



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA - DECO**

PAULO SÉRGIO SANTOS LIMA

**EFEITO DA HERBIVORIA E DÉFICIT HÍDRICO NA
ATIVAÇÃO DE NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM
Turnera subulata J.E. Smith (TURNERACEAE)**

São Cristóvão

2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA - DECO**

PAULO SÉRGIO SANTOS LIMA

**EFEITO DA HERBIVORIA E DÉFICIT HÍDRICO NA
ATIVÇÃO DE NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM
Turnera subulata J.E. Smith (TURNERACEAE)**

Orientadora

Prof.^a Dr.^a Ana Paula Albano Araújo

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Departamento de Ecologia
da Universidade Federal de Sergipe como
parte dos requisitos para obtenção do título
de Bacharel em Ecologia.

São Cristóvão

2019

Paulo Sérgio Santos Lima

**Efeito da herbivoria e déficit hídrico na ativação de nectários
extraflorais em *Turnera subulata* (Turneraceae)**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Bacharelado em Ecologia, para obtenção do título de “Bacharel em Ecologia”.

APROVADO : em 28 de março de 2019.

Ranna Heidy Santos Bezerra

Msc. Ranna Heidy Santos Bezerra
Pós-graduação em Ecologia e Conservação
Universidade Federal de Sergipe

Ane Caroline Celestino Santos

Msc. Ane Caroline Celestino Santos
Pós-graduação em Agricultura e Biodiversidade
Universidade Federal de Sergipe

Ana Paula Albano Araújo

Prof.^a Dr.^a Ana Paula Albano Araújo
Universidade Federal de Sergipe
(Orientadora)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2019

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Sergipe pela oportunidade, por tudo que eu pude aprender, viver e desenvolver.

À professora Dr.^a Ana Paula Albano Araújo pela orientação, apoio e confiança.

Ao professor Dr. Paulo Fellipe Cristaldo, pelo auxílio de sempre, pelas dicas e pela disponibilidade.

À equipe de estagiários do Laboratório de Interações Ecológicas: Léo, Dinamarta, Jorge, Lucineide, Bruna, Hiana, Amanda e Dani, pelos momentos vividos.

Às pessoas especiais que me acompanharam durante a graduação e que contribuíram com o meu crescimento tanto acadêmico quanto pessoal, principalmente Cassandra Mendonça, José Wirys, Ana Beatriz e Léo Rocha.

Àqueles que mesmo longe sempre estiveram por perto e com quem eu sempre soube que podia contar, principalmente Eduh, Diego, Charles e Abraão!

À minha família pelo apoio e compreensão; especialmente à minha vó Raimunda por todo apoio e comidinhas de cada dia.

Às minhas irmãs, Camila e Vivianne pelo suporte, amor e carinho que me deram força para continuar.

Aos meus pais, Paulo e Simone por tudo! Por sempre acreditarem em mim e por me apoiarem em todas as decisões; por todo o esforço e abdições para me ajudar! Meu muito obrigado, amo vocês!

A todos, enfim, que de alguma forma contribuíram para a minha formação e que me apoiaram, muito obrigado!

Sumário

LISTA DE FIGURAS	5
RESUMO	6
1. INTRODUÇÃO	8
2. MATERIAL & MÉTODOS.....	12
2.1. Cultivo e manutenção de <i>Turnera subulata</i>	12
2.2. Delineamento experimental	12
2.2.2. Análises Estatísticas	13
3. RESULTADOS	14
4. DISCUSSÃO.....	16
REFERÊNCIAS	19

LISTA DE FIGURAS

Fig.1. Proporção de nectários extraflorais ativos em plantas de *Turnera subulata* mantidas com e sem déficit hídrico, após 48h de exposição aos tratamentos: com herbívoro, com injúria mecânica e controle. * Letras minúsculas indicam diferenças dentro de cada tratamento e letras maiúsculas diferenças entre os tratamentos.....16

Fig.2. Proporção de nectários extraflorais ativos ao longo do tempo em plantas de *Turnera subulata* mantidas com e sem déficit hídrico, após 48h de exposição aos tratamentos: com herbívoro, com injúria mecânica e controle..... 17

RESUMO

Lima, Paulo Sérgio Santos. **Efeito da herbivoria e déficit hídrico na ativação de nectários extraflorais em *Turnera subulata* J.E. Smith (Turneraceae)** São Cristóvão: UFS, 2019. 23p. (Monografia – Bacharelado em Ecologia).

