

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA



**Marcela Fernandes Pereira**

**Custos e benefícios da visita de formigas aos nectários  
extraflorais de *Crotalaria pallida* (Fabaceae)**

Este exemplar corresponde à redação final  
da tese defendida pelo(a) candidato (a)  
Marcela Fernandes Pereira  
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biologia para obtenção do Título de  
Mestre em Ecologia.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Trigo

**Campinas, 2008**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

<b>P414c</b>	<p>Pereira, Marcela Fernandes Custos e benefícios da visita de formigas aos nectários extraflorais de <i>Crotalaria pallida</i> (Fabaceae) / Marcela Fernandes Pereira. – Campinas, SP: [s.n.], 2008.</p> <p>Orientador: José Roberto Trigo. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.</p> <p>1. <i>Crotalaria pallida</i>. 2. Aptidão. 3. Nectários extraflorais. 4. Formiga. 5. Interação inseto-planta. I. Trigo, José Roberto. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.</p> <p>(rcdt/ib)</p>
--------------	---

**Título em inglês:** Costs and benefits of ant attendance to the extrafloral nectaries of *Crotalaria pallida* (Fabaceae).

**Palavras-chave em inglês:** *Crotalaria pallida*; Fitness; Extrafloral nectaries; Ants; Insect-plant interaction.

**Área de concentração:** Ecologia.

**Titulação:** Mestre em Ecologia.

**Banca examinadora:** José Roberto Trigo, Fernando Luis Cònsoli, Paulo Sérgio Oliveira.

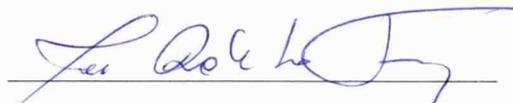
**Data da defesa:** 22/02/2008.

**Programa de Pós-Graduação:** Ecologia.

Campinas, 22 de fevereiro de 2008

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. José Roberto Trigo (orientador)



Assinatura

Prof. Dr. Fernando Luis Cònsoli



Assinatura

Prof. Dr. Paulo Sérgio Oliveira



Assinatura

Prof. Dr. Paulo Roberto Guimarães Jr.



Assinatura

Dr. Alberto Arab



Assinatura

Esta tese é dedicada aos meus pais,  
cujo amor e apoio tornaram possível a conclusão  
de mais uma importante etapa da minha vida.

## SUMÁRIO

<b>Agradecimentos .....</b>	<b>6</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>8</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>10</b>
<b>Introdução .....</b>	<b>12</b>
<b>Objetivos .....</b>	<b>21</b>
<b>Material e Métodos .....</b>	<b>22</b>
<b>Resultados .....</b>	<b>32</b>
<b>Discussão .....</b>	<b>35</b>
<b>Conclusões .....</b>	<b>46</b>
<b>Literatura citada .....</b>	<b>48</b>
<b>Figuras .....</b>	<b>62</b>

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com a ajuda de muitas pessoas. Desde a elaboração do projeto inicial, passando pelo árduo trabalho de campo e análise de dados até a redação final da tese eu perturbei bastante gente... Aqui vai uma tentativa de agradecer a todas essas pessoas e salientar o quanto foram importantes para a conclusão desta tarefa.

Ao meu pai, minha mãe e Eurico e a toda a minha família pelo apoio, paciência, carinho, força, enfim, por tudo!

A todos os meus amigos, pelos churrascos, baladas, conversas, happy hours, tardes no shopping, passeios, ou seja, por terem mantido a minha sanidade mental.

Aos meus colegas do Laboratório de Ecologia Química pela ajuda, apoio e conversas aleatórias e que, mais que colegas, se tornaram meus amigos.

A família Garcia que por tantas vezes me abrigou e alimentou. O que seria daquela gaiola de exclusão sem a D. Malu e a Mila?

Aos super amigos Alice e Rafael pelas maravilhosas noites de censo no campo e pela ajuda de final de semana para a confecção da famigerada gaiola de exclusão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Roberto Trigo, que durante cinco anos de convivência por tantas vezes reclamou e me pressionou, mas que também me fez aprender muito e sem o qual esse trabalho com certeza não teria sido possível.

Aos meus estagiários Rachel, Chaiene, Ricardo e Daiane, que tanto se dedicaram mesmo sem receber um centavo, e a quem sou muito grata, pois sem eles o trabalho de campo teria sido impossível!

Aos funcionários do Departamento de Zoologia pela ajuda logística e burocrática.

Ao pessoal do Laboratório de Mirmecologia, Gabriela, Sebastián, Henrique e Pedro, pela ajuda com a identificação das formigas e ao Prof. Dr. Edilberto Giannotti, pela

identificação das vespas.

Aos membros da pré banca e banca pelas críticas, sugestões e elogios.

À FAPESP pelo apoio financeiro.

## RESUMO

Formigas podem exercer um efeito positivo ou negativo na aptidão das plantas com as quais interagem, dependendo de suas relações com herbívoros, polinizadores e dispersores de sementes. Uma notável característica das interações entre formigas e plantas é a alta frequência com a qual essas interações são mutualísticas. O suposto benefício dessas interações é que a aptidão da planta pode ser aumentada indiretamente, já que uma redução na taxa de herbivoria significa uma maior produção de sementes, ou diretamente, através de redução da predação de sementes. Mas será que as plantas realmente se beneficiam da presença dos insetos que atraem? Apesar de alguns estudos terem encontrado benefícios para a planta, há aqueles que indicam o oposto, como os casos em que polinizadores e dispersores de sementes evitam flores e frutos devido à presença de formigas. O legado evolutivo das interações entre plantas, herbívoros e formigas é o aparecimento de novas estruturas em plantas. *Crotalaria pallida* é uma planta muito visitada por formigas devido à presença de nectários extraflorais (NEFs), glândulas produtoras de açúcar sem relação direta com polinização. Superficialmente, pode parecer que as consequências para a planta das suas relações com seus herbívoros sejam necessariamente contrárias às consequências para o herbívoro. Por outro lado, uma observação mais cautelosa revela que alguns mecanismos que produzem efeitos negativos no herbívoro não levam automaticamente a um benefício da planta. Sendo assim, este estudo visa avaliar a relação custo-benefício da visitação por formigas em *C. pallida* através de sua aptidão na presença e ausência de formigas, assim como de observações de campo de interações destas plantas com vespas. As taxas de ganho de biomassa e de herbivoria, assim como a produção de flores, vagens e sementes, bem como o peso das sementes não diferiram estatisticamente entre indivíduos de *C. pallida* com e sem formigas.

Por outro lado, o ataque às vagens foi significativamente menor nos indivíduos de *C. pallida* em que as formigas foram excluídas, e a sobrevivência destas plantas foi maior, em comparação com as plantas que foram visitadas normalmente por formigas. Um experimento de campo indicou que a predação de larvas não parece ser influenciada pela presença de vespas, mas apenas por formigas. Por outro lado, durante observações de campo todas as vespas que visitaram racemos de *C. pallida* foram influenciadas pela presença de formigas, sendo que algumas reduziram seu tempo de visitação e outras deixaram o racemo após o encontro com formigas. Assim, os resultados obtidos através dos experimentos e observações de campo sugerem que as formigas não afetam a aptidão de *C. pallida*, pelo menos não nas condições encontradas na área de estudo deste trabalho.

## ABSTRACT

Ants may have a positive or negative effect on the fitness of the plants with which they interact, depending on its relationship with herbivores, pollinators and seed dispersers. A remarkable characteristic of the interactions between ants and plants is the high frequency with which they are mutualistic. The supposed benefit of these interactions is that the plant fitness may be enhanced indirectly, since herbivory reduction means larger seed production, or directly, by reduction on seed predation. But do plants really benefit from the presence of the insects they attract? Despite some studies have found benefits to the plant, there are some that indicate the opposite, like those cases in which pollinators and seed dispersers avoid flowers and fruits due to ant attendance. The evolutive legacy of the interactions between plants, herbivores and ants is the appearance of new plant structures. *Crotalaria pallida* is a plant highly attended by ants because of its extrafloral nectaries (EFNs), sugar-producing glands with no pollination relationship, located on the base of each flower or pod. Superficially, it may seem that the consequences of the plant relationship with its herbivores are necessarily opposed to the consequences to the herbivore. On the other hand, a cautious observation reveals that some mechanisms that produce negative effects on the herbivore not automatically lead to a benefit for the plant. Therefore, this work aim to evaluate the magnitude of the costs and benefits of ant attendance to the EFNs of *C. pallida* on the protection against phytophagous insects, by estimating its fitness in the presence and absence of ants, as well as using field observations of the interactions of these plants with wasps. The rates of biomass gain and herbivory, likewise the flower, pod and seed production, and also seed weight didn't differ significantly between ant-attended and non ant-attended *C. pallida* plants. As opposed to this, the pod attack was significantly lower in *C. pallida* plants not attended by ants, and the

survival of these plants was higher, in comparison to the ant-attended plants. A field experiment indicated that larvae predation don't seem to be influenced by the presence of wasps, but only by ant attendance. On the other hand, during field observations all the wasps visiting *C. pallida* pods were affected by ant attendance, and some of them reduced its visitation time while others left the pod after meeting an ant. So, the results we got with the experiments and field observations suggest that the ants don't affect *C. pallida* fitness, at least not under the conditions found in the area where this work took place.

## INTRODUÇÃO

Plantas e insetos estão presos em uma luta evolutiva há milhões de anos. Para sobreviver, insetos fitófagos precisam consumir plantas. Por outro lado, os tecidos perdidos representam um custo fisiológico para as plantas e, para que resistam, é necessário que limitem os ataques sofridos (Price 1986).

Através do tempo evolutivo, uma enorme variedade de defesas surgiram ou foram adaptadas e permitiram às plantas evitar ou sobreviver melhor ao ataque por insetos (Koptur 1991). As defesas contra herbívoros são, em sua maioria, diretas e bitróficas, isto é, são adaptações da planta, o primeiro nível trófico, que detêm ou prejudicam diretamente os fitófagos, o segundo nível trófico (Whitman 1994). Segundo Crawley (1983) e Whitman (1994), as plantas se protegem de seus herbívoros através do desenvolvimento de formas e cores não atraentes, além de folhas rijas e nutricionalmente pobres. Podem também tornar sua superfície inacessível devido a presença de espinhos ou tricomas, ceras escorregadias e resinas adesivas, ou ainda impregnar seus tecidos com deterrentes químicos, compostos tóxicos e redutores de digestibilidade. Além disso, plantas não são simplesmente expectadores passivos na interação antagônica entre o segundo e o terceiro nível tróficos, elas podem ainda auxiliar ativamente predadores e parasitóides, o terceiro nível trófico, e dessa forma aumentar a capacidade destes inimigos naturais de atacar insetos fitófagos (Whitman 1994).

Os impactos do primeiro nível trófico no terceiro nível trófico em sistemas planta-herbívoros têm sido intensamente explorados, tanto teoricamente quanto empiricamente (Price *et al.* 1980, Price 1986, Price 1992, Hunter & Price 1992). Isso é justificado por muitos pesquisadores que sugerem que as relações inseto-planta são melhores observadas em um contexto multitrófico (Price *et al.* 1980).

Os inimigos naturais de insetos fitófagos requerem mais que hospedeiros ou presas para sobreviver. Predadores e parasitóides freqüentemente exigem fontes adicionais de alimento, umidade ou abrigo; com isso, muitas plantas os abastecem de tais recursos, e dessa forma os atraem e mantêm próximos (Whitman 1994).

Interações entre formigas e plantas são extraordinariamente diversas (Rico-Gray & Oliveira 2007). Formigas podem agir em plantas como herbívoros, agentes de defesa, dispersores de sementes, polinizadores, ou provedores de macronutrientes (como nitrogênio, fósforo e potássio). Reciprocamente, plantas podem suprir formigas de nutrientes e prover locais para nidificação. Dentro dessa diversidade de interações, a magnitude do benefício ou prejuízo para cada participante depende criticamente das condições do ambiente em que estão inseridos, principalmente de suas características bióticas (Huxley 1991). Cushman & Addicott (1991) propõe que plantas que possuem nectários extraflorais só são beneficiadas por formigas quando a taxa de herbivoria é alta. Além disso, o efeito defensivo destes artrópodes depende da susceptibilidade dos inimigos naturais da planta ao ataque por formigas. Por outro lado, formigas podem promover certos herbívoros em detrimento da planta, como homópteros e larvas de Lepidoptera (Huxley 1991).

Uma notável característica das interações entre formigas e plantas é a alta freqüência com a qual essas interações são mutualísticas (Huxley 1991). Mutualismo é qualquer interação em que duas ou mais espécies se beneficiam reciprocamente da presença das outras espécies (Addicott 1984, Begon *et al.* 1996). Os benefícios de uma interação mutualística podem ser diretos (plantas alimentando formigas) ou indiretos (formigas removendo herbívoros da superfície da planta).

Já foi demonstrado que formigas visitantes podem conferir defesa contra herbívoros

(Koptur 1979) e/ou predadores de sementes (Keeler 1981) devido ao seu comportamento (Janzen 1966) ou removendo ovos dos herbívoros (Letourneau 1983, Schemske 1980). O suposto benefício desta proteção é que a aptidão da planta pode ser aumentada indiretamente, já que uma redução na taxa de herbivoria significa uma maior produção de sementes, ou diretamente, através de redução da predação de sementes (Kelly 1986). Como recompensa, as plantas produziram comida e/ou forneceriam abrigo para as formigas (Marquis & Whelan 1996).

Formigas podem exercer um efeito positivo ou negativo na aptidão das plantas com as quais interagem, dependendo de suas relações com herbívoros, polinizadores e dispersores de sementes (Schemske 1980, Stephenson 1982, Oliveira *et al.* 1999). Estes insetos costumam ser fiéis às plantas que as abrigam, e dessa forma influenciam seu sucesso reprodutivo durante diferentes estágios do ciclo reprodutivo (Horvitz & Schemske 1984). Em cadeias alimentares com três níveis tróficos os predadores podem exercer um efeito positivo nas plantas através da supressão de herbívoros, como formigas que previnem que herbívoros se alimentem de sementes e frutos em desenvolvimento. Por outro lado, há razões para se acreditar que predação pode obstruir mutualismos planta-polinizador em detrimento da planta (Suttle 2003), como quando polinizadores e dispersores de sementes evitam flores e frutos devido à presença de formigas. Isso leva a uma complexa rede de interações entre formigas, herbívoros, e polinizadores durante a floração e o desenvolvimento dos frutos (Schemske & Horvitz 1988).

O legado evolutivo das interações entre plantas, herbívoros e formigas é o aparecimento de novas estruturas em plantas (Marquis & Whelan 1996). Estas estruturas podem ser exemplificadas por aquelas presentes nas axilas das folhas de *Cecropia* que produzem corpos müllerianos de alimento (Janzen 1969), domácias em folhas ou talos de

*Clidemia* e *Topobaea* que servem como abrigo (Davidson & McKey 1993), e nectários extraflorais com até 7,4 mm de diâmetro em *Pithecellobium macradenium* (Elias 1972). Bentley (1977a) sugere que as plantas teriam desenvolvido tais características para atrair formigas e mantê-las. Observações mais detalhadas das interações planta-formiga demonstraram que o grau de proteção promovida pelas formigas contra herbívoros varia de acordo com a abundância das formigas e dos herbívoros (Barton 1986), os tipos de herbívoros presentes (Koptur 1984), o microhabitat (de la Fuente & Marquis 1999) e as espécies de formigas envolvidas (Horvitz & Schemske 1990, Koptur 1984). Apesar dessa variação, é aceito de forma geral que a defesa oferecida por formigas tem sido uma força significativa na evolução de algumas características de plantas (McKey 1984, Beattie 1985).

Nectários extraflorais (NEFs) são glândulas produtoras de açúcar sem relação direta com polinização (Elias 1983). Podem ocorrer em quase todas as partes aéreas da planta constituídas por tecidos não lenhosos: talo, brácteas, estípulas, frutos, botões florais, pedúnculos florais, ou na superfície externa das flores (Elias 1983, Oliveira & Leitão-Filho 1987, Pemberton 1990, Wunnachit *et al.* 1992). Estão presentes em muitas famílias de angiospermas desde o Oligoceno (Pemberton 1992) e são visitados por uma grande diversidade de insetos, em sua maioria formigas (Elias 1983). Os principais produtos dos NEFs são água e açúcar, com menores quantidades de aminoácidos, proteínas, minerais, alcalóides, vitaminas hidrossolúveis e outros compostos orgânicos (Bentley 1977a, Beattie, 1985). Essa composição parece ser uma fonte de alimento altamente nutritiva: os açúcares fornecem energia imediata e, em ambientes secos, os NEFs poderiam ser uma fonte crucial de água para insetos visitantes. Os demais compostos provavelmente não se encontram em concentrações suficientes para as exigências nutricionais dos insetos, por outro lado podem

complementar algumas deficiências de nutrientes específicos. A falta de alguns aminoácidos essenciais pode ser vantajosa para as plantas porque dessa forma os insetos são forçados a procurar outras fontes protéicas de alimento, como os herbívoros presentes na planta (Whitman 1994).

A função dos NEFs é controversa há décadas. Trabalhos antigos, consideravam que essas estruturas apenas secretavam o açúcar excedente nas plantas (Frey-Wyssling 1955), apesar disso, muitos estudos demonstraram que os NEFs possuem um importante papel na exclusão de herbívoros por formigas (Stephenson 1982, Barton 1986, Koptur *et al.* 1998, de la Fuente & Marquis 1999).

Mutualismos mediados por NEFs não são específicos uma vez que o néctar pode ser recolhido por uma grande variedade de animais, cujo comportamento varia muito, e as habilidades protetoras variam de positivas até negativas (como em DeVries 1991, em que certos herbívoros que podem ser atraídos ou nutridos por néctar extrafloral) (Koptur 1991). Em interações mediadas por NEFs, não apenas diferentes espécies da mesma guilda, por exemplo, diferentes espécies de formigas que se alimentam de néctar, constituem um dos lados da interação, mas também espécies de diferentes guildas, como outras formigas, parasitóides, e insetos predadores. As conseqüências dessas diferentes interações na aptidão da planta são mensuráveis, e são importantes para se entender a dinâmica dos mutualismos em vários ambientes (Thompson 1988).

Evidências sobre formigas visitando NEFs e provendo proteção contra herbívoros são abundantes (Bentley 1977a, Beattie 1985, Whitman 1994, Heil & McKey 2003). Formigas visitando NEFs nas partes vegetativas das plantas podem proteger a folhagem (Janzen 1966, Tilman 1978, Koptur 1979, Stephenson 1982, Kelly 1986) o que pode ser traduzido como maior número de sementes e melhor valor adaptativo para a planta (Koptur

1979, Stephenson 1982, Barton 1986). NEFs em estruturas reprodutivas ou próximos a elas podem prover proteção de óvulos e sementes pelas formigas (Bentley 1977b, Schemske 1980, Keeler 1981). Porém, a proteção conferida pelas formigas não é de forma alguma universal (Heads & Lawton 1984, Lawton & Heads 1984, Rico-Gray & Thien 1989a, Rashbrook *et al.* 1991), e os benefícios para as plantas variam tanto geograficamente (Koptur 1985, Kelly 1986) quanto temporalmente (Schemske & Horvitz 1988, Cushman & Addicott 1991).

Néctar extrafloral beneficia claramente inimigos naturais de herbívoros abastecendo-os com alimento. Apesar disso, será que as plantas se beneficiam da presença dos insetos que atraem? Apesar de alguns estudos terem encontrado benefícios para a planta (Koptur 1979, 1984, 1985, Smiley 1985, 1986, Kelly 1986, Bentley 1977b, Keeler 1981, Schemske 1980, Stephenson 1982, Barton 1986), há aqueles que indicam o oposto. Koptur & Lawton (1988) descrevem que o efeito devastador de mariposas do gênero *Cydia* em indivíduos de *Vicia sativa* é ainda maior quando as plantas se encontram em locais onde a abundância de formigas é grande. Isso provavelmente ocorre devido ao comportamento agressivo das formigas contra visitantes, que repele também parasitóides. Rashbrook *et al.* (1992) também reforçam essa idéia de que formigas podem não conferir proteção às plantas que visitam, pois demonstram que as formigas da espécie *Crematogaster peringueyii* não reduzem o número de larvas de duas espécies de Lepidoptera, *Appana cinisigna* e *Panotima* sp., em *Pteridium aquilinum*, ou o dano que causam às plantas de que se alimentam.

