

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

**Condicionalidade nas interações entre borboletas mirmecófilas (Lepidoptera:
Lycaenidae), suas plantas hospedeiras e formigas associadas no Cerrado.**

Isamara Mendes da Silva

Tese 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
Doutora em Ciências, obtido no Programa
de Pós-Graduação em Entomologia.

VERSÃO CORRIGIDA

Ribeirão Preto – SP

2022

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

Condicionabilidade nas interações entre borboletas mirmecófilas (Lepidoptera: Lycaenidae), suas plantas hospedeiras e formigas associadas no Cerrado.

Isamara Mendes da Silva

Tese 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 Doutora em Ciências, obtido no Programa de Pós-Graduação em Entomologia.

Orientador: **Prof. Dr. Jean Carlos Santos**

Ribeirão Preto – SP

2022

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.

Silva, Isamara Mendes da

Condicionalidade nas interações entre borboletas mirmecófilas (Lepidoptera: Lycaenidae), suas plantas hospedeiras e formigas associadas no Cerrado. Ribeirão Preto, 2022.

84 p. : il. ; 30 cm

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

Orientador: Santos, Jean Carlos.

MENDES-SILVA, I. **Condicionalidade nas interações entre borboletas mirmecófilas (Lepidoptera: Lycaenidae), suas plantas hospedeiras e formigas associadas no Cerrado.** Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Aprovada em:

Banca examinadora

Prof^a. Dr^a. Michele Martins Correa

Dr^a. Tatiana Machado de Souza

Prof. Dr. Rodrigo Augusto Santinelo Pereira

Prof. Dr. Roberth Fagundes

Dr. Eduardo Soares Calixto

Prof. Dr. Jean Carlos Santos

Cada qual com suas pernas, e suas distâncias.
José Rezende Jr.

*Quando chove nos braços da formiga
o horizonte diminui.*
Manoel de Barros

Para Andressa,
a primeira da família a teimar.

Cordel de agradecimento

Venho agradecer a todxs
Mesmo aos que me faltam a memória
Por fazerem parte
Dessa minha trajetória
E por preencherem comigo
As linhas dessa história!

Meu primeiro agradecimento
Com o uso do repente
É para quem abriu a universidade
Para gente como a gente
Que sua luta continue
Lula, meu caro presidente

À minha primeira professora
Que é meu grande exemplar
Minha irmã inspiradora
Sempre sonhou em lecionar
Desbravou e abriu caminhos
Para que eu pudesse passar

À Mainha e Painho
Por me criarem sonhadora
Por me ensinarem sobre a luta
Da nossa classe trabalhadora
Imagine só, Família:
A filha de feirantes vai ser Doutora!

Mas nada disso seria possível
Sem uma boa orientação
De um grande professor
Que acredita na educação
Obrigada professor Kleber
Por tamanha imensidão

Aproveito para agradecer
A todos os meus professores
Maura, Lenira, Michele e Raquel
E tantos outros encorajadores
Por ensinarem com maestria
E também falarem das flores

Ao meu companheiro de vida
Que entenece meu dia-a-dia
Traz leveza ao meu ritmo
Com a mais pura melodia
Junto com Gil e Caetano
Obrigada, minha Gatária!

As minhas amigas e amigos
Meu agradecimento mais profundo
Pois fazem da tristeza
Um lugar muito miúdo
Já dizia o poeta Emicida
Quem tem um amigo tem tudo

É com imenso prazer
Que quero deixar registrado
Meu agradecimento ao CNPq
Pois sem dinheiro não tem doutorado
Também à Renata e a Pós
Pelos perrengues solucionados

Aproveito esses versos
Para começar a agradecer
A tudo que indiretamente
Contribuiu para meu crescer
Pois me apego a essas importâncias
Para não esmorecer

Às heroínas do passado
Que de forma persistente
Tornaram possível
Esse meu dado presente
E às heroínas de agora
Por um futuro resistente

Também com meu cordel
Minha poesia sagrada
Direciono ao meu Nordeste
Terra amada e arada
Com cuscuz e com afeto
Meu muito obrigada!

À minha Bahia, muito obrigada
Pela régua e compasso
Lugar de gente gentil e trabalhadora
Me orgulho por carregar seu traço
E pra você que combate a xenofobia:
Aquele abraço!

Assim, finalizo esse cordel
Em forma de agradecimento
Minha luta a partir de agora
É plantar conhecimento
E para que outras como eu
Alcancem reconhecimento.

Agradecimentos

Agradeço todas as instituições que contribuíram para realização desta tese: CNPq, Pós-graduação em Entomologia (FFCLRP/USP), Universidade Federal de Uberlândia e Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”.

Agradeço imensamente ao Prof. Jean Carlos Santos, que gentilmente me aceitou como sua orientanda.

Também agradeço a parceria de cada membro do Laboratório de Ecologia Comportamental e Interações (LECI), em especial: Alexandra Bachtold, Eduardo Calixto, Diego Anjos, Isadora Valim, prof^a Vanessa Steffani, prof^a Helena Maura, Fernando Valdivia, Danilo Borges, Vitor Miguel, Drielly Queiroga e Larissa Lima.

Meu agradecimento mais profundo as minhas amigas baianas, Malu Araújo e Verena Santos, que abriram as portas de suas casas para me hospedar em Ribeirão Preto.

Por fim, deixo meu agradecimento a todos os membros que compõe a banca examinadora deste estudo: a Prof^a. Dr^a. Michele Martins Correa, Dr^a. Tatiana Machado de Souza, Prof. Dr. Rodrigo Augusto Santinelo Pereira, Dr. Eduardo Soares Calixto e os Prof. Dr. Roberth Fagundes.

Axé!

ÍNDICE

RESUMO	10
ABSTRACT	12
INTRODUÇÃO GERAL	13
Objetivos gerais	16
Referências	17
CAPÍTULO I	21
Resumo	22
Introdução	24
Material e métodos	26
Resultados	30
Discussão	34
Referências	38
CAPÍTULO II	43
Resumo	44
Introdução	46
Material e métodos	48
Resultados	53
Discussão	56
Referências	59
CAPÍTULO II	62
Resumo	63
Introdução	65
Material e métodos	68
Resultados	72
Discussão	75
Referências	78
CONSIDERAÇÕES FINAIS	82

RESUMO

Borboletas da família Lycaenidae são conhecidas por estabelecerem associações com formigas que forrageiam em suas plantas hospedeiras. Tais interações de caráter mutualístico, são baseadas em mecanismos utilizados pelas larvas, como glândulas epidérmicas que fornecem recompensa alimentar líquida para formigas, que retribuem com proteção. Essas interações registradas para regiões neotropicais são de caráter facultativo, muito comuns e relativamente pouco ainda se sabe sobre os efeitos adaptativos nos organismos envolvidos: borboleta, formiga e planta. Neste contexto, esta tese visa principalmente colaborar para cobrir essa lacuna como primeiro objetivo, a partir de dados coletados entre 2013 e 2020, buscou-se analisar com o uso da ferramenta de redes de interações ecológicas, se houve mudança na comunidade e na distribuição dos licenídeos ao longo deste tempo (sete anos), considerando que área passou por perturbações ambientais antrópicas, como fogo. O segundo objetivo foi avaliar se a seleção da planta hospedeira é mediada pela presença e identidade das formigas. Por último, com intuito de entender os efeitos dessa interação em um sistema mutualístico comum no cerrado, plantas com nectários extraflorais e formigas, o terceiro objetivo analisou o impacto da presença de larvas do licenídeo *Parrhasius polibetes* no comportamento da principal espécie de formiga associada (*Camponotus crassus*) e no sucesso reprodutivo da planta hospedeira, *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). No que se refere ao comportamento das redes licenídeos-plantas ao longo do tempo, nosso estudo demonstrou que houve uma redução na amplitude do uso de plantas hospedeiras por espécies generalistas. Os licenídeos mais comuns, *Rekoa marius* e *Parrhasius polibetes*, passaram a ser mais abundantes apenas em *B. malifolia*. Contudo, as redes não diferiram quanto a sua topologia, e ambas mantiveram um padrão modular; tal

similaridade na estrutura das redes reflete a resiliência desse sistema às perturbações ambientais antrópicas. Na vertente ecológico-comportamental, este estudo revelou que os licenídeos *P. polibetes* e *R. marius* são capazes de discriminar visualmente entre as espécies de formigas e ter uma preferência pela formiga *C. crassus* durante a oviposição. Por fim, nossos resultados elucidaram que as larvas florívoras tem impacto neutro sobre o sucesso reprodutivo da planta hospedeira, mas impacto negativo na herbivoria foliar, uma vez que limitam o raio de forrageamento das formigas sobre as inflorescências. O conjunto dos resultados permite sugerir que os sistemas Lycaenidae-formigas-plantas no cerrado são altamente condicionais, cujos resultados das interações podem ser influenciados pela alteração nas características do habitat, abundância da planta hospedeira, identidade das formigas atendentes e espécie de licenídeo em questão.

Palavras-chave: Lycaenidae, licenídeos facultativos, mirmecofilia, mutualismo condicional, oviposição.

ABSTRACT

Lycaenidae family butterflies are known for establishing associations with ants which forage their host plants. These interactions are of a mutualistic nature, based on mechanisms used by the larvae., like the epidermal glands that provide liquid food as a reward to the ants, who reciprocate with protection. Interactions of this type recorded in Neotropical regions are of a facultative character. They are also very common, albeit relatively little is known about their adaptive effects on the involved organisms: butterflies, ants and plants. In this context, this thesis has the primary objective of performing a new survey of the immature lycaenids community in a Cerrado area. From data collected between 2013 and 2020 it was sought to analyze, through networks of ecological interactions, whether there has been a change in the community and distribution of lycaenids over time (seven years), after the area has experienced environmental disturbances such as fire. The second objective was to evaluate whether the host plant is mediated by the presence and identity of ants. Lastly, the third objective aims at understanding the effects of this interaction in a common Cerrado mutualistic system, plants with extrafloral nectaries and ants. It analyzed the impact of *Parrhasius polibetes* lycaenid larvae presence on the behavior of the main associated ant species (*Camponotus crassus*) and on the reproductive success of the host plant, *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). Overall, our study demonstrates that there was a reduction on the use of host plants by generalistic species, where the lycaenids *Rekoa marius* and *Parrhasiu polibetes* became more abundant only in *B. malifolia*. Nevertheless, the networks did not differ in their topology, where both presented modular patterns; such similarity in the networks reflect the resilience of this system to environmental disturbances. Additionally, this study revealed that lycaenids *P. polibetes* and *R. marius* can visually discriminate between ant species and show preference for *C. crassus* ants

during oviposition. Lastly, our results elucidate that florivore larvae have a neutral impact on the plant reproductive success, but negative in the foliar herbivory, since they limit the foraging radius of ants to the inflorescences. Thus, this is a highly conditional system, whose interactions results can be influenced by changes in habitat characteristics, host plant abundance, identity of attendant ants and species of lycaenid in question.

Keywords: Conditional mutualism, facultative lycaenids, myrmecophily, ovipositon.

INTRODUÇÃO GERAL

Juntamente com as plantas, os insetos compreendem a maior parte da biomassa terrestre, representando o grupo mais diverso deste habitat (Grimaldi & Engel, 2005; Price, 2012). Certamente, o grande sucesso desses animais pode também ser atribuído às íntimas e frequentes relações estabelecidas com as plantas, em especial as angiospermas, as quais surgiram como um novo e importante recurso (botões florais, flores, frutos e sementes) para os insetos durante sua diversificação no Mesozoico (Labandeira, 2002). Os lepidópteros, por exemplo, constituem uma linhagem predominantemente de insetos fitófagos, tendo as angiospermas como as principais plantas hospedeiras (Grimaldi & Engel, 2005). As associações entre lepidópteros e plantas são de amplo espectro, variam do mutualismo (polinização) ao antagonismo (herbivoria), sendo esta última restrita aos estágios larvais (Schnooven et al., 2005).

Do ponto de vista das relações bióticas, os lepidópteros são particularmente interessantes no que se refere às suas associações com formigas, que ocorrem em uma grande amplitude de plantas hospedeiras (Fiedler & Saam, 1995; Campbell & Pierce, 2003; Bächtold, 2014). Este tipo de interação entre lepidópteros e formigas são conhecidas até o momento para as famílias Riodinidae e Lycaenidae (Devries, 1991; Pierce et al., 2002; Fiedler, 2021), sendo que Lycaenidae compreende aproximadamente 40% de todas as espécies descritas de borboletas. Segundo Axén & Pierce (1998) o aparente sucesso do grupo pode ter sido proveniente de suas relações com formigas.

As associações estabelecidas entre licenídeos e formigas tem caráter mutualístico e são baseadas numa série de interações envolvendo glândulas epidérmicas que fornecem recompensas alimentares líquidas para as formigas, que protegem as larvas; além de características morfológicas, comportamentais, acústicas e químicas para atrair,

pacificar, alarmar ou mesmo enganar as formigas para que exibam um comportamento defensivo (Malicky, 1970; Hojo et al., 2015; Casacci et al., 2019; Lima et al., 2021). Como resultado, tem-se uma interação complexa em que os custos e benefícios podem variar para todos os organismos envolvidos (Fiedler, 2021; Moura et al., 2021).

Os benefícios para as larvas dos licenídeos são evidenciados em muitos estudos (Baylis & Pierce, 1993; Kaminski et al., 2010; Rodrigues et al., 2010). Além de não serem atacadas por formigas, que normalmente são hábeis predadores de lepidópteros imaturos (Seufert & Fiedler, 1996), as larvas recebem proteção das formigas contra predadores e parasitóides (Pierce & Maed, 1981; Devries, 1990; Del-Claro et al., 2016; Nakabayashi et al., 2020), resultando em uma melhor performance larval (Trager et al., 2013; Mizuno et al., 2019) e aumento da sobrevivência (Fiedler & Saam, 1995; Nash et al., 2011). O grau dessa relação entre borboletas mirmecófilas com formigas pode variar no gradiente entre obrigatório e facultativo (Pierce, 1989). Na mirmecofilia obrigatória as larvas dependem da presença de formigas para sobreviverem, enquanto no mutualismo facultativo os lepidópteros imaturos podem ou não manter relações com formigas, não dependendo dessas para sua sobrevivência (Fiedler, 1991; Pierce et al., 2002). Devido a isso, o efeito do mutualismo para as espécies obrigatórias é vastamente documentado na literatura (Pierce & Maed, 1981; Devries, 1990; Thompson & Pellmyr, 1991; Baylis & Pierce, 1993; Hojo et al., 2015; Elgar et al. 2016), mas ainda é incipiente para as espécies de borboletas que se associam facultativamente com formigas (Kaminski et al., 2010; Bachtold et al., 2013; Mota et al., 2016; Mizuno et al., 2018; Lima et al., 2021).

Dado o caráter íntimo da interação Lycaenidae-formiga, é esperado que fêmeas adultas de borboletas mirmecófilas utilizem a presença de formigas como pistas visuais para oviposição durante a seleção da planta hospedeira, aumentando a probabilidade de ovos e larvas serem encontrados pelas formigas (Robbins & Aiello, 1982; Thompson &

Pellmyr, 1991; Elgar et al. 2016; Bachtold et al., 2017). Inicialmente, estudos sobre a oviposição mediada pela presença de formigas foram elucidados apenas para borboletas com mirmecofilia obrigatória (Atsatt, 1981; Pierce & Elgar, 1985), devido a especificidade nas interações entre larvas e formigas. Entretanto, estudos recentes apontam uma preferência dos licenídeos facultativos em depositarem seus ovos em plantas visitadas por formigas (Kaminski et al., 2010; Rodrigues et al., 2010; Alves-Silva et al., 2013; Bachtold et al., 2016). Todavia, o grau de reconhecimento das espécies de formigas pelas fêmeas da família Lycaenidae tem sido pouco estudado para espécies facultativas (Mota et al., 2016). Portanto, entender se borboletas mirmecófilas facultativas são capazes de discriminar quais são suas formigas parceiras pode ajudar a explicar a ocorrência e diversidade da associação entre licenídeos e formigas.

Os benefícios dessa interação sob perspectiva do licenídeo e da formiga são amplamente conhecidos (Kaminski et al., 2013; Mizuno et al., 2019; Casacci et al., 2019; Fiedler, 2021). Contudo, os efeitos que essa interação pode ter para a planta hospedeira, principalmente sobre o seu sucesso reprodutivo, permanecem inexplorados. Aparentemente a interação borboleta-formigas não é benéfica para planta, uma vez que as lagartas são florívoras e podem reduzir significativamente o sucesso reprodutivo ao consumir botões e flores (Bächtold et al., 2013). Por outro lado, formigas associadas a larvas complementam sua dieta predando artrópodes na planta (Davidson, 1997). O comportamento predatório das formigas sobre a planta, pode reduzir a abundância e atividade alimentar de outros herbívoros, podendo ter efeito positivo para planta se a redução da herbivoria por outros herbívoros superar a herbivoria de lagartas mirmecófilas (Rico-Gray & Oliveira, 2007). Dessa forma, associações entre borboleta-formiga podem ser discutidas no âmbito de defesa biótica para planta, uma vez que a constante presença

de formigas, induzidas pela larva mirmecófila, pode ter efeito negativo sobre os demais herbívoros e limita a existência de espaços livre de inimigos naturais.

O Cerrado por abrigar plantas que suportam uma rica fauna de insetos, incluindo herbívoros florais como os licenídeos (Bachtold, 2014; Vilela et al., 2017) e uma elevada abundância de formigas, cuja presença se deve aos inúmeros recursos (abrigo e/ou alimento) que as plantas podem oferecer (Lange & Del-Claro 2014; Anjos et al., 2017), serve como importante modelo para se entender interações mutualísticas, como aquelas que ocorrem no sistema licenídeos-formigas. O esclarecimento de questões acerca desse tipo de mutualismo, pode contribuir para uma melhor compreensão da ecologia evolutiva e funcional das associações simbióticas de borboletas Lycaenidae e formigas, especialmente nos neotrópicos, onde há predominância de licenídeos facultativos (del-claro et al. 2013).

Neste contexto, a presente tese teve como objetivo principal avaliar quais os fatores que condicionam a ocorrência dos licenídeos em suas plantas hospedeiras, bem como o efeito dessa interação do ponto de vista da planta. Para melhor compreensão dos objetivos específicos acerca do tema abordado, a tese foi dividida em três capítulos, descritos a seguir.

Capítulo I. Rede de interações entre borboletas mirmecófilas e plantas hospedeiras reflete resiliência a perturbações ambientais no Cerrado

Objetivo geral: Analisar se houve mudanças na estrutura das redes de interações licenídeo-planta hospedeira e licenídeo-formiga ao longo de 7 anos em uma reserva de cerrado afetadas pelo fogo entre 2013 e 2020.

Capítulo II. Borboletas mirmecófilas escolhem ovipor em plantas hospedeiras com formigas que oferecem melhor proteção às suas larvas: um estudo de caso com licenídeos do cerrado

Objetivo geral: investigar se borboletas fêmeas mirmecófilas são capazes de reconhecer entre as espécies de formigas atendentes e ter uma preferência durante o processo de postura de ovos.

Capítulo III. Conflito de interesses prejudica o mutualismo entre formigas e plantas com nectários extraflorais: a “hipótese da lagarta sedutora”.

Objetivo geral: avaliar se a interação estabelecida entre licenídeos e formigas tem efeito no sucesso reprodutivo da planta hospedeira.

Referências

- ALVES-SILVA, E., BACHTOLD, A., BARÔNIO, G. J., DEL-CLARO, K. Influence of *Camponotus blandus* (Formicinae) on occurrence of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae) in *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). **Sociobiology**, vol.60(1), p. 30-34, 2013.
- AKINO, T., KNAPP, J. J., THOMAS, J. A., & ELMES, G. W. Chemical mimicry and host specificity in the butterfly *Maculinea rebeli*, a social parasite of *Myrmica* ant colonies. **Proc. of the Royal Soc. B. Biol. Sciences**, vol. 266(1427), p. 1419–1426, 1999. <https://doi.org/10.1098/rspb.1999.0796>
- ALTMANN, J. Observational study of behavior: Sampling methods. **Behaviour**, vol. 49, n. 3/4, p. 227-267, 1974.
- ANJOS, D. V. et al. Extrafloral-nectaries and interspecific aggressiveness regulate day-night turnover of ants species foraging for nectar on *Bionia coriaceae*. **Austral Ecology**, vol. 42, p. 317-328, 2017.
- ATSATT, P. R. Lycaenid butterflies and ants: selection for enemy-free space. **The American Naturalist**, vol. 118(5), p. 638–653, 1981. <https://doi.org/10.2307/2678832>
- AXÉN, H. A., LEIMAR, O., HOFFMAN, V. Signalling in a mutualistic interaction. **Animal Behaviour** vol. 52, p. 321-330, 1996.
- AXÉN, A., & PIERCE, N. E. Aggregation as a cost reducing strategy for lycaenid larvae. **Behav. Ecol.** vol. 9(2), p. 109–115, 1988. <https://doi.org/doi:10.1093/beheco/9.2.109>
- BÄCHTOLD, A. **A comunidade de licenídeos de uma área de Cerrado: especificidade de dieta, interações ecológicas e seleção de plantas hospedeiras.** Tese Apresentada Ao Programa de Entomologia Da USP, FFCLRP, Como Pré-Requisito Para Obtenção Do Título de Doutor Em Entomologia., p. 136, 2014.
- BÄCHTOLD, A., ALVES-SILVA, E., DEL-CLARO, K. Lycaenidae larvae feeding on *Peixotoa parviflora* (Malpighiaceae) in a semideciduous forest in the southeastern Brazil. **J Lepid Soc.** vol. 67, p.65–67, 2013.
- BÄCHTOLD, A., ALVES-SILVA, E., DEL-CLARO, K. Ants, plant characteristics and habitat conservation status affect the occurrence of myrmecophilous butterflies on an extrafloral nectaried Malpighiaceae. **Stud Neotrop Fauna E.** vol. 51(2), p. 112–120, 2016.