As plantas apresentam um gama de estratégias de defesa contra herbivoria, incluindo defesas diretas e indiretas. No entanto, a produção de defesa envolve custos para as plantas, os quais podem ser variáveis dependendo das condições ambientais. Aqui testamos se a proporção de nectários extraflorais ativos (defesa indireta) em *Turnera subulata* (Turneraceae) é maior: *i*) sob ataque de herbívoros, e *ii*) na ausência de déficit hídrico. Para isso, 60 plantas foram cultivadas e mantidas em casa de vegetação, com déficit ($N=30$) e sem déficit hídrico ($N=30$). As plantas foram submetidas aos tratamentos: 'com herbívoros'; 'com injúrias mecânica' e 'sem herbívoros e sem injúrias' (controle). Para o tratamento 'com herbívoros' foram utilizados indivíduos de *Euptoieta hegesia* (Lepidoptera), enquanto as injúrias mecânicas foram realizadas através de cortes nas folhas simulando a remoção foliar pelos herbívoros. As plantas ficaram expostas aos tratamentos por 24h. Posteriormente, foi contabilizada a proporção de nectários extraflorais ativos ao longo do tempo: 1h, 6h, 12h, 24h e 48h após a interrupção dos tratamentos. Os dados foram analisados através de modelagem linear generalizada. Observamos que a proporção de nectários extraflorais ativos foi influenciada pelos tratamentos e pelo déficit hídrico. De forma geral, plantas sob herbivoria apresentaram maior proporção de nectários extraflorais ativos do que o controle, independentemente da condição hídrica. No entanto, plantas submetidas à injúria mecânica tiveram maior proporção de nectários extraflorais ativos somente quando estavam sem déficit hídrico. Nossos resultados indicam que plantas de *Turnera subulata* podem discriminar o dano causado por herbívoros e injúria mecânica e podem ativar suas defesas indiretas de acordo com o contexto ecológico.

Palavras-chave: defesa indireta, defesa induzida, interação inseto-plantas, Teoria da Otimização Defensiva.

Efeito da herbivoria e déficit hídrico na ativação de nectários extraflorais em *Turnera subulata* J.E. Smith (Turneraceae)

Paulo Sérgio Santos Lima¹, Marcos Leandro Cruz¹, Amanda Teixeira Santos¹, Jailton Jorge Marques Sacramento¹, Paulo Fellipe Cristaldo¹ & Ana Paula Albano Araújo¹

¹Universidade Federal de Sergipe. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Departamento de Ecologia. Lab. Interações Ecológicas. Tel.: +55 7931946916.

1. INTRODUÇÃO

Plantas e artrópodes apresentam grande sucesso adaptativo nos ambientes terrestres (Ehrlich & Raven, 1964). A elevada diversificação de espécies nesses dois grupos tem sido atribuída às suas interações - harmônicas (ex. polinização; dispersão de sementes; proteção) e antagônicas (ex. herbivoria) - ao longo do tempo evolutivo (Price et al., 1980). Adaptações e contra-adaptações surgiram em ambos os grupos como resultado das pressões seletivas de suas interações, como por exemplo, a capacidade das plantas de evitar ou compensar os danos causados pelos herbívoros e dos herbívoros em evitar ou se desintoxicar das defesas das plantas (Agrawal & Konno, 2009; Dáttilo et al., 2015; Karban & Thaler, 1999; Oppel, Dussourd, & Garimella, 2009).

A capacidade das plantas em mitigar os efeitos negativos da herbivoria pode ser atribuída à sua grande variedade de estratégias de defesa (War et al., 2012), seja direta ou indireta. Plantas podem se defender diretamente através da produção de barreiras químicas (compostos secundários, baixo valor nutricional) e/ou físicas (espinhos, acúleo, dureza). Já a defesa indireta, ocorre quando a planta produz alguns atrativos como compostos voláteis, néctar extrafloral e/ou abrigo que atraem os inimigos naturais de seus herbívoros (Agrawal & Konno, 2009; Dáttilo et al., 2015; Dicke & Hilker, 2003; Karban & Thaler, 1999; Price et al., 1980). As defesas das plantas podem também ser classificadas como constitutivas (ex. constantemente expressada, independente da ação de agentes agressores) ou induzidas (ex. desencadeada após eventos de injúria) (Chen, 2008; Karban & Thaler, 1999).

