

SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO  
CAMPUS DE NOVA XAVANTINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

The background features a large, semi-transparent watermark of the UNEMAT logo. It consists of a shield with a green top section containing the text 'UNEMAT' in white. Below this, there is a circular emblem with a green wreath and a central green circle. The shield is flanked by two torches and topped with three flames. A red banner at the bottom of the shield contains the Latin motto 'UNIVERSITATE OMNIUM'.

**EFEITO DE FORMIGAS NO AUMENTO REPRODUTIVO DE  
ESPÉCIES DE PLANTAS MIRMECÓFILAS**

**Karla Monique Silva Carneiro**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação da Universidade do Estado de Mato Grosso - *Campus* de Nova Xavantina, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Orientador: Dr. Estevão Alves da Silva

Nova Xavantina-MT  
Fevereiro, 2020

SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO  
*CAMPUS* DE NOVA XAVANTINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

## **EFEITO DE FORMIGAS NO AUMENTO REPRODUTIVO DE ESPÉCIES DE PLANTAS MIRMECÓFILAS**

**Karla Monique Silva Carneiro**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação da Universidade do Estado de Mato Grosso - *Campus* de Nova Xavantina, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Orientador: Dr. Estevão Alves da Silva

Nova Xavantina-MT  
Fevereiro, 2020

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)

This study was partially funded by CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brazilian Ministry of Education)

**FICHA CATALOGRÁFICA:**

Luiz Kenji Umeno Alencar CRB 1/2037

CARNEIRO, Karla Monique Silva.  
C289e Efeito de Formigas no Aumento Reprodutivo de  
Espécies de Plantas Mirmecófilas / Karla Monique Silva  
Carneiro – Nova Xavantina, 2020.  
27 f.; 30 cm. (ilustrações) Il. color. (sim)

Trabalho de Conclusão de Curso  
(Dissertação/Mestrado) – Curso de Pós-graduação Stricto  
Sensu (Mestrado Acadêmico) Ecologia e Conservação,  
Faculdade de Ciências Agrárias Biológicas e Sociais  
Aplicadas, Câmpus de Nova Xavantina, Universidade do  
Estado de Mato Grosso, 2020.  
Orientador: Estevão Alves da Silva

1. Ancistrotropis Firmula. 2. Bionia Coriacea. 3.  
Camponotus Crassus. 4. Cochlospermum Regium. 5. Néctar  
Extrafloral. I. Karla Monique Silva Carneiro. II. Efeito de  
Formigas no Aumento Reprodutivo de Espécies de Plantas  
Mirmecófilas: .

CDU 581.5

**TERMO DE APROVAÇÃO****EFEITO DE FORMIGAS NO AUMENTO REPRODUTIVO DE  
ESPÉCIES DE PLANTAS MIRMECÓFILAS****Karla Monique Silva Carneiro**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação da Universidade do Estado de Mato Grosso - *Campus* de Nova Xavantina, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Aprovado em 28 de Fevereiro de 2020.

Banca Examinadora:

---

**Prof. Dr. Estevão Alves da Silva**

Instituto Federal Goiano  
Orientador

---

**Prof. Dr. Marco Túlio Rodrigues Furtado**

Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia  
Membro Titular

---

**Prof. Dr. Eddie Lenza de Oliveira**

Universidade do Estado de Mato Grosso  
Membro Titular

---

**Prof. Dr. Fabiano Côrrea**

Universidade do Estado de Mato Grosso  
Membro Titular

---

**Prof. Dr. Paulo Sérgio Morandi**

Universidade do Estado de Mato Grosso  
Suplente

---

**Prof. Dr. Edmar Almeida de Oliveira**

Universidade do Estado de Mato Grosso  
Suplente

Dedico a minha querida tia Valdete Castro da Silva *In memoriam*.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todo o cuidado comigo durante meu processo de formação, em que muitas vezes não entendia o porquê de muitas coisas mas, Ele sempre esteve no controle de tudo. “Deus é bom o tempo todo, o tempo todo Deus é bom”.

Agradeço a minha querida instituição UNEMAT pelas infinitas oportunidades concedidas desde a graduação até o presente momento.

Agradeço ao meu orientador Estevão Alves da Silva pelos momentos incontáveis de dedicação, amizade, disponibilidade, desabafos, compreensão, ensinamentos e até os puxões de orelha da forma mais amável. Para mim ser sua primeira orientanda foi uma honra e um prazer poder trabalhar contigo durante esses dois anos. Você é show!!!!

Agradeço a Geane Rodrigues pela disponibilidade de sempre nos ajudar nas coletas de campo. A sua ajuda foi essencial obrigada por tudo.

Agradeço ao Eduardo Calixto pelo tempo dedicado em nos ajudar durante toda a parte de análises que em determinados momentos eram complexas demais. Sem a sua ajuda não conseguiríamos.

Agradeço aos membros da banca Eddie, Marco Tulio, Fabiano, Paulo Morandi e Edmar que com muito carinho aceitaram meu convite e puderam dar suas contribuições.

Agradeço a minha amada mãe que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos me dando força, amor, carinho, paciência, conselhos e principalmente por seu amor incondicional que me dá forças para seguir a cada dia. Você é a força que me move a ser uma pessoa melhor em todos os aspectos da vida. Eu amo você!!!

Agradeço ao meu Pai amado por sua alegria, parceria, amor, cuidado, por nossas pescarias para aliviar o estresse, pelo incentivo em sempre buscar melhorias para a vida. Eu te amo muito!!!

Agradeço a minha querida boadrasta Josiane por sempre me receber com palavras amáveis de apoio, orações e incentivo durante a caminhada. Você não imagina o quanto amo você!

Agradeço aos meus irmãos Juliano e Fernando pelo carinho, cuidado, amor, por sempre me incentivar e acreditar nos meus sonhos eu não sei o que seria de mim sem vocês!!!

Agradeço aos meus sobrinhos Arthur e Gabriel por adoçar a minha vida e me dar esperança para buscar sempre o melhor. A titia ama vocês!!!

Agradeço as minhas cunhadas Elaina e Zidonia pela alegria, amor, conselhos e força durante todo meu processo de formação. Vocês são minhas irmãs no amor!!!

Agradeço a minha amiga Naiane, a irmã que a vida me deu, obrigada amiga pelos incontáveis momentos que se dedicou em me ajudar, ouvir, brigar, chorar, aconselhar e as incontáveis noites que o estresse tomava conta e resolvíamos tomar a nossa cervejinha para amenizar a pressão. Amo você!

Agradeço as minhas amigas Raiane e Danielle pelo companheirismo, pelos momentos de reflexão, pelas dúvidas tiradas em muitos momentos e principalmente pela amizade de vocês.

Agradeço a meu amigo Dinei pelas conversas e conselhos durante meu processo de formação. Sou muito grata por sua amizade!!!

Agradeço a Nayane Candida, por sempre me incentivar a melhorar a qualidade de vida para assim conseguir lidar com toda a pressão que a pós nos condiciona. Nay você é uma pessoa de luz e meu sentimento é de imensa gratidão por sua ajuda de cuidado. Obrigada Flor!!!

Agradeço ao Henrique pela amizade, carinho, alegria, compreensão, paciência, respeito e dedicação.

Agradeço a toda família LABEV, a minha gratidão por vocês é imensa em todos os sentidos. Não me atrevo a citar nomes pois acabaria me esquecendo de alguém, mas aqui deixo o meu agradecimento a vocês que contribuíram grandiosamente no meu processo de formação profissional e pessoal.

Agradeço a minha turma de mestrado (2018/1) pelas amizades feitas e as trocas de experiências.

Agradeço a família LECOT por terem me recebido com tanto carinho e atenção.

Agradeço a todos que, de forma direta ou indireta puderam contribuir em todo meu processo de formação. Se aqui acabei me esquecendo de citar algum nome me perdoe mas tenha certeza que o meu sentimento por tudo e por todos é de imensa gratidão!!!

OBRIGADA...



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	3
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	5
<b>2.1. Área de estudo</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2. Coleta de dados</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3. Análise de dados</b> .....	<b>9</b>
3. RESULTADOS .....	11
4. DISCUSSÃO.....	18
5. CONCLUSÃO .....	20
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	21
7. APÊNDICES.....	26

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Plantas com nectários extraflorais em uma área de cerrado. ....	7
<b>Figura 2.</b> Distribuição da densidade de formigas nos nectários extraflorais e estruturas sem nectários em quatro espécies de plantas .....	12
<b>Figura 3.</b> Abundância de espécies de formigas encontradas ao longo do dia nos nectários extraflorais e parte sem nectário extrafloral .....	14
<b>Figura 4.</b> Produção de botões florais em quatro plantas com nectários extraflorais.....	16
<b>Figura 5.</b> Produção de frutos em quatro plantas com nectários extraflorais.....	17
<b>Figura 6.</b> Proporção média de frutos em quatro plantas com nectários extraflorais de acordo com a ausência e presença de formigas.....	18

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Descrição resumida dos objetivos, hipóteses, análises associadas e figuras do presente trabalho .....	11
<b>Tabela 2.</b> Porcentagem e número de observações de formigas <i>Camponotus crassus</i> visitando diferentes estruturas das plantas de quatro espécies de cerrado sensu-stricto.....	11
<b>Tabela 3.</b> Distribuição assimétrica de formigas nos nectários extraflorais, nas estruturas sem nectários e em todas as estruturas em quatro espécies de plantas em um cerrado sensu-strictu.....	13
<b>Tabela 4.</b> Resultados do GLMM para botões florais, frutos produzidos e proporção de frutos influenciados pelo tipo de tratamento e tempo em quatro espécies de plantas em um cerrado sensu-stricto.....	15

## CAPÍTULO ÚNICO

### EFEITO DE FORMIGAS NO AUMENTO REPRODUTIVO DE ESPÉCIES DE PLANTAS MIRMECÓFILAS

A ser submetido para publicação no periódico: Biotropica

#### RESUMO

Interações entre plantas e formigas incluem aquelas nas quais as plantas fornecem néctar extrafloral como recurso alimentar para as formigas e em contrapartida estas atuam na proteção das plantas contra possíveis ataques de herbívoros. No entanto, o período de atividade, a distribuição espacial nas estruturas das plantas e o efeito do forrageamento das formigas sobre sucesso reprodutivo das plantas são questões ainda pouco exploradas. Neste estudo, conduzimos experimentos de exclusão de formigas (*Camponotus crassus*) com o objetivo de investigar a influência da presença destas sobre a produção de botões florais, frutos e a taxa de frutos/botões de quatro espécies subarbustivas do Cerrado (*Ancistrotropis firmula*, *Bionia coriacea*, *Cochlospermum regium* e *Peixotoa tomentosa*). Além disso, nós também registramos a distribuição espacial das formigas (em nectários extraflorais, folhas, ramos, botões e frutos, para examinar seu padrão de distribuição ao longo do dia. Nestas plantas, a atividade dos nectários coincidiu com o período de floração e frutificação e ambos ocorreram durante a estação seca (Maio a Agosto de 2018). *Camponotus crassus* foi a única espécie de formiga que visitou sistematicamente as plantas. O forrageamento ocorreu ao longo do dia, mas notamos segregação espacial uma vez que as visitas foram concentradas nos nectários extraflorais e raramente visitaram as flores. Ainda assim, a presença das formigas nas plantas aumentou a produção de botões e frutos nas três espécies de plantas *A. firmula*, *C. regium* e *P. tomentosa*, 43%, 54% e 21% respectivamente, em comparação com as plantas sem formigas. Em *B. coriacea*, a presença de formigas diminuiu a taxa de frutos/botões. Assim concluímos que a atividade das formigas ao longo de todo o dia e do período reprodutivo das plantas aumenta o sucesso reprodutivo de três das quatro espécies estudadas, mas esse fenômeno não pode ser generalizado, pois registramos uma exceção.

