



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**Demanda de formigas por proteína afeta a eficiência de
defesa contra herbívoros em plantas portadoras de nectários
extraflorais**

Felipe Carneiro Silva Passos

Feira de Santana

Março de 2017



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**Demanda de formigas por proteína afeta a eficiência de
defesa contra herbívoros em plantas portadoras de nectários
extraflorais**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Zoologia da Universidade Estadual de Feira de
Santana como parte dos requerimentos necessários para
obtenção do título de mestre em Zoologia.

Felipe Carneiro Silva Passos

Orientadora: Laura Carolina Leal

Feira de Santana

Março de 2017

**Demanda de formigas por proteína afeta a eficiência de
defesa contra herbívoros em plantas portadoras de nectários
extraflorais**

Membros da banca avaliadora:

Laura Carolina Leal - UNIFESP (Orientadora)

Paulo Enrique Cardoso Peixoto - UFMG

(Membro interno)

Anselmo Nogueira - UFABC

(Membro externo)

*Aos mestres do passado,
aos alunos do futuro.*

AGRADECIMENTOS

Estudar biologia foi uma decisão que eu tomei muito antes de completar o ensino médio, quando eu ainda era uma criança curiosa e observadora do “universo” que podia acontecer numa poça de lama, num galho de árvore, debaixo de uma pedra, num formigueiro do jardim. De Deus é o mérito pela minha curiosidade, e a Ele agradeço por ter me trazido até aqui, Biólogo, Professor, e em busca de aperfeiçoamento como pessoa e como profissional.

Só quem conhece de perto sabe o quanto meus amados Pais abdicaram para poder oferecer o melhor para mim e para minha irmã. Wilson e Lenizete, um casal parceiro como poucos que eu conheço, que me ensinou muito nos gestos e na trajetória de vida. Muito obrigado por todo o esforço e dedicação, meu Pai, minha Mãe, meus exemplos. Amo vocês e tenho muito orgulho de apontar e dizer, “aquele é o meu pai, e aquela é a minha mãe”. Lindos! Amo vocês! A minha irmã é uma peça rara, um ser humano diferente. Uma energia incrível que sempre admirei e nunca entendi muito bem (como consegue ser tão alegre pela manhã, logo cedo?). Eva, muito obrigado por fazer parte da minha vida, junto com Thiago e agora com Hugo, que já nos traz alegrias sem tamanho! (para os possíveis futuros sobrinhos: não sintam ciúmes, já os amo sem mesmo conhecê-los!). Agradeço também a minha colega de profissão e madrinha, Vânia e sua família linda, por também ter sido uma inspiração e pelo incentivo de sempre. A todos os meus tios e tias, primos e primas (são muitos!!), saibam que considero-me abençoado pela família que tenho, e o que eu sou, também tem a contribuição de cada um de vocês.

Agradeço especialmente por tudo que Ludmilla fez por mim nos últimos anos. Uma companheira fiel e brava defensora da minha felicidade, em vários aspectos. Se estou triste, ela me alegra, se passo por uma injustiça, ela se revolta por mim... um pilar que me ajuda a me manter de pé. Sem contar as idas a campo, nas quais ela me ajudou, mesmo não gostando de “mato” (ela é de humanas...) e com nojo de pegar nas larvas de besouro que usamos no meu experimento!

Muito obrigado por acreditar em mim, as vezes até mais do que eu mesmo, e por sempre me incentivar a seguir, a não abaixar a cabeça, a crescer! Você é incrível, te amo!

Meus amigos são preciosos para mim e os levo comigo onde eu for. Agradeço a todos por compartilharem da minha trajetória, em especial a Léo, Gian e Bia, que seguem comigo desde o colégio e a Manu, Bia, Jimmy, Poly e Mily, da UEFS. Agradeço a Gilberto por ter me acolhido no LENT em 2010 e me apresentado às interações ecológicas (e por que não dizer, às formigas), e a Janete, por ter se tornado uma grande amiga enquanto me ensinava os caminhos da mirmecologia. Já no mestrado tive a oportunidade de me reaproximar de uma colega de graduação que acabou se tornando uma amiga e parceira de coletas, resenhas, estudos e, mesmo tendo me criticado na graduação por catar formigas nos cajueiros, acabou catando formiga também! Sem contar que ela se mostrou extremamente competente e inteligente no mestrado, mesmo virando a área de pesquisa dela de cabeça pra baixo! Obrigado, Thici, e parabéns! Te desejo muitos morangos, tâmaras e pitayas! Além de Thici, agradeço também a todos os numerosos componentes de minha turma de mestrado (Josi e Lidi) e a Bruno pelo apoio mútuo, críticas e conselhos acadêmicos. Ao pessoal do Melhor Lent-A do Brasil, os passageiros e os de longas datas, muito obrigado por compartilhar conhecimento e boas risadas! Obrigado também a todos que me ajudaram nas minhas coletas (Ludy, Bruno, Thici, Vivian, Josi, Jane e Apu). Nos finados (ou não) grupos de estudo GETRECO (em especial a Paulo, o idealizador que nos ensinou tanto!) e GEMUT, aprendi demais aqui! A Nelson, parceiro, conselheiro e amigo, quero que saiba que sem você eu não teria dado passos importantes no mestrado! Muito obrigado! Agradeço também a todos os professores e funcionários do Programa de Pós graduação em Zoologia, por todos os ensinamentos, informações e, por fim, agradeço a Laura, pessoa admirável, por ter aceitado me orientar e por ter se tornado também uma amiga. Muito orgulho de uma mulher nordestina estar onde você está, é um exemplo de profissional para mim. Muito obrigado por tudo!

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
O que são mutualismos?.....	10
Competição e qualidade dos parceiros dentro de um mutualismo generalizado.....	12
Interações entre formigas e plantas portadoras de nectários extraflorais	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
INTRODUÇÃO	23
MATERIAIS E MÉTODOS	26
Local e espécies de estudo.....	26
Delineamento experimental	27
Gradiente de pressão competitiva entre espécies de formigas	27
Eficiência de defesa anti-herbivoria.....	28
Análise dos dados	30
RESULTADOS	31
DISCUSSÃO	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	41
Anexo 1	41
Anexo 2	46

RESUMO

Espécies que compartilham mutualistas competem entre si pelo acesso a seus parceiros, gerando diferentes resultados no mutualismo. Nos mutualismos entre plantas portadoras de nectários extraflorais e formigas, espécies de formigas com maior habilidade competitiva são aquelas que também são melhores defensoras das plantas contra herbívoros. Sendo assim, podemos esperar que o aumento na pressão competitiva entre espécies de formigas deva favorecer plantas portadoras de NEF. Neste trabalho, propusemos as hipóteses de que tanto a redução da disponibilidade de proteína como de carboidrato para formigas no ambiente pode aumentar a eficiência de defesa de plantas portadoras de NEFs. Estimamos a disponibilidade de recursos açucarados e proteicos disponíveis para cada ninho das espécies de formigas em 20 parcelas. Ofertamos mímicos de herbívoros nos indivíduos de *T. subulata* para obter medidas de eficiência da defesa realizada pelas formigas em cada parcela. Encontramos que a redução na disponibilidade de recursos ricos em proteína resultou no aumento da probabilidade de encontrar formigas dominantes atendendo os NEFs, e da probabilidade do mímico de herbívoro ser removido das plantas pelas formigas. A maior parte das remoções foi executada por formigas dominantes, o que mostra que estes dois aspectos (dominância das formigas e remoção de herbívoros) devem atuar em conjunto na determinação do saldo final deste mutualismo para as plantas com NEFs. Nosso resultado evidencia que variações ambientais que afetem o balanço competitivo entre espécies que compartilham os mesmos mutualistas podem governar a variação no saldo final de mutualismos generalizados.

PALAVRAS CHAVE: Mutualismo de defesa, competição interespecífica, disponibilidade de recursos, qualidade do parceiro, *Turnera subulata*

ABSTRACT

Species sharing mutualistic partners compete between each other for accessing those partners what directly affects the outcomes of this interaction. In mutualisms between plants bearing extrafloral nectaries and ants, ant species with higher competitive ability are also the best bodyguards against herbivory. Therefore, we can expect that any increasing in the competitive pressure between ant species should favor EFN's bearing plants. Here, we hypothesized that decreasing in the protein and carbohydrates availability in the environment could increase ant defense efficiency of EFN's bearing plants. We estimated the protein and carbohydrates resource's availability for each ant nest in 20 plots. In each plot, we identified the ant species attending plants NEFs and observed ant behavior towards mimic of herbivores. We found that decreasing in protein availability led to increasing odds to finding dominant ants attending EFN's and to the herbivore mimic be removed by ants. Herbivore mimics were mainly removed by dominant ants, what suggests that ant dominance and herbivores removals should act together determining the mutualism's final outcome to EFN's bearing plants. Finally, our findings indicate that environmental variations affecting the competitive balance between species sharing the same mutualists could govern the outcome variation in generalized mutualisms.

KEY WORDS: defensive mutualism, interspecific competition, resource availability, partner quality, *Turnera subulata*

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O que são mutualismos?

A ideia mais comum entre os pensadores gregos era de que havia uma harmonia governando as interações na natureza, como se as espécies fossem desenhadas para cooperar mutualmente (Bronstein et al. 2006). Este ideário perdurou desde o período do florescimento do pensamento científico, na Grécia antiga, até o início da revolução industrial (Bronstein et al. 2006). A partir da revolução industrial, sob a influência do trabalho de Thomas Malthus (Malthus 1798), cresceu o interesse em estudar como relações competitivas eram capazes de gerar progresso, tanto nos estudos sobre a natureza, como sobre economia e política (Bronstein et al. 2006). Desde então, os estudos de interações antagonistas dominaram o cenário dos estudos ecológicos (Holland et al. 2005, Stadler & Dixon 2008). Apenas por volta de 1970, após séculos de negligência, ressurgiu o interesse sobre as interações cooperativas, que promovem benefícios mútuos para as espécies em interação, ou seja, os mutualismos (Boucher et al. 1982, Bronstein et al. 2006, Stadler & Dixon 2008). Desde então, está cada vez mais claro que mutualismos são ubíquos na natureza, e ocorrem entre diversos grupos de espécies (Ferrière et al. 2007, Hoeksema & Bruna 2000). No entanto, muitos aspectos que regulam o funcionamento dessas interações, como a quantidade e qualidade das espécies envolvidas e a variação no saldo final das interações, ainda permanecem mal compreendidos.

Por muito tempo os mutualismos eram vistos como uma interação que ocorria exclusivamente entre um par de espécies, o chamado mutualismo específico (Bronstein 1994). Apenas recentemente a quantidade de espécies envolvidas na interação passou a ser considerada nos estudos sobre mutualismos (Stanton 2003). Hoje está claro para os ecólogos que os mutualismos podem se desenrolar entre grupos de espécies, gerando benefícios para os indivíduos de todas as espécies envolvidas (Hussa & Goodrich-Blair 2013, Stanton 2003). Quando isto

ocorre, a interação é classificada como mutualismo generalizado (Bronstein 2009, Stanton 2003). Está claro também que os mutualismos variam quanto a sua obrigatoriedade. Mutualismos obrigatórios ocorrem quando uma espécie não pode viver sem o benefício adquirido ao interagir com sua parceira mutualista (Bronstein 1994). Já o mutualismo facultativo ocorre quando as espécies participantes da interação tem uma maior aptidão ao adquirir benefícios oferecidos pelos seus parceiros, mas não depende deste benefício para sobreviver (Bronstein 1994).

