UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

“Interação formiga-planta-polinizador em *Palicourea rigida* (Rubiaceae) no cerrado: quando a proteção contra a herbivoria impacta negativamente a ação dos polinizadores”.

Priscila Bruno Cardoso

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

RIBEIRÃO PRETO - SP

2017

PRISCILA BRUNO CARDOSO

“Interação formiga-planta-polinizador em *Palicourea rigida* (Rubiaceae) no cerrado: quando a proteção contra a herbivoria impacta negativamente a ação dos polinizadores”.

Versão Corrigida

(Versão original encontra-se na unidade que aloja o Programa de Pós-graduação)

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

Área de concentração: ENTOMOLOGIA.

Orientador: Prof. Dr. Kleber Del-Claro

RIBEIRÃO PRETO - SP

2017

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.

Cardoso, Priscila Bruno

Interação formiga-planta-polinizador em *Palicourea rigida* (Rubiaceae) no cerrado: quando a proteção contra a herbivoria impacta negativamente a ação dos polinizadores. Ribeirão Preto, 2017.

44 p.: il.: 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Entomologia.

Orientador: Del-Claro, Kleber.

1. Defesa biótica
2. Interação inseto-planta.
3. Nectários Pericarpiais.
4. Mutualismo de proteção.
5. Polinização.

Nome: CARDOSO, Priscila Bruno

Título: Interação formiga-planta-polinizador em *Palicourea rigida* (Rubiaceae) no cerrado: quando a proteção contra a herbivoria impacta negativamente a ação dos polinizadores.

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

Aprovado em:

Banca Examinadora

Profa. Dra. Vanessa Stefani Sul Moreira

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia

Julgamento: _____

Profa. Dra. Isabel Alves dos Santos

Instituição: Universidade de São Paulo

Julgamento: _____

Profa. Dra. Maria Alice dos Santos Alves

Instituição: Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Julgamento: _____

Aos meus avós, Reynaldo e Natalina,
aos meus pais, Ricardo e Regiane e ao
meu marido, Isac, os quais sempre me
apoiam e estiveram ao meu lado.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

aos meus avós e aos meus pais por terem sido a base de tudo em minha vida e terem me passado os melhores ensinamentos, exemplos e valores, por todo o amor, dedicação e carinho em todos esses anos de minha vida;

aos meus irmãos, Gustavo e Danilo, por todas os momentos de descontração e companheirismo;

ao meu marido, Isac, por sempre ter acreditado no meu potencial, me apoiar e dividir comigo a fase mais especial e feliz de nossas vidas: a espera de nossa maior conquista, nossa filha Safira. Obrigada de coração por toda a paciência, cuidado, dedicação e amor com o qual sempre dedicou a mim, sou muito feliz ao seu lado;

aos meus cachorros, Mozart, Xarope e Violeta, que fazem parte da família e sempre me proporcionaram momentos de alegria e aliviaram os momentos ruins com um jeito todo especial;

à toda minha família pelo carinho e ensinamentos;

ao meu orientador e minha coorientadora, Kleber Del-Claro e Helena Maura Torezan-Silingardi, respectivamente, que acreditaram no meu trabalho e me aceitaram com tanto carinho para fazer parte do LECI, e terem me dado a maravilhosa oportunidade de desenvolver um projeto tão lindo. Por serem pessoas tão especiais, aprendo com vocês a cada dia que passa, tanto profissionalmente quanto como pessoa;

ao meu também coorientador, Eduardo Calixto Soares, que me ensinou tanto não só no decorrer do desenvolvimento do trabalho, mas em todas as disciplinas e em campo, que me sentirei eternamente grata. Pessoa exemplar, paciente, excelente pesquisador e um grande amigo, muito obrigada por tudo Dudu;

aos pesquisadores Liliane Martins de Oliveira e Carlos Henrique Nunes pela identificação das espécies de beija-flores deste trabalho;

ao companheiro de LECI, Bruno de Sousa Lopes, que sempre esteve pronto para ajudar em todos os momentos, tanto em campo quanto nas disciplinas que fizemos juntos, e pela grande ajuda na identificação dos lepidópteros deste trabalho;

aos colegas do LECI, que me acolheram com todo o carinho no laboratório e foram excelentes parceiros de campo, em especial, Isamara Mendes, Danilo Borges, Camila Marra, Vitor Miguel e Drielly Queiroga que foram grandes companheiros de risadas e descobertas em campo;

aos colegas do APILAB, onde passei o início de meu mestrado e aprendi muito sobre as abelhas. Em especial, agradeço Clycie Machado e Joyce Mayra por terem se tornado amigas tão queridas que levarei para a vida;

aos meus amigos de longa data, principalmente Paula Santana e Talita Coró, por entenderem meus momentos de reclusão e ausência, sempre estarem por perto nos momentos bons e ruins, vocês são um grande exemplo para mim;

aos técnicos Rogério Pereira e Sidnei Mateus por toda a ajuda e apoio;

à Renata Andrade Cavallari e Vera Cassia C. de Lucca, secretárias do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Biologia Comparada, respectivamente;

ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro durante o período de desenvolvimento da dissertação;

por fim, de todo coração e com toda a sinceridade, agradeço meus familiares, amigos, professores, à Universidade de São Paulo, à Universidade Federal de Uberlândia e todos que contribuíram direta ou indiretamente para que esse trabalho fosse desenvolvido.

A todos vocês, muito obrigada.

**Antes o voo da ave, que passa e não deixa rastro,
Que a passagem do animal, que fica lembrada no chão.**

**A ave passa e esquece, e assim deve ser.
O animal, onde já não está e por isso de nada serve,
Mostra que já esteve, o que não serve para nada.**

**A recordação é uma traição à Natureza,
Porque a Natureza de ontem não é Natureza.
O que foi não é nada, e lembrar não é ver.**

Passa, ave, passa, e ensina-me a passar!

Fernando Pessoa

RESUMO

CARDOSO, Priscila Bruno. **Interação formiga-planta-polinizador em *Palicourea rigida* (Rubiaceae) no cerrado: quando a proteção contra a herbivoria impacta negativamente a ação dos polinizadores.** 2017. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

Os nectários extraflorais (NEFs) são estruturas produtoras de néctar, não relacionadas com a polinização, mas podem estar presentes em partes tanto vegetativas quanto reprodutivas da planta. Essas estruturas atraem uma grande diversidade de artrópodes, principalmente formigas, as quais protegem as plantas do ataque de herbívoros. Em geral, essas interações formiga-planta mediadas por NEFs são positivas, no entanto, em alguns casos podem apresentar efeitos negativos, interferindo diretamente no valor adaptativo da planta. Diante dessa perspectiva, este estudo objetivou avaliar se a atração de formigas para proteção contra o ataque de herbívoros, causa indiretamente um impacto sobre a polinização, influenciando, consequentemente, no sucesso reprodutivo de *Palicourea rigida*. Esta Rubiaceae é um arbusto muito comum no Cerrado, que apresenta nectários pericarpiais (NPs – NEFs localizados em frutos). A principal hipótese do trabalho foi que as formigas beneficiam *P. rigida*, reduzindo a ação de herbívoros foliares, mas ao mesmo tempo interferem no sucesso reprodutivo da planta, pois inibem a ação dos principais polinizadores. O estudo foi desenvolvido entre novembro de 2016 e fevereiro de 2017 na reserva ecológica do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, área que apresenta como principal fitofisionomia o cerrado sentido restrito. Os resultados corroboraram a hipótese principal, demonstrando que de fato as formigas protegem a planta, reduzindo a ação de herbívoros foliares, mas que dependendo da espécie de formiga podem interferir negativamente na formação de frutos, já que inibem a ação dos principais polinizadores da planta – os beija-flores. Nosso estudo revela que *Palicourea rigida* possui um sistema complexo de interações, envolvendo formiga-planta-polinizador, sendo esse o primeiro estudo a avaliar os custos indiretos de um mutualismo protetivo formiga-planta sobre o valor adaptativo direto (produção de frutos) em plantas polinizadas por aves.

Palavras-chave: Defesa biótica. Interação inseto-planta. Nectários Pericarpiais (NP).

Mutualismo de proteção. Polinização.

ABSTRACT

CARDOSO, Priscila Bruno. **Ant-plant-pollinator interaction in the Cerrado, Rubiaceae, *Palicourea rigida*: when the protection against herbivory negatively impacts the action of pollinators.** 2017. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

Extrafloral nectaries (EFNs) are glands that produce nectar not related to pollination and may be present in both vegetative and reproductive plant parts. These structures attract a great diversity of arthropods, mainly ants, which protect plants from herbivorous attack. In general, ant-plant interactions mediated by EFNs are positive, however, in some cases they may have negative effects, interfering directly in plant's fitness. From this perspective, our study aimed to evaluate whether the attraction of ants by an EFNs bearing plant, effectively protects the vegetable against herbivorous attack, but indirectly has a negative impact on pollination. We used as a model, *Palicourea rigida* (Rubiaceae), a common shrub in the Cerrado, that presents pericarpial nectaries (PNs - EFNs located in fruits). The main hypothesis of the work was that ants benefit *P. rigida*, reducing the action of foliar herbivores, but at the same time negatively interfere on its reproductive success by inhibiting the action of the main pollinators. The field work was developed between November 2016 and February 2017, in the ecological cerrado reserve of the Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, in Uberlândia city, Minas Gerais, Brazil. The results corroborated our main hypothesis, demonstrating that ants in fact protect the plant reducing the action of foliar herbivores and can, depending on the ant species, negatively interfere in fruit set, since they inhibit the action of the main pollinators - the hummingbirds. These results show that *P. rigida* has a complex system of interactions, involving ant-plant-pollinator. This is the first study to evaluate the indirect costs of ant-plant mutualism on the fruit set of a plant pollinated by birds.

