente, foi avaliado o peso fresco dos brotos em balança analítica digital de quatro dígitos (Modelo: ATY224). Em seguida, os brotos foram transferidos para uma estufa, onde permaneceram por uma semana a 50 °C, e novamente pesados.

Figura 4. Seleção de ramos para a coleta de seiva em *Solanum lycocarpum*. (a) Seleção de ramos reprodutivo para a coleta de seiva; (b) Coleta da seiva de *S.lycocarpum* com o auxílio de um microcapilar graduado; e (c) seleção de brotos foliares (indicado pela seta branca) em desenvolvimento.

2.4 Abundância de formigas

Para avaliar a abundância de formigas nos diferentes ramos (VegT, RepT, VegAT, RepAT) das plantas tratamentos (P2), foram feitas semanalmente sessões de 15 minutos de observações para cada planta. As observações foram feitas utilizando o método de amostragem instantânea (ALTMANN, 1974; DEL-CLARO, 2010), e durante o período de observação foi contabilizado o número máximo de formigas presentes em cada ramo. O mesmo procedimento foi feito para os ramos das plantas controle (VegC, RepC, VegAC, RepAC).

2.5 Herbívoros e danos foliares

Para avaliar se a efetividade das formigas é maior em partes reprodutivas do que vegetativas (P3) foram feitas duas amostragens. Na primeira foi avaliada a taxa de danos foliares nos ramos selecionados, e na segunda foi realizada uma manipulação experimental de defesa

pelas formigas utilizando cupins. Na análise de danos foliares, em cada ramo das plantas tratamento (VegT, RepT, VegAT, RepAT) e controle (VegC, RepC, VegAC, RepAC), foi avaliado a taxa de herbivoria por ramo em um período de seis semanas. Para isso, na primeira semana após a seleção dos ramos, foi marcada e avaliada a taxa de herbivoria inicial em cada ramo. Ao fim da sexta semana, as folhas marcadas foram coletadas e levadas para o laboratório para avaliação da perda de área foliar. A herbivoria foi mensurada através de fotografias das folhas em um plano de fundo branco com escala (sensos CALIXTO et al., 2015) através do programa ImageJ 1.47. Além do mais, semanalmente, os herbívoros presentes em cada grupo foram registrados e quantificados.

2.6 Eficiência defensiva

No segundo experimento de eficiência defensiva, foi manipulada experimentalmente a presença de potenciais herbívoros agressivos e não agressivos nos ramos com membracídeos e seus respectivos adjacentes das plantas tratamento. Para isso, foram utilizados operários e soldados de cupins do gênero *Nasutitermes* (Termitidae: Nasutitermitinae) como forma de simular a presença de potenciais herbívoros, o que tem sido bastante utilizado em experimentos de efetividade de formigas (CAMPOS; CAMACHO, 2014; FAGUNDES et al., 2017; CALIXTO et al., 2021c) visto que é uma maneira simples, acurada e padronizada de experimentação. Para isso, um único cupim foi colocado sobre a face adaxial da última folha de cada ramo avaliado e, em seguida, foi quantificado o tempo gasto pelas formigas para encontrarem e removerem o cupim do ramo. Na maioria das vezes, ao encontrar um cupim, *C. crassus* ataca e remove o cupim da planta em poucos segundos (CALIXTO et al., 2021c). Portanto o tempo de encontro e remoção do cupim pela formiga é praticamente o mesmo. A cronometragem só foi iniciada 30

segundos após o cupim ter sido colocado na folha, representando um tempo de aclimação e diminuição da interferência humana no comportamento das formigas (CALIXTO et al., 2021c). O experimento foi repetido duas vezes para cada ramo (VegT, VegAT, RepT, RepAT) de cada planta. O tempo máximo de espera para remoção dos cupins foi de 15 minutos.

O uso de diferentes castas de cupins (soldados e operários) nos permitiu avaliar a eficiência das formigas em lidarem com insetos incapazes de resistir aos seus ataques (operários), e insetos que possuem um potencial para se defender e/ou resistir a ataques (soldados). Esse experimento está embasado principalmente no fato de que as formigas não são igualmente eficientes em removerem todos os tipos de herbívoros das plantas (ALVES-SILVA et al., 2014).

2.7 Análise de dados

Para verificar se a alocação de recursos em *S. lycocarpum* segue as premissas da TDO, foi utilizado Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM) com distribuição gaussiana. Os modelos foram construídos tendo como variável resposta os níveis de concentração de açúcar, enquanto que a interação da parte da planta (reprodutivo e vegetativo) e o tipo de recurso (*honeydew* e seiva) foi ajustada como variável preditora. Os ramos aninhados dentro das plantas foram utilizados como efeito aleatório. Para avaliar o peso dos ramos, também foi utilizado GLMM com distribuição gaussiana, onde o peso foi utilizado como variável resposta, e a parte da planta como variável preditora. Valores de média e desvio padrão também foram utilizados nas comparações dos níveis de concentração de açúcar e peso dos ramos.

Para avaliar a abundância de formigas entre os grupos controle (sem membracídeos) e tratamento (com membracídeos), foi utilizado GLM, onde a abundância de formigas foi utilizada como variável resposta, e os grupos como variável preditora. Para saber se a abundância de

formigas é afetada pelo local em que os membracídeos estão presentes nas plantas tratamento, foi utilizado GLMM. Os modelos foram construídos tendo a abundância de formigas como variável resposta, e a interação do ramo (tratamento e adjacente) e da parte da planta (reprodutivo e vegetativo) como variável preditora. Os ramos aninhados dentro das plantas foram utilizados como efeito aleatório. Essa mesma análise atendendo aos mesmos parâmetros também foi conduzida para as plantas do grupo controle. Todos os modelos foram ajustados com distribuição de Poisson ou binomial negativa, caso houvesse superdispersão dos dados. Tanto no grupo controle quanto no tratamento valores de média e desvio padrão também foram utilizados nas comparações da abundância de formigas entre os ramos (tratamento e adjacente) e/ou partes da planta (reprodutivo e vegetativos).