A maioria das teorias ecológicas sobre defesas contra herbívoros em plantas assume que essa resistência é custosa (McKey 1979, 1984, Feeny 1976, Coley *et al.* 1985), e que a produção e manutenção de compostos de defesa pode reduzir a aptidão da planta quando esta se encontra em situações onde seus inimigos naturais não estão presentes e essa

resistência não apresenta benefícios (Simms & Fritz 1990). De fato estas defesas se tornam custosas à medida que a produção de compostos com essa finalidade pode competir metabolicamente com outros processos relevantes para a aptidão da planta que também demandam recursos, como crescimento e reprodução (Heil *et al.* 2001). Este conceito, entre outros, é usado para explicar tanto variações no nível de defesas constitutivas, quanto evolução de defesas induzidas (Baldwin & Preston 1999, Heil & Baldwin 2002). Sendo assim, apesar dos importantes benefícios que a interação de formigas mutualistas com suas plantas hospedeiras fornecem para a aptidão das plantas, este tipo de defesa biótica pode ser muito custoso (Heil *et al.* 1997).

### **O sistema de estudo**

O gênero *Crotalaria* (Fabaceae) é predominantemente composto por plantas arbustivas anuais nativas dos trópicos do Velho Mundo, consideradas plantas daninhas pantropicais. As espécies pertencentes a este gênero são bem adaptadas para colonizar campos abertos, beiras de estrada, pastagens de gado e outras áreas alteradas pela ação antrópica (Moore 1978, Polhill 1982). Essas plantas produzem alcalóides pirrolizidínicos hepatotóxicos (Sharma *et al.* 1965, Johnson *et al.* 1985) e são conhecidas por serem tóxicas a vertebrados (Hooper & Scanlan 1977, Alfonso *et al.* 1993) e insetos (Van Dam *et al.* 1995).

Aproximadamente 40 espécies de *Crotalaria* ocorrem no Brasil, das quais 10 são exóticas, introduzidas da África (Oliveira 1992). O gênero possui vários exemplos auto-compatíveis (Moore 1978, Etcheverry *et al.* 2003), concordando com as altas taxas de auto-compatibilidade de Fabaceae (Endress 1996). A dispersão de sementes é explosiva e as pequenas sementes reniformes são espalhadas há poucos metros da planta mãe (Almeida

1986), tornando o fluxo gênico altamente dependente da polinização. As inflorescências são compostas de flores amarelas que oferecem néctar aos visitantes (Figura 1). Pólen é oculto, e só é exibido secundariamente, quando polinizadores legítimos, normalmente abelhas grandes e fortes o suficiente para expor o estigma e empurrar pra fora a massa de grãos de pólen (Endress 1996).

*Crotalaria pallida* (Figura 2) é uma espécie que se originou nos paleotrópicos (Polhill 1982), e é uma representante exótica do gênero que pode ser encontrada no Brasil. Seus NEFs estão localizados na base de cada flor ou vagem, estão ativos desde o início da antese até o final do amadurecimento das vagens, e atraem uma diversa fauna de formigas (Figura 3). Entretanto, as formigas não se distribuem de forma aleatória pela planta, sendo mais freqüentes nos racemos, o que resulta em maior proteção para as vagens do que para as folhas (Guimarães 2003, Guimarães *et al.* 2006). Apesar de este mutualismo não ser obrigatório, este padrão sugere que os NEFs podem mediar um mecanismo de defesa biótico, visando proteger as estruturas reprodutivas (como em Keeler 1981). As sementes de *C. pallida*, assim como as demais partes da planta, contêm uma mistura de alcalóides pirrolizidínicos (APs) (Sharma *et al.* 1965, Johnson *et al.* 1985). Estes alcalóides tornam a planta impalatável para insetos generalistas, mas também atraem e são fundamentais na alimentação de alguns insetos especialistas (Dussourd *et al.* 1988). *Crotalaria spectabilis* constitui uma das espécies do gênero que não possui NEFs e, dessa forma, não é visitada por formigas. Suas sementes possuem os maiores níveis de alcalóides do gênero *Crotalaria* (Lorenzi 1991), cerca de 10 vezes a concentração encontrada em *C. pallida* (J. R. Trigo obs. pess.), sendo notavelmente tóxicas (Polhill 1982, Lorenzi 1991).

No Brasil, o principal predador das sementes de *Crotalaria* é a larva da mariposa *Utetheisa ornatrix* (Lepidoptera, Arctiidae) (Ferro 2001) (Figura 4). As larvas atacam

estruturas reprodutivas como botões florais, flores e, principalmente, vagens imaturas, consumindo preferencialmente as sementes da planta (Johnson *et al.* 1985), de onde sequestram APs para sua defesa, que são mantidos pelos adultos e transferidos para a prole. Os alcalóides também são utilizados pelos machos de *U. ornatrix* para a biossíntese de feromônios sexuais (Dussourd *et al.* 1988).

Superficialmente, pode parecer que as conseqüências para a planta das suas relações com seus herbívoros sejam necessariamente contrárias às conseqüências para o herbívoro. Por outro lado, uma observação mais cautelosa revela que alguns mecanismos que produzem efeitos negativos no herbívoro não levam automaticamente a um benefício da planta (Price *et al.* 1980). Essas situações paradoxais são melhores compreendidas sob a perspectiva da aptidão de cada indivíduo, como quando são consideradas as conseqüências dos redutores de digestibilidade para as interações planta-herbívoro. Em geral, insetos criados com base em uma dieta de baixa digestibilidade, com altas concentrações de celulose, por exemplo, têm uma forte tendência a compensar este fator com um aumento no consumo de alimento (Barton-Browne, 1975). Isso significa que o dano causado por cada inseto que consegue completar seu desenvolvimento nestas plantas é na verdade maior devido a estes compostos.

Características das plantas que facilitam o ataque por parasitóides constituem uma segunda categoria de mecanismos que podem afetar herbívoros negativamente sem aumentar automaticamente a aptidão da planta. Pode-se esperar que essas características beneficiem a população de plantas como um todo, diminuindo a densidade de herbívoros. Mas para conseguir se fixar na população, esta característica deve de alguma forma aumentar a aptidão dos indivíduos, presumivelmente através da diminuição de danos causados pelos herbívoros (Price *et al.* 1980).

Assim, as características das plantas têm importantes conseqüências para os herbívoros e seus inimigos naturais, mas é necessário que se investigue mais cuidadosamente as conseqüências destas características para a aptidão da planta, e dessa forma este deve ser o assunto central dos estudos da função adaptativa das defesas presentes nas plantas, em vez da tradicional ênfase nos efeitos destas defesas sobre os herbívoros. Os custos e benefícios devem ser medidos, para posteriormente serem incorporados em uma teoria quantitativa de interações planta-herbívoro-inimigos naturais.

### OBJETIVOS

Dentro deste contexto, o presente trabalho visa avaliar a relação custo/benefício da proteção concedida pelo terceiro nível trófico (formigas) para *Crotalaria pallida* (Fabaceae) através da pergunta: Será que ao visitarem os NEFs de *C. pallida*, as formigas beneficiam as plantas com as quais interagem ou representam um custo para elas?

Essa pergunta é relevante uma vez que apesar de estarem protegendo a planta contra herbívoros, neste caso representados principalmente por larvas da mariposa *Utetheisa ornatrix* (Lepidoptera, Arctiidae), as formigas podem também ter um impacto negativo na aptidão da planta ao interagirem com outros possíveis membros da guilda de visitantes de NEFs, como por exemplo vespas, os quais também poderiam beneficiar a planta ao predar herbívoros. Para tanto, este trabalho compara padrões observados em *C. pallida* com padrões observados em *C. spectabilis*, que atua aqui como controle, já que se trata de uma espécie do mesmo gênero que não apresenta NEFs, não sendo, portanto, visitada por formigas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Área de estudo

O trabalho foi desenvolvido em uma área aberta no Bairro Village Campinas, Campinas, Estado de São Paulo, sudeste do Brasil (22°44'46''S, 47°03'11''W). Essa região é caracterizada por extensas pastagens dominadas por *Brachiaria* sp. (Poaceae) e muitas plantas daninhas, incluindo algumas asteráceas e três espécies de *Crotalaria*, *C. lanceolata*, *C. incana* e *C. pallida*, todas infestadas por *U. ornatrix*, sendo *C. pallida* a espécie mais abundante, concentrada em manchas na vegetação (Ferro 2001, Guimarães 2003, Ferro *et al.* 2006, Guimarães *et al.* 2006).

### 2. Impacto das formigas na aptidão de *C. pallida* e *C. spectabilis* ao longo do desenvolvimento das plantas

Para avaliar o impacto das formigas em alguns aspectos da aptidão de *C. pallida* e *C. spectabilis* (descritos adiante), sementes das duas espécies (*C. pallida* - coletadas no campo, Bairro Village Campinas, Campinas, SP, *C. spectabilis* - fornecidas por Sementes Pirai, Piracicaba, SP) foram plantadas em vasos de 30L (100 vasos para cada espécie, com cinco sementes cada), em junho de 2005, já na área de estudo. Três meses após o plantio, foram retiradas 4 plântulas de cada vaso, deixando apenas 1 indivíduo por vaso. Os experimentos foram iniciados quando as plântulas atingiram a idade de floração, aproximadamente 5 meses após o plantio, em outubro de 2005 (*C. pallida*:  $153,28 \pm 1,49$  dias ( $\bar{X} \pm EP$ ),  $n = 54$ ; *C. spectabilis*:  $156,77 \pm 2,63$  dias,  $n = 30$ ), e foram finalizados após a morte do último indivíduo, 4 meses após o início dos experimentos, em fevereiro de 2006.

Aproximadamente uma semana antes do início da primeira floração, foi colocado

um pedaço de fita crepe na base do talo de todos os indivíduos envolvidos nos experimentos. Sobre a fita crepe de 26 dos 54 indivíduos de *C. pallida* e 15 dos 29 indivíduos de *C. spectabilis* foi aplicada uma camada da resina Tanglefoot™, para impedir o acesso de formigas às plantas. Este procedimento foi realizado semanalmente, para prevenir que a resina perdesse sua propriedade adesiva. A partir daqui chamaremos este tratamento de “plantas sem formigas”. Como controle foram acompanhados 28 indivíduos de *C. pallida* e 14 indivíduos de *C. spectabilis*. No vaso de cada uma das plantas controle foi colocado um palito de madeira, próximo ao caule da planta, onde foi aplicado Tanglefoot™, para que eventuais efeitos da resina fossem descartados. A partir daqui chamaremos este tratamento de “plantas com formigas”.

Diferenças existentes entre a fauna de formigas que visitam as plantas do entorno, indivíduos de *C. pallida* que ocorrem no bairro no qual a área de estudo está inserida (Figura 5), e as plantas experimentais, indivíduos de *C. pallida* utilizados nos experimentos (Figura 5), poderiam comprometer os resultados de nossos experimentos, já que um aumento na aptidão das plantas pode depender dos diferentes componentes do conjunto de formigas que as visitam (Ness 2003a, Ness 2003b, Mody & Linsenmair 2004). Assim, para verificar estas possíveis diferenças de visitação, foi realizado um censo focal de 24h (observações a cada 3h) em 10 indivíduos de *C. pallida* experimentais e em 15 indivíduos de *C. pallida* do entorno em 08/12/2005 (todas as plantas apresentavam flores e NEFs ativos). Foram coletados indivíduos de todas as espécies visitantes, os quais foram identificados até gênero. O número de formigas encontradas foi comparado entre os indivíduos experimentais e os do entorno pelo teste de Mann-Whitney devido a sua distribuição não-normal (Zar 1999). Além disso, foi realizado um censo focal diurno e

noturno em 14/12/2005 em todos os indivíduos de *C. pallida* envolvidos nos experimentos (todas as plantas apresentavam flores e NEFs ativos), em virtude da observação de formigas em plantas tratamento, ou seja, plantas que seriam sem formigas, para que diferenças de visitação observadas entre as plantas controle e tratamento durante o censo realizado em 08/12/2005 pudessem ser verificadas. Foram coletados indivíduos de todas as espécies visitantes, os quais foram identificados até gênero. O número de formigas encontradas foi comparado entre os tratamentos (plantas com e sem formigas) pelo teste de Mann-Whitney devido a sua distribuição não-normal (Zar 1999).

As variáveis abaixo relacionadas foram medidas nos dois tratamentos (com e sem formigas) e nas duas espécies de *Crotalaria*.

### **2.1. Preferência de oviposição por *U. ornatrix***

Para avaliar o efeito das formigas na preferência de oviposição de *U. ornatrix* em plantas com e sem formigas, essa variável foi avaliada através da contagem dos ovos colocados pelas mariposas em 28 plantas (14 indivíduos de cada espécie, 7 de cada tratamento) envolvidas em experimentos preliminares realizados em março e abril de 2005, seguindo o mesmo desenho experimental descrito no item 2. Essa contagem ocorreu a cada dois dias, a partir da primeira floração das plantas, durante um mês, com o intuito de avaliar se as mariposas apresentam preferências entre as duas espécies. O número total de ovos obtidos para os indivíduos com e sem formigas de *C. pallida* e *C. spectabilis* ao longo do tempo foi comparado por ANOVA de dois fatores (Zar 1999), sendo um dos fatores espécie e o outro o tratamento.

## 2.2. Taxa de ganho de biomassa

Para avaliar o efeito das formigas no crescimento de plantas de *C. pallida* e *C. spectabilis* foi estimada a taxa de ganho de biomassa de todos os indivíduos envolvidos nos experimentos. Para estimar a biomassa dessas plantas, 161 folhas de *C. pallida* e 57 folhas de *C. spectabilis* tiveram seu comprimento medido a partir da base do pecíolo até seu ápice (variável dependente) e esta variável foi relacionada ao peso seco da folha (variável independente), obtendo-se as equações das curvas correspondentes para cada espécie (*C. pallida*:  $y = 3,9141x^{2,2179}$ ,  $R^2 = 0,92$ ; *C. spectabilis*:  $y = 0,4776x^{2,3443}$ ,  $R^2 = 0,88$ ). Medidas tomadas durante experimentos preliminares realizados em março e abril de 2005 permitiram relacionar número de folhas das plantas com seus respectivos comprimentos foliares, obtendo-se uma relação linear (*C. pallida*:  $y = 4,2429x + 22,084$ ,  $R^2 = 0,94$ ; *C. spectabilis*:  $y = 5,4519x + 86,279$ ,  $R^2 = 0,89$ ). A partir disso, o número de folhas de todos os indivíduos das duas espécies envolvidos nos experimentos que foi obtido mensalmente, a partir da primeira floração até a morte das plantas, pôde ser relacionado com biomassa (*C. pallida*:  $y = 113,07x^{2,2304}$ ; *C. spectabilis*:  $y = 124x^{2,081}$ ). Foi calculada então a taxa de Ganho de Biomassa (TGB), de acordo com a fórmula:

$$TGB = \frac{biomassa_{final} - biomassa_{inicial}}{biomassa_{inicial}}$$

Para o cálculo dessa taxa, o maior valor de biomassa apresentado por cada indivíduo foi utilizado como biomassa final, para que pudesse ser avaliado o real ganho de biomassa dos indivíduos, uma vez que o maior valor de biomassa foi atingido durante a vida da planta, e não quando esta estava prestes a morrer. As taxas calculadas foram transformadas

em logaritmo natural ( $\ln(x+0,1)$ ) devido a sua distribuição não-normal, e então comparadas entre os tratamentos (com e sem formigas) para cada espécie (*C. pallida* e *C. spectabilis*) por teste t (Zar 1999).

### **2.3. Produção de flores/biomassa final**

As flores produzidas pelas inflorescências de todos os indivíduos das duas espécies foram contadas semanalmente, a partir da primeira floração até a morte das plantas. Essa medida foi relacionada com o valor de biomassa final das plantas (número de flores produzidas/biomassa final), conforme descrito em 2.2., para que eventuais diferenças no tamanho das plantas fossem desconsideradas. Os valores obtidos foram transformados em logaritmo natural ( $\ln(x+0,1)$ ) devido a sua distribuição não-normal, e então comparados entre os tratamentos para cada espécie (*C. pallida* e *C. spectabilis*) por teste t (Zar 1999).

### **2.4. Produção de vagens/flor/biomassa final**

As vagens produzidas pelas flores de todos os indivíduos das duas espécies foram contadas semanalmente, a partir da primeira floração até a morte das plantas, esta medida foi relacionada com o número de flores produzidas por cada planta, para que pudesse ser avaliada a quantidade de flores fecundadas, e com o valor de biomassa final das plantas (número de vagens produzidas/número de flores produzidas/biomassa final), conforme descrito em 2.2., para que eventuais diferenças no tamanho das plantas fossem desconsideradas. Os valores obtidos para os tratamentos (com e sem formigas) de *C. pallida* foram comparados pelo teste de Mann-Whitney devido a sua distribuição não-normal; os valores obtidos para os tratamentos (com e sem formigas) de *C. spectabilis* foram transformados em logaritmo natural ( $\ln(x+0,1)$ ) devido a sua distribuição não-

normal, e então comparados por teste t (Zar 1999).

## **2.5. Produção de sementes/vagem**

As vagens maduras de todos os indivíduos das duas espécies foram coletadas semanalmente, a partir da primeira floração até a morte das plantas, para posterior triagem do material. As sementes de todas as vagens não atacadas foram contadas e estes valores foram relacionados com o número de vagens maduras coletadas não atacadas (número de sementes produzidas por vagens não atacadas/número de vagens não atacadas) para que pudesse ser avaliado o número de sementes produzidas por vagem. Os valores obtidos para os tratamentos (com e sem formigas) de *C. pallida* foram comparados pelo teste de Mann-Whitney devido a sua distribuição não-normal; os valores obtidos para os tratamentos (com e sem formigas) de *C. spectabilis* foram comparados por teste t (Zar 1999).

## **2.6. Ataque às vagens**

O ataque às vagens foi observado em todas as vagens maduras coletadas para contagem de sementes. O ataque foi avaliado de acordo com as seguintes categorias: 1. atacada; 2. não atacada. Foram consideradas não atacadas as vagens que não apresentaram marca externa visível que caracterize o ataque por larvas de *U. ornatrix* ou fezes das larvas em seu interior. O número de vagens atacadas foi relacionado com o número total de vagens coletadas de cada planta (número de vagens atacadas/número total de vagens) para que pudesse ser avaliada a taxa de ataque às vagens. Os valores obtidos para os tratamentos (com e sem formigas) de *C. pallida* foram transformados em logaritmo natural ( $\ln(x+0,1)$ ) devido a sua distribuição não-normal, e então comparados por teste t; os valores obtidos para os tratamentos (com e sem formigas) de *C. spectabilis* foram comparados pelo

teste de Mann-Whitney devido a sua distribuição não-normal (Zar 1999).

## **2.7. Sementes disponibilizadas para germinação**

As vagens maduras de todos os indivíduos das duas espécies foram coletadas semanalmente, a partir da primeira floração até a morte das plantas, para posterior triagem do material. As sementes de todas as vagens foram contadas e estes valores foram relacionados com o valor de biomassa final das plantas (número total de sementes produzidas/biomassa final - conforme descrito em 2.2., para que eventuais diferenças no tamanho das plantas fossem desconsideradas), para que pudesse ser avaliado o número de sementes disponibilizadas para germinação. Os valores obtidos foram transformados em logaritmo natural ( $\ln(x+0,1)$ ) devido a sua distribuição não-normal, e então comparados entre os tratamentos (com e sem formigas) para cada espécie (*C. pallida* e *C. spectabilis*) por teste t (Zar 1999).

## **2.8. Peso das sementes**

Para o cálculo do peso das sementes, foi realizada uma amostragem de todas as sementes coletadas. Para a escolha das amostras foi determinado um intervalo de tempo dentro do qual a maioria das plantas produziu sementes sadias (de 14/12/2005 a 27/12/2005 para *C. pallida*, e de 14/12/2005 a 10/01/2006 para *C. spectabilis*), e uma colher de chá foi utilizada como medida para amostrar as sementes produzidas pelas plantas neste intervalo de tempo. Depois de pesadas, essas sementes foram contadas, e o número de sementes contidas nessas amostras foi então relacionado com o peso total da amostra, obtendo-se o peso de cada semente. Os valores obtidos para os tratamentos (com e sem formigas) de *C. pallida* foram comparados por teste t; os valores obtidos para os tratamentos (com e sem

formigas) de *C. spectabilis* foram comparados pelo teste de Mann-Whitney devido a sua distribuição não-normal (Zar 1999).