- BÄCHTOLD, A., ALVES-SILVA, E., & DEL-CLARO, K. Ant-related oviposition is not associated to low parasitism of the myrmecophilous butterfly *Allosmaitia strophius* in an extrafloral nectaried shrub. **Acta Oecologica**, vol. 83, p. 15–21, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2017.06.007>
- CAMPBELL, D. L., & PIERCE, N. E. Phylogenetic Relationships of the Riodinidae: Implications for the Evolution of Ant Association. **Butterflies: Ecology and Evolution Taking Flight**, p. 395–408, 2003.
- CASACCI, L. P., BONELLI, S., BALLETO, E., BARBERO, F. Multimodal Signaling in Myrmecophilous Butterflies. **Front Ecol. Evol.** vol. 7:454. 2019.
- DAVIDSON, D. W. The role of resource imbalances in the evolutionary ecology of tropical arboreal ants. **Biol J Lin Soc.** vol. 61, p.153–181, 1997.
- DANIELS, H., GOTTSBERGER, G., & FIEDLER, K. Nutrient composition of larval nectar secretions from three species of myrmecophilous butterflies. **Journal of Chemical Ecology**, vol. 31(12), p. 2805–2821, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-8395-y>
- DEL-CLARO, K., STEFANI, V., LANGE, D., VILELA, A. A., NAHAS, L., VELASQUES, M., TOREZAN-SILINGARDI. The importance of natural history studies for a better comprehension for animal-plant interaction networks. **Biological Sciences**, vol 29, 2013.
- DEL-CLARO, K. et al. Loss and gains in the ant-plant interactions mediated by extrafloral nectar: fidelity, cheats and lies. **Insects Sociaux**, vol. 63, p. 207-221, 2016.
- DEVRIES, P. J. Enhancement of symbioses between butterfly caterpillars and ants by vibrational communication. **Science**, vol. 248(4959), p. 1104–1106, 1990. <https://doi.org/10.1126/science.248.4959.1104>
- DEVRIES, P. J. Mutualism between *Thisbe irenea* butterflies and ants, and the role of ant ecology in the evolution of larval-ant associations. **Biological Journal of the Linnean Society**, vol. 43(3), p. 179–195, 1991. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1991.tb00592.x>
- ELGAR, M. A., NASH, D. R., & PIERCE, N. E. Eavesdropping on cooperative communication within an ant-butterfly mutualism. **The Science of Nature**, vol. 103, p. 9–10, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00114-016-1409-5>
- ELGAR, M. A., & PIERCE, N. E. Mating success and fecundity in an ant-tended lycaenid butterfly. In: CLUTTON BROCK, T. H. (Ed.). **Reproductive Success: Studies of Individual Variation in Contrasting Breeding Systems**, The University Chicago Press, Chicago, p. 59–75, 1988.
- FAGUNDES, R.; DÁTILO, 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. **Biol. J. of the Linnean society**, vol. 20, p. 1-13, 2017.
- FIEDLER, K., & MASCHWITZ, U. Functional Analysis of the Myrmecophilous Relationships between Ants (Hymenoptera: Formicidae) and Lycaenids (Lepidoptera: Lycaenidae): I. Release of Food Recruitment in Ants by Lycaenid Larvae and Pupae. **Ethology**, vol. 80(1–4), p. 71–80, 1989. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.1989.tb00730.x>
- FIEDLER, K. Systematic, evolutionary and ecological implication of myrmecophily within the Lycaenidae (Lepidoptera: Papilionoidae). **Bonn. Zool. Monogr.** vol. 31, p. 1-210, 1991.
- FIEDLER, K., & SAAM, C. Ants benefit from attending facultatively myrmecophilous Lycaenidae caterpillars: evidence from a survival study. **Oecologia**, vol. 104(3),

- p. 316–322, 1995. <https://doi.org/10.1007/BF00328367>
- FIEDLER, K. The associates of Lycaenidae butterfly caterpillar – revisited. **Nota Lepi.** Vol. 44, p. 159-174, 2021.
- FRASER, A. M., TREGENZA, T., WEDELL, N., ELGAR, M. A., & PIERCE, N. E. Oviposition tests of ant preference in a myrmecophilous butterfly. **Journal of Evolutionary Biology**, 15(5), 861–870, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2002.00434.x>
- GRIMALD, D.; ENGEL, M.S. **Evolution of the insects.** Cambridge University Press, p. 770, 2005.
- HOJO, M. K., PIERCE, N. E., & TSUJI, K. Lycaenid Caterpillar Secretions Manipulate Attendant Ant Behavior. **Current Biology**, vol. 25(17), p. 2260–2264, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.07.016>
- 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. **The American Naturalist**, vol. 176(3), p. 322–334, 2010. <https://doi.org/10.1086/655427>
- LABANDEIRA, C. C. The history of association between plants and animals. *In: Plant-animal interaction, an Evolutionary Approach.* Blackwell, Oxford, p. 26-76, 2002.
- 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**, vol. 9, n. 8, 2014.
- LIMA, L. D., TRIGO, J. R., KAMINSKI, L. A. Chemical convergence between a guild of facultative myrmecophilous caterpillars and host plants. **Ecological Entomology**, vol. 46, p. 66-75, 2021.
- MALICKY, H. New aspect of association between lycaenid larva (Lycaenidae) and ants (Formicidae: Hymenoptera). **J. Lep. Soc.** vol. 24, p. 190-202, 1970.
- MIZUNO, T., HAGIWARA, Y., TOSHIHARU, A. Varied Effects of tending ant species on the development of facultatively myrmecophilous lycaenid butterfly larvae. **Insects**. vol.10, p.234–247, 2019.
- MOREAU, C.S., BELL, C.D., VILA, R., ARCHIBALD, S.B., PIERCE, N.E. Phylogeny of the ants: diversification in the age of angiosperms. **Science**. Vol.312, p.101–104, 2006.
- MOTA, L. L. & OLIVEIRA, P. S. Myrmecophilous butterflies utilise ant-treehopper associations as visual cues for oviposition. **Ecological Entomology**, vol. 41, p.338-343, 2016.
- NAKABAYASHI, Y., MOCHIOKA, Y., TOKUDA, M., OHSHIMA, I. Mutualistic ants and parasitoid communities associated with a facultative myrmecophilous lycaenid, *Arhopala japonica*, and the effects of ant attendance on the avoidance of parasitism. **Entomol Sci.** 2020.
- NASH, D. R.; THOMAS D., MAILE, R., JONES, G. R. & BOOMSMA, J. J. A mosaic of chemical coevolution in a large blue butterfly. **Science**, vol. 319, p. 88–90, 2008. <https://doi.org/10.1126/science.1149180>
- NASH, D. R., ALS, T. D., BOOMSMA, J. J. Survival and growth of parasitic *Maculinea alcon* caterpillar (Lepidoptera: Lycaenidae) in laboratory nests of three *Myrmica* ant species. **Insectes Sociaux**, vol. 58, p. 391-401, 2011.
- NEWCOMER, E. J. Some observations on the relation os ants and lycaenid caterpillars and description of the relational organs of the later. **J. N. Y. Entomol. Soc.** vol. 20: p. 31-36, 1912.
- PIERCE, N. .E. MEAD, S. P. Parasitoids as selective agents in the symbiosis between

- Lycaenid butterfly larvae and ants, **Science**, vol. 211, p. 1185-1187, 1981.
- PIERCE, N. E. Amplified species diversity: a case study of an Australian lycaenid butterfly and its attendant ants. **Symp. R. Entomol. Soc. London**, vol 11, p. 197–200, 1984.
- PIERCE, N. E. Butterfly-Ant mutualism. In: GRUBB, P.J. & WHITTAKER (Eds.). **Toward a more The 30th Symposium of The British Ecological Society**, Oxford London Edinburgh, Londres, p. 299-320, 1989.
- PIERCE, N. E., BRABY, M. F., HEATH, A., LOHMAN, D. J., MATHEW, J., RAND, D. B., & TRAVASSOS, M. The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). **Annual Review of Entomology**, vol. 47, p. 733–771, 2002. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145257>
- PRICE, P.W. et al. **Insect Ecology: Behavior, populations and communities**. Cambridge University Press, p. 812, 2012.
- RICO-GRA, Y.V., OLIVEIRA, P.S. **The ecology and evolution of ant-plant interactions**. University of Chicago Press, Chicago. p.331, 2007.
- ROBBINS, ROBERT K. & AIELLO, A. Foodplant and oviposition records for panamanian lycaenidae and riodinidae, vol. 36(2), p. 65–75, 1982.
- ROBBINS, R. K. Cost and evolution of a facultative mutualism between ants and lycaenid larvae (Lepidoptera). **Oikos**, vol. 62(3), p. 363–369, 1991. <https://doi.org/10.2307/3545502>
- RODRIGUES, D., KAMINSKI, L. A., FREITAS, A. V. L., OLIVEIRA P. S. Trade-offs underlying polyphagy in a facultative ant-tended florivorous butterfly: the hole of host plant quality and enemy-free space. **Plant-animal Interactions**, vol. 163, p. 719-728.
- SCHOONHOVEN, L. M.; VAN-LOON, J. J. A.; DICK, M. **Insect-plant biology**. 2 ed. Oxford University Press, p. 440, 2005.
- SEUFERT, P., & FIEDLER, K. The influence of ants on patterns of colonization and establishment within a set of coexisting lycaenid butterflies in a south-east Asian tropical rain forest. **Oecologia**, vol. 106(1), p. 127–136, 1996. <https://doi.org/10.1007/BF00334414>
- TRAGER, M. D., THOM, M. D., DANIELS, J. C. Ant-related oviposition and larval performance in a myrmecophilous lycaenid. **International Journal of Entomology**, 2013.
- VILELA, A. A.; CLARO, V. T. S. D.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Climate change affecting biotic interaction, phenology and reproductive success in a Savanna community over a 10-years period. **Arthropod-plant Interaction.**, p. 1-14, 2017.

CAPÍTULO I

REDE DE INTERAÇÕES ENTRE BORBOLETAS MIRMECÓFILAS E PLANTAS HOSPEDEIRAS REFLETE RESILIÊNCIA A PERTURBAÇÕES AMBIENTAIS NO CERRADO

Isamara Mendes da Silva ¹, Alexandra Bachtold², Diego Anjos³ & Kleber Del Claro⁴

¹ Programa de Pós-graduação em Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 14040-901, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

² Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 14040-901, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

³ Pós doutorado, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, 38400-902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

⁴ Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, 38400-902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Rede de interações entre borboletas mirmecófilas e plantas hospedeiras reflete resiliência a perturbações ambientais no cerrado

Isamara Mendes da Silva ¹, Alexandra Bachtold², Diego Anjos³ & Kleber Del Claro⁴

Resumo

No Cerrado, o fogo é um fenômeno natural que ocorre regularmente, cujos distúrbios podem afetar as interações ecológicas. O uso de redes ecológicas de interações pode fornecer informações sobre como as espécies respondem a essas perturbações ambientais, principalmente em sistemas complexos, como nas interações entre lepidópteros mirmecófilos e suas plantas hospedeiras, pois além das características vegetais, a presença de formigas é um fator importante na ocorrência dessas borboletas nesse ecossistema. Neste sentido, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos das perturbações ambientais nas redes de interações entre borboletas mirmecófilas da família Lycaenidae e suas plantas hospedeiras em dois contextos diferentes: antes e depois da área de estudo ter sido afetada três vezes pelo fogo ao longo de sete anos. As coletas foram conduzidas em uma área de Cerrado durante os anos de 2013/2014 e 2020, respectivamente; e a ocorrência de licenídeos foi registrada nas mesmas espécies de plantas hospedeiras. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre as redes, ambas apresentaram padrão não-aninhado e modular. Entretanto, houve uma reorganização no uso das plantas hospedeiras por espécies de licenídeos generalistas na rede de 2020, em que duas espécies mais abundantes passaram a interagir majoritariamente com uma única hospedeira. Nossos resultados demonstram que os distúrbios ocasionados pelas sucessivas queimadas ao longo dos anos não alteraram a estrutura da rede de interação Lycaenidae-planta hospedeira significativamente. A plasticidade das espécies de licenídeos generalistas em estabelecerem novas conexões de

acordo com a disponibilidade da planta hospedeira, mantendo assim a modularidade da rede, reflete a estabilidade e resiliência desse sistema às perturbações ambientais.

Palavras-chave: Distúrbios ambientais, fogo, Lepidoptera, Lycaenidae, lagartas mirmecófilas.

Introdução

As interações tróficas são fundamentais para a manutenção dos processos ecológicos de uma comunidade (Bronstein, 1994; Tilman et al., 1997; Del-Claro et al., 2016; Jordano, 2016). Entender como as espécies interagem entre si e como as perturbações ambientais podem afetar a estrutura dessas interações ecológicas ao longo do tempo, pode ser um ponto chave para a conservação da biodiversidade no Antropoceno (Allen et al., 2010; Thébault & Fontaine, 2010; Vilela et al., 2014; Fagundes et al., 2018). Principalmente, em regiões com alta incidência de queimadas naturais e antrópicas (Miranda et al., 2009; Keeley & Syphard, 2016).

Nas savanas brasileiras, o fogo é um distúrbio natural, e devido a isso, as espécies deste ambiente desenvolveram adaptações para resistirem as constantes queimadas (Miranda et al., 2009; Oliveira & Marquis, 2002). Dependendo de sua frequência e intensidade, o fogo pode afetar a estrutura das interações interespecíficas neste bioma, pois seus distúrbios incluem a redução da biomassa vegetal e a morte de inúmeros animais (Bowman et al., 2008), dentre eles os insetos, os quais predominam nas interações com as plantas (Del-Claro et al., 2016; Anjos et al., 2018; Carvalho et al., 2021; Calixto et al., 2021).

Recentes estudos nas regiões neotropicais mostram que o fogo altera a comunidade de plantas e formigas (Maravalhas & Vasconcelos, 2014; Anjos et al., 2015), podendo ocasionar impacto nas demais interações (Del-Claro & Marquis, 2015; Barbosa et al., 2015), especialmente aquelas em que os dois grupos (planta e formiga) estão envolvidos, como nas associações mutualísticas entre lagartas mirmecófilas e formigas. Neste tipo de mutualismo, as lagartas possuem adaptações químicas, comportamentais e morfológicas, como as glândulas epidérmicas que fornecem um líquido nutritivo para as

formigas, enquanto as formigas as protegem contra inimigos naturais (Pierce, 1989; Devries, 1990; Pierce, 2002; Hojo et al., 2015; Lima et al., 2021; Fiedler, 2021). No cerrado, borboletas mirmecófilas da família Lycaenidae possuem ampla distribuição e se alimentam de uma vasta variedade de plantas hospedeiras (Bächtold, 2014). Desta forma, além da busca por alimento, a presença de formigas pode determinar a escolha da planta hospedeira pelos licenídeos neste ecossistema (Rodrigues et al., 2010; Alves-Silva et al., 2013; Bächtold et al., 2016; Mota et al., 2016).

As interações estabelecidas entre plantas, formigas e herbívoros mirmecófilos são complexas (Del-Claro et al., 2016), e requerem uma abordagem multiespecífica para seu estudo e melhor compreensão (Bascompte & Jordano, 2007). As redes de interações, por exemplo, fornecem informações de como as espécies se relacionam em uma comunidade, por meio de uma estrutura que abrange número, frequência, grau e conectância das interações em resposta a fatores bióticos (Dátilo et al., 2013; Anjos et al., 2018) e abióticos (Lange et al., 2013). Por exemplo, mudanças na estrutura das redes podem refletir a perda de espécies causadas por distúrbios ambientais (Fortuna & Bascompte, 2006). Neste sentido, as métricas de redes relacionadas a estabilidade podem ajudar a entender o potencial de resiliência de uma comunidade às mudanças ambientais (Allesina & Pascual, 2008; Stouffer & Bascompte, 2011; Fagundes et al., 2018). A alta modularidade em redes antagônicas, composta por subconjuntos de organismos fortemente interativos, demonstrou ser uma importante propriedade que confere estabilidade a esses sistemas (Robinson & Strauss, 2020). Apesar da relevância das redes ecológicas nos estudos de ecologia, as propriedades das redes de interação entre lepidópteros mirmecófilos e plantas hospedeiras permanecem desconhecidos, assim como os fatores bióticos e abióticos que moldam a estrutura dessas interações.

Após o fogo, a diversidade e abundância das espécies de plantas e formigas podem ser alteradas (Fagundes et al., 2015; Maravalhas & Vasconcellos, 2014; Anjos et al., 2017). Essas mudanças na disponibilidade de recursos podem resultar em uma redistribuição dos licenídeos em suas plantas hospedeiras. Contudo, as queimadas regulares tornaram o Cerrado um ecossistema resiliente e adaptado ao fogo, ocasionando poucas mudanças na estrutura das redes (Fagundes et al., 2018), que poderia mudar se a frequência de incêndios fosse alterada. Portanto, estudos sobre o efeito das sucessivas queimadas na estrutura das interações entre borboletas mirmecófilas e suas plantas hospedeiras, podem fornecer pistas acerca das futuras mudanças nos padrões de interações com o aumento do fogo em um bioma como o cerrado.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito das perturbações ambientais nas redes de interações entre licenídeos e suas plantas hospedeiras; descrevendo as variações na estrutura das redes de interações licenídeo-planta hospedeira antes e depois da área ter sido afetada três vezes pelo fogo (2014, 2016, 2019), ao longo de sete anos. Tendo em vista as adaptações evolutivas que as espécies do cerrado apresentam como resposta as queimadas naturais (Arruda et al., 2018; Costa et al., 2018; Fagundes et al., 2018), este estudo teve como hipótese principal que os distúrbios ocasionados pelo fogo ao longo dos anos têm efeito limitado no padrão de interações entre borboletas mirmecófilas e plantas, refletindo a resistência ecológica e resiliência às perturbações.

Material e métodos

Área de estudo

As coletas foram feitas em uma área de Cerrado, localizada no Clube Caça e Pesca Itororó (230ha), na Cidade de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil (18°59'S, 48°17'W). A

vegetação é composta por árvores e arbustos (1-8m) e gramíneas. O padrão climático da região é subtropical, com duas estações definidas: quente e úmida (outubro-abril), e outra com temperatura mais amena e seca (maio-setembro). A temperatura anual varia em média de 18°C a 28° e a média de chuva anual de 800 a 2.000mm (Vilela et al. 2017). Entre 2013 e 2020, anos das respectivas coletas, a área foi afetada por três queimadas, uma em setembro de 2014 (Fagundes et al., 2018), em agosto de 2016 e outra em julho de 2019 (Porto, 2022).

Coleta de dados

O levantamento das espécies de Lycaenidae e formigas associadas nas plantas hospedeiras foram realizadas de janeiro de 2013 até início de março de 2014, e em janeiro até outubro de 2020, respectivamente. As coletas corresponderam ao período de floração das hospedeiras dos respectivos anos. Em cada ano, as mesmas oito espécies de plantas hospedeiras foram selecionadas: *Banisteriopsis malifolia*, *B. laevifolia*, *B. stellaris*, *Heteropterys peteropetala*, *Peixotoa tomentosa* (Malpighiaceae), *Senna velutina* (Vochysiaceae), *Bionia coriacea* (Fabaceae) e *Myrcia uberavensis* (Myrtaceae) (Tab. 1). Essas espécies foram escolhidas a partir de um estudo prévio, em que mostraram as principais hospedeiras de Lycaenidae no cerrado (Bachtold, 2014). Foram marcados 20 indivíduos para cada espécie hospedeira anteriormente ao período de produção das estruturas reprodutivas. Cada indivíduo foi inspecionado três vezes por semana, durante cinco minutos, entre 7:30 e 16:00h, para quantificar a presença de ovos e larvas de Lycaenidae e formigas. Os ovos e larvas de licenídeos presentes nas inflorescências foram coletados e criados em laboratório até atingirem a fase adulta, e posteriormente identificados. As espécies de formigas visitantes das plantas hospedeiras também foram identificadas e sua abundância (o número de formigas) quantificada em cada indivíduo.

Adicionalmente, foi registrado as interações observadas entre as lagartas de licenídeos e as formigas; foi considerado como interação o comportamento da formiga de antenar com frequência e subir sobre as lagartas, com esse comportamento durando pelo menos três minutos, e o número de formigas foi anotado (Fig.1).