Para avaliar a influência da interação planta-hemíptero-formiga sobre os níveis de herbivoria, foi utilizado GLM com distribuição gaussiana para comparar os grupos controle (sem membracídeos) e tratamento (com membracídeos), onde a herbivoria foi utilizada como variável resposta, e os grupos como variável preditora. Para saber se a herbivoria é afetada pelo local em que os membracídeos estão presentes nas plantas tratamento, foi utilizado GLMM com família beta, onde a taxa de herbivoria foi utilizada como variável resposta, e a interação do ramo (tratamento e adjacente) e da parte da planta (reprodutivo e vegetativo) como variável preditora, enquanto que os ramos aninhados dentro das plantas foram utilizados como efeito aleatório. Essa mesma análise atendendo aos mesmos parâmetros também foi conduzida para as plantas do grupo controle. Dados relacionados aos herbívoros foram analisados utilizando GLM com binomial negativa, onde os modelos foram construídos tendo riqueza ou abundância de herbívoros como variáveis respostas, e os grupos (controle e tratamento) como variável preditora. Nesse caso, a coleta foi utilizada como efeito aleatório. Em ambos os grupos valores de média e desvio padrão

também foram utilizados nas comparações dos níveis de herbivoria entre os ramos (tratamento e adjacente) e/ou partes da planta (reprodutivo e vegetativos), assim como nas comparações entre riqueza e abundância de herbívoros entre as plantas controle e tratamento.

Por fim, para investigar a variação na eficiência defensiva das formigas (uma variável associada à agressividade das formigas) entre diferentes castas de cupins (operário e soldado) em diferentes partes das plantas (ramos reprodutivos e vegetativos, e seus respectivos adjacentes), foi realizado GLM incluindo a probabilidade de sobrevivência dos cupins (1= vivo e 0= predado) ao longo do tempo (em 5, 10 e 15 min), onde a sobrevivência foi utilizada como variável resposta e o tempo como variável explicativa. Para esta análise, foi utilizada a distribuição Weibull e a família G-rho de Harrington e Fleming (1982) no pacote “survival” (THERNEAU, 2015). Em seguida, foram conduzidas comparações pareadas com o teste Log-Rank e correções do valor de p de Benjamini e Hochberg (1995) utilizando o pacote “survminer” (KASSAMBARA, KOSINSKI, 2018).

Todas as análises foram realizadas utilizando o *software* RStudio versão 4.0.1 (R CORE TEAM, 2020). GLMM e GLM foram conduzidos com os pacotes “glmmTMB” (BROOKS et al., 2017) e “stats”, respectivamente. Significância dos modelos foram analisados com teste de Wald (GLMM) e Likelihood Ratio (GLM) usando o pacote “car” (FOX; WEISBERG, 2011).

3. Resultados

3.1 Alocação de recursos

Foi observada uma influência significativa da interação entre a parte da planta (estrutura vegetativa e reprodutiva) e da origem do recurso (membracídeos ou vasos condutores de seiva) na concentração de açúcar da solução ($\chi^2 = 4,26$; $df = 1$; $P < 0,05$; Figura 5). Quando comparados

par a par, o *honeydew* produzido por membracídeos que se alimentavam em estruturas reprodutivas se mostrou o fluido com maior nível de concentração de açúcar em relação a todos os outros grupos (EMMs= 23,7; CI= 21,35-26,0; Figura 5). O *honeydew* produzido em regiões vegetativas (EMMs= 14,0; CI= 11,66-16,3) não diferiu em sua concentração de açúcar da seiva de estruturas reprodutivas (EMMs= 15,4; CI= 12,64-18,2) e vegetativas (EMMs= 10,6; CI= 7,79-13,4). Além do mais, avaliando os efeitos simples de cada variável, os ramos reprodutivos apresentaram em média 1,6 vezes maior concentração de açúcar que os ramos vegetativos ($\chi^2= 44,69$; $df= 1$; $P < 0,001$; Figura 5). O *honeydew* apresentou 1,38 vezes maior concentração de açúcar que a seiva da planta ($\chi^2= 17,36$; $df= 1$; $P < 0,001$; Figura 5). A seiva de *S. lycocarpum* apresentou maiores níveis de concentração de açúcar nos ramos reprodutivos ($15,43 \pm 2,05$) que nos ramos vegetativos ($10,80 \pm 4,84$). O mesmo pôde ser observado para o *honeydew*, que também foi mais concentrado nos ramos reprodutivos ($23,67 \pm 9,83$) que nos vegetativos ($13,98 \pm 4,73$). Foi observado que ramos reprodutivos são significativamente ($1,50 \pm 0,45$ vezes) mais pesados do que os ramos vegetativos ($\chi^2= 34,57$; $df= 1$; $P < 0,01$).

Figura 5. Concentração de açúcar no *honeydew* de *Enchenopa brasiliensis* e na seiva de *Solanum lycocarpum* em estruturas reprodutivas e vegetativas. Tratamento, representa o tipo de recurso, *honeydew* e seiva. Parte, representa ramos reprodutivos e vegetativos. Gráficos estão representados por boxplots, dados brutos e média (círculo preto no interior do boxplot). As linhas verticais representam o primeiro e quarto quartis, as caixas representam o segundo e terceiro quartis e as linhas dentro das caixas representam a mediana. Letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas entre si pela estimação das médias marginais. Asteriscos representam o nível de significância da concentração de açúcar entre os tipos de recursos (*honeydew* e seiva) e partes da planta (reprodutivo e vegetativo), e a interação entre essas variáveis (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$), enquanto que “n.s.” representa resultados não significativos.