## **2.9. Herbivoria nas folhas**

Para avaliar o efeito das formigas na taxa de herbivoria das plantas de *C. pallida* e *C. spectabilis*, essa variável foi avaliada visualmente nas folhas de todos os indivíduos das duas espécies através de categorias, de acordo com a porcentagem de superfície foliar que sofreu ataque: 0, 25%, 50%, 75% ou 100%. Essa medida foi tomada mensalmente a partir da primeira floração até a morte das plantas.

## **2.10. Sobrevivência de *C. pallida* e *C. spectabilis***

Todas as plantas foram acompanhadas a partir do início da floração até a morte, e o número de dias decorridos durante este período foi registrado. O número de dias decorridos foi comparado entre os tratamentos (com e sem formigas) para cada espécie (*C. pallida* e *C. spectabilis*) por teste t (Zar 1999).

## **3. Impacto de formigas na atividade de vespas que visitam *C. pallida*.**

Para verificar se formigas espantam visitantes de flores e NEFs de *C. pallida*, como vespas, foram realizadas observações de racemos de indivíduos dessa espécie. Foram escolhidos 20 indivíduos de *C. pallida* em período de floração no campo (Bairro Village Campinas, Campinas, SP). Destes indivíduos, foram escolhidos dois racemos, sendo que um deles foi isolado de formigas através de aplicação de resina Tanglefoot<sup>TM</sup> na base do racemo e o outro permaneceu livre para a visitação de formigas. Foi então observado o

tempo de visitação de vespas nos NEFs de cada um dos racemos dos 20 indivíduos durante 15 minutos. As observações foram realizadas em dias ensolarados, entre 11h e 14h, horário em que estes insetos apresentam maior atividade devido à elevação da temperatura. As formigas e vespas observadas foram coletadas e identificadas ao nível de gênero e espécie, respectivamente. Os tempos de visitação foram transformados em logaritmo natural ( $\ln(x+0,1)$ ) devido a sua distribuição não-normal, e então comparadas entre os tratamentos (com e sem formigas) por teste t (Zar 1999).

#### **4. Influência da presença de vespas e formigas na predação de larvas em *C. pallida***

Para verificar se formigas e vespas constituem predadores de larvas, e se a presença de indivíduos de um grupo interfere na atuação do outro grupo, conforme verificado pelo experimento descrito no item 3 (ver também Resultados, item 2), larvas congeladas e liofilizadas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera, Tenebrionidae), modelo de larva palatável, foram coladas com cola branca atóxica em 40 indivíduos de *C. pallida* em frutificação no campo (10 larvas/planta, 5 larvas em vagens e 5 larvas em folhas, Figura 6). Foram aplicados quatro tratamentos diferentes, visando avaliar a taxa de predação das larvas nas diferentes situações.

I. Exclusão de formigas e vespas: No início do experimento foi colocado um pedaço de fita crepe na base do talo de indivíduos de *C. pallida* sobre o qual foi aplicada uma camada de Tanglefoot™, uma resina adesiva muito utilizada para impedir o acesso de artrópodes a plantas, para impedir que formigas tivessem acesso às plantas. As plantas deste tratamento foram mantidas em uma gaiola de exclusão construída no campo para impedir o acesso de vespas (Figura 7). As dimensões dessa gaiola de exclusão são 3m

comprimento X 2m largura X 1,7m altura, sua estrutura foi construída com canos de PVC e a cobertura feita com tela mosquiteiro.

II. Exclusão de vespas: No início do experimento foram colocados dentro da gaiola de exclusão indivíduos de *C. pallida*. Nessas plantas foi colocado um pedaço de fita crepe no talo, mas a resina não foi aplicada neste local, para permitir livre acesso de formigas, foi aplicada em uma placa de plástico colocada no vaso, próximo ao caule da planta, para que eventuais efeitos da resina fossem descartados.

III. Exclusão de formigas: No início do experimento foi colocado um pedaço de fita crepe na base do talo de indivíduos de *C. pallida* sobre o qual foi aplicada uma camada de Tanglefoot™, uma resina adesiva muito utilizada para impedir o acesso de artrópodes a plantas, para impedir que formigas subissem nas plantas. As plantas deste tratamento foram posicionadas próximas à gaiola de exclusão previamente mencionada, para que não houvesse diferenças no microclima.

IV. Controle: Como controle foram acompanhados indivíduos de *C. pallida* aos quais formigas e vespas tinham livre acesso. Nessas plantas foi colocado um pedaço de fita crepe no talo, mas a resina não foi aplicada neste local, para permitir livre acesso de formigas. Mas para que eventuais efeitos da resina fossem descartados, esta foi aplicada em uma placa de plástico colocada no vaso, próximo ao caule da planta. As plantas deste tratamento foram posicionadas próximas à gaiola de exclusão previamente mencionada, para que não houvesse diferenças no microclima.

Este experimento foi realizado em quatro blocos, sendo dois contendo três indivíduos de cada tratamento, e dois contendo dois indivíduos de cada tratamento. As formigas encontradas foram coletadas e identificadas ao nível de gênero. A predação das

larvas foi observada em todas as plantas dos quatro tratamentos após três dias, e avaliada de acordo com as seguintes categorias: 1. atacada; 2. não atacada. O número de larvas predadas foi transformado em logaritmo natural ( $\ln(x+0,1)$ ) devido a sua distribuição não-normal, e então comparado através de ANOVA de dois fatores para os efeitos dos tratamentos (com e sem formigas) e das partes da planta (vagens e folhas), com teste de Tukey a posteriori.

## RESULTADOS

### 1. Impacto das formigas na aptidão das plantas

O número de formigas observadas nos indivíduos experimentais e nos indivíduos do entorno durante o censo realizado em 08/12/2005, não diferiu estatisticamente (teste Mann-Whitney,  $U = 6233,0$ ,  $p = 0,74$ , Figura 8). As formigas encontradas nos indivíduos experimentais pertencem às subfamílias Formicinae (*Camponotus* sp.) e Myrmicinae (*Pheidole* sp.) (Figura 10). No entorno, foram encontradas formigas pertencentes às subfamílias Formicinae (*Camponotus* sp. e *Brachymyrmex* sp.), Myrmicinae (*Pheidole* sp. e *Crematogaster* sp.) e Ectatomminae (*Ectatomma* sp.) (Figura 11).

O número de formigas observado durante os censos diurno e noturno nos indivíduos com formigas foi significativamente maior que nos indivíduos sem formiga de *C. pallida* (censo diurno: teste Mann-Whitney,  $U = 371,5$ ,  $p < 0,01$ , censo noturno: teste Mann-Whitney,  $U = 293,5$ ,  $p < 0,01$ , Figura 9). As formigas encontradas durante o censo diurno pertencem às subfamílias Formicinae (*Camponotus* sp., *Brachymyrmex* sp.) e Myrmicinae (*Pheidole* sp.) (Figura 12). Durante o censo noturno, foram encontradas formigas pertencentes às subfamílias Formicinae (*Camponotus* sp.) e Myrmicinae (*Pheidole* sp.) (Figura 13).

Fêmeas de *U. ornatrix* não apresentaram preferência de oviposição entre plantas com e sem formigas (ANOVA de dois fatores,  $F_{1,24} = 0,02$ ,  $p = 0,97$ ), nem ocorreu interação entre tratamentos e espécies ( $F_{1,24} = 1,21$ ,  $p = 0,29$ ). Entretanto, os dados indicam que fêmeas preferem ovipor em *C. pallida* e não em *C. spectabilis* ( $F_{1,24} = 4,13$ ,  $p = 0,05$ , Figura 14).

As Taxas de Ganho de Biomassa estimadas para os dois tratamentos das duas espécies não apresentaram diferenças significativas (*C. pallida*: teste t,  $t = -1,22$ ,  $gl = 46,1$ ,  $p = 0,23$ , *C. spectabilis*: teste t,  $t = -0,38$ ,  $gl = 25,3$ ,  $p = 0,71$ , Figura 15).

A razão número de flores produzidas/biomassa final não foi significativamente diferente entre os dois tratamentos para as duas espécies (*C. pallida*: teste t,  $t = -0,27$ ,  $gl = 48,2$ ,  $p = 0,80$ , *C. spectabilis*: teste t,  $gl = 25,7$ ,  $t = -1,17$ ,  $p = 0,25$ , Figura 16).

A razão vagens produzidas/número de flores produzidas corrigida para biomassa final não foi significativamente diferente entre os dois tratamentos para as duas espécies (*C. pallida*: teste Mann-Whitney,  $U = 320,0$ ,  $p = 0,58$ , *C. spectabilis*: teste t,  $t = -1,58$ ,  $gl = 22$ ,  $p = 0,13$ , Figura 17).

A razão número de sementes produzidas por vagens intactas/número de vagens maduras intactas não foi significativamente diferente entre os dois tratamentos para as duas espécies (*C. pallida*: teste Mann-Whitney,  $U = 214,0$ ,  $p = 0,27$ , *C. spectabilis*: teste t,  $t = -1,14$ ,  $gl = 15,9$ ,  $p = 0,27$ , Figura 18).

Em relação ao ataque às vagens, a razão número de vagens atacadas/número de vagens coletadas foi significativamente maior nas plantas com formigas que nas plantas em que as formigas foram excluídas para *C. pallida*, mas não houve diferença significativa para *C. spectabilis* (*C. pallida*: teste t,  $t = 3,92$ ,  $gl = 29,5$ ,  $p < 0,01$ , *C. spectabilis*: teste Mann-Whitney,  $U = 84,5$ ,  $p = 0,39$ , Figura 19).

O número de sementes disponibilizadas para germinação corrigido para biomassa final não foi significativamente diferente entre os dois tratamentos para as duas espécies (*C. pallida*: teste t,  $t = -1,72$ ,  $gl = 44$ ,  $p = 0,09$ , *C. spectabilis*: teste t,  $t = -1,25$ ,  $gl = 21$ ,  $p = 0,23$ , Figura 20).

O peso das sementes não foi significativamente diferente entre os dois tratamentos para as duas espécies (*C. pallida*: teste t,  $t = 0,09$ ,  $gl = 42,9$ ,  $p = 0,93$ , *C. spectabilis*: teste Mann-Whitney,  $U = 21,5$ ,  $p = 0,35$ , Figura 21).

A herbivoria nas folhas não foi analisada estatisticamente, uma vez que todas as plantas dos dois tratamentos e das duas espécies iniciaram e terminaram o experimento com uma taxa de herbivoria de 25%.

A diferença no tempo de sobrevivência dos indivíduos de *C. pallida* com formigas ( $65 \pm 5$  dias ( $\bar{X} \pm EP$ ),  $n = 28$ ) e sem formigas ( $80 \pm 6$  dias ( $\bar{X} \pm EP$ ),  $n = 25$ ) foi marginalmente significativa (teste t,  $t = -1,84$ ,  $gl = 48,6$ ,  $p = 0,07$ ), sendo maior a sobrevivência dos indivíduos sem formigas. Não houve diferença significativa pra *C. spectabilis* com formigas (com formigas:  $47 \pm 7,2$  dias ( $\bar{X} \pm EP$ ),  $n = 14$ ; sem formigas:  $36 \pm 4$  dias ( $\bar{X} \pm EP$ ),  $n = 16$ ; teste t,  $t = 1,36$ ,  $gl = 20,6$ ,  $p = 0,19$ ) (Figura 22).

## **2. Impacto de formigas na atividade de vespas que visitam *C. pallida***

Todas as vespas que visitaram os racemos observados foram influenciadas pela presença de formigas, sendo que algumas reduziram seu tempo de visitação e outras deixaram o racemo após o encontro com as formigas. Isso foi observado para todas as espécies de vespas e formigas envolvidas. Todas as formigas observadas pertencem ao gênero *Camponotus* sp. (Hymenoptera, Formicidae, Formicinae), e foram observadas 3

espécies de vespas, *Polybia paulista*, *Polybia occidentalis* e *Polybia sericea* (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae). O tempo de visitação de vespas em racemos de *C. pallida* foi significativamente menor nos racemos com formigas tanto para todas as espécies agrupadas (com formigas:  $25 \pm 2$  segundos ( $\bar{X} \pm EP$ ),  $n = 208$ ; sem formigas:  $47 \pm 6$  segundos ( $\bar{X} \pm EP$ ),  $n = 180$ ; teste t,  $t = 2,61$ ,  $gl = 344,782$ ,  $p = 0,001$ ), quanto para *P. paulista* (com formigas:  $25 \pm 2$  segundos ( $\bar{X} \pm EP$ ),  $n = 187$ ; sem formigas:  $47 \pm 6$  segundos ( $\bar{X} \pm EP$ ),  $n = 141$ ; teste t,  $t = 2,70$ ,  $gl = 262,6$ ,  $p < 0,001$ ), a espécie de vespa mais freqüente. Já o tempo de visitação de *P. occidentalis* não foi significativamente diferente entre os racemos com e sem formigas (com formigas:  $31 \pm 9$  segundos ( $\bar{X} \pm EP$ ),  $n = 21$ ; sem formigas:  $47 \pm 18$  segundos ( $\bar{X} \pm EP$ ),  $n = 37$ ; teste t,  $t = 0,28$ ,  $gl = 44,184$ ,  $p = 0,78$ ), e o tempo de visitação de *P. sericea* não foi analisado estatisticamente uma vez que só houve duas visitas dessa espécie.

### **3. Influência da presença de vespas e formigas na predação de larvas em *C. pallida***

Larvas liofilizadas de *T. molitor* foram significativamente mais predadas por formigas que por vespas (ANOVA de dois fatores,  $F_{3,72} = 26,89$ ,  $p < 0,01$ ), independente do local onde foram colocadas (vagens ou folhas,  $F_{1,72} = 2,48$ ,  $p = 0,12$ ) (Figura 23). Somente formigas pertencentes ao gênero *Solenopsis* (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae) foram observadas predando as larvas.

## **DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos sugerem que as formigas não influenciam a aptidão de *C. pallida*, apesar de essa planta apresentar NEFs que poderiam mediar um mecanismo de

defesa biótico para proteção de suas estruturas reprodutivas (como em Keeler 1981). A maioria das variáveis analisadas não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos com e sem formigas para *C. pallida*, sendo a taxa de ganho de biomassa (desenvolvimento e tamanho máximo que as plantas conseguem atingir), a produção de flores (número de flores produzidas em relação ao maior valor de biomassa atingido pelas plantas), vagens (número de vagens produzidas em relação ao número de flores produzidas e ao maior valor de biomassa atingido pelas plantas), e sementes (número de sementes produzidas em relação ao número de vagens coletadas das plantas), além do peso das sementes da taxa de herbivoria sofrida pelas plantas. Tendo isso em vista, as formigas parecem não constituir um mecanismo de defesa para *C. pallida*, fato que tem sido observado por estudos com plantas que apresentam NEFs (Rashbrook *et al.* 1992). Embora a taxa de predação de vagens e a sobrevivência das plantas tenham apresentado diferenças significativas entre os indivíduos com e sem formigas de *C. pallida*, o número de sementes disponibilizadas para germinação não foi diferente entre os tratamentos e, assim, o possível prejuízo causado pelas formigas, que poderia ser traduzido como um menor aporte de sementes para a próxima geração, não é corroborado por esta última variável mencionada. Com relação a *C. spectabilis*, não houve diferenças entre as plantas com e sem formigas, o que já era esperado em virtude da ausência de recompensas para as formigas nessas plantas. Portanto, o conjunto de variáveis analisadas indica que, ao menos neste sistema e localidade, as formigas não afetam, nem positivamente, nem negativamente a aptidão de *C. pallida*.

Em um trabalho de 1978, Moore observou que a predação de sementes de *C. pallida* na África, onde é nativa, chegava a 49%, mas podia variar de 20% a quase 100% em alguns indivíduos. Em contrapartida, populações introduzidas numa região temperada dos

Estados Unidos apresentavam taxa de predação de 16-17%, mas a variação proporcional entre indivíduos era ainda maior que a das populações africanas. As taxas de predação obtidas neste experimento, realizado onde *C. pallida* é uma espécie introduzida, são semelhantes àquelas encontradas por Moore (1978) na região temperada e, assim, os resultados obtidos podem ter sido influenciados em grande parte por uma baixa pressão de herbivoria e predação de sementes na área de estudo, uma vez que herbívoros e predadores de sementes escolhem ativamente entre plantas para se alimentar, exercendo uma forte pressão seletiva em populações vegetais (Moore 1978).

Apesar de as formigas poderem ser predadores de larvas (Ferro *et al.* 2006, Guimarães *et al.* 2006), ou até mesmo de ovos de *U. ornatrix* nessas plantas (observação pessoal), como já foi observado para outras espécies de Lepidoptera (Smiley 1985, Rashbrook *et al.* 1992, Freitas & Oliveira 1996, Oliveira & Freitas 2004, Rudgers 2004), a explicação mais plausível para a predação diferencial de vagens em plantas visitadas por formigas, é que estas, ao visitarem os NEFs, podem estar espantando outros inimigos naturais mais eficientes na proteção das plantas contra o ataque de larvas de *U. ornatrix*, como vespas. Além disso, as formigas presentes na área de estudo podem não ser predadores constantes ou eficientes. Assim, o balanço da relação custo-benefício dessa proteção potencialmente conferida pelas formigas pode ser negativo para a aptidão da planta (Koptur 1985, Cuautle & Rico-Gray 2003).

Os exemplos clássicos de mutualismos são de fortes interações que evoluíram entre pares de espécies que precisam uma da outra para sua sobrevivência ou reprodução. Exemplos bem estudados incluem *Yucca* e sua mariposa (Pellmyr & Huth 1994, Pellmyr *et al.* 1996, Pellmyr & Krenn 2002) e *Ficus* e suas vespas (Herre 1987, Bronstein & Hossaert-McKey 1995, Kjellberg *et al.* 2001). Outros mutualismos, por outro lado, são mais

instáveis, com parceiros mutualistas variando geograficamente em seu grau de adaptação recíproca (Kapan 2001, Thompson & Cunningham 2002). A visitação de formigas a plantas que secretam néctar extrafloral é um clássico exemplo de mutualismo interespecífico facultativo, onde em vez de interações estritamente pareadas, freqüentemente observamos o envolvimento de guildas de espécies que interagem (Stanton 2003). Muitas evidências sugerem que a produção de néctar extrafloral é custosa para as plantas (Rutter & Rausher 2004). Por outro lado, os benefícios da produção dessa substância podem ser muito variáveis (Bronstein 1998), e a diversidade de formigas, assim como sua abundância, são importantes componentes dessa variação (Inouye & Taylor 1979, Koptur 1985, Barton 1986, Horvitz & Schemske 1990, Rudgers & Gardener 2004).