A produção de defesas contra herbivoria resulta em uma série de custos energéticos para a planta. Assim, como em qualquer outro tipo de interação, o resultado da interação planta- artrópode depende basicamente do balanço entre custos e benefícios para as partes envolvidas. Mesmo em interações tradicionalmente consideradas

mutualísticas, sempre existirão custos associados para as partes envolvidas. Um exemplo típico de interações normalmente consideradas mutualísticas ocorre entre algumas espécies de plantas que investem na produção de néctar extrafloral (defesa indireta) que podem atrair predadores e/ou parasitóides capazes de defender a planta contra os herbívoros (Apple & Feener, 2001; Chen, 2008; Teuber et al., 2012).

Os nectários extraflorais (NEFs) são glândulas produtoras de substâncias ricas em açúcares (néctar) que atraem artrópodes, principalmente formigas, que utilizam esse recurso como complemento alimentar (Alves et al, 2015; Heil et al., 2001; Heil et al., 2009; Dáttilo et al., 2015; Rosumek et al., 2009). As formigas atraídas para a planta hospedeira podem reduzir a herbivoria por atuarem diretamente como predadoras (Campos & Camacho, 2014; Oppel et al., 2009) ou simplesmente porque seu patrulhamento *per se* já é capaz de afugentar os herbívoros (Ness, 2006; Newman & Wagner, 2013). Embora tal interação seja comumente considerada mutualística, nem sempre o custo energético da produção de néctar extrafloral pela planta é compensado pela defesa das formigas. Muitas espécies de formigas associadas à plantas com NEFs podem apresentar comportamento oportunista, não compensando os custos das plantas (Dáttilo et al., 2015; Teuber et al., 2012; Wäckers & Bonifay, 2004). Dessa forma, estratégias que minimizem custos desnecessários para a planta hospedeira podem ser consideradas adaptativas.

A “Teoria da Otimização Defensiva” prevê que as plantas tendem a direcionar maior investimento de energia para a defesa para suas estruturas mais valiosas (ex. flores, frutos) ou para os períodos fenológicos em que há maior probabilidade de ataque (Jones & Koptur, 2015; Wäckers & Bonifay, 2004). Assim, de forma geral, o contexto ecológico no qual as interações ocorrem pode direcionar os níveis de investimento em defesas por parte da planta hospedeira.

A ativação do sistema de defesa da planta pode, muitas vezes, ocorrer apenas mediante injúrias dos herbívoros, que ao se alimentar/ovipositar, liberam substâncias sinalizadoras (elicitores) que desencadeiam uma série de reações químicas para produção de defesa (Chen, 2008; Dicke & Hilker, 2003; Hilker & Meiners, 2006). Tais elicitores estimulam a biossíntese de compostos, principalmente os da via octadecanóide, na qual o ácido jasmônico atua como molécula indutora/sinalizadora de vários processos de defesa das plantas, incluindo a produção de néctar extrafloral e de substâncias químicas que reduzem a digestibilidade e palatibilidade dos tecidos vegetais (Chen, 2008; Dáttilo et al., 2015; Heil et al., 2001; Teuber et al., 2012; Miller, 2014). O ácido jasmônico é um dos principais fitormônios associado à defesa da planta e seus níveis podem variar de acordo com a fenologia e a influência de fatores ambientais (ex. disponibilidade hídrica, salinidade, pH) (Arimura & Boland, 2005; Showler & Moran, 2003). Estudos mostram que o estresse hídrico pode alterar os níveis de fitormônios e conseqüentemente vários processos realizados pela planta (ex. fotossíntese, respiração). Tais mudanças podem comprometer a defesa da planta, uma vez que a disponibilidade hídrica está associada à produção de compostos secundários (Mattson & Haack, 1987; Meyer & Wirth, 2006).