**Palavras-chave:** *Ancistrotropis firmula*, *Bionia coriacea*, *Camponotus crassus*, *Cochlospermum regium*, néctar extrafloral, *Peixotoa tomentosa*

## ABSTRACT

Interactions between plants and ants include those in which plants provide extrafloral nectar as food source for ants and in return they operate in the protection of plants against possible herbivore attacks. However, the period of activity, the spatial distribution in the structures of plants and the effect of foraging ants on reproductive success of the plants are still little explored issues. In this study, we conducted ant exclusion experiments (*Camponotus crassus*) in order to investigate the influence of these presence on the production of flower buds, fruits and fruit rate / buttons four subshrubs Cerrado species (*Ancistrotropis firmula*, *Bionia coriacea*, *Cochlospermum regium* and *Peixotoa tomentosa*). Moreover, we also record the spatial distribution of ants (in extrafloral, leaves, branches, buds and fruits, to examine their distribution pattern throughout the day. In these plants, the activity of nebulous coincided with the period of flowering and fruiting, and both occurred during the dry season (May to August 2018). *Camponotus crassus* was the only species of ant that systematically visited the plants. The foraging occurred throughout the day, but we note spatial segregation since the visits were concentrated in extrafloral nebulous and rarely visited the flowers. Still, the presence of ants in plants increased production buds and fruits of plants in the three species *A. firmula*, *C. regium* and *P. tomentosa*, 43%, 54% and 21% respectively, compared with plants without ants. *B. coriacea* in the presence of ants decreased rate of fruit / buttons. Thus we conclude that the activity of ants throughout the day and the reproductive period of the plants increases the reproductive success of three of the four species studied, but this phenomenon can not be generalized, because we recorded an exception.

**Keywords:** *Ancistrotropis firmula*, *Bionia coriacea*, *Camponotus crassus*, *Cochlospermum regium*, extrafloral nectar, *Peixotoa tomentosa*

## 1. INTRODUÇÃO

Milhares de espécies de plantas desenvolveram interações mutualistas com formigas, mediada pela presença de nectários extraflorais (NEFs) (Weber & Keeler 2013). Nesta relação, as formigas obtém recursos alimentares ricos em carboidratos, usados para alimentação da prole e responsáveis pelo crescimento das colônias (Fisher *et al.* 1990, Byk & Del-Claro 2011); Em contrapartida, as plantas recebem uma proteção, estando menos sujeitas a danos causados por herbívoros, e aumentam o valor reprodutivo (Trager *et al.* 2010).

Essa interação entre plantas, formigas e herbívoros se encaixa na *Teoria da Defesa Ótima* (TDO), que denota a relação entre as chances da planta ser atacada por herbívoros e a atração e manutenção de formigas agressivas que evitam possíveis ataques de insetos herbívoros (Mckey 1974, Calixto *et al.* 2015). Assim, espera-se que os NEFs sejam funcionais em períodos de maior suscetibilidade das plantas a herbívoros, tais como períodos de brotação e floração (Wäckers & Bonifay 2004, González-Teuber *et al.* 2012, Dáttilo *et al.* 2015). Os NEFs seguem o ciclo fenológico da planta (Fisher *et al.* 1990, Marazzi *et al.* 2013), sendo funcionais durante todo o ano (Koptur 1985, Van Rijn & Tanigoshi 1999) ou apenas durante períodos específicos (Rico-Gray 1993, Ness 2003, Lange *et al.* 2013). Em algumas famílias botânicas (Malpighiaceae - Bächtold *et al.* 2017; Bignoniaceae - Nogueira *et al.* 2012; Fabaceae - Anjos *et al.* 2017) os NEFs são funcionais durante todo o período de floração, o que coincide com a visitação das formigas.

Uma questão ainda pouco examinada nas interações formiga-planta é como o período de atividade diário e a distribuição espacial das formigas em diferentes estruturas vegetais determina o sucesso de produção de frutos e sementes pelas plantas. Os NEFs ocorrem comumente nas folhas e, por isso, acredita-se que essa localização tenha evoluído para diminuir a presença das formigas nas flores (Holland *et al.* 2011, Villamil *et al.* 2019). Isto poderia desencorajar a visita de polinizadores (Del-Claro *et al.* 2016, Calixto *et al.* 2018), e consequentemente afetar o sucesso reprodutivo das plantas. No entanto, as formigas também podem ser encontradas em órgãos ou estruturas das plantas sem NEFs, incluindo estruturas reprodutivas (Bächtold & Alves-Silva 2013). A presença das formigas em diferentes partes pode se traduzir em efeitos positivos para plantas, pois os herbívoros pertencem a diferentes guildas (ex. mastigadores, ventosas), grupos taxonômicos (lagartas, besouros, tripes) e nichos espaciais (partes de plantas reprodutivas e/ou vegetativas) (Koptur 1988, Oliveira 1997, Katayama & Suzuki 2004, Mody & Linsenmair 2004, Alves-Silva & Del-Claro 2016).

Assim, podemos assumir que uma ampla atividade de forrageamento das formigas possa resultar em maiores benefícios para todas as partes das plantas. Desse modo, um exame minucioso da frequência e consistência das formigas em diferentes partes da planta, e sua relação com o aumento da capacidade reprodutiva (Rosumek *et al.* 2009) podem esclarecer mais sobre o comportamento desses insetos e seus efeitos nas plantas. Um mutualista efetivo (no caso das formigas) deve estar constantemente presente, forragear frequentemente e, em último caso, estar relacionado ao desenvolvimento das plantas, especialmente ao valor reprodutivo (Guimarães Jr *et al.* 2006).

Essa presença constante de formigas está positivamente relacionada com a diminuição da herbivoria (folivoria), mas surpreendentemente existem poucos estudos mostrando um efeito potencial das formigas na reprodução das plantas (Ness 2006, Baker-Méio & Marquis 2012, Jiang *et al.* 2019), em comparação com estudos que avaliaram o efeito das formigas na folivoria (Bentley 1976, Fiala *et al.* 1989, Mody & Linsenmair 2004, Dejean *et al.* 2010, Riedel *et al.* 2013). No entanto, estudos experimentais mostram que plantas com formigas podem produzir maior quantidade de estruturas reprodutivas em comparação a tratamentos com exclusão de formigas (Trager *et al.* 2010). Por exemplo, em duas espécies de *Hibiscus* (Malvaceae), as espécies que não possuíam NEFs apresentaram 20% de herbivoria nos botões florais, enquanto as espécies com NEFs raramente foram atacadas por herbívoros, apresentando apenas 0,2% de herbivoria. Neste sentido, a relação entre as formigas e a reprodução das plantas parece ser a linha mais apropriada para avaliar o efeito real das formigas no valor reprodutivo das plantas (Fleet & Young 2000, Vesprini *et al.* 2003, Baker-Méio & Marquis 2012, Jiang *et al.* 2019).

Neste estudo, nós investigamos a influência das formigas sobre o valor reprodutivo, inferindo a partir de produção de botões florais e frutos, de quatro espécies de plantas com NEFs em uma área de cerrado. Nós levantamos as seguintes perguntas (i) As formigas ocorrem com maior frequência em estruturas com ou sem NEFs (segregação espacial - Apple & Feener 2001)?; (ii) há um período de maior atividade das formigas nas plantas (segregação temporal) (González-Teuber *et al.* 2012)?; (iii) existe uma relação entre a presença de formigas e aumento no número de estruturas reprodutivas (botões e frutos) das plantas (Trager *et al.* 2010)?

Para responder a essas questões nós estabelecemos as seguintes hipóteses: (i) a frequência de formigas é maior nos NEFs em comparação com outras estruturas da planta como folhas e ramos, visto que os NEFs fornecem recursos alimentares para as formigas (Oliveira 1997); (ii) as formigas irão forragear nas plantas durante todo o dia, visto que isso

caracteriza relações mutualistas com as plantas (Alves-Silva *et al.* 2014); (iii) as plantas com formigas produzirão maior número de botões e frutos do que plantas sem formigas (experimentalmente excluídas), devido ao efeito protetivo das formigas (Vesprini *et al.* 2003, Trager *et al.* 2010).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Área de estudo

O estudo foi realizado entre fevereiro e outubro de 2018 em uma área de cerrado sensu-stricto (14° 42' 56" S - 52° 21' 36" W), (sensu Ribeiro & Walter 2008), localizada no Parque Municipal do Bacaba, que está inserido na porção oeste do Bioma Cerrado e próximo à zona de transição com a Amazônia, Brasil. O cerrado sensu-stricto é caracterizado por possuir árvores baixas, tortuosas, com ramificações irregulares, retorcidas sem a formação de dossel contínuo e com presença de sinais de queimadas no caule das espécies vegetais (Ribeiro & Walter 2008). O clima da região é caracterizado por dois períodos bem definidos, um período de chuvas (outubro a abril) e um período seco (maio a setembro); a precipitação anual é de até 1500 mm e a temperatura média mensal é de 25° C (Alvares *et al.* 2013). A parcela de estudo correspondeu a aproximadamente 24 ha; a área foi caracterizada por vegetação aberta com arbustos e árvores de baixa estatura (< 5 m de altura) (**Apêndice 1**) e solos arenosos a rochosos (Ribeiro & Walter 2008).

#### 2.1.1. Plantas avaliadas neste estudo

*Ancistrotropis firmula* (Mart. Ex. Benth.) A. Delgado (Fabaceae) (**Figura 1a**) é um arbusto (< 2 m de altura) profusamente ramificado. As folhas são trifoliadas, verdes e sem tricomas; os botões florais têm forma de gancho com o ápice virado para baixo, são esverdeados, mas tornam-se gradualmente roxos antes da antese das flores; as flores são roxas, zigomorfas e as pétalas são fundidas. Os frutos (vagens) são lanceolados e verdes. As estruturas reprodutivas ocorrem em inflorescências no ápice das hastes. Os NEFs são circulares e localizados próximo às inflorescências, especificamente próximo aos botões florais. Na área de estudo, os indivíduos de *A. firmula* foram consistentemente encontrados nas bordas de uma trilha que atravessa a reserva.