Das formigas encontradas em *C. pallida*, dois gêneros pertencem à subfamília Formicinae, *Brachymyrmex* e *Camponotus*. As formigas do gênero *Brachymyrmex*, pouco freqüentes nos indivíduos experimentais, mas abundantes nos indivíduos do entorno (apenas no período diurno), são formigas bem pequenas, que coletam gotas de exsudato de homópteros e outros insetos sugadores de seiva presentes nas plantas. Jaffe *et al.* (1989) sugere que estas formigas normalmente não atacam artrópodes maiores que si mesmas, não constituindo, portanto, predadores de herbívoros. Entretanto, Guimarães *et al.* (2006) observaram que este gênero recruta um grande número de indivíduos e remove iscas de cupins em *C. pallida*. O gênero *Camponotus* é o maior da subfamília Formicinae, com mais de 1000 espécies de formigas (Sudd & Franks 1987). Os integrantes deste gênero, encontrados freqüentemente nos indivíduos experimentais e do entorno de *C. pallida* tanto no período diurno quanto no noturno, são conhecidos por predação de artrópodes (Jaffe *et al.* 1989). Em um trabalho utilizando cupins como modelo de presa, Oliveira *et al.* (1987) verificaram que o maior potencial para predação dos herbívoros de *Qualea grandiflora*

(Vochysiaceae) foi exibido por formigas do gênero *Camponotus* (*C. crassus*, *C. rufipes* e *C. aff. blandus*), que juntas atacaram significativamente mais cupins que as outras 9 espécies de formigas envolvidas agrupadas. Devido ao seu comportamento agressivo contra intrusos, assim que encontravam a presa, as formigas a atacavam com violência, removendo-a facilmente (Oliveira *et al.* 1987). Guimarães *et al.* (2006) verificaram a presença de quatro espécies de *Camponotus* (*C. blandus*, *C. crassus*, *C. leydigi* e *C. personatus*) visitando NEFs de *C. pallida* e demonstraram que *Camponotus blandus* é uma eficiente predadora de larvas de *U. ornatrix* nesta planta. Ferro *et al.* (2006), usando colônias de *C. crassus* mantidas em laboratório, também verificaram que esta espécie é um eficiente predador de larvas de *U. ornatrix*. Outra subfamília de formigas encontrada nas plantas foi Myrmicinae, representada também por dois gêneros, *Pheidole* e *Crematogaster*. Abundantes nos indivíduos experimentais durante o período diurno e noturno, as formigas do gênero *Pheidole* alimentam-se de insetos e sementes (Sudd & Franks 1987), e são caracterizadas por um comportamento ainda mais agressivo que o gênero *Camponotus*, por apresentarem um grande e eficiente recrutamento, ampla dispersão, e serem comuns em ambientes perturbados, apesar de serem menores (Fowler & Pesquero 1996). As formigas do gênero *Crematogaster*, pouco encontradas apenas em indivíduos do entorno, são principalmente arborícolas, e consistem em uma exceção à maioria das formigas dessa subfamília por serem ávidas coletoras de exsudato, além disso, apresentam uma interessante adaptação anatômica que permite que a formiga eleve seu abdome sobre seu corpo e secrete substâncias químicas de defesa contra inimigos naturais (Sudd & Franks 1987). A terceira subfamília de formigas encontrada foi Ectatomminae, representada pelo gênero *Ectatomma*. Apesar de bem diverso, este grupo apresenta, de forma geral, hábitos predatórios, principalmente devido ao seu porte robusto, e suas enormes operárias

costumam forragear sozinhas (Sudd & Franks 1987). Ferro *et al.* (2006) e Guimarães *et al.* (2006) mostraram que a espécie *Ectatomma quadridens* também preda eficientemente larvas de *U. ornatrix*. Os dados da literatura apresentados acima não suportam a sugestão de formigas visitando NEFs de *C. pallida* serem predadores inconstantes e ineficientes.

Dentro da diversidade de formigas encontradas nas plantas, a agressividade exibida por estes insetos varia entre as diferentes espécies visitantes (Itioka & Inoue 1999, Kaneko 2003), mas devido à excelente qualidade nutritiva dos NEFs e à previsibilidade deste recurso no tempo e no espaço, muitas formigas visitantes defendem agressivamente plantas que apresentam NEFs de herbívoros e outros artrópodes (Carroll & Janzen 1973). Benefícios devem ser acumulados por plantas que atraem uma abundante variedade de formigas, sendo que, quanto maior a diversidade de formigas, maior a variedade de inimigos das plantas, principalmente herbívoros, que podem ser removidos ou prejudicados, e maior a probabilidade de que, em qualquer habitat, estação do ano ou hora do dia, alguma espécie de formiga visitará a planta (Beattie 1985). Por outro lado, um aumento na aptidão das plantas pode depender dos diferentes componentes do conjunto de formigas que as visitam (Ness 2003a, Ness 2003b, Mody & Linsenmair 2004). Geralmente, formigas grandes oferecem melhor proteção contra insetos herbívoros que formigas pequenas (Schemske 1982, Horvitz & Schemske 1984, Oliveira *et al.* 1987, Koptur & Lawton 1988, Rico-Gray & Thien 1989b). Mas os efeitos das formigas contra os herbívoros podem não ser constantes. Mody & Linsenmair (2004) demonstraram que plantas dominadas por diferentes espécies de formigas diferem significativamente em relação ao dano foliar causado por insetos herbívoros e que as formigas reduzem significativamente a abundância de diferentes grupos de artrópodes (Araneae, Blattodea, Coleoptera, Hemiptera e outros Hymenoptera), enquanto outros grupos, incluindo

importantes herbívoros, não parecem ser afetados (Lepidoptera, Orthoptera, Thysanoptera e Heteroptera). Além disso, a presença de formigas beneficia plantas apenas quando determinadas espécies de formigas são atraídas e a proteção conferida por essas formigas não é contrabalançada por seu efeito negativo em outros artrópodes benéficos (Mody & Linsenmair 2004, Rico-Gray & Oliveira 2007).

Interações negativas para a aptidão de dois parceiros potencialmente mutualistas podem levar a padrões de evolução diferentes daqueles previstos quando se assume que essas interações são sempre benéficas. Por exemplo, se interações entre potenciais mutualistas podem ser antagonísticas em um determinado local ou tempo, então a persistência evolutiva de fenótipos bem adaptados nas duas espécies não é garantida, diferentemente de mutualistas cujas interações são incondicionalmente positivas. Em alguns casos extremos, quando períodos ou regiões que levam a interações antagonísticas prevalecem, padrões inesperados de coevolução podem surgir. Por exemplo, sob algumas condições, características importantes para interações positivas entre duas espécies potencialmente mutualistas podem ter dinâmica coevolutiva cíclica (Gomulkiewicz *et al.* 2000). Vários trabalhos mostram que algumas interações podem variar de antagonísticas a mutualísticas, dependendo das características bióticas e abióticas dos locais nos quais os pares de espécies ocorrem (Thompson 1988, Cushman & Whitham 1989, Thompson & Pellmyr 1992, Saikkonen *et al.* 1998, Thompson & Cunningham 2002), e estas observações sugerem que a coevolução de mutualismos pode depender de implicações adaptativas entre as espécies, que variam no tempo e no espaço. A importância dessa variação está incluída na teoria de coevolução do mosaico geográfico, que propõe que a trajetória completa da coevolução depende fundamentalmente da estrutura geográfica e da dinâmica dos variáveis efeitos interespecíficos na aptidão dos participantes da interação (Thompson 2005).

Alguns mutualismos são formados por interações envolvendo no mínimo um par de espécies antagonicas e um par de espécies mutualísticas. A maioria dos estudos, porém, considera diretamente a interação entre duas espécies, apesar de a unidade evolutiva de muitos mutualismos envolver no mínimo três espécies de forma que enfatiza as relações evolutivas entre antagonismo e mutualismo (Thompson 1988). Os sistemas de estudo que envolvem mais de duas espécies que interagem (p. ex. interações múltiplas) são importantíssimos, porque as plantas raramente interagem com apenas uma outra espécie e o resultado geralmente não é aditivo (Juenger & Bergelson 1998). Para avaliar a eficiência dos NEFs como mecanismo de defesa, as contribuições de todas as espécies visitantes devem ser consideradas, assim como suas interações. As formigas não são os únicos visitantes dos NEFs, outros artrópodes forrageiam ativamente no néctar produzido por essas estruturas (p. ex. aranhas, vespas, abelhas, besouros, moscas e ácaros) (Hespenheide 1985, Koptur 1985, Pemberton 1993, Pemberton & Vandenberg 1993, Pemberton & Lee 1996, Ruhren & Handel 1999). Além disso, a potencial proteção que estes insetos que se alimentam de néctar podem oferecer tem sido questionada (Koptur 1985, Pemberton & Lee 1996), mas seu efeito na defesa de plantas ainda não foi avaliado diretamente. A presença de formigas em flores pode diminuir a visitação de visitantes florais, e este fenômeno foi demonstrado principalmente por formigas "inconvenientes", que não oferecem benefício algum para as plantas que visitam (Fritz & Morse 1981, O'Dowd & Catchpole 1983, Norment 1988, Visser *et al.* 1996).

O experimento de campo que avaliou o tempo de visitação de vespas em racemos de *C. pallida* mostrou que as vespas são realmente afugentadas pelas formigas que visitam os racemos (*Camponotus* sp.), sendo que algumas apenas reduzem seu tempo de visitação, enquanto outras chegam a deixar o racemo. Foram observadas três espécies de vespas

visitando os racemos: *Polybia paulista*, *Polybia occidentalis* e *Polybia sericea* (Polistinae). As vespas observadas visitando os racemos de *C. pallida* são sociais, e eficientes predadoras de larvas (Raveret-Richter 2000), particularmente porque elas aprendem rápido e voltam repetidamente a locais onde já obtiveram sucesso (Stamp & Bowers 1988). A principal fonte protéica de alimento com a qual os vespídeos sociais abastecem seus ninhos são presas trituradas, especialmente larvas de Lepidoptera caçadas pelas fêmeas, embora outros artrópodes sejam também utilizados (Gobbi *et al.* 1984). Em adição a dieta protéica, as larvas de polistíneos podem também receber néctar (Hunt *et al.* 1987). Vespas adultas se alimentam de líquidos provenientes do corpo das presas, néctar, mel, exsudatos de insetos, suco de frutas maduras e outros produtos açucarados, conteúdos celulares e água (Carpenter & Marques 2001). As vespas predam diretamente as larvas ou as forçam a abandonar a planta (Cuautle & Rico-Gray 2003), e ambos os mecanismos podem regular as atividades de *U. ornatix* em *C. pallida*.

Em um trabalho recente, Ness (2006) mostra que a visitação de polinizadores a flores de *Ferocactus wislizeni*, um cacto que apresenta NEFs, é influenciada pela espécie de formiga presente nas flores. Os polinizadores foram mais freqüentemente observados em plantas nas quais a probabilidade de ataque por formigas era menor. Não obstante, as abelhas passavam menos tempo forrageando em flores ocupadas por formigas, em relação a flores desocupadas, e realizavam ainda as menores visitas a plantas ocupadas pela espécie de formiga considerada a mais agressiva por este estudo. Uma vez que as ameaças de predação e/ou competição podem aumentar com a abundância de formigas em flores, mudanças no forrageamento dos polinizadores podem ter ocorrido em função de uma combinação de aversão a riscos e competição por exploração. Tendo em vista essas informações, é plausível a hipótese de que a predação de larvas de *U. ornatix* por vespas é

maior em plantas sem formigas e que, portanto, as formigas podem estar prejudicando as plantas, em vez de representarem um benefício, pois limitam e/ou dificultam o acesso de predadores de herbívoros da planta às suas presas. Assim, as vespas podem estar exercendo um papel muitas vezes atribuído a formigas (visitantes de NEFs e/ou defensoras das plantas) (Cuautle & Rico-Gray 2003), e dessa forma o estudo do papel de outros visitantes dessas estruturas é essencial para o entendimento de sistemas de interações múltiplas.

Acerca da influência da presença de vespas e formigas na predação de larvas, os resultados indicam que apenas formigas atuaram como fator diferencial de predação entre os tratamentos aplicados, e não foi observada preferência de predação das larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), nas folhas ou nas vagens. Isso pode ser explicado pelo fato de que estes insetos visitam e removem herbívoros de todas as partes da planta, apesar de sua atividade ser mais concentrada nos racemos (Guimarães 2003). Os resultados obtidos neste experimento também não corroboram os dados já vistos, obtidos pelo experimento que avaliou a aptidão dos indivíduos de *C. pallida*. No experimento de avaliação da aptidão das plantas, indivíduos visitados por formigas apresentaram significativamente mais vagens predadas que os indivíduos nos quais a visitação de formigas foi restringida. Se levarmos em considera o a hipótese levantada naquele item, a resposta deste experimento sobre preda o de larvas foi contrária ao que foi pensado com base no experimento de aptidão, uma vez que a taxa de preda o entre os tratamentos com e sem vespas não foi significativa. Este resultado pode talvez ser explicado pelo uso de larvas liofilizadas no experimento, que não apresentam movimento, e essa característica pode ter influenciado negativamente a preda o dessas larvas pelas vespas (Coll & Guershon 2002). Outra explica o pode ser a presença de formigas *Solenopsis*, conhecidas por sua agressividade (Fowler & Pesquero 1996), tanto nas folhas quanto nas vagens. A

atividade das pequenas operárias deste gênero é coordenada por trilhas de feromônio, usadas para recrutar um grande número de indivíduos para grandes itens alimentares (Sudd & Franks 1987) e, em algumas espécies de formigas, estes feromônios territoriais atuam como controladores de comportamento agressivo (Hölldobler & Wilson 1977, Salzemann & Jaffe 1990, Salzemann *et al.* 1992, Mayade *et al.* 1993), o que está de acordo com as observações, já que o ataque às larvas experimentais foi muito rápido e eficiente, e muitas formigas atacavam as larvas ao mesmo tempo. Este comportamento hostil pode ter sido responsável, ao menos em parte, pela ausência de vespas nessas plantas, como já discutido anteriormente. Além disso, a variação geográfica e temporal da composição da guilda de espécies visitantes leva a uma flexibilização das interações entre espécies, e essa flexibilidade cria mosaicos geográficos complexos de interações interespecíficas, de acordo com a teoria de coevolução do mosaico geográfico proposta por Thompson (2005). Dessa forma, nossos resultados podem ter sido influenciados pela espécie de formigas presente na época da realização do experimento em questão.

Em resumo, apesar da interação antagonística entre formigas e vespas ter possivelmente influenciado a taxa diferencial de predação de vagens em plantas com e sem formigas de *C. pallida*, nem sempre as vagens predadas tiveram todas as suas sementes predadas e não foi observada uma diferença significativa no número de sementes disponibilizadas para a próxima geração sugerindo como dito acima que as formigas não afetam a aptidão de *C. pallida*. Portanto, para uma melhor compreensão do sistema aqui estudado, se faz necessária a realização de outros experimentos em diferentes fragmentos, para que eventuais diferenças possam ser detectadas, e esses dados possam então ser analisados à luz da teoria de coevolução do mosaico geográfico (Thompson 2005).

## CONCLUSÕES

- As taxas de predação obtidas neste experimento, realizado onde *C. pallida* é uma espécie introduzida, são semelhantes às aquelas encontradas por experimentos em uma região temperada e, assim, os resultados obtidos podem ter sido influenciados em grande parte por uma baixa pressão de herbivoria e predação de sementes na área de estudo.
- O balanço da relação custo-benefício da proteção potencialmente conferida por formigas pode ser negativo para a aptidão da planta, uma vez que, ao visitar NEFs, estas podem espantar outros inimigos naturais de larvas mais eficientes (vespas) na proteção das plantas contra o ataque de larvas de *U. ornatrix*, e a agressividade exibida pelas formigas varia de acordo com a diversidade de espécies visitantes.
- As vespas são realmente afugentadas pelas formigas que visitam os racemos de *C. pallida*, sendo que algumas apenas reduzem seu tempo de visitação, enquanto outras chegam a deixar o racemo. Essas vespas predam diretamente as larvas ou as forçam a abandonar a planta, e ambos os mecanismos podem regular as atividades de *U. ornatrix* em *C. pallida*, reforçando a idéia de que formigas podem prejudicar as plantas, em vez de representarem um benefício, pois limitam e/ou dificultam o acesso de outros predadores de herbívoros da planta às presas.
- Apesar da intera o antagonística entre formigas e vespas ter possivelmente influenciado a taxa diferencial de preda o de vagens em plantas com e sem formigas de *C. pallida*, o número final de sementes disponibilizadas para a próxima gera o não foi diferente entre plantas com e sem formigas, sugerindo que formigas não afetam a aptidão de *C. pallida*.

- O conjunto de variáveis analisadas indica que, ao menos neste sistema e localidade, as formigas não constituem um mecanismo de defesa, apesar de essa planta apresentar NEFs que poderiam mediar um mecanismo de defesa biótico para proteção de suas estruturas reprodutivas, e não afetam, nem positivamente nem negativamente, a aptidão de *C. pallida*, uma vez que sua presença não ocasionou um aumento na contribuição final dessas plantas para a próxima geração.
- Para que se possa avaliar os reais custos e benefícios das interações entre espécies mutualistas, os estudos devem considerar as interações entre todas as espécies envolvidas, para que relações antagonísticas dentro de um mesmo sistema também sejam detectadas e consideradas no balanço final. Esses sistemas de estudo que envolvem mais de duas espécies que interagem são importantíssimos, porque as plantas raramente interagem com apenas uma outra espécie e o resultado geralmente não é aditivo. Assim, para avaliar a eficiência dos NEFs como mecanismo de defesa, as contribuições de todas as espécies visitantes devem ser consideradas, assim como suas interações.
- A variação geográfica e temporal da composição da guilda de espécies visitantes leva a uma flexibilização das interações entre espécies, e essa flexibilidade cria mosaicos geográficos complexos de interações interespecíficas, de acordo com a teoria de coevolução do mosaico geográfico proposta por Thompson (2005).
- Portanto, para uma melhor compreensão do sistema aqui estudado, se faz necessária a realização de outros experimentos em diferentes fragmentos, para que eventuais diferenças possam ser detectadas, e esses dados possam então ser analisados à luz da teoria de coevolução do mosaico geográfico.

**LITERATURA CITADA**

- Addicott J F (1984) Mutualistic interactions in population and community processes. In: Price PW, Slobodchikoff CN, Gaud WS (eds) *A New Ecology*. John Wiley & Sons, New York, pp 438-455
- Alfonso H A, Sanchez LM, Figueredo MD, Gomez BC (1993) Intoxication due to *Crotalaria retusa* and *C. spectabilis* in chickens and geese. *Veterinary & Human Toxicology* 35: 539
- Almeida EC (1986) Biologia floral e mecanismo de reprodução em *Crotalaria mucronata* Desv. *Revista Ceres* 33: 529–540
- Baldwin IT, Preston CA (1999) The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores. *Planta* 208: 137–145
- Barton AM (1986) Spatial variation in the effect of ants on an extrafloral nectary plant. *Ecology* 67: 495 – 504
- Barton Browne L (1975) Regulatory mechanisms in insect feeding. *Recent Advances on Insect Physiology* 11: 1-116
- Beattie AJ (1985) *The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms*. Cambridge University Press, Oxford.
- Begon M, Harper JL, Townsend CR (1996) *Ecology: individuals, populations and communities*. Blackwell Science, Oxford
- Bentley BL (1977a) Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards. *Annual Review of Ecology and Systematics* 8: 407 - 427
- Bentley BL (1977b) The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixa orellana* (Bixaceae). *Journal of Ecology* 65: 27 - 38

- Bronstein JL (1998) The contribution of ant-plant protection studies to our understanding of mutualism. *Biotropica* 30: 150 – 161
- Bronstein JL, Hossaert-McKey M (1995) Hurricane Andrew and a Florida fig pollination mutualism: resilience of an obligate interaction. *Biotropica* 27:373–381
- Carpenter JM, Marques OM (2001) Contribuição do estudo dos vespídeos do Brasil (Insecta, Hymenoptera, Vespoidea, Vespidae) [CDROM]. Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas, BA
- Carroll CR, Janzen DH (1973) Ecology of foraging by ants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 4: 231 - 257
- Coley PD, Bryant JP, Chapin FS (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* 230: 895 - 899
- Coll M, Guershon M (2002) Omnivory in terrestrial arthropods: mixing plant and prey diets. *Annual Review of Entomology* 47: 267 - 297
- Crawley MJ (1983) *Herbivory: the dynamics of animal-plant interactions*. University of California Press, Berkeley
- Cuautle M, Rico-Gray V (2003) The effect of wasps and ants on the reproductive success of the extrafloral nectaried plant *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *Functional Ecology* 17: 417 - 423
- Cushman JH, Addicott JF (1991) Conditional interactions in ant-plant mutualisms. In: Huxley CR, Cutler DF (eds) *Ant-Plant Interactions*. Oxford University Press, Oxford, pp 92 – 103
- Cushman JH, Whitham TG (1989) Conditional mutualism in a membracid-ant association: temporal, age-specific, and density-dependent effects. *Ecology* 70: 1040–1047
- Davidson DW, McKey D (1993) Ant-plant symbioses: stalking the Chuyachaqui. *Trends in*