Plantas do gênero *Turnera* (Turneraceae) apresentam ampla distribuição na região tropical e em ambientes antropizados (Arbo, Truyens, & Shore, 2005). Estas plantas apresentam um par de NEF na base do limbo foliar e possuem associação com várias espécies de formigas (Athanasiou et al., 2003). Estudos recentes encontraram 21 espécies de formigas associadas à *Turnera subulata* J.E. Smith, no nordeste brasileiro (Cruz et al., 2018). Dentre essas espécies, algumas realizam a defesa contra herbívoros e promovem a dispersão de sementes da planta hospedeira (Rocha et al., 2018).

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar se plantas de *T. subulata* são capazes de modular a atividade dos NEFs em resposta à herbivoria, sob diferentes condições de déficit hídrico. Aqui, testamos as hipóteses de que as plantas ativam um maior número de NEFs e em maior velocidade quando estão sob herbivoria, porém essa ativação deve ser reduzida sob condições de déficit hídrico.

2. MATERIAL & MÉTODOS

2.1. Cultivo e manutenção de *Turnera subulata*

Os organismos estudados foram obtidos no campus da Universidade Federal de Sergipe (UFS), localizada no município de São Cristóvão, Sergipe, Brasil. O clima da região é classificado como tropical seco e úmido (Aw), seguindo o Sistema de Classificação do Clima Koppen. O experimento foi conduzido do início de abril ao fim de maio/ 2018.

Sementes de *T. subulata* foram semeadas em bandejas de isopor contendo substrato de húmus de minhoca e areia (1:1). As plântulas permaneceram em bandejas até atingirem 3~5 cm de comprimento aéreo, quando então foram transplantadas para vasos de 1L. As plantas foram cultivadas em duas condições: com irrigação diária de 300mL (sem déficit hídrico) ou com irrigação de 100mL a cada dois dias (sob déficit hídrico), durante um período de 45 dias, enquanto ainda estavam no estágio vegetativo. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, sem acesso de outros organismos que pudessem ocasionar qualquer tipo de dano às plantas, até a realização dos experimentos.

2.2. Delineamento experimental

Foram utilizadas 60 plantas, mantidas com déficit hídrico ($N = 30$) e sem déficit hídrico ($N = 30$), as quais foram submetidas aos tratamentos: (i) 'com herbívoro'; (ii) 'com injúria mecânica'; e (iii) 'sem herbívoro e sem injúria' (controle); ($N = 10$ plantas/tratamento). Imediatamente antes da exposição aos tratamentos, todas as plantas tiveram o néctar extrafloral removido. A parte apical das plantas foi isolada com tecido tipo organza para impedir o consumo pelos herbívoros. O tratamento 'com herbívoro' consistiu na exposição de uma lagarta de *Euptoieta hegesia* (Lepidoptera, Nymphalidae)/ planta por 24h. O tratamento 'injúria mecânica' consistiu na remoção de

6 cm² de área foliar de três folhas da região mediana (1,5cm²/folha), a qual foi realizada em intervalos regulares de 6h, durante 24h. A injúria foi definida em pré-teste considerando-se a área foliar média removida por um indivíduo de *E. hegesia* durante 24h.

As avaliações consistiram em contar o número de NEFs ativos ao longo do tempo, após 24h da interrupção dos tratamentos (1h, 6h, 12h, 24h e 48h). Para cada intervalo de tempo foi calculada a proporção de NEFs ativos/planta (= número de NEFs ativos/número total de NEFs) ao longo do tempo.

2.2.2. Análises Estatísticas

Os dados foram analisados no software R (R Development Core Team, 2015) usando modelos lineares generalizados (GLM) seguidos pela análise de resíduos para verificar a adequabilidade da distribuição utilizada.

Análise de Deviância (ANODEV) foi realizada para verificar se o número de NEFs ativos (variável y) varia em função dos tratamentos (variável x_1 : herbívoros, injúria mecânica e controle) e da condição hídrica da planta hospedeira (variável x_2 : com e sem deficit hídrico).

Análise de sobrevivência com distribuição Weibull (pacote *survival*) foi realizada para mensurar o tempo médio gasto para a ativação dos NEFs nos diferentes tratamentos (variável x_1) e condição hídrica (variável x_2). Neste caso, o censor utilizado na análise foi considerado igual a '1' quando os NEFs estavam ativos e como '0' quando estavam inativos.