Keywords: Biotic defense. Insect-plant interaction. Pericarpial nectaries (PN). Protective mutualism. Pollination.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Área e espécie de estudo	17
3.2. Observações de visitantes florais e formigas	17
3.3. Experimento de herbivoria foliar	18
3.4. Experimento formigas x cupins	19
3.5. Experimento formigas x polinizadores	19
3.6. Experimento de sucesso reprodutivo	20
3.7. Análise de dados	21
4. RESULTADOS	23
4.1. Visitantes florais e formigas	23
4.2. Herbivoria foliar	26
4.3. Formigas x cupins	27
4.4. Formigas x polinizadores e sucesso reprodutivo	27
5. DISCUSSÃO	30
6. CONCLUSÃO GERAL	37
REFERÊNCIAS	39

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Há pelo menos 100 milhões de anos, insetos e plantas coexistem no planeta e durante o processo evolutivo desenvolveram diversos tipos de interações (STOLTZ; H. U.; KROYMANN, J.; MITCHELL-OLDS, T., 1999). Não há dúvida de que o grande sucesso dos dois grupos na conquista da Terra esteja ligado com os resultados dessas interações, sejam elas antagônicas ou cooperativas (DEL-CLARO, 2012). Registros fósseis mostram que as primeiras interações entre plantas e insetos eram antagônicas (i.e. herbivoria), onde possivelmente os insetos apresentavam hábitos de perfuração e sucção ou se alimentavam de esporos (LABANDEIRA; SEPKOSKI, 1993; LABANDEIRA, 1998; DEL-CLARO, 2012). Os processos de diversificação e radiação das angiospermas estão diretamente ligados com as interações mutualísticas entre animais e plantas, como a polinização e a dispersão de sementes, mas também com as interações antagônicas, como herbivoria de partes reprodutivas e vegetativas (TOREZAN-SILINGARDI, 2012).

A interação inseto-planta, por envolver uma alta variedade de recursos (*e.g.* DÁTILLO; GUIMARÃES; IZZO, 2013; LANGE; DÁTILLO; DEL-CLARO, 2013), coloca as plantas sobre uma enorme pressão evolutiva causada principalmente por herbívoros (MARQUIS; RICKLEFS; ABDALA-ROBERTS, 2012; THOMPSON, 2013), sendo a herbivoria considerada a interação antagonista de maior importância (STRAUSS; CONNER; RUSH, 1996; STRAUSS, 1997; PRICE et al., 2011), já que pode comprometer diretamente o crescimento, a reprodução e a sobrevivência das plantas (TOREZAN-SILINGARDI, 2011). As plantas, por sua vez, desenvolveram estratégias de defesas químicas e físicas a fim de reduzir os danos e ataques causados por insetos (MARQUIS, 2012; CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2015). Além dessas defesas diretas, as plantas desenvolveram outro tipo de defesa, a biótica – que através de uma relação mutualística a planta oferece abrigo e/ou alimento para possíveis predadores de seus herbívoros em troca de proteção (BEATTIE, 1985; BRONSTEIN, 1998; RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007), atraindo principalmente formigas (RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; ROSUMEK et al., 2009), mas também aranhas (WHITNEY, 2004; NAHAS; GONZAGA; DEL-CLARO, 2012; STEFANI et al., 2015) e vespas (CUAUTLE; RICO-GRAY, 2003; OLSON; TAKASU; LEWIS, 2005; WÄCKERS, 2005).

Considerando a defesa biótica, o néctar extrafloral é o recurso mais comumente oferecido pelas plantas aos seus protetores pelos serviços prestados (ver BEATTIE, 1985; RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; HEIL, 2015; DEL-CLARO et al., 2016). Este exsudato é composto por carboidratos (principalmente sacarose e/ou frutose), contendo lipídios, enzimas, aminoácidos, fenóis, alcaloides e compostos orgânicos voláteis (BAKER; BAKER, 1983;

KOPTUR, 1994; BLÜTHGEN; STORK; FIEDLER, 2004; GONZÁLEZ-TEUBER; HEIL, 2009). Os nectários extraflorais (NEFs), responsáveis pela produção do néctar extrafloral, são glândulas que podem estar presentes em partes vegetativas ou reprodutivas da planta (e.g. espinhos, pericarpo, folhas, pecíolos, brácteas) (DEL-CLARO et al., 2016), mas não estão relacionados com a polinização (BENTLEY, 1977; KOPTUR, 1992). Diversos estudos têm demonstrado a eficiência protetiva das formigas contra herbívoros, contribuindo para a redução da herbivoria (OLIVEIRA; FREITAS, 2004; ROSUMEK et al., 2009; ZHANG; ZHANG; KEMING, 2015), favorecendo o crescimento das plantas e a produção de frutos e sementes (DEL-CLARO; BERTO; RÉU, 1996; OLIVEIRA, 1997; DE la FUENTE; MARQUIS, 1999; NASCIMENTO; DEL-CLARO, 2010). Porém, o resultado da interação formiga-planta nem sempre é positivo, dependendo das espécies envolvidas, o comportamento da formiga e a estrutura da planta a ser considerada (LANGE; DEL-CLARO, 2014; HANNA et al., 2015; DEL-CLARO et al., 2016). Por exemplo, em *Peixotoa tomentosa* (Malpighiaceae), a produção de frutos variou ao longo de três anos, fato que foi associado às espécies de formigas presentes na planta durante o período de estudo (DEL-CLARO, MARQUIS, 2015). Já em *Ouratea spectabilis* (Ochnaceae) a presença de formigas da espécie *Cephalotes pusillus* reduziu a floração da planta por seu hábito de consumir pólen (BYK; DEL-CLARO, 2010).

As variações temporais na abundância dos principais herbívoros e o comportamento característico de herbívoros e formigas, podem reduzir ou eliminar os efeitos positivos da presença de formigas na produtividade das plantas (VILELA; TOREZAN-SILINGARDI; DEL-CLARO, 2014). Del-Claro, Marullo e Mound (1997), demonstraram em estudos com *Peixotoa tomentosa*, que a presença de formigas dos gêneros *Ectatomma* e *Camponotus*, que forrageavam na planta durante o período de floração, foi mais crítica para os resultados de frutificação que a alta abundância de tripses nas câmaras florais, já que essas formigas não eram capazes de impedir a infestação desses herbívoros nas flores. Vilela, Torezan-Silingardi e Del-Claro (2014), após estudos com plantas da família Malpighiaceae, sendo elas: *Peixotoa tomentosa*, *Banisteriopsis laevifolia*, *Banisteriopsis campestris* e *Banisteriopsis malifolia*, sugeriram que a fenologia das plantas exerce influência direta nos resultados das interações formiga-planta-herbívoros e nas respectivas redes ecológicas envolvidas. Além disso, a presença de formigas pode ainda repelir ou reduzir a visita de polinizadores nas plantas, causando custo indireto do mutualismo na interação formiga-planta (NESS, 2006; HANNA et al., 2015). Por exemplo, em *Heteropterys pteropetala* (Malpighiaceae), as formigas visitantes de NEFs foram reconhecidas como um perigo pelas abelhas polinizadoras da planta, resultando

em uma significativa redução na frutificação (ASSUNÇÃO; TOREZAN-SILINGARDI; DEL-CLARO, 2014).

A espécie vegetal *Palicourea rigida* Kunth. (Rubiaceae), ocorre em toda a região tropical da América do Sul, sendo um arbusto muito comum no Bioma Cerrado (STEYERMARK, 1974). Alguns estudos têm sido feitos avaliando o desenvolvimento e o sucesso reprodutivo dessa planta levando em consideração tanto os fatores abióticos (HARIDASAN, 1982; MOURA; ALVES-SILVA; DEL-CLARO, 2017) quanto os bióticos (DEL-CLARO et al., 2013). Em um estudo feito com *P. rigida*, observou-se que formigas visitantes de nectários pericarpiais (NPs), um tipo específico de NEF formado sobre os ovários súperos após a queda das flores, conferem proteção contra herbivoria, agindo como um NEF; porém esses nectários não impedem que vespas parasitem seus frutos (DEL-CLARO et al., 2013), o que afeta o fitness da planta por reduzir o número de sementes viáveis (e.g. HUFFMAN, 2002). Nesse sentido, formigas estão presentes em diferentes fases fenológicas (e.g. floração e frutificação), apresentando ou não benefícios para essa espécie de Rubiaceae do cerrado. Portanto, a seguinte questão vem à tona: teriam as formigas um impacto negativo à visitação dos polinizadores em *P. rigida*, similar ao que foi observado em Malpighiaceae no cerrado? (ver ASSUNÇÃO; TOREZAN-SILINGARDI; DEL-CLARO, 2014). Ou seja, há custos adicionais e imprevistos do mutualismo nesse sistema?