- Ecology & Evolution 8: 326 - 331
- De La Fuente MAS, Marquis RJ (1999) The role of ant-tended extrafloral nectaries in the protection of a neotropical rainforest tree. *Oecologia* 118: 192 - 202
- Devries PJ (1991) Evolutionary and ecological patterns in myrmecophilous riodinid butterflies. In: Huxley CR, Cutler DF (eds) *Ant-Plant Interactions*. Oxford University Press, Oxford, pp 143 - 156
- Dussourd DE, Ubik K, Harvis C, Resch J, Meinwald J, Eisner T (1988) Biparental defensive endowment of eggs with acquired plant alkaloid in the moth *Utetheisa ornatix*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America Biological Sciences* 85: 5992 - 5996
- Elias TS (1983) Extrafloral nectaries: their structure and distribution. In: Bentley BL, Elias TS (eds) *The biology of nectaries*. Columbia University Press, New York, pp 174 - 203
- Elias TS (1972) Morphology and anatomy of foliar nectaries of *Pithecellobium macradenium* (Leguminosae). *Botanical Gazette* 133: 38 - 42
- Endress PK (1996) *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press, Cambridge
- Etcheverry AV, Protomastro JJ, Westerkamp C (2003) Delayed autonomous self-pollination in the colonizer *Crotalaria micans* (Fabaceae: Papilionoideae): structural and functional aspects. *Plant Systematics and Evolution* 239: 15–28
- Feeny P (1976) Plant apparency and Chemical Defense. *Recent Advances in Phytochemistry* 10: 1 - 40
- Ferro VG (2001) Padrão de utilização de *Crotalaria* spp. (Leguminosae, Papilionoideae, Crotalarieae) por larvas de *Utetheisa ornatix* (Lepidoptera: Arctiidae). Tese de

- Mestrado. Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas, SP.
- Ferro VG, Guimarães PR, Trigo JR (2006) Why do larvae of *Utetheisa ornatrix* penetrate and feed in pods of *Crotalaria* species? Larval performance vs. chemical and physical constraints. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 121: 23 – 29
- Fowler HG, Pesquero MA (1996) Ant assemblage (Hymenoptera: Formicidae) of the Ilha do Cardoso State Park and their relation with vegetation types. *Revista Brasileira de Biologia* 56: 427 – 433
- Freitas AVL, Oliveira PS (1996) Ants as selective agents on herbivore biology: effects on the behaviour of a non-myrmecophilous butterfly. *Journal of Animal Ecology* 65: 205 – 210
- Frey-Wyssling A (1955) The phloem supply to the nectaries. *Acta Botanica Neerlandica* 4: 358–369
- Fritz RS, Morse DH (1981) Nectar parasitism of *Asclepias syriaca* by ants: effects on nectar levels, pollinia insertion, pollinaria removal and pod production. *Oecologia* 50: 316 - 319
- Gobbi N, Machado VLL, Tavares-Filho JÁ (1984) Sazonalidade das presas utilizadas na alimentação de *Polybia occidentalis occidentalis* (Olivier, 1791) (Hym., Vespidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 13: 63-69
- Gomulkiewicz R, Thompson JN, Holt RD, Nuismer SL, Hochberg ME (2000) Hot spots, cold spots, and the geographic mosaic theory of coevolution. *American Naturalist* 156:156–174
- Guimarães PR (2003) Predação de sementes em *Crotalaria pallida* (Leguminosae; Papilionoidae; Crotalarieae). Fatores dependentes de densidade e defesas bióticas e químicas. Tese de Mestrado. Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas, SP.

- Guimarães Jr PR, Raimundo RLG, Bottcher C, Silva RR, Trigo JR (2006) Extrafloral nectaries as a deterrent mechanism against seed predators in the chemically protected weed *Crotalaria pallida* (Leguminosae). *Austral Ecology* 31: 776 - 782
- Heads PA e Lawton JH (1984) Bracken, ants and extrafloral nectaries. II The effect of ants on the insect herbivores of bracken. *Journal of Animal Ecology* 53: 1015 - 1031
- Heil M, McKey D (2003) Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 34: 425 - 53
- Heil M, Baldwin IT (2002) Fitness costs of induced resistance – The emerging experimental support for a slippery concept. *Trends in Plant Science* 7: 61–67
- Heil M, Hilpert A, Fiala B, Linsenmair KE (2001) Nutrient availability and indirect (biotic) defence in a malaysian ant-plant. *Oecologia* 126: 404–408
- Heil M, Fiala B, Linsenmair KE, Zotz G, Menke P, Maschwitz U (1997) Food body production in *Macaranga triloba* (Euphorbiaceae): a plant investment in anti-herbivore defence via mutualistic ant partners. *Journal of Ecology* 85: 847–861
- Herre EA (1987) Optimality, plasticity and selective regime in fig wasp sex ratios. *Nature* 329:627–629
- Hespenheide HA (1985) Insect visitors to extrafloral nectaries of *Byttneria aculeate* (Sterculiaceae) – relative importance and roles. *Ecological Entomology* 191-204
- Hölldobler B, Wilson EO (1977) Colony specific territorial pheromone in the African weaver ant *Oecophylla longinoda* (Latreille). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences* 74: 2072–2075
- Hooper PT, Scanlan WA (1977) *Crotalaria retusa* poisoning of pigs and poultry. *Australian Veterinary Journal* 53: 109–114

- Horvitz CC, Schemske DW (1990) Spatiotemporal variation in insect mutualists of a neotropical herb. *Ecology* 71: 1085 - 1097
- Horvitz CC, Schemske DW (1984) Effects of ants and an ant-tended herbivore on seed production of a neotropical Herb. *Ecology* 65: 1369 - 1378
- Hunt JH, Jeanne RL, Baker I, Grogan DE (1987) Nutrient dynamics of a swarm-founding social wasp species, *Polybia occidentalis* (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology* 75: 291 - 305
- Hunter MD, Price PW (1992) Playing chutes and ladders: heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top-down forces in natural communities. *Ecology* 73: 724 - 732
- Huxley CR (1991) Ants and plants: a diversity of interactions. In: Huxley CR, Cutler DF (eds) *Ant-plant interactions*. Oxford University Press, Oxford, pp 1 - 11
- Inouye DW, Taylor OR (1979) A temperate region plant-ant-seed predator system: consequences of extrafloral nectar secretion by *Eliaethella quinquenervis*. *Ecology* 60: 1-7
- Itioka T, Inoue T (1999) The alternation of mutualistic ant species affects the population growth of their trophobiont mealybug. *Ecography* 22: 169–177
- Jaffe K, Pavis C, Vansuyt G, Kermarrec A (1989) Ants visit extrafloral nectaries of the orchid *Spathoglottis plicata* Blume. *Biotropica* 21: 278 - 279
- Janzen, DH (1969) Allelopathy by myrmecophytes: the ant *Azteca* as an allelopathic agent of *Cecropia*. *Ecology* 50: 147 - 153
- Janzen DH (1966) Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution* 20: 249 - 275

- Johnson AE, Molyneux RJ, Merrill GB (1985) Chemistry of toxic range plants. Variation in pyrrolizidine alkaloid content of *Senecio*, *Amsinckia* and *Crotalaria* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 33: 50 – 55
- Juenger T, Bergelson J (1998) Pairwise versus diffuse natural selection and the multiple herbivores of scarlet gilia, *Ipomopsis aggregata*. *Evolution* 52: 1583-1592
- Kaneko S (2003) Different impacts of two species of aphid attending ants with different aggressiveness on the number of emerging adults of the aphid's primary parasitoid and hyperparasitoids. *Ecological Research* 18: 199–212
- Kapan DD (2001) Three-butterfly system provides field test of mullerian mimicry. *Nature* 409:338–340
- Keeler KH (1981) Function of *Mentzelia nuda* (Loasaceae) post-floral nectaries in seed defense. *American Journal of Botany* 68: 295 - 299
- Kelly CA (1986) Extrafloral nectaries: ants, herbivores and fecundity in *Cassia fasciculata*. *Oecologia* 69: 600 – 605
- Kjellberg FE, Bronstein JL, Patel A, Yokoyama J, Rasplus JY (2001) Pollination mode in fig wasps: the predictive power of correlated traits. *Proceedings of the Royal Society of London* 268: 1113–1121
- Koptur S (1991) Extrafloral nectaries of herbs and trees: modelling the interaction with ants and parasitoids. In: Huxley CR, Cutler DF (eds) *Ant-plant interactions*. Oxford University Press, Oxford, pp 213 – 230
- Koptur S (1985) Alternative defenses against herbivores in *Inga* (Fabaceae: Mimosoidae) over an elevational gradient. *Ecology* 66: 1639 - 1650
- Koptur S (1984) Experimental evidence for defense of *Inga* (Mimosoideae) saplings by ants. *Ecology* 65: 1787 - 1793

- Koptur S (1979) Facultative mutualism between weedy vetches bearing extrafloral nectaries and weedy ants in California. *American Journal of Botany* 66: 1016 - 1020
- Koptur S, Rico-Gray V, Palacios-Rios M (1998) Ant protection of the nectaried fern *Polypodium plebeium* in central Mexico. *American Journal of Botany* 85: 736–739
- Koptur S, Lawton JH (1988) Interactions among vetches bearing extrafloral nectaries, their biotic protection agents, and herbivores. *Ecology* 69: 278 - 283
- Lawton JH, Heads PA (1984) Bracken, ants and extrafloral nectaries. I The components of the system. *Journal of Animal Ecology* 53: 995 – 1014
- Letourneau DK (1983) Passive aggression: an alternative hypothesis for the *Piper-Pheidole* association. *Oecologia* 60: 122 - 126
- Lorenzi H (1991) Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. Editora Plantarum, Nova Odessa
- Marquis RJ, Whelan C (1996) Plant morphology and recruitment of the third trophic level: subtle and little-recognized defenses? *Oikos* 75: 330 - 334
- Mayade S, Cammaerts MC, Suzzoni JP (1993) Home-range marking and territorial marking in *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera, Formicidae). *Behavioural Processes* 30: 131–142
- McKey D (1984) Interaction of the ant-plant *Leonardoxa africana* (Caesalpiniaceae) with its obligate inhabitants in a rainforest in Cameroon. *Biotropica* 16: 81 - 99
- McKey D (1979) The distribution of secondary compounds within plants. In: Rosenthal GA, Janzen DH (eds) *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*. Academic Press, San Diego, California, pp 55-133
- Mody K, Linsenmair KE (2004) Plant-attracted ants affect arthropod community structure but not necessarily herbivory. *Ecological Entomology* 29: 217-225

- Moore LR (1978) Seed predation in the legume *Crotalaria*. *Oecologia* 34: 185 – 202
- Ness JH (2006) A mutualism's indirect costs: the most aggressive plant bodyguards also deter pollinators. *Oikos* 113: 506-514
- Ness JH (2003a) Contrasting exotic *Solenopsis invicta* and native *Forelius pruinosus* ants as mutualists with *Catalpa bignonioides*, a native plant. *Ecological Entomology* 28: 247-251
- Ness JH (2003b) *Catalpa bignonioides* alters extrafloral nectar production after herbivory and attracts ant bodyguards. *Oecologia* 134: 210-218
- Norment CJ (1988) The effect of nectar-thieving ants on the reproductive success of *Frasera speciosa* (Gentianaceae). *American Midland Naturalist* 120: 331 - 336
- O'Dowd DJ, Catchpole EA (1983) Ants and extrafloral nectaries: no evidence for plant protection in *Helichrysum* spp. ant interactions. *Oecologia* 59: 191 - 200
- Oliveira PS, Freitas AVL (2004) Ant–plant–herbivore interactions in the neotropical cerrado savanna. *Naturwissenschaften* 91: 557–570
- 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). *Functional Ecology* 13: 623 - 631
- Oliveira PS, Leitão-Filho HF (1987) Extrafloral nectaries: their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of cerrado vegetation in southeast Brazil. *Biotropica* 19: 140 - 148
- Oliveira PS, da Silva AF, Martins AB (1987) Ant foraging on extrafloral nectaries of *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) in cerrado vegetation: ants as potential antiherbivore agents. *Oecologia* 74: 228 - 230

- Oliveira ALPC (1992) Evolução cariotípica no gênero *Crotalaria* L. (Leguminosae). Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luis de Queiros, São Paulo, Brasil
- Pellmyr O, Krenn HW (2002) Origin of a complex key innovation in an obligate insect-plant mutualism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 99:5498–5502
- Pellmyr O, Thompson JN, Brown JM, Harrison RG (1996) Evolution of pollination and mutualism in the yucca moth lineage. *American Naturalist* 148: 827–847
- Pellmyr O, Huth CJ (1994) Evolutionary stability of mutualism between yuccas and yucca moths. *Nature* 372:257–260
- Pemberton RW (1993) Observations of extrafloral nectar feeding by predaceous and fungivorous mites. *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 95: 642-643
- Pemberton RW (1992) Fossil extrafloral nectaries, evidence for the ant-guard antiherbivore defense in an Oligocene populus. *American Journal of Botany* 79: 1242 - 1246
- Pemberton RW (1990) The occurrence of extrafloral nectaries in korean plants. *Korean Journal of Ecology* 13: 251 – 266
- Pemberton RW, Lee JH (1996) The influence of extrafloral nectaries on parasitism of an insect herbivore. *American Journal of Botany* 83: 1187-1194
- Pemberton RW, Vandenberg NJ (1993) Extrafloral nectar feeding by ladybird beetles (Coleoptera, Coccinellidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 95: 139-151
- Polhill RM (1982) *Crotalaria* in Africa and Madagascar. A. A. Balkema, Rotterdam.

- Price PW (1992) Plant resources as the mechanistic basis for insect herbivore population dynamics. In: Hunter MD, Ohgushi T, Price PW (eds) Effects of resource distribution on animal-plant interactions. Academic Press, San Diego, pp 139 - 173
- Price PW (1986) Ecological aspects of host plant resistance and biological control: interactions among three trophic levels. In: Boethel DJ, Eikenbary RD (eds) Interactions of plant resistance and parasitoids and predators of insects. Ellis Horwood, Chichester, pp 11 - 30
- Price PW, Bouton CE, Gross P, McPherson BA, Thompson JN, Weis AE (1980) Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 41 - 65
- Rashbrook VK, Compton SG, Lawton JH (1992) Ant-herbivore interactions: reasons for the absence of benefits to a fern with foliar nectaries. *Ecology* 73: 2167 - 2174
- Rashbrook VK, Compton SG, Lawton JH (1991) Bracken and ants: why is there no mutualism? In: Huxley CR, Cutler DF (eds) Ant-plant interactions. Oxford University Press, Oxford, pp 231 – 237
- Raveret-Richter M (2000) Social wasp (Hymenoptera: Vespidae) foraging behavior. *Annual Review of Entomology* 45: 121-150
- Rico-Gray V, Oliveira PS (2007) The ecology and evolution of ant-plant interactions. The University of Chicago Press, Chicago.
- Rico-Gray V, Thien LB (1989a) Ant-mealybug interaction decreases reproductive fitness of *Schomburgkia tibicinis* (Orchidaceae) in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 5: 109-112
- Rico-Gray V, Thien LB (1989b) Effect of different ant species on reproductive fitness of

- Schomburgkia tibicinis* (Orchidaceae). *Oecologia* 81: 487-489
- Rudgers JA (2004) Enemies of herbivores can shape plant traits: selection in a facultative ant-plant mutualism. *Ecology* 85: 192 – 205
- Rudgers JA, Gardener MC (2004) Extrafloral nectar as a resource mediating multispecies interactions. *Ecology* 85: 1495 – 1502
- Ruhren S, Handel SN (1999) Jumping spiders (Salticidae) enhance the seed production of a plant with extrafloral nectaries. *Oecologia* 119: 227-230
- Rutter MT, Rausher MD (2004) Natural selection on extrafloral nectar production in *Chamaecrista fasciculata*: the costs and benefits of a mutualism trait. *Evolution* 58: 2657-2668
- Saikkonen K, Faeth SH, Helander M, Sullivan TJ (1998) Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:319–343
- Salzemann A, Nagnan P, Tellier F, Jaffe K (1992) Leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Formicidae: Attini) marks its territory with colony-specific Dufour gland secretion. *Journal of Chemical Ecology* 18: 183–196
- Salzemann A, Jaffe K (1990) On the territorial behaviour of field colonies of the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Hymenoptera: Myrmicinae). *Journal of Insect Physiology* 36: 133–138
- Schemske DW (1982) Ecological correlates of a neotropical mutualism - ant assemblages at *Costus* extrafloral nectaries. *Ecology* 63: 932-941
- Schemske DW (1980) The evolutionary significance of extrafloral nectar production by *Costus woodsonii* (Zingiberaceae): an experimental analysis of ant protection. *Journal of Ecology* 68: 959 - 967

- Schemske DW, Horvitz CC (1988) Plant-animal interactions and fruit production in a neotropical herb: a path analysis. *Ecology* 69: 1128 - 1137
- Sharma RK, Kasture AV, Kapoor KK, Atal CK (1965) Phytochemical investigation of the genus *Crotalaria*. Part V. Occurrence of tertiary bases and their N-oxides in indian *Crotalaria*. *Lloydia*, 28: 209 - 211
- Simms EL, Fritz RS (1990) The ecology and evolution of host-plant resistance to insects. *Trends in Ecology and Evolution* 5: 356 - 360
- Smiley J (1986) Ant constancy at *Passiflora* extrafloral nectaries: effects on caterpillar survival. *Ecology* 67: 516 - 521
- Smiley J (1985) *Heliconius* caterpillar mortality during establishment on plants with and without attending ants. *Ecology* 66: 845 - 849
- Stamp NE, Bowers MD (1988) Direct and indirect effects of predatory wasps (*Polistes* sp. Vespidae) on gregarious caterpillars (*Hemileuca lucina*: Saturnidae). *Oecologia* 75: 619 - 624
- Stanton ML (2003) Interacting guilds: moving beyond the pairwise perspective on mutualisms. *American Naturalist* 162:S10–S23
- Stephenson AG (1982) The role of extrafloral nectaries of *Catalpa speciosa* in limiting herbivory and increasing fruit production. *Ecology* 63: 663 – 669
- Sudd JH, Franks NR (1987) The behavioural ecology of ants. Blackie/Chapman and Hall, New York, NY
- Suttle KB (2003) Pollinators as mediators of top-down effects on plants. *Ecology Letters* 6: 688 - 694
- Thompson JN (2005) The geographic mosaic of coevolution. University of Chicago Press, Chicago

- Thompson JN (1988) Variation in interspecific interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 19: 65 – 87
- Thompson JN, Cunningham BC (2002) Geographic structure and dynamics of coevolutionary selection. *Nature* 417:735–738
- Thompson JN, Pellmyr O (1992) Mutualism with pollinating seed parasites amid copollinators: constraints on specialization. *Ecology* 73:1780–1791
- Tilman D (1978) Cherries, ants, and tent caterpillars: timing of nectar production in relation to susceptibility of caterpillars to ant predation. *Ecology* 59: 686 - 692
- Van Dam NM, Vuister LWM, Bergshoeff C, De Vos H, Van der Meijden E (1995) The "raison d'être" of pyrrolizidine alkaloids in *Cynoglossum officinale*: deterrent effects against generalists herbivores. *Journal of Chemical Ecology* 21: 507 – 523
- Visser D, Wright MG, Gomee JH (1996) The effect of the argentine ant, *Linepithema humile* (Mayr) (Formicidae), on flower-visiting insects of *Protea nitida* Mill. (Proteaceae). *African Entomology* 4: 285 - 287
- Whitman D (1994) Plant bodyguards: mutualistic interactions between plants and the third trophic level. In: Ananthakrishnan TN (ed) *Functional dynamics of phytophagous insects*. Science Publishers Inc, Lebanon, pp 207 - 248
- Wunnachit W, Jenner CF, Sedgley M (1992) Floral and extrafloral nectar production in *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae): an andromonoecious species. *International Journal of Plant Sciences* 153: 413 - 420
- Zar JH (1999) *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey

Figura 1



Figura 2



Figura 1. Inflorescência de *Crotalaria* sendo visitada por abelha em busca de néctar.

Figura 2. Indivíduo de *Crotalaria pallida*.