3.2 Abundância de formigas

Foi observado que a ausência e presença de membracídeos (plantas controle e tratamento, respectivamente) afetaram significativamente a abundância de formigas forrageando sobre as

plantas ($\chi^2 = 166,5$; $df = 1$; $P < 0,001$; Figura: 6a). Plantas do grupo tratamento apresentaram 11,6 vezes mais formigas ($25,36 \pm 27,13$) que as plantas do grupo controle ($2,19 \pm 2,19$). Dentro do grupo controle, não houve influência da interação entre a ausência de membracídeos e a parte da planta (vegetativa e reprodutiva) na abundância de formigas ($\chi^2 = 0,677$; $df = 1$; $P = 0,410$). Nessas plantas, o número de formiga não diferiu entre os ramos reprodutivos e vegetativos ($\chi^2 = 0,391$; $df = 1$; $P = 0,531$), assim como também não foi estatisticamente diferente entre esses ramos e os seus respectivos ramos adjacentes ($\chi^2 = 0,043$; $df = 1$; $P = 0,834$; Figura 6b). Para as plantas do grupo tratamento, não foi observado interação entre a parte da planta e a presença ou ausência de membracídeos sobre a abundância de formigas ($\chi^2 = 0,084$; $df = 1$; $P = 0,771$). Avaliando os efeitos simples de cada variável, os ramos “VegT e RepT” ($44,26 \pm 27,26$) apresentaram estatisticamente mais formigas que os ramos adjacentes “VegAT e RepAT” ($6,46 \pm 3,89$) ($\chi^2 = 275,149$; $df = 1$; $P < 0,01$; Figura 6c). Contudo, as regiões reprodutivas e vegetativas não diferiram quanto a abundância de formigas ($\chi^2 = 0,032$; $df = 1$; $P = 0,857$; Figura 6c).

Figura 6. Abundância de formigas na presença e/ou ausência de *Enchenopa brasiliensis* em *Solanum lycocarpum*. Grupo, representa as plantas controle e tratamento. Parte, representa ramos reprodutivos e vegetativos. Ramo, representa os ramos tratamento (sem membracídeos nas plantas controle, com membracídeos nas plantas tratamento) e os ramos adjacentes (sem membracídeos). (a) Número de formigas em plantas controle (sem membracídeos) e tratamento (com membracídeos); (b) Número de formigas em ramos reprodutivos e vegetativos, e seus adjacentes nas plantas sem membracídeos, controle; (c) Número de formigas em ramos reprodutivos e vegetativos com ou sem membracídeos nas plantas tratamento. Gráficos estão representados por boxplots, dados brutos e média (círculo preto no interior do boxplot). As linhas verticais representam o primeiro e quarto quartis, as caixas representam o segundo e terceiro quartis e as linhas dentro das caixas representam a mediana. Asteriscos representam o nível de significância da abundância de formigas entre os grupos (controle e tratamento), partes da planta

(reprodutivo e vegetativo) e ramos (tratamento e adjacente) (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$), enquanto que “n.s.” representa resultados não significativos.

3.3 Herbívoros e danos foliares

Foi observado que a ausência e presença de membracídeos (plantas controle e tratamento, respectivamente) afetaram significativamente os níveis de herbivoria nas plantas ($\chi^2 = 29,564$; $df = 1$; $P > 0,001$; Figura 7a). Plantas do grupo tratamento receberam uma porcentagem de danos foliares 1,5 vezes maior ($0,09 \pm 0,12$) que as plantas do grupo controle ($0,06 \pm 0,10$).

Para o agrupamento de plantas sem membracídeos (plantas Controle) não foi detectado efeitos da interação entre a parte da planta e a ausência de membracídeos sobre os níveis de herbivoria ($\chi^2 = 0,072$; $df = 1$; $P = 0,787$; Figura 7b), assim como também não foi detectado diferença estatística nos efeitos simples de cada variável (Parte da planta: $\chi^2 = 0,015$; $df = 1$; $P = 0,901$; Ramo: $\chi^2 = 0,158$; $df = 1$; $P = 0,690$; Figura 7b).

Não houve diferença significativa da interação dos termos (presença/ausência de membracídeos e estrutura da planta) na taxa de herbivoria dos ramos ($\chi^2 = 0$; $df = 1$, $P = 0,93$, Figura 7c) das plantas tratamento. Entretanto, avaliando os efeitos simples de cada variável independente, foi observado efeito significativo tanto da presença de membracídeos ($\chi^2 = 6,09$; $df = 1$; $P = 0,01$; Figura 7c) quanto da estrutura da planta ($\chi^2 = 6,44$; $df = 1$; $P = 0,01$; Figura 7c) na taxa de herbivoria dos ramos. Ramos em que os membracídeos estavam presentes foram amplamente mais danificados ($0,10 \pm 0,13$) que os ramos em que esses insetos não ocorriam ($0,08 \pm 0,11$), e os ramos reprodutivos sofreram 1,22 vezes mais herbivoria que os ramos vegetativos.

Os herbívoros mais presentes foram coleópteros da família Chrysomelidae e o estágio imaturo de *Emmelina monodactyla* (Pterophoridae), onde uma das espécies de Chrysomelidae respondeu por 49,77% de todos os herbívoros registrados (Tabela 1). A riqueza de herbívoros nas

plantas tratamento (presença de membracídeos) foi estatisticamente diferente ($\chi^2 = 5,371$; $df = 1$; $P < 0,05$; Figura 8a) daquela encontrada nas plantas controle (ausência de membracídeos), sendo 1,5 vezes maior nas plantas tratamento. A abundância de herbívoros também diferiu entre os grupos controle e tratamento ($\chi^2 = 8,547$; $df = 1$; $P < 0,01$; Figura 8b), onde as plantas tratamento apresentaram 1,85 vezes mais herbívoros.

Figura 7. Porcentagem de herbivoria em *Solanum lycocarpum* em ramos reprodutivos, vegetativos e seus respectivos adjacentes na presença e/ou ausência de *Enchenopa brasiliensis*. Grupo, representa as plantas controle e tratamento. Parte, representa ramos reprodutivos e vegetativos. Ramo, representa os ramos tratamento (sem membracídeos nas plantas controle, com membracídeos nas plantas tratamento) e os ramos adjacentes (sem membracídeos). (a) herbivoria em plantas controle (sem membracídeos) e tratamento (com membracídeos); (b) herbivoria em ramos reprodutivos e vegetativos, e seus respectivos ramos adjacentes em plantas sem membracídeos, controle; (c) herbivoria em ramos reprodutivos e vegetativos com e sem membracídeos nas plantas tratamento. Gráficos estão representados por boxplots, dados brutos e média (círculo preto no interior do boxplot). As linhas verticais representam o primeiro e quarto quartis, as caixas representam o segundo e terceiro quartis e as linhas dentro das caixas representam a mediana. Asteriscos representam o nível de significância entre as porcentagens de herbivoria sofrida pelos grupos (controle e tratamento), partes da planta (reprodutivo e vegetativo) e ramos (tratamento e adjacente) (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$), enquanto que “n.s.” representa resultados não significativos.