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

O nosso objetivo foi avaliar se a atração de formigas para proteção contra o ataque de herbívoros pelos NPs, causa indiretamente um impacto sobre a polinização, influenciando, consequentemente, no sucesso reprodutivo de *Palicourea rigida*. Nossa principal hipótese foi que as formigas beneficiam *P. rigida*, reduzindo a ação de herbívoros foliares, aumentando assim a capacidade fotossintética da planta e seu potencial valor adaptativo. Mas que ao mesmo tempo interferem no sucesso reprodutivo da planta negativamente, pois inibem a ação dos principais polinizadores – os beija-flores.

Para alcançar o objetivo proposto, nós elaboramos as seguintes questões:

- (i) qual o impacto das formigas visitantes de NPs sobre a perda de área foliar?
- (ii) formigas apresentam maior potencial de defesa em partes reprodutivas do que em partes vegetativas?
- (iii) a presença de formigas sobre as partes reprodutivas interfere na visitação de polinizadores e, consequentemente, no sucesso reprodutivo da planta?

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área e espécie de estudo

Nós conduzimos o estudo na reserva ecológica do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU; 18°57'45"S, 48°17'30"O; 628 ha), Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, a qual apresenta como principal fitofisionomia o cerrado sentido restrito, caracterizado pela presença de árvores que podem atingir de 2 a 8 metros de altura, muitos arbustos, gramíneas e ervas perenes dispersas (LANGE; DEL-CLARO, 2014). A região possui duas estações bem definidas, sendo uma seca e outra chuvosa, com precipitação média anual de 1500 mm, ocorrendo principalmente entre os meses de outubro e abril (FERREIRA; TOREZAN-SILINGARDI, 2013). O período de coleta de dados ocorreu durante a estação chuvosa, entre novembro de 2016 e fevereiro de 2017.

Utilizamos a espécie de planta *P. rigida*, a qual possui flores com corolas em formato tubular, amarelo-avermelhadas (Figura 1a e 1b), as quais, após a polinização, caem e o anel sepal continua ativo, produzindo néctar sobre os frutos durante todo o seu desenvolvimento (DEL-CLARO et al., 2013), constituindo um NP (Figura 1c). A planta exibe adaptações para polinização por beija-flores (TAYLOR, 1996), apresenta fruto globoso (Figura 1c e 1d), carnoso (MACHADO et al., 2005; WÜTHERICH et al., 2001), ornitocórico e com coloração roxa quando maduro (WÜTHERICH et al., 2001). Seu período de floração ocorre de outubro a janeiro e a frutificação de fevereiro a maio (MACHADO et al., 2005).

3.2. Observações de visitantes florais e formigas

Para esse experimento, nós utilizamos 15 plantas com arquiteturas semelhantes (aproximadamente 1m de altura e com três inflorescências) e distantes pelo menos 5 metros umas das outras. Os visitantes florais e as formigas foram registrados semanalmente, durante todo o período de coleta de campo, através de registros fotográficos e observações visuais de dez minutos de duração em cada planta, começando às 6:00 horas e terminando às 18:00 horas. Um exemplar de cada inseto floral visitante e das diferentes espécies de formigas foi coletado e identificado no Laboratório de Ecologia Comportamental e de Interações – LECI, na Universidade Federal de Uberlândia.

Figura 1. Estruturas reprodutivas em *Palicourea rigida* (Rubiaceae). Botões florais em estágio jovem de desenvolvimento (a); botões em estágio jovem e avançado de desenvolvimento e flor recém aberta (indicada pela seta branca) (b); nectário pericarpial ativo (indicado pela seta branca) e *Ectatomma tuberculatum* coletando néctar (c); frutos em desenvolvimento (d). Escala: 5mm (a); 13 mm (b); 5 mm (c); 12 mm (d). Fotos: Priscila B. Cardoso.

3.3. Experimento de herbivoria foliar

Para testarmos se a presença de formigas protege a planta contra a ação de herbívoros foliares, nós marcamos 30 indivíduos de *P. rigida* com aproximadamente 1 metro de altura e no mesmo estado fenológico. As plantas foram sorteadas e divididas em dois grupos: 15 indivíduos no grupo controle e 15 indivíduos no grupo tratamento. No grupo tratamento todos os indivíduos tiveram todas as formigas manualmente excluídas no primeiro dia do experimento. Na base da planta, a cerca de 20 cm do solo, aplicamos uma resina atóxica (Tanglefoot®) que serve como uma barreira, impedindo o acesso das formigas às plantas. Também foram retirados quaisquer ramos de plantas próximas que possibilitassem o acesso das formigas nesses indivíduos, como pontes formadas por ramos ou folhas. No grupo controle não houve qualquer manipulação, tendo as formigas livre acesso à planta. A mesma

resina foi aplicada em um dos lados do caule a 20 cm do solo, sem impedir a passagem das formigas. Em cada uma das 15 plantas de cada tratamento foram marcadas três folhas no início do desenvolvimento com linha de algodão verde, que foram devidamente identificadas como folha 1, 2 e 3, para que as análises de perda de área foliar fossem realizadas sempre na mesma folha (F1, F2 e F3). Nós calculamos a perda de área foliar em três estágios diferentes de desenvolvimento (folha jovem, intermediária e adulta) a partir de imagens fotográficas das folhas digitalizadas e analisadas no programa ImageJ 1.50e (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2015). O cálculo dessa taxa de herbivoria foi feito de maneira não cumulativa, ou seja, a taxa de herbivoria de uma folha em fase intermediária ou adulta de desenvolvimento será a perda de área foliar na fase em questão menos a perda da área foliar da fase anterior (por exemplo, se a taxa de herbivoria na fase adulta foi de 43% e na fase intermediária de 21%, então a área foliar que foi consumida na fase adulta foi de 22%). Isso nos fornece exatamente o que foi consumido em determinada fase do desenvolvimento foliar e como as defesas foliares estão atuando ao longo do desenvolvimento da folha.

3.4. Experimento formigas x cupins

Para observar e avaliar o efeito indireto das formigas sobre herbívoros em plantas com e sem NPs utilizamos como herbívoros, ninfas vivas de cupim. Essas ninfas foram coladas (cola branca comum e atóxica) de costas, na parte basal do pecíolo das folhas e na base das inflorescências. Foram utilizados um total de quatro cupins por planta (dois nas inflorescências e dois nas folhas), sendo que sempre foi colocado um indivíduo por vez. Esse procedimento foi realizado em 15 plantas de *P. rigida* e em 15 plantas de *Miconia albicans* (Melastomataceae) planta sem nectários ou herbívoro throphobionte. Todos os indivíduos de *M. albicans* foram selecionados próximos aos indivíduos de *P. rigida*, não mais que dois metros, e com características similares uns com os outros. Além disso, nós tentamos padronizar o máximo possível a altura e o local do cupim entre as duas espécies de plantas. O comportamento das formigas e o tempo de demora para encontrar ou remover os cupins foram observados e avaliados durante quinze minutos por planta.

3.5. Experimento formigas x polinizadores

Com o intuito de avaliarmos o efeito da presença de formigas sobre o comportamento dos polinizadores, foram marcados 60 indivíduos de *P. rigida* com ramos reprodutivos e

estado fenológico geral semelhante. Os indivíduos foram divididos em quatro grupos, por sorteio, sendo eles:

1. Grupo Controle: em quinze indivíduos aplicamos a resina atóxica em apenas uma pequena porção de sua base, permitindo o forrageamento de formigas na planta e marcamos uma inflorescência de cada planta.
2. Grupo Plástico: em quinze indivíduos aplicamos a resina atóxica à 20 cm do solo, ao redor de toda a base da planta impedindo o acesso de formigas e três círculos de material emborrachado (E.V.A) marrons (5mm de diâmetro) foram alfinetados sobre uma inflorescência de *P. rigida* próximos às flores abertas.
3. Grupo Formigas: este grupo de quinze indivíduos recebeu o mesmo tratamento que o grupo Plástico. Entretanto, ao invés de círculos de plástico, foram utilizadas três formigas mortas da espécie *Ectatomma tuberculatum*. Essas formigas foram montadas em postura natural e alfinetadas sobre a inflorescência.
4. Grupo Sem Formigas: em quinze indivíduos aplicamos a resina atóxica, à 20 cm do solo, ao redor de toda a base da planta impedindo o acesso de formigas.