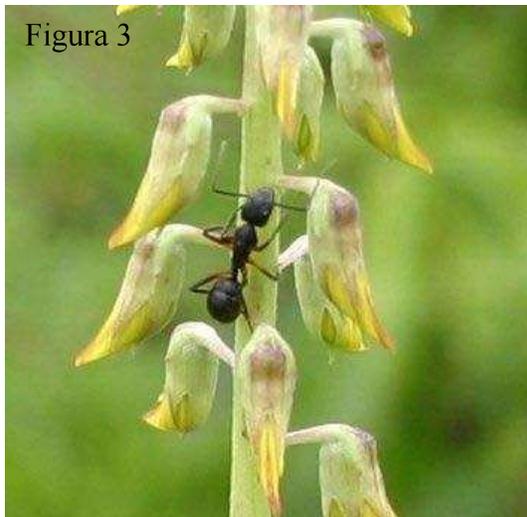


Figura 3



Figura 4

Figura 3. Formiga visitando NEF de *C. pallida*.

Figura 4. Larva da mariposa *Utetheisa ornatix* (Lepidoptera, Arctiidae) atacando vagem de *C. pallida*.



Figura 5. Foto aérea de parte do bairro Village Campinas, Campinas, SP. A linha azul delimita a área onde se encontravam os indivíduos de *C. pallida* do entorno, a linha vermelha delimita a área de estudo, onde se encontravam os indivíduos de *C. pallida* experimentais.



Figura 6. Larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera, Tenebrionidae) coladas em vagens (6A) e folha (6B) de *C. pallida*.



Figura 7. Gaiola de exclusão para impedir o acesso de vespas às plantas.

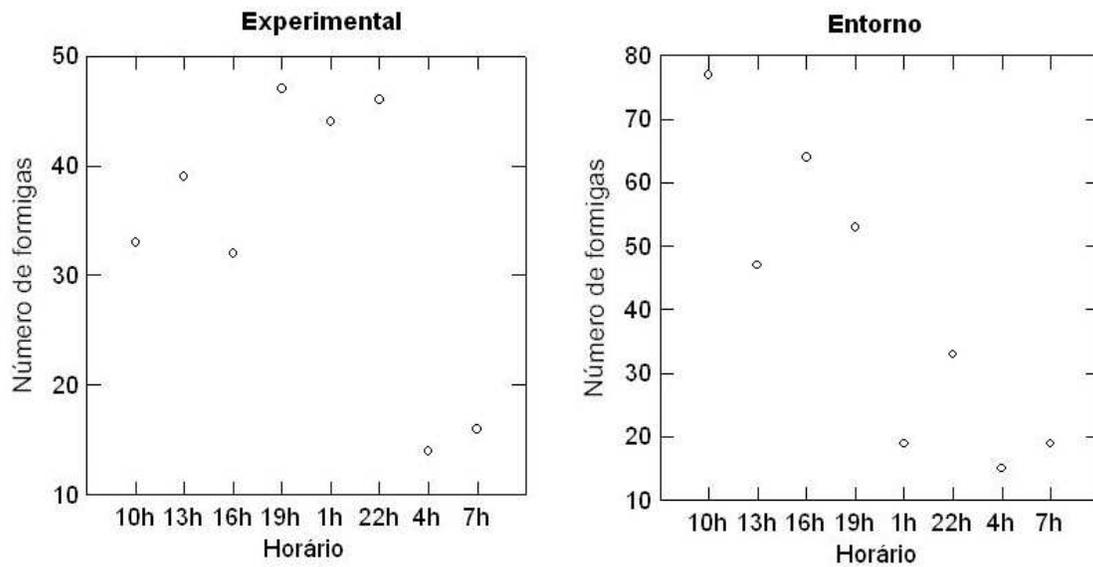


Figura 8. Número de formigas observadas nos indivíduos de *C. pallida* envolvidos nos experimentos e no entorno, durante o censo de 08/12/2005.

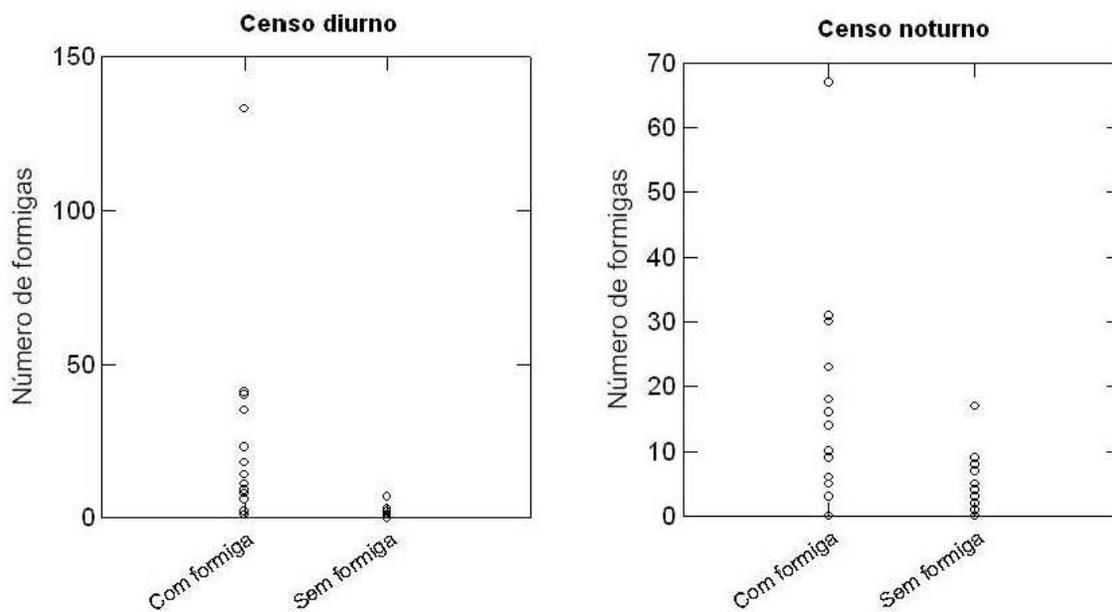


Figura 9. Número de formigas observadas nos indivíduos de *C. pallida* durante os censos diurno e noturno de 14/12/2005.

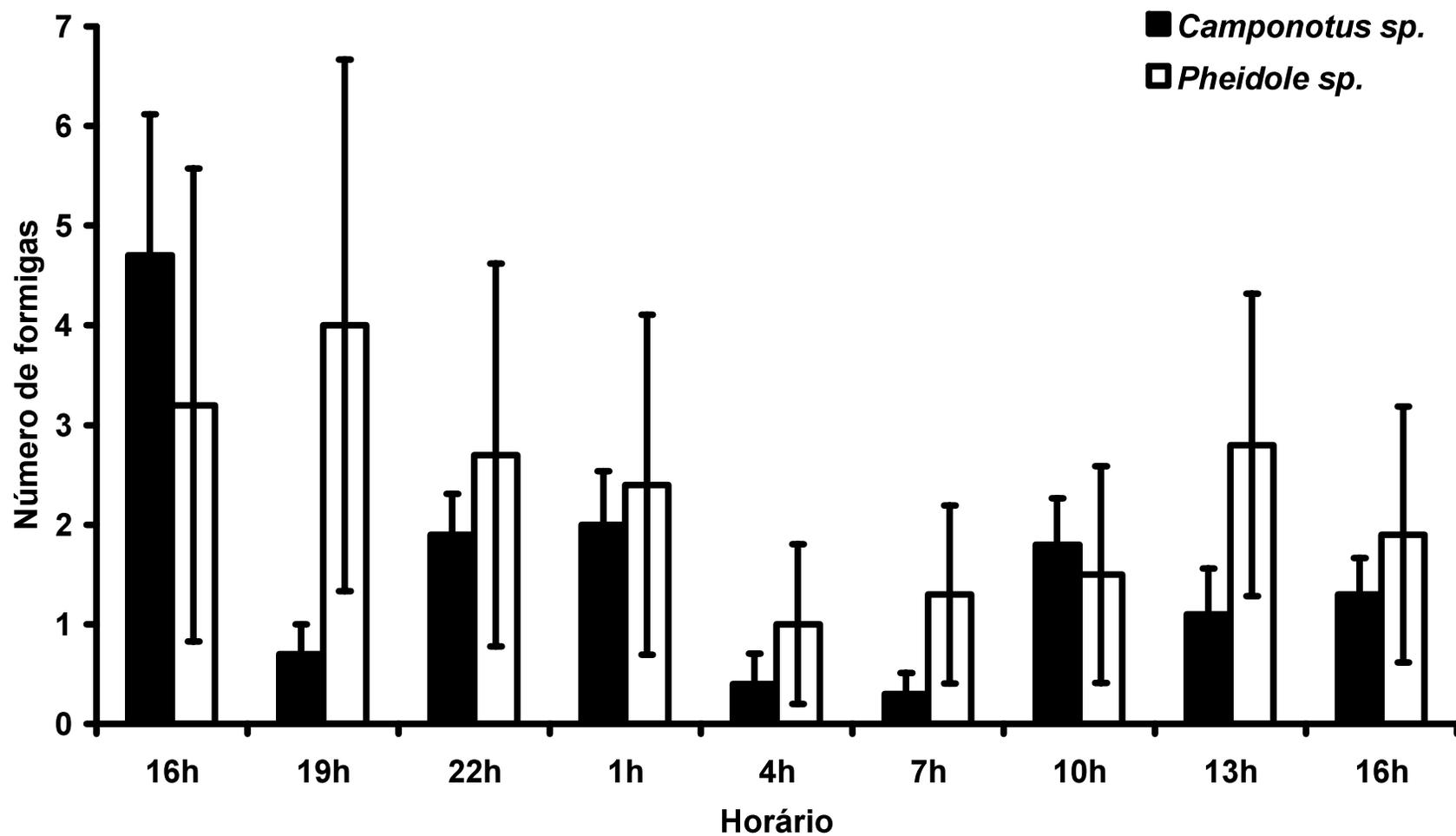


Figura 10. Número de formigas de cada gênero ( $\bar{X} \pm EP$ ) observadas nos indivíduos de *C. pallida* envolvidos nos experimentos durante o censo de 08/12/2005.

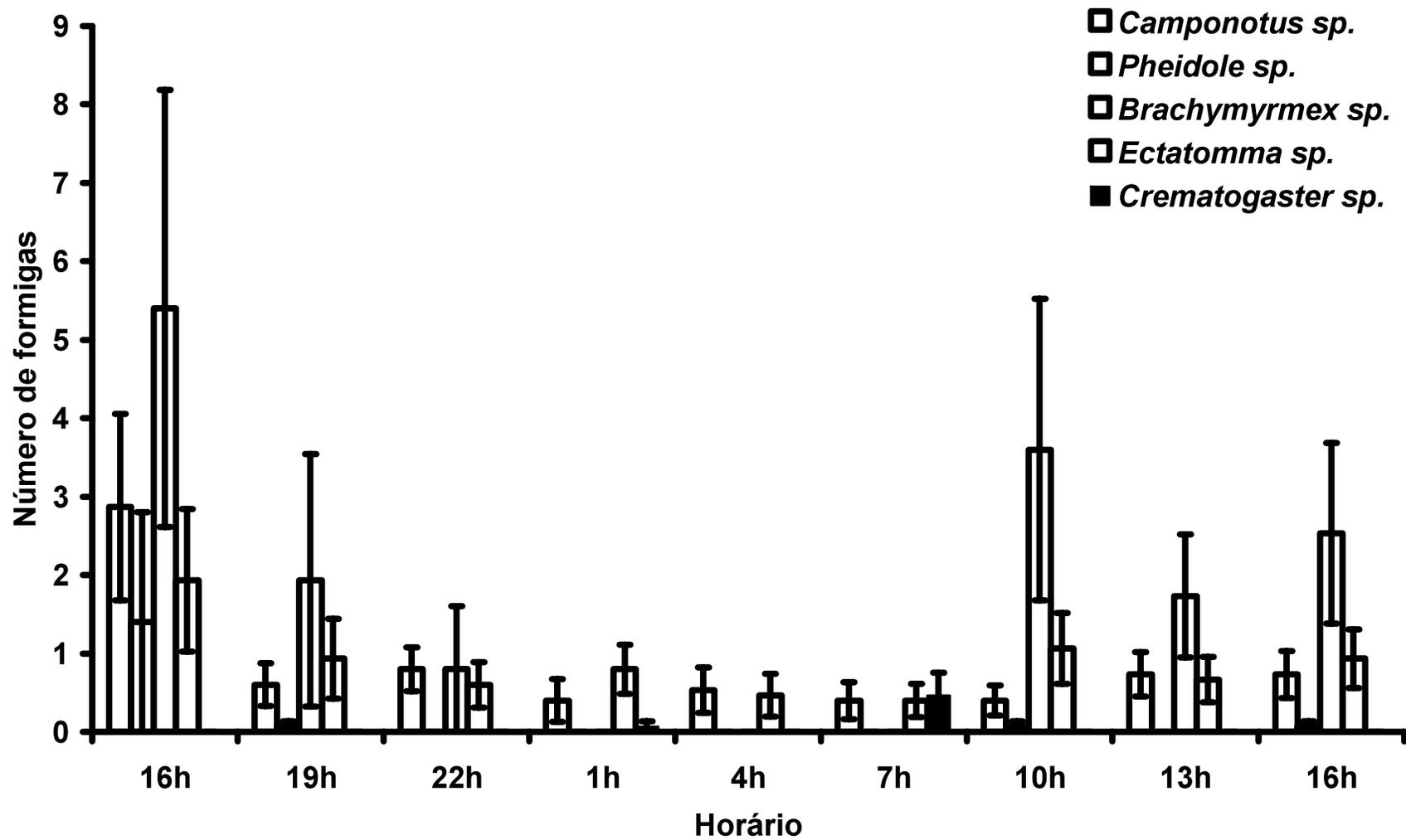


Figura 11. Número de formigas de cada gênero ( $\bar{X} \pm EP$ ) observadas nos indivíduos de *C. pallida* do entorno durante o censo de

08/12/2005

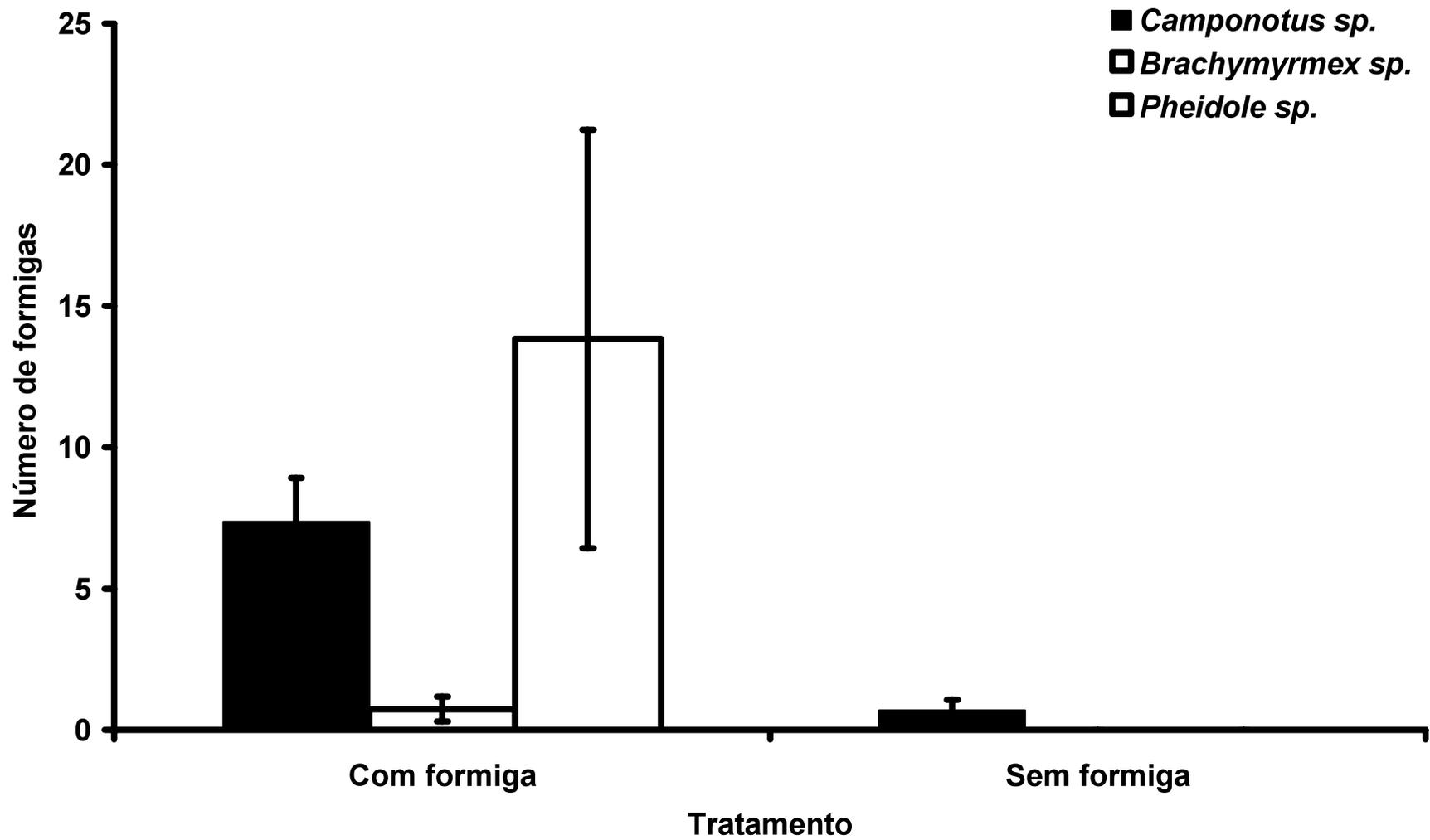


Figura 12. Número de formigas de cada gênero ( $\bar{X} \pm EP$ ) observadas nos indivíduos de *C. pallida* durante o censo diurno de 14/12/2005.

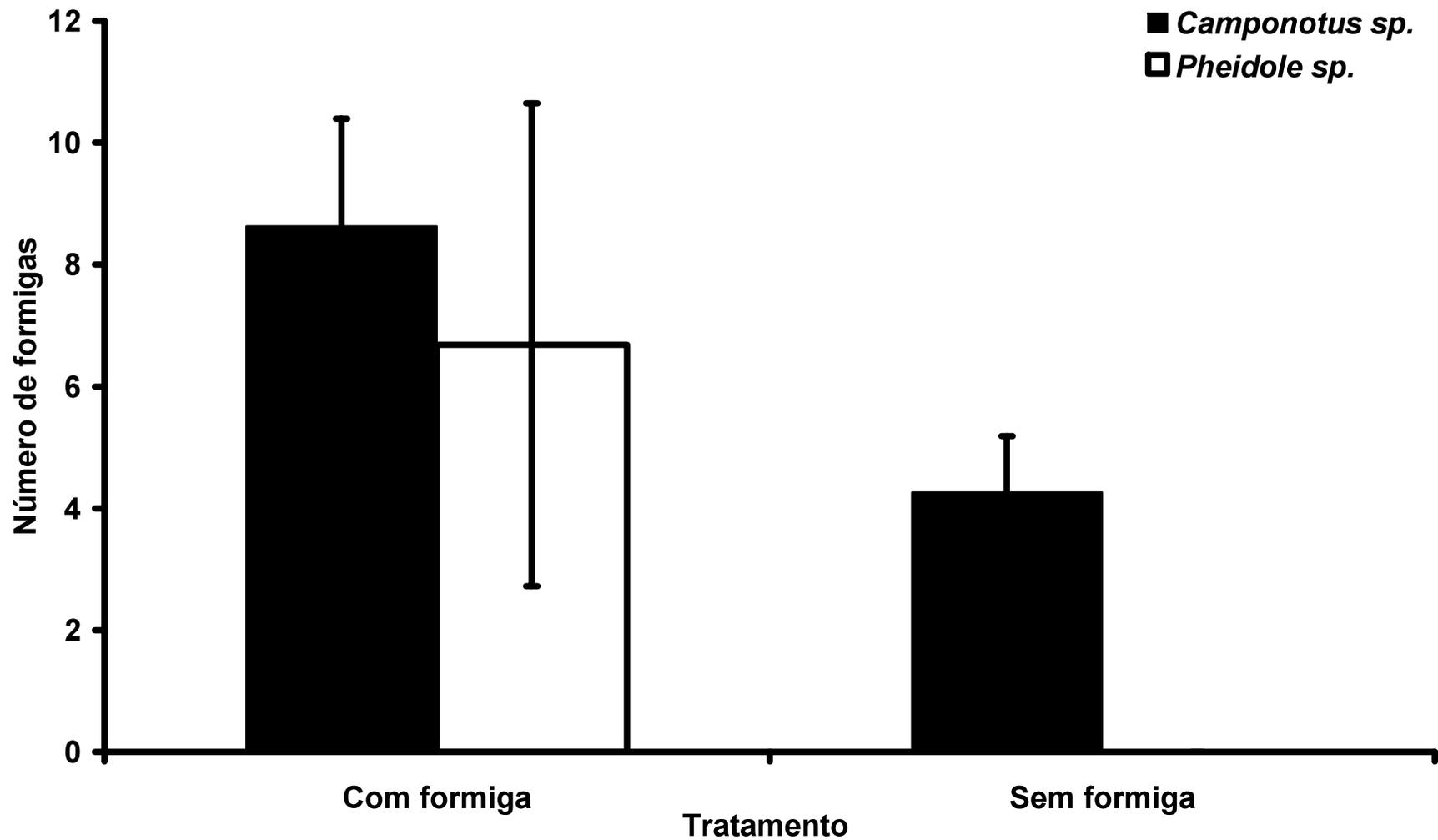


Figura 13. Número de formigas de cada gênero ( $\bar{X} \pm EP$ ) observadas nos indivíduos de *C. pallida* durante o censo noturno de 14/12/2005.