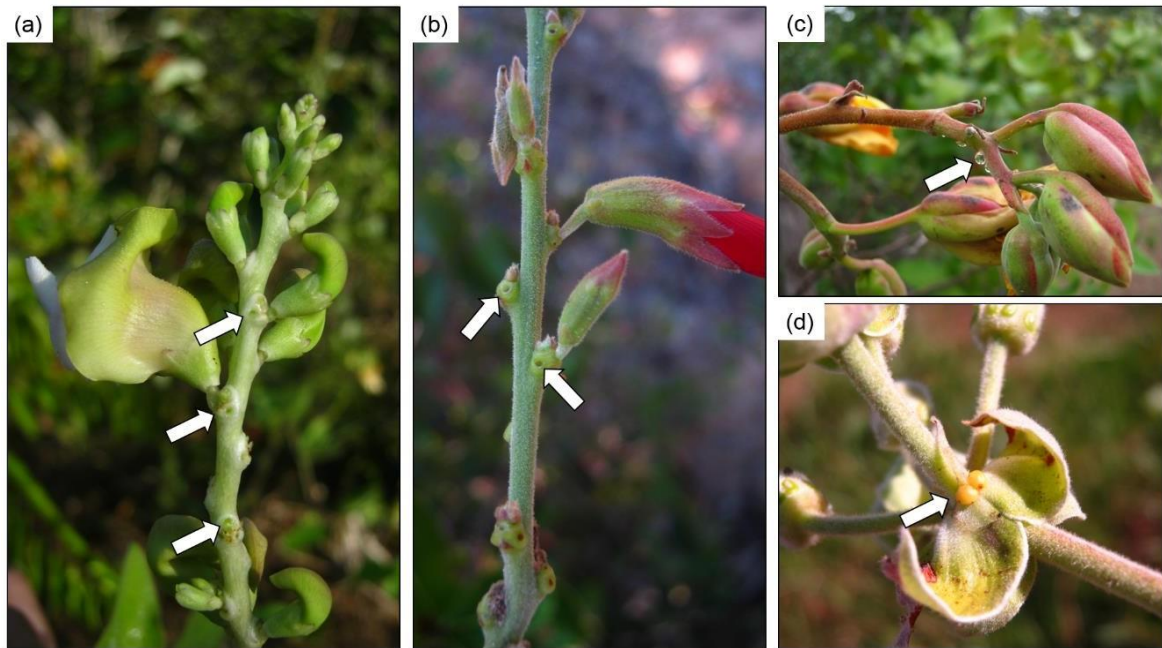


*Bionia coriacea* (Nees & Mart.) Benth. (Fabaceae) (**Figura 1b**) é um arbusto (< 2 m de altura), cujo caule principal pode suportar até quatro ramificações. As folhas são trifolioladas, podem atingir até 10 cm de comprimento e 12 cm de largura, são esverdeadas em ambos os lados e não contêm tricomas; as margens são inteiras e o ápice é obtuso. Os botões florais são vermelhos e fusiformes; as flores são vermelhas e tubulares; os frutos são vagens, de cor verde, e com a forma de arco. A floração ocorre de abril a junho. Os NEFs são esféricos e localizados ao longo das inflorescências do tipo racemo (Anjos *et al.* 2017, Bächtold & Del-Claro 2018).

*Cochlospermum regium* (Mart. ex Schrank) Pilg. (Bixaceae) (**Figura 1c**) é um arbusto (< 2 m de altura) que ocorre em formações abertas e que recebe luz solar direta (Ribeiro *et al.* 2017). As folhas são simples, alternas, espiraladas, cartáceas e palmatilobadas. Os botões florais são redondos e avermelhados, as flores são amarelas e os frutos são verdes, ovóides e acastanhados. Pouco antes do início da produção dos botões florais, a planta perde suas folhas, que serão liberadas novamente apenas mais tarde, em agosto, logo após o término da fenologia reprodutiva. O ciclo reprodutivo de *C. regium* ocorre de maio a julho. Os NEFs são ativos durante a fase reprodutiva da planta e estão localizados nas estípulas perto dos botões florais; no início da manhã as gotas de néctar extrafloral podem ser facilmente vistas ao longo dos ramos.

*Peixotoa tomentosa* A. Juss. (Malpighiaceae) (**Figura 1d**) é um arbusto (< 3 m de altura) encontrado em áreas abertas de cerrado. As folhas são obovado-oblongas a elípticas, chegando a medir até 20 cm de comprimento. Elas crescem ao longo do caule principal e são produzidas em janeiro e fevereiro (Del-Claro *et al.* 1997), mas tornam-se senescentes, duras e coriáceas em julho; então novas folhas são produzidas ao longo das inflorescências juntamente com botões florais. Os botões florais são redondos, amarelos e circundados por oito glândulas elípticas de óleo; localizados na base do cálice; as flores são amarelas e pentâmeras; os frutos são sâmaras com “asas” coriáceas. O período reprodutivo de *P. tomentosa* é de março a junho. As estruturas reprodutivas se localizam em inflorescências que crescem no ápice de cada ramificação da planta. Cada folha suporta um par de NEFs esféricos que ocorrem na base das folhas, em cada lado da nervura, e apenas no período de seca os NEFs são totalmente funcionais (Bächtold *et al.* 2017).

Até onde sabemos, nenhum estudo investigou as interações formiga-planta e nem mencionou a presença de NEFs em *A. firmula* e *C. regium*.



**Figura 1.** Plantas com nectários extraflorais em uma área de cerrado. (a) *Ancistrotropis firmula*; (b) *Bionia coriacea*, (c) *Cochlospermum regium*; (d) *Peixotoa tomentosa*. As setas indicam a localização dos nectários extraflorais.

### 2.1.2. Formiga do estudo

As plantas do estudo foram visitadas por *Camponotus crassus* Mayr, 1862 (Formicinae), e de fato, esta foi a única espécie de formiga com frequência suficiente para permitir um tamanho amostral adequado. Durante as observações de campo para a realização do estudo, apenas alguns indivíduos dos gêneros *Ectatomma* sp., *Cephalotes* sp., e *Crematogaster* sp., foram observados, mas sua frequência era baixa. Assim, decidimos focar o trabalho de campo apenas em *C. crassus*.

No cerrado, o gênero *Camponotus* é o mais frequentemente investigado em estudos de interação mutualística com plantas, ocorrendo em praticamente todas as famílias botânicas já registradas com presença de NEFs (Oliveira & Leitao-Filho 1987, Oliveira 1997, Lange *et al.* 2013, Lange & Del-Claro 2014, Anjos *et al.* 2017, Flores-Flores *et al.* 2018). Os indivíduos têm coloração que varia entre preto e marrom escuro, e medem cerca de meio centímetro de comprimento (Alves-Silva & Del-Claro 2014). O papel de *C. crassus* como protetora de plantas tem sido constantemente examinado, mas os resultados são condicionais (Pereira & Trigo 2013).

### 2.2. Coleta de dados

### 2.2.1. Frequência das formigas e segregação espacial

Para investigar a frequência e a segregação espacial das formigas nas plantas, nós selecionamos 15 indivíduos de cada espécie de planta, com tamanho e estágio fenológico semelhante. As plantas se localizavam em locais de fácil acesso a fim de evitar distúrbios que poderiam afetar o comportamento das formigas (Alves-Silva & Del-Claro 2013).

A atividade (presença e abundância) de formigas nas estruturas vegetais foi monitorada em um dia ensolarado de maio entre 08:00 h e 18:00 h através de registros instantâneos (Kersch & Fonseca 2005; Anjos *et al.* 2017). Cada indivíduo das espécies de plantas foi observada por aproximadamente 30 segundos e a abundância de formigas em cada estrutura foi registrada a cada hora entre as 08:00h até as 18:00, contabilizando um total de 11h de observações (Alves-Silva *et al.* 2014). Assim, cada espécie de planta foi observada em 165 ocasiões (15 indivíduos x 11 horas).

Registramos a presença de formigas nas estruturas reprodutivas (frutos, flores, botões - quando disponíveis) e vegetativas (NEFs, folhas e ramos). Para padronizar os dados, as estruturas com botões e flores foram consideradas como "inflorescências", pois nas quatro espécies botânicas, as plantas produziam flores e botões florais na mesma inflorescência. *Cochlospermum regium* e *P. tomentosa* não possuíam frutos enquanto em *C. regium* e *B. coriacea* as plantas estavam sem folhas na ocasião dos censos.

### 2.2.2. Interação entre formigas e valor reprodutivo das plantas

Para investigar o efeito da presença das formigas sobre o sucesso reprodutivo das plantas, nós inicialmente marcamos 43 plantas de *B. coriacea*, 41 de *C. regium*, 42 *P. tomentosa* e 47 de *A. firmula*. Antes da execução do experimento, as plantas foram observadas por duas semanas (um dia por semana) para nos certificarmos que todas eram visitadas por *C. crassus*. Durante o andamento do estudo, algumas plantas pereceram devido a causas desconhecidas. Ao final do trabalho de campo, o tamanho real da amostra foi de 39 em *B. coriacea* ( $n = 19$  controles e 20 tratamentos), 34 em *C. regium* ( $n = 15$  controles e 19 tratamentos), 27 em *P. tomentosa* ( $n = 11$  controles e 18 tratamentos), e 22 em *A. firmula* ( $n = 11$  controles e 11 tratamentos).

Para restringir o acesso das formigas às plantas do grupo tratamento (sem formigas), nós aplicamos uma camada de resina atóxica (Tanglefoot®) no caule das plantas a aproximadamente 10 cm acima do solo. Este procedimento é largamente utilizado em estudos que visam avaliar o papel das formigas como defesa anti-herbivoria (Rudgers & Gardener 2004, Jones *et al.* 2017). As formigas que estavam na planta antes da aplicação da

resina foram removidas com o auxílio de um pincel. A aplicação posterior de resina nas plantas era feita sempre que necessário para garantir uma barreira à visita das formigas. Além disso, removemos qualquer vegetação circundante que pudesse atuar como ponte para as formigas (Del-Claro & Oliveira 1999). Uma pequena porção de resina também foi aplicada em todas as plantas controle (com formigas), a fim de controlar o efeito da resina, mas, sem impedir o acesso das formigas à planta.

Contamos o número de botões e frutos por planta desde o início até o final da estação reprodutiva de cada espécie de planta em censos realizados a cada 10 dias. Dentro desse intervalo de 10 dias, os botões produzidos já tinham se transformado em frutos e novos botões eram produzidos, assim não contávamos os mesmos botões ou frutos duas vezes. As flores não foram contadas, pois são efêmeras (duram pouco tempo no campo até serem polinizadas e se transformarem em frutos) e perdem as pétalas ao serem polinizadas, impedindo assim contagens acuradas. Dessa forma, isso poderia subestimar nossa contagem. Por esta razão, somente contamos o número de botões e frutos, pois estas estruturas são inconfundíveis (Alves-Silva & Del-Claro 2016) e permitem uma contagem mais confiável.

### 2.3. Análise de dados

Todas as análises estatísticas e figuras foram realizadas no software estatístico *R* versão 3.5.1 (R Core Team 2019), com o alfa  $< 0,05$  (nível de significação).

Para avaliarmos a segregação espacial de formigas entre as estruturas das plantas (NEFs, folhas, ramos, frutos e inflorescências) (*hipótese i*), nós comparamos a frequência (número de vezes em que a formiga foi registrada em uma determinada estrutura da planta) de formigas em cada estrutura (NEFs, folhas, ramos, frutos e inflorescências) com o teste de Chi-quadrado, seguidos de testes *post-hoc*. Estes testes foram realizados com os pacotes 'stats' (R Core Team 2019) e 'rcompanion' (Mangiafico S 2019).