O saldo entre os custos pagos e os benefícios adquiridos pelos indivíduos das espécies envolvidas numa interação precisa ser positivo para que tal interação seja considerada um mutualismo (Jones et al. 2012, Pringle 2016). O benefício para indivíduos das espécies envolvidas é a aquisição de recursos/serviços que são muito custosos ou impossíveis de serem obtidos na ausência do parceiro mutualista (Bronstein 2001a, Leigh 2010). Já o custo está normalmente relacionado à energia gasta para produzir um recurso ou executar um serviço que beneficiará o seu parceiro mutualista (Bronstein 2001a). Dessa forma, podemos esperar que a seleção favoreça os indivíduos que consigam obter o máximo de benefícios da interação, investindo o mínimo de energia possível (Jones et al. 2015, Pringle et al. 2013). Por esse motivo, mutualismos são extremamente sensíveis à ação de parceiros trapaceiros, que, ao interagir, buscam obter o máximo de benefícios sem realizar o serviço ou ofertar o recurso que beneficiaria este parceiro (Bronstein 2001b, Jones et al. 2015). Estes indivíduos devem ser rapidamente favorecidos, uma vez que não arcam com os custos de gerar um benefício para o parceiro (Ferrière et al. 2007).

As consequências das ações de indivíduos que trapaceiam são frequentemente apontadas como um dos fatores que influenciam na evolução de mutualismos (Antonovics et al. 2015, Bronstein 2009, Bronstein et al. 2006, Ferrière et al. 2007, Leigh 2010). Por exemplo, é bastante comum observar a ocorrência de estratégias de retaliação ou punição a parceiros trapaceiros em diversos sistemas mutualistas (e.g. Gingins et al. 2013; Orona-Tamayo and Heil 2013). Quando, porém, os indivíduos de uma espécie explorada não são capazes de retaliar a ação dos trapaceiros,

o mutualismo tende a ser interrompido, podendo se tornar um parasitismo ou um comensalismo (Bauder et al. 2015, Jones et al. 2015, Zhao et al. 2014).

Além da predisposição para a trapaça e a capacidade de retaliação dos parceiros de um mutualismo, o saldo entre custos e benefícios de um mutualismo pode variar dependendo do contexto ambiental no qual a interação ocorre (Antonovics et al. 2015, Karst et al. 2008, Morris et al. 2005). Estas flutuações podem ocorrer devido a mudanças bióticas e abióticas direta ou indiretamente relacionadas aos recursos trocados na interação como, por exemplo, a sazonalidade, disponibilidade hídrica, predação, parasitismo, identidade dos parceiros disponíveis no ambiente, quantidade de espécies envolvidas e disponibilidade de recursos (Hay et al. 2004, Leal & Peixoto 2016, Rodríguez-Castañeda et al. 2016).

Competição e qualidade dos parceiros dentro de um mutualismo generalizado

Em mutualismos generalizados, três ou mais espécies podem estar trocando benefícios numa mesma comunidade (Hussa & Goodrich-Blair 2013, Stanton 2003). Contudo, espécies que pertencem a uma mesma guilda de mutualistas exibirão variações nos seus atributos funcionais, que podem estar diretamente relacionadas à qualidade dos recursos ou serviços que essas espécies ofertam aos seus parceiros (Heil 2013, Magurran 2005, Santamaría & Rodríguez-Gironés 2015). Então, uma espécie com características que aumentam os benefícios que eles podem prestar aos seus parceiros de interação passam a ser mais importantes para o incremento da aptidão destes parceiros (Betts et al. 2015, Palmer et al. 2010). Desta forma, variações na frequência de interação com parceiros de diferentes qualidades podem gerar variações no saldo final do mutualismo como um todo ou para uma ou mais espécies envolvidas na interação (Bronstein et al. 2006, Hoeksema & Bruna 2000).

A variação nos atributos das espécies envolvidas em mutualismos generalizados pode fazer com que determinadas espécies acessem preferencialmente os parceiros mutualistas (Drews 1993). Este acesso preferencial se dá porque, assim como a capacidade de devolver um benefício ao

parceiro, a habilidade competitiva das espécies que compartilham os mesmos parceiros mutualistas também é variável (Palmer et al. 2003, Savolainen & Vepsäläinen 1988). Espécies com maiores habilidades competitivas acabam por ser aquelas que acessam e monopolizam um recurso em detrimento das outras espécies (Drews 1993). Logo, em um mutualismo generalizado, uma espécie pode ser competitivamente superior e, concomitantemente, ofertar um serviço/recurso de maior qualidade (Ferrière et al. 2007). Quando isto ocorre, o mutualismo pode ser favorecido pela maior probabilidade de manutenção do saldo positivo da interação ao longo do tempo (Jones et al. 2012). Já quando o melhor competidor é incapaz de ofertar um serviço/recurso de qualidade, ou mesmo não oferta nenhum benefício ao interagir, o mutualismo, ao longo do tempo, pode se tornar um parasitismo ou comensalismo (Heil et al. 2004, Raine et al. 2004).

Se o resultado da competição entre espécies que fazem parte de uma mesma guilda mutualista é um fator importante na determinação do saldo final de mutualismos, podemos esperar que variações na pressão competitiva entre espécies que compartilham os mesmos mutualistas também o seja (Jones et al. 2012). Por exemplo, em diversos mutualismos, os recursos buscados por uma espécie em seus mutualistas podem ser encontrados de forma livre no ambiente. Quando tais recursos são abundantes no ambiente, eles podem ser obtidos com menor custo, e as espécies podem passar a depender menos dos seus mutualistas e a cooperar menos. Isto faz da disponibilidade de recursos no ambiente um fator que regula a pressão competitiva entre parceiros mutualistas.

Interações entre formigas e plantas portadoras de nectários extraflorais

Mutualismos nos quais um recurso/serviço funciona como pagamento para outro organismo que forneça algum tipo de proteção, são chamados de mutualismo de defesa (Bronstein et al. 2006, Way 1963). Um exemplo clássico de mutualismo generalizado de defesa é a interação entre plantas portadoras de nectários extraflorais (NEFs a partir de agora) e comunidades de formigas associadas (Chanam et al. 2014). Os NEFs são estruturas que podem variar de simples poros

abertos até glândulas complexas, que podem ocorrer em diversas partes da planta e não possuem uma função atrelada a polinização (Marazzi et al. 2013, Rickson & Rickson 1998). Estas estruturas estão presentes em mais de 3825 espécies pertencentes a 807 gêneros e 110 famílias de plantas (Weber & Keeler 2015). O néctar liberado por estas estruturas é rico em aminoácidos e açúcares, que atraem diversos insetos, mas principalmente formigas (Lanan & Bronstein 2013). A interação entre plantas portadoras de NEFs e formigas é apontada como um mecanismo responsável pelo aumento na aptidão destas plantas (Horvitz & Schemske 1984, Nascimento & Del-claro 2010, Oliveira et al. 1999). Isto se dá porque diversas espécies de formigas são predadoras, geralmente muito agressivas diante de outras formigas e de outros animais. Por conta disso, ao patrulharem a planta portadora de NEFs, acabam defendendo-a de potenciais herbívoros (Bentley 1977). Quando isto ocorre, por exemplo, uma planta que sofre menos pressão de herbivoria por conta da defesa realizada por formigas perderá menos área fotossintética, gastará menos energia com a regeneração de tecidos, podendo investir mais em atributos ligados a reprodução (Pringle 2015).

Formigas precisam manter uma dieta balanceada de açúcar e proteína, tanto para garantir o desenvolvimento da prole como para cumprir com suas atividades físicas e metabólicas dos indivíduos adultos (Bazazi et al. 2016, Kaspari et al. 2012, Kay 2004, Ness et al. 2009). Por conta disso, enquanto forrageiam sobre a planta para acessar os NEFs, as formigas podem buscar não apenas por néctar extrafloral, mas também por outros animais, que são potenciais fontes de proteína (Bentley 1977). Logo, variações nas disponibilidades de néctar (carboidrato) e herbívoros (proteína) no ambiente, podem fazer com que formigas envolvidas num mutualismo de defesa mediado por NEF's apresentem mudanças coletivas ou individuais nos comportamentos ligados ao forrageio (Bazazi et al. 2016). Por exemplo, formigas podem aumentar o número de indivíduos forrageando no ambiente ou a hostilidade de cada indivíduo numa situação de escassez de carboidrato (Grangier & Lester 2014). Como consequência, todas as espécies vão competir mais

entre si pelos recursos mais escassos, o que pode afetar o balanço competitivo entre as espécies de formigas que visitam plantas portadoras de NEFs (Grangier & Lester 2014).

A capacidade das formigas de agredir e consumir herbívoros, assim como a pressão competitiva entre as espécies de formigas tem um papel importante no resultado final do mutualismo (Bronstein 1994, Djiéto-Lordon et al. 2004, Oliveira et al. 1999). Comunidades de formigas são estruturadas hierarquicamente pela habilidade competitiva dos indivíduos de cada uma das espécies componentes (Savolainen & Vepsäläinen 1988). Espécies dominantes são aquelas competidoras mais eficientes e agressivas, que monopolizam os recursos no ambiente em detrimento de outras espécies de formigas, (Drews 1993). Já as espécies com menor habilidade competitiva, que não conseguem disputar o recurso com as formigas dominantes são consideradas formigas subordinadas (Soares 2013). Portanto, em ambientes com maior pressão competitiva, é esperado que formigas dominantes aumentem sua agressividade e o monopólio de recursos, reduzindo o acesso das formigas subordinadas a estes recursos. Por serem mais agressivas tanto diante de outras formigas como de possíveis herbívoros, tem sido sugerido que formigas dominantes podem ser melhores defensoras da planta e por isso melhores parceiras de interação para plantas portadoras de NEFs (Ness et al. 2006, Xu & Chen 2010). Portanto, variações na disponibilidade de recursos no ambiente, na pressão competitiva entre as espécies de formigas mais agressivas e na qualidade de cada uma destas espécies de formigas como parceira para a planta portadora de NEF's devem determinar o saldo final desse mutualismo de defesa. Logo, é possível que estas variações gerem um mosaico geográfico de variação nos saldos destes mutualismos (Blüthgen et al. 2004) que pode ser determinado por variações geográficas na pressão competitiva entre as espécies de formigas de cada comunidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antonovics J, Bergmann J, Hempel S, Verbruggen E. 2015. The evolution of mutualism from reciprocal parasitism : more ecological clothes for the Prisoner ' s Dilemma. *Evol. Ecol.* 29(5):627–41
- Bauder JA-S, Warren AD, Krenn HW. 2015. The ecological role of extremely long-proboscid Neotropical butterflies (Lepidoptera: Hesperidae) in plant-pollinator networks. *Arthropod. Plant. Interact.* 9(4):415–24
- Bazazi S, Arganda S, Moreau M, Jeanson R, Dussutour A. 2016. Responses to nutritional challenges in ant colonies. *Anim. Behav.* 111:235–49
- Bentley BL. 1977. Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 8:407–27
- Betts MG, Hadley AS, Kress WJ. 2015. Pollinator recognition by a keystone tropical plant. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112(11):3433–38
- Blüthgen N, Stork NE, Fiedler K. 2004. Bottom-up control and co-occurrence in complex communities: honeydew and nectar determine a rainforest ant mosaic. *Oikos.* 106:344–58
- Boucher DH, James S, Keeler KH. 1982. The Ecology of Mutualism. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 13:315–47
- Bronstein JL. 1994. Conditional outcomes in mutualistic interactions. *Trends Ecol. Evol.* 9(6):214–17
- Bronstein JL. 2001a. The Costs of Mutualism. *Am. Zool.* 41(4):825–39
- Bronstein JL. 2001b. The exploitation of mutualisms. *Ecol. Lett.* 4:277–87
- Bronstein JL. 2009. The evolution of facilitation and mutualism. *J. Ecol.* 97(6):1160–70
- Bronstein JL, Alarcón R, Geber M. 2006. The evolution of plant-insect mutualisms. *New Phytol.* 172(3):412–28
- Chanam J, Kasinathan S, Pramanik GK, Jagdeesh A, Joshi KA, Borges RM. 2014. Context