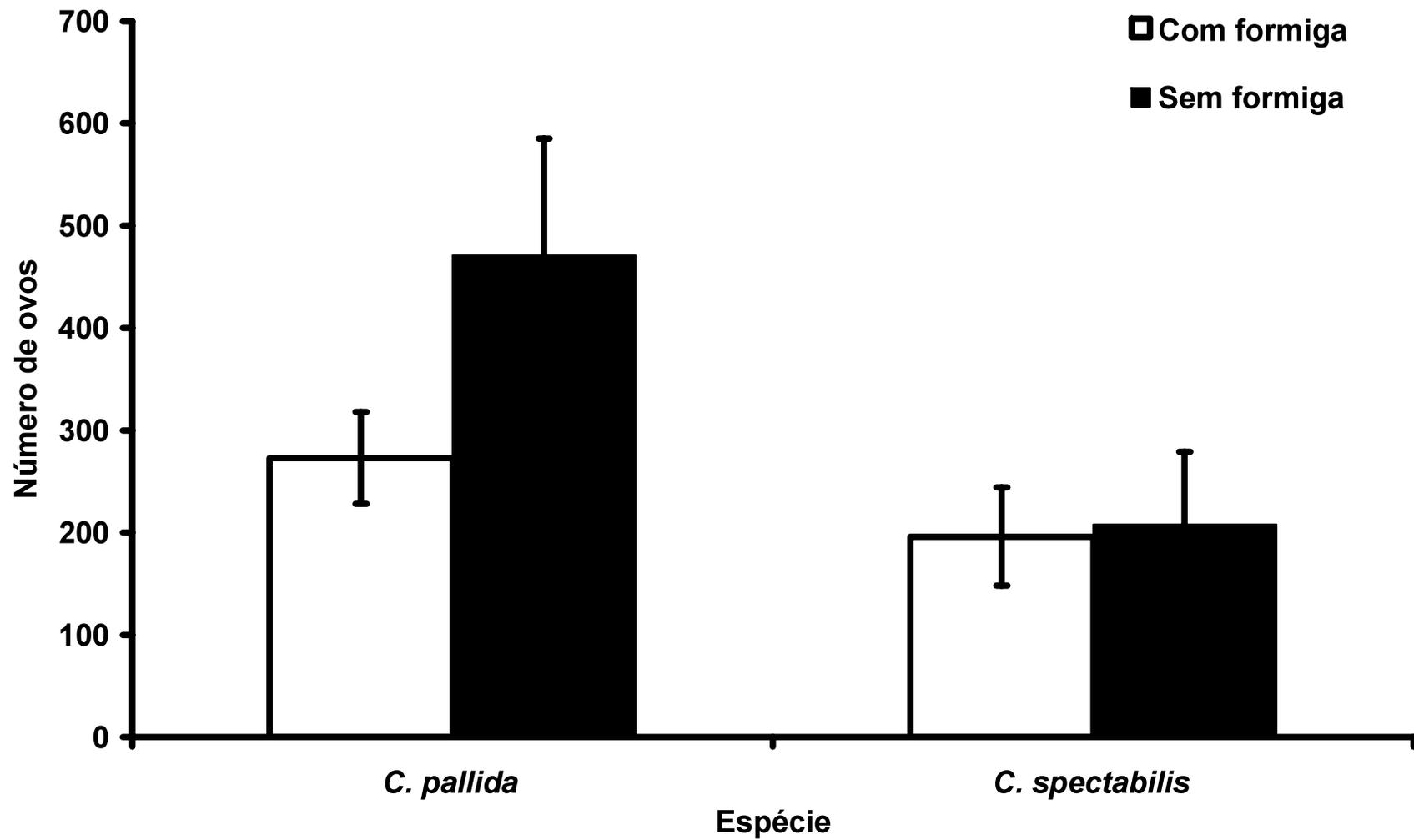


Figura 14. Número de ovos ( $\bar{X} \pm EP$ ) de *U. ornatrix* encontrados em folhas de *C. pallida* e *C. spectabilis*.

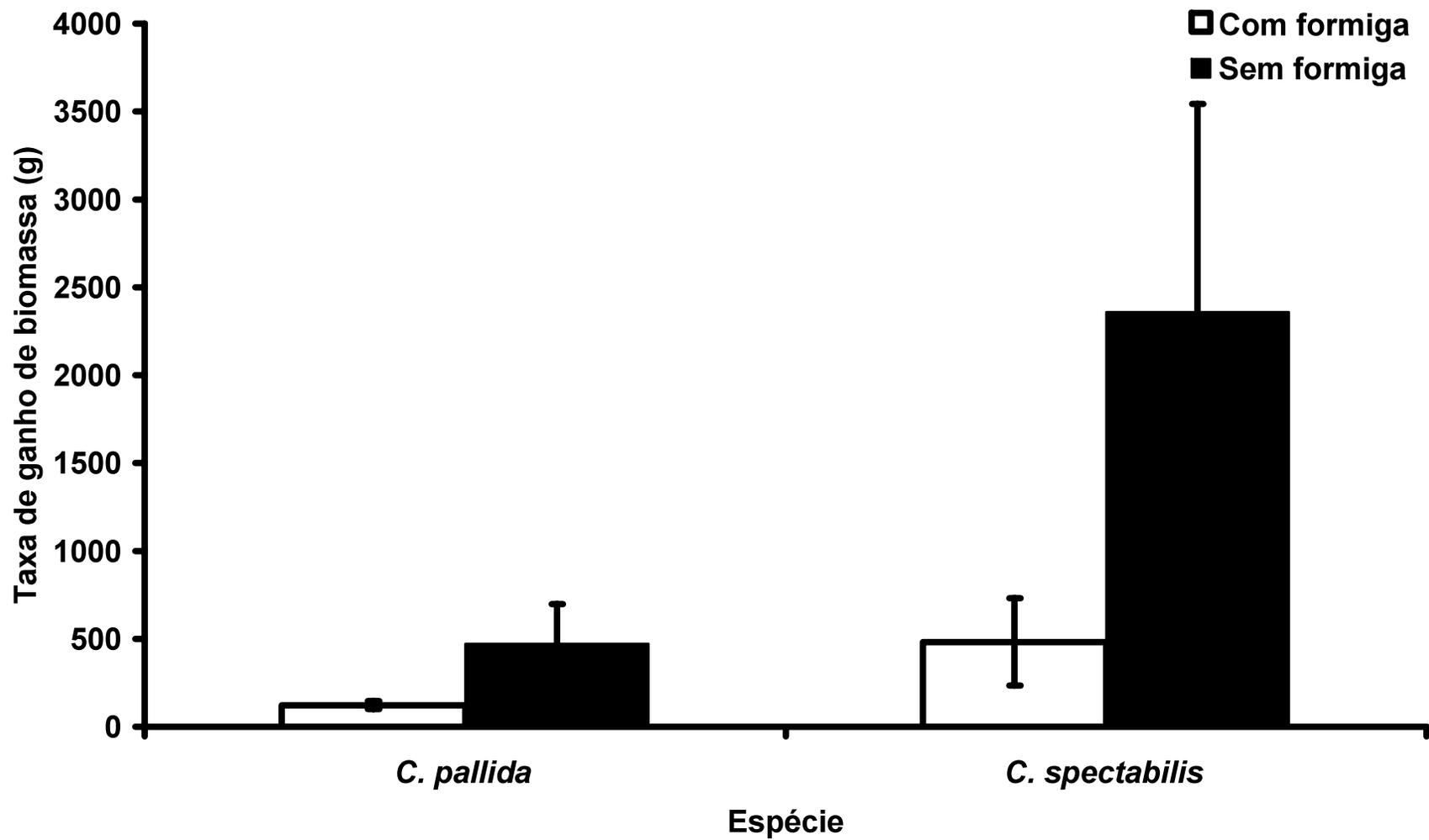


Figura 15: Taxa de ganho de biomassa (g) ( $\bar{X} \pm EP$ ) dos indivíduos de *C. pallida* e *C. spectabilis*.

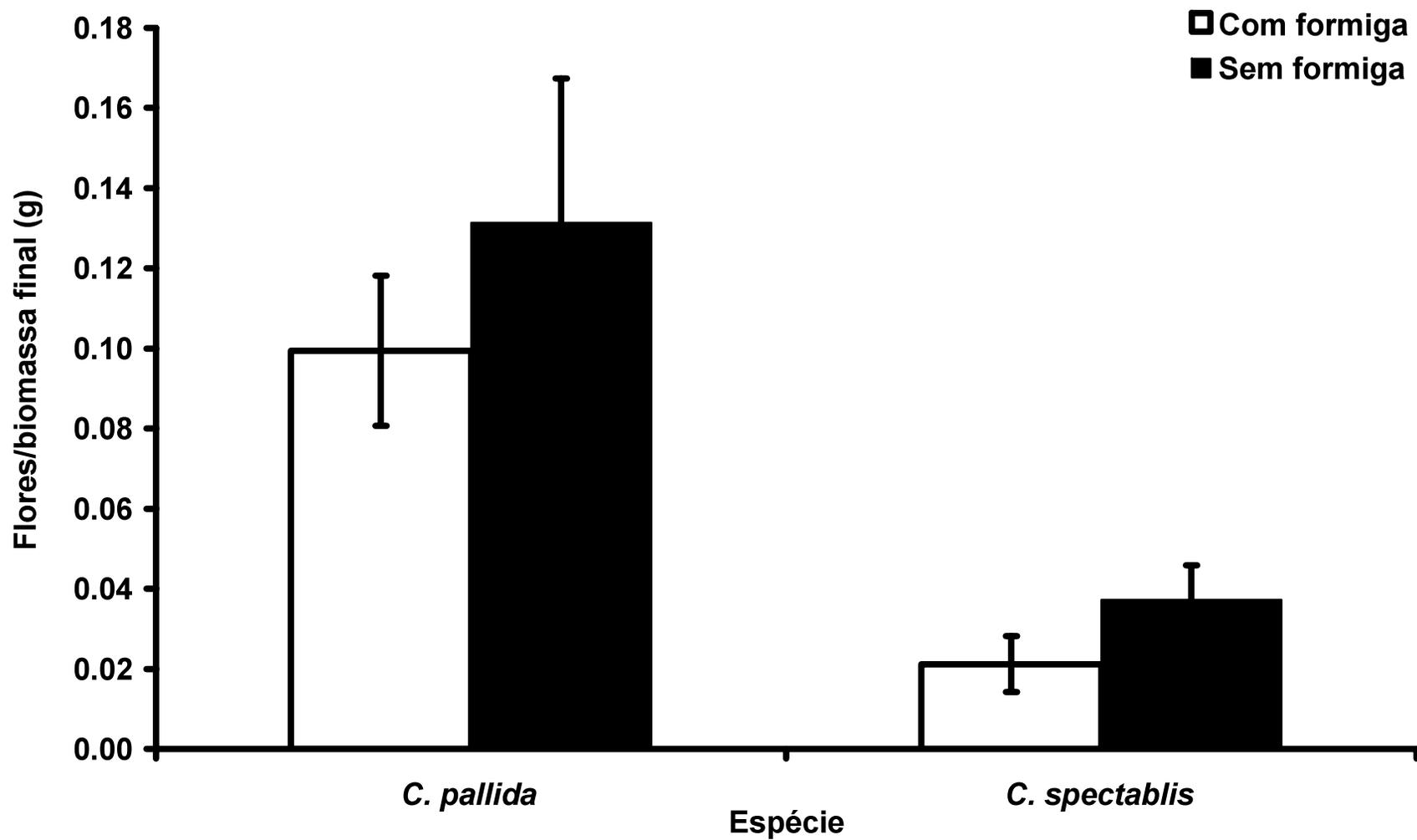


Figura 16. Número de flores produzidas/biomassa final (g) ( $\bar{X} \pm EP$ ) dos indivíduos de *C. pallida* e *C. spectabilis*.

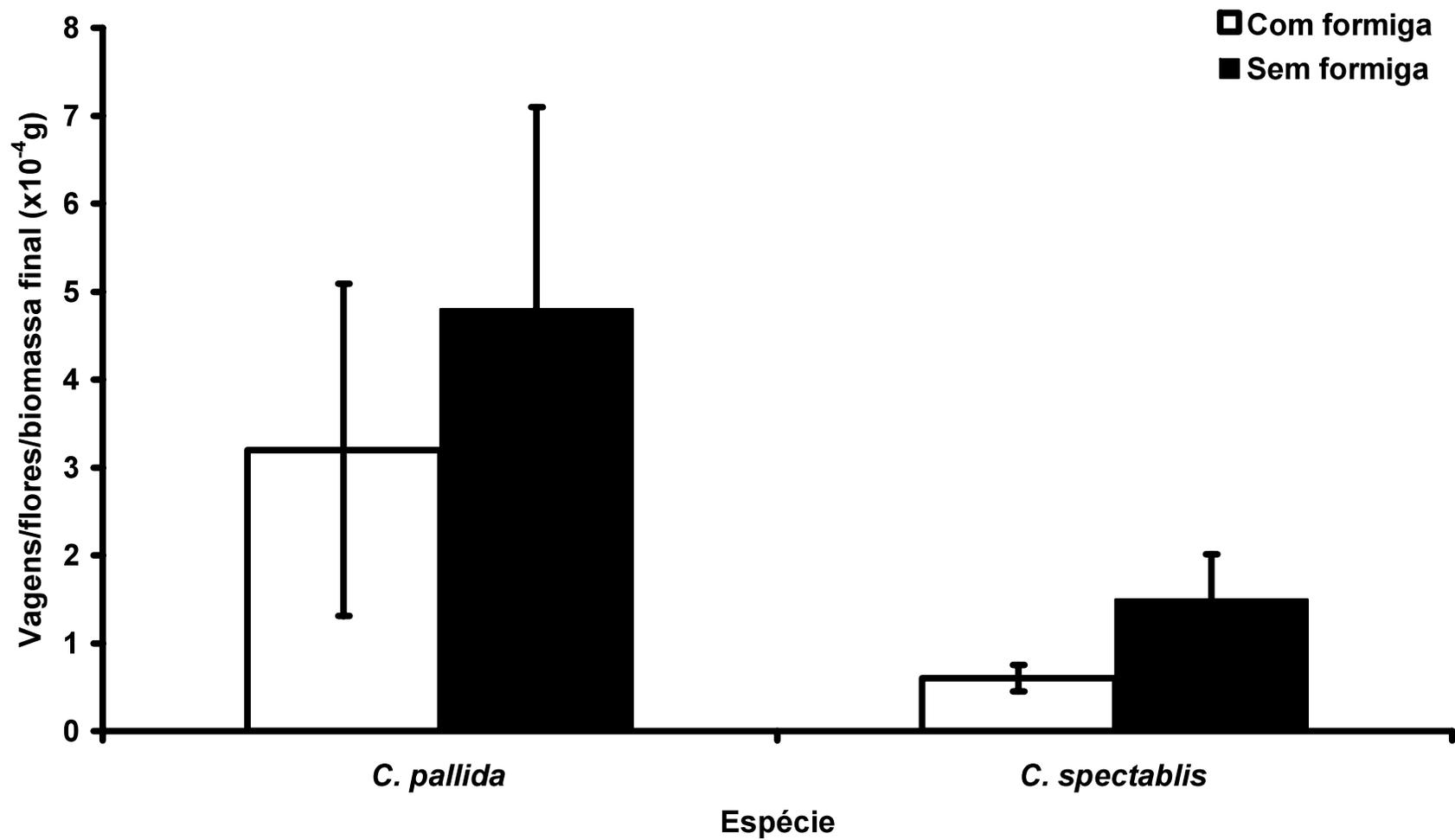


Figura 17. Número de vagens produzidas/número de flores produzidas/biomassa final (g) ( $\bar{X} \pm EP$ ) dos indivíduos de *C. pallida* e *C. spectabilis*.

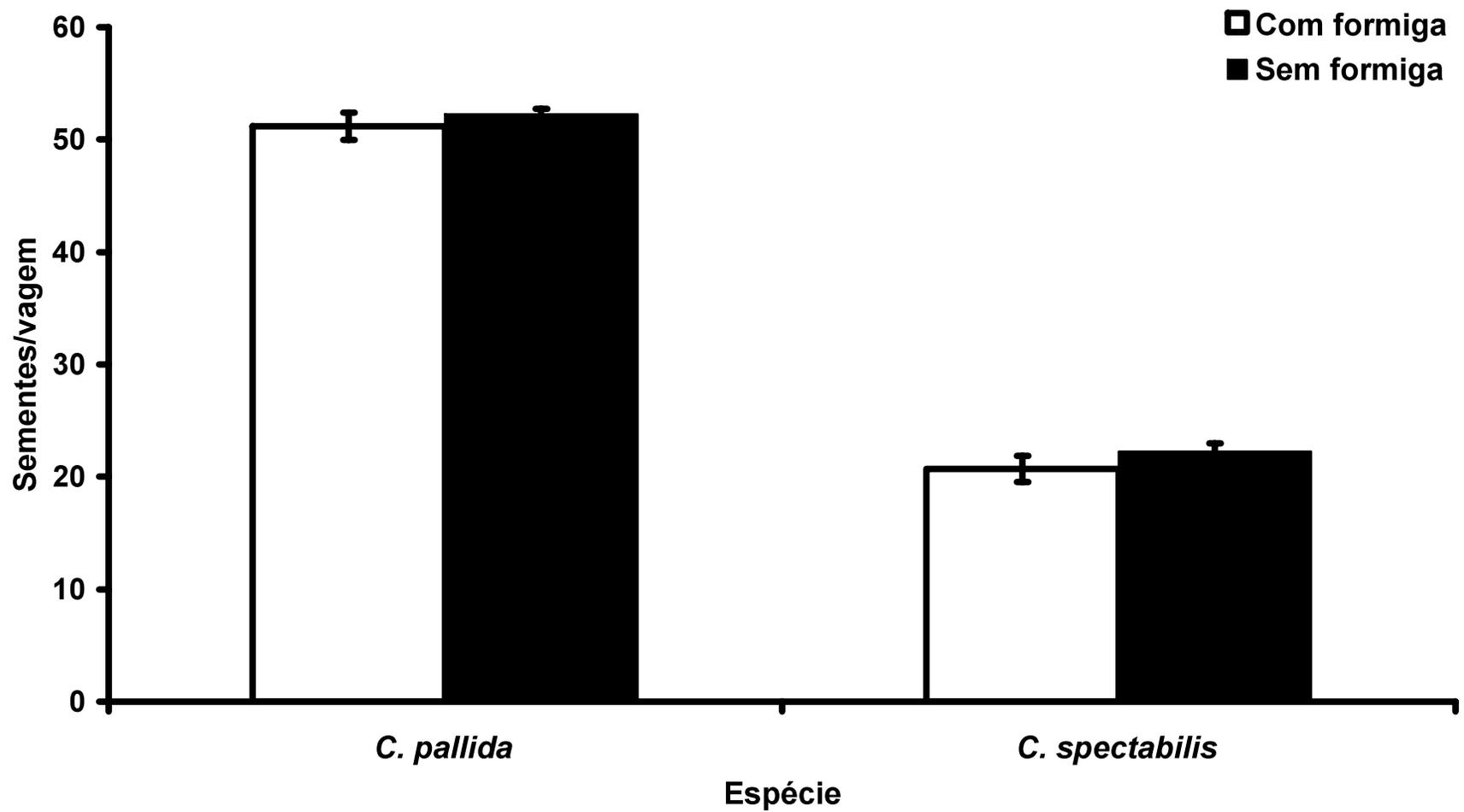


Figura 18. Número de sementes produzidas por vagens intactas/vagem madura intacta coletada ( $\bar{X} \pm EP$ ) dos indivíduos de *C. pallida* e *C. spectabilis*.