Gráficos de densidade (pacote 'ggplot2' – Wickham 2016) seguidos por testes de *Skewness* (pacote 'moments' - Komsta & Novomestky 2015) foram feitos para se investigar a distribuição de formigas em NEFs e Não-NEFs (i.e. estruturas que não eram NEFs). Esta abordagem foi necessária uma vez que a abundância e frequência nas estruturas sem NEFs foi baixa, impedindo a realização de algumas análises. Um valor de *Skewness* igual a zero indica que as formigas são igualmente abundantes em todas as estruturas das plantas, enquanto um desvio significativo de zero evidência que as formigas forrageiam com mais frequência em uma determinada estrutura. Para as análises de *Skewness* foram utilizados os

dados da abundância de formigas nos " NEFs" e nas estruturas sem NEFs, obtidos a partir do censo diurno.

Para analisar se a abundância de formigas variava ao longo do dia e entre as estruturas das plantas (NEFs e não NEFs - segregação temporal – *hipótese ii*), realizamos uma análise com um modelo misto linear generalizado (GLMM). Como os dados apresentaram sobredispersão (*overdispersion*), utilizamos uma distribuição binomial negativa (Zuur *et al.* 2009), seguido do teste de Wald utilizando os pacotes 'lme4' (Bates *et al.* 2015) e 'car' (Fox & Weisberg 2011). A abundância de formigas foi considerada a variável dependente e a hora do dia e a estrutura da planta (partes NEF e sem-NEF) as variáveis independentes fixas. A hora do dia também foi utilizada como um efeito aleatório para controlar a dependência das amostras. Os resultados foram comparados a posteriori com o teste de Tukey-HSD usando o pacote "multcomp" (Hothorn *et al.* 2008).

Para comparar o número de botões florais e frutos entre os tratamentos (com e sem formigas) e censos (tempo) (*hipótese iii*), utilizamos um GLMM seguido pelo teste de Wald. Nossos modelos para botões florais e frutos foram adaptados com erros de distribuição binomial sempre que apropriado, a fim de diminuir a *overdispersion* (Zuur *et al.* 2009).

Nós comparamos ainda a relação entre botões e frutos produzidos para as plantas com e sem formigas. Para tal, nós somamos todos os botões e frutos produzidos em cada planta (durante todo o período reprodutivo), e dividimos o número de frutos pelo número de botões florais produzidos (Alves-Silva & Del-Claro 2016). Os dados resultantes variam de 0 a 1, indicando nenhuma produção de frutos (valor zero) ou a produção máxima de frutos (valor igual a 1, quando todos os botões florais se transformaram em frutos). Testes de comparação para duas amostras (teste *t* de Student, pois os dados apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variâncias) foram usados para se comparar a proporção de frutos produzidos por plantas com e sem formigas. Utilizamos os pacotes do *R* nas análises estatísticas e criação de figuras como “*pwr*” (Champely S 2017), “*openxlsx*” (Walker 2015) “*dplyr*” (Wickham *et al.* 2019), “*plotrix*” (Lemon 2006), e “*gridExtra*” (Auguie 2017). Nossos objetivos, hipóteses, análises associadas e figuras estão resumidos na **Tabela 1**.

**Tabela 1.** Descrição resumida dos objetivos, hipóteses, análises associadas e figuras do presente estudo.

Objetivos	Hipóteses	Testes estatísticos	Tabelas	Figuras
Investigar a segregação espacial de formigas	As formigas serão mais abundantes e frequentes nos NEFs	-Teste Qui-quadrado - Teste Skewness	Tabela 2 Tabela 3	Fig. 2
Verificar se as formigas serão consistentes nas plantas o dia todo	As formigas forrageiam nas plantas o dia todo	- GLMM	-	Fig. 3
Avaliar o papel das formigas na aptidão reprodutiva das plantas	Plantas com formigas apresentarão aumento nas taxas reprodutivas	- GLMM - Teste <i>t</i>	Tabela 4 Tabela 5 Tabela 6	Fig. 4 Fig. 5 Fig. 6 Fig. 7

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Segregação espacial - frequência de formigas

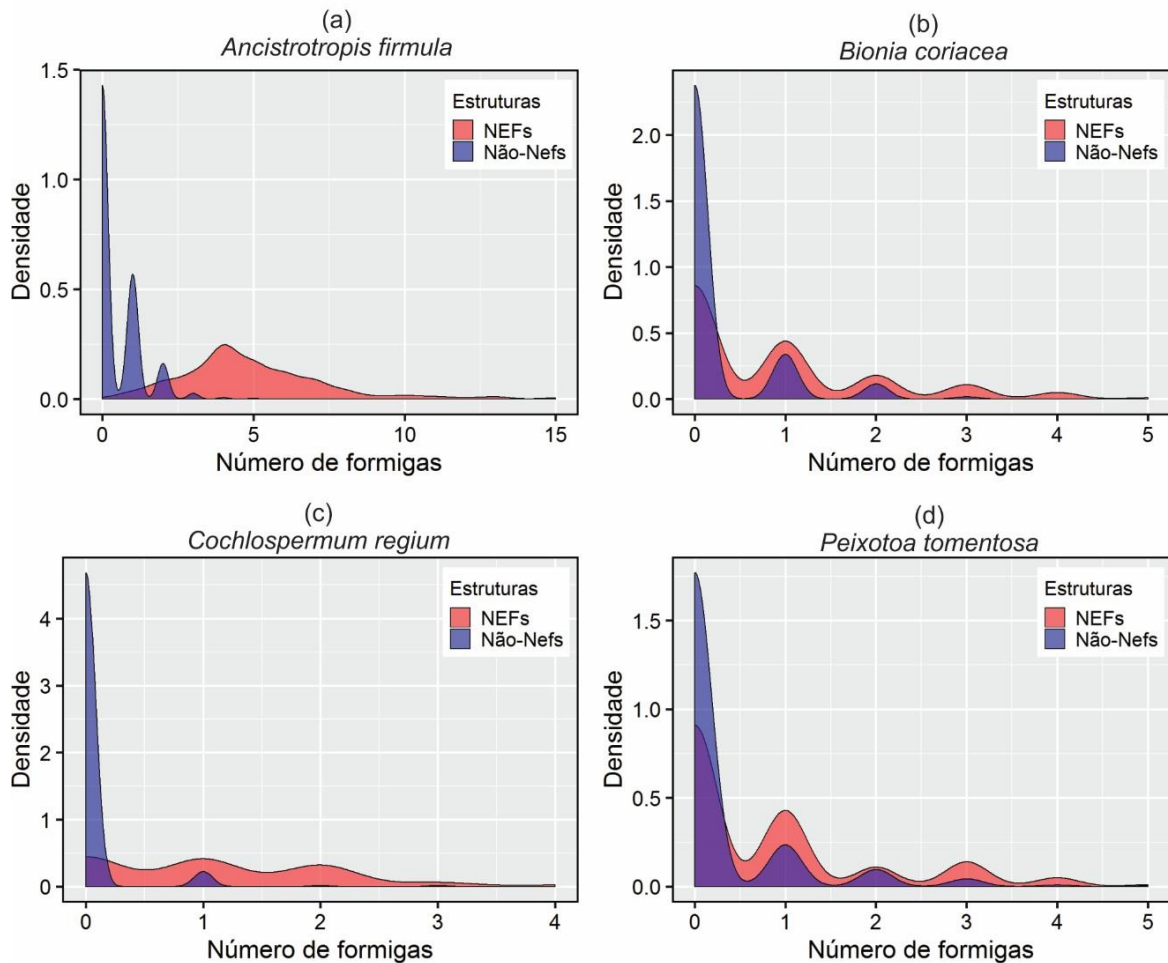
Nas espécies *A. firmula*, *C. regium*, *B. coriacea* e *P. tomentosa*, observamos maior frequência de formigas nos NEFs (**Tabela 2, figura 2a**) e apenas em *B. coriacea* as frequências foram semelhantes entre estruturas com e sem NEFs

**Tabela 2.** Porcentagem e número de observações de formigas *Camponotus crassus* visitando diferentes estruturas das plantas de quatro espécies de cerrado sensu-stricto. Letras diferentes sobrescritas nos valores de frequência indicam diferenças significativas dentro de uma mesma espécie de planta.

Partes da Plantas	Espécies de Plantas			
	<i>Ancistrotropis firmula</i>	<i>Bionia coriacea</i>	<i>Peixotoa tomentosa</i>	<i>Cochlospermum regium</i>
Frequência de observações				
NEFs	99% (164) <sup>a</sup>	48% (79) <sup>a</sup>	65% (107) <sup>a</sup>	65% (107) <sup>a</sup>
Folhas	25% (41) <sup>b</sup>	0	0	0
Ramos	34% (56) <sup>b</sup>	41% (67) <sup>a</sup>	7% (6) <sup>b</sup>	7% (6) <sup>b</sup>
Infloresc.	29% (47) <sup>b</sup>	7% (11) <sup>b</sup>	4% (11) <sup>b</sup>	4% (11) <sup>b</sup>
Frutos	53% (87) <sup>b</sup>	2% (4) <sup>b</sup>	0	0
Chi-quadrado	$\chi^2=249.81$ ***	$\chi^2=144.15$ ***	$\chi^2=141.46$ ***	$\chi^2=209.19$ ***

### 3.2 Segregação espacial - abundância de formigas

A distribuição das formigas entre as estruturas da planta foi assimétrica positiva significativa nas quatro espécies de plantas e em todas elas, as formigas foram mais abundantes nos NEFs (**Figura 2, Tabela 3**). Em estruturas sem NEFs, a abundância de formigas foi baixa (próxima a zero) em muitas observações, influenciando a distribuição e os valores de *skewness* (**Figura 2**).



**Figura 2.** Distribuição da densidade de formigas (*Camponotus crassus*) nos nectários extraflorais (NEFs) e nas estruturas sem nectários (Não-NEFs) em quatro espécies de plantas (a) *Ancistrotropis firmula*, (b) *Bionia coriacea*, (c) *Cochlospermum regium*, (d) *Peixotoa tomentosa* em um cerrado sensu-stricto.