Nós marcamos e observamos por trinta minutos cada planta, com um total de dez flores por inflorescência, onde após a visita cada flor visitada foi marcada com linha de algodão colorida de cores distintas. A ocorrência e o horário de visitação de polinizadores e formigas (presentes apenas no grupo Controle), assim como a formação de frutos, foram quantificados. Nos quatro grupos, as inflorescências com botões florais (pré-antese) foram previamente ensacadas no dia anterior às observações e as visitas dos insetos só foram permitidas no horário da realização do experimento. Após as observações em cada planta, o saco foi recolocado sobre as inflorescências.

3.6. Experimento de sucesso reprodutivo

Para testarmos se a presença de formigas interfere na produção de frutos, nós marcamos 26 indivíduos de *P. rigida* com aproximadamente 1 metro de altura e no mesmo estado fenológico. As plantas foram sorteadas e divididas em dois grupos: 13 indivíduos no grupo controle e 13 indivíduos no grupo tratamento. No grupo tratamento todos os indivíduos tiveram todas as formigas manualmente excluídas no primeiro dia do experimento. Na base da planta, a cerca de 20 cm do solo aplicamos a resina atóxica, impedindo o acesso de formigas às plantas. Também foram retirados quaisquer ramos de plantas próximas que possibilitassem

o acesso das formigas nesses indivíduos, como pontes formadas por ramos ou folhas. No grupo controle não houve qualquer manipulação, tendo as formigas livre acesso à planta. Apenas um pouco da resina foi aplicada em um dos lados do caule a 20 cm do solo, sem impedir a passagem das formigas. A coleta de dados foi feita semanalmente, na qual realizamos a contagem de todos os botões florais (Figura 1a), flores (Figura 1b) e frutos (Figuras 1c e 1d) formados em uma inflorescência marcada em cada planta dos grupos tratamento e controle.

3.7. Análise de dados

Para as análises das taxas de herbivoria entre os grupos controle e tratamento utilizamos a média das três folhas analisadas de cada planta e fizemos uma ANOVA para dois fatores após verificar os pressupostos da análise e utilizar transformação de classificação alinhada (em inglês “aligned rank transform”), a qual permite realizar um teste não-paramétrico para ANOVA fatoriais (HIGGINS; BLAIR; TASHTOUSH, 1990; WOBBROCK et al., 2011). Os fatores utilizados foram: Tratamento (controle e tratamento) e Idade (jovem, intermediária e adulta). Utilizamos o teste de Kruskal-Wallis e teste a posteriori de Dunn para analisar a diferença de tempo gasto pelas formigas em plantas com e sem NPs para encontrar os cupins em diferentes partes das plantas. Nós fizemos o teste chi-quadrado e um post-hoc através de múltiplos testes de chi-quadrado entre os pares de grupos e ajustamos o valor de p com o método de FDR, utilizando o pacote Fifer do software R, para analisarmos a quantidade de frutos formados em cada tratamento (C, P, F, SF) dentro do experimento “formigas x polinizadores”. A partir dos dados de sucesso reprodutivo coletados nós calculamos os índices de frutificação dos indivíduos de cada grupo, utilizando o número de frutos formados dividido pelo número de botões produzidos e utilizamos teste t para comparar as médias entre os grupos. Nós conduzimos todas as análises utilizando o software RStudio 1.0.143 a nível de 5% de significância e todos os gráficos foram feitos no programa GraphPad Prism 6.0.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Visitantes florais e formigas

Os visitantes florais observados com maior frequência foram os beija-flores das espécies *Amazilia fimbriata* Gmelin, 1788 (Figura 2a), *Eupetomena macroura* Gmelin, 1788 (Figura 2b) e *Chlorostilbon lucidus* Shaw, 1812 (Figura 2c). Foram observados lepidópteros dos gêneros *Heraclides* sp. (Figura 2d) e *Urbanus* sp. (2e) coletando néctar das flores. Também uma variedade de espécies de abelhas visitou a planta: *Epicharis cockerelli* Friese, 1900 (Figura 2f); *Euglossa* sp. (Figura 2g); *Ceratina* sp. 1 (Figura 2h); *Ceratina* sp. 2 (Figura 2i); *Xylocopa* sp.; *Oxaea flavescens* Klug, 1807; *Augochloropsis* sp.; *Trigona spinipes* Fabricius, 1793 e *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Tabela 1).

Tabela 1. Visitantes florais de *Palicourea rigida* no Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia.

Aves		
Família / Espécie	Fa(Fr%)¹	Atividade
Trochilidae		
<i>Amazilia fimbriata</i> Gmelin, 1788	202(33,6)	PEF
<i>Chlorostilbon lucidus</i> Shaw, 1812	253(42,1)	PEF
<i>Eupetomena macroura</i> Gmelin, 1788	41(6,83)	PEF
Insetos		
Família / Espécie	Fa(Fr%)¹	Atividade
Apidae		
<i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758	2(0,3)	VF
<i>Ceratina</i> sp. 1	3(0,5)	VF
<i>Ceratina</i> sp. 2	12(2,0)	VF
<i>Epicharis cockerelli</i> Friese, 1900	6(1,0)	VF
<i>Euglossa</i> sp.	41(6,8)	VF
<i>Trigona spinipes</i> Fabricius, 1793	2(0,3)	VF
<i>Xylocopa</i> sp.	5(0,8)	VF
Andrenidae		
<i>Oxaea flavescens</i> Klug, 1807	15(2,5)	VF
Halictidae		
<i>Augochloropsis</i> sp.	2(0,3)	VF
Papilionidae		
<i>Heraclides</i> sp.	6(1,0)	VF
Hesperiidae		
<i>Urbanus</i> sp.	10(1,6)	VF

¹Números representam frequência absoluta (frequência relativa em %). PEF – efetivo/ VF – visitante floral.

Tabela 2. Formigas visitantes dos nectários pericarpiais em *Palicourea rigida*.

Subfamília/espécies
Formicinae
<i>Camponotus crassus</i> Mayr, 1862
Myrmicinae
<i>Crematogaster</i> sp.
Dolichoderinae
<i>Dolichoderus</i> sp.
<i>Tapinoma</i> sp.
Ectatomminae
<i>Ectatomma tuberculatum</i> (Olivier, 1792)
Pseudomyrmecinae
<i>Pseudomyrmex gracillis</i> Fabricius, 1804

Figura 2. Visitantes florais de *Palicourea rigida*. Exemplos de visitantes florais de *P. rigida* (Rubiaceae). *Amazilia fimbriata* (a); *Eupetomena macroura* (b); *Chlorostilbon lucidus* (c); *Heraclides* sp. (d); *Urbanus* sp. (e); *Epicharis cockerelli* (f); *Euglossa* sp. (g); *Ceratina* sp. 1 (h) e *Ceratina* sp. 2 (i). Escala: 66 mm (a); 50 mm (b); 28 mm (c); 25 mm (d); 22 mm (e); 18 mm (f); 16 mm (g); 18 mm (h); 9 mm (i). Fotos: Priscila B. Cardoso e Eduardo C. Soares.

As espécies de formigas observadas na planta foram: *Camponotus crassus* Mayr, 1862 (Figura 3a e 3b); *Crematogaster* sp. (Figura 3c); *Tapinoma* sp. (Figura 3d); *Dolichoderus* sp. (Figura 3e); *Ectatomma tuberculatum* Oliver, 1792 (Figura 3f); *Pseudomyrmex gracilis* Fabricius, 1804 (Tabela 2).

Figura 3. Formigas visitantes de nectários pericarpiais em *Palicourea rigida* (Rubiaceae) na Reserva Ecológica do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia - MG. *Camponotus crassus* (a) e (b); *Crematogaster* sp. (c); *Tapinoma* sp. (indicada pelo círculo branco) (d); *Dolichoderus* sp. (indicada pelo círculo branco) (e) e *Ectatomma tuberculatum* (f). Escala: 5 mm (a); 3 mm (b); 7 mm (c); 6 mm (d); 5 mm (e); 5 mm (f). Fotos: Priscila B. Cardoso.

4.2. Herbivoria foliar

Nossos resultados demonstraram que a interação entre os dois fatores analisados (Tratamento e Idade) não influenciaram na taxa de herbivoria foliar (Tratamento*Idade: $F_{[2,82]}=2,435$; $p=0,09$; Tab. 3 e Fig. 4). Entretanto, foi constatado que os fatores analisados isoladamente interferem na taxa de herbivoria (Tab. 3).

Ao analisar o fator Tratamento isoladamente, observamos que o grupo sem formigas apresentou uma taxa média de herbivoria quase duas vezes maior do que o grupo controle (sem formiga: $1,65 \pm 3,53$ %; controle: $0,92 \pm 1,66$ %; média $\pm$ desvio padrão). Além disso, folhas jovens foram as que sofreram maior perda de área foliar, ou seja, taxa de herbivoria ($1,42 \pm 3,02$ %; média $\pm$ desvio padrão), seguidas pelas folhas intermediárias ($1,39 \pm 3,12$ %) e pelas folhas adultas ($1,34 \pm 3,13$ %), respectivamente.