3. RESULTADOS

A proporção de NEFs ativos foi influenciada pelos tratamentos (deviância= 1254,67; g.l.= 2, 292; $P < 0,001$), pela condição hídrica (deviância= 373,36; g.l.= 1, 291; $P < 0,001$) e pela interação entre esses fatores (deviância= 290,20; g.l.= 2; 289; $P < 0,001$). De forma geral, plantas sob herbivoria apresentaram maior proporção de NEFs ativos do que o controle, independentemente da condição hídrica. Na ausência de déficit hídrico, plantas submetidas à injúria mecânica tiveram a mesma proporção de NEFs ativos do que plantas com herbívoros. Porém, quando submetidas ao déficit hídrico, a proporção de NEFs ativados em plantas com injúria mecânica não diferiu do controle.

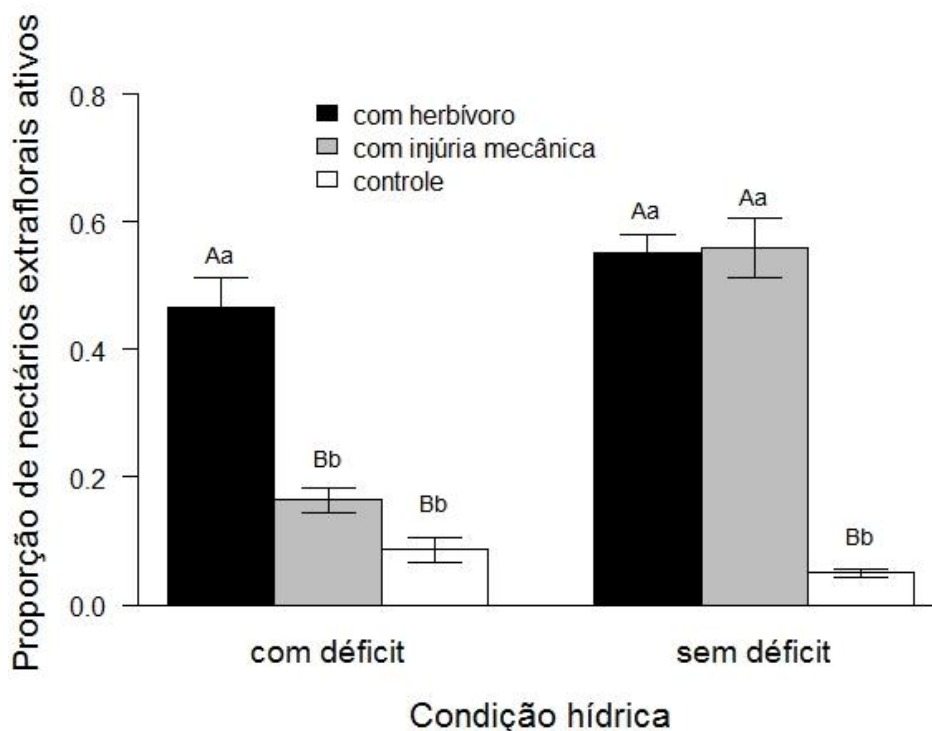


Fig.1. Proporção de nectários extraflorais ativos em plantas de *Turnera subulata* mantidas com e sem déficit hídrico, após 48h de exposição aos tratamentos: com herbívoro, com injúria mecânica e controle. * Letras minúsculas indicam diferenças dentro de cada tratamento e letras maiúsculas diferenças entre os tratamentos.

A proporção de NEFs ativados aumentou ao longo do tempo nas plantas com herbívoros e injúrias mecânicas, mantidas sem ($\chi^2=290,04$ g.l.= 764, $P < 0,001$) e com déficit hídrico ($\chi^2=85,33$ g.l.= 678, $P < 0,001$). Na ausência de déficit hídrico, plantas com injúria mecânica e com herbívoro apresentaram rápida ativação dos NEFs. Porém, em plantas com déficit hídrico, a proporção de NEFs ativos foi maior no tratamento com herbívoro, enquanto plantas com injúrias apresentaram menor proporção e mais lenta ativação dos NEFs (Fig. 2).