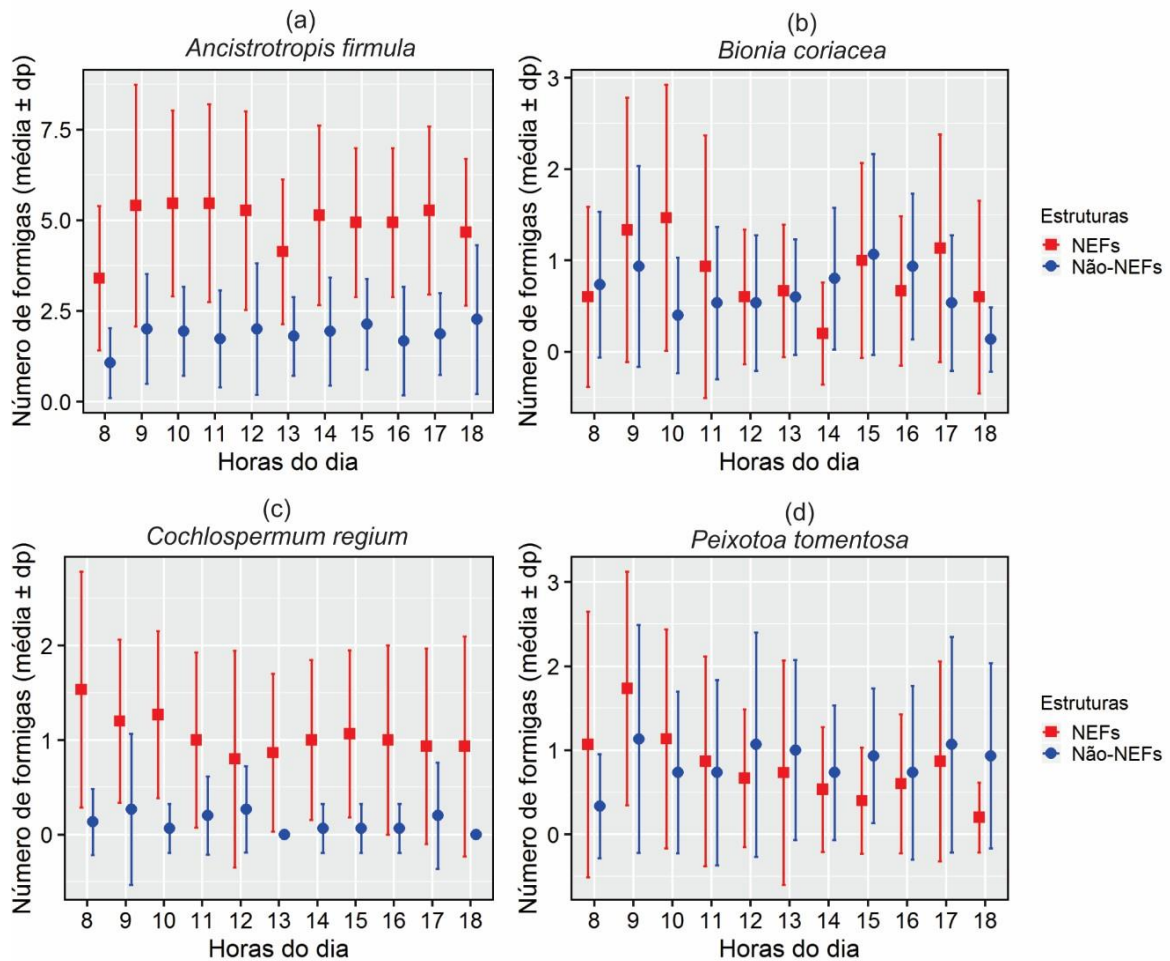
**Tabela 3.** Distribuição de formigas (*Camponotus crassus*) nas estruturas com e sem nectários extraflorais e em todas as estruturas em quatro espécies de plantas em um cerrado sensu-stricto. A distribuição das formigas foi desigual em todos os casos. Cada célula mostra o valor de *skewness* seguido por asteriscos, os quais indicam os valores de *p*; \*\* =  $p < 0,001$  e \*\*\* =  $p < 0,0001$ .

<b>Espécies</b>	<b>NEFs</b>	<b>Sem-NEFs</b>	<b>Ambas estruturas</b>
<i>Ancistrotropis firmula</i>	skew = 1,19 ***	skew = 1,82 ***	skew = 2,28 ***
<i>Bionia coriacea</i>	skew = 1,40 ***	skew = 2,63 ***	skew = 2,47 ***
<i>Cochlospermum regium</i>	skew = 0,66 **	skew = 5,90 ***	skew = 2,08 ***
<i>Peixotoa tomentosa</i>	skew = 1,49 ***	skew = 2,99 ***	skew = 2,44 ***

### 3.3 Segregação temporal das formigas

As formigas foram observadas nas plantas durante todo o dia, e com abundância maior nas estruturas com NEFs, especialmente em *A. firmula* e *C. regium* (**Figura 3**). A abundância de formigas ao longo do dia foi significativamente influenciada pela estrutura (Wald  $\chi^2 = 744,51$ ,  $df = 2$ ,  $p < 0,001$ ), mas não pelo período do dia (Wald  $\chi^2 = 10,77$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0,124$ ). Assim, o fator mais importante para explicar a variação na abundância de formigas foi a estrutura da planta, ou seja, as partes com e sem-NEFs.





**Figura 3.** Abundância (média e desvio padrão) de formigas encontradas ao longo do dia nos nectários extraflorais (NEF) e partes sem-nectário extrafloral (sem-NEF, inclui inflorescências, frutos, folhas e ramos) de (a) *Ancistrotropis firmula*, (b) *Bionia coriacea*, (c) *Cochlospermum regium*, (d) *Peixotoa tomentosa* em um cerrado sensu-stricto.

### 3.4 Efeito das formigas sobre o valor reprodutivo das plantas

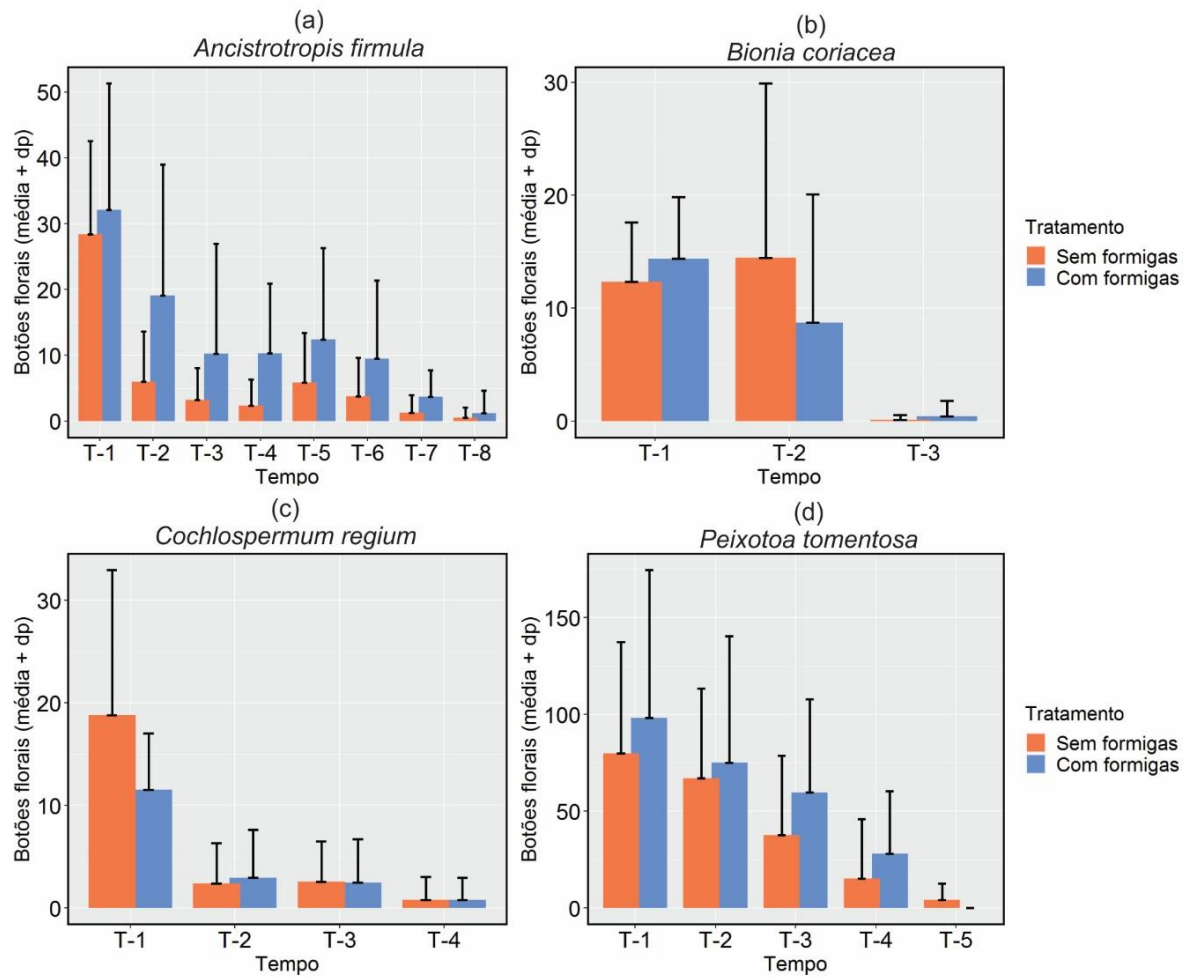
O número de botões florais foi significativamente influenciado pelo tempo (períodos de amostragem) e pela presença das formigas nas plantas (**Tabela 4, Figura 4**), mas os efeitos diferiram entre as espécies. Isso porque em *P. tomentosa* e *A. firmula*, no tratamento “com formigas”, a produção de botões foi maior do que no tratamento sem formigas (**Figura 4**), mas em *B. coriacea* como em *C. regium* a produção de botões florais não diferiu estatisticamente entre os tratamentos.

A produção de frutos foi afetada pelo tempo e tratamento em *P. tomentosa* e *A. firmula*; em *C. regium* a variação na produção dos frutos não foi influenciada pelas formigas