Tabela 3. Análise de variância dois fatores (Tratamento e Idade) para folhas de *Palicourea rigida* (Rubiaceae), comparando as taxas de herbivoria foliares em plantas com e sem formigas (fator tratamento) e folhas em estágio jovem, intermediário e adulta (fator idade).

ANOVA	SS	DF	F	Valor de p
Tratamento	2023,2	1	$F_{[1,82]}=4,059$	$p=0,047$
Idade	6129,8	2	$F_{[2,82]}=6,516$	$p=0,002$
Tratamento*Idade	2382,2	2	$F_{[2,82]}=2,435$	$p=0,093$

Figura 4. Taxa de herbivoria em folhas de *Palicourea rigida* (Rubiaceae) em diferentes estágios de desenvolvimento e entre os tratamentos. Barras representam média e desvio padrão. Anova para dois fatores (Tratamento: $F_{[1,84]}=4,059$; $p=0,047$; Idade: $F_{[2,84]}=6,516$; $p=0,002$; Tratamento*Idade: $F_{[2,82]}=2,435$; $p=0,09$).

4.3. Formigas x cupins

Houve diferença significativa no tempo necessário para as formigas encontrarem os cupins levando em consideração a presença de NPs e as diferentes localizações dentro das plantas ($H=54,67$; $p<0,001$; $df=3$; Fig. 5). Cupins localizados nas inflorescências de *P. rigida* foram encontrados mais rapidamente ($247,1 \pm 236,8$ segundos; média $\pm$ desvio padrão), seguidas pelos cupins em folhas de *P. rigida* ($512,2 \pm 350,7$ segundos), folhas de *M. albicans* ($683,9 \pm 286,7$ segundos) e inflorescência de *M. albicans* ($900,0 \pm 0,0$ segundos), respectivamente.

Figura 5. Efeito indireto das formigas sobre herbívoros em inflorescências e folhas de *Palicourea rigida* (Rubiaceae) e *Miconia albicans* (Melastomataceae). MF- Folha de *Miconia albicans*; MI- Inflorescência de *M. albicans*; PF- Folha de *Palicourea rigida*; PI- Inflorescência de *P. rigida*. As barras representam os valores médios com o desvio padrão. *** $H=54,67$, $p<0,001$, $df=3$. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Dunn a nível de 5% de significância.

4.4. Formigas x polinizadores e sucesso reprodutivo

Nós observamos que houve diferença significativa entre o número de frutos formados entre os quatro grupos ($\chi^2=11.009$; $df=3$; $p<0.01$). O grupo que apresentou maior porcentagem de produção de frutos foi o grupo Plástico (43%), seguido pelos grupos Controle e Sem Formiga (ambos 41%) e finalmente pelo grupo Formiga (23%). Ao avaliar o sucesso reprodutivo de *P. rigida* não houve diferença significativa do índice de frutificação entre os grupos controle e tratamento ($t=0,248$; $p<0,05$; $df=25$).

Figura 6. Frutificação em *Palicourea rigida* (Rubiaceae) em diferentes tratamentos C- Controle; P- Plástico; F- com Formigas; SF- Sem Formigas. $**\chi^2=11,009$; $df=3$; $p<0,01$. Letras diferentes diferem entre si através de múltiplos testes de chi-quadrado entre os pares de grupos e ajuste do valor de p com o método de FDR.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

As formigas beneficiam *P. rigida*, reduzindo a ação de herbívoros foliares, no entanto interferem na formação de frutos, já que inibem a ação dos principais polinizadores da planta – os beija-flores. Assim sendo, a hipótese principal desse estudo, foi corroborada, ou seja, há custos adicionais e imprevistos do mutualismo nesse sistema. Geralmente os estudos sobre mutualismo são focados nas vantagens das interações entre os envolvidos, entretanto a variação ecológica dessas vantagens e seu significado evolutivo precisa ser levado em consideração, já que o mutualismo pode impor custos aos seres envolvidos e esses custos podem variar no tempo e no espaço (BRONSTEIN, 1998). Os custos indiretos do mutualismo são o foco de poucos estudos (ASSUNÇÃO; TOREZAN-SILINGARDI; DEL-CLARO, 2014), sendo esse o primeiro a avaliar os custos indiretos do mutualismo formiga-planta sobre a produção de frutos em plantas polinizadas por aves. Esta é, portanto, uma importante contribuição para o melhor entendimento das relações formiga-planta-polinizador e o funcionamento e estruturação dos sistemas de mutualismos protetivos baseado na oferta de recurso em troca de proteção.

Os polinizadores representam um papel fundamental para o sucesso reprodutivo das angiospermas (BASCOMPTE; JORDANO, 2007), mas não podemos generalizar caracterizando como polinizador efetivo da planta todo e qualquer visitante floral, já que estes buscam recursos nas flores, mas nem sempre realizam o serviço de polinização (ALVES-DOS-SANTOS et al., 2016). Para ser um polinizador efetivo o animal deve fazer visitas legítimas e frequentes à planta, carregar pólen, tocar o estigma, ter fidelidade à planta e desenvolver rota de voo que permita a visita em flores da mesma espécie (ALVES-DOS-SANTOS et al., 2016).

Portanto, nós consideramos como polinizadores efetivos de *P. rigida* apenas os beija-flores, já que os mesmos são os principais polinizadores da planta (Figura 8a e 8b) (ver MACHADO et al., 2010), exercendo visitas legítimas (contatando as estruturas reprodutivas, sensu van der PIGJL, 1982) e com alta frequência de visitação. As abelhas e as duas espécies de Lepidoptera foram consideradas apenas visitantes florais, já que não qualificamos sua eficiência como polinizadores durante o desenvolvimento do trabalho.

Dentre as espécies de formigas encontradas no nosso estudo, a espécie de formiga *Camponotus crassus* foi a mais comum em indivíduos de *P. rigida*, corroborando com os resultados obtidos por Del-Claro et al. (2013). Muitos estudos no cerrado relacionados com interação formiga-planta demonstraram a grande riqueza de formigas do gênero *Camponotus* (e.g. SENDOYA et al., 2009, LANGE; DEL-CLARO, 2014, LANGE; CALIXTO; DEL-

CLARO, 2017), tendo alta representatividade no cerrado durante o dia e a noite (OLIVEIRA; FREITAS, 2004). Além disso, *C. crassus* é considerada a espécie de formiga mais dominante em vegetações do cerrado (LANGE, DEL-CLARO, 2014; DEL-CLARO et al., 2016), com atividades de forrageamento durante o dia (GUERRA et al., 2016), as quais nesse período demonstra agressividade perante indivíduos de outras espécies, principalmente em plantas que apresentam NEFs (ANJOS et al., 2016).

Figura 8. Exemplos de visitantes florais e formigas de *P. rigida* (Rubiaceae). *Chlorostilbon lucidus* com pólen aderido ao bico (a); *Amazilia fimbriata* com pólen aderido ao bico (b); *Ectatomma tuberculatum* capturando formiga da espécie *Tapinoma* sp. (c) e se dirigindo ao ninho (d); *Camponotus crassus* em direção à flor durante a visita de *Ceratina* sp. 2 (e); *Camponotus crassus* em posição de defesa com a aproximação de *Ceratina* sp. 2 (f). Escala: 25 mm (a); 28 mm (b); 4 mm (c); 4 mm (d); 9 mm (e); 8 mm (f). Fotos: Priscila B. Cardoso.

As formigas visitantes de NPs em *P. rigida* protegem a planta contra herbívoros foliares, uma vez que nossos resultados mostraram que no grupo sem formiga houve uma taxa de herbivoria duas vezes maior que no grupo controle. Portanto, fica claro que a interação das formigas com a planta é positiva, se considerarmos a herbivoria como um evento isolado. Sabe-se que a oferta de néctar extrafloral é um importante e rico recurso alimentar para muitos artrópodes (RUHREN; HANDEL, 1999), principalmente para formigas das subfamílias Myrmicinae, Formicinae e Dolichoderinae (ver OLIVEIRA; BRANDÃO, 1991; BYK; DEL-CLARO, 2011), e responsável por mantê-las constantemente forrageando por toda a planta (DÁTILLO et al., 2009), impedindo assim a ação de herbívoros foliares. Porém, a efetividade da proteção pode apresentar variações entre os micro-habitat, dependendo da agressividade da espécie de formiga, das estratégias defensivas dos insetos herbívoros presentes na planta e ainda a espécie de planta envolvida (DEL-CLARO; SANTOS, 2000; DEL-CLARO; MARQUIS, 2015).