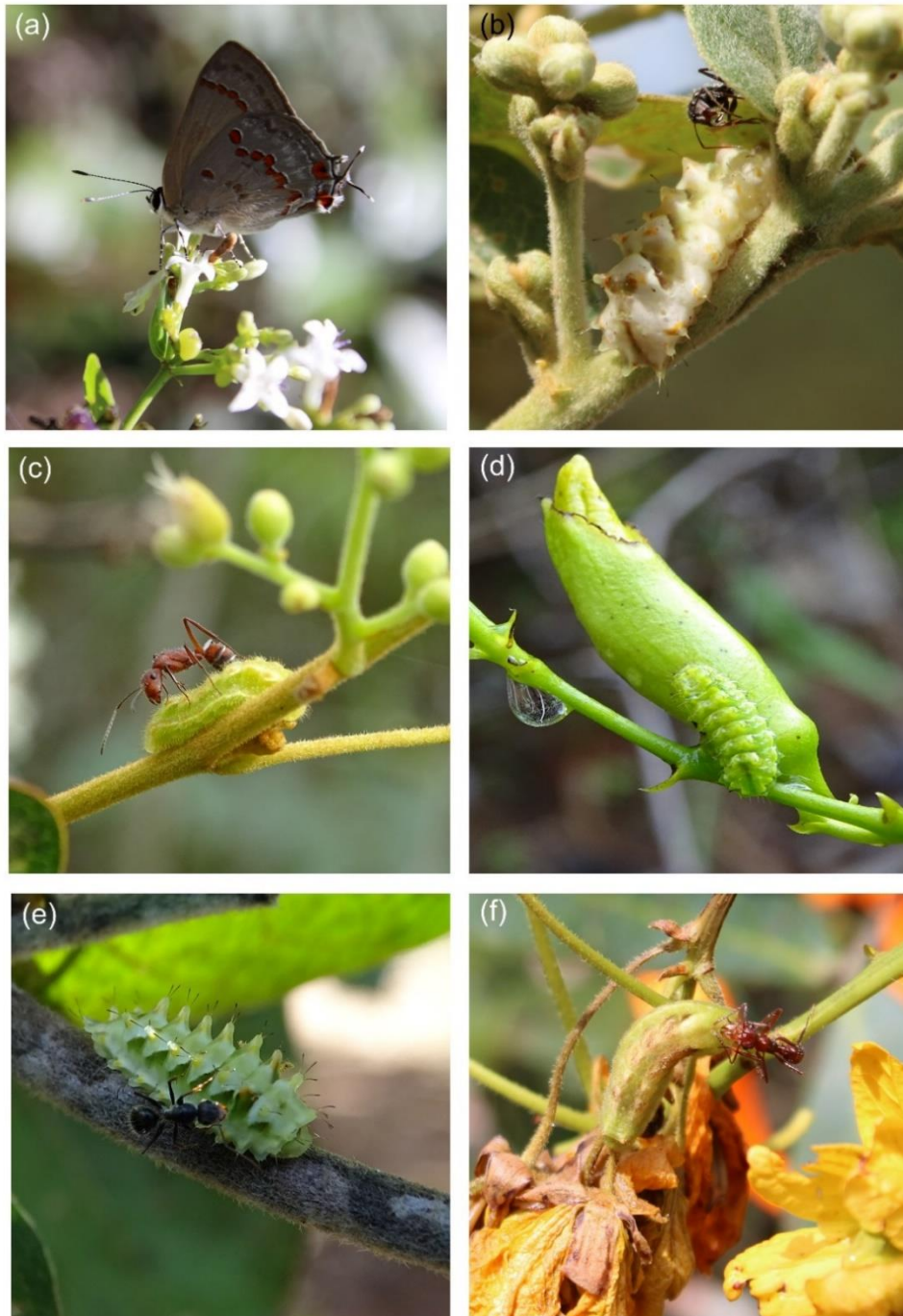


Figura 1. Adulto de borboleta da família Lycaenidae (a). Larvas de *Rekoa marius* (d) com formigas *Camponotus crassus* na planta *Banisteriopsis malifolia* (b, e). Larva de *Ostrinotes empusa* com formiga *Camponotus leydigi* na planta *Myrcia uberavensis* (c). Imaturo não identificado com formiga *Ectatomma tuberculatum* na planta *Senna* sp. (f).

Análise de dados

Para procurar diferenças na topologia das redes Lycaenidae-planta e Lycaenidae-formiga entre os anos (2013 e 2020), construímos matrizes de incidência, onde a_{ij} = número de interações de uma espécie de Lycaenidae i com uma espécie de planta j e 0 onde não houve nenhuma interação. Construímos duas matrizes: i) uma composta pelas interações durante 2013 e ii) outra composta pelas interações durante 2020. Para isso, as seguintes métricas de rede foram testadas: especialização da rede (índice H_2'), aninhamento e modularidade. A especialização (H_2') é derivada da diversidade de Shannon e é baseada no desvio da distribuição de probabilidade esperada das interações (Blüthgen et al., 2006). Este índice mede a especialização de uma rede assumindo que interações raras não refletem especialização real e varia de 0 (rede completamente generalista, sobreposição completa de interações) a 1 (rede completamente especializada, sem sobreposição de interações). Para testar se houve diferenças entre as redes em cada estação, testamos se a diferença absoluta nos valores observados do índice H_2' era maior do que seria esperado em redes aleatorizadas geradas por um modelo nulo (Patefield, 1981). Para isso, comparamos as diferenças observadas e aleatorizadas nos valores do índice H_2' entre a rede de 2013 e a de 2020, sendo que 1000 redes foram aleatorizadas para cada uma das comparações. Além disso, para procurar padrões de interações não aleatórias (ex. topologia da rede) entre espécies de Lycaenidae e de plantas, calculamos o nível de aninhamento (redundância de interações) usando o método WNODF (métrica de aninhamento ponderada com base na sobreposição e diminuição do preenchimento) (Almeida-Neto et al., 2008). Os valores do índice WNODF variam de 0 (não aninhado) a 100 (perfeitamente aninhado). Nós estimamos o grau de modularidade (segregação de interações) usando o algoritmo QuanBiMo (Q) (Dormann & Strauss, 2014). O índice de modularidade (Q) varia de 0 (sem subgrupos) a 1 (subgrupos totalmente separados). Para

testar se os valores computados realmente refletem uma estrutura não aleatória, aplicamos uma abordagem de modelo nulo na qual geramos 1000 matrizes aleatórias, usando o algoritmo de Patefield (Patefield, 1981), para comparar se o valor observado diferia dos valores obtidos pelo método modelo nulo. O teste Z foi realizado para testar a significância das métricas de rede: H_2' , WNODF e Q. Os valores de todas as métricas nas aleatorizações foram usadas para determinar o Z score, que é o número de desvios-padrão para um dado acima da média de 1000 redes aleatórias. Valores de score Z iguais ou superiores a 2 foram considerados significativamente especializados, aninhados ou modulares (Almeida-Neto & Ulrich, 2011; Bluthgen et al., 2006; Dormann & Strauss, 2014).

Resultados

Foram encontradas para o ano de 2013/2014 um total de 10 espécies de licenídeos nas oito plantas hospedeiras deste estudo, enquanto que em 2020 foram registradas oito espécies de licenídeos nas mesmas plantas hospedeiras, sendo que *Panthiades hebraeus* e *Kolana* sp. foram observados somente em 2013. Em 2013, os licenídeos com maior abundância foram *Allosmaitia strophius* com maior ocorrência nas plantas *P. tomentosa* (46,42%), *B. laevifolia* (35,71%) e *H. pteropetala* (14,28%); o licenídeo *Leptotes Cassius* em *B. coriaceae*; e *Rekoa marius* distribuídos em seis espécies de hospedeiras. Em 2020, as espécies de Lycaenidae que apresentaram maior abundância foram *Parrhasius polibetes*, ocorrendo quase que exclusivamente na planta *B. malifolia* (96,55%); e *Rekoa marius*, com maior abundância em *B. malifolia* (64%) e alguns imaturos encontrados em outras quatro hospedeiras (Tab. 1).

Nós observamos que o nível de especialização (H_2') das redes Lycaenidae-planta em 2013 e 2020 foram significativamente maiores que aos modelos nulos (2013: $H_2' = 0,56$, $p < 0,01$; 2020: $H_2' = 0,48$, $p < 0,01$; Fig. 2), porém não houve diferença significativa entre as redes ($H_2' = 0,07$, $p = 0,69$). Ambas as redes em 2013 e 2020 apresentaram um padrão não-aninhado (2013: $WNODF = 19,74$, $Z\text{-score} = -3,05$, $p < 0,01$; 2020: $WNODF = 16,72$, $Z\text{-score} = -3,07$, $p < 0,01$), mas modular (2013: $Q = 0,50$, $Z\text{-score} = 10,24$, $p < 0,01$; 2020: $Q = 0,28$, $Z\text{-score} = 5,84$, $p < 0,01$).

Tabela 1. Lista de espécies de Lycaenidae e sua abundância encontradas em plantas hospedeiras no Cerrado, Brasil, em 2013 e 2020. A dieta considera a família vegetal, com base na literatura, onde generalista se alimenta de mais de uma família de planta hospedeira e especialista apenas de uma família. NI: dieta da espécie não identificada.

Plantas hospedeiras	Espécies de Lycaenidae	Abundância 2013	Abundância 2020	Dieta/família vegetal	Referências
<i>Banisteriopsis malifolia</i> (Nees & Mart.) B. gates (Malpighiaceae)	<i>Rekoa marius</i> (Lucas, 1857)	6	16	generalista	2, 4, 5, 6, 7, 8, 9
	<i>Parrhasius polibetes</i> (Stoll, 1781)	6	28	generalista	2, 4, 5, 6, 8
	<i>Tmolus venustus</i> (H. H. Druce, 1907)	1	1	generalista	9, 10
	<i>Allosmaitia strophius</i> (Godart, 1824)	0	2	especialista	9, 4
	<i>Strymon cyanofusca</i> K. Johnson, Eisele & MacPherson, 1990	0	2	generalista	9
	<i>Ostrinotes empusa</i> (Hewitson, 1867)	0	1	generalista	2, 9
	<i>Kolana</i> sp.	1	0	NI	
<i>Banisteriopsis laevifolia</i> (A. Juss) B. gates (Malpighiaceae)	<i>Rekoa marius</i> (Lucas, 1857)	4	1	generalista	2, 4, 5, 6, 7, 8, 9
	<i>Allosmaitia strophius</i> (Godart, 1824)	10	2	especialista	9, 4
	<i>Strymon mulucha</i> (Hewitson, 1867)	1	0	generalista	1, 2, 9
	<i>Electrostrymon endymyon</i> (Fabricius, 1775)	1	0	especialista	9
<i>Banisteriopsis stellaris</i> (Griseb.) B. gates (Malpighiaceae)	<i>Rekoa marius</i> (Lucas, 1857)	2	1	generalista	2, 4, 5, 6, 7, 8, 9
	<i>Allosmaitia strophius</i> (Godart, 1824)	1	2	especialista	9, 4
<i>Heteropterys pteropetala</i> A. Juss (Malpighiaceae)	<i>Allosmaitia strophius</i> (Godart, 1824)	4	1	especialista	9, 4
	<i>Rekoa marius</i> (Lucas, 1857)	0	1	generalista	2, 4, 5, 6, 7, 8, 9

<i>Peixotoa tomentosa</i> A. Juss. (Malpighiaceae)	<i>Allosmaitia strophius</i> (Godart, 1824)	13	2	especialista	9, 4
	<i>Tmolus venustus</i> (H. H. Druce, 1907)	1	0	generalista	10, 9
	<i>Strymon mulucha</i> (Hewitson, 1867)	1	0	generalista	1, 2, 9
<i>Senna velutina</i> (Vogel) H.S. Irwin & Barneby (Vochysiaceae)	<i>Rekoa marius</i> (Lucas, 1857)	1	4	generalista	2, 4, 5, 6, 7, 8, 9
	<i>Parrhasius polibetes</i> (Stoll, 1781)	1	0	generalista	2, 6, 4, 5
<i>Bionia coriaceae</i> (Nees & Mart.) Benth. (Fabaceae)	<i>Leptotes cassius</i> (Cramer, 1775)	8	2	generalista	2
	<i>Calycopis calor</i> (H. Druce, 1907)	0	1	generalista	2, 4, 10
	<i>Rekoa marius</i> (Lucas, 1857)	4	0	generalista	2, 4, 5, 6, 7, 8, 9
	<i>Panthiades hebraeus</i> (Hewitson, 1867)	1	0	generalista	1, 10
<i>Myrcia uberavensis</i> O. Berg (Myrtaceae)	<i>Parrhasius polibetes</i> (Stoll, 1781)	0	1	generalista	2, 4, 5, 6, 8
	<i>Rekoa marius</i> (Lucas, 1857)	1	1	generalista	2, 4, 5, 6, 7, 8, 9
	<i>Ostrinotes empusa</i> (Hewitson, 1867)	0	1	generalista	9
	<i>Tmolus venustus</i> (H. H. Druce, 1907)	1	0	generalista	9, 10
	<i>Strymon mulucha</i> (Hewitson, 1867)	1	0	generalista	1, 9

¹Bachtold et al., 2013; ²Beccaloni et al., 2008; ³Duarte & Robbins, 2009; ⁴Janzen & Hallwachs 2013; ⁵Kaminski et al., 2010; ⁶Monteiro, 1991; ⁷Robbins, 1991; ⁸Rodrigues et al., 2010; ⁹Silva et al. 2011; ¹⁰Torezan-Silingardi, 2007.

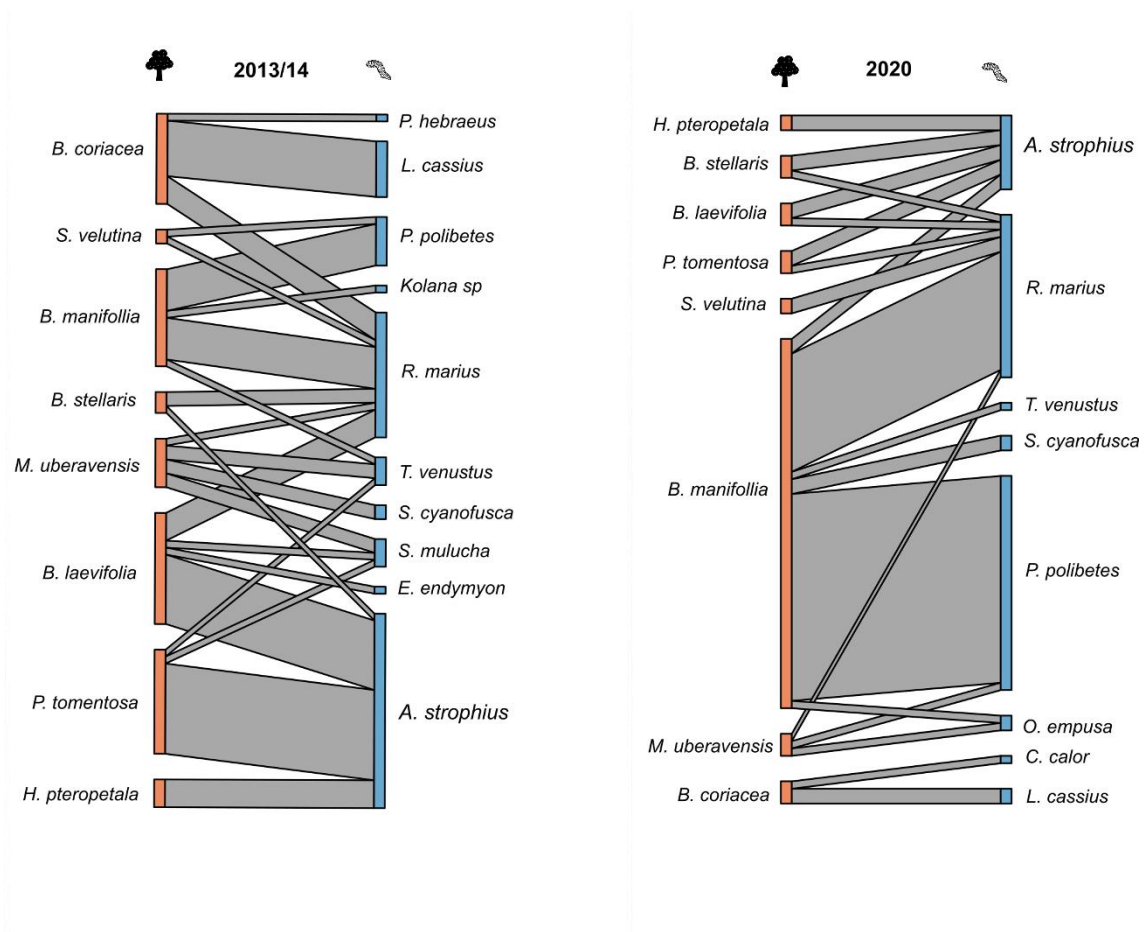


Figura 2. Rede de interações entre plantas hospedeiras e licenídeos no cerrado em 2013/2014 e 2020. As caixas laterais a esquerda (laranja) indicam as espécies de plantas e as caixas laterais a direita (azul) indicam as espécies de Lycaenidae. As linhas (cinza) representam a conexão entre as plantas e os licenídeos, e a largura da linha representa o número relativo de vezes que a espécie de licenídeo foi observada na espécie vegetal.

Discussão

Os resultados deste estudo mostram que as perturbações ambientais ocasionadas pelo fogo não alteraram a estrutura das interações entre borboletas mirmecófilas e plantas hospedeiras no Cerrado. De modo geral, ambas as redes apresentaram padrão aninhado, alta modularidade e uma composição semelhante de espécies de licenídeos nas plantas hospedeiras. Contudo, houve uma reorganização na amplitude da dieta de licenídeos generalistas na rede de 2020, onde duas espécies muito abundantes (*R. marinus* e *P.*

polibetes) passaram a interagir mais com uma única hospedeira (*B. malifolia*), mantendo a modularidade da rede. A similaridade topológica entre as redes, sugere que as interações entre borboletas da família Lycaenidae e suas plantas hospedeiras são resilientes a distúrbios ambientais, mais especificamente ao fogo.

O efeito limitado de perturbações como o fogo na topologia das redes licenídeo-planta hospedeira é esperado para biomas como o Cerrado, onde o fogo tem pouco impacto na comunidade vegetal (Oliveira & Marquis, 2002) e na diversidade de formigas (Maravalhas & Vasconcellos, 2014; Fagundes et al., 2018), os dois principais grupos relacionados a ocorrência de licenídeos nesse ecossistema (Alves-Silva et al., 2012; Bächtold et al., 2013; Mota & Oliveira, 2016). Recentemente, Fagundes et al. (2018) demonstraram que distúrbios induzidos pelo fogo não modificam as redes de interações entre plantas com nectários extraflorais e formigas visitantes, assim como não alteram a riqueza e composição de espécie de plantas e formigas nas savanas brasileiras (Fagundes et al., 2018). A ausência de mudanças se deve as inúmeras adaptações das plantas ao fogo, incluindo raízes profundas, casca grossa e gemas que permitem a sobrevivência e rápida rebrota após o fogo (Coutinho, 1990). De fato, muitas plantas sobrevivem com queimaduras superficiais e logo depois da primeira chuva começam a brotar rapidamente (Miranda et al., 1993). Como é o caso da planta hospedeira *Banisteriopsis malifolia*, a qual tem aumentado sua abundância na área de estudo ao longo dos anos e estendido seu período reprodutivo, sobrepondo as demais espécies vegetais (Vilela et al., 2014, 2017). A maior abundância de *B. malifolia* no local de estudo, juntamente com o fato de ser uma planta visitada por formigas que estabelecem associações com lagartas mirmecófilas (Alves-Silva et al., 2013; Bachtold et al., 2016), a torna um recurso atraente e disponível para os licenídeos. Neste estudo, espécies de licenídeos generalistas, como *Rekoa marius* e *Parrhasius polibetes*, apresentaram maior abundância em 2020 e passaram a interagir

majoritariamente com *B. malifolia*, reduzindo o uso de outras plantas hospedeiras. Esses dados indicam que a amplitude alimentar em Lycaenidae pode estar associada a disponibilidade de recursos em um bioma que é regularmente afetado pelo fogo. Scherrer et al (2016) encontrou resultados semelhantes ao estudar a interação de borboletas e plantas em área de Cerrado e Cerradão, onde a amplitude da dieta foi relacionada com a riqueza e densidade de plantas hospedeiras, sugerindo que lepidópteros generalistas podem se tornar menos seletivos e mais especializados em uma única planta hospedeira quando as opções são poucas. Juntos, esses resultados contribuem para a compreensão das possíveis mudanças na amplitude da dieta por generalistas e os efeitos subsequentes na estrutura da rede em resposta à distúrbios ambientais.

Apesar da reorganização no uso de plantas hospedeiras por espécies de licenídeos generalistas, ambas as redes demonstraram ser aninhadas e modulares, formando grupos de espécies que interagem mais entre si do que com outros membros da comunidade. Esse tipo de interação, que caracteriza a modularidade, torna as associações mais estáveis, e pode mitigar os efeitos de perturbações no ambiente (Thebált & Fontaine, 2010; Stouffer & Bascompte, 2011). Um trabalho recente utilizando propriedades de redes ecológicas entre lepidópteros e plantas, demonstrou que o grau de modularidade em redes antagônicas pode fornecer informações sobre a persistência das comunidades às condições ambientais (Robinson & Strauss, 2020). Adicionalmente, um estudo realizado por Ramos-Jiliberto et al. (2012) revelou que a plasticidade topológica, ou seja, a capacidade das espécies de reorganizarem seus vínculos em uma rede, aumenta a estabilidade em redes tróficas. Isso evidencia a importância de identificar generalistas e especialistas nas redes ecológicas, e entender as circunstâncias pelas quais essas espécies alteram suas conexões mantendo a modularidade da rede (Janz & Nylin, 2008; Valdovinos et al., 2010; Ximenes et al., 2017). Neste estudo, as redes de interações entre

licenídeos e plantas demonstraram plasticidade estrutural em dois contextos: antes e após ocorrência de três queimadas no local de estudo. A permanência da modularidade nas redes após distúrbios, conferindo estabilidade a esse sistema, reflete as respostas das lagartas mirmecófilas generalistas à disponibilidade de recursos, que por sua vez está associada a fatores abióticos como o fogo. Esses resultados sugerem que a plasticidade da rede (abundância das espécies e conexões) quando considerada em conjunto com as topologias resultantes, fornecem informações sobre potencial de resiliência das interações Lycaenidae-planta no Cerrado.