- dependency of rewards and services in an Indian ant–plant interaction: southern sites favour the mutualism between plants and ants. *J. Trop. Ecol.* 30(3):219–29
- Djiéto-Lordon C, Dejean A, Gibernau M, Hossaert-McKey M, McKey D. 2004. Symbiotic mutualism with a community of opportunistic ants: protection, competition, and ant occupancy of the myrmecophyte *Barteria nigritana* (Passifloraceae). *Acta Oecologica.* 26(2):109–16
- Drews C. 1993. The Concept and Definition of Dominance in Animal Behaviour. *Behaviour.* 125:283–313
- Ferrière R, Gauduchon M, Bronstein JL. 2007. Evolution and persistence of obligate mutualists and exploiters: competition for partners and evolutionary immunization. *Ecol. Lett.* 10(2):115–26
- Gingins S, Werminghausen J, Johnstone RA, Grutter AS, Bshary R. 2013. Power and temptation cause shifts between exploitation and cooperation in a cleaner wrasse mutualism. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 280:01–06
- Grangier J, Lester PJ. 2014. Carbohydrate scarcity increases foraging activities and aggressiveness in the ant *Prolasius advenus* (Hymenoptera: Formicidae). *Ecol. Entomol.* 39(6):684–92
- Hay ME, Parker JD, Burkepille DE, Caudill CC, Wilson AE, et al. 2004. Mutualisms and Aquatic Community Structure: The Enemy of My Enemy Is My Friend. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35(1):175–97
- Heil M. 2013. Let the best one stay: Screening of ant defenders by *Acacia* host plants functions independently of partner choice or host sanctions. *J. Ecol.* 101(3):684–88
- Heil M, Hilpert A, Krüger R, Linsenmair KE. 2004. Competition among visitors to extrafloral nectaries as a source of ecological costs of an indirect defence. *J. Trop. Ecol.* 20(2):201–8
- Hoeksema JD, Bruna EM. 2000. Pursuing the big questions about interspecific mutualism: a

- review of theoretical approaches. *Oecologia*. 125(3):321–30
- Holland JN, Ness JH, Boyle A, Bronstein JL. 2005. Mutualisms as consumer-resource interactions. In *Predation and Predator-Prey Interactions*, eds. P Barbosa, I Castellanos, pp. 17–33. Oxford University Press
- Horvitz CC, Schemske DW. 1984. Effects of ants and an ant-tended herbivore on seed production of a neotropical herb. *Ecology*. 65(5):1369–78
- Hussa E a, Goodrich-Blair H. 2013. It takes a village: ecological and fitness impacts of multipartite mutualism. *Annu. Rev. Microbiol.* 67:161–78
- Jones EI, Afkhami ME, Akçay E, Bronstein JL, Bshary R, et al. 2015. Cheaters must prosper: reconciling theoretical and empirical perspectives on cheating in mutualism. *Ecol. Lett.* 18:1270–84
- Jones EI, Bronstein JL, Ferrière R. 2012. The fundamental role of competition in the ecology and evolution of mutualisms. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1256(1):66–88
- Karst J, Marczak L, Jones MD, Turkington R. 2008. The mutualism-parasitism continuum in ectomycorrhizas: A quantitative assessment using meta-analysis. *Ecology*. 89(4):1032–42
- Kaspari MK, Donoso D, Lucas JA, Zumbusch T, Kay AD. 2012. Using nutritional ecology to predict community structure : a field test in Neotropical ants. *Ecosphere*. 3:1–15
- Kay A. 2004. The relative availabilities of complementary resources affect the feeding preferences of ant colonies. *Behav. Ecol.* 15(1):63–70
- Lanan MC, Bronstein JL. 2013. An ant’s-eye view of an ant-plant protection mutualism. *Oecologia*. 172:779–90
- Leal LC, Peixoto PEC. 2016. Decreasing water availability across the globe improves the effectiveness of protective ant-plant mutualisms: a meta-analysis. *Biol. Rev.* 0(0):01–10
- Leigh EG. 2010. The evolution of mutualism. *J. Evol. Biol.* 23(12):2507–28
- Magurran AE. 2005. *Measuring Biological Diversity*. Malden, USA: Blackwell Publishing. 1st

ed.

- Malthus T. 1798. *An Essay on the Principle of Population*. London: J. Johnson. 1st ed.
- Marazzi B, Bronstein JL, Koptur S. 2013. The diversity, ecology and evolution of extrafloral nectaries: Current perspectives and future challenges. *Ann. Bot.* 111(6):1243–50
- Morris WF, Wilson WG, Bronstein JL, Ness JH. 2005. Environmental forcing and the competitive dynamics of a guild of cactus-tending ant mutualists. *Ecology*. 86(12):3190–99
- Nascimento EA, Del-claro K. 2010. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. *Flora*. 205(11):754–56
- Ness JH, Morris WF, Bronstein JL. 2006. Integrating quality and quantity of mutualistic service to contrast ant species protecting *Ferocactus wislizeni*. *Ecology*. 87(4):912–21
- Ness JH, Morris WF, Bronstein JL. 2009. For ant-protected plants, the best defense is a hungry offense. *Ecology*. 90(10):2823–31
- Oliveira PS, Rico-Gray V, Díaz-Castelazo C, Castillo-Guevara C. 1999. Interaction between ants , extrafloral nectaries and insect herbivores in Neotropical coastal sand dunes : herbivore deterrence by visiting ants increases fruit set in *Opuntia stricta* (Cactaceae). *Funct. Ecol.* 13:623–31
- Orona-Tamayo D, Heil M. 2013. Stabilizing mutualisms threatened by exploiters: new insights from ant-plant research. *Biotropica*. 45(6):654–65
- Palmer TM, Doak DF, Stanton ML, Bronstein JL, Kiers ET, et al. 2010. Synergy of multiple partners, including freeloaders, increases host fitness in a multispecies mutualism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107(40):17234–39
- Palmer TM, Stanton ML, Young TP, Palmer TM, Stanton ML, Young TP. 2003. Competition and coexistence: exploring mechanisms that restrict and maintain diversity within mutualist guilds. *Am. Nat.* 162:63–79

- Pringle EG. 2015. Integrating plant carbon dynamics with mutualism ecology. *New Phytol.* 0(0):01–05
- Pringle EG. 2016. Orienting the Interaction Compass: Resource Availability as a Major Driver of Context Dependence. *PLoS Biol.* 14(10):01–08
- Pringle EG, Akçay E, Raab TK, Dirzo R, Gordon DM. 2013. Water stress strengthens mutualism among ants, trees, and scale insects. *PLoS Biol.* 11(11):01–13
- Raine NE, Gammans N, Macfadyen IJ, Scrivner GK, Stone GN. 2004. Guards and thieves: antagonistic interactions between two ant species coexisting on the same ant-plant. *Ecol. Entomol.* 29:345–52
- Rickson FR, Rickson MM. 1998. The cashew nut, *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae), and its perennial association with ants: extrafloral nectary location and the potential for ant defense. *Am. J. Bot.* 85(6):835–49
- Rodríguez-Castañeda G, Brehm G, Fiedler K, Dyer L. 2016. Ant predation on herbivores through a multitrophic lens: How effects of ants on plant herbivore defense and natural enemies vary along temperature gradients. *Curr. Opin. Insect Sci.* 14:73–80
- Santamaría L, Rodríguez-Gironés MA. 2015. Are flowers red in teeth and claw? Exploitation barriers and the antagonist nature of mutualisms. *Evol. Ecol.* 29(3):311–22
- Savolainen R, Vepsäläinen K. 1988. A competition hierarchy among boreal ants: impact on resource partitioning and community structure. *Oikos.* 51(2):135–55
- Soares S de A. 2013. The role of competition in structuring ant communities: a review. *Oecologia Aust.* 17(2):271–81
- Stadler B, Dixon A. 2008. *Mutualism: Ants and Their Insect Partners*. Cambridge University Press. 1st ed.
- Stanton ML. 2003. Interacting Guilds : Moving beyond the Pairwise Perspective on Mutualisms. *Am. Nat.* 162:10–23

- Way MJ. 1963. Mutualism between ants and honeydew-producing- homoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 8:307–44
- Weber, M.G., Porturas, L.D., and K.H. Keeler, 2015. World list of plants with extrafloral nectaries. www.extrafloralnectaries.org. [12/03/2017].
- Xu FF, Chen J. 2010. Competition hierarchy and plant defense in a guild of ants on tropical Passiflora. *Insectes Soc.* 57(3):343–49
- Zhao J, Peng Y, Quinnell RJ, Compton SG, Yang D. 2014. A switch from mutualist to exploiter is reflected in smaller egg loads and increased larval mortalities in a “cheater” fig wasp. *Acta Oecologica.* 57:51–57

Capítulo único

Manuscrito a ser submetido ao periódico Oecologia.

Demanda de formigas por proteína afeta a eficiência de defesa contra herbívoros de plantas portadoras de nectários extraflorais

Felipe C. S. Passos¹ & Laura C. Leal²

¹ Laboratório de Entomologia, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana. Av. Transnordestina, s/n, Novo Horizonte, 44036-900, Feira de Santana, Bahia, Brasil; ² Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Paulo, Rua Conceição, 215, 09972-270, Diadema, São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

Mutualismos generalizados são interações cooperativas interespecíficas que envolvem uma grande quantidade de espécies em cada lado da interação (Stanton 2003). De maneira geral, estes mutualismos envolvem uma ampla gama de espécies que trocam entre si recompensas energéticas por serviços ecológicos como transporte, nutrição ou proteção (Bronstein 1994; Jones et al. 2012). Devido a essas características, os mutualismos multiespecíficos podem ser estudados sob uma perspectiva de interações entre consumidores e recursos (Holland and Deangelis 2010). A aplicação dessa perspectiva tem deixado claro que espécies que fazem parte de mutualismos generalizados competem pelo acesso a seus parceiros de interação, uma vez que o acesso aos recursos ofertados por parceiros mutualistas podem levar ao aumento da aptidão dos indivíduos envolvidos na interação (Jones et al. 2012). Assim, a competição entre espécies que compartilham os mesmos parceiros mutualistas pode ser uma força capaz de moldar o resultado dessas interações cooperativas, tanto em escala ecológica quanto evolutiva (Palmer et al. 2003; Ferrière et al. 2007; Palmer et al. 2008; Jones et al. 2012; Heath and Stinchcombe 2013).

Mesmo reconhecendo a competição como um dos mecanismos reguladores do funcionamento dos mutualismos (Jones et al. 2012), a relação entre qualidade do parceiro e sua habilidade competitiva tem sido pouco explorada. Espécies que apresentam maior habilidade competitiva dentro de cada guilda tenderão a ter acesso preferencial aos parceiros mutualistas pelos quais competem (Morris et al. 2005). Contudo, estas espécies que compartilham os mesmos mutualistas também variam quanto à qualidade do serviço ou do recurso que disponibilizam aos seus parceiros de interação (Stanton 2003). Nesse sentido, se parceiros que tem maior habilidade competitiva também são aqueles mutualistas de melhor qualidade, podemos esperar que o aumento da pressão competitiva entre espécies por seus parceiros mutualistas favoreça a manutenção do mutualismo (Jones et al. 2012). Tal variação na pressão competitiva por acesso a parceiros mutualistas pode ser determinada por variações na disponibilidade dos recursos disponibilizados por espécies mutualistas no ambiente (Jones et al. 2012). Quanto menor a disponibilidade de um recurso no ambiente para uma determinada espécie, maior a sua dependência por fontes deste recurso (Kay 2004). Portanto, é possível esperar que, quanto mais escasso no ambiente for um recurso disponibilizado por espécies num mutualismo, maior a força de interação entre espécies e maior a influência dos parceiros com maior habilidade competitiva no saldo final da interação (Jones et al. 2012).