Quando avaliamos a taxa de herbivoria relacionada à idade das folhas, encontramos mais herbivoria em folhas no estágio jovem, seguidas pelas do estágio intermediária e adultas, respectivamente. Podemos sugerir que essa variação de herbivoria está ligada à defesa física da planta, que em geral, representa juntamente com a defesa química (quando presente) a primeira linha de defesa contra herbivoria (CRAWLEY, 1983; MARQUIS et al., 2012). Com o desenvolvimento das folhas a dureza foliar aumenta (PEETERS, 2002; CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2015), o que é uma importante estratégia de defesa para a planta, afetando a morfologia e comportamento alimentar de herbívoros (CRAWLEY, 1983; RAUPP, 1985; KORNDÖRFER; DEL-CLARO, 2006). É comum a vegetação do cerrado adquirir defesas ao longo de seu desenvolvimento, como o acúmulo de metabólitos secundários e o desenvolvimento de tecidos (esclerênquima e hipoderme), resultando em dureza foliar (VARANDA et al., 2005). Em plantas como *Qualea multiflora*, os tipos de defesa biótica e física se alternam durante todo o desenvolvimento da planta, garantindo assim uma melhor estratégia de defesa anti-herbivoria (CALIXTO; LANGE; DEL-CLARO, 2015).

Considerando a presença ou não de NPs e as diferentes localizações das iscas de cupim nas plantas, a agilidade de defesa das formigas em *P. rigida* foi significativamente maior do que em *Miconia albicans*. Formigas que forrageiam em plantas podem se alimentar de vários tipos de recurso como secreções de hemípteros, secreções de lagartas, animais capturados, animais mortos, entre outros (BLÜTHGEN; FELDHAAR, 2010; CERDÁ; DEJEAN, 2011). Considerando que os NPs representam um recurso constante e previsível, já

era esperado um maior número de formigas forrageando e, conseqüentemente, uma maior agilidade de captura em *P. rigida*, já que *M. albicans* não possui essas estruturas ou qualquer outro atrativo para formigas. Além disso, plantas com NEFs, como *P. rigida*, podem representar uma excelente fonte de recurso, principalmente nitrogênio, açúcares e água (NESS; MORRIS; BRONSTEIN, 2009), o que pode influenciar diretamente no padrão de forrageamento de formigas (ver BIXENMANN; BIXENMANN; COLEY; KURSAR, 2011; LANGE; CALIXTO; DEL-CLARO, 2017).

Dentro de *P. rigida*, nós observamos que as formigas encontraram mais rapidamente cupins nas inflorescências do que nas folhas. Segundo Oliveira (1997), quanto mais próxima às formigas estão dos nectários mais eficiente é a proteção nessas regiões. Sendo assim, espera-se uma maior eficiência e velocidade no encontro e captura das iscas nas inflorescências. Por outro lado, resultado diferente foi encontrado em *M. albicans*, onde o tempo de encontro dos cupins nas folhas mais rápido do que nas inflorescências. Como vimos, muitas formigas forrageiam em plantas à procura de recursos. Durante nossos experimentos, poucas formigas foram observadas forrageando em *M. albicans*, mas quando presentes apresentavam um padrão de forrageamento. Nós observamos que essas formigas, principalmente *C. crassus*, patrulhavam partes inferiores das plantas, ou seja, as folhas e ramos mais baixos, sendo que não foi visto nenhuma formiga nas inflorescências dessa planta durante os momentos de coleta. Sendo assim, esse padrão de forrageamento de formigas que forrageiam em plantas sem recursos alimentares constantes e previsíveis (e.g. NPs) pode ser uma explicação para os resultados encontrados nesse experimento.

Além do gênero *Camponotus* ser considerado o mais efetivo nas interações formiga-planta, por se alimentarem de exsudatos de plantas ou insetos (DAVIDSON et al., 2003), recentemente, Fagundes et al. (2017) mostraram que *C. crassus* foi a formiga mais rápida e eficiente em capturar cupins que foram colocados como iscas em plantas com NEFs. Sendo assim, podemos verificar que nosso estudo comprova a ação de formigas contra o ataque de herbívoros, principalmente as formigas da espécie *C. crassus*. Nossos resultados sugerem que os beija-flores conseguem avaliar e distinguir a presença e a espécie de formiga ao visitar as flores de *P. rigida*, já que o número de frutos formados no grupo com formigas *E. tuberculatum* alfinetadas foi significativamente menor (23%), se comparado aos demais grupos, que não diferiram entre si (41-43%). Em condições naturais pudemos observar que as aves visitavam plantas dos grupos Sem formiga, Plástico e Controle, sendo que esse último apresentava numerosos indivíduos de formigas da espécie *C. crassus*, enquanto que evitava as inflorescências que apresentavam *E. tuberculatum*. Estudos realizados no cerrado brasileiro

demonstraram a capacidade que alguns insetos como, borboletas (SENDOYA; FREITAS; OLIVEIRA, 2009) e abelhas (ASSUNÇÃO; TOREZAN-SILINGARDI; DEL-CLARO, 2014), têm de reconhecer a forma e evitar o contato com algumas espécies de formigas. Sabe-se que os beija-flores apresentam complexa capacidade cognitiva (INOUE, 1980; IRWIN et al., 2010), sendo até mesmo capazes de reconhecer flores de *Heliconia spathocircinata* infestadas internamente por larvas de Diptera, possivelmente pela redução da quantidade de néctar ofertado pela planta (MISSAGIA; ALVES, 2017). Nós não encontramos estudos que avaliaram o comportamento de aves perante a presença de formigas em plantas por eles polinizadas, mas sugerimos que determinadas formigas podem apresentar um impacto direto no comportamento dessas aves.

Ao realizarmos o experimento de sucesso reprodutivo apenas com os grupos controle e tratamento, com e sem formigas respectivamente, a taxa de frutificação não apresentou diferença, o que corrobora os resultados do experimento “formigas x polinizadores” para os grupos (Controle e Sem Formiga), que também não apresentou diferenças. Tal resultado pode ser atribuído ao fato que no momento de visitação das flores pelos beija-flores, formigas das espécies *C. crassus*, *Tapinoma* sp., *Crematogaster* sp. e *Dolichoderus* sp. evitavam o contato com a ave saindo da inflorescência em direção a raque. Esse fato pode estar associado ao comportamento alimentar de algumas espécies de beija-flores dependerem da ingestão de artrópodes, na qual algumas espécies dedicam de 2-15% do tempo de forrageamento diário para capturar insetos (PYKE, 1980), outros despendem até 70% do forrageamento total para captura de coleópteros (WOLF, 1970), existindo ainda espécies exclusivamente insetívoras (STILES, 1995). Esta variação da dependência de artrópodes pode ser função de sua ampla e dispersa distribuição em contraste com fontes de néctar que são pontuais no tempo e no espaço (TOLEDO; MOREIRA, 2006). Diante disso, algumas espécies de formigas podem ter associado a presença dos beija-flores como um perigo em potencial, justificando seu comportamento de fuga durante as visitas das aves. Em um outro estudo, Holland, Chamberlain e Miller (2011) também não encontraram diferenças na taxa de frutificação de *Pachycereus schottii* (Cactaceae) em experimentos com e sem formigas, mas sugeriram que os NEFs podem atuar como uma distração para as formigas, melhorando a interação planta-polinizador e reduzindo o parasitismo na planta. O que não pode ser aplicado ao nosso estudo, diante do fato de que os NPs estão localizados nas estruturas reprodutivas da planta, não havendo o afastamento das formigas das flores, já que essas formigas já estavam presentes nas plantas, antes mesmo da formação dos NPs.

O comportamento de fuga perante a presença dos beija-flores não foi visto para a espécie de formiga *E. tuberculatum*, a qual permanecia nos NPs ou sobre as flores, em posição fixa e com as mandíbulas abertas. Assim que o beija-flor saía da inflorescência, as formigas voltavam às suas atividades de visita aos NPs. Esse comportamento atípico de *E. tuberculatum* também foi visto por Assunção, Torezan-Silingardi e Del-Claro (2014). Esses autores mostraram que essa espécie de formiga pode permanecer em partes reprodutivas e até preda alguns visitantes florais, como abelhas. Além disso, de acordo com Davidson et al. (2003), formigas visitantes de NEFs complementam frequentemente sua dieta predando insetos que eventualmente encontram sobre as plantas, o que também foi visto nesse estudo através do comportamento predatório de *E. tuberculatum* com formigas do gênero *Tapinoma* que estavam em grande número visitando NPs (Figura 8c e 8d).

Com relação às interações das abelhas com as formigas, observamos diversas vezes as mesmas serem impedidas de visitar a planta ou atacadas durante suas visitas, por formigas das espécies *C. crassus* (Figura 8e e 8f) e *E. tuberculatum*, constatando que a presença das abelhas nas inflorescências de *P. rigida* não é temida pelas formigas. Observamos ainda que as abelhas evitavam o forrageio em flores com muitas formigas próximas, preferindo realizar as coletas de néctar ou pólen em flores sem formigas por perto. Por fim, em estudo com *Ferocactus wislizeni* (Cactaceae), as abelhas polinizadoras gastavam menos tempo de forrageio em plantas com formigas, se comparadas ao tempo de visita em plantas sem formigas por perto, interferindo negativamente na produção de sementes nos frutos (NESS, 2006).