Em suma, a similaridade no padrão modular em ambas as redes ecológicas deste estudo é moldada pelas características de amplitude da dieta das lagartas mirmecófilas a influências ambientais, indicando a resiliência da interação Lycaenidae-planta hospedeira à distúrbios ocasionados pelo fogo. Sendo este resultado influenciado principalmente pela redistribuição dos licenídeos generalistas nas plantas hospedeiras, e não por mudanças na composição das espécies. A amplitude de interações tróficas e os filtros ecológicos moldam o grau em que as espécies se conectam dentro de uma rede (Dormann et al., 2017; Anjos et al., 2018; Robinson & Strauss, 2020). Assim, mudanças nas redes ecológicas podem surgir para além das variações nas topologias, como as mudanças na abundância de espécies generalistas e especialistas (Robinson & Strauss, 2020) e a alteração no padrão de interações entre o mesmo conjunto de espécies sob diferentes condições ecológicas (Bluthgen, 2010). As propriedades da rede, como a modularidade, podem ser impulsionadas por uma série de fatores, tais como a filogenia (Krasnov et al., 2012), genótipo da planta hospedeira (Keith et al., 2017) e presença de outros organismos no sistema (Augustyn et al., 2016). Grande parte dos estudos com redes de interações modulares têm se concentrado apenas nos desvios significativos da topologia das redes e dado pouca atenção aos mecanismos que podem conduzir a variação estrutural (Anjos et

al., 2018). Portanto, estudos como este que também considerem as particularidades das espécies e sua plasticidade às condições ambientais, contribuem para um melhor entendimento da estabilidade e resiliência das redes de interações entre licenídeos mirmecófilos e plantas hospedeiras em ambientes onde o fogo é uma perturbação regular. Por fim, se faz importante refletir o quão estáveis essas interações podem ser em outros cenários climáticos, por exemplo, com aumento da temperatura anual e incêndios mais frequentes devido a ações antrópicas.

Referências

- ALLEN, C. D. et al. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. **For. Ecol. Manage**, vol. 259, p. 660–684, 2010.
- ALLESINA, S., PASCUAL, M. Network structure, predator–prey modules, and stability in large food webs. **Theor. Ecol.**, vol. 1, p. 55–64, 2008.
- ALMEIDA-NETO, M., GUIMARAES, P., GUIMARAES, JR. P. R., LOYOLA, R. D., ULRICH, W. A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and measurement. **Oikos**, vol. 117, p. 1227–1239, 2008.
- ALVES-SILVA, E., BACHTOLD, A., BARÔNIO, G. J., DEL-CLARO, K. Influence of *Camponotus blandus* (Formicinae) on occurrence of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae) in *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). **Sociobiology**, vol.60(1), p. 30-34, 2013.
- ANJOS, D., CAMPOS, R.I., CAMPOS, R.B.F., RIBEIRO, S.P. Monitoring effect of fire on ant assemblages in Brazilian Rupestrian Grasslands: contrasting effects on ground and arboreal fauna. **Insects**, vol. 8, p. 1–12, 2017.
- ANJOS, D., DÁTILLO, W., DEL-CLARO, K. Unmasking the architecture of ant-diaspore networks in the Brazilian savana. **Plos one**, vol. 13, 2018.
- ARRUDA, F.V., SOUSA, D. G., TERESA, F. B., PRADO, V. H. M., CUNHA, H. F., IZZO, T. J. Trends and gaps of the scientific literature about the effects of fire on Brazilian Cerrado. **Biota Neotropica**, vol. 18, e20170426, 2018.
- AUGUSTYN, W. J., ANDERSON, B., ELLIS, A. G. Experimental evidence for fundamental, and not realized, niche partitioning in a plant-herbivore community interaction network. *Journal Animal Ecology*, vol.85, p.994-1003, 2016.
- BÄCHTOLD, A., ALVES-SILVA, E., DEL-CLARO, K. Lycaenidae larvae feeding on *Peixotoa parviflora* (Malpighiaceae) in a semideciduous forest in the southeastern Brazil. **J Lepid Soc.** vol. 67, p.65–67, 2013.
- BÄCHTOLD, A. **A comunidade de licenídeos de uma área de Cerrado: especificidade de dieta, interações ecológicas e seleção de plantas hospedeiras.** Tese Apresentada Ao Programa de Entomologia Da USP, FFCLRP, Como Pré-Requisito Para Obtenção Do Título de Doutor Em Entomologia., p. 136, 2014.

- BÄCHTOLD, A., ALVES-SILVA, E., DEL-CLARO, K. Ants, plant characteristics and habitat conservation status affect the occurrence of myrmecophilous butterflies on an extrafloral nectaried Malpighiaceae. **Stud Neotrop Fauna E.** vol. 51(2), p. 112–120, 2016.
- BARBOSA, B.C., FAGUNDES, R., SILVA, L.F., TOFOLI, J.F.V., SANTOS, A.M., IMAI, B.Y.P., RIBEIRO, S.P. Evidences that human disturbance simplify the ant fauna associated a *Stachytarpheta glabra* Cham. (Verbenaceae) compromising the benefits of ant-plant mutualism. **Braz. J. Biol.**, vol. 75, p.58–68, 2015.
- BASCOMPTE, J., JORDANO, P. Plant-animal mutualistic networks: the architecture of biodiversity. **Ann. Rev. Ecol. Evol.** vol.38, p.567–593, 2007.
- BECCALONI, G., HALL, S., VILORIA, A., ROBINSON, G. Host plants of neotropical butterflies: A catalogue/catalogo de las plantas huésped de las mariposas neotropicales. SEA/RIBESCYTED, The natural history museum, **Instituto Venezolano de investigaciones científicas**. 2008.
- BLÜTHGEN, N., MENZEL, F., BLÜTHGEN, N. Measuring specialization in species interaction networks. **BMC Ecol.**, vol. 6, p.1–9, 2006.
- BLÜTHGEN, N. Why network analysis is often disconnected from community ecology: A critique and an ecologist’s guide. **Basic Appl. Ecol.**, vol.11, p.185–195, 2010.
- BOWMAN et al. Estratificação vertical de formigas em Cerrado strictu sensu no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, Goiás, Brasil. **Iheringia. Série Zool.**, vol. 98, p. 311–316, 2008.
- BRONSTEIN, J.L. Conditional outcomes in mutualistic interactions. **Trends in Ecology and Evolution**, vol. 9, p. 214-217, 1994.
- CALIXTO, E. S., L. R. NOVAES, D. F. B. DOS SANTOS, D. LANGE, X. MOREIRA, AND K. DEL-CLARO. Climate seasonality drives ant–plant–herbivore interactions via plant phenology in an extrafloral nectary-bearing plant community. **Journal of Ecology**, vol.109, p. 639–651, 2021.
- CARVALHO R.L., ANJOS, D.V., FAGUNDES, R., LUNA, P., RIBEIRO, S.P. Similar topologies of individual-based plant-herbivorous networks in forest interior and anthropogenic edges. **Austral Ecology**, vol. 46, p. 411-423, 2021.
- COSTA, F.V., BLÜTHGEN, N., VIANA-JUNIOR, A.B., GUERRA, T.J., DI SPIRITO, L., NEVES, F.S. Resilience to fire and climate seasonality drive the temporal dynamics of ant-plant interactions in a fire-prone ecosystem. **Ecol. Indic.**, vol. 93, p.247–255, 2008.
- COUTINHO, L.M., Fire in the ecology of the brazilian cerrado. In: Coutinho, L.M. (Ed.), **Fire in the Tropical Biota**. Springer International Publishing, Berlin, GE, pp. 82–105, 1990.
- DÁTTILO, W., GUIMARÃES, P.R., IZZO, T.J. Spatial structure of ant–plant mutualistic networks. **Oikos**, vol.122, p.1643–1648, 2013.
- 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**, vol. 47, p.459–467, 2015.
- DEL-CLARO, K. et al. Loss and gains in the ant-plant interactions mediated by extrafloral nectar: fidelity, cheats and lies. **Insects Sociaux**, vol. 63, p. 207-221, 2016.
- DEVRIES, P. J. Mutualism between *Thisbe irenea* butterflies and ants, and the role of ant ecology in the evolution of larval-ant associations. **Biological Journal of the Linnean Society**, vol. 43(3), p. 179–195, 1991. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1991.tb00592.x>

- DORMANN, C.F., STRAUSS, R. A method for detecting modules in quantitative bipartite networks. **Methods Ecol. Evol.**, vol.5, p.90–98, 2014.
- DORMANN, C.F., FRÜND, J., SCHAEFER, H. M. Identifying causes of patterns in ecological networks: Opportunities and limitations. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.**, vol. 48, p.559–584, 2017.
- DUARTE, M.; ROBBINS, R. K. Imature stages of *Calycopis bellera* (Hewiston) and *C. janeirica* (Felder) (Lepidoptera: Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini): taxonomic significance and new evidence for detritivory. **Zootaxa**, vol. 2325, p. 39-61, 2009.
- FAGUNDES, R., ANJOS, D.V., CARVALHO, R., DEL-CLARO, K. Availability of food and nesting-sites as regulatory mechanisms for the recovery of ant diversity after fire disturbance. **Sociobiology**, vol.62, p.1–9, 2015.
- FAGUNDES, R., LANGE, D., ANJOS, D.V., LIMAD, F.P., NAHAS, L., CORROF, E.J., GOMES-SILVA, P.B., DEL-CLARO, K., RIBEIRO, S.P., DÁTILLO, W. Limited effects of fire disturbances on the species diversity and structure of ant-plant interaction networks in Brazilian Cerrado. **Acta Oecologica**, vol. 93, p. 65-73, 2018.
- FIEDLER, K. The associates of Lycaenidae butterfly caterpillar – revisited. **Nota Lepi.** Vol. 44, p. 159-174, 2021.
- FORTUNA, M.A., BASCOMPTE, J. Loss and the structure of plant–animal mutualistic networks. **Ecol. Lett.**, vol.9, p.281–286, 2006.
- HOJO, M. K., PIERCE, N. E., & TSUJI, K. Lycaenid Caterpillar Secretions Manipulate Attendant Ant Behavior. **Current Biology**, vol. 25(17), p. 2260–2264, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.07.016>
- JANZ, N., NYLIN, S. “**The oscillation hypothesis of host-plant range and speciation**” in **Specialization, Speciation, and Radiation: The Evolutionary Biology of Herbivorous Insects**, K. J. TILMON, Ed. (University of California Press, Berkeley, CA, 2008), pp. 203–215.
- JANZEN, D. H.; HALLWACHTS, W. Dynamic database for na inventory of macrocaterpillar fauna, and its food plant and parasitoid of the Area de conservacion Guanacaste (ACG), Northwestern Costa Rica. Available from: janzen.sas.upenn.edu. [accessed 2022 Aug], 2010.
- JORDANO, P. Chasing ecological interactions. **PLoS Biol.**, vol.14, e1002559, 2016.
- 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. **The American Naturalist**, vol. 176(3), p. 322–334, 2010. <https://doi.org/10.1086/655427>
- KEELEY, J.E., SYPHARD, A.D. Climate change and future fire regimes: examples from California. **Geosciences**, vol.6, p.1–14, 2016.
- KEITH, R., BAILEY, J. K., LAU, M. K., WHITHAM, T. G. Genetics-based interactions of foundation species affect community diversity, stability and network structure. **Proc. Biol. Sci.** Vol. 284, p.2016-2703, 2017.
- KRASNOV B. R. et al., Phylogenetic signal in module composition and species connectivity in compartmentalized host-parasite networks. **Am. Nat.**, vol.179, p.501–511, 2012.
- LANGE, D., DÁTILLO, W., DEL-CLARO, K. Influence of extrafloral nectary phenology on ant–plant mutualistic networks in a neotropical savanna. **Ecol. Entomol.**, vol.38, p.463–469, 2013.
- LUNA, P., GARCIA-CHAVEZ, J.H., DÁTILLO, W. Complex foraging ecology of the red harvester ant and its effect on the soil seed bank. **Acta Oecologica**, vol.86, p.57-65, 2018.

- MARAVALHAS, J., VASCONCELOS, H.L. Revisiting the pyrodiversity–biodiversity hypothesis: long-term fire regimes and the structure of ant communities in a Neotropical savanna hotspot. **J. Appl. Ecol.**, vol.51, p.1661–1668, 2014.
- MARQUITTI, F.M.D., GUIMARÃES, P.R., PIRES, M.M., BITTENCOURT, L.F. Modular: software for the autonomous computation of modularity in large network sets. **Ecography**, vol.37, p.221-224, 2014.
- MIRANDA, A.C., MIRANDA, H.S., DIAS, I.D.O., DIAS, B.F.D. Soil and air temperatures during prescribed Cerrado fires in Central Brazil. **J. Trop. Ecol.**, vol.9, p.313–320, 1993.
- MIRANDA, H. S. et al. Fires in the cerrado, the Brazilian savanna. **Tropical Fire Ecology**, v. 2, p. 427–450, 2009.
- MONTEIRO, R. Cryptic larval polychromatism in *Rekoa marius* Lucas and *R palegon* Cramer (Lycaenidae: Theclinae). *J Res Lepidoptera*, vol. 29, p. 77-89. 1991.
- MOTA, L. L. & OLIVEIRA, P. S. Myrmecophilous butterflies utilise ant-treehopper associations as visual cues for oviposition. **Ecological Entomology**, vol. 41, p.338-343, 2016.
- OLIVEIRA, P.S., MARQUIS, R.J. **The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna**. Columbia University Press, Columbia, US. , 2002.
- PIERCE, N. E. Butterfly-Ant mutualism. In: GRUBB, P.J. & WHITTAKER (Eds.). **Toward a more The 30th Symposium of The British Ecological Society**, Oxford London Endinburgh, Londres, p. 299-320, 1989.
- PIERCE, N. E., BRABY, M. F., HEATH, A., LOHMAN, D. J., MATHEW, J., RAND, D. B., & TRAVASSOS, M. The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). **Annual Review of Entomology**, vol. 47, p. 733–771, 2002. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145257>
- PORTO, G. F. **O efeito do fogo e geadas no cerrado sobre o mutualismo entre a planta extranectarífera *Ouratea spectabilis* (Mart.) Engel. (Ochnaceae) e formigas**. Dissertação apresentada a Universidade Federal de Uberlândia como pré-requisito para obtenção do título de mestre em Biologia vegetal. 2022
- RAMOS-JILIBERTO, R., VALDOVINOS, F. S., MOISSET, P., ESPANÉS, D., FLORES, J. D. Topological plasticity increases robustness of mutualistic networks. **J. Anim. Ecol.**, vol. 81, p.896-904, 2012.
- ROBBINS, R. K. The lycaenid “false head” hypothesis: historical review and qualitative analysis. **J. Lep. Soc.**, vol. 34, p. 194-208, 1991.
- ROBINSON, M. L., STRAUSS, S. Y. Cascading effects of soil type on assemblage size and structure in a diverse herbivore community. **Ecology**, vol. 99, p.1866–1877, 2018.
- RODRIGUES, D., KAMINSKI, L. A., FREITAS, A. V. L., OLIVEIRA P. S. Trade-offs underlying polyphagy in a facultative ant-tended florivorous butterfly: the hole of host plant quality and enemy-free space. **Plant-animal Interactions**, vol. 163, p. 719-728.
- SCHERRER S. et al., Seasonal variation in diet breadth of folivorous Lepidoptera in the Brazilian cerrado. **Biotropica**, vol.48, p.491–498, 2016.
- SILVA, N. A. P.; DUARTE, M.; DINIZ, I. R.; MORAIS, H. C. Host plant of Lycaenidae on inflorescences in the central Brazilian cerrado. **J. Res. Lepidoptera**, vol. 44, p. 95-105, 2011.
- STOUFFER, D. B., BASCOMPTE, J. Compartmentalization increases food-web persistence. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, vol.108, p.3648–3652, 2011.

- THÉBAULT, E., FONTAINE, C. Stability of ecological communities and the architecture of mutualistic and trophic networks. **Science**, vol.329, p.853–856, 2010.
- TILMAN, D., KNOPS, J., WEDIN, D., REICH, P., RITCHIE, M., SIEMANN, E. The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes. **Science**, vol. 277, p. 1300-1302, 1997.
- TOREZAN-SILINGARDI, H. M. **A influência dos herbívoros florais, dos polinizadores e das características fenológicas sobre a frutificação de espécies da família Malpighiaceae em um cerrado de Minas Gerais**. Tese apresentada à Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto-SP, pp. 180, 2007.
- VALDOVINOS, F. S., RAMOS-JILIBERTO, R., GARAY-NARVÁEZ, L., URBANI, P., DUNNE, J. A. Consequences of adaptive behaviour for the structure and dynamics of food webs. **Ecol. Lett.**, vol. 13, p. 1546-1559, 2010.
- VILELA, A. A.; CLARO, V. T. S. D.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Climate change affecting biotic interaction, phenology and reproductive success in a Savanna community over a 10-years period. **Arthropod-plant Interaction.**, p. 1-14, 2017.
- VILELA, A. A.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Conditional outcomes an ant-plant herbivore interactions influenced by a sequential flowering. **Flora**, vol. 209, p. 359-366, 2014.
- XIMENES, B., DÁTTILO, W., LEAL, I. R. Structural breakdown of specialized plantherbivore interaction networks in tropical forest edges. **Glob. Ecol. Conserv.**, vol.12, p.1–8, 2017.

CAPÍTULO II

BORBOLETAS MIRMECÓFILAS ESCOLHEM OVIPOR EM PLANTAS HOSPEDEIRAS COM FORMIGAS QUE OFERECEM MELHOR PROTEÇÃO ÀS SUAS LARVAS: UM ESTUDO DE CASO COM LICENÍDEOS DO CERRADO.

Isamara Mendes da Silva ¹, Eduardo Soares Calixto ² & Kleber Del Claro³

¹ Programa de Pós-graduação em Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 14040-901, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

² Departamento de Entomologia e Nematologia, Universidade da Florida, Gainesville, Florida, Estados Unidos.

³ Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, 38400-902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Borboletas mirmecófilas escolhem ovipor em plantas hospedeiras com formigas que oferecem melhor proteção às suas larvas: um estudo de caso com licenídeos do cerrado.

Isamara Mendes da Silva ¹, Eduardo Soares Calixto ² & Kleber Del Claro ²

Resumo

Selecionar locais seguros para a oviposição é crucial para insetos herbívoros cujos estágios juvenis apresentam mobilidade limitada, como os lepidópteros. A escolha da planta hospedeira pelas borboletas é baseada em fatores como a disponibilidade de alimento, presença de inimigos naturais ou de organismos mutualistas. Por exemplo, as fêmeas de borboletas mirmecófilas da família Lycaenidae procuraram por formigas sobre as plantas hospedeiras durante o processo de postura de seus ovos. A oviposição mediada pela presença de formigas é bastante documentada para espécies de borboletas de mutualismo obrigatório, mas ainda é incipiente para os mutualismos facultativos. Diante disso, o presente estudo investigou se licenídeos com mutualismo facultativo são capazes de discriminar entre espécies de formigas presentes nas plantas e ter preferência pela espécie com melhor habilidade protetiva durante a escolha da planta hospedeira. A Malpighiaceae *Banisteriopsis malifolia* é utilizada por diversas espécies de licenídeos no Cerrado, principalmente os mirmecófilos *Parrhasius polibetes* e *Rekoa marius*. Neste estudo, foram manipuladas inflorescências da hospedeira, a fim de terem a presença de duas espécies de formigas (*Camponotus crassus* ou *Ectatomma tuberculatum*) e como controle, um círculo de EVA marrom. Ambas espécies de borboletas preferiram depositar seus ovos em inflorescências com *C. crassus*. Experimentos adicionais mostraram que *C. crassus* é mais eficiente na proteção das lagartas mirmecófilas do que *E. tuberculatum*. Os resultados corroboram a hipótese da oviposição mediada não só pela presença, mas

também pela identidade das formigas para licenídeos que se associam facultativamente com formigas. Demonstrando que o mutualismo facultativo é suficiente para moldar o comportamento de borboletas adultas, reforçando a interação licenídeo-formiga.

Palavras-chave: Lycaenidae, locais de oviposição, mutualismo facultativo, planta hospedeira.

Introdução

Para as espécies de insetos, principalmente aquelas que possuem estágio juvenil com mobilidade limitada, o local onde as fêmeas depositam seus ovos é fundamental para a sobrevivência da prole e conseqüentemente para a persistência da população (Thompson, 1988). Na maioria das espécies de lepidópteros, por exemplo, as fêmeas depositam seus ovos em plantas onde as lagartas poderão se alimentar melhor (Renwick & Chew, 1994). Ao escolher um local de qualidade para depositar seus ovos, as fêmeas aumentam as chances de sobrevivência do imaturo, melhor performance larval e fitness do adulto (Garcia-Barros & Fartmann, 2009). A escolha da planta hospedeira por borboletas no momento da oviposição é resultado de uma combinação de fatores bióticos e abióticos, tais como a qualidade nutricional, abundância da planta, condições microclimáticas, competição larval intraespecífica e a presença de mutualistas ou predadores (Renwick & Chew, 1994; Casacci et al., 2019).