Um dos exemplos mais estudados de mutualismos generalizados são as interações protetivas entre plantas portadoras de nectários extraflorais (NEF's daqui em diante) e diversas espécies de formigas (Bentley 1977). Nesse sistema, a proteção da planta se dá principalmente quando as formigas atraídas pelos nectários forrageiam sobre a planta e agridem ou consomem potenciais herbívoros (Bentley 1977; Oliveira et al. 1999; Katayama and Suzuki 2011). Logo, as formigas podem se beneficiar nessa interação pela obtenção de dois tipos de recursos: o néctar extrafloral e os potenciais herbívoros. Já as plantas se beneficiam das visitas das formigas pela redução das taxas de herbivoria e de predação de peças florais, frutos e sementes (Ness et al. 2009). Por conta

disto, espécies de formigas com estratégias de forrageio mais agressivas podem ser consideradas as melhores parceiras de interação para plantas portadoras de NEFs, uma vez que serão mais agressivas diante da presença de potenciais herbívoros (Djiéto-Lordon et al. 2004; Heil 2013). Da mesma forma, quanto mais agressiva uma espécie de formiga diante de seus recursos alimentares, maior tende a ser a sua habilidade competitiva dentro das comunidades de formigas (Lach et al. 2010). Formigas dominantes são aquelas que monopolizam o recurso de forma mais eficiente, defendendo-o mais agressivamente que as formigas subordinadas, que geralmente abandonam o recurso na presença das dominantes, sem defendê-lo (Savolainen and Vepsäläinen 1988; Lach et al. 2010). Logo, formigas dominantes, que tem maior habilidade competitiva, também devem ser aquelas que prestam um melhor serviço de proteção anti-herbívoria para as plantas com as quais interagem (Palmer and Brody 2007; Palmer et al. 2008; Xu and Chen 2010). Consequentemente, qualquer aumento na pressão competitiva entre as espécies de formigas pelos recursos ofertados por plantas portadoras de NEF's deve levar a um aumento na eficiência de defesa anti-herbívoria dessas plantas.

Dois fatores ecológicos podem regular a competição entre formigas dominantes e subordinadas por acesso a plantas portadoras de NEF's: disponibilidade de recursos ricos em açúcares e em proteínas. Formigas necessitam manter uma dieta balanceada de proteínas e carboidratos para manter suas taxas metabólicas e até mesmo aumentar a longevidade das colônias (Ness et al. 2009; Kaspari et al. 2012; Bazazi et al. 2016). O balanço entre esses dois recursos na dieta regula as estratégias de forrageio das formigas e sua agressividade na defesa e uso dos recursos alimentares (Davidson 2005; Grover et al. 2007). Ao consumirem mais proteína, por exemplo, formigas podem aumentar seu investimento no forrageio de carboidratos, a fim de equilibrar suas taxas metabólicas (Kay 2004). Sendo assim, é possível que, em ambientes onde há menor disponibilidade de recursos ricos em carboidratos ou de recursos ricos em proteínas, plantas portadoras de NEFs sejam melhor protegidas por formigas, uma vez que essas plantas deverão ser

preferencialmente atendidas por formigas com maior habilidade competitiva, que também são parceiras de interação mais eficientes.

Neste trabalho, nos questionamos como variações na disponibilidade de recursos ricos em proteína e carboidrato no ambiente podem afetar a qualidade do serviço de defesa anti-herbivoria de plantas portadoras de nectários extraflorais realizado por formigas. Para responder essa pergunta, postulamos duas hipóteses não excludentes: o mutualismo de defesa será mais eficiente (1) quanto menor a disponibilidade de recursos ricos em carboidratos ou (2) quanto menor a disponibilidade de recursos ricos em proteína no ambiente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local e espécies de estudo

Desenvolvemos nosso estudo no campus da Universidade Estadual de Feira de Santana - BA, município de Feira de Santana (12° 58'S, 38° 50'W). A região encontra-se em uma zona de transição entre o Agreste e o Semi-árido e comporta uma vegetação tipicamente de Caatinga. O clima é caracterizado como seco sub úmido e megatérmico, com temperatura média anual de 24 °C e pluviosidade média anual de 848 mm (Santos and Andrade 2008).

Usamos como modelo de estudo a espécie herbácea *Turnera subulata* (Turneraceae), uma planta portadora de nectários extraflorais abundante na nossa área de estudo. Esta espécie tem crescimento rápido e forma touceiras por meio do adensamento de clones que partem do sistema radicular da planta matriz (observação pessoal). Além dos nectários florais, esta planta apresenta um par de NEF's inserido no pecíolo, na base da lâmina foliar e também na base das inflorescências (Barbosa et al. 2007). Estes nectários são constantemente visitados por formigas, que defendem o recurso de maneira agressiva e que, após o amadurecimento dos frutos, também dispersam suas sementes (Arbo 2005). Embora alguns estudos mostrem que *T. subulata* persista

o ano inteiro (Schlindwein and Medeiros 2006; Barbosa et al. 2007), observamos que a população de *T. subulata* na nossa área de estudo sofre grandes flutuações de abundância ao longo do ano. Por conta disto, executamos as incursões ao campo entre Janeiro e Abril de 2016, período no qual as flutuações na densidade dessas plantas são menos marcantes devido a maior disponibilidade de chuvas (observação pessoal).

Delineamento experimental

Estabelecemos 20 parcelas quadrangulares de 4m², distantes entre si por, no mínimo, 20 m. Estas parcelas apresentavam diferentes densidades de *T. subulata* e não abrigavam outras espécies de plantas portadoras de NEFs. Selecionamos tais parcelas de maneira arbitrária, de forma a gerar um gradiente de densidade de *T. subulata* com o máximo de variação possível. Para identificar o número de ninhos de formigas que forrageavam nessas parcelas, disponibilizamos 5 iscas mistas de proteína e carboidrato (sardinha e mel) em cada parcela, das 7:00h às 11:00h, na seguinte disposição: uma no centro da parcela e quatro distando três metros do centro, tomando como guia cada vértice da parcela. Observamos, em cada parcela, as formigas que acessavam as iscas por um período de uma hora, obedecendo às rondas de dois minutos por isca a cada 20 minutos, totalizando seis minutos por isca por parcela. Nesta primeira hora de observações, registramos as espécies que utilizavam as iscas, coletando alguns indivíduos para identificar posteriormente em laboratório. Feito isto, seguimos as formigas que acessaram as iscas em cada parcela até seus ninhos por mais uma hora. Marcamos e contabilizamos todos os ninhos que tiveram formigas usando as iscas, independentemente de estarem localizados dentro ou fora da área das parcelas.

Gradiente de pressão competitiva entre espécies de formigas

De forma geral, variação na quantidade de recursos compartilhado entre diferentes espécies pode ser usada como um indicativo da variação na pressão competitiva entre as espécies de formigas que usam esses recursos (Ribas et al. 2003; Lach et al. 2010). Por esse motivo, nós

usamos variações naturais na abundância de nectários extraflorais e de invertebrados disponíveis para cada ninho de formiga que forrageavam em nossas parcelas como um indicativo de variações na pressão competitiva entre as diferentes espécies de formigas por recursos ricos em carboidratos ou proteínas.

Para estimar a disponibilidade média de proteína por ninho em cada parcela, disponibilizamos armadilhas do tipo *pitfall* seguindo o mesmo padrão espacial de oferta de iscas de solo para marcação dos ninhos (veja acima). Deixamos os pitfalls ativos por 24 horas e triamos o conteúdo de cada *pitfall* três vezes para remover o máximo de impurezas, restando somente os artrópodes capturados. Acondicionamos estes artrópodes em envelopes de filtro de papel e os levamos à estufa para secar por 24 horas a 60° C. Posteriormente, registramos em balança de precisão o peso seco dos artrópodes coletados. Para determinar a quantidade de presas disponíveis para as formigas em cada parcela, dividimos o peso seco dos artrópodes em gramas pelo número de ninhos que utilizaram as parcelas para forrageio.

Em *T. subulata*, os nectários encontram-se mais ativos nos meristemas apicais e diferentes espécies de formigas podem utilizar e defender diferentes regiões meristemáticas de uma mesma planta (observação pessoal). Por conta disso, para estimar a quantidade de néctar extrafloral disponível para cada ninho em cada parcela, contamos o número de meristemas apicais de todas as plantas de *T. subulata* que ocorriam em cada parcela. Em seguida, dividimos este valor pelo número de ninhos de formigas.. Para aproximar as escalas das métricas de disponibilidade de proteína e de açúcar, transformamos os valores de massa seca de artrópodos por ninho e número de meristemas por ninho usando o escalonamento por métrica z, que centraliza e uniformiza os dados com base no desvio padrão de cada conjunto de dados, gerando novos dados adimensionais comparáveis entre si (Schielzeth 2010).

Eficiência de defesa anti-herbivoria

Para avaliar se a variação na disponibilidade de néctar extrafloral ou de artrópodes nas parcelas afeta a frequência com que formigas dominantes atendem indivíduos de *T. subulata*, nós selecionamos aleatoriamente cinco indivíduos de *T. subulata* em cada parcela. Observamos a frequência com que essas plantas foram atendidas por espécies de formigas durante cinco minutos por dia, em três dias distintos, sempre entre as 07:00h e 11:00h da manhã. Em todas as observações, identificamos as espécies de formigas que estavam visitando os nectários e as classificamos quanto ao seu grau de dominância. Para esta classificação, usamos um estudo realizado em 2016 na mesma área do nosso trabalho (Melati 2016). Neste estudo, Melati (2016) fez uma classificação de dominância comportamental das espécies de formigas, usando como base o comportamento dessas formigas ao compartilharem iscas de solo. Comparamos as espécies encontradas no nosso trabalho com as espécies encontradas no estudo de Melati (2016) e classificamos as espécies dos gêneros que apresentaram mais comportamentos agressivos como espécies dominantes. As espécies dos gêneros que apresentaram baixa ou nenhuma agressividade no experimento de Melati (2016) foram consideradas como subordinadas. Para classificar quatro espécies de três gêneros que nós observamos e que estavam ausentes no estudo de Melati (2016), utilizamos dados da literatura (Andersen 1995; Lach et al. 2010; Cerdá et al. 2013)

Para avaliar se as formigas sob maior pressão competitiva, seja por carboidrato ou por proteína, são mais eficientes na defesa de plantas portadoras de nectários extraflorais, observamos o comportamento das formigas visitando as plantas diante de insetos que simularam a presença de herbívoros sobre as plantas. Selecionamos, dentro de cada parcela, um ramo de cada planta marcada na etapa anterior e colocamos neste ramo uma larva de “besouro do amendoim”, *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera, Tenebrionidae). As larvas foram sempre ofertadas na folha que oferecesse uma melhor plataforma horizontal para o inseto (plana ou curvada para cima) e que se encontrasse o mais próximo possível do meristema apical. Durante a oferta da larva, tentamos causar o menor distúrbio possível, evitando não vibrar ou mover as folhas. Após a oferta da larva,

esperamos que as formigas localizassem a larva por um período máximo de dez minutos. Quando qualquer formiga entrava em contato direto com o mímico, registramos o tempo decorrido até o encontro. A partir do momento que a larva foi encontrada, observamos o comportamento das formigas por no máximo dez minutos. Se nesse período de observação a larva foi removida da planta, mensuramos o tempo decorrido até a sua remoção. Classificamos o comportamento das formigas diante do mímico de herbívoro em: Ignorar – quando a formiga localizou a larva, mas a ignorou logo em seguida; Agredir – quando a larva foi mordida, ferroadada ou quando a formiga liberava ácido fórmico; Remover – quando as formigas deslocaram as larvas, derrubando-as da planta ou carregando-as para fora da planta. Para avaliar a consistência temporal na resposta das formigas ao mímico de herbívoro, repetimos este procedimento por três vezes em cada uma das cinco plantas de todas as parcelas, com intervalos médios de 10 dias entre cada oferta.