Tabela 1. Abundância de herbívoros em *Solanum lycocarpum* em plantas com (tratamento) e sem membracídeos (controle).

Ordem	Família	Espécie	Ab. tratamento	Ab. Controle
Coleoptera	Cerambycidae	Indeterminado	7	0
	Chrysomelidae	<i>Diabrotica speciosa</i> (Germar, 1824)	3	7
		<i>Platyphora</i> sp.	126	27
	Curculionidae	<i>Anthonomus</i> sp. (Germar, 1817)	20	8
	Tenebrionidae	<i>Bothrotes</i> sp.	7	1
	Scarabaeidae	Indeterminado	2	2
Lepidoptera	Pterophoridae	<i>Emmelina monodactyla</i> (Linnaeus, 1758)	76	20
Hemiptera	Pentatomidae	<i>Edessa rufomarginata</i> (De Geer, 1773)	21	1
	Coreidae	<i>Gonocerus</i> sp.	7	5
Outros	-	-	22	12

Figura 8. Herbívoros em *Solanum lycocarpum*. (a) Riqueza de herbívoros em plantas controle (sem membracídeos) e tratamento (com membracídeos); (b) abundância de herbívoros em plantas do grupo controle e tratamento. Gráficos estão representados por boxplots, dados brutos e média (círculo preto no interior do boxplot). As linhas verticais representam o primeiro e quarto quartis, as caixas representam o segundo e terceiro quartis e as linhas dentro das caixas representam a mediana. Asteriscos representam o nível de significância da riqueza e abundância de herbívoros entre os grupos (controle e tratamento) (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$).

3.4 Eficiência defensiva

Nosso modelo geral avaliando se a estrutura da planta (vegetativa ou reprodutiva), se os ramos em que os membracídeos estão localizados (ramo com membracídeos ou adjacente) e se a agressividade dos cupins (agressivo ou não) influenciam na taxa de predação dos cupins apresentou resultado significativo ($\chi^2 = 38,3$; $df = 7$; $P < 0,001$; Tabela 2; Figura 9). No geral, a sobrevivência dos cupins foi similar entre ramos vegetativos e reprodutivos, e nos ramos com

membracídeos ou adjacentes. Entretanto, operários de cupins (não agressivos) tendem a ser mais predados pelas formigas do que soldados (Tabela 2, Figura 9).

Tabela 2. Comparação par a par da sobrevivência de soldados e operários de cupins em ramos reprodutivos e vegetativos com membracídeos e seus respectivos ramos adjacentes em *Solanum lycocarpum*. Rep.A. representa os ramos reprodutivos adjacentes; Rep.M. representa os ramos reprodutivos com membracídeos; Veg.A. representa os ramos vegetativos adjacentes; e Veg.M. representa ramos vegetativos com membracídeos.

	Rep.A. Soldado	Rep.A. Operário	Rep.M. Soldado	Rep.M. Operário	Veg.A. Soldado	Veg.A. Operário	Veg.M. Soldado
Rep.A. Operário	0,014						
Rep.M. Soldado	0,088	0,486					
Rep.M. Operário	9,16E-05	0,121	0,030				
Veg.A. Soldado	0,761	0,027	0,128	9,16E-05			
Veg.A. Operário	0,040	0,620	0,761	0,028	0,068		
Veg.M. Soldado	0,428	0,098	0,393	0,001	0,493	0,282	
Veg.M. Operário	0,006	0,629	0,2576	0,462	0,008	0,322	0,030

Figura 9. Probabilidade de sobrevivência de soldados e operários de cupins em ramos reprodutivos e vegetativos com membracídeos e seus respectivos ramos adjacentes em *Solanum lycocarpum*. Rep.A. representa os ramos reprodutivos adjacentes; Rep.M. representa os ramos reprodutivos com membracídeos; Veg.A. representa os ramos vegetativos adjacentes; e Veg.M representa ramos vegetativos com membracídeos. Letras diferentes diferem entre si pela estimação marginal das médias.

4. Discussão

As plantas de *S. lycocarpum* apresentaram padrão de alocação de recursos em defesa que corroboram a Teoria da Defesa Ótima (TDO). A concentração de açúcares na seiva foi maior em regiões reprodutivas que em partes vegetativas, corroborando nossa hipótese 1 (P1). Um aumento na concentração de açúcares nos ramos reprodutivos, proporcionou que também o *honeydew* nessas regiões apresentasse uma maior concentração de açúcares. Isso poderia ter influenciado

indiretamente e positivamente na defesa das plantas através da atração de um maior número de formigas. Entretanto, a abundância de formigas não diferiu entre as regiões com maior ou menor concentração de açúcar, não sendo consistente com a nossa segunda hipótese (P2). As formigas também não reduziram os níveis de danos foliares sobre as regiões com maior concentração de açúcar, e essas regiões foram amplamente mais danificadas que as demais regiões das plantas, não sendo consistente com a terceira hipótese (P3). O tempo de remoção dos cupins pelas formigas foi menor nos operários que nos soldados, sendo consistente com a hipótese 4 (P4). Assim, sugere-se que a alocação de recursos em *S. lycocarpum* segue as premissas da TDO, mas a presença dos membracídeos parece gerar custos adicionais para a planta que inviabilizam a defesa biótica. Os custos em hospedar um herbívoro trofobiontes, nesse caso superaram os benefícios, e isso pode ter ocorrido devido a características defensivas contra formigas dos principais herbívoros da planta.

Ao levarmos em conta a alocação de energia dentro das plantas, as regiões reprodutivas são constantemente encaradas como importantes centros de concentrações de recursos, uma vez que as flores, botões, frutos e sementes participam diretamente do processo reprodutivo das plantas (MCKEY, 1974). Nesse sentido, embora não tenha sido avaliado o sucesso reprodutivo de *S. lycocarpum*, as diferenças encontradas com relação a concentração de açúcar na seiva, com seus reflexos sobre o *honeydew* dos membracídeos localizados em estruturas tanto reprodutivas, quanto vegetativas, podem indicar que essa espécie de planta atenda as premissas da TDO, de forma similar a plantas portadoras de NEFs (CALIXTO et al., 2021a).