Borboletas da família Lycaenidae, estabelecem associações com formigas durante a fase larval (Pierce, 1989). A mirmecofilia nesse caso é mediada por adaptações morfológicas e comportamentais, tais como mimetismo químico, vibrações, e a presença de órgãos mirmecófilos especializadas na produção de recompensas líquidas para formigas. Em troca, as larvas de licenídeos obtêm das formigas proteção contra predadores e/ou parasitoides (Pierce et al., 1987; Fiedler et al., 1995; Nakabayashi et al., 2020; Lima et al., 2021). Essa interação pode aumentar o desempenho e a taxa de sobrevivência para as larvas que são atendidas por formigas (Pierce et al., 1987; Kaminski et al., 2012). Diante disso, borboletas mirmecófilas, que primariamente necessitam da planta como alimento para sobrevivência da larva, também podem procurar por formigas durante a distribuição de seus ovos nas plantas hospedeiras, a fim de aumentar a probabilidade de encontro de suas larvas com formigas atendentes e garantir sua proteção

nesse estágio de maior vulnerabilidade (Pierce & Elgar, 1985; Rodrigues et al., 2010; Alves-Silva et al., 2013).

Do ponto de vista evolutivo, alguns autores sugerem que a seleção natural possa ter favorecido a capacidade de borboletas mirmecófilas localizarem tanto as suas plantas hospedeiras quanto as formigas atendentes (Pierce & Elgar, 1985; Fraser et al., 2002; Praticelli et al., 2011; Carleial et al., 2018; Casacci et al., 2019). De fato, a postura de ovos induzida pela presença de formigas, a princípio, foi evidenciada experimentalmente para algumas espécies mirmecófilas obrigatórias (Pierce & Elgar, 1985; Fraser et al., 2002; Wynhoff et al., 2008). E embora o efeito da oviposição mediada por formigas seja considerado mais fraco nas espécies de borboletas com associações facultativas, estudos em regiões neotropicais sugerem a preferência de licenídeos em depositar seus ovos em plantas visitadas por formigas (Kaminski et al., 2010; Rodrigues et al., 2010; Alves-Silva et al., 2013; Bächtold et al., 2014; Mota et al., 2016). Como registrado por Bächtold et al. (2014), ovos e larvas das borboletas mirmecófilas facultativas *Allosmaitia strophius* (Godart) e *Rekoa marius* (Lucas) ocorrem majoritariamente em plantas onde as formigas estão presentes, especialmente as do gênero *Camponotus*. O mesmo foi observado para o licenídeo facultativo *Parrhasius polibetes* (Stoll), cuja ocorrência é relacionada com presença, mas não com a abundância da formiga *Camponotus blandus* (Smith) (Alves-Silva et al., 2013). Mais recentemente, Mota & Oliveira (2016) demonstraram que fêmeas de *P. polibetes* são capazes de identificar visualmente formigas e associações de pulgões com formigas, e utilizá-las como pista durante a oviposição; sendo este, até o momento, o único estudo que mostra de maneira precisa os sinais utilizados pelas fêmeas na seleção da planta hospedeira em espécies de borboletas mirmecófilas facultativas.

Neste contexto, não se pode descartar que outras pistas visuais, tais como o reconhecimento da espécie de formiga parceira, sejam empregadas no processo de postura

de ovos por licenídeos facultativos. Com este intuito, o presente estudo investigou experimentalmente se (i) fêmeas da família Lycaenidae são capazes de reconhecer entre as espécies de formigas presentes nas plantas hospedeiras; (ii) e ter uma preferência por determinada espécie durante a oviposição. As hipóteses testadas foram (i) que borboletas fêmeas mirmecófilas facultativas conseguem discriminar entre as espécies de formigas presentes nas plantas hospedeiras (e.g. Mota & Oliveira, 2016); e (ii) preferem depositar seus ovos em plantas forrageadas pela formiga *Camponotus crassus*, por ser uma das espécies mais abundantes e agressivas no Cerrado (Lange et al., 2019). Desta forma, fêmeas de borboletas cujo estágio larval estabelece interações com formigas, teriam vantagem se depositassem seus ovos em plantas hospedeiras com a presença de *C. crassus* (Alves-Silva et al., 2013; Bächtold et al., 2014).

Material e Métodos

Área e Espécies de estudo

O estudo de campo foi conduzido em uma área de Cerrado, na Cidade de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil (18°59'S, 48°17'W). A área possui uma vegetação predominantemente arbustiva, com plantas variando entre 2 e 4 metros de altura. O padrão climático da região é subtropical, possuindo duas estações bem definidas: uma estação quente e úmida (outubro-abril) e outra com temperaturas mais amenas e seca (maio-setembro). A média de temperatura anual varia de 18°C a 28° e a média de chuva anual de 800 a 2.000mm (Vilela et al. 2017). Os experimentos foram realizados de janeiro a agosto de 2021, correspondente ao período reprodutivo da planta hospedeira utilizada, *Banisteriopsis malifolia*, (Malpighiaceae). A escolha da espécie vegetal foi baseada no levantamento prévio de licenídeos realizado pela primeira autora entre 2019/2020.

Banisteriopsis malifolia (Nees & Mart) tem flores com a cor das pétalas variando de rosa claro a rosa intenso. Sua produção floral tem início em fevereiro e vai até junho, com pico em abril e maio (Calixto et al. 2021). Os botões florais crescem em inflorescências localizadas no ápice dos ramos e caules (Ferreira & Torezan-Silingardi, 2013). Além disso, possuem nectários extraflorais na base das folhas e brácteas nas inflorescências, que atraem insetos nectaríferos, principalmente formigas (Alves-Silva & Del-Claro, 2016; Vilela et al., 2018). Durante o período floral, essa espécie serve como hospedeira para os ovos e larvas de borboletas da família Lycaenidae (Bächtold, 2014).

Duas espécies de formigas foram utilizadas no presente experimento, as quais são comumente encontradas forrageando as malpighiáceas do estudo (Vilela et al., 2018; Calixto et al., 2021): *Camponotus crassus* Mayr, 1862 e *Ectatomma tuberculatum* (Olivier, 1792). *Camponotus crassus* tem coloração preta e apesar de ser menor (~ 0,7cm) do que *E. tuberculatum* (~ 1,2cm), é uma formiga ágil e agressiva, muito abundante na região de estudo, sendo considerada uma importante defensora biótica em plantas com NEFs no cerrado (Fagundes et al., 2017, Lange et al. 2019). Além disso, estudos mostram *C. crassus* como uma formiga atendente de larvas mirmecófilas (Bachtold et al., 2014). *Ectatomma tuberculatum* possui coloração marrom-avermelhada, é agressiva e encontrada frequentemente em plantas portadoras de NEFs, porém menos ágil e abundante do que *C. crassus* (Fagundes et al., 2017; Calixto, et al., 2021). Seleccionamos, portanto, duas formigas agressivas, mas que apresentam diferentes tamanhos, coloração e agilidade.

Experimento de oviposição

Com intuito de investigar se os licenídeos são capazes de reconhecer entre as espécies de formigas e ter uma preferência em depositar seus ovos em plantas onde há presença de determinada espécie, seleccionamos 50 indivíduos de *B. malifolia*. Para

minimizar os efeitos da idade da planta, estrutura e dependência espacial, cada indivíduo selecionado apresentava de 1-1,5m de altura, com distância mínima entre si de pelo menos 5 metros e pelo menos três inflorescências produzindo botões florais em estágio inicial de desenvolvimento. Todas as plantas receberam resina atóxica (Tanglefoot® Rapids Michigan, EUA) na sua base e em torno de cada inflorescência experimentalmente manipulada para impedir a visitação de formigas.

Em cada indivíduo, três inflorescências com botões em estágios iniciais foram aleatoriamente selecionadas e divididas para o seguinte experimento: 1) Quatro formigas mortas da espécie *C. crassus* foram presas com alfinetes nessas inflorescências (Fig. 1b). 2) Inflorescências receberam quatro formigas mortas da espécie *E. tuberculatum*, também colocadas nas plantas com do alfinete (Fig. 1d). 3) Em quatro inflorescências representando o grupo controle do experimento, quatro círculos de EVA marrom (Etileno Acetato de Vinila), um polímero emborrachado e flexível, foram colocados com alfinete (Fig. 1c). Exemplos das formigas foram coletadas em outras plantas no campo, levadas e montadas em laboratório; tanto as formigas quanto o EVA foram montados com o uso de alfinetes entomológicos. As formigas eram repostas semanalmente a fim de evitar odor de podridão e também quando havia o desaparecimento de alguma formiga no experimento. A oviposição foi medida indiretamente pela contagem e captura de ovos e larvas de licenídeos nas plantas hospedeiras. Durante todo o período reprodutivo das três espécies vegetais, os indivíduos experimentalmente manipulados foram inspecionados três vezes por semana a procura de ovos e larvas de licenídeos. As inspeções ocorriam a partir das 7:30h até 16h. Os ovos e larvas encontrados foram coletados e criados em laboratório até a fase adulta, e depois identificados. Este desenho experimental possibilitou testar o efeito direto da presença e identidade da formiga na proteção e sobrevivência das lagartas (Fig. 1a).

Comportamento de formigas

Para testar o comportamento das duas espécies de formigas, a fim de verificar o grau de proteção que cada espécie pode oferecer aos licenídeos, na presença de formigas foram colocados operários vivos do cupim *Nasutitermes* sp. (Termitidae) com 2cm de distância das larvas, a fim de simular um possível inimigo natural. Os cupins foram colados dorsalmente na planta com o uso de cola atóxica. O experimento foi realizado em 20 indivíduos de *B. malifolia*, diferentes do experimento anterior. A seleção das plantas foi feita de acordo a presença de larvas do licenídeo *P. polibetes*, que estavam no quarto ou quinto instar, fase em que estabelece associações com formigas (Kaminski et al., 2010). Foram utilizadas 10 plantas com pelo menos uma larva do licenídeo *P. polibetes* na presença da formiga *E. tuberculatum* e outras 10 plantas, com larvas, na presença de *C. crassus*. A cada cupim colocado esperava-se até cinco minutos, e para cada planta foram feitas três repetições, colocando três cupins em momentos diferentes com intervalos de 15 minutos, tempo que as formigas voltavam a caminhar próximo a larva (I. Mendes-Silva, observações pessoais). Ao colocar o cupim, eram realizadas observações comportamentais das formigas frente ao mesmo, tais como o tempo para encontrar e remover o cupim da planta hospedeira. O experimento foi realizado entre 8:00 e 12:00h da manhã.

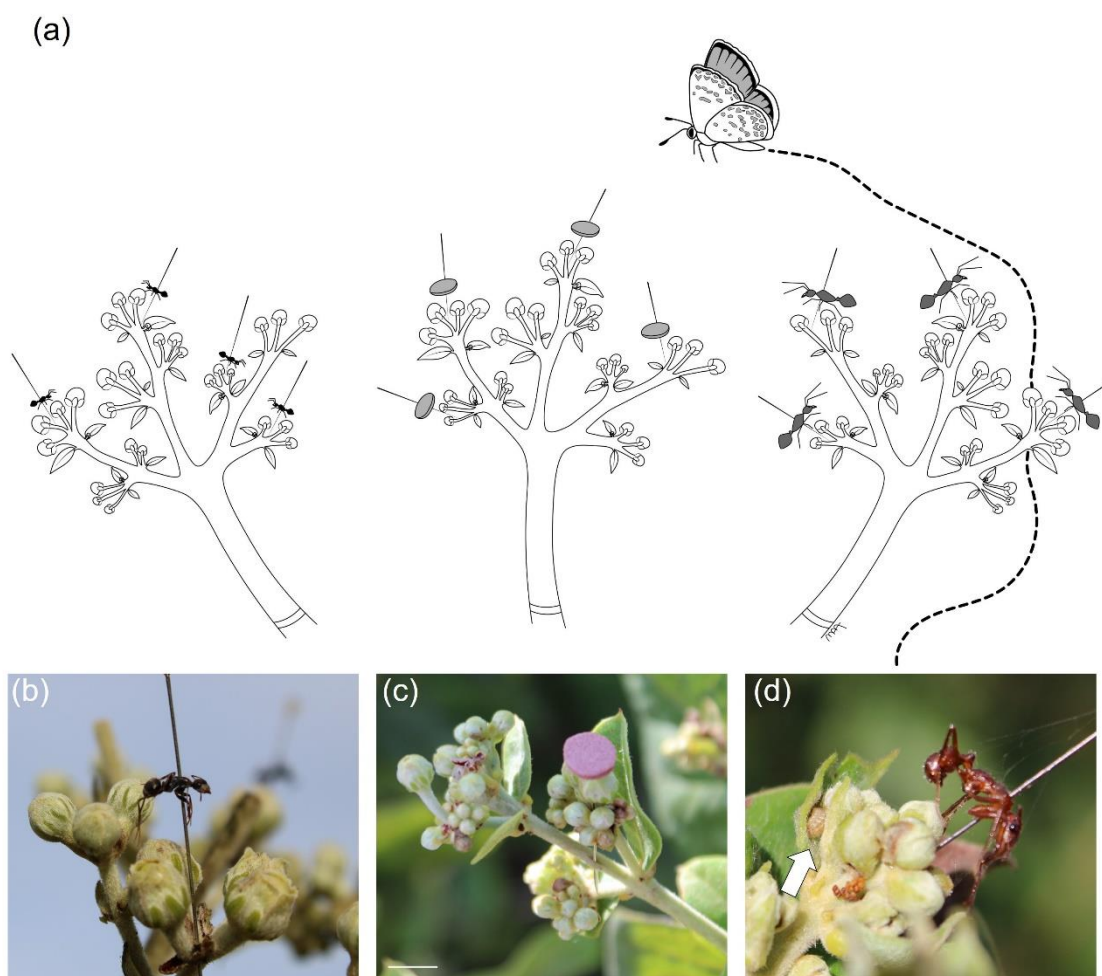


Figura 1. Experimento de oviposição mediado pela presença de formigas em planta hospedeira. (a) Ilustração esquemática do experimento (sem escala). (b) Formiga *Camponotus crassus* colocado com alfinete entomológico na planta *Banisteriopsis malifolia*. (c) Círculo de EVA alfinetado em *B. malifolia*. (d) Formiga *Ectatomma tuberculatum* colocada com alfinete entomológico em *B. malifolia*. Traço em (c) representa escala de 1cm. Seta em (d) indica larva de licenídeo no experimento com *E. tuberculatum*. Ilustração: Malú Almeida Araújo.

Análise de dados

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o RStudio 4.0.0 com o nível alfa de significância igual a 0,05. Utilizamos Modelos Lineares Mistos Generalizados (GLMM) com distribuição de erro de acordo com cada variável resposta. Em seguida, checamos os resíduos para verificar a adequação do modelo. Utilizamos o R^2_{marginal} (R^2_{m}) e $R^2_{\text{condicional}}$ (R^2_{c}), a qual representa a variância explicada pelos efeitos fixos e todo o modelo (efeitos fixos aleatórios), respectivamente, usando o pacote ‘MuMIn’(Barton,

2018). Modelos com valores R^2 em torno de 0,02, 0,13 e 0,26 representam pequeno, médio e grande efeito respectivamente, e os valores de comparações pareadas foram referidos como pequeno ($d = 0.2$), médio ($d=0.5$) e grande ($d=8$) (Cohen, 1988). Comparações pareadas foram conduzidas utilizando médias marginais estimadas (EMMs) com o pacote “emmeans” (Lenth, 2020). Para avaliar se houve variação no número de ovos e larvas (por espécie de licenídeo e o total de licenídeos) entre os tratamentos, avaliando se a oviposição era mais ou menos provável de realmente acontecer em tratamento com determinada espécie de formiga, realizamos uma GLMM com distribuição beta, seguida pelo teste q-quadrado, usando o pacote “glmmTMB” (Brooks et al., 2017). Para verificar se houve diferença entre os tratamentos utilizamos o teste de Tukey HSD. Os tratamentos foram considerados fatores fixos, planta como fator de bloco aleatório, e o número de ovos e larvas como variável resposta.

Para avaliar a agressividade das formigas e, conseqüentemente, o potencial de defesa aos licenídeos imaturos, realizamos uma análise de sobrevivência. Para tanto, utilizamos um modelo de sobrevivência considerando o tempo e a taxa de predação dos cupins como variável resposta e a espécie de formiga como variável preditora. Foi implementado a família G-rho de Harrington e Fleming (1982) usando a função `survdiff` no pacote “survival” (Therneau, 2015) seguido por comparações pareadas usando o teste Log-Rank e correção do valor p de Benjamini e Hochberg no pacote “survminer” (Kassambara; Kosinski, 2018).

Resultados

Foram encontradas um total de 13 ovos e 75 larvas da família Lycaenidae. Foram observados 59 ovos e larvas do licenídeo *Parrhasius polibetes* ($0,17 \pm 0,55$), 27 ovos e larvas de *Rekoa marius* ($0,08 \pm 0,41$) e apenas duas larvas de *Allosmaitia strophius*.

Nossos resultados revelaram diferença significativa do número de larvas de *P. polibetes* entre os tratamentos (GLMM $\chi^2 = 20,90$, $p < 0.0001$). Onde inflorescências com *C. crassus* teve maior taxa de oviposição (EMM = 0,569; [95% CI: 0,408; 0,716]), seguida de inflorescências com *E. tuberculatum* (EMM = 0,154; [95% CI: 0,068; 0,313]) e o controle EVA (EMM = 0,047; [95% CI: 0,012; 0,164]), respectivamente, com valores de *C. crassus* significativamente diferentes de *E. tuberculatum* e EVA ($p < 0.0001$; Fig. 2a). Também houve diferença significativa na oviposição de *R. marius* entre os tratamentos (GLMM $\chi^2 = 11,34$, $p < 0.001$). Sendo que inflorescências de *C. crassus* teve maior probabilidade de oviposição (EMM = 0,256; [95% CI: 0,128; 0,446]), seguida de *E. tuberculatum* (EMM = 0,065; [95% CI: 0,017; 0,219]) e EVA (EMM = 0,015; [95% CI: 0,001; 0,131]), com valores de *C. crassus* significativamente diferentes de *E. tuberculatum* e EVA ($p < 0.001$; Fig. 2b). Por fim, a soma de todas as espécies de licenídeos encontrados em *B. malifolia* também diferiram significativamente entre os tratamentos (GLMM $\chi^2 = 23,57$, $p < 0.0001$). Onde a maior taxa de oviposição ocorreu em inflorescências de *C. crassus* (EMM = 0,727; [95% CI: 0,556; 0,851]), seguida do tratamento com *E. tuberculatum* (EMM = 0,230; [95% CI: 0,118; 0,400]) e EVA (EMM = 0,062; [95% CI: 0,018; 0,186]), respectivamente, sendo que *C. crassus* diferiu estatisticamente de *E. tuberculatum* e EVA ($p < 0.0001$; Fig. 2c).

Houve uma variação significativa no comportamento de remoção do cupim entre as duas espécies de formigas (GLMM $\chi^2 = 41,05$, $p < 0.0001$; Fig. 3). O tempo máximo para a formiga *C. crassus* encontrar e preda o cupim foi de aproximadamente 80 segundos, sendo que em 15 segundos 40% dos cupins já haviam sido predados. Enquanto que a formiga *E. tuberculatum* demandou cerca de 300 segundos para preda o cupim, e 70% dos cupins só foram encontrados e predados após 100 segundos.

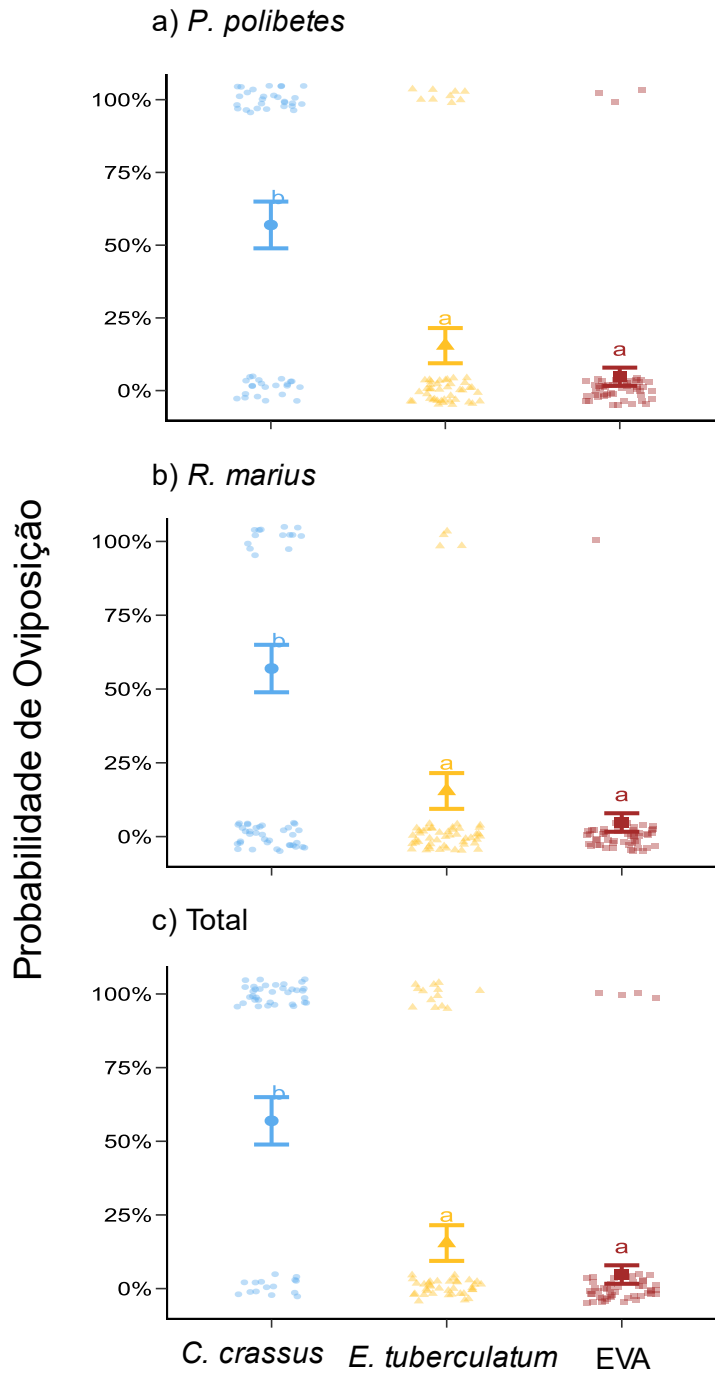


Figura 2. Probabilidade de oviposição entre os três tratamentos: *Camponotus crassus*, *Ectatomma tuberculatum* e EVA. Média e desvio padrão de oviposição (ovos e larvas) do licenídeo *P. polibetes* entre os três tratamentos (a); média e desvio padrão de oviposição (ovos e larvas) do licenídeo *R. marius* entre os três tratamentos (b); e média e desvio padrão de todos os ovos e larvas de licenídeos distribuídos entre os respectivos tratamentos (c). Letras diferentes representam diferença significativa entre os grupos (GLMM χ^2 ; $p < 0,0001$).