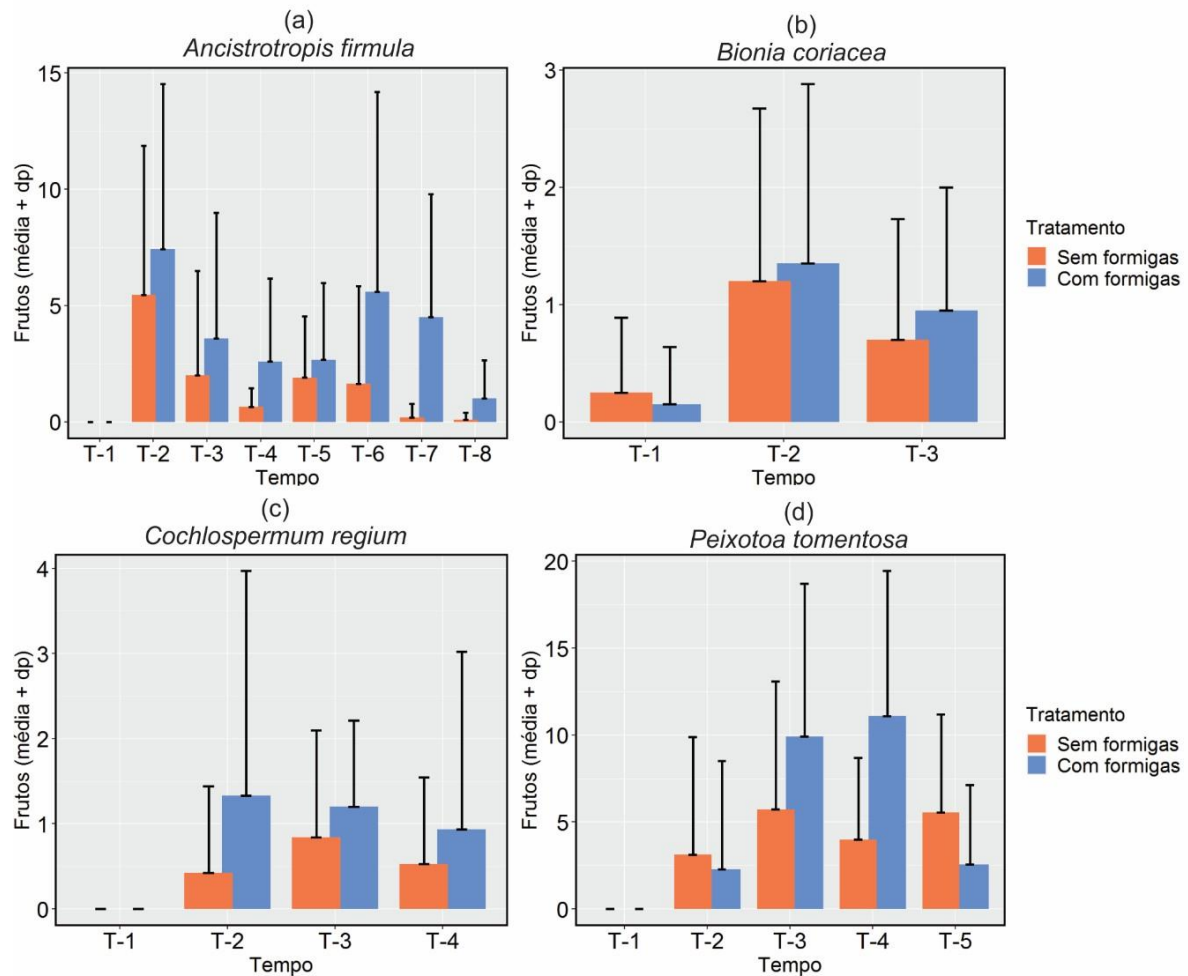
e pelo tempo; e em *B. coriacea*, os frutos variaram significativamente apenas com o tempo (Tabela 4, Figura 5).

**Tabela 4.** Resultados do GLMM para botões florais, frutos produzidos e proporção de frutos de acordo com o Tratamento (com e sem formigas) e Tempo (períodos de amostragem) em quatro espécies de plantas (*Ancistrotropis firmula*, *Bionia coriacea*, *Cochlospermum regium* e *Peixotoa tomentosa*) em um cerrado sensu-stricto.

	$\chi^2$	gl	p-valor
<b>Botões florais</b>			
<i>Ancistrotropis firmula</i>			
Tratamento	162.76	1	< 0.0001
Tempo	1026.73	7	< 0.0001
<i>Bionia coriacea</i>			
Tratamento	4.58	1	< 0.05
Tempo	156.75	2	< 0.0001
<i>Cochlospermum regium</i>			
Tratamento	17.80	1	< 0.0001
Tempo	593.26	3	< 0.0001
<i>Peixotoa tomentosa</i>			
Tratamento	98.57	1	< 0.0001
Tempo	1929.88	4	< 0.0001
<b>Frutos</b>			
<i>Ancistrotropis firmula</i>			
Tratamento	14.02	1	< 0.001
Tempo	26.13	7	< 0.001
<i>Bionia coriacea</i>			
Tratamento	0.39	1	> 0.05
Tempo	24.44	2	< 0.0001
<i>Cochlospermum regium</i>			
Tratamento	3.70	1	> 0.05
Tempo	0.82	2	> 0.05
<i>Peixotoa tomentosa</i>			
Tratamento	17.60	1	< 0.01
Tempo	67.61	3	< 0.0001



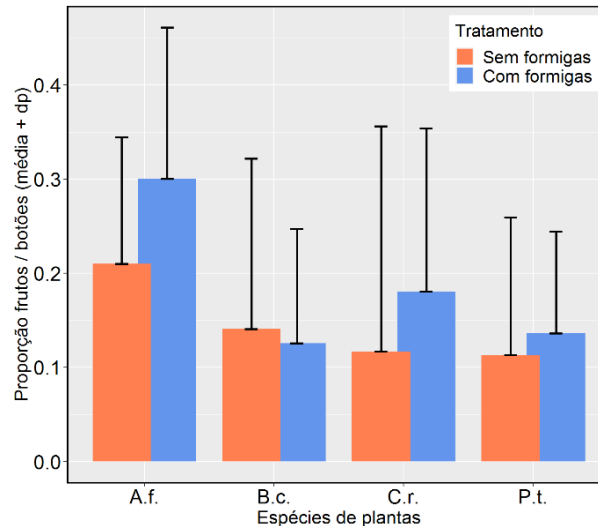
**Figura 4.** Produção de botões florais (média +1 desvio padrão) em quatro espécies de plantas com nectários extraflorais - de acordo com a presença ou ausência de formigas e tempo de amostragem em um cerrado sensu-stricto.



**Figura 5.** Produção de frutos (média e 1 desvio padrão) em quatro espécies de plantas com nectários extraflorais - (a) *Ancistrotropis firmula*, (b) *Bionia coriacea*, (c) *Cochlospermum regium*, (d) *Peixotoa tomentosa* - de acordo com a ausência ou presença de formigas e tempo de amostragem em um cerrado sensu-stricto. As espécies *C. regium* e *P. tomentosa* não tiveram frutos no tempo "T-1".

### 3.5 Taxa frutos/botões

A taxa de frutos produzidos em relação à de botões, não foi significativa em nenhum caso (*A. firmula*,  $t_{20} = -1.43$ ,  $P > 0.05$ ; *B. coriacea*,  $t_{37} = 0.3$ ,  $P > 0.05$ ; *C. regium*,  $t_{32} = -0.86$ ,  $P > 0.05$ ; *P. tomentosa*,  $t_{27} = -0.45$ ,  $P > 0.05$ ). Em todas as plantas com presença de formigas, a produção de frutos foi maior, com exceção de *B. coriacea* (**Figura 6**). Por exemplo, em *C. regium*, as plantas com formigas produziram 55% mais frutos e em *A. firmula*, 43% (**Apêndice 2**), em comparação com as plantas sem formigas.



**Figura 6.** Proporção (média + 1 desvio padrão) de frutos (número de frutos produzidos dividido pelo número de botões florais) em quatro plantas com nectários extraflorais, de acordo com a ausência e presença de formigas em um cerrado sensu-stricto. Espécies de plantas: A.f. - *Ancistrotropis firmula*, B.c. - *Bionia coriacea*, C.r. - *Cochlospermum regium*, P.t. - *Peixotoa tomentosa*.

#### 4. DISCUSSÃO

Nossas três hipóteses de trabalho foram parcialmente corroboradas. Primeiro, houve forte segregação espacial das formigas em três das quatro espécies de plantas, com maior frequência de forrageamento nos NEFs. Segundo, as formigas patrulharam as plantas ao longo do dia todo em todas as quatro espécies. Terceiro, no geral, as espécies de plantas produziram maior número de botões e frutos na presença das formigas.

##### 4.1 Segregação espacial e temporal de formigas

As formigas forragearam nas plantas durante todo o dia e ao longo de todo período reprodutivo das quatro espécies. Apesar de não termos coletado néctar extrafloral das plantas, podemos concluir que a atividade das formigas ao longo do dia e durante todo o período de estudo indica que os NEFs estavam permanentemente ativos, o que contribuiu para a eficiência da interação mutualística formiga-planta. Caso os NEFs estivessem ativos por somente determinados períodos, as formigas não iriam forragear nas plantas o dia todo (González-Teuber *et al.* 2012). A produção de néctar extrafloral está relacionada à fenologia da planta (Bentley 1976), sendo assim, a capacidade de muitas plantas em atrair formigas depende da presença e atividade dos NEFs (Baker-Méio & Marquis 2012). No Cerrado, a fenologia dos nectários contribui para a variação na

presença de formigas (Lange *et al.* 2013), pois quando os NEFs estão senescentes ou inativos as formigas abandonam as plantas.

As formigas *C. crassus* foram frequentemente e abundantemente observadas nos NEFs, resultando em uma distribuição assimétrica de formigas entre as estruturas das plantas. Em *C. regium*, por exemplo, a frequência das formigas estava notavelmente concentrada nos NEFs. Em outras plantas, as formigas não foram observadas apenas nos NEFs, mas nos ramos (*B. coriacea* e *P. tomentosa*) e nas estruturas reprodutivas (*A. firmula*), indicando uma grande movimentação de formigas entre as estruturas das plantas. Isso indica que as formigas expandiram seu comportamento de forrageamento para toda a planta. De fato, durante a visita aos NEFs, o comportamento de forrageamento das formigas pode ser estendido, mesmo que em menor frequência, a outras partes da planta (Oliveira *et al.* 1987) como estruturas reprodutivas (Villamil *et al.* 2018, 2019).

A atividade dos NEFs especificamente durante a floração e próxima à inflorescências indica que as plantas direcionam o forrageamento das formigas para as estruturas reprodutivas (Holland *et al.* 2009). O forrageamento de formigas próximo às flores poderia a princípio afetar a visitação de polinizadores (Ness 2006, Villamil *et al.* 2018). No entanto, nossos resultados mostraram que as formigas raramente visitavam as flores, minimizando assim um possível efeito negativo sobre a atividade dos polinizadores.

## 4.2 Efeito das formigas sobre o sucesso reprodutivo das plantas

No geral, as plantas com formigas produziram maior quantidade de botões florais e frutos. Em duas plantas de estudo (*A. firmula* e *C. regium*), a produção de frutos foi consistente em tratamentos com formigas. Em *P. tomentosa*, apesar de haver variação na produção de frutos entre os tratamentos com e sem formigas, as plantas com formigas produziram em média maior quantidade de frutos (**Apêndice 2**). Esses resultados indicam, no geral, um efeito positivo das formigas no valor reprodutivo das plantas (exceto *B. coriacea*).

O número de botões florais variou de acordo com as espécies vegetais, tratamento e época. Em *B. coriacea* e *C. regium*, o número de botões florais foi maior nas plantas sem formigas; no entanto, essas plantas produziram mais frutos nos tratamentos com formigas. Esse resultado mostra que, apesar de produzir menos botões florais, as plantas com formigas compensaram em termos de produção de frutos, indicando um efeito da presença de formigas na reprodução das plantas. Em *A. firmula*, o número de botões foi consistentemente maior nas plantas com formigas, e em *P. tomentosa*, em todos os censos (exceto no último) o

número de botões foi maior em plantas com formigas. Assim podemos assumir que, a relação de interação entre formigas-plantas é benéfica, pois leva as plantas a terem um aumento na produção de frutos.

No entanto, quando consideramos a proporção de frutos produzidos, os resultados não foram significativos, apesar de todas as plantas (exceto *B. coriacea*) apresentarem maior proporção de frutos em tratamentos com formigas. De fato (exceto *B. coriacea*) a presença de formigas proporcionou um aumento de pelo menos 20% na produção de frutos, superando 50% em *P. tomentosa*. Tais diferenças são marcantes na proporção de frutos entre os tratamentos das plantas, mas não produziram resultados estatisticamente significativos. Nós atribuímos ao fato de termos uma alta variação na produção de frutos entre plantas.