O *honeydew* dos hemípteros em regiões reprodutivas apresenta concentração de açúcar mais elevadas que a seiva da planta. Isso é esperado, já que são regiões meristemáticas das plantas, onde nutrientes e açúcares são mais concentrados, e devemos lembrar que os

membracídeos também produzem seus próprios açúcares, como a melezitose (FIALA, 1990; BLÜTHGEN; FIEDLER, 2004; BLÜTHGEN; GOTTSBERGER; FIEDLER, 2004). Esses resultados sugerem um mecanismo através do qual a defesa biótica de plantas tende a atuar de forma mais intensa nas regiões reprodutivas (CALIXTO et al., 2021a), sendo coerente com os padrões de forrageio e preferências nutricionais das formigas (LANGE et al., 2019; RIBEIRO et al., 2019). Esses resultados estão alinhados com os padrões fisiológicos de diversos grupos de plantas, uma vez que a alocação diferencial de recursos para defesa dentro das plantas tem sido corroborada em diversos estudos (WÄCKERS; BONIFAY, 2004; MCCALL; FORDYCE, 2010; GODSCHALX et al., 2016; CALIXTO et al., 2021a). Diante da variação na alocação de recurso dentro da planta e da capacidade dos hemípteros de moldarem o seu exsudato, a presença desses insetos sobre diferentes estruturas das plantas apresenta um elevado potencial para uma defesa biótica indireta com diferentes níveis de intensidade, embora no presente estudo tenham sido ineficientes.

O fato dos membracídeos incorporarem aminoácidos e açúcares ao *honeydew* permite com que as relações entre formigas e plantas possam ser moldadas perante a localização dos membracídeos, uma vez que a qualidade dos recursos representa um importante preditor da abundância das formigas nas plantas (ANJOS et al., 2017). Entretanto, os resultados desse estudo mostraram que mesmo com os diferentes níveis de concentração de açúcar a abundância de formigas não diferiu entre os ramos vegetativos e reprodutivos com membracídeos, mas que o número de formigas foi maior nesses ramos que nos seus respectivos ramos adjacentes. Dessa forma, apesar de alguns estudos terem elucidado a compreensão a respeito das necessidades nutricionais de diferentes grupos de formigas (DAVIDSON et al., 2003; DAVIDSON, 2005; RIBEIRO et al., 2019), onde os recursos mais concentrado constantemente atraem mais formigas

(FAGUNDES et al., 2017; CALIXTO et al., 2021a), os resultados do presente estudo mostram que a concentração de açúcar do *honeydew* não teve efeito sobre a quantidade de formigas nos ramos que hospedavam membracídeos. Como no decorrer do estudo a quantidade de membracídeos foi padronizada entre os ramos vegetativos e reprodutivos das plantas tratamento, uma vez que esses membracídeos produzem o *honeydew* à medida em que se alimentam, é possível que a variação existente entre a concentração do *honeydew* de estruturas reprodutivas e vegetativas não seja o suficiente para afetar a abundância de formigas que forrageiam sobre esses recursos (DEL-CLARO; OLIVEIRA, 1993; CAMPOS; CAMACHO, 2014; FAGUNDES et al., 2016). Por representar um recurso mais previsível no espaço que outros mediadores da interação formiga-planta (FIALA, 1990; DEL-CLARO; OLIVEIRA, 1999), como os NEFs, é possível que a simples presença do *honeydew* já seja o suficiente para mobilizar as formigas, e que as variações de concentração não sejam tão influentes sobre a abundância de formigas (BLÜTHGEN et al., 2000; DEJEAN et al., 2007; RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007).

Foi observado que as plantas tratamento sofreram mais herbivoria que as plantas controle, e que dentro das plantas tratamento, os ramos que hospedavam membracídeos (VegT e RepT) foram amplamente mais danificados que os ramos adjacentes (sem membracídeos), contestando as previsões levantadas pelo estudo baseado na TDO e na teoria da defesa biótica de plantas (MCKEY, 1974; ROSUMEK et al., 2009; CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2018). Além do mais, nas plantas tratamento, os ramos reprodutivos apresentaram maiores níveis de herbivoria, seguidos pelos ramos vegetativos, e só então os ramos adjacentes. Nas plantas controle, não houve diferença significativa entre os ramos. Tais resultados sugerem que a presença e/ou ausência dos membracídeos nas plantas está associada a altos ou baixos níveis de herbivoria, de modo em que a presença de *E. brasiliensis* promove em algum ponto uma melhor performance

dos herbívoros nas plantas. No entanto, Moreira e Del-Claro (2005) obtiveram resultados opostos na mesma planta em uma outra localidade dentro do município de Uberlândia. Em um estudo com remoção das formigas atendentes esses autores mostraram que a presença de formigas atendentes aos membracídeos não apenas aumentaram significativamente a sobrevivência dos hemípteros nas plantas, mas também reduziram a herbivoria foliar. A diferença entre os resultados do presente estudo com o de Moreira e Del-Claro (2005), indica que variações espaço-temporais dependentes de fatores bióticos e abióticos podem interferir de forma significativa nos resultados finais de interações animais-plantas.

Como *S. lycocarpum* já se mostrou capaz de apresentar defesa induzida (ALVES-SILVA; DEL-CLARO, 2016b), é possível que a presença dos membracídeos esteja promovendo respostas fisiológicas nas plantas que podem facilitar a atividade de outros herbívoros (AGRAWAL, 2007; CRAIG, 2010; KANT et al., 2015; KARBAN; ORROCK, 2018). Nesse contexto, como os membracídeos se hospedam em alguns indivíduos de *S. lycocarpum* durante todo o ano (MOREIRA; DEL-CLARO, 2005), ao se alimentarem dos tecidos das plantas esses insetos podem estar induzindo mecanismo de defesas contra insetos fitófagos, o que em alguns casos pode beneficiar a atividade dos insetos mastigadores assim como acontece em outras espécies da família Solanaceae (AGRAWAL, 2007; KANT et al., 2015). Também é possível especular que a presença de *E. brasiliensis* coloque os ramos em esses insetos estão hospedados em um estado de “*positive feedback*” de alocação de recursos. Nesse caso, esses ramos se tornariam muito mais atrativos para outros herbívoros e suscetíveis à herbivoria (CRAIG, 2010; KARBAN; ORROCK, 2018). Todos esses pontos são perfeitamente coerentes com o cenário encontrado em nosso estudo, onde tanto a riqueza quanto a abundância de herbívoros registrados foram significativamente maiores nas plantas que hospedavam *E. brasiliensis*, e os principais herbívoros

registradores foram insetos mastigadores (Figura 8a-b; Tabela 1). Dessa forma, a interação formiga-membracídeo estudada parece desempenhar uma função prejudicial para a planta hospedeira, sendo um mutualismo altamente dependente de contexto (MOREIRA; DEL-CLARO, 2005; DEL-CLARO et al., 2016; VILELA; DEL-CLARO, 2018).