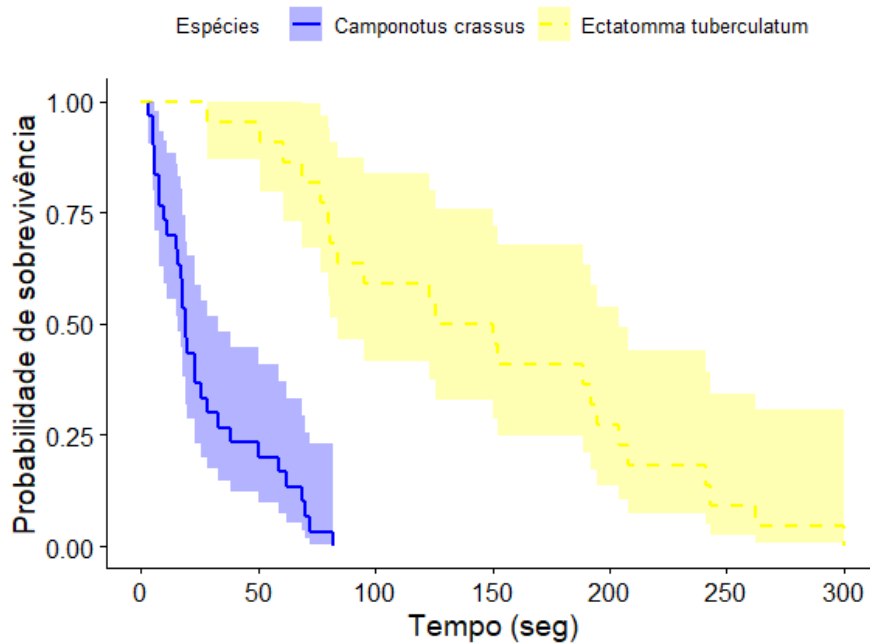


Figura 3. Tempo gasto pelas formigas *C. crassus* (curva azul) e *E. tuberculatum* (curva amarela) para remover os cupins próximos as larvas do licenídeo *P. polibetes* na planta hospedeira (GLMM $\chi^2 = 41,05$, $p < 0.0001$).

Discussão

Os resultados obtidos mostram que espécies de licenídeos mirmecófilos facultativos são capazes de reconhecer visualmente entre as formigas atendentes durante a processo de oviposição e tem preferência em depositar seus ovos na presença de formigas que oferecem melhor proteção para suas larvas, neste caso *C. crassus*. A seleção da planta hospedeira para essas espécies de licenídeos não só é baseada na presença de formigas (Rodrigues et al., 2010; Alves-Silva et al., 2013; Mota & Oliveira, 2016), mas também pela identidade da formiga atendente.

De modo geral, considerando que as formigas interagem diretamente com lagartas de licenídeos e as protegem de inimigos naturais (Pierce et al., 2002), é esperado que sua presença na planta hospedeira seja relevante no processo de oviposição. As primeiras evidências empíricas acerca da presença de formigas na distribuição de ovos dos

licenídeos, foram mostradas para a espécie de mutualismo obrigatório *Jalmenus evagoras* (Pierce & Elgar, 1985; Baylis & Pierce, 1991), que também é capaz de discernir entre suas formigas atendentes (Fraser et al., 2002). Posteriormente, foi corroborada para outros licenídeos com mirmecofilia obrigatória, tais como *Maculinea teleius*, *M. nausithous* e *Phengaris teleius* (Wynhoff et al., 2008; Wynhoff & Langevelde, 2017). Apesar de alguns autores sugerirem a ausência desse efeito para licenídeos com associações facultativas (Pierce et al., 2002), estudos realizados em regiões neotropicais sugerem que a seleção de locais de oviposição seja influenciada pela presença de formigas para esses licenídeos (Alves-Silva et al., 2013; Bachtold et al., 2014; Mota & Oliveira, 2016). Como foi proposto, por exemplo, para os licenídeos *Parrhasius polibetes*, *Rekoa marius* e *Allosmaitia strophius*, que ocorrem majoritariamente em plantas com formigas do gênero *Camponotus* (Rodrigues et al., 2010; Bachtold et al., 2014; Bachtold et al., 2016). Em adição a esses estudos, os resultados do presente estudo revelam de maneira mais aprofundada e empírica, que fêmeas de *P. polibetes* e *R. marius* são capazes de discriminar entre as espécies de formigas para selecionar plantas visitadas pela formiga que exerce maior grau de proteção sobre suas larvas. Portanto, nossos dados reforçam a hipótese da oviposição baseada na presença de formigas e evidencia a capacidade dos licenídeos de mutualismo facultativo reconhecerem visualmente suas formigas parceiras.

Nossos resultados indicam que a formiga *Camponotus crassus* é mais eficiente em remover um possível inimigo natural próximos as larvas mirmecófilas do que a formiga *Ectatomma tuberculatum*. Estudos prévios desenvolvidos com Lycaenidae no cerrado registraram interações mais frequentes entre as larvas e formigas do gênero *Camponotus* (Alves-Silva et al., 2013; Bachtold et al., 2014; Bachtold et al., 2016). Além de ser uma formiga ágil e agressiva, *C. crassus* é conhecida por sua dominância ecológica e ampla distribuição na região de estudo, tornando seus territórios circundantes um

ambiente estável e protegido para os organismos com quem estabelece associações mutualísticas (Del-Claro et al., 2016, Lange et al. 2019), o que, juntamente com nossas observações, pode explicar a preferência dessas formigas pelos licenídeos aqui estudados.

Entender os fatores comportamentais que condicionam a interação entre os licenídeos mirmecófilos facultativos e suas formigas atendentes é de suma importância para uma melhor compreensão da evolução desse sistema; pois licenídeos podem se associar com mais de uma espécie de formiga, como também podem sobreviver na sua ausência (Mizuno et al., 2019). Ademais, a identidade da formiga pode ser um fator preponderante na performance larval e fitness dos licenídeos (Nash et al., 2011; Trager et al., 2013). Por exemplo, larvas fêmeas do licenídeo mirmecófilo facultativo *Plebejus argyrognomon praeterinsularis* apresentam maior massa e melhor desenvolvimento quando atendidas pela formiga *Camponotus japonicus* do que pela formiga *Lasius japonicus* ou na ausência de formigas (Mizuno et al., 2019). O que significa que mesmo licenídeos com associações facultativas podem ser beneficiados por uma espécie particular de formiga. Neste sentido, experimentos futuros que avaliem a influência de *C. crassus* e outras formigas interagentes na performance larval e sobrevivência dos licenídeos no cerrado podem ajudar a desvendar o funcionamento desse sistema e contribuir para conservação e manejo das espécies de Lycaenidae nessa região.

Em suma, nossos resultados sugerem que a procura por um local seguro e ocupado por formigas eficientes na defesa da sua prole parece ser crucial até mesmo para borboletas mirmecófilas que se associam facultativamente com formigas. O mutualismo facultativo entre licenídeos e formigas é suficientemente importante para promover adaptações no comportamento de borboletas fêmeas mirmecófilas durante a seleção da planta hospedeira (Mota & Oliveira, 2016; Nakabayashi et al., 2020), tornando-as capazes

de reconhecer as formigas que melhor protegerão suas larvas, reforçando assim a interação licenídeo-formiga nesses ambientes.

Referências

- ALVES-SILVA, E., BÄCHTOLD, A., BARÔNIO, G. J., DEL-CLARO, K. Influence of *Camponotus blandus* (Formicinae) on occurrence of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae) in *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). **Sociobiology**, vol.60(1), p. 30-34, 2013.
- BÄCHTOLD, A. **A comunidade de licenídeos de uma área de Cerrado: especificidade de dieta, interações ecológicas e seleção de plantas hospedeiras.** Tese Apresentada Ao Programa de Entomologia Da USP, FFCLRP, Como Pré-Requisito Para Obtenção Do Título de Doutor Em Entomologia., p. 136, 2014.
- BÄCHTOLD, A., ALVES-SILVA, E., DEL-CLARO, K. Ants, plant characteristics and habitat conservation status affect the occurrence of myrmecophilous butterflies on an extrafloral nectaried Malpighiaceae. **Stud Neotrop Fauna E.** vol. 51(2), p. 112–120, 2016.
- BÄCHTOLD, A., ALVES-SILVA, E., & DEL-CLARO, K. Ant-related oviposition is not associated to low parasitism of the myrmecophilous butterfly *Allosmaitia strophius* in an extrafloral nectaried shrub. **Acta Oecologica**, vol. 83, p. 15–21, 2017.
- BAYLIS, M., PIERCE, N. E. The effects of host plant quality on the survival of larvae and oviposition by adults of an ant-tended lycaenid butterfly, *Jalmenus evegora*. **Ecological Entomology**, vol. 16, p. 1-9, 1991.
- CALIXTO, E. S., L. R. NOVAES, D. F. B. DOS SANTOS, D. LANGE, X. MOREIRA, AND K. DEL-CLARO. Climate seasonality drives ant–plant–herbivore interactions via plant phenology in an extrafloral nectary-bearing plant community. **Journal of Ecology**, vol.109, p. 639–651, 2021.
- CARLEIAL, S., MAUREL, N., VAN KLEUNEN, M., STIFT, M. Oviposition by the mountain Alcon blue butterfly increases with host plant flower number and host ant abundance. **Basic and Applied Ecology**, vol. 63, 2018.
- CASACCI, L. P., BONELLI, S., BALLETTTO, E., BARBERO, F.. Multimodal Signaling in Myrmecophilous Butterflies. **Front Ecol. Evol.** vol. 7:454. 2019.
- DEL-CLARO, K. et al. Loss and gains in the ant-plant interactions mediated by extrafloral nectar: fidelity, cheats and lies. **Insects Sociaux**, vol. 63, p. 207-221, 2016.
- ELGAR, M. A., NASH, D. R., & PIERCE, N. E. Eavesdropping on cooperative communication within an ant-butterfly mutualism. **The Science of Nature**, vol. 103, p. 9–10, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00114-016-1409-5>
- ELGAR, M. A., & PIERCE, N. E. Mating success and fecundity in an ant-tended lycaenid butterfly. In: CLUTTON BROCK, T. H. (Ed.). **Reproductive Success: Studies of Individual Variation in Contrasting Breeding Systems**, The University Chicago Press, Chicago, p. 59–75, 1988.
- FAGUNDES, R.; DÁTILO, 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. **Biol. J. of the Linnean society**, vol. 20, p. 1-13, 2017.
- FERREIRA, C. A., AND H. M. TOREZAN-SILINGARDI. Implications of the floral herbivory on Malpighiaceae plant fitness: Visual aspect of the flower affects the attractiveness to pollinators. **Sociobiology**, vol.60, p.323–328, 2013.
- FIEDLER, K., & SAAM, C. Ants benefit from attending facultatively myrmecophilous Lycaenidae caterpillars: evidence from a survival study. **Oecologia**, vol. 104(3), p. 316–322, 1995. <https://doi.org/10.1007/BF00328367>
- FIEDLER, K. The associates of Lycaenidae butterfly caterpillar – revisited. **Nota Lepi**. Vol. 44, p. 159-174, 2021.
- FRASER, A. M., TREGENZA, T., WEDELL, N., ELGAR, M. A., & PIERCE, N. E. Oviposition tests of ant preference in a myrmecophilous butterfly. **Journal of Evolutionary Biology**, 15(5), 861–870, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2002.00434.x>
- GARCIA-BARROS, E., FARTMANN, T. Butterfly oviposition: sites, behaviour, modes. **Ecology of butterflies in Europe**. In: Settele, T., Shreeve, M., Konvicka, M., Van Dyck, H. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 2009, pp. 29-42.
- LIMA, L. D., TRIGO, J. R., KAMINSKI, L. A. Chemical convergence between a guild of facultative myrmecophilous caterpillars and host plants. **Ecological Entomology**, vol. 46, p. 66-75, 2021.
- 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. *The American Naturalist*, vol. 176(3), p. 322–334, 2010.
- KAMINSKI, L. A., RODRIGUES, D., FREITAS, A. V. L. Imature stages of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae): host plants, tending ants, natural enemies and morphology. **Journal of Natural History**, vol. 46, p. 645-667, 2012.
- 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**, vol. 53, p. 1737-1749, 2019.
- MIZUNO, T., HAGIWARA, Y., TOSHIHARU, A. Varied Effects of tending ant species on the development of facultatively myrmecophilous lycaenid butterfly larvae. **Insects**. vol.10, p.234–247, 2019.
- MOTA, L. L. & OLIVEIRA, P. S. Myrmecophilous butterflies utilise ant-treehopper associations as visual cues for oviposition. **Ecological Entomology**, vol. 41, p.338-343, 2016.
- NAKABAYASHI, Y., MOCHIOKA, Y., TOKUDA, M., OHSHIMA, I. Mutualistic ants and parasitoid communities associated with a facultative myrmecophilous lycaenid, *Arhopala japonica*, and the effects of ant attendance on the avoidance of parasitism. **Entomol Sci**. 2020.
- NASH, D. R., ALS, T. D., BOOMSMA, J. J. Survival and growth of parasitic *Maculinea alcon* caterpillar (Lepidoptera: Lycaenidae) in laboratory nests of three *Myrmica* ant species. **Insectes Sociaux**, vol. 58, p. 391-401, 2011.
- PIERCE, N. E. MEAD, S. P. Parasitoids as selective agents in the symbiosis between Lycaenid butterfly larvae and ants, **Science**, vol. 211, p. 1185-1187, 1981.
- PIERCE, N. E. Amplified species diversity: a case study of an Australian lycaenid butterfly and its attendant ants. **Symp. R. Entomol. Soc. London**, vol 11, p. 197–200, 1984.
- PIERCE, N. E. Butterfly-Ant mutualism. In: GRUBB, P.J. & WHITTAKER (Eds.).

- Toward a more The 30th Symposium of The British Ecological Society**, Oxford London Endinburgh, Londres, p. 299-320, 1989.
- PIERCE, N. E., BRABY, M. F., HEATH, A., LOHMAN, D. J., MATHEW, J., RAND, D. B., & TRAVASSOS, M. The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). **Annual Review of Entomology**, vol. 47, p. 733–771, 2002.
- PRATICELLI, D. et al. To lay or not to lay: oviposition of *Maculinea alcon* in relation to Myrmica ant presence and host plant phenology. **Animal Behaviour**, vol. 82, p. 791-799, 2011.
- RENWICK, J. A., CHEW, F. S. Oviposition behavior in Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, vol. 39, p. 377-400, 1994.
- RODRIGUES, D., KAMINSKI, L. A., FREITAS, A. V. L., OLIVEIRA P. S. Trade-offs underlying polyphagy in a facultative ant-tended florivorous butterfly: the hole of host plant quality and enemy-free space. **Plant-animal Interactions**, vol. 163, p. 719-728.
- THOMPSON, J. N. Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance off offspring in phytophagous insects. **Entomologia Experimentalis et applicata**, vol. 47, p.3-14, 1988.
- TRAGER, M. D., THOM, M. D., DANIELS, J. C. Ant-related oviposition and larval performance in a myrmecophilous lycaenid. **International Journal of Entomology**, 2013.
- WYNHOFF, I., GRUTTERS, M., LANGEVELDE, F. V. Looking for the ants: selection of oviposition sites by two myrmecophilous butterfly species. **Animal Biology**, vol. 58, p. 371-388, 2008.
- WYNHOFF, I., LANGEVELDE, F. V. *Phengaris (Maculinea) teleius* butterflies select host plants close to Myrmica ants for oviposition, but *P. nausithous* do not. **Entomologia Experimentalis et applicata**, vol. 165, p. 9-18, 2017.
- VILELA, A. A., V. T. S. DEL CLARO, H. M. TOREZAN-SILINGARDI, AND K. DEL-CLARO. Climate changes affecting biotic interactions, phenology, and reproductive success in a savanna community over a 10-year period. **Arthropod-Plant Interactions**, vol.12, p. 215–227, 2018.
- VILELA, A. A., H. M. TOREZAN-SILINGARDI, AND K. DEL-CLARO. Conditional outcomes in ant-plant-herbivore interactions influenced by sequential flowering. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, vol. 209, p.359–366, 2014.

CAPÍTULO III

CONFLITO DE INTERESSES PREJUDICA O MUTUALISMO ENTRE FORMIGAS E PLANTAS COM NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS: A “HIPÓTESE DA LAGARTA SEDUTORA”

Isamara Mendes da Silva ¹, Eduardo Soares Calixto ², Victor Miguel da Costa Silva¹ &
Kleber Del Claro ³

¹ Programa de Pós-graduação em Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 14040-901, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

² Departamento de Entomologia e Nematologia, Universidade da Florida, Gainesville, Florida, Estados Unidos.

³ Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, 38400-902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Conflito de interesses prejudica o mutualismo entre formigas e plantas com nectários extraflorais: a “hipótese da lagarta sedutora”.

Isamara Mendes da Silva ¹, Eduardo Soares Calixto ², Victor Miguel da Costa Silva¹ & Kleber Del Claro ³

Resumo

Como resposta a ação dos herbívoros, as plantas desenvolveram uma série de mecanismos defensivos que atuam direta ou indiretamente. A defesa biótica, por exemplo, envolve a atração de inimigos naturais dos herbívoros, tais como as formigas. Normalmente, as formigas são atraídas para a planta pela presença de nectários extraflorais (NEFs) e/ou de organismos mirmecófilos, os quais secretam substâncias açucaradas que servem de alimento para formigas, e em troca, recebem destas, proteção. Para serem considerados no âmbito de defesa biótica, a predação das formigas sobre os outros herbívoros deve superar os custos causados pelos organismos mirmecófilos na planta hospedeira. Lagartas florívoras de borboletas da família Lycaenidae interagem mutualisticamente com formigas, e os efeitos dessa interação do ponto de vista da planta ainda são desconhecidos pela ciência. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os custos e benefícios da interação larva de licenídeo-formiga para a planta hospedeira, investigando o impacto desse mutualismo no sucesso reprodutivo da planta e no comportamento de forrageamento das formigas associadas. Para isso, aspectos relacionados com o sucesso reprodutivo da planta (flores, frutos, herbivoria) foram avaliados na presença e ausência da lagarta mirmecófila; o comportamento defensivo das formigas sobre as plantas foi analisado através de experimentos com cupins (simulando inimigos naturais) em três distâncias distintas na planta. Não houve diferença na produção de flores, frutos, tamanho

e peso dos frutos entre as plantas com e sem larvas do licenídeo *Parrhasius polibetes*. Contudo, plantas com licenídeo apresentaram maior taxa de herbivoria foliar. Na presença das lagartas mirmecófilas a predação dos cupins pelas formigas diminuiu com o aumento da distância das inflorescências. Enquanto na ausência do licenídeo a remoção dos cupins pelas formigas se manteve constante em toda a planta. Nossos resultados indicam que o mutualismo facultativo entre licenídeos e formigas é prejudicial para planta hospedeira de estudo, uma vez que limita o raio de forrageamento das formigas apenas às inflorescências, onde estas são ineficientes contra os herbívoros florais, e deixa as folhagens livres para ação de herbívoros foliares.

Palavras-chave: Defesa biótica, Lycaenidae, lagarta mirmecófila, mutualismo facultativo.

Introdução

As plantas, como produtores primários sofrem uma enorme pressão negativa por parte dos consumidores, a herbivoria, que tem o potencial de moldar a diversidade e distribuição de numerosas espécies vegetais (Marquis & Braker, 1994; Moura et al., 2021). Como uma resposta a ação dos herbívoros, as plantas evoluíram uma grande variedade de estratégias defensivas categorizadas como defesas diretas e indiretas (Price, 2012; Dicke & Sabelis, 1988). Defesas diretas incluem a produção e presença de compostos químicos que funcionam como repelentes e toxinas, e estruturas físicas que prejudicam ou impedem a ação dos herbívoros, como tricomas e espinhos. Essas defesas são em sua maioria constitutivas e resultam da ontogenia vegetal (Boege & Marquis 2005; Marquis & Moura, 2021). As defesas indiretas, são mecanismos utilizados pela planta que afetam os herbívoros de maneira indireta e beneficiam as plantas alterando o comportamento ou presença de inimigos naturais dos herbívoros (Pearse et al., 2020), e são consideradas defesas induzidas (Zangerl & Rutledge, 1996). Embora as defesas indiretas ainda possam envolver química vegetal (na forma de atrativos voláteis ou néctar extrafloral rico em nutrientes e corpos alimentares), seu mecanismo proximal são os predadores e inimigos naturais de herbívoros que são atraídos pelas plantas e atuam como agentes bióticos de defesa, ou "defesas bióticas" (Heil, 2014; Del-Claro et al., 2016).