### 4.3 Ausência de herbívoros

As tentativas de coletar os insetos herbívoros foram feitas durante todo o período do estudo. Estávamos particularmente interessados em lagartas florívoras (ex. Lycaenidae) e besouros (por exemplo, Curculionidae), ambos encontrados em outros estudos (Alves-Silva *et al.* 2013, Bächtold & Del-Claro 2018). Surpreendentemente, durante todo o período do trabalho de campo, observamos apenas sete lagartas florívoras ( $n = 3$  licenídeos presentes em plantas de *P. tomentosa* “com formigas” e  $n = 4$  Riodinidae em plantas de *C. regium* “com formigas”). Besouros e ortópteros também foram registrados nas plantas, mas esporadicamente. Isso, no entanto, não significa que os herbívoros não estavam lá, mas sim que não eram constantemente observados, porque as flores e os botões das plantas de estudo mostravam sinais de herbívoros, como perda de área por mastigadores. Ainda, os herbívoros associados a estas poderiam ser noturnos, mas em estudos anteriores, os herbívoros registrados foram diurnos (Del-Claro *et al.* 1997; Anjos *et al.* 2017; Bächtold *et al.* 2017)

## 5. CONCLUSÃO

Neste estudo, nós fornecemos um avanço no conhecimento sobre a relação entre plantas e formigas ao mostrar que o sucesso reprodutivo das plantas se relaciona com a atividade das formigas nos NEFs. No geral, três das quatro espécies de plantas com formigas produziram maior quantidade de botões florais e frutos, indicando um efeito positivo da presença de formigas. A descoberta de NEFs em duas novas espécies, *C. regium* e *A. firmula* evidencia como ainda temos muito a conhecer sobre as relações ecológicas entre plantas produtoras de néctar extrafloral e o papel das formigas na reprodução de plantas mirmecófilas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARES, C. A., J. L. STAPE, P. C. SENTELHAS, J. L. DE MORAES GONÇALVES, and G. SPAROVEK. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol. Zeitschrift* 22: 711–728.
- ALVES-SILVA, E., A. BÄCHTOLD, G. J. BARÔNIO, and K. DEL-CLARO. 2013. Influence of *Camponotus blandus* (Formicinae) and flower buds on the occurrence of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae) in *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). *Sociobiology* 60: 30–34.
- ALVES-SILVA, E., A. BÄCHTOLD, G. J. BARÔNIO, H. M. TOREZAN-SILINGARDI, and K. DEL-CLARO. 2014. Ant–herbivore interactions in an extrafloral nectaried plant: are ants good plant guards against curculionid beetles? *J. Nat. Hist.* 49: 841–851.
- ALVES-SILVA, E., and K. DEL-CLARO. 2014. Fire triggers the activity of extrafloral nectaries, but ants fail to protect the plant against herbivores in a neotropical savanna. *Arthropod. Plant. Interact.* 8: 233–240.
- ALVES-SILVA, E., and K. DEL-CLARO. 2016. On the inability of ants to protect their plant partners and the effect of herbivores on different stages of plant reproduction. *Austral Ecol.* 41: 263–272.
- ALVES-SILVA, E. E., and K. DEL-CLARO. 2013. Effect of post-fire resprouting on leaf fluctuating asymmetry, extrafloral nectar quality, and ant-plant-herbivore interactions. *Naturwissenschaften* 100: 525–532.
- ANJOS, D. V., B. CASERIO, F. T. REZENDE, S. P. RIBEIRO, K. DEL-CLARO, and R. FAGUNDES. 2017. Extrafloral-nectaries and interspecific aggressiveness regulate day/night turnover of ant species foraging for nectar on *Bionia coriacea*. *Austral Ecol.* 42: 317–328.
- APPLE, J. A., and D. F. FEENER JR. 2001. Ant visitation of extrafloral nectaries of *Passiflora*: the effects of nectary attributes and ant behavior on patterns in facultative ant-plant mutualisms. *Oecologia* 127: 409–416.
- AUGUIE, B. 2017. gridExtra: functions in Grid graphics. R Package Version 2.3. Cran Proj.
- BÄCHTOLD, A., and E. ALVES-SILVA. 2013. Behavioral strategy of a lycaenid (Lepidoptera) caterpillar against aggressive ants in a Brazilian savanna. *Acta Ethol.* 16: 83–90.
- BÄCHTOLD, A., E. ALVES-SILVA, and K. DEL-CLARO. 2017. Ant-related oviposition is not associated to low parasitism of the myrmecophilous butterfly *Allosmaitia strophius* in



- an extrafloral nectaried shrub. *Acta Oecologica* 83: 15–21.
- BÄCHTOLD, A., and K. DEL-CLARO. 2018. Ant-partners play a minor role on occurrence of the myrmecophilous butterfly *Leptotes cassius* in its host plant. *Arthropod. Plant. Interact.* 12: 377–384.
- BAKER-MÉIO, B., and R. J. MARQUIS. 2012. Context-dependent benefits from ant-plant mutualism in three sympatric varieties of *Chamaecrista desvauxii*. *J. Ecol.* 100: 242–252.
- BATES, D., M. MÄCHLER, B. M. BOLKER, and S. C. WALKER. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Softw.* 67.
- BENTLEY, B. L. 1976. Plants bearing extrafloral nectaries and the associated ant community: interhabitat differences in the reduction of herbivore damage. *Ecology* 57: 815–820.
- BYK, J., and K. DEL-CLARO. 2011. Ant–plant interaction in the Neotropical savanna: direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. *Popul. Ecol.* 53: 327–332.
- CALIXTO, E. S., D. LANGE, and K. DEL-CLARO. 2015. Foliar anti-herbivore defenses in *Qualea multiflora* Mart. (Vochysiaceae): changing strategy according to leaf development. *Flora - Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants* 212: 19–23.
- CALIXTO, E. S., D. LANGE, and K. DEL-CLARO. 2018. Protection mutualism: an overview of ant-plant interactions mediated by extrafloral nectaries. *Oecologia Aust.* 22: 410–425.
- CHAMPELY S. 2017. pwr: Basic functions for power analysis. R package version 1.2-1.
- DÁTILO, W., A. AGUIRRE, R. V. FLORES-FLORES, R. FAGUNDES, D. LANGE, J. GARCÍA-CHÁVEZ, K. DEL-CLARO, and V. RICO-GRAY. 2015. Secretory activity of extrafloral nectaries shaping multitrophic ant-plant-herbivore interactions in an arid environment. *J. Arid Environ.* 114: 104–109.
- DEJEAN, A., C. LEROY, B. CORBARA, O. ROUX, R. CÉRÉGHINO, J. ORIVEL, and R. BOULAY. 2010. Arboreal ants use the “velcroh principle” to capture very large prey. *PLoS One* 5: e11331.
- DEL-CLARO, K., R. MARULLO, and L. A. MOUND. 1997. A new Brazilian species of *Heterothrips* (Insecta: Thysanoptera) co-existing with ants in the flowers of *Peixotoa tomentosa* (Malpighiaceae). *J. Nat. Hist.* 31: 1307–1312.
- DEL-CLARO, K., and P. S. OLIVEIRA. 1999. Ant-Homoptera Interactions in a Neotropical Savanna: The Honeydew-Producing Treehopper, *Guayaquila xiphias* Membracidae), and Its Associated Ant Fauna on *Didymopanax vinosum* (Araliaceae). *Biotropica* 31: 135.
- DEL-CLARO, K., V. RICO-GRAY, H. M. TOREZAN-SILINGARDI, E. ALVES-SILVA, R.

- FAGUNDES, D. LANGE, W. DÁTILLO, A. A. VILELA, A. AGUIRRE, and D. RODRIGUEZ-MORALES. 2016. Loss and gains in ant–plant interactions mediated by extrafloral nectar: fidelity, cheats, and lies. *Insectes Soc.* 63: 207–221.
- FIALA, B., U. MASCHWITZ, T. Y. PONG, and A. J. HELBIG. 1989. Studies of a South East Asian ant–plant association: protection of *Macaranga* trees by *Crematogaster borneensis*. *Oecologia* 79: 463–470.
- FISHER, B. L., L. DA SILVEIRA LOBO STERNBERG, and D. PRICE. 1990. Variation in the use of orchid extrafloral nectar by ants. *Oecologia* 83: 263–266.
- FLEET, R. R., and B. L. YOUNG. 2000. Facultative Mutualism between Imported Fire Ants (*Solenopsis invicta*) and a Legume (*Senna occidentalis*). *Southwest. Nat.* 45: 289.
- FLORES-FLORES, R. V., A. AGUIRRE, D. V. ANJOS, F. S. NEVES, R. I. CAMPOS, and W. DÁTILLO. 2018. Food source quality and ant dominance hierarchy influence the outcomes of ant–plant interactions in an arid environment. *Acta Oecologica* 87: 13–19.
- FOX, J., and S. WEISBERG. 2011. *An {R} Companion to Applied Regression Second*. J. Fox and S. Weisberg (Eds.). SAGE, California.
- GONZÁLEZ-TEUBER, M., J. C. SILVA BUENO, M. HEIL, and W. BOLAND. 2012. Increased host investment in extrafloral nectar (EFN) improves the efficiency of a mutualistic defensive service M.-M. Kytöviita (Ed.). *PLoS One* 7: e46598.
- GUIMARÃES JR, P. R., R. L. G. RAIMUNDO, C. BOTTCHER, R. R. SILVA, and J. R. TRIGO. 2006. Extrafloral nectaries as a deterrent mechanism against seed predators in the chemically protected weed *Crotalaria pallida* (Leguminosae). *Austral Ecol.* 31: 776–782.
- HOLLAND, J. N., S. A. CHAMBERLAIN, and K. C. HORN. 2009. Optimal defence theory predicts investment in extrafloral nectar resources in an ant–plant mutualism. *J. Ecol.* 97: 89–96.
- HOLLAND, J. N., S. A. CHAMBERLAIN, and T. E. X. MILLER. 2011. Consequences of ants and extrafloral nectar for a pollinating seed-consuming mutualism: Ant satiation, floral distraction or plant defense? *Oikos* 120: 381–388.
- HOTHORN, T., F. BRETZ, P. WESTFALL, and R. M. HEIBERGER. 2008. multcomp: simultaneous inference in general parametric models.
- JIANG, X., H. N. DENG, J. QU, H. ZENG, and G. X. CAO. 2019. The function of extrafloral nectaries in the pollination and reproduction of *Sambucus javanica*. *Plant Species Biol.* 34: 53–60.
- JONES, I. M., S. KOPTUR, and J. E. PEÑA. 2017. Exploring Whether and How Ants (Hymenoptera: Formicidae) Affect Reproductive Fitness in *Senna mexicana* var.