Análise dos dados

Nós utilizamos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para avaliar todas as nossas predições. Para avaliar se as variações na disponibilidade de açúcar e proteína nas parcelas influenciaram a probabilidade das plantas serem atendidas por formigas dominantes, a probabilidade dos modelos de herbívoro serem encontrados, agredidos ou removidos pelas formigas, nós utilizamos GLMM com distribuição do tipo binomial. Para avaliar se o tempo para localização e remoção do mímico de herbívoro foi afetado pela disponibilidade de açúcar e proteína para ninhos em cada área, nós construímos GLMM com distribuição do tipo gaussiana. Para todas essas análises, nós criamos cinco modelos utilizando como fatores fixos as estimativas escalonadas de disponibilidade de açúcar e de proteína e como fator aleatório as parcelas e a identidade de cada planta acompanhada durante as observações. Para todas essas análises, construímos modelos completos que continham as duas variáveis fixas, a interação entre essas variáveis e as variáveis aleatórias, e quatro outros modelos com as demais combinações possíveis entre as duas variáveis fixas, sempre mantendo o mesmo conjunto de variáveis aleatórias.

Construímos ainda um modelo nulo, contendo apenas as variáveis aleatórias. Por fim, selecionamos o modelo mais parcimonioso através do critério de informação de Akaike (AIC). Realizamos todas as análises no *software* R (R Development Core Team, 2015) usando os pacotes "lme4" (Bates et al. 2015) e "bbmle" (Bolker and R Development Core Team (2014).

Caso nossas hipóteses fossem verdadeiras, nós esperávamos que haja (1) maior chance de encontrar formigas dominantes nas plantas; (2) maior chance dos mímicos serem encontrados por qualquer formiga; (3) menor tempo para o mímico ser encontrado; (4) maior chance dos mímicos serem encontrados por formigas dominantes; (5) maior chance do mímico ser agredido; (6) maior chance do mímico ser removido e (7) menor tempo de remoção do mímico em plantas localizadas nas parcelas onde haja menor razão de peso de artrópode ou de número de meristemas por ninho.

RESULTADOS

Registramos 14 morfoespécies de formigas forrageando sobre as plantas de *T. subulata* nas parcelas. Classificamos como dominantes as espécies dos gêneros *Camponotus* (*C. blandus*, *C. senex*, *Camponotus* sp1, *Camponotus* sp3) *Dorymyrmex* (*Dorymyrmex piramicus*), *Ectatomma* (*Ectatomma* sp.1 e sp.2) e *Solenopsis* (*Solenopsis* sp1). Classificamos como subordinadas as espécies dos gêneros *Cephalotes* (*Cephalotes* sp1), *Crematogaster* (*Crematogaster* sp1), *Pheidole* (*Pheidole* sp1), *Pseudomyrmex* (*Pseudomyrmex* sp1, *Pseudomyrmex termitarius*) e *Tapinoma* (*Tapinoma melanocephalum*). Dentre as espécies de formigas observadas, *Camponotus blandus* foi a espécie que atendeu os nectários extraflorais das plantas focais em maior frequência (30,1%, 99 ocorrências), seguida de *Dorymyrmex piramicus* (14%, 46 ocorrências). As espécies que ocorreram com menor frequência, com um registro cada (0,3%), foram *Camponotus* sp.1 e *Cephalotes* sp.1.

O aumento na biomassa de artrópodos disponível para cada ninho de formiga resultou na redução da probabilidade com que formigas dominantes foram observadas atendendo os nectários extraflorais ($\chi^2 = 4,05$; gl = 1; p = 0,04) (Figura 1-A; Tabela 1). No entanto, constatamos que uma das áreas continha um valor desproporcionalmente alto de meristemas por ninho (490 meristemas/ninho) em relação às demais áreas (que variaram de 2 a 66 meristemas/ninho). A presença desse valor extremo criou uma grande lacuna ao longo do nosso gradiente de variação na disponibilidade de meristemas para as formigas (veja Figura 1-B) que poderia afetar de maneira desproporcional o resultado de nossos testes. Por esse motivo, refizemos a análise removendo os valores referentes a essa parcela. Após a remoção, tanto o modelo que continha somente biomassa de artrópodos como o modelo contendo somente a disponibilidade de meristemas se ajustaram ao conjunto de dados ($\Delta i < 2$; Tabela 1). O aumento na biomassa de artrópodos disponível para cada ninho de formiga continuou gerando uma redução da probabilidade com que formigas dominantes fossem observadas atendendo os nectários extraflorais ($\chi^2 = 3,96$; gl = 1; p = 0,04) (Figura 1-A). No entanto, o modelo que continha somente disponibilidade de meristemas para cada ninho de formiga não diferiu do modelo nulo ($\chi^2 = 2,55$; gl = 1; p = 0,11). Como estes valores extremos reapareceram em todas as nossas demais análises, repetimos a estratégia de refazer a análise sem esses pontos extremos no nosso conjunto de dados a fim de verificar a influência desses pontos extremos nos nossos resultados.

Das 300 larvas de *U. dermestoides* ofertadas, 40% (120) foram encontradas pelas formigas. Contudo, nem a variação no número de meristemas e nem na biomassa de artrópodos por ninhos afetou a probabilidade do modelo de herbívoro ser encontrado pelas formigas, uma vez que o modelo nulo foi o que melhor explicou nossos resultados seja quando consideramos o conjunto completo de dados ou o conjunto sem os pontos extremos (Tabela 1). As larvas foram encontradas, em média, $211 \pm 188,8$ segundos após serem posicionadas nas plantas, variando desde larvas localizadas logo após a oferta (um segundo, 2 ocorrências, 1,6%), até larvas que foram localizadas

próximo do tempo limite (598 segundos, 1 ocorrência, 0,8%). O modelo que melhor explicou as variações no tempo de encontro dos modelos de herbívoro pelas formigas foi o modelo que considerava a interação entre o número de meristemas e a biomassa de artrópodos por ninho (Tabela 1). Contudo, tal modelo não diferiu do predito pelo modelo nulo (dados completos: $\chi^2 = 4,33$; gl = 3; p = 0,22; sem os pontos extremos: $\chi^2 = 2,67$; gl = 3; p = 0,44) (Tabela 1).

Das 120 larvas encontradas, 90,8% (109) foram encontradas por formigas dominantes. A chance das larvas serem encontradas por formigas dominantes não foi influenciada pelo número de meristemas ou pela biomassa de artrópodos por ninho nas áreas, tanto ao analisarmos o conjunto de dados completos, como quando removemos os pontos extremos (Tabela 1). Das larvas encontradas, 64,1% (77) foram agredidas de alguma forma (mordidas, ferroadas ou liberação de ácido fórmico) e 72,5% (87) foram removidas da planta. Formigas dominantes executaram 87% (67) das agressões e 89,6% (78) destas remoções. O número de larvas removidas é maior que o número de larvas agredidas, pois 27,58% (24) das larvas foram removidas imediatamente após o encontro, sem investidas agressivas. O modelo nulo foi o modelo que melhor explicou as variações na chance dos mímicos serem agredidos pelas formigas após serem localizadas, tanto quando analisamos todos os dados, quanto quando utilizamos o conjunto de dados removendo os pontos extremos (Tabela 1). Por outro lado, encontramos que o aumento da biomassa de artrópodos leva a uma diminuição na probabilidade da larva ser removida (Dados completos: $\chi^2 = 8,22$; gl = 1; p = 0,004; sem os pontos extremos: $\chi^2 = 8,09$; gl = 1; p = 0,004) (Figura 2-AB; Tabela 1).

Após localizar as larvas, as formigas levaram, em média, $39 \pm 74,5$ segundos para removê-las. Ocorreram desde remoções assim que a larva era localizada (18,39%, 16 remoções) até 426 (1,1%, 1) segundos após o encontro. O tempo que as formigas levaram para remover as larvas não foi influenciado pela disponibilidade de biomassa de artrópodos e de meristemas apicais por ninho de formiga e o resultado não diferiu do predito pelo modelo nulo, tanto ao avaliar o conjunto

completo de dados, quanto ao avaliar o conjunto de dados com a remoção dos pontos extremos (Tabela 1).

DISCUSSÃO

Nossos resultados apontam dois aspectos da interação entre *T. subulata* e a comunidade de formigas que respondem à reduções na disponibilidade de proteína no ambiente. Quanto menor a disponibilidade de proteína no ambiente, maior a probabilidade de plantas portadoras de NEF serem atendidas por formigas dominantes e (2) maior a probabilidade que potenciais herbívoros encontrados sobre a planta sejam removidos por formigas. Uma maior probabilidade de encontrar formigas dominantes deve estar relacionada a mais remoções de herbívoros, uma vez que estas formigas tendem a ser mais agressivas diante de potenciais presas. De fato, nós observamos que a maior parte das agressões e remoções foram executadas por estas formigas (87% e 89,6%, respectivamente). Portanto, o aumento da pressão competitiva entre espécies de formigas mediado pela disponibilidade de proteína no ambiente aumenta a chance das plantas portadoras de NEFs interagirem com melhores parceiros defensivos, o que, conseqüentemente, pode aumentar o benefício que as plantas portadoras de NEF recebem nessa interação.

A escassez de determinados nutrientes pode levar a mudanças nos padrões de forrageio de formigas, como o aumento da agressividade e o aumento na quantidade de recursos consumidos (Grangier and Lester 2014; Bazazi et al. 2016; Silberman et al. 2016). De fato, alguns estudos já identificaram que a escassez de carboidratos pode ser um fator que afeta a estratégia de forrageio de formigas que visitam NEFs, fazendo com que elas sejam mais agressivas, forrageiem em maior número sobre a planta, e aumentem, conseqüentemente, o consumo de néctar extrafloral (Grangier and Lester 2014; Bazazi et al. 2016; Silberman et al. 2016). A disponibilidade de proteína, por sua vez, é um fator negligenciado em estudos de mutualismos de defesa realizado por formigas.

Normalmente, variações na demanda por proteína em formigas tem sido associadas à mudanças no consumo de outros nutrientes ou mesmo a modificações no desenvolvimento e reprodução de formigas em geral (Kay 2004; Dussutour and Simpson 2009; Ness et al. 2009; Amor et al. 2016). Contudo, nossos resultados são pioneiros ao mostrar que a demanda por proteína no ambiente pode afetar a dinâmica de defesa de plantas portadoras de NEFs, principalmente pelo aumento na frequência de interação dessas plantas com formigas mais agressivas. Isso indica que a demanda das colônias por recursos proteicos pode ter um papel crucial na determinação de estratégias de forrageio de formigas. Para insetos holometábolos em geral, proteína é um nutriente importante no desenvolvimento de novos indivíduos e manutenção da razão sexual (Amor et al. 2016; Nestel et al. 2016). Para formigas, mais especificamente, a redução na disponibilidade de proteína, além de prejudicar o desenvolvimento dos estágios iniciais, pode causar alterações físicas e comportamentais nos indivíduos adultos (Nonacs 1991; Lach et al. 2010). Logo, numa situação de escassez de proteína no ambiente, diversas espécies de formiga podem aumentar o número de operárias engajadas na atividade de forrageio e, conseqüentemente podem aumentar sua área de forrageio. Deste modo, as formigas dominantes ocuparão a maior parte dos espaços e recursos do ambiente, inclusive as plantas portadoras de NEF.