O exemplo mais clássico de defesa biótica envolve a interação entre plantas com nectários extraflorais (NEFs) e formigas, ou aranhas e outros predadores (Del-Claro et al. 2016, Moura et al. 2021). NEFs são estruturas produtoras de néctar não associadas a polinização, mas frequentes em outras partes das plantas, como folhas, caules, estípulas e botões de flores (por exemplo, Machado et al. 2008, Marazzi et al. 2013). O néctar secretado pelos NEFs é rico em água, carboidratos e pequenas quantidades de outros

compostos orgânicos como aminoácidos e lipídios (González-Teuber & Heil, 2009). Plantas com NEFs são caracterizadas como organismos mirmecófilos ("amantes de formigas") devido à sua capacidade para atrair e interagir com formigas. Muitos estudos tem mostrado que essas interações são mutuamente benéficas, uma vez que as plantas ganham proteção contra a herbivoria foliar e/ou floral, enquanto as formigas sobrevivem mais e melhor se alimentando nos NEFs (veja revisões em Rosumek et al. 2009, Heil 2014, Moura et al. 2021).

Afídeos e membracidos (Hemiptera) são importantes insetos fitófagos, pragas agrícolas. No entanto, muitos desses organismos secretam uma substância açucarada ("honeydew") que pode atrair formigas, que se alimentam dessas secreções e, em contrapartida, protegem esses insetos de seus inimigos naturais, atuando como uma defesa biótica (Way, 1963; Stadler & Dixon, 1999). Moura et al. (2021) questiona que se formigas podem servir como defensores bióticos de plantas, mas também como defensores bióticos desses herbívoros, qual seria o impacto geral das formigas nas plantas que possuem NEFs e também hospedam esses animais? De maneira similar, algumas larvas de lepidópteros também secretam líquidos açucarados que atraem formigas protetoras (Pierce et al., 2002). Estas borboletas mirmecofilias são conhecidas para duas famílias de borboletas: Lycaenidae e Riodinidae (DeVries, 1991; Pierce et al., 2002). Os benefícios dessa interação sob perspectiva do licenídeo e da formiga são amplamente documentados na literatura (Kaminski et al., 2013; Mizuno et al., 2019). Contudo, do ponto de vista da planta, os efeitos da interação entre borboletas e formigas, principalmente sobre o sucesso reprodutivo da planta, permanecem inexplorados. No primeiro momento, a interação borboleta-formigas não é benéfica para planta, uma vez que as lagartas são florívoras e podem reduzir significativamente o sucesso reprodutivo consumindo botões e flores (Bächtold, 2014). Por outro lado, para complementar sua

dieta, as formigas podem preda outros herbívoros presentes na planta, reduzindo sua abundância e, conseqüentemente, a herbivoria (Davidson, 1997). O comportamento predatório das formigas sobre esses artrópodes pode ter um impacto positivo para planta se a redução da herbivoria por outros herbívoros superar a herbivoria de lagartas mirmecófilas (Rico-Gray & Oliveira, 2007; Del-Claro et al., 2016; Moura et al., 2021). Dessa forma, associações estabelecidas entre formigas e licenídeos podem ser discutidas no contexto de defesa biótica para planta, uma vez que a constante presença de formigas, induzidas pela larva mirmecófila, pode ter efeito negativo sobre os demais herbívoros, limitando a existência de espaços livre de inimigos naturais. Elgar et al. (2016), sugere que explorar os efeitos destas associações formigas-borboletas em outros níveis tróficos, como nas plantas hospedeiras, constitui um passo importante para a compreensão ecológica e evolutiva dos mutualismos entre insetos trofobiontes e formigas.

Na savana tropical brasileira, o Cerrado, diversas espécies de Malpigiaceae apresentam NEFs e associações com formigas, com resultados, em geral, positivos para plantas e formigas, reforçando o caráter mutualístico das formigas como defesas bióticas (e.g. Vilela et al., 2014). A malpigiácea arbustiva *Banisteriopsis malifolia*, apresenta NEFs pares na base das folhas e brácteas de inflorescências, atrai diversas espécies de formigas e os resultados dessas interações podem ser variáveis, condicionais a diversos fatores como a espécie de formiga associada e/ou herbívoros (e.g. Vilela et al., 2014; Alves-Silva et al., 2018). Essas plantas são também hospedeiras de larvas endofíticas floríferas de besouros curculionídeos, que impactam negativamente a produção de flores e frutos (Mendes-Silva et al., 2022) e são imunes ao ataque de formigas (ver Alves-Silva et al., 2013). Recentemente foram identificadas em *B. malifolia*, lagartas floríferas do licenídeo *Parrhasius polibetes* associadas quase que exclusivamente a formigas agressivas e comuns no cerrado, *Camponotus crassus* (Bachtold et al., 2016).

Considerando o exposto, no presente estudo hipotetizamos que as lagartas de *P. polibetes* teriam o potencial de atrair e manter as formigas *C. crassus* em sua atenção. Insetos trofobiontes quando atendidos por formigas podem aumentar a produção de suas secreções nutritivas, competindo com outras fontes de alimento pela atenção das formigas (Cushman & Addicott, 1989; Del-Claro & Oliveira, 1993). Essa “sedução” das formigas protetoras pelas lagartas impactaria negativamente as plantas, pois a redução do patrulhamento das formigas em folhas, causaria aumento na perda de área foliar pela ação de outros herbívoros, e nas inflorescências protegeriam o licenídeo consumidor de botões e flores (Fig.1A). Além disso, a presença das formigas nas inflorescências não impede a ação das larvas endofíticas de besouros curculionídeos, considerado o principal herbívoro floral em *B. malifolia* (Torezan-Silingardi, 2011; Alves-Silva et al., 2013; Mendes-Silva et al., 2022). Em suma, a relação licenídeo-formiga seria prejudicial para a relação mutualística planta-formiga. Aqui se propõe nomear essa relação como “hipótese da lagarta sedutora”.

Material e Métodos

Área e espécies de estudo

Os experimentos foram realizados em uma área de Cerrado, na Cidade de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil (18°59’S, 48°17’W). A vegetação é predominantemente arbustiva, com algumas espécies arbóreas. O padrão climático da região é subtropical, apresentando uma estação quente e úmida (outubro-abril) e outra com temperaturas mais amenas e seca (maio-setembro). A média de temperatura anual varia de 18°C a 28° e a média de chuva anual de 800 a 2.000mm (Vilela et al. 2014, 2017). As coletas foram conduzidas de fevereiro a julho de 2021, período reprodutivo da planta *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). *Banisteriopsis malifolia* (Nees & Mart) apresenta flores de

coloração que variam do rosa e sua produção floral tem início em fevereiro se estendendo até julho, com pico em abril e maio (Calixto et al. 2021). Além disso, apresenta nectários extraflorais na base das folhas e brácteas nas inflorescências, que atraem insetos nectaríferos, principalmente formigas, onde as formigas do gênero *Camponotus* são as mais abundantes (Vilela et al., 2018). Também hospeda uma rica fauna de herbívoros foliares e florais (Torezan-Silingardi, 2011), dentre eles o licenídeo mirmecófilo facultativo *Parrhasius polibetes* (Stoll, 1781) (Fig.1B,C).

Mutualismo licenídeo-formiga

Para avaliar os custos e benefícios do mutualismo facultativo licenídeo-formiga para planta hospedeira, 18 indivíduos da planta *B. malifolia* foram marcados, dos quais cada indivíduo teve duas inflorescências destinadas aos tratamentos: com licenídeo e sem licenídeo. Afim de minimizar os efeitos da idade da planta, estrutura e dependência espacial, cada indivíduo marcado apresentava de 1-1,5m de altura, com distância mínima entre si de pelo menos 5 metros e pelo menos duas inflorescências produzindo botões florais em estágio inicial de desenvolvimento, sendo que as inflorescências se distanciavam entre si desde sua base no chão (ver Fig. 1). A seleção dos indivíduos foi feita a partir da presença de larvas de primeiro instar do licenídeo *P. polibetes* em uma das inflorescências. A partir disso foram coletados em cada inflorescência os seguintes dados relacionados ao sucesso reprodutivo da planta: número de botões florais, flores e frutos, herbivoria foliar e floral e peso/tamanho dos frutos. Adicionalmente, a presença e abundância de formigas, bem como o tempo de forrageamento nas larvas, nectários extraflorais, partes reprodutivas e vegetativas, foram registrados. As plantas foram monitoradas diariamente até a lagarta alcançar o estágio de pupa, tais inspeções permitiam garantir que a larva permanecia na mesma inflorescência (tratamento com licenídeo) e a

ausência de larvas de licenídeos nas inflorescências destinadas ao tratamento sem licenídeo. As inspeções ocorriam a partir das 8:000 até 16h.

Raio de forrageamento de formigas

Com intuito de entender se há diferença no comportamento de forrageio das formigas na planta com e sem larvas de licenídeo mirmecófilo, na presença de formigas foram colocados com o uso de cola atóxica operários vivos do cupim *Nasutitermes* sp. com três diferentes distâncias das larvas, a fim de simular um possível inimigo natural para larva. As repetições com diferentes distâncias visam avaliar se a presença da lagarta mirmecófila limita o raio de forrageamento das formigas sobre as plantas. Desta forma, outros 28 indivíduos de *B. malifolia* foram selecionados, tendo duas de suas inflorescências destinadas ao experimento com cupim: a) inflorescência com larva de quarto e quinto instar de *P. polibetes* e b) inflorescências sem larvas de licenídeo. Em cada inflorescência os cupins foram colocados três vezes, e cada repetição com uma distância distinta: 5cm, 15cm e 30cm. As distâncias foram estabelecidas utilizando a lagarta como ponto de referência com as distâncias aumentando em direção as folhagens, para o tratamento com licenídeo; para o tratamento sem licenídeo utilizamos como ponto de referência as inflorescências (onde as lagartas se encontram na maior parte do tempo por serem floríferas). Depois de colocar o cupim, esperava-se até cinco minutos para observar o comportamento das formigas em predação e remover os cupins da planta. Cada repetição teve intervalos de 15 minutos, tempo que as formigas voltavam a caminhar próximo a larva (observações da autora). O experimento foi realizado entre 8:00 e 12:00h da manhã (Fig. 1C).

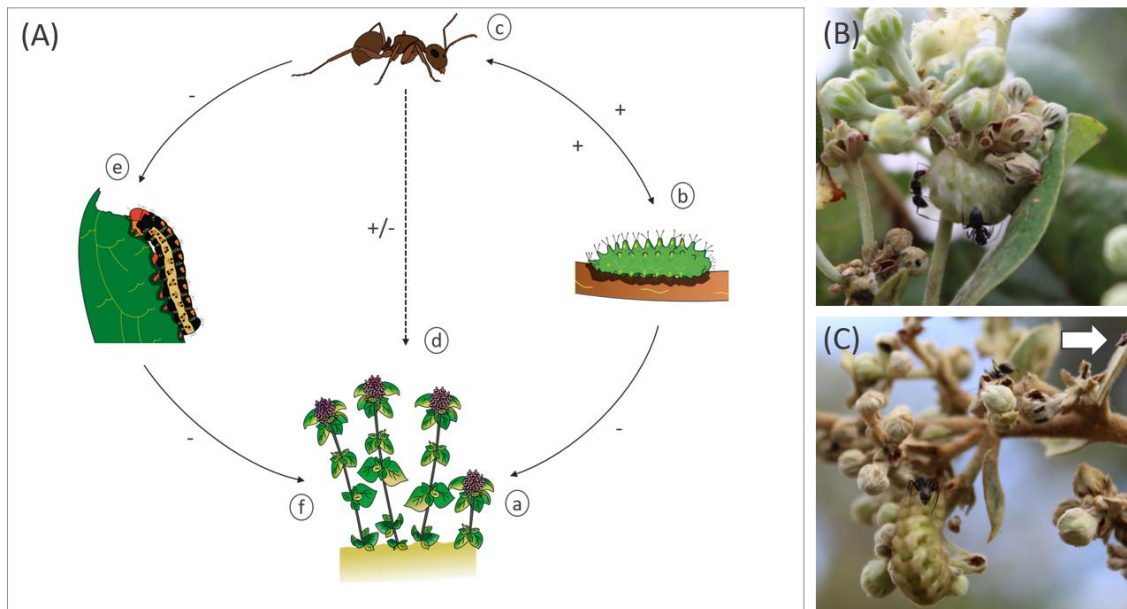


Figura 1. (A) Ilustração esquemática dos custos e benefícios da interação entre planta, formiga, licenídeo e herbívoro não mirmecófilo: larvas de licenídeos que primariamente utilizam as plantas como alimento (a), oferecem recompensa líquida para formigas (b) e recebem dessas proteção contra inimigos naturais (c), essa associação pode beneficiar a planta hospedeira atuando como defesa biótica (d) quando as formigas associadas atacam outros herbívoros não mirmecófilos (e) que se alimentam da planta (f); as setas indicam a direção da interação, os símbolos (positivos e negativos) indicam o efeito para os organismos envolvidos e a presença dos dois símbolos (+,-) indica que os efeitos dependem de outros fatores. (B) e (C) Larvas de *Parrhasius polibetes* sendo atendida por formigas *Camponotus crassus*; seta branca indica operário de cupim colocado na planta na presença do mutualismo.

Análise de dados

Todas as análises foram conduzidas no 4.0.0 software (R Core Team 2020). Para avaliar o efeito do mutualismo facultativo entre licenídeos e formigas na produção de frutos, herbivoria foliar, peso e tamanho dos frutos, foi desenvolvido um modelo Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição beta, seguida pelo teste q-quadrado. Os tratamentos com licenídeo e sem licenídeo foram ajustados como variáveis preditoras, e o número de flores, frutos, taxa de herbivoria foliar, peso e tamanho dos frutos foram ajustados como variáveis resposta. Foi utilizada a proporção de frutos por botões florais, uma vez que as lagartas de licenídeos são florívoras e se alimentam principalmente dos botões em desenvolvimento e flores (Bachtold, 2014).

Para investigar diferença no comportamento e raio de forrageamento das formigas na presença e ausência da larva de licenídeos na planta hospedeira, realizamos uma análise de sobrevivência. Para isso, utilizamos um modelo de sobrevivência considerando o tempo e a taxa de predação dos cupins como variável resposta e a os tratamentos e as distâncias como varável preditora. Foi implementado a família G-rho de Harrington e Fleming (1982) usando a função `survdiff` no pacote “`survival`” (Therneau, 2015) seguido por comparações pareadas usando o teste Log-Rank e correção do valor p de Benjamini e Hochberg no pacote “`survminer`” (Kassambara; Kosinski, 2018).

Resultados

De acordo com nossos dados, não houve diferença significativa na produção de frutos por botões entre os tratamentos com e sem licnídeo (GLMM: $\chi^2 = 263,198$, $p = 0,5819$; Fig. 2a), assim como não foi encontrada diferença entre os tratamentos no tamanho (GLMM: $\chi^2 = 24,34$, $p = 0,0533$; Fig. 2b) e peso dos frutos (GLMM: $\chi^2 = 0,0937$, $p = 0,9495$; Fig. 2c). No que se refere a perda de área foliar, os tratamentos com e sem licenídeos diferiram significativamente (GLMM: $\chi^2 = 24,34$, $p = 0,02$; Fig. 3), com maior herbivoria em plantas com licenídeos (7.46 ± 6.76 , $p = 0,02$) do que sem licenídeos (3.12 ± 3.78 ; $p = 0,02$).

Houve uma variação significativa no comportamento de forrageamento das formigas e predação do cupim entre os tratamentos com e sem licenídeos em diferentes distâncias (GLMM $\chi^2 = 19,7$, $p < 0.0001$; Fig. 4). Não foi encontrado diferença significativa para a remoção dos cupins pelas formigas para distâncias de 5cm entre os tratamentos ($p = 0,28$). Contudo, a predação foi significativamente distinta entre os tratamentos com 15cm ($p < 0.0001$), onde 55% das formigas gastam mais de 100 segundos

para predar o cupim em plantas com licenídeos, e menos de 80 segundos em plantas sem licenídeos. Similarmente, a probabilidade de sobrevivência do cupim foi diferente entre os tratamentos para distância de 30cm ($p<0.0001$), onde 40% das formigas gastam pelo menos 300 segundos para predar os cupins e 25% sequer os encontram em plantas com licenídeos, enquanto no geral, levaram menos de 200 segundos para predar cupins em plantas sem licenídeos.

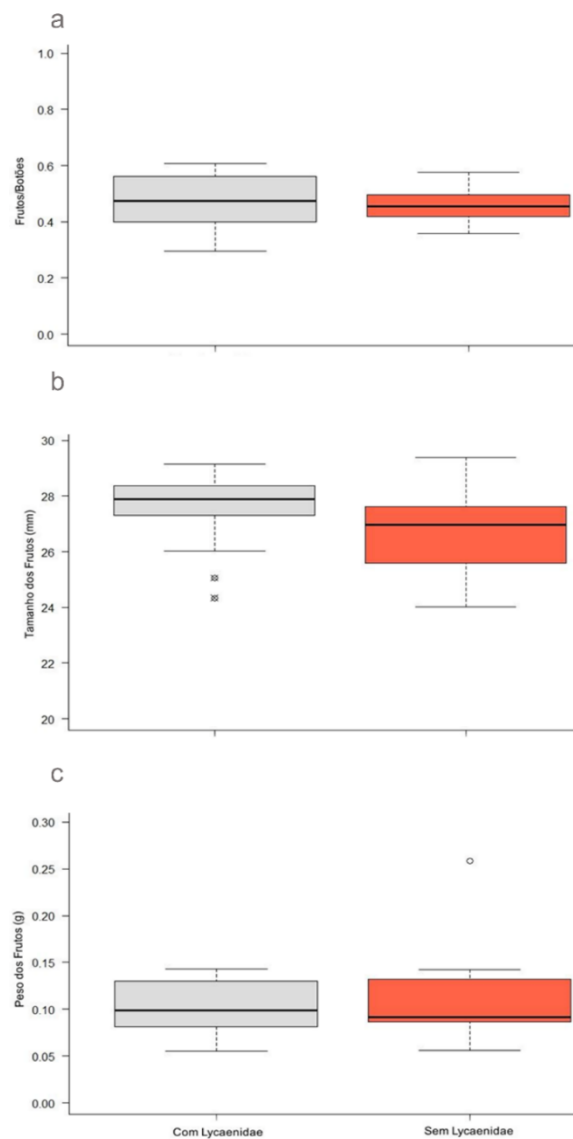


Figura 2. Número de frutos (a), tamanho (b) e peso (C) de frutos por botões florais produzidos por *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). Considerando a presença ou ausência de larvas da borboleta *Parrhasius polibetes* (Lycaenidae), tendo como formiga associada ao sistema *Camponotus crassus* (Formicidae) ($P>0,01$).

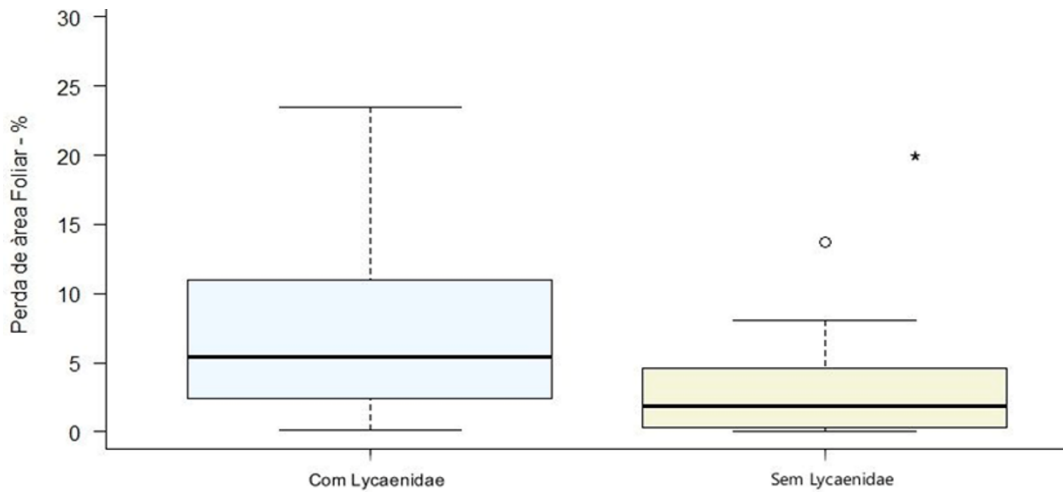


Figura 3. Porcentagem de perda de área foliar pela ação de herbívoros mastigadores na planta *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). Considerando a presença ou ausência de larvas da borboleta *Parrhasius polibetes* (Lycaenidae). Asterisco (*) representa diferença significativa entre os tratamentos.