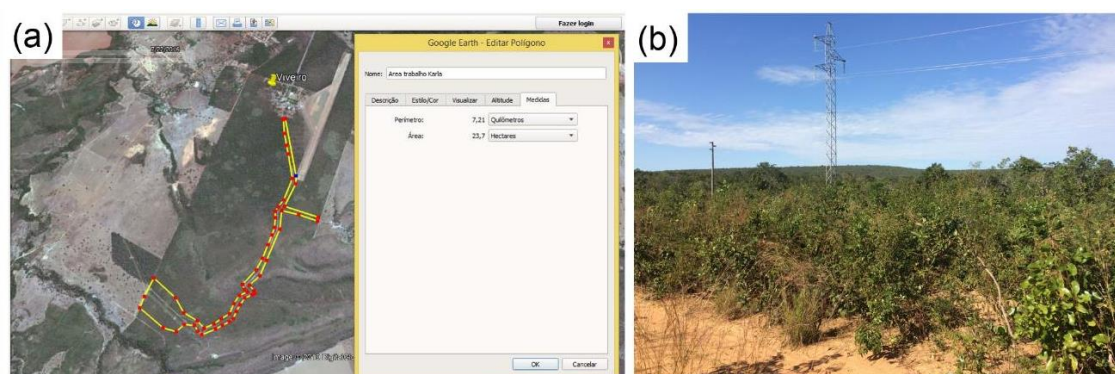
- chapmanii (Fabaceae). Florida Entomol. 100: 539–545.
- KATAYAMA, N., and N. SUZUKI. 2004. Role of extrafloral nectaries of *Vicia faba* in attraction of ants and herbivore exclusion by ants. Entomol. Sci. 7: 119–124.
- KERSCH, M. F., and C. R. FONSECA. 2005. Abiotic factors and the conditional outcome of an ant-plant mutualism. Ecology 86: 2117–2126.
- KOMSTA, L., and F. NOVOMESTKY. 2015. moments: Moments, cumulants, skewness, kurtosis and related tests. R package version 0.14.
- KOPTUR, S. 1985. Alternative defenses against herbivores in *Inga* (Fabaceae: Mimosoideae) over an elevational gradient. Ecology 66: 1639–1650.
- KOPTUR, S. J. H. L. 1988. No Title. Ecology 69: 278–283.
- LANGE, D., W. DÁTILLO, and K. DEL-CLARO. 2013. Influence of extrafloral nectary phenology on ant-plant mutualistic networks in a neotropical savanna. Ecol. Entomol. 38: 463–469.
- LANGE, D., and K. DEL-CLARO. 2014. Ant-plant interaction in a tropical savanna: may the network structure vary over time and influence on the outcomes of associations? PLoS One 9: e105574.
- LEMON, J. 2006. Plotrix: a package in the red light district of R. R News 6: 8–12.
- MANGIAFICO S. 2019. rcompanion: Functions to support extension education program evaluation R package version 2.3.0.
- MARAZZI, B., J. L. BRONSTEIN, and S. KOPTUR. 2013. The diversity, ecology and evolution of extrafloral nectaries: current perspectives and future challenges. Ann Bot-London 111: 1243–1250.
- MCKEY, D. 1974. Alguns insetos retiram a. 108: 305–320.
- MODY, K., and K. E. LINSENMAYER. 2004. Plant-attracted ants affect arthropod community structure but not necessarily herbivory. Ecol. Entomol. 29: 217–225.
- NESS, J. H. 2003. *Catalpa bignonioides* alters extrafloral nectar production after herbivory and attracts ant bodyguards. Oecologia 134: 210–218.
- NESS, J. H. 2006. A mutualism's indirect costs: The most aggressive plant bodyguards also deter pollinators. Oikos 113: 506–514.
- NOGUEIRA, A., E. GUIMARÃES, S. MACHADO, and L. LOHMANN. 2012. Do extrafloral nectaries present a defensive role against herbivores in two species of the family Bignoniaceae in a Neotropical savannas? Plant Ecol. 213: 289–301.
- OLIVEIRA, P. S. 1997. The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae).

- Funct. Ecol. 11: 323–330.
- OLIVEIRA, P. S., and H. F. LEITAO-FILHO. 1987. Extrafloral nectaries: their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of cerrado vegetation in southeast Brazil. *Biotropica* 19: 140–148.
- OLIVEIRA, P. S., A. F. SILVA, and A. B. MARTINS. 1987. Ant foraging on extrafloral nectaries of *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) in cerrado vegetation - ants as potential antiherbivore agents. *Oecologia* 74: 228–230.
- PEREIRA, M. F., and J. R. TRIGO. 2013. Ants have a negative rather than a positive effect on extrafloral nectaried *Crotalaria pallida* performance. *Acta Oecologica* 51: 49–53.
- R CORE TEAM. 2019. R: A language and environment for statistical computing.
- RIBEIRO, R. de T. M.; LOIOLA, M. I. B. 2017. Flora of Ceará, Brazil: Bixaceae. *Rodriguésia* 68: 1313–1322.
- RIBEIRO, J. F., and B. M. T. WALTER. 2008. As principais fitofisionomias do Bioma Cerrado. *In* S. M. Sano, S. P. Almeida, and J. F. Ribeiro (Eds.) *Cerrado: Ecologia e Flora*. pp. 151–212, Embrapa Cerrados, Brasília.
- RICO-GRAY, V. 1993. Use of Plant-Derived Food Resources by Ants in the Dry Tropical Lowlands of Coastal Veracruz , Mexico. *Biotropica* 23: 307–317.
- RIEDEL, J., S. DORN, G. BRAND, H. BARRIOS, and K. MODY. 2013. Effects of ants on arthropod assemblages of a native timber tree in a tropical reforestation plantation. *J. Appl. Entomol.* 137: 418–428.
- VAN RIJN, P. C. J., and L. K. TANIGOSHI. 1999. The contribution of extrafloral nectar to survival and reproduction of the predatory mite *Iphiseius degenerans* on *Ricinus communis*. *Exp. Appl. Acarol.* 23: 281–296.
- ROSUMEK, F., F. SILVEIRA, F. DE S. NEVES, N. DE U. BARBOSA, L. DINIZ, Y. OKI, F. PEZZINI, G. FERNANDES, and T. CORNELISSEN. 2009. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia* 160: 537–549.
- RUDGERS, J. A., and M. C. GARDENER. 2004. Extrafloral nectar as a resource mediating multispecies interactions. *Ecology* 85: 1495–1502.
- TRAGER, M. D., S. BHOTIKA, J. A. HOSTETLER, G. V. ANDRADE, M. A. RODRIGUEZ-CABAL, C. S. MCKEON, C. W. OSENBERG, and B. M. BOLKER. 2010. Benefits for plants in ant-plant protective mutualisms: A meta-analysis. *PLoS One* 5: e14308.
- VESPRINI, J. L., L. GALETTO, and G. BERNARDELLO. 2003. The beneficial effect of ants on the reproductive success of *Dyckia floribunda* (Bromeliaceae), an extrafloral nectary plant. *Can. J. Bot.* 81: 24–27.

- VILLAMIL, N., K. BOEGE, and G. N. STONE. 2018. Ant-pollinator conflict results in pollinator deterrence but no nectar trade-offs. *Front. Plant Sci.* 9: 1–14.
- VILLAMIL, N., K. BOEGE, and G. N. STONE. 2019. Testing the distraction hypothesis: do extrafloral nectaries reduce ant-pollinator conflict? *J. Ecol.* 107: 1–15.
- WÄCKERS, F. L., and C. BONIFAY. 2004. How to be sweet? Extrafloral nectar allocation by *Gossypium hirsutum* fits optimal defense theory predictions. *Ecology* 85: 1512–1518.
- WALKER, A. 2015. openxlsx: Read, Write and Edit XLSX Files. R Packag. version 3.0. 0.
- WEBER, M. G., and K. H. KEELER. 2013. The phylogenetic distribution of extrafloral nectaries in plants. *Ann. Bot.* 111: 1251–61.
- WICKHAM, H. 2016. ggplot2: Elegant graphics for data analysis.
- WICKHAM, H., R. FRANÇOIS, L. HENRY, and K. MÜLLER. 2019. dplyr: A grammar of data manipulation. R package version 0.8.3.
- ZUUR, A. F., E. N. IENO, N. J. WALKER, A. A. SAVELIEV, and G. M. SMITH. 2009. Mixed effects models and extensions in ecology with R. Sp, New York.

## 7. APÊNDICES

### Apêndice 1. (a) Imagem aérea e (b) foto da área de estudo



**Apêndice 2.** Dados descritivos cumulativos de botões florais, frutos e proporção de frutos em quatro plantas com nectários extraflorais (*Ancistrotropis firmula*, *Bionia coriacea*, *Cochlospermum regium* e *Peixotoa tomentosa*) de acordo com a ausência ou presença de formigas. A diferença da média foi calculada como valores em porcentagem. Os valores do "Somatório" devem ser vistos com cautela, uma vez que os tamanhos das amostras foram diferentes (ver seção de Métodos).

BOTÕES FLORAIS							
Espécies de plantas	Tratamento	Média	Média dif. (%)	DP	Soma	Mediana	Amplitude
<i>Ancistrotropis firmula</i>	Sem-formiga	51.27	109.57	29.47	564	46	12-94
	Com-formiga	107.45		87.78	1182	79	10-339
<i>Bionia coriacea</i>	Sem-formiga	26.90	8.74	17.45	538	19	7-66
	Com-formiga	24.74		12.70	470	24	8-58
<i>Cochlospermum regium</i>	Sem-formiga	24.53	27.70	17.39	466	19	6-60
	Com-formiga	17.73		12.07	266	19	2-49
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Sem-formiga	203.56	28.09	115.91	3664	168	56-396
	Com-formiga	260.73		155.11	2868	196	76-548
FRUTOS							
Espécies de Plantas	Tratamento	Média	Média dif. (%)	DP	Soma	Mediana	Amplitude
<i>Ancistrotropis firmula</i>	Sem-formiga	11.91	150.38	10.69	131	8	0-34
	Com-formiga	29.82		25.42	328	17	5-72
<i>Bionia coriacea</i>	Sem-formiga	2.15	19.95	2.01	43	2	0-7
	Com-formiga	2.58		2.22	49	2	0-8
<i>Cochlospermum regium</i>	Sem-formiga	1.79	93.73	2.55	34	1	0-10
	Com-formiga	3.47		4.73	52	3	0-19
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Sem-formiga	18.39	40.40	16.61	331	13	0-53
	Com-formiga	25.82		15.22	284	26	2-54
TAXA DE FRUTOS (frutos/botões)							
Espécies de plantas	Tratamento	Média	Média dif. (%)	DP	Soma	Mediana	Amplitude
<i>Ancistrotropis firmula</i>	Sem-formiga	0.21	43.15	0.13	-	0.21	0-0.42
	Com-formiga	0.30		0.16	-	0.33	0.06-0.5
<i>Bionia coriacea</i>	Sem-formiga	0.14	11.85	0.18	-	0.05	0-0.58
	Com-formiga	0.13		0.12	-	0.10	0-0.37
<i>Cochlospermum regium</i>	Sem-formiga	0.12	54.47	0.24	-	0.03	0-1
	Com-formiga	0.18		0.17	-	0.18	0-0.57
<i>Peixotoa tomentosa</i>	Sem-formiga	0.11	20.65	0.15	-	0.08	0-0.60
	Com-formiga	0.14		0.11	-	0.12	0.01-0.31