Apesar de parecer intuitivo que formigas busquem mais por fontes de proteína em situações de escassez desse recurso, estudos que demonstram um aumento no serviço de defesa realizado por formigas geralmente relacionam este incremento na eficiência de defesa a recursos ricos em carboidrato (e.g. Ness et al. 2009). No nosso experimento, após encontrar a larva, as formigas poderiam ignorá-la, agredi-la ou removê-la. Porém, apesar de um comportamento agressivo poder causar algum prejuízo ao herbívoro na sua atividade de forrageio, uma medida mais real da proteção fornecida pelas formigas para a planta é a remoção do herbívoro. Nossos resultados sugerem que, em áreas com menor disponibilidade de proteína, as chances de formigas removerem as larvas foram maiores. Este resultado complementa o primeiro, uma vez que a maior parte das

formigas que removeram os mímicos de herbívoros foram formigas dominantes. Consequentemente, a simples presença de uma maior quantidade de formigas dominantes no ambiente, resultado do aumento da pressão competitiva das formigas por proteína, pode resultar num incremento na aptidão das plantas portadoras de NEF via redução na pressão de herbivoria (Leal and Peixoto 2016).

Este estudo nos permite inferir que mutualismos generalizados podem ser influenciados por variações nas disponibilidades de recursos no ambiente. Nós encontramos evidências de que restrição de proteína faz com que formigas aumentem seu grau de dominância, excluindo formigas subordinadas e removendo mais herbívoros das plantas. Além disso, podemos inferir que a planta portadora de nectários extraflorais é uma fonte previsível de recursos proteicos, e não somente de açúcar (Schoereder et al. 2010), e isto aumenta o seu valor como parceira da interação, especialmente em ambientes ou em períodos onde a disponibilidade de recursos proteicos para as formigas é baixa. Logo, em ambientes com baixa disponibilidade de recursos proteicos para as formigas e o consequente aumento da pressão competitiva entre elas, o mutualismo de defesa pode ser fortalecido via exclusão competitiva das formigas subordinadas. Num cenário no qual um recurso limitante para espécies que competem por um parceiro mutualista permanece escasso por um longo período, podemos esperar que, ao longo do tempo evolutivo, a pressão competitiva aumente a força de interação entre os parceiros de maior qualidade, fortalecendo o mutualismo e tornando-o mais especializado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amor F, Villalta I, Doums C, et al (2016) Nutritional versus genetic correlates of caste differentiation in a desert ant. *Ecol Entomol* 41:660–667. doi: 10.1111/een.12337
- Andersen AN (1995) A classification of Australian ant communities , based on functional groups which parallel plant life-forms in relation to stress and disturbance. *J Biogeogr* 22:15–29. doi: 10.2307/2846070
- Andersen AN, Arnan X, Sparks K (2013) Limited niche differentiation within remarkable co-occurrences of congeneric species: *Monomorium* ants in the Australian seasonal tropics. *Austral Ecol* 38:557–567. doi: 10.1111/aec.12000
- Arbo MM (2005) Estudios sistemáticos en *Turnera* (Turneraceae). III. Series *Anomalae* y *Turnera*. *Bonplandia* 14:115–318. doi: 0524-0476
- Barbosa DDA, Silva KN, Agra MDF (2007) Estudo farmacobotânico comparativo de folhas de *Turnera chamaedrifolia* Cambess. e *Turnera subulata* Sm. (Turneraceae). *Brazilian J Pharmacogn* 17:396–413. doi: 10.1590/S0102-695X2007000300016
- Bazazi S, Arganda S, Moreau M, et al (2016) Responses to nutritional challenges in ant colonies. *Anim Behav* 111:235–249. doi: 10.1016/j.anbehav.2015.10.021
- Bentley BL (1977) Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards. *Annu Rev Ecol Syst* 8:407–427. doi: 10.1146/annurev.es.08.110177.002203
- Bronstein JL (1994) Conditional outcomes in mutualistic interactions. *Trends Ecol Evol* 9:214–217. doi: 10.1016/0169-5347(94)90246-1
- Cerdá X, Arnan X, Retana J (2013) Is competition a significant hallmark of ant (Hymenoptera: Formicidae) ecology? *Myrmecological News* 18:131–147. doi: 1994-4136
- Davidson DW (2005) Ecological stoichiometry of ants in a New World rain forest. *Oecologia* 142:221–231. doi: 10.1007/s00442-004-1722-0
- Djiéto-Lordon C, Dejean A, Gibernau M, et al (2004) Symbiotic mutualism with a community of opportunistic ants: protection, competition, and ant occupancy of the myrmecophyte *Barteria nigritana* (Passifloraceae). *Acta Oecologica* 26:109–116. doi: 10.1016/j.actao.2004.03.007

- Dussutour A, Simpson SJ (2009) Communal Nutrition in Ants. *Curr Biol* 19:740–744. doi: 10.1016/j.cub.2009.03.015
- Ferrière R, Gauduchon M, Bronstein JL (2007) Evolution and persistence of obligate mutualists and exploiters: competition for partners and evolutionary immunization. *Ecol Lett* 10:115–26. doi: 10.1111/j.1461-0248.2006.01008.x
- Grangier J, Lester PJ (2014) Carbohydrate scarcity increases foraging activities and aggressiveness in the ant *Prolasius advenus* (Hymenoptera: Formicidae). *Ecol Entomol* 39:684–692. doi: 10.1111/een.12146
- Grover CD, Kay AD, Monson JA, et al (2007) Linking nutrition and behavioural dominance: carbohydrate scarcity limits aggression and activity in Argentine ants. *Proc R Soc B Biol Sci* 274:2951–2957. doi: 10.1098/rspb.2007.1065
- Hardin G (1960) The Competitive Exclusion Principle. *Science* (80-) 131:1292–1297.
- Heath KD, Stinchcombe JR (2013) Explaining mutualism variation: A new evolutionary paradox? *Evolution* (N Y) 68:309–317. doi: 10.1111/evo.12292
- Heil M (2013) Let the best one stay: Screening of ant defenders by Acacia host plants functions independently of partner choice or host sanctions. *J Ecol* 101:684–688. doi: 10.1111/1365-2745.12060
- Holland JN, Deangelis DL (2010) A consumer-resource approach to the density-dependent population dynamics of mutualism. *Ecology* 91:1286–1295. doi: 10.1890/09-1163.1
- Jones EI, Bronstein JL, Ferrière R (2012) The fundamental role of competition in the ecology and evolution of mutualisms. *Ann N Y Acad Sci* 1256:66–88. doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06552.x
- Kaspari MK, Donoso D, Lucas JA, et al (2012) Using nutritional ecology to predict community structure : a field test in Neotropical ants. *Ecosphere* 3:1–15. doi: 10.1890/ES12-00136
- Katayama N, Suzuki N (2011) Anti-herbivory defense of two *Vicia* species with and without extrafloral nectaries. *Plant Ecol* 212:743–752. doi: 10.1007/s11258-010-9862-2
- Kay A (2004) The relative availabilities of complementary resources affect the feeding preferences of ant colonies. *Behav Ecol* 15:63–70. doi: 10.1093/beheco/arg106

- Lach L, Parr CL, Abbott KL (2010) *Ant ecology*, 1st edn. Oxford University Press, New York
- Leal LC, Peixoto PEC (2016) Decreasing water availability across the globe improves the effectiveness of protective ant-plant mutualisms: a meta-analysis. *Biol Rev* 0:01–10. doi: 10.1111/brv.12307
- Melati BG (2016) Na dose certa: a frequência de interação entre pares de espécies modula a qualidade relativa dos indivíduos como parceiros mutualistas Bruno Gabriel Melati. Universidade Estadual de Feira de Santana
- Morris WF, Wilson WG, Bronstein JL, Ness JH (2005) Environmental forcing and the competitive dynamics of a guild of cactus-tending ant mutualists. *Ecology* 86:3190–3199. doi: 10.1890/05-0465
- Ness JH, Morris WF, Bronstein JL (2009) For ant-protected plants, the best defense is a hungry offense. *Ecology* 90:2823–2831. doi: 10.1890/08-1580.1
- Nestel D, Papadopoulos NT, Pascacio-Villafán C, et al (2016) Resource allocation and compensation during development in holometabolous insects. *J Insect Physiol* 95:78–88. doi: 10.1016/j.jinsphys.2016.09.010
- Nonacs P (1991) Less growth with more food: how insect-prey availability changes colony demographics in the ant, *Camponotus floridanus*. *Insect Physiol* 37:891–898. doi: 10.1016/0022-1910(91)90004-J
- Oliveira PS, Rico-Gray V, Díaz-Castelazo C, Castillo-Guevara C (1999) Interaction between ants , extrafloral nectaries and insect herbivores in Neotropical coastal sand dunes : herbivore deterrence by visiting ants increases fruit set in *Opuntia stricta* (Cactaceae). *Funct Ecol* 13:623–631. doi: 10.1046/j.1365-2435.1999.00360.x
- Palmer TM, Brody AK (2007) Mutualism as reciprocal exploitation: African plant-ants defend foliar but not reproductive structures. *Ecology* 88:3004–3011. doi: 10.1890/07-0133.1
- Palmer TM, Stanton ML, Young TP, et al (2008) Breakdown of an ant-plant mutualism follows the loss of large herbivores from an african savanna. *Science* (80-) 319:192–195. doi: 10.1126/science.1151579
- Palmer TM, Stanton ML, Young TP, et al (2003) Competition and coexistence: exploring mechanisms that restrict and maintain diversity within mutualist guilds. *Am Nat* 162:63–79. doi: 10.1086/378682
- Ribas CR, Schoereder JH, Pic M, Soares SM (2003) Tree heterogeneity, resource availability, and larger

- scale processes regulating arboreal ant species richness. *Austral Ecol* 28:305–314. doi: 10.1046/j.1442-9993.2003.01290.x
- Santos RL, Andrade HO De (2008) Avaliação quantitativa do conforto térmico de uma cidade em área de transição climática: Feira de Santana-Bahia, Brasil. *Rev Geogr Norte Gd* 84:77–84. doi: 10.4067/S0718-34022008000200005
- Savolainen R, Vepsäläinen K (1988) A competition hierarchy among boreal ants: impact on resource partitioning and community structure. *Oikos* 51:135–155. doi: 10.2307/3565636
- Schiele H (2010) Simple means to improve the interpretability of regression coefficients. *Methods Ecol Evol* 1:103–113. doi: 10.1111/j.2041-210X.2010.00012.x
- Schindwein C, Medeiros PCR (2006) Pollination in *Turnera subulata* (Turneraceae): Unilateral reproductive dependence of the narrowly oligolectic bee *Protomeliturga turnerae* (Hymenoptera, Andrenidae). *Flora* 201:178–188. doi: 10.1016/j.flora.2005.07.002
- Schoereder J, Sobrinho T, Madureira M, et al (2010) The arboreal ant community visiting extrafloral nectaries in the Neotropical cerrado savanna. *Terr Arthropod Rev* 3:3–27. doi: 10.1163/187498310X487785
- Silberman RE, Gordon D, Ingram KK (2016) Nutrient stores predict task behaviors in diverse ant species. *Insectes Soc* 63:299–307. doi: 10.1007/s00040-016-0469-z
- Stanton ML (2003) Interacting Guilds : Moving beyond the Pairwise Perspective on Mutualisms. *Am Nat* 162:10–23. doi: 10.1086/378646
- Xu FF, Chen J (2010) Competition hierarchy and plant defense in a guild of ants on tropical *Passiflora*. *Insectes Soc* 57:343–349. doi: 10.1007/s00040-010-0089-y

ANEXOS

Anexo 1

Tabela 1: Resumo dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) descrevendo o efeito da disponibilidade de açúcar e proteína no ambiente na eficiência de formigas na defesa de *Turnera subulata* (Turneraceae) contra herbívoros. Os modelos foram classificados de acordo com os valores de critério de Akaike (AIC). Δi representam diferenças entre os modelos mais parcimoniosos i e gl , os graus de liberdade de cada modelo.