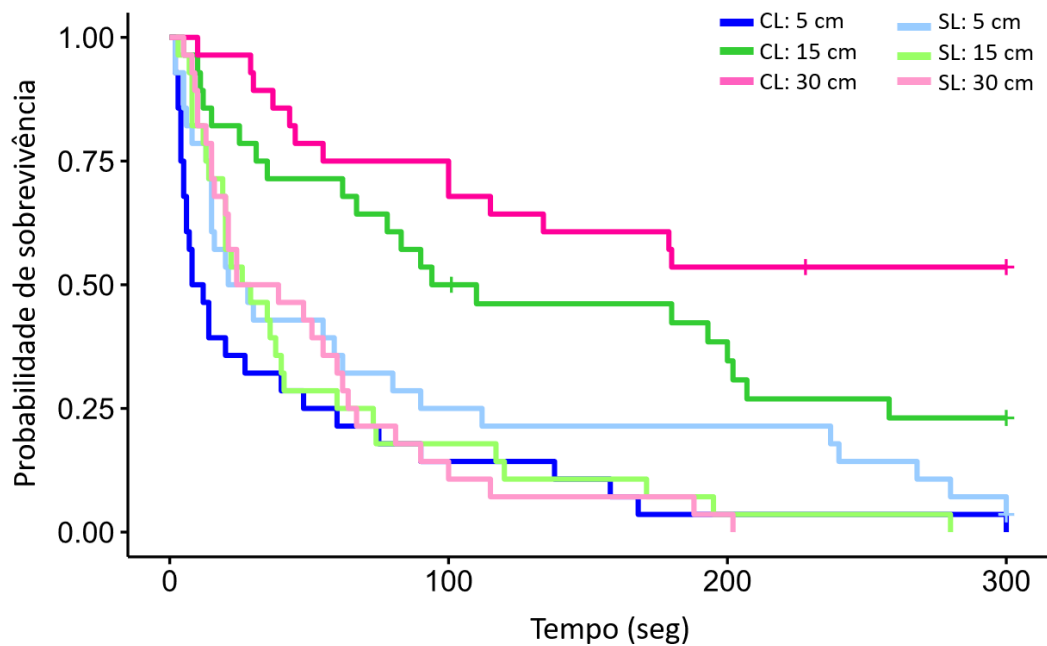


Figura 4. Tempo gasto pela formiga *Camponotus crassus* em predação cupins com licenídeos (CL) e sem licenídeos (SL) na planta hospedeira, com distâncias de 5cm (CL= azul escuro, SL= azul claro), 15cm (CL= verde escuro, SL= verde claro) e 30cm (CL= rosa escuro, SL= rosa claro) (GLMM $\chi^2 = 19,7$, $p < 0.0001$).

Discussão

A hipótese de que a relação licenídeo-formiga seria prejudicial para a relação mutualística entre formigas e plantas com nectários extraflorais foi corroborada. Nossos resultados confirmam a “hipótese da lagarta sedutora”, em que as lagartas de licenídeos atraem e mantêm a atenção de formigas através de uma oferta de recursos alimentares rica, para seu benefício, resultando em prejuízo para a planta hospedeira. Os resultados mostraram que ao seduzir as formigas, as partes vegetativas das plantas hospedeiras ficam mais vulneráveis à ação de outros herbívoros. Similarmente, Alves-Silva et al. (2018) demonstraram em um sistema entre lagartas mirmecófilas da família Riodinidae e formigas, também no cerrado, que a relação é potencialmente prejudicial à planta, uma vez que as formigas ao se associarem com os riodinídeos reduzem sua ação defensiva nas plantas e permitem a destruição de botões florais pelas lagartas de borboletas.

Embora em plantas sem larvas de licenídeos as formigas possam remover herbívoros florais com eficiência, não foi observada diferença na proporção de frutos formados a partir de botões produzidos entre os grupos. Isso pode ser explicado por dois fatores: a maior atuação das formigas em botões florais nas plantas com larvas mirmecófilas, e a ineficiências das formigas contra o principal herbívoro floral de *B. malifolia*, larvas endofíticas do curculionídeo *Anthonomus* (Alves-Silva et al., 2013; Mendes-Silva et al, 2022). Como evidenciado com nossos resultados acerca do comportamento de forrageamento da formiga, em plantas apenas com NEFs, as formigas patrulham a planta toda, removendo herbívoros foliares e florais, enquanto em plantas com Lycaenidae, as formigas concentram-se mais nas inflorescências, seduzidas pelas lagartas mirmecófilas. Embora essas lagartas consumam botões florais, o que impacta negativamente a planta, a maior presença de formigas nas inflorescências dessas plantas

resulta numa maior predação ou exclusão de outros potenciais herbívoros, do que em plantas sem as lagartas. Adicionalmente, um estudo recente nesse mesmo sistema revelou que as formigas tem efeito neutro no sucesso reprodutivo da planta *B. malifolia*, uma vez que o principal florívoro capaz de reduzir significativamente a produção de frutos é imune ao ataque de formigas agressivas (Mendes-Silva et al., 2022). Desta forma, mesmo as larvas de licenídeos atraindo e limitando as formigas nas inflorescências, essas não teriam impacto significativo no sucesso reprodutivo da planta hospedeira.

Por outro lado, a presença de formigas visitantes se mostrou um fator importante na taxa de herbivoria foliar em plantas com e sem licenídeos, em que plantas com larvas mirmecófilas apresentaram maiores índices de perda foliar. Fato que pode ser explicado pelos dados de remoção de cupins, que podem representar tanto um herbívoro potencial da planta, quanto um inimigo natural das lagartas de licenídeos. Em plantas com licenídeos, a probabilidade de sobrevivência de cupins aumentou significativamente com a distância da larva mirmecófila (em direção as folhagens), enquanto não diferiu em plantas sem licenídeos. Ou seja, a presença da larva de licenídeo estabelece um raio de forragemanto das formigas sobre a planta, limitando essas as inflorescências, e deixando as folhagens livres para ação de herbívoros foliares. Muitos estudos no Cerrado mostram a importância das formigas como defesa biótica para as plantas (Del-Claro & Oliveira, 1993; Del-Claro et al., 2016; Fagundes et al., 2017; Calixto et al., 2021). Por exemplo, Fagundes et al. (2017) evidenciaram que plantas visitadas por formigas agressivas, tais como as do gênero *Camponotus*, apresentaram menores taxas de herbivoria foliar. A perda da área foliar implica na redução da taxa fotossintética e, conseqüentemente, no fitness da planta (Price et al., 1980). No presente estudo a formiga *Camponotus crassus* se mostrou efetiva em retirar os cupins das folhagens em plantas sem licenídeos, seu forrageamento sobre as folhas pode ter reduzido a perda de área foliar para os herbívoros

nessas plantas. Portanto, a interação licenídeo-formiga parece ser prejudicial para as plantas no âmbito da herbivoria foliar, uma vez que impede as formigas de atuarem contra os herbívoros foliares.

As relações entre plantas com NEFs e formigas são comuns e diversas (Rico-Gray & Oliveira, 2007; Del-Claro et al., 2016; Calixto et al., 2018), ocorrendo em pelo menos 100 famílias de plantas em todo o mundo (Weber, 1944). Conseqüentemente, essas relações são geralmente generalizadas e altamente facultativas (Rosumek et al., 2009; Chamberlain & Holland, 2009; Del-Claro et al., 2018; Calixto et al., 2018); além de poderem agregar a elas outras relações, como os mutualismos trofobiontes entre formigas e hemípteros, e aqueles entre lagartas de borboletas e formigas (Fiedler & Saam, 1995; Stadler et al., 2001, Casacci et al., 2019, Moura et al., 2021). Interações de defesa biótica, envolvendo plantas com NEFs ou herbívoros trofobiontes e formigas, ou ainda ambos, são altamente condicionais (Leal et al., 2022). Assim como nas relações entre formigas e plantas com NEFs, a espécie de formiga envolvida (Del-Claro & Marquis, 2014), outros predadores presentes nas plantas (Nahas et al., 2017), a presença ou não de abrigos nas plantas (domácias) e outras fontes de alimento (Fiala & Maschwitz, 1992), podem alterar radicalmente o sentido dessas relações, tornando-as de benéficas, a prejudiciais ou neutras para as plantas e demais organismos envolvidos (Fiedler & Hölldobler, 1992; Stadler et al., 2001).

Nos mutualismos borboleta-formigas, os benefícios de atrair formigas como defesas bióticas são amplamente estudados a partir da perspectiva da borboleta (Pierce, 1989; Baylis & Pierce, 1991; Stadler et al., 2001; Kaminski et al., 2013; Bächtold et al., 2014; Mizuno et al., 2019). Mas relativamente pouco se sabe do ponto de vista das formigas e plantas associadas (Rico-Gray & Oliveira, 2007, Rodrigues et al., 2010). DeVries (1991) sugeriu que a mirmecofilia em borboletas evoluiu como consequência de

interações duradouras entre formigas e angiospermas, em um sistema complexo que também envolve plantas portadoras de NEFs e outros insetos trofobiontes. Nesse universo, o presente estudo se apresenta como um exemplo onde as lagartas de borboletas mirmecófilas, seduzem um predador, pagando por sua proteção, em prejuízo da relação, embora facultativa, muito benéfica para ambos, entre a formiga e a planta com NEFs. Assim, nossa hipótese da “lagarta sedutora” sugere que lagartas de licenídeos sejam exploradores (“code-breakers”) de mutualismos comuns e bem estabelecidos na savana tropical brasileira, entre formigas e plantas com nectários extraflorais.

Referências

- ALVES-SILVA, E., BACHTOLD, A., BARÔNIO, G. J., DEL-CLARO, K. Influence of *Camponotus blandus* (Formicinae) on occurrence of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae) in *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). **Sociobiology**, vol.60(1), p. 30-34, 2013.
- ALVES-SILVA, E., BACHTOLD, A., DEL-CLARO, K. Florivorous myrmecophilous caterpillars exploit an ant-plant mutualism and distract ants from extrafloral nectaries. **Austral Ecol**, vol. 43, p 643-650, 2018.
- BÄCHTOLD, A. **A comunidade de licenídeos de uma área de Cerrado: especificidade de dieta, interações ecológicas e seleção de plantas hospedeiras.** Tese Apresentada Ao Programa de Entomologia Da USP, FFCLRP, Como Pré-Requisito Para Obtenção Do Título de Doutor Em Entomologia., p. 136, 2014.
- BÄCHTOLD, A., ALVES-SILVA, E., DEL-CLARO, K. Ants, plant characteristics and habitat conservation status affect the occurrence of myrmecophilous butterflies on an extrafloral nectaried Malpighiaceae. **Stud Neotrop Fauna E.** vol. 51(2), p. 112–120, 2016.
- BAYLIS, M., PIERCE, N . E. The effects of host plant quality on the survival of larvae and oviposition by adults of an ant-tended lycaenid butterfly, *Jalmenus evegora*. **Ecological Entomology**, vol. 16, p. 1-9, 1991.
- BOEGE, K., MARQUIS, R. Facing herbivory as you grow up: The ontogeny as resistance in plant. **Trends Ecol. Evol.**, vol. 20(8), p. 441-448, 2005.
- CALIXTO, E. S., L. R. NOVAES, D. F. B. DOS SANTOS, D. LANGE, X. MOREIRA, AND K. DEL-CLARO. Climate seasonality drives ant–plant–herbivore interactions via plant phenology in an extrafloral nectary-bearing plant community. **Journal of Ecology**, vol.109, p. 639–651, 2021.
- CASACCI, L. P., BONELLI, S., BALLETTTO, E., BARBERO, F.. Multimodal Signaling in Myrmecophilous Butterflies. **Front Ecol. Evol.** vol. 7:454. 2019.
- CHAMBERLAIN, S. A.; HOLLAND, J. N. Quantitative synthesis of context dependency in ant-plant protect mutualisms. **Ecology**, vol. 90, p. 2384-2392, 2009.

- CUSHMAN, J. H.; ADDICOTT, J. F. Intra and interspecific competition for mutualists as a limited and limiting resources for aphid. **Oecologia**, vol. 79(3), p. 315-321, 1989
- DAVIDSON, D. W. The role of resource imbalances in the evolutionary ecology of tropical arboreal ants. **Biol J Lin Soc.** vol. 61, p.153–181, 1997.
- DEL-CLARO, K.; MARQUIS, R. Ant species identity have greater effects than fire on the outcome of an ant protection system in Brazilian cerrado. **Biotropica**, vol. 47(4), p. 459-467, 2014.
- DEL-CLARO, K. & OLIVEIRA, P. S. Ant-homoptera interaction: do alternative sugar sources distract tending ants?. **Oikos**, vol. 68, p.202-206, 1993.
- DEL-CLARO, K. et al. Loss and gains in the ant-plant interactions mediated by extrafloral nectar: fidelity, cheats and lies. **Insects Sociaux**, vol. 63, p. 207-221, 2016.
- DEVRIES, P. J. Mutualism between *Thysbe irenea* butterflies and ants, and the role of ant ecology in the evolution of larval-ant associations. **Biological Journal of the Linnean Society**, vol. 43(3), p. 179–195, 1991. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1991.tb00592.x>
- DICKE, M.; SABELIS, M. W. How plants obtain predatory mites as bodyguards. **Netherlands Journal of Zoology**, vol. 38, p.148-165, 1988.
- ELGAR, M. A., NASH, D. R., & PIERCE, N. E. Eavesdropping on cooperative communication within an ant-butterfly mutualism. **The Science of Nature**, vol. 103, p. 9–10, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00114-016-1409-5>
- FAGUNDES, R.; DÁTILLO, 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. **Biol. J. of the LINNEAN SOCIETY**, VOL. 20, P. 1-13, 2017.
- FIALA, B.; MASCHWITZ, U. Domatia as most important adaptations in the evolution of myrmecophytes in the paleotropical tree genus *Macaranga* (Euphorbiaceae). **Plant systematic and evolution**, vol. 180, p. 53-64, 1992.
- FIEDLER, K., & SAAM, C. Ants benefit from attending facultatively myrmecophilous Lycaenidae caterpillars: evidence from a survival study. **Oecologia**, vol. 104(3), p. 316–322, 1995. <https://doi.org/10.1007/BF00328367>
- GONZÁLEZ-TEUBER, M.; HEIL, M. Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. *Plant signal Behav.*, vol. 4(9), p. 809-813, 2009.
- HEIL, M. Herbivore-induced plant volatiles: targets, perception and unanswered questions. *New phytologist*, vol. 204, p. 297-306, 2014.
- KAMINSKI, L. A., RODRIGUES, D., FREITAS, A. V. L. Imature stages of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae): host plants, tending ants, natural enemies and morphology. **Journal of Natural History**, vol. 46, p. 645-667, 2013.
- LEAL, L. C.; NOGUEIRA, A.; PEIXOTO, A. E. C. Which traits optimize plant benefits? Meta-analysis on the effect of partner traits on the outcome of an ant-plant protective mutualism. *Journal of Ecology*, 2022.
- MACHADO, S.R.; MORELLATO, L.P.C.; SAJO, M.G. & OLIVEIRA, P.S. Morphological patterns of extrafloral nectaries in woody plant species of the Brazilian cerrado. **Plant Biology**, vol. 10(4), p. 1-14, 2008.
- MARAZZI, B.; BRONSTEIN, J. L.; KOPTUR, S. The diversity: ecology and evolution of extrafloral nectaries: current perspectives and future challenges. **Ann. Bot.**, v. 111, p. 1243–1250, 2013.

- MARQUIS, R.J. & BRAKER, H.E. Plant-herbivore interactions: diversity, specificity and impact. IN: McDADE, L.A.; BAWA, K.S. & HESPENHEIDER, H.A. et al (eds), **La Selva: ecology and natural history of a Neotropical rain forest**. p. 261-281. Chicago Press, Chicago, 1994.
- MARQUIS, R. J.; MOURA, R. Escape as a Mechanism of Plant Resistance Against Herbivores. IN: DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, M. (eds), Plant animal-interactions. p. 39-57, 2021.
- MENDES-SILVA, I.; QUEIROGA, D.; CALIXTO, E.; TOREZAN-SILINGARDI, T.; DEL-CLARO, K. Ineffectiveness of ants in protecting two sympatric myrmecophilous plants against endophytic beetles. **Austral Ecology**, 2022.
- MIZUNO, T., HAGIWARA, Y., TOSHIHARU, A. Varied Effects of tending ant species on the development of facultatively myrmecophilous lycaenid butterfly larvae. **Insects**. vol.10, p.234–247, 2019.
- MOURA, R. et al. Biotic Defenses Against Herbivores. IN: DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, M. (eds), Plant animal-interactions. p. 39-57, 2021.
- 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.
- PEARSE et al. Biogeography and phylogeny of masting: do global patterns fit functional hypotheses?. **New Phytologist**, 2020.
- PIERCE, N. E. Butterfly-Ant mutualism. In: GRUBB, P.J. & WHITTAKER (Eds.). **Toward a more The 30th Symposium of The British Ecological Society**, Oxford London Edinburgh, Londres, p. 299-320, 1989.
- PIERCE, N. E., BRABY, M. F., HEATH, A., LOHMAN, D. J., MATHEW, J., RAND, D. B., & TRAVASSOS, M. The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). **Annual Review of Entomology**, vol. 47, p. 733–771, 2002. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145257>
- PRICE, P.W. et al. **Insect Ecology: Behavior, populations and communities**. Cambridge University Press, p. 812, 2012.
- RICO-GRA, Y.V., OLIVEIRA, P.S. **The ecology and evolution of ant-plant interactions**. University of Chicago Press, Chicago. p.331, 2007.
- RODRIGUES, D., KAMINSKI, L. A., FREITAS, A. V. L., OLIVEIRA P. S. Trade-offs underlying polyphagy in a facultative ant-tended florivorous butterfly: the hole of host plant quality and enemy-free space. **Plant-animal Interactions**, vol. 163, p. 719-728.
- ROSUMEK, F. B. et al. Ants on plants: A meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. **Oecologia**, vol. 160(3), p. 537-549, 2009.
- STADLER, B., DIXON, B. A. F. G. Ant attendance in aphids: why different degrees of myrmecophily? *Ecological Entomology*, vol. 24, p. 363-379, 1999.
- STADLER, B., FIEDLER, K.; KAWECKI, T.J.; WEISSER, W.W. Costs and benefits for phytophagous myrmecophiles: when ants are not always available. **Oikos**, vol. 92, p. 476-478, 2001.
- TOREZAN-SILINGARDI H. M. Predatory behavior of *Pachodynerus brevithorax* (Hymenoptera: Vespidae: Eumeninae) on endophytic herbivory beetles in the Brazilian tropical savanna. **Sociobiology**. Vol. 57, p. 181–189, 2011.
- VILELA, A. A., H. M. TOREZAN-SILINGARDI, AND K. DEL-CLARO. Conditional outcomes in ant-plant-herbivore interactions influenced by sequential flowering. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, vol. 209, p.359–366, 2014.

- WAY, M. J. 1963. Mutualism between ants and honeydew-producing Homoptera. **Annu. Rev. Entomol.**, vol. 8, p. 307-344, 1963.
- WEBER, N. A. The Neotropical coccid-tending ants of the genus *Acropyga* Roger. Ann. Entomol. Soc. Am., vol. 37, p.89-122, 1944.
- ZANGERL, A. R., RUTLEDGE, C. E. The probability of attack and patterns of constitutive and induced defense: A test of optimal defense theory. **American Naturalist**, vol. 147, p. 599-608, 1996.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De modo geral, os resultados da presente tese desvendam novos aspectos ecológicos e comportamentais sobre a condicionalidade das interações entre borboletas mirmecófilas de Lycaenidae, formigas associadas e plantas hospedeiras no Cerrado. Os dados aqui obtidos revelam, pela primeira vez, a estabilidade no sistema licenídeo-planta em resposta a condições ambientais, a capacidade de licenídeos com mutualismo facultativo de reconhecerem entre suas formigas atendentes, e os custos e benefícios dessa associação mutualística para a planta hospedeira.

No capítulo I, o novo levantamento acerca da comunidade de licenídeos nas plantas hospedeiras, após o local de estudo ter sido afetado por sucessivas queimadas, contribuiu para o entendimento de como a amplitude da dieta dessas borboletas mirmecófilas associada a influências ambientais moldam as redes ecológicas e confere resiliência as interações licenídeo-planta hospedeira ao longo dos anos. O capítulo II, por sua vez, constitui um estudo pioneiro sobre a oviposição mediada pela presença e identidade das formigas para licenídeos que se associam facultativamente com formigas, demonstrando que mesmo o mutualismo facultativo é suficiente para moldar o comportamento de borboletas mirmecófilas em regiões Neotropicais. Por fim, o capítulo III, traz informações sobre essa interação do ponto de vista da planta hospedeira. Mostrando empiricamente que a associação facultativa entre licenídeos e formigas pode ser prejudicial para planta, uma vez que na presença da lagarta mirmecófila, as formigas limitam seu forrageamento sobre as plantas, deixando partes vegetativas livres para ação de outros herbívoros.

Em suma, este estudo mostra como mutualismo facultativo pode moldar o comportamento de borboletas adultas e formigas associadas, tornando as interações entre

licenídeos e plantas estáveis e resilientes às perturbações em um ecossistema que é regularmente afetado por distúrbios naturais e antrópicos. Contudo, por se tratar de um sistema complexo e altamente condicional, os resultados dessa interação podem ser alterados a depender de fatores bióticos como características da planta hospedeira e identidade das espécies envolvidas (licenídeo, formigas e outros herbívoros), e fatores abióticos, como em cenários climáticos mais quentes em que são esperados eventos de incêndios mais fortes e frequentes.