CONCLUSÃO GERAL

6. Conclusão Geral

Os resultados que apresentamos nesse estudo demonstram que *Palicourea rigida* possui um sistema complexo de interações, envolvendo formiga-planta-polinizador. Ao mesmo tempo que a interação com as formigas atraídas pela planta, em razão da oferta de néctar extrafloral, resulta em proteção contra herbívoros. O que pode ser aliado à defesa física durante os estágios intermediários e adultos das folhas. Essa proteção oferecida pelas formigas pode resultar em um efeito negativo na interação planta-polinizador, dependendo da espécie de formiga presente no momento da visita do polinizador. Isso é especialmente verdadeiro para beija-flores e abelhas, que são capazes de reconhecer a presença de formigas e evitar as flores onde essas estão. Estudos como o nosso, envolvendo relações tritróficas principalmente com plantas que apresentam nectários extraflorais e são polinizadas por beija-flores estão apenas no início, sendo necessários mais estudos para analisar a relação entre as plantas e esses animais, com o intuito de termos uma visão das comunidades como um todo e o impacto dessas interações para a diversidade. Mas nossos resultados indicam que a redução na atividade polinizadora de beija-flores por formigas, em plantas extranectaríferas, pode ser um custo adicional desse mutualismo protetivo.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS¹

- ALVES-DOS-SANTOS, I.; SILVA, C. I.; PINHEIRO, M.; KLEINERT, A. M. P. Quando um visitante floral é um polinizador? **Rodriguésia**, v. 67, n. 2, p. 295-307. 2016.
- ANJOS, D. et al. Extrafloral-nectaries and interspecific aggressiveness regulate day/night turnover of ant species foraging for nectar on *Bionia coriacea*. **Austral Ecology**, p. 1-12. 2016.
- ASSUNÇÃO, M. A.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Do ant visitors to extrafloral nectaries of plants repel pollinators and cause an indirect cost of mutualism? **Flora**, v. 209, p. 244-249. 2014.
- BAKER, H. G.; BAKER, I. A brief historical review of the chemistry of floral nectar. In: BENTLEY, B.; ELIAS, T. (Eds.). **The biology of nectaries**. New York: Columbia University Press, 1983, p. 126-152.
- BASCOMPTE, J.; JORDANO, P. Plant-animal mutualistic networks: the architecture of biodiversity. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 38, p. 567-593. 2007.
- BEATTIE, A. J. **The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms**. New York: Cambridge University Press, 1985. 182 pp.
- BENTLEY, B. L. Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards. **Annu. Rev. Ecol. Syst.**, v. 8, p. 407-427. 1977.
- BIXENMANN, R. J.; COLEY, P. D.; KURSAR, T. A. Is extrafloral nectar production induced by herbivores or ants in a tropical facultative ant-plant mutualism? **Oecologia**, v. 165, n. 2, p. 417-425. 2011.
- BLÜTHGEN, N.; STORK, N. E.; FIEDLER, K. Bottom-up control and cooccurrence in complex communities: honeydew and nectar determine a rainforest ant mosaic. **Oikos**, v. 106, p. 344-358. 2004.
- BLÜTHGEN, N.; FELDHÄAR, H. Food and shelter: how resources influence ant ecology. In: LACH, L.; PARR, C. L.; ABBOTT, K. L. (Eds.). **Ant Ecology**. New York: Oxford University Press Inc., 2010. p. 115-136.
- BRONSTEIN, J. L. The contribution of ant plant protection studies to our understanding of mutualism. **Biotropica**, v. 30, p. 150-161. 1998.
- BYK, J. & DEL-CLARO, K. Ant-plant interaction in the Neotropical savanna: direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. **Population Ecology**, v. 53, n. 2, p. 327-332. 2011.
- 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 Ethol.**, v. 13, p. 33-38. 2010.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).

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

CERDÁ, X.; DEJEAN, A. Predation by ants on arthropods and other animals. In: POLIDORI, C. (Ed.). **Predation in the Hymenoptera: an evolutionary perspective**. India: Transworld Research Network, 2011. p. 39-78.

CRAWLEY, M. J. Herbivory, the Dynamics of Animal–plant Interactions. **Blackwell Science Publications**, Oxford. 1983.

CUAUTLE, M.; RICO-GRAY, V. The effects of wasps and ants on the reproductive success of the extrafloral nectaried plant *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). **Functional Ecology**, v. 17, p. 417-423. 2003.

DÁTILLO, W. et al. Interações mutualísticas entre formigas e plantas. **Entomo Brasilis**, v. 2, p. 32-36. 2009.

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

DAVIDSON, D. W. et al. Explaining the abundance of ants in lowland tropical rainforest canopies. **Science**, v. 300, p. 969-972. 2003.

DE la FUENTE, M. A.; MARQUIS, R. J. The role of ant-tended extrafloral nectaries in the protection and benefit of a Neotropical rainforest tree. **Oecologia**, v. 118, p. 192-202. 1999.

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

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

DEL-CLARO, K. Origens e importância das relações plantas-animais para a ecologia e conservação. In: DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. (Eds.). **Ecologia das interações plantas-animais: uma abordagem ecológico-evolutiva**. Rio de Janeiro: Technical Books, 2012. p. 37-50. ISBN 978-85-61368-22-7.

DEL-CLARO, K.; BERTO, V.; RÉU, W. Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). **J. Trop. Ecol.**, v. 12, p. 887-892. 1996.

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. 4, p. 459-467. 2015.

DEL-CLARO, K.; MARULLO, R.; MOUND, L. A. A new species of *Heterothripes* (Thysanoptera) from Brazilian cerrados and its interactions with ants. **J. Nat. Hist.**, v. 31, p. 1307-1312. 1997.

DEL-CLARO, K.; SANTOS, J. C. A função de nectários extraflorais em plantas do cerrado. In: Cavalcanti, T.B. (Ed). **Tópicos atuais em botânica**. Brasília: Embrapa, 2000. 400 p.

FAGUNDES, R. et al. Differences among ant species in plant protection are related to production of extrafloral nectar and degree of leaf herbivory. *Biol J Linn Soc.*, v. 20, p. 1-13. 2017.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).

- FERREIRA C. A.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. Effects of floral herbivory on reproductive success in species of the genus *Banisteriopsis* (Malpighiaceae) in the Brazilian cerrado. **Sociobiology**, v. 60, p. 323–328. 2013.
- GONZÁLEZ-TEUBER, M.; HEIL, M. Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. **Plant Signal Behav.**, v. 4, p. 809–813. 2009.
- GUERRA, T. J. et al. Mutualistic interactions among free-living species in Rupestrian Grasslands. In: FERNANDES, G. W. (Ed.). **Ecology and Conservation of Mountaintop Grasslands in Brazil**. Springer International Publishing, 2016. p. 291–314.
- HANNA, C. et al. Floral visitation by the Argentine ant reduces bee visitation and plant seed set. **Ecology**, v. 96, p. 222–230. 2015.
- HARIDASAN, M. Aluminium accumulation by some cerrado native species of central Brazil. **Plant and Soil**, v. 65, p. 265–273. 1982.
- 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.
- HIGGINS, J.; BLAIR, R. C.; TASHTOUSH, S. The aligned rank transform procedure. **Annual Conference on Applied Statistics in Agriculture**, p. 185–195. 1990.
- HOLLAND, J. N.; CHAMBERLAIN, S. A.; MILLER, T. E. X. Consequences of ants and extrafloral nectar for a pollinating seed-consuming mutualism: ant satiation, floral distraction or plant defense? **Oikos**, v. 120, p. 381–388. 2011.
- HUFFMAN, D.W. A seed chalcid (*Eurytoma squamosa* Bugbee) parasitizes seeds of *Fendler ceanothus* (*Ceanothus fendleri* Gray) in a ponderosa pine forest of Arizona. **Western North Am. Nat.**, v. 62, p. 474–478. 2002.
- INOUE, D. W. The terminology of floral larceny. **Ecology**, v. 61, p. 1251–1253. 1980.
- IRWIN, R. E. et al. Nectar robbing: ecological and evolutionary perspectives. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.**, v. 41, p. 271–292. 2010.
- KOPTUR, S. Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. In: BERNAYS, E. (Ed.). *Insect-plant interactions*. Boca Raton: CRC Press, 1992, p. 81–129.
- KOPTUR, S. Floral and extrafloral nectars of neotropical Inga trees: a comparison of their constituents and composition. **Biotropica**, v. 26, p. 276–284. 1994.
- KORNDÖRFER, A. P.; DEL-CLARO, K. Ant defense versus induced defense in *Lafoensia pacari* (Lythraceae), a myrmecophilous tree of the Brazilian cerrado. **Biotropica**, v. 38, p. 786–788. 2006.
- 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.
- LANGE, D.; CALIXTO, E. S.; DEL-CLARO, K. Variation in extrafloral nectary productivity influences ant foraging. **PLoS ONE**, v. 3, p. 1–13. 2017.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).