Modelo	AIC	gl	Δi
<u><i>Chance de visita por formigas dominantes</i></u>			
Proteína	236,5	4	0,0
Nulo	238,5	3	2,0
Proteína:Açúcar	239,3	4	2,8
Açúcar	240,2	4	3,6
Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	240,3	6	3,8
<u><i>Chance de visita por formigas dominantes - sem outliers</i></u>			
Proteína	228,1	4	0,0
Açúcar	229,5	4	1,4
Nulo	230,0	3	1,9
Proteína:Açúcar	230,7	4	2,6
Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	230,9	6	2,8
<u><i>Chance do herbívoro ser encontrado</i></u>			
Nulo	405,5	3	0,0
Proteína	405,7	4	0,2
Açúcar	406,2	4	0,7
Proteína:Açúcar	406,7	4	1,2
Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	408,4	6	2,9
<u><i>Chance do herbívoro ser encontrado - sem outliers</i></u>			
Nulo	386,3	3	0,0
Proteína	386,4	4	0,0
Açúcar	386,5	4	0,2
Proteína:Açúcar	386,5	4	0,2

Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	389,6	6	3,3
---------------------------------	-------	---	-----

Tempo de encontro do herbívoro

Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	1571,3	7	0,0
Proteína:Açúcar	1585,6	5	14,3
Proteína	1587,8	5	16,5
Açúcar	1588,1	5	16,8
Nulo	1595,9	4	24,6

Tempo de encontro do herbívoro - sem outliers

Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	1517,6	7	0,0
Açúcar	1534,3	5	16,7
Proteína:Açúcar	1534,5	5	17,0
Proteína	1535,7	4	18,2
Nulo	1543,9	4	26,3

Chance do herbívoro ser encontrado por formigas dominantes

Nulo	46,2	3	0,0
Açúcar	47,4	4	1,3
Proteína:Açúcar	47,8	4	1,6
Proteína	48,0	4	1,9
Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	51,0	6	4,9

Chance do herbívoro ser encontrado por formigas dominantes – sem outliers

Nulo	46,1	3	0,0
Açúcar	47,4	4	1,3
Proteína:Açúcar	47,8	4	1,7
Proteína	48,0	4	1,9
Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	51,0	6	4,9

Chance do herbívoro ser agredido

Proteína	156,9	4	0,0
Nulo	157,3	3	0,4
Proteína:Açúcar	159,1	4	2,2
Açúcar	159,4	4	2,5
Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	161,2	6	4,3

Chance do herbívoro ser agredido
– sem outliers

Proteína	151,8	4	0,0
Nulo	152,1	3	0,3
Proteína:Açúcar	153,3	4	1,5
Açúcar	153,7	4	1,9
Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	156,1	6	4,3

Chance do herbívoro ser
removido

Proteína	141,0	4	0,0
Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	145,3	6	4,3
Proteína:Açúcar	146,3	4	5,3
Nulo	147,1	3	6,1
Açúcar	149,3	4	8,2

Chance do herbívoro ser
removido - sem outliers

Proteína	136,5	4	0,0
Proteína:Açúcar	140,2	4	3,7
Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	140,9	6	4,3
Nulo	142,5	3	6,0
Açúcar	144,0	4	7,5

Tempo de remoção do herbívoro

Nulo	346,1	4	0,0
Proteína:Açúcar	347,1	5	1,0
Proteína	348,2	5	2,1
Açúcar	349,2	5	3,1
Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	351,2	7	5,1

Tempo de remoção do herbívoro -
sem outliers

Proteína:Açúcar	336,4	5	0,0
Nulo	336,8	4	0,4
Açúcar	337,2	5	0,8
Proteína	338,9	5	2,5
Proteína+Açúcar+Proteína:Açúcar	339,3	7	2,9

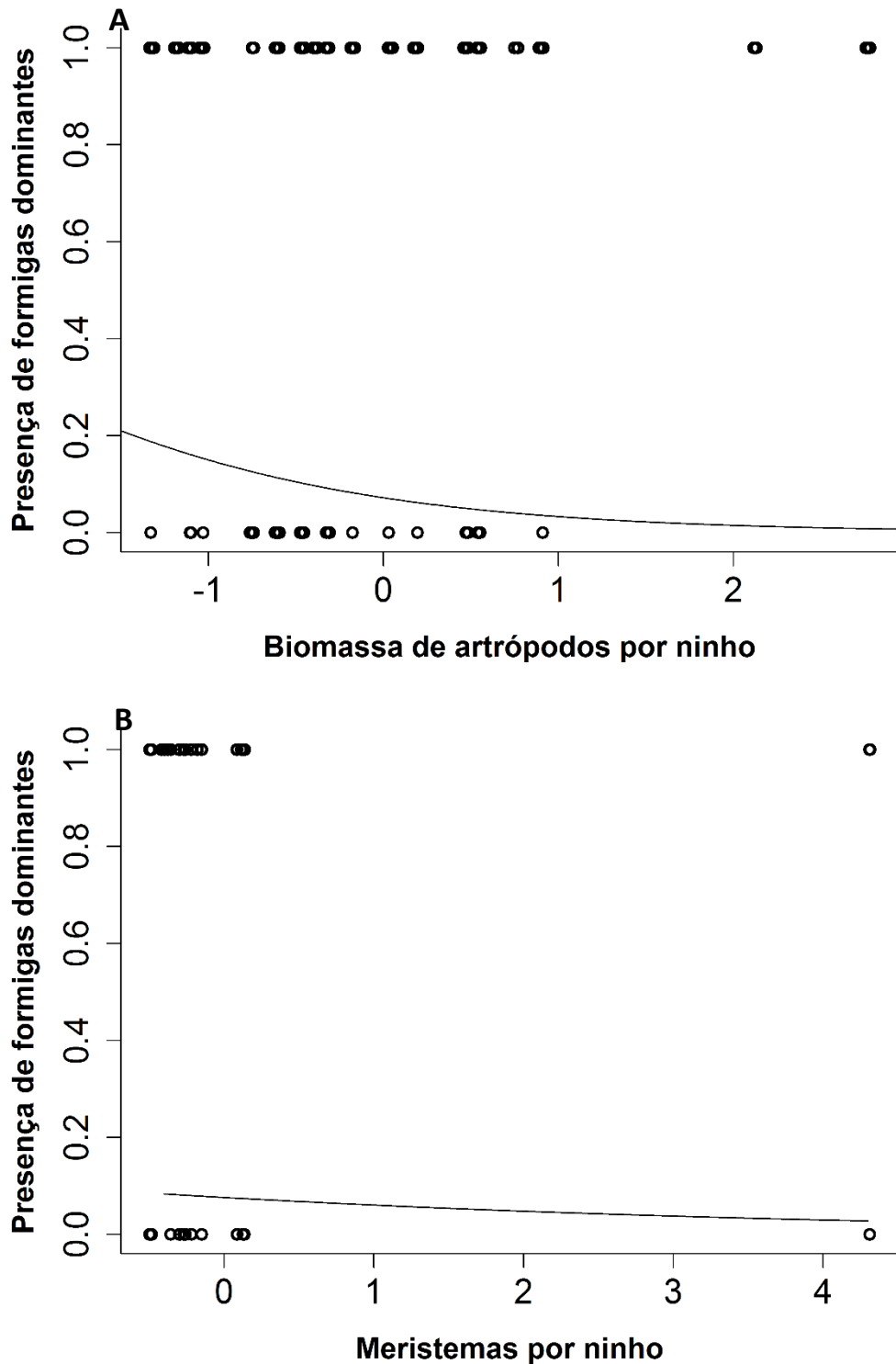


Figura 1: Probabilidade de ocorrência de formigas dominantes (1) e subordinadas (0) atendendo os nectários extraflorais de indivíduos de *Turnera subulata* (Turneraceae) em função da (A) quantidade da biomassa de artrópodos média por ninho ($prob=1/1+\exp(-[-2,56-0,82x])$) e (B) do número médio de meristemas apicais de plantas portadoras de NEF por ninho ($prob=1/1+\exp(-[-2,49-0,24x])$). Valores do eixo x das figuras A e B foram escalonados por métrica z.

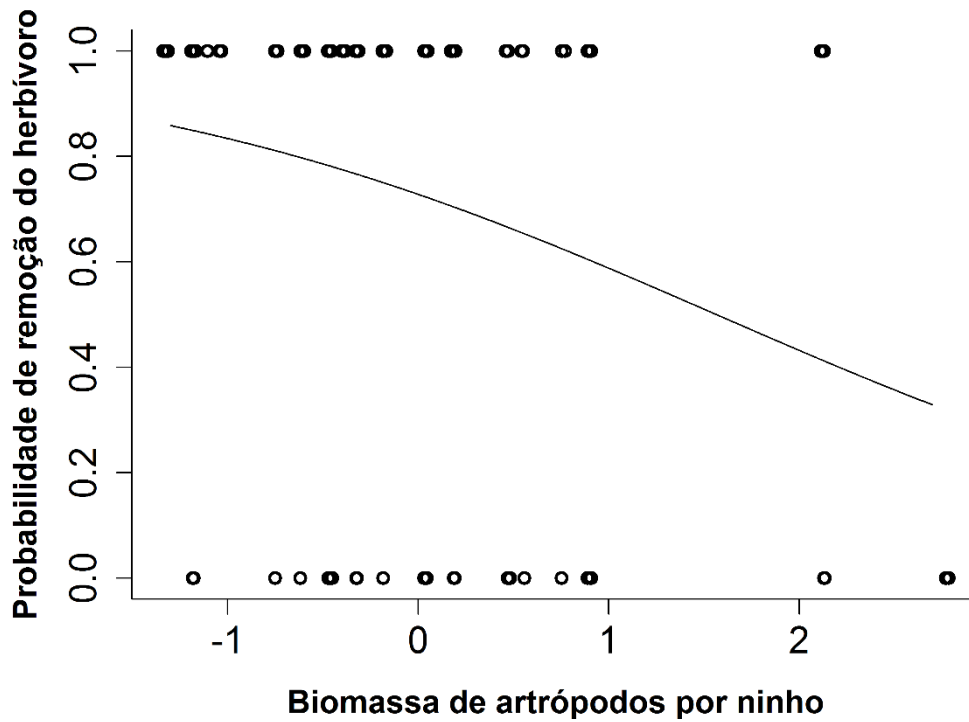


Figura 2: Probabilidade das larvas de *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera, Tenebrionidae) ofertadas em indivíduos de *Turnera subulata* (Turneraceae) serem removidas por formigas em função da quantidade da biomassa de artrópodos média por ninho. Valores 0 representam as larvas não removidas e 1, as que foram removidas. ($prob=1/1+\exp(-[0,98-0,62])$). Valores do eixo x escalonados por métrica z.

Anexo 2

***Oecologia* Author Instructions – General**

[Aims and scope](#)

[Legal and ethical requirements](#)

[Manuscript submission](#)

[Manuscript preparation](#)

[Manuscript contents](#)

[After acceptance](#)

[Aims and scope](#)

Oecologia publishes innovative ecological research of general interest to a broad international audience. We publish several types of manuscripts in many areas of ecology:

Categories:

Physiological ecology
Behavioral ecology
Population ecology
Plant-animal interactions
Community ecology
Ecosystem ecology
Global change ecology
Conservation ecology

Manuscript Types:

Concepts, Reviews, and Syntheses
Views and Comments
Special Topics
Original Research Papers
Methods

In general, studies that are purely descriptive, mathematical, documentary, and/or natural history will not be considered.