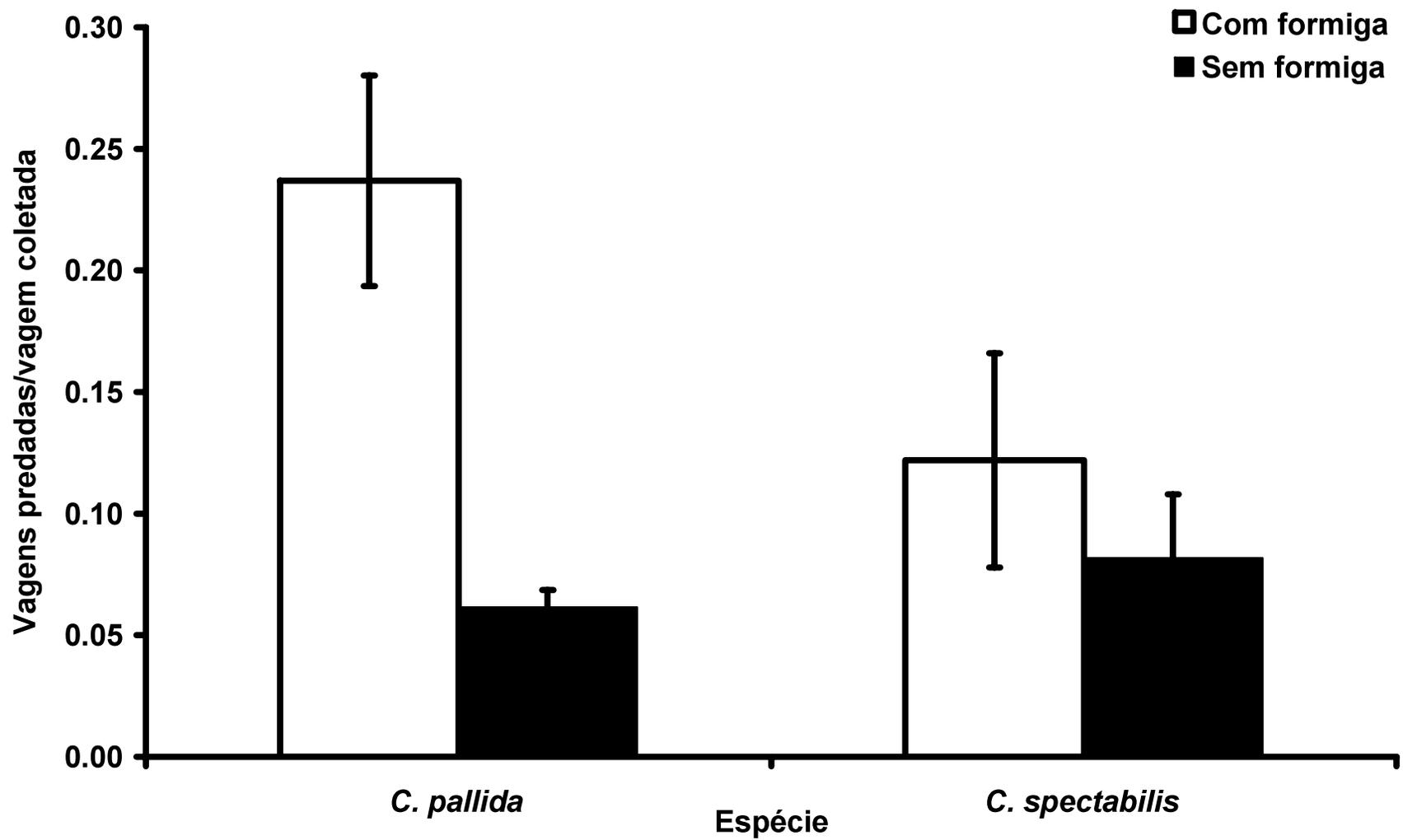


Figura 19. Número de vagens predadas/vagem coletada ( $\bar{X} \pm EP$ ) dos indivíduos de *C. pallida* e *C. spectabilis*.

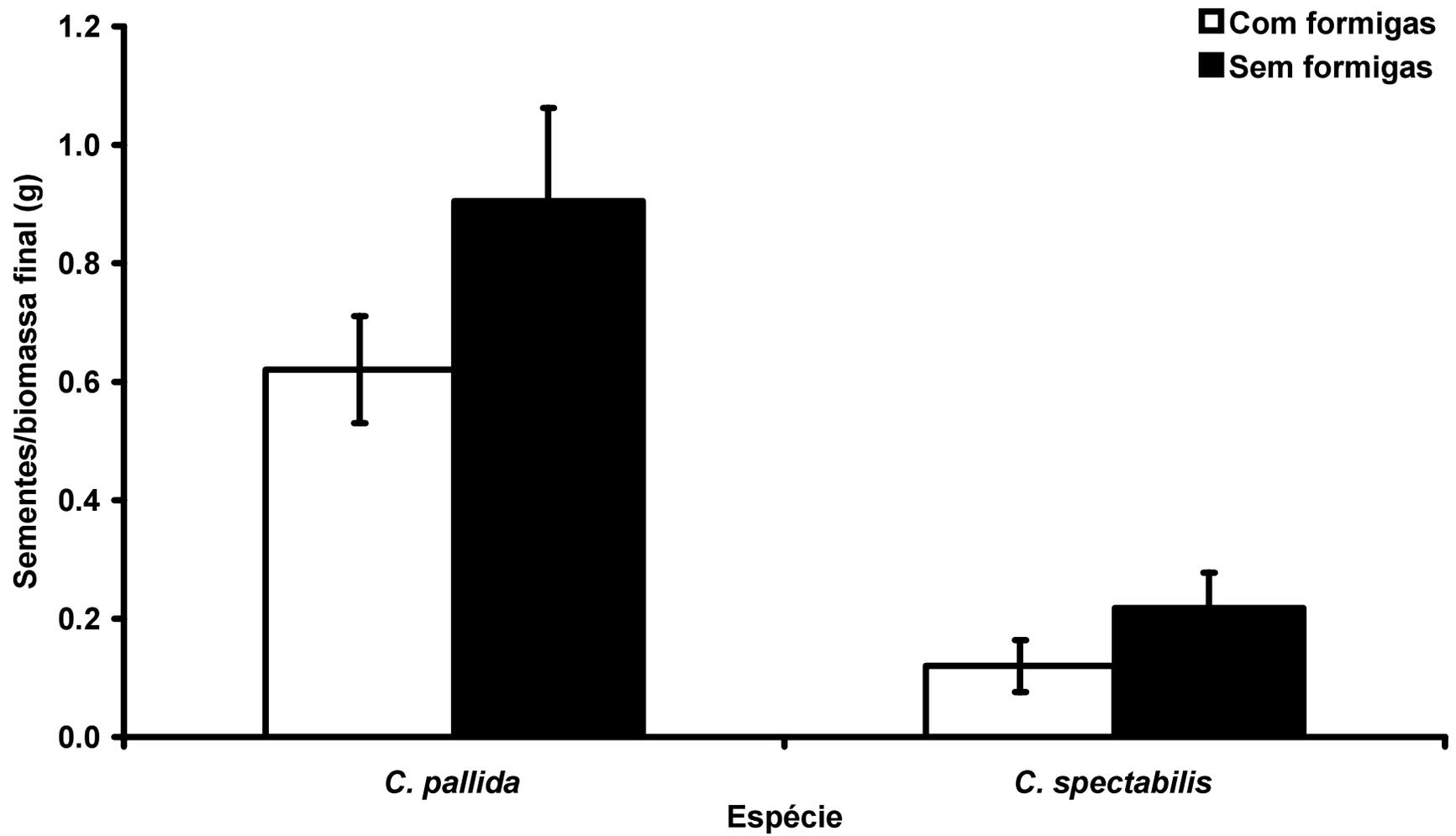


Figura 20. Número de sementes produzidas/biomassa final (g) ( $\bar{X} \pm EP$ ) dos indivíduos de *C. pallida* e *C. spectabilis*.

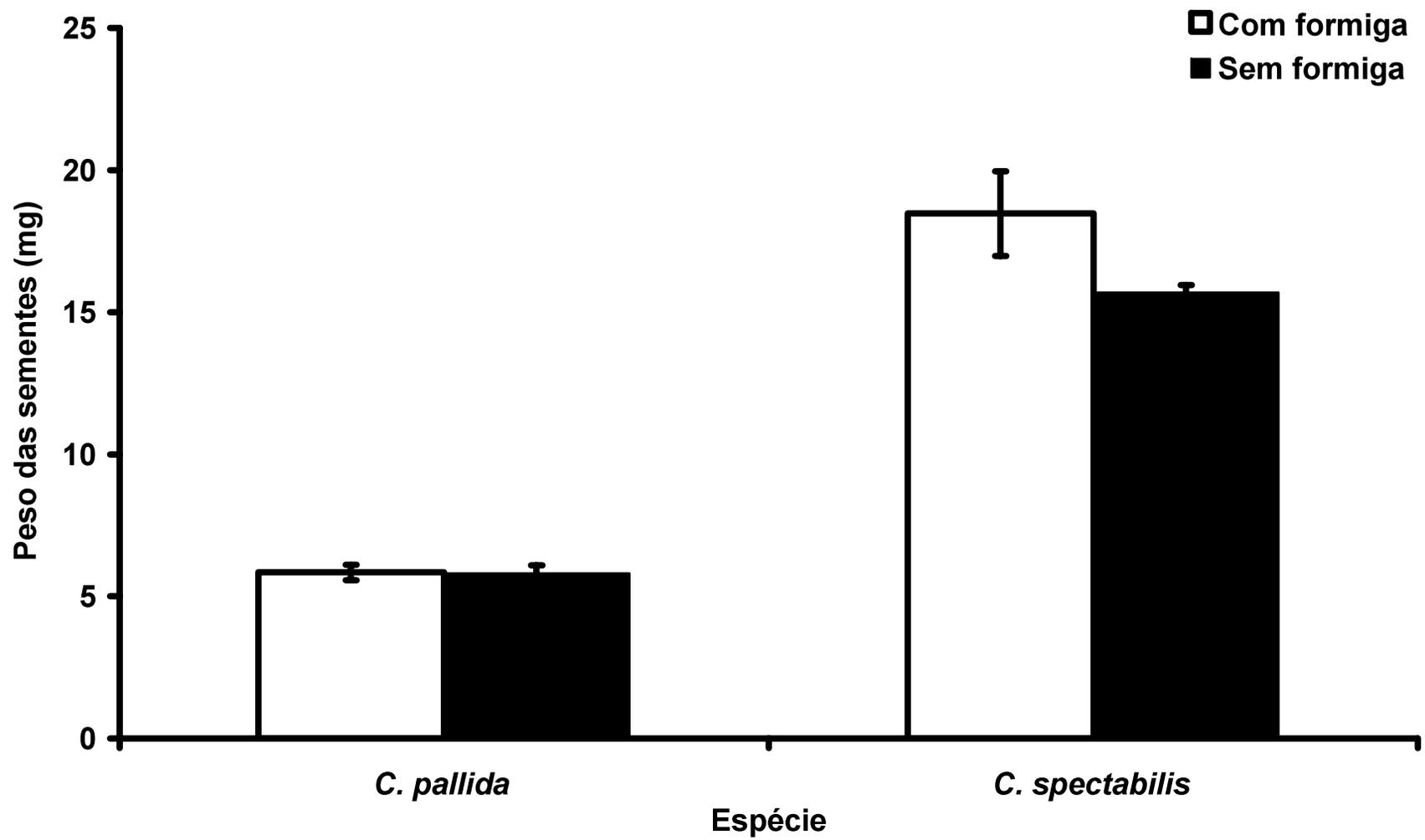


Figura 21. Peso das sementes ( $\bar{X} \pm EP$ ) dos indivíduos de *C. pallida* e *C. spectabilis*.

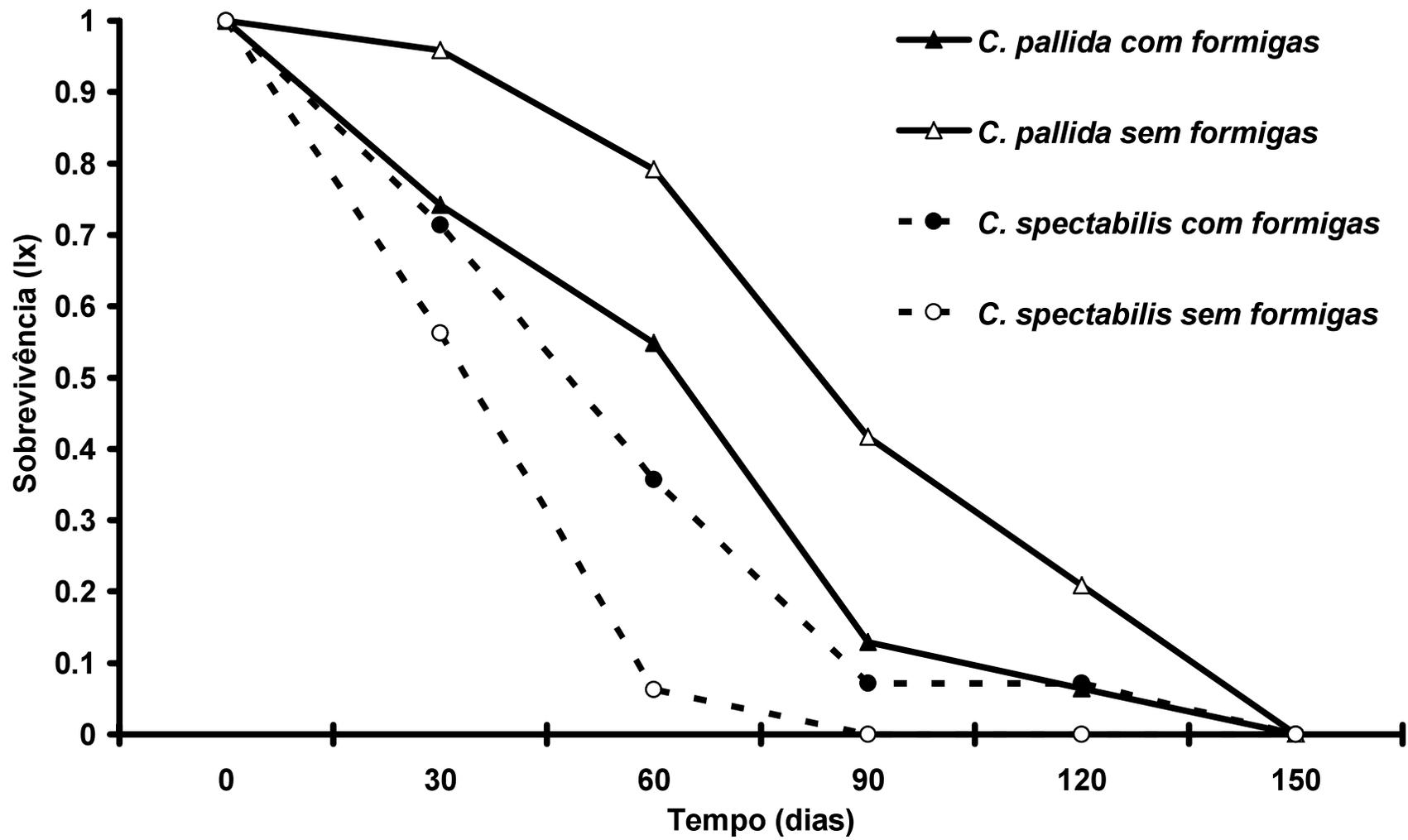


Figura 22. Sobrevivência, em dias, dos indivíduos de *C. pallida* e *C. spectabilis*.

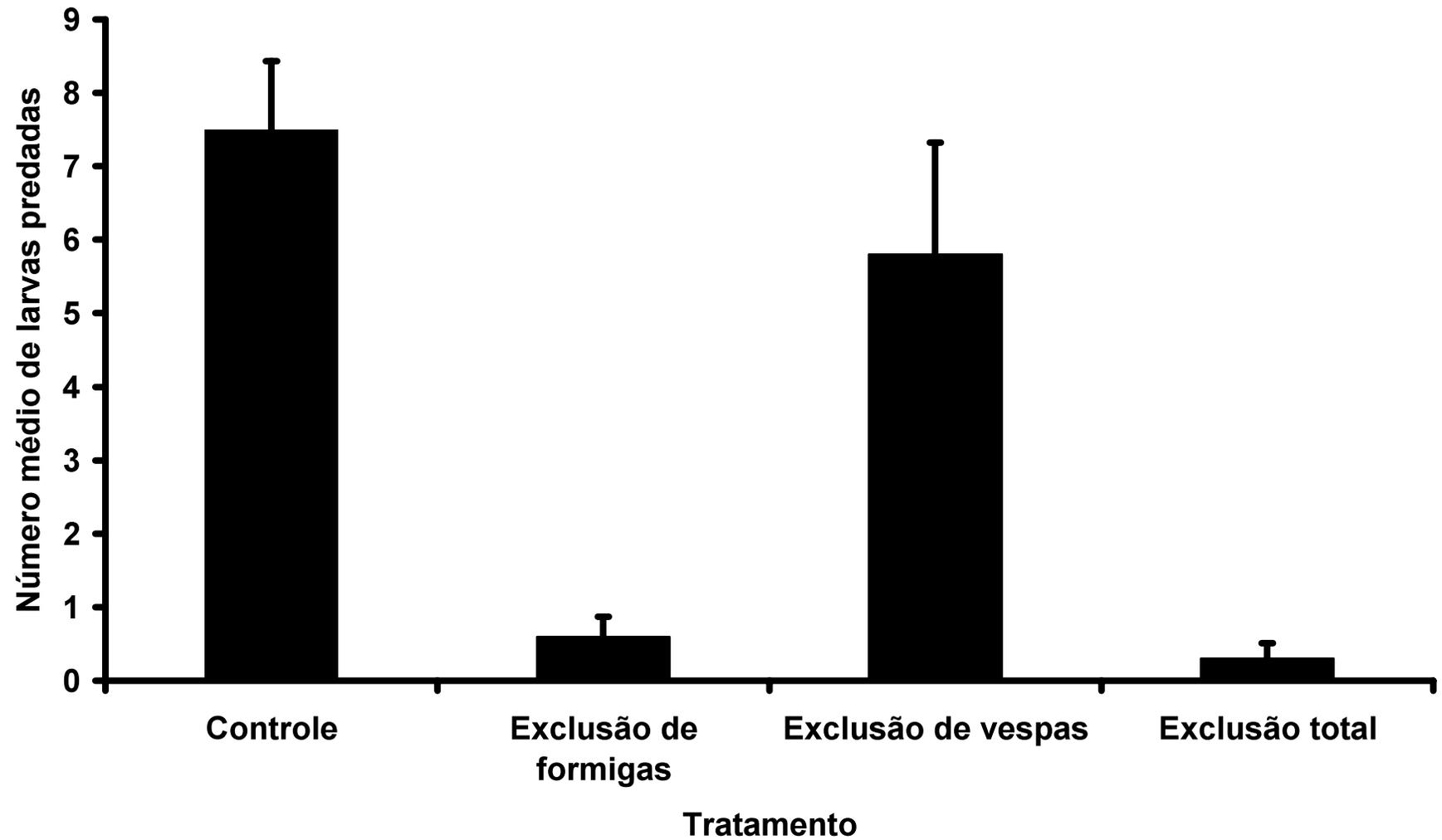


Figura 23. Número médio de larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) predadas ( $\pm$ EP) em *C. pallida*.