O experimento de eficiência defensiva mostrou que a identidade do herbívoro representa um fator importante para a defesa biótica. Formigas removem cupins operários de forma muito mais rápida e mais frequente, mostrando que a formiga mais comum no estudo (*C. crassus*) possui dificuldade em lidar com insetos que possuem potencial para se defender (ALVES-SILVA et al., 2014). Como soldados tiveram uma curva de sobrevivência muito superior a dos operários, é de se prever que herbívoros que são capazes de se defender dificultam a atividade de *C. crassus* de oferecer quaisquer benefícios às plantas. Tais resultados são perfeitamente coerentes com o cenário encontrado em *S. lycocarpum*, uma vez que o principal herbívoro encontrado foi uma espécie de coleóptero da família Chrysomelidae, inseto o qual representou 49,77% de todos os herbívoros presentes nas plantas ao longo do estudo. Esse inseto possui um corpo bem esclerotizado e resiste aos ataques das formigas (Costa-Silva V. M. observação pessoal). Assim, da mesma forma em que *C. crassus* se mostrou ineficiente em combater os soldados de cupins, é provável que *C. crassus* também tenha sido ineficiente em proteger as plantas contra esse tipo de herbívoro. Resultados semelhantes podem ser encontrados em outros estudos (MESSINA, 1981; ALVES-SILVA et al., 2014).

Em suma, os resultados sugerem que interações entre plantas-formigas e insetos trofobiontes são altamente condicionais, dependendo de variáveis bióticas e abióticas que interferem nos custos e benefícios para as plantas. Apesar da maior riqueza em açúcar do *honeydew* de *E. brasiliensis* e da seiva de *S. lycocarpum*, e o peso dos ramos sugerirem que a

interação entre formigas e plantas mediada pela presença de membracídeos pode atender às premissas da TDO, os resultados referentes a abundância de formigas, herbivoria foliar, riqueza e abundância de herbívoros não permitem concluir que ambas as teorias atuam em conjunto em *S. lycocarpum*. De forma geral, os resultados da interação formiga-planta-hemíptero são dependentes de contexto, onde fatores intrínsecos e extrínsecos ditam a direção desses resultados, sejam eles negativos, neutros ou positivos.

5. Referência bibliográficas

AGRAWAL, A. A. Macroevolution of plant defense strategies. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 22, n. 2, p. 103–109, 2007.

ALTMANN, J. Observational Study of Behavior: Sampling Methods. **Behaviour**, v. 49, n. 3, p. 227–267, 1974. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/4533591>>.

ALVES-SILVA, E.; BACHTOLD, A.; BARÔNIO, G. J.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Ant – herbivore interactions in an extrafloral nectaried plant: Are ants good plant guards against curculionid beetles? **Journal of Natural History**, v. 16, n. 4, 2014.

ALVES-SILVA, E.; DEL-CLARO, K. Wasps are better plant-guards than ants in the extrafloral nectaried shrub *Ouratea spectabilis* (Ochnaceae). **Sociobiology**, v. 63, n. 1, p. 705–711, 2016a.

ALVES-SILVA, E.; DEL-CLARO, K. Herbivory causes increases in leaf spinescence and fluctuating asymmetry as a mechanism of delayed induced resistance in a tropical savanna tree. **Plant Ecology and Evolution**, v. 149, n. 1, p. 73–80, 2016b.

ANJOS, D. V.; CASERIO, B.; REZENDE, F. T.; RIBEIRO, S. P.; DEL-CLARO, K.; FAGUNDES, R. 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.

BACKMANN, P.; GRIMM, V.; JETSCHKE, G.; LIN, Y.; VOS, M.; BALDWIN, I. T.; DAM, N. M. Delayed chemical defense: Timely expulsion of herbivores can reduce competition with neighboring plants. **American Naturalist**, v. 193, n. 1, p. 125–139, 2019.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)**, v. 57, p. 289– 300, 1995. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>> .

BLÜTHGEN, N.; VERHAAGH, M.; JAFFÉ, W. G. K.; MORAWETZ, W.; WILHELM, B. How plants shape the ant community in the Amazonian rainforest canopy: The key role of extrafloral nectaries and homopteran honeydew. **Oecologia**, v. 125, n. 2, p. 229–240, 2000.

BLÜTHGEN, N.; FIEDLER, K. Preferences for sugars and amino acids and their conditionality in a diverse nectar-feeding ant community. **Journal of Animal Ecology**, v. 73, n. 1, p. 155–166, 2004.

BLÜTHGEN, N.; GOTTSBERGER, G.; FIEDLER, K. Sugar and amino acid composition of ant-attended nectar and honeydew sources from an Australian rainforest. **Austral Ecology**, v. 29, n. 4, p. 418–429, 2004.

BROOKS, M. E.; KRISTENSEN, K.; van BENTHEM, K. J.; MAGNUSSON, A.; BERG, C. W.; NIELSEN, A.; SKAUG, H. J.; MACHLER, M.; BOLKER, B. M. glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. **The R Journal**, v. 9, n. 2, p. 378–400, 2017.

CALIXTO, E. S.; LANGE, D.; BRONSTEIN, J.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Optimal Defense Theory in an ant–plant mutualism: Extrafloral nectar as an induced defence is maximized in the most valuable plant structures. **Journal of Ecology**, v. 109, n. 1, p. 167–178, 2021a.

CALIXTO, E. S.; LANGE, D.; MOREIRA, X.; DEL-CLARO, K. Plant species specificity of ant–plant mutualistic interactions: Differential predation of termites by *Camponotus crassus* on five species of extrafloral nectaries plants. **Biotropica**, p. 1–9, 2021c. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/btp.12991>>.