In the *Concepts, Reviews and Syntheses* section, we seek papers on emerging issues in ecology, especially those that cross multiple boundaries in ecology, provide synthesis of important bodies of work or delve into new combinations of theory and observations with the potential to create new paradigms or challenge existing paradigms. These papers are usually invited, but we welcome unsolicited contributions. In the *Views and Comments* section we seek short papers with the intent to provide contrary and/or broader perspectives on papers recently published in *Oecologia*. Alternatively, pairs of short papers which present opposing views on a topic of high interest in the ecological research community will be published in this section, with the intent to stimulate open debate. In both cases, the papers must be relatively short (up to 5 printed pages in the case of opposing view pairs of papers, or up to 3 printed pages in the case of comments on previously-published work), and to contain not only an opinion or criticism on methods or statistics, but also relevant data or original analyses that support the opposing view or comment. Manuscripts or letters intended for the Views and Comments section will be reviewed by one of the Editors-in-Chief and a Handling Editor in the field appropriate to the submission. *Special Topics* are a collection of integrated papers on a critical topic of broad interest. Proposals for Special Topics should be submitted to one of the Editors-in-Chief. *Methods* are papers that outline new approaches that address standing questions in the discipline. *Original Research Papers* provide the core of our journal and represent original investigations that offer new insights into ecological systems.

Legal and ethical requirements

Submission of a manuscript implies that the work described has not been published before (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or thesis); that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities - tacitly or explicitly - at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation. In addition,

- Plagiarism will not be tolerated. All text should represent contributions of the authors unless material is quoted and attributed to its original source. Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers.
- All animal experiments must have been conducted in conformity with the “Guiding principles in the care and use of animals” approved by the Council of the American Physiological Society. Evidence of the adherence to these principles should be apparent
- All human studies must have been performed in accordance with the ethical standards of the 1964 Declaration of Helsinki and reviewed by the appropriate ethics committee. The text should clearly state that all persons gave their informed consent prior to their inclusion in the study. Details that might disclose the identity of the subjects should be omitted.
- Authors must include a declaration that experiments comply with the current laws of the country in which the experiments were performed
- Authors must indicate whether or not they have a financial relationship with the organization that sponsored the research. If no conflict exists, authors should state: The authors declare that they have no conflict of interest.

The Editors-in-Chief reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned requirements. The author(s) will be held responsible for false statements or for failure to fulfill the above-mentioned requirements.

Manuscript submission

Authors must submit their articles to "Oecologia" online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing, review and publication time. After passing a pre-review assessment for journal eligibility by an Editor-in-Chief and a Handling Editor, submitted manuscripts are subject to peer review and copy editing. Please log directly onto the link below and upload your manuscript following the on-screen instructions. For the review process, the manuscript may be submitted as one single file (PDF, Microsoft Word or Rich Text Format with embedded illustrations, tables, etc.). If the manuscript is accepted, original files (not pdf or html) of the final version of the manuscript must be uploaded for production. Online appendices (Electronic Supplementary Material, ESM) must be submitted in a separate file. There is a total

file size limit of 60 MB for a manuscript submission, including ESM. If ESM (e.g., video) exceeds this size, please contact the appropriate Editor-in-Chief directly.

[Submit Online](#)

[Manuscript preparation](#)

- The length of articles should not exceed 10 printed pages (equivalent to approximately 35 submitted pages) including all references, tables, figures, and figure legends. Views and Comments submissions must be limited to 3 to 5 printed pages. One printed page corresponds to approximately 3 submitted pages, 850 words text, or 3 illustrations with their legends, or 55 references. There will be a charge of 100 €, plus 19% VAT, for each page exceeding this limit. Editors typically return manuscripts prior to review that are likely to exceed the page limit.
- Manuscripts must be written in English and double-spaced throughout (including references) with at least 2.5 cm (1 inch) margins. Please write in the active voice using the past tense only for methods and results sections.
- Page numbers are required for the manuscript but should not be included on tables and figures. Pages in Electronic Supplementary Material (ESM) should be numbered separately.
- Line numbers for text should run consecutively throughout the text, from the title page through the figure legends. Do not number lines in tables or figures.
- Use a normal, plain font (e.g. Times New Roman) for text. Genus and species names should be in italics. The common names of organisms should not be capitalized
- Abbreviations should only be used for terms repeated at least 3 times. Abbreviations should be defined at first mention in the abstract and again in the main body of the text and used consistently thereafter.
- Format dates as day-month-year with months abbreviated: e.g., 01-Jan-2008
- Use the equation editor of a word processing program or MathType for equations. (Note: If you use Word 2007, do not create equations with the default equation editor but use the Microsoft equation editor or MathType instead.) Symbols for parameters should be *italicized*.
- Report values in equations, tables, figures and statistics with the number of digits that matches the precision of the data.
- Please always use Unicode (<http://www.unicode.org>) font for non-roman characters. Use internationally accepted signs and symbols following the Standard International System of Units (SI, <http://physics.nist.gov/cuu/Units/units.html>) throughout the manuscript (in the text, tables and figures). Avoid complex units wherever possible (e.g use “no. m⁻²” instead of “no. per 16 m²”). Units should use exponent notation and avoid multiplication and division symbols (e.g., “*”, “/”, “x”): i.e., “no. m⁻²” and not “no./m²”).
- Footnotes should not be used, except on the title page or in Tables.
- For indents, use tab stops or other commands, not the space bar.

Manuscript contents (in order)

- **Title page** The title should be concise and informative and less than 200 characters. Short titles (< 15 words) are best and are more often cited. The concept, problem or hypothesis to be tested should be clear from the title. The use of full taxonomic names in the title is discouraged; no taxonomic authorities should appear in titles. On the title page, include name(s) of author(s), the affiliation(s) of the author(s), and the e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author.
- **Abstract** The abstract should start with theory -based objectives or hypotheses, end with explicit conclusions, and should not exceed 250 words in length. Refrain from giving detailed methods; in most cases the technique becomes obvious by the way results are reported. Avoid writing “is discussed” or “needs further research”, and instead end with a conclusive statement of how the work has furthered our ecological understanding. The abstract should not contain any undefined abbreviations or literature references.
- **Key words** Five key words should be supplied, indicating the scope of the paper and not repeating terms already used in the title. Each keyword should not contain more than two compound words, preferably only one.
- **Introduction**
- **Materials and methods** Some submissions, such as reviews, may depart from the typical format of Methods-Results-Discussion.
- **Results** Avoid “Results are shown in Figure 3”. Instead, say for example, “Biodiversity declined with the addition of nitrogen (Fig. 3).” Be specific: e.g., “positively correlated” instead of “correlated”. Refer to magnitudes of effects (e.g. give effect sizes and confidence intervals) rather than just *P*-values.
- **Discussion**
- **Acknowledgements** Please keep this section as short as possible. Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full. Compliance with ethical standards may be stated in the cover letter rather than the acknowledgements section.
- **References** Literature citations in the text should be ordered chronologically and indicate the author's surname with the year of publication in parentheses, e.g. Carlin (1992); Brooks and Carlin (1992). If there are more than two authors, only the first author should be named, followed by "et al." For example, “Carlin (1992), Brooks and Carlin (2004, 2005), Jones et al. (2007) demonstrated...” OR “... well studied (Carlin 1992; Brooks and Carlin 2004, 2005; Jones et al. 2007)”. References at the end of the paper should be listed in alphabetical order by the first author's name. If there is more than one work by the same author or team of authors in the same year, a, b, etc. is added to the year both in the text and in the list of references. References should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Alphabetize the list of references by the last names of the first author of each work. If available, the Digital Object Identifier (DOI) of the cited literature should be added at the end of each reference. Always use the standard abbreviation of a journal's name

according to the ISSN List of Title Word Abbreviations (www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php). Reference examples:

Journal papers: name(s) and initial(s) of all authors; year; full title; journal title abbreviated in accordance with international practice; volume number; first and last page numbers

Savidge WB, Blair NE (2004) Patterns of intramolecular carbon isotopic heterogeneity within amino acids of autotrophs and heterotrophs. *Oecologia* 139:178-189. doi: 10.1007/s00442-004-1500-z

Chapter in a book: name(s) and initial(s) of all authors; year; title of article; editor(s); title of book; edition; volume number; publisher; place of publication; page numbers

Hobson KA (2003) Making migratory connections with stable isotopes. In: Berthold P, Gwinner E, Sonnenschein E (eds) *Avian migration*. Springer, Berlin, pp 379-391

Book: name and initial(s) of all authors; year; title; edition; publisher; place of publication

Körner C (2003) *Alpine plant life*, 2nd edn. Springer, Berlin

Theses: name and initial(s) of author; year; type (e.g., “Master thesis” or “PhD dissertation”), institution, place of publication

Wilson JA (2004) *Habitat quality, competition and recruitment processes in two marine gobies*. PhD dissertation, University of Florida, Gainesville

- **Tables** Each table should be submitted on a separate page, with the title (heading) above the table. Tables should be understandable without reference to the manuscript text. Restrict your use of tables to essential material. All tables must be cited in the manuscript text and numbered consecutively with Arabic numerals. Provide dimensions or units for all numbers. Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table heading. Tables will be printed with horizontal separation lines only (one below the table’s header, one below the column headers, and one at the end of the table); no vertical lines will be printed. Use tab stops to align columns and center numbers around decimals when appropriate. Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). The number of decimals presented should be sensible and match the precision of the data. Acceptable file formats for tables include Microsoft Word (.doc), Rich Text Format (.rtf) and Excel (.xls).
- **Figure legends** All figure legends (captions) should be assembled onto a separate page(s) preceding the figures. Each caption should be brief but sufficient to explain the figure without reference to the text. All figures must be cited in the manuscript text and numbered consecutively with Arabic numerals.

- **Figures** Each figure should appear on a separate page, with its figure number but without the figure legend. Figure preparation is critical. Please follow the journal-specific instructions and examples.
- **Electronic Supplemental Material (ESM)** ESM are on-line appendices and may consist of information that is more convenient in electronic form (e.g. sequences, spectral data); large quantities of original data that relate to the manuscript (e.g. maps, additional tables and illustrations); and any information that cannot be printed (animations, video clips, sound recordings). Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability. Figures embedded within the ESM text are fine. If spreadsheets are to be interactive, they should be submitted as .xls files (Microsoft Excel), otherwise submit as PDF. Always use MPEG-1 (.mpg) format for audio, video and animation. It is possible to submit multiple files in a .zip or .gz file. Name the ESM files consecutively, e.g. “ESM_3.mpg”. ESM must be numbered and referred to as “Online Resource”. The manuscript text must make specific mention of the ESM material as a citation, similar to that of figures and tables, e.g., “. . . as shown in the animation (Online Resource 3)”. ESM is not subject to copyediting and will be published as received from the author in the online version only so authors should format the ESM material exactly as they want it to appear. Do not include line numbers. ESM will be available in color at no additional charge. Reference to ESM will be included in the printed version.

[After acceptance](#)

- **MyPublication** Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer’s web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice and offprints. Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.
- **Open Choice** In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer’s online platform SpringerLink. We regret that Springer Open Choice cannot be ordered for published articles. Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. [Springer Open Choice](#)
- **Copyright transfer** Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws. See Springer’s “[Copyright information](#)” for more information.
 - Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, they agree to the Springer Open Choice Licence.
- **Offprints** Twentyfive reprints (offprints) of each contribution are supplied free of charge. Additional offprints can be ordered by the corresponding author via the MyPublication site.

- **Color illustrations** Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution of Euro 950 towards the extra costs.
- **Proof reading** The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. The corresponding author is informed by e-mail that a temporary URL has been created from which the proofs can be obtained. Authors can submit their proof corrections (formal corrections only) either online, via e-mail, or by fax. Substantial changes in content (e.g. new results, corrected values, title and authorship) are not allowed without the approval of the responsible editor. In such a case please contact the Editorial Office that handled the review before returning the proofs to the publisher.
After online publication, corrections can only be made in exceptional cases and in the form of an Erratum which will be hyperlinked to the paper. ESM will not be included in proofs (because ESM is not copy edited and will be made available exactly as it was provided by the authors).
- **Online First** The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

Oecologia

Editors-in-Chief: Ballaré, C.L.; Brandl, R.; Gross, K.L.;

Monson, R.K.; Trexler, J.C.; Ylönen, H.

ISSN: 0029-8549 (print version)

ISSN: 1432-1939 (electronic version)

Journal no. 442