- LANGE, D.; DÁTILLO, W.; DEL-CLARO, K. Influence of extrafloral nectary phenology on ant-plant mutualistic networks in a neotropical savanna. **Ecol. Entomol.**, v. 38, p. 463-469. 2013.
- LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Ant-plant interaction in a tropical savanna: may the network structure vary over time and influence on the outcomes of associations? **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, p. 1-10. 2014.
- MACHADO, A. O. et al. Breeding biology and distyly in *Palicourea rigida* H. B. and K. (Rubiaceae) in the Cerrados of Central Brazil. **Acta Bot Bras.**, v. 24, p. 686–696. 2010.
- MACHADO, S. R.; BARBOSA, S. B.; CAMPOS, C. J. **Cerrado Palmeira da Terra: guia de campo ilustrado**. São Carlos: Rima, 2005. 283 p.
- MARQUIS, R. J. Uma abordagem geral das defesas das plantas contra a ação dos herbívoros. In: DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. (Eds.). **Ecologia das interações plantas-animais: uma abordagem ecológico-evolutiva**. 1 ed. Rio de Janeiro: Technical Books, 2012. p. 55-66. ISBN 978-85-61368-22-7.
- MARQUIS, R. J.; RICKLEFS, R. E.; ABDALA-ROBERTS, L. Testing the low latitude/high defense hypothesis for broad-leaved tree species. **Oecologia**, v. 169, p. 811-820. 2012.
- MISSAGIA, C. C. C.; ALVES, M. A. S. Florivory and floral lacerny by fly larval decrease nectar availability and hummingbird foraging visits at *Heliconia* (Heliconiaceae) flowers. **Biotropica**, v. 49, p. 13-17. 2017.
- MOURA, R. F.; ALVES-SILVA, E.; DEL-CLARO, K. Patterns of growth, development and herbivory of *Palicourea rigida* are affected more by sun/shade conditions than by Cerrado phytophysionomy. **Acta Botanica Brasilica**, p. 1-9. 2017.
- NAHAS, L.; GONZAGA, M. O.; DEL-CLARO, K. Intraguild interactions between ants and spiders reduce herbivory: an extrafloral nectaried tree of tropical savanna. **Biotropica**, v. 44, p. 498-505. 2012.
- NASCIMENTO, E. A.; DEL-CLARO, K. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a neotropical savanna. **Flora**, v. 205, p. 754-756. 2010.
- NESS, J. H. A mutualism's indirect costs: the most aggressive plant bodyguards also deter pollinators. **Oikos**, v. 113, p. 506-514. 2006.
- NESS, J. H.; MORRIS, W. F.; BRONSTEIN, J. L. For ant-protected plants, the best defense is a hungry offense. **Ecology**, v. 90, n. 10, p. 2823-2831. 2009.
- OLIVEIRA, P. S. The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae). **Funct. Ecol.**, v. 11, p. 323–330. 1997.
- OLIVEIRA, P. S.; BRANDÃO, C. R. F. The ant community associated with extrafloral nectaries in the Brazilian cerrado. In: CUTLER, D. F.; HUXLEY, C. R. (Eds.). **Ant- Plant Interactions**. Oxford: Oxford Univ. Press, 1991. 601 p.
- OLIVEIRA, P. S.; FREITAS, A. V. L. Ant plant herbivore interactions in the neotropical cerrado savanna. **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 557-570. 2004.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).

- OLSON, D. M.; TAKASU, K.; LEWIS, W. J. Food needs of adult parasitoids: behavioral adaptations and consequences. In: WACKERS, F. L.; van RIJN, P.; BRUIN, J. (Eds.). **Plant-provided food for carnivorous insects: a protective mutualism and its applications**. New York: Cambridge University Press, 2005, p. 137-147.
- PEETERS, P. J. Correlations between leaf structural traits and the densities of herbivorous insect guilds. **Biol. J. Linn. Soc.**, v. 77, p. 43–65. 2002.
- PESSOA, F. **Poesia completa de Alberto Caeiro**. São Paulo: Companhia das Letras, 2005. 263 p.
- PRICE, P. W. et al. **Insect Ecology: behavior, populations and communities**. New York: Cambridge University Press, 2011. 801 pp.
- PYKE, G. H. Why hummingbirds hover and honeyeaters perch. **Animal Behavior**, v. 29, n. 3, p. 861-867. 1980.
- RAUPP, M. J. Effects of leaf toughness on mandibular wear of the leaf beetle, *Plagioderma versicolora*. **Ecol. Entomol.**, v. 10, p. 73–79. 1985.
- RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P. S. **The ecology and evolution of ant-plant interactions**. Chicago: University of Chicago Press, 2007. 331 pp.
- ROSUMÉK, F. B. et al. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. **Oecologia**, v. 160, p. 537-549. 2009.
- RUHREN, S.; HANDEL, S.N. Jumping spiders (Salticidae) enhance the seed production of a plant with extrafloral nectaries. **Oecologia**, 119, p. 227-230. 1999.
- SENDOYA, S. F.; FREITAS, A. V. L., OLIVEIRA, P. S. Egg-laying butterflies distinguish predaceous ants by sight. **American Naturalist**, v. 174, p. 134-140. 2009.
- STEFANI, V. et al. Beneficial effects of ants and spiders on the reproductive value of *Eriotheca gracilipes* (Malvaceae) in a tropical savanna. **PLoS ONE**, p. 1-12. 2015.
- STEYERMARK, J. A. **Rubiaceae: Flora de Venezuela**. Edición Especial del Instituto Botánico. Venezuela. v. 11. 1974.
- STILES, F. G. Behavioral, ecological and morphological correlates of foraging for arthropods by the hummingbirds of a tropical wet forest. **Condor**, v. 97, n. 4, p. 853-878. 1995.
- STOLTZ, H. U.; KROYMANN, J.; MITCHELL-OLDS, T. Plant-insect interactions. **Plant Biology**, Alemanha, v. 2, p. 268-272. 1999.
- STRAUSS, S. Y. CONNER, J. K.; RUSH, S. L. Foliar herbivory affects floral characters and plant attractiveness to pollinators: Implications for male and female plant fitness. **Am. Nat.**, v. 147, p. 1098-1107. 1996.
- STRAUSS, S. Y. Floral characters link herbivores, pollinators, and plant fitness. **Ecology**, v. 78, p. 1640-1645. 1997.
- TAYLOR, C. M. Overview of the Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. **Opera Bot. Belg.**, v. 7, p. 261-270. 1996.
- THOMPSON, J. N. **Relentless Evolution**. Chicago: University of Chicago Press, 2013. 499 pp.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).

TOLEDO, M. C. B.; MOREIRA, D. M. Analysis of the feeding habits of the swallow-tailed hummingbird, *Eupetomena macroura* (Gmelin, 1788), in an urban park in southeastern Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 68, n. 2, p. 419-426. 2008.

TOREZAN-SILINGARDI, H. M. Flores e animais: uma introdução à história natural da polinização. In: DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. (Eds.). **Ecologia das interações plantas-animais: uma abordagem ecológico-evolutiva**. Rio de Janeiro: Technical Books, 2012. p. 113-139. ISBN 978-85-61368-22-7.

TOREZAN-SILINGARDI, H. M. Predatory behavior of *Pachodynerus brevithorax* (Hymenoptera: Vespidae, Eumeninae) on endophytic herbivore beetles in the Brazilian tropical savanna. **Sociobiology**, v. 57, p. 181-190. 2011.

van der PIJL, L. Principles of dispersal in higher plants. Springer-Verlag, Berlin. 1982. ISBN: 978-3-642-87927-2

VARANDA, E. M. et al. Relações entre plantas e insetos no Cerrado Pé-de-Gigante. In: PIVELHO, V. R., VARANDA, E. M. (Eds.). **O Cerrado Pé-de-Gigante: ecologia e conservação - Parque Estadual de Vassununga**. Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2005. p. 198-208.

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

WÄCKERS, F. L. Suitability of (extra) floral nectar, pollen, and honeydew as insect food sources. In: WACKERS, F. L.; van RIJN, P.; BRUIN, J. (Eds.). **Plant-provided food for carnivorous insects: a protective mutualism and its applications**. New York: Cambridge University Press, 2005, p. 17-74.

WHITNEY, K. D. Experimental evidence that both parties benefit in a facultative plant-spider mutualism. **Ecology**, v. 85, p. 1642-1650. 2004.

WOBBROCK, J. O. et al. The aligned rank transform for nonparametric factorial analyses using only ANOVA procedures. **CHI**, p. 7-12. 2011.

WOLF, L. L., 1970. Impact of seasonal flowering on hummingbirds. **Condor**, v. 72, n. 1, p. 1-14. 1970.

WÜTHERICH, D. et al. Seed dispersal in *Palicourea rigida*, a common treelet species from Neotropical Savannas. **J. Trop. Ecol.**, v. 17, p. 449-458. 2001.

ZHANG, S.; ZHANG, Y.; KEMING, M. A. The equal effectiveness of different defensive strategies. **Sci Repo** 5. Article number:13049. 2015.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).