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.; LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Net benefits of a mutualism: Influence of the quality of extrafloral nectar on the colony fitness of a mutualistic ant. **Biotropica**, p. 1–11, 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/btp.12925>>.

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. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.flora.2015.02.001>>.

CAMPOS, R. I.; CAMACHO, G. P. Ant–plant interactions: the importance of extrafloral nectaries versus hemipteran honeydew on plant defense against herbivores. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 8, n. 6, p. 507–512, 2014.

CLISSOLD, F. J.; SANSON, G. D.; READ, J.; SIMPSON, S. J. Gross vs. net income: How plant toughness affects performance of an insect herbivore. **Ecology**, v. 90, n. 12, p. 3393–3405, 2009.

COLEY, P.; BARONE, J. Herbivory and plant defenses. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 27, p. 305–335, 1996.

CRAIG, T. P. The resource regulation hypothesis and positive feedback loops in plant-herbivore interactions. **Population Ecology**, v. 52, n. 4, p. 461–473, 2010.

DAVIDSON, D. W.; COOK, S. C.; SNELLING, R. R.; CHUA, T. H. Explaining the Abundance of Ants in Lowland Tropical Rainforest Canopies. **Science**, v. 300, n. 5621, p. 969–972, 2003.

DAVIDSON, D. W. Ecological stoichiometry of ants in a New World rain forest. **Oecologia**, v. 142, n. 2, p. 221–231, 2005.

DEJEAN, A.; CORBARA, B.; ORIVEL, JÉRÔME.; LEPONCE, M. Rainforest canopy ants: the implications of territoriality and predatory behavior. **Funct. Ecosyst. Communit.**, v. 1, n. 2, p. 105–120, 2007.

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

DEL-CLARO, K. **Introdução à Ecologia Comportamental: um manual para o estudo do comportamento animal**. Technical Books Editora, 2010.

DEL-CLARO, K.; RICO-GRAY, V.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; ALVES-SILVA, E.; FAGUNDES, R.; LANGE, D.; DÁTTILO, W.; VILELA, A. A.; AGUIRRE, A.; RODRIGUEZ-MORALES, D. 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.; RODRIGUEZ-MORALES, D.; CALIXTO, E. S.; MARTINS, A. S.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. Ant pollination of *Paepalanthus lundii* (Eriocaulaceae) in Brazilian savanna. **Annals of Botany**, v. 123, n. 7, p. 1159–1165, 2019.

DEL-CLARO, K.; OLIVEIRA, P. S. Ant-Homoptera Interaction: Do Alternative Sugar Sources Distract Tending Ants? **Oikos**, v. 68, n. 2, p. 202–206, 1993.

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.

DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. **Plant-Animal Interactions**. Cham: Springer International Publishing, 2021a.

DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. An Evolutionary Perspective on Plant-Animal Interactions. In: DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. (Ed.). **Plant-Animal Interactions**. Cham: Springer International Publishing, 2021b. p. 2–13.

DEVEGILI, A. M.; LESCANO, M. N.; GIANOLI, E.; FARJI-BRENER, A. G. Evidence of indirect biotic resistance: native ants decrease invasive plant fitness by enhancing aphid infestation. **Oecologia**, p. 1–12, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00442-021-04874-2>>.

DYER, L. A.; JEFFREY, C. S. Chemically Mediated Multi- trophic Interactions. In: DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. (Ed.). **Plant-Animal Interactions**. Cham:

Springer International Publishing, 2021. p. 18–34.

FAGUNDES, R.; DÁTTILO, W.; RIBEIRO, S. P.; RICO-GRAY, V.; DEL-CLARO, K. Food source availability and interspecific dominance as structural mechanisms of ant-plant-hemipteran multitrophic networks. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 10, n. 3, p. 207–220, 2016.

FAGUNDES, R.; DÁTTILO, W.; RIBEIRO, S. P.; RICO-GRAY, V.; JORDANO, P.; DEL-CLARO, K. 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.

FIALA, B. Extrafloral nectaries VS ant-Homoptera mutualisms: a comment on Becerra and Venable. **Oikos**, v. 52, n. 1, p. 281–282, 1990.

FOX, J.; WEISBERG, S. **An R companion to applied regression**. Second ed. California: SAGE, 2011.

GODSCHALX, A. L.; STADY, L.; WATZIG, B.; BALLHORN, D. J. Is protection against florivory consistent with the optimal defense hypothesis? **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 1–9, 2016.

HARRINGTON, D. P.; FLEMING, T. R. A class of rank test procedures for censored survival data. **Biometrika**, v. 69, p. 553–566, 1982. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/biomet/69.3.553>>.

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, p. 213–232, 2015.

KANT, M. R.; JONCKHEERE, W.; KNEGT, B.; LEMOS, F.; LIU, J.; SCHIMMEL, B. C. J.; VILLARROEL, C. A.; ATAIDE, L. M. S.; DERMAUW, W.; GLAS, J. J.; EGAS, M.; JANSSEN, A.; VAN LEEUWEN, T.; SCHUURINK, R. C.; SABELIS, M. W.; ALBA, J. M. Mechanisms and ecological consequences of plant defence induction and suppression in herbivore communities. **Annals of Botany**, v. 115, n. 7, p. 1015–1051, 2015.

KARBAN, R.; ORROCK, J. L. A judgment and decision-making model for plant behavior. **Ecology**, v. 99, n. 9, p. 1909–1919, 2018.

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

LABANDEIRA, C. C. Early history of arthropod and vascular plant associations. **Annual Review of Earth and Planetary Sciences**, v. 26, p. 329–377, 1998.

LANGE, D.; CALIXTO, E. S.; ROSA, B. B.; SALES, T. A.; DEL-CLARO, K. 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.; 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.

MCCALL, A. C.; FORDYCE, J. A. Can optimal defence theory be used to predict the distribution of plant chemical defences ? **Journal of Ecology**, v. 98, p. 985–992, 2010.

MCKEY, D. Adaptive Patterns in Alkaloid Physiology. **The American Naturalist**, v. 108, n. 961, p. 305–320, 1974.

MESSINA, F. J. Plant protection as a consequence of an ant- membracid mutualism: interactions on goldenrod (*Solidago* sp.). **Ecology**, v. 62, n. 6, p. 1433–1440, 1981.

MOREIRA, V. S. S.; DEL-CLARO, K. The Outcomes of an Ant-Treehopper Association on *Solanum lycocarpum* St. Hill: Increased Membracid Fecundity and Reduced Damage by Chewing Herbivores. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 6, p. 881–887, 2005.

MOURA, R. F.; COLBERG, E.; ALVES-SILVA, E.; MENDES-SILVA, I.; FAGUNDES, R.; STEFANI, V.; DEL-CLARO, K. Biotic Defenses Against Herbivory. In: DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. (Ed.). **Plant-Animal Interactions**. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 95–105.

MUNIQUE, L. B.; CALIXTO, E. S. Spatial and Temporal Variation of Plant Fragment Removal by Two Species of *Atta* Leaf-Cutting Ants. **Journal of Insect Behavior**, v. 31, n. 3, p. 255–263, 2018.

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.

NESS, J. H. *Catalpa bignonioides* alters extrafloral nectar production after herbivory and attracts ant bodyguards. **Oecologia**, v. 134, n. 2, p. 210–218, 2003.

NOVAES, L. R.; CALIXTO, E. S.; OLIVEIRA, M. L.; ALVES-DE-LIMA, L.; ALMEIDA, O.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. Environmental variables drive phenological events of anemocoric plants and enhance diaspore dispersal potential: A new wind-based approach. **The Science of the total environment**, v. 730, p. 139039, 2020.

PACELHE, F. T.; COSTA, F. V.; NEVES, F. S.; BRONSTEIN, J.; MELLO, M. A. R. Nectar quality affects ant aggressiveness and biotic defense provided to plants. **Biotropica**, v. 51, n. 2, p. 196–204, 2019. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/btp.12625>>.

PEARSE, I. S.; LOPRESTI, E.; SCHAEFFER, R. N.; WETZEL, W. C.; MOONEY, K. A.; ALI, J. G.; ODE, P. J.; EUBANKS, M. D.; BRONSTEIN, J. L.; WEBER, M. G. Generalising indirect defence and resistance of plants. **Ecology Letters**, v. 23, n. 7, p. 1137–1152, 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ele.13512>>.

PIRES, M. S.; CALIXTO, E. S.; OLIVEIRA, D. C.; DEL-CLARO, KLEBER. 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, 2017.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020.

RADHIKA, V.; KOST, C.; BARTRAM, S.; HEIL, M.; BOLAND, W. Testing the optimal defence hypothesis for two indirect defences: Extrafloral nectar and volatile organic compounds. **Planta**, v. 228, n. 3, p. 449–457, 2008.

RAUPP, P. P.; GONÇALVES, R. V.; CALIXTO, E. S.; ANJOS, D. V. Contrasting effects of herbivore damage type on extrafloral nectar production and ant attendance. **Acta Oecologica**, v. 108, 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1146609X20301302>>.

RHOADES, D. Evolution of plant chemical defense against herbivores. In: ROSENTHAL, G.; JANZEN DH (Ed.). **Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites**. 1979. p. 3–54.

RIBEIRO, L. F.; SOLAR, R. R. C.; SOBRINHO, T. G.; MUSCARDI, D. C.; SCHOEREDER, J. H.; ANDERSEN, A. N. Different trophic groups of arboreal ants show differential responses to resource supplementation in a neotropical savanna. **Oecologia**, v. 190, n. 2, p. 433–443, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00442-019-04414-z>>

RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P. S. **The Ecology and Evolution of Ant-Plant Interactions**. Chicago: University of Chicago Press, 2007.

ROSUMÉK, F. B.; SILVEIRA, F. A. O.; NEVES, F. S.; BARBOSA, N. P. U.; DINIZ, L.; OKI, Y.; PEZZINI, F.; FERNANDES, G. W.; CORNELISSEN, T. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. **Oecologia**, v. 160, n. 3, p. 537–549, 2009.

SCHOONHOVEN, L. M.; DICKE, M.; VAN LOON, J. J. A. **Insect-Plant Biology**. Boston, MA: Springer US, 2005.

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

TRAGER, M. D.; BHOTIKA, S.; HOSTETLER, J. A.; ANDRADE, G. V.; RODRIGUEZ-CABAL, M. A.; KEON, C. S. M.; OSENBURG, C. W.; BOLKER, B. M. Benefits for plants in ant-plant protective mutualisms: A meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 5, n. 12, 2010.

VILELA, A. A.; DEL-CLARO, K. Effects of different ant species on the attendance of neighbouring hemipteran colonies and the outcomes for the host plant. **Journal of Natural History**, v. 52, n. 7–8, p. 415–428, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/00222933.2018.1432774>>.

WÄCKERS, F. L.; BONIFAY, C. How to be sweet? Extrafloral nectar allocation by *Gossypium hirsutum* fits optimal defense theory predictions. **Ecology**, v. 85, n. 6, p. 1512–1518, 2004.

YAO, I. Costs and constraints in aphid-ant mutualism. **Ecological Research**, v. 29, n. 3, p. 383–391, 2014.

CONCLUSÃO GERAL

Essa dissertação demonstrou o quanto as interações entre formigas e plantas são dependentes de contexto, e que nem sempre essas interações são benéficas para ambos os indivíduos. Além do mais, representam os primeiros registros de hierarquia de dominância entre formigas mediada exclusivamente pelo *honeydew* de hemípteros, e de uma alocação diferencial da concentração de açúcar desse recurso entre regiões reprodutivas e vegetativas das plantas. Foi mostrado o quanto o nível de agressividade e a forma de forrageio apresentado pelas formigas podem moldar a composição das assembleias de formigas e influenciar na sobrevivência dos membracídeos. Também foi mostrado o quanto variações na qualidade e disponibilidade de recursos em *S. lycocarpum* podem influenciar de diferentes formas o valor adaptativo da planta, a atividade das formigas e a performance dos herbívoros. Dessa forma, podemos concluir que a depender da configuração em que formigas-plantas-herbívoros estão dispostos no tempo e no espaço, essas interações podem atingir diferentes resultados.