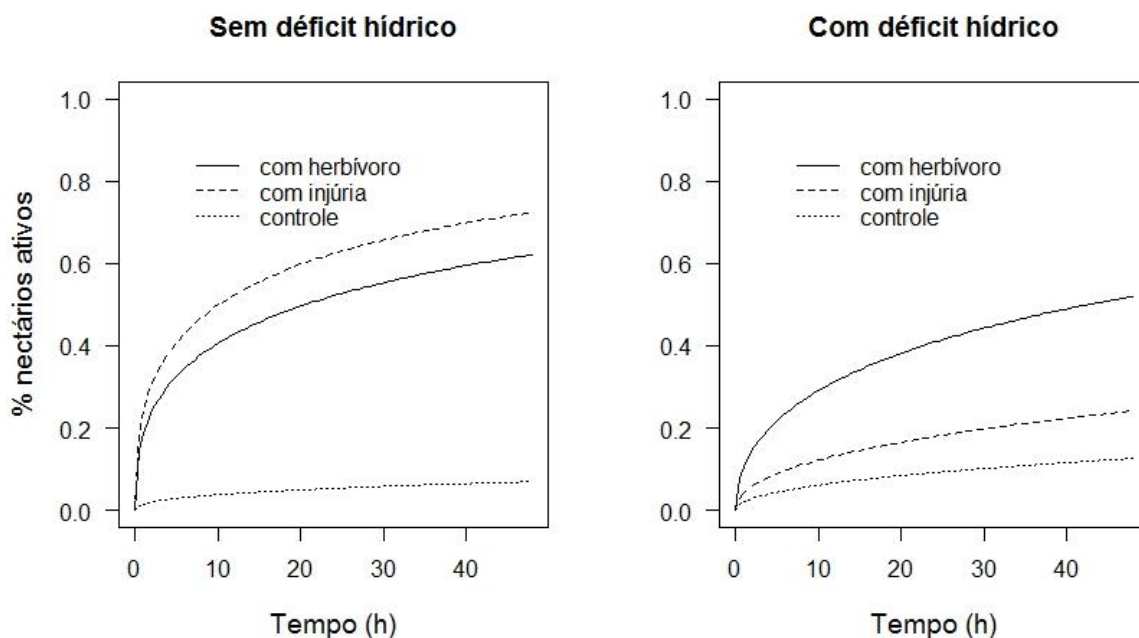


Fig.2. Proporção de nectários extraflorais ativos ao longo do tempo em plantas de *Turnera subulata* mantidas sem e com déficit hídrico, após 48h de exposição aos tratamentos: com herbívoro, com injúria mecânica e controle.

4. DISCUSSÃO

Assim como outros tipos de defesa de plantas, a defesa indireta por meio da produção de néctar extrafloral para atrair inimigos naturais, também envolve custos para as plantas. Nossos resultados mostram que o contexto ecológico (aqui representado pelo nível de déficit hídrico) tem papel preponderante na ativação dos NEFs de *T. subulata*. Quando não estavam sob déficit hídrico, qualquer tipo de dano desencadeou nas plantas similar ativação dos NEFs. No entanto, sob déficit hídrico, as plantas foram capazes de discriminar uma ameaça real (ex. causada por herbívoro) de uma injúria mecânica, aumentando a ativação dos NEFs somente sob herbivoria (Fig.1).

O ataque de herbívoros ativa uma cascata de reações químicas na planta hospedeira (Aljory & Chen, 2018; Arimura & Boland, 2005) que é mediado pela presença de substâncias sinalizadoras (elicitores), que são liberadas pelos herbívoros nos tecidos vegetais. Tais elicitores se ligam em proteínas receptoras que desencadeiam uma série de reações químicas, podendo induzir a produção de compostos como terpenóides e ácido jasmônico (Aljory & Chen, 2018; Arimura & Boland, 2005; Cipollini, Purrington, & Bergelson, 2003). A elevação dos níveis de ácido jasmônico pode ocorrer em todos os tecidos das plantas, ocasionando a indução da produção de compostos secundários (defesa direta) (Arimura & Boland, 2005; Showler & Moran, 2003), como também uma maior emissão de compostos voláteis e maior ativação de NEFs (defesa indireta). Assim, o fato de *T. subulata* ter aumentado a produção de néctar extrafloral sob herbivoria, independentemente da condição hídrica da planta, ressalta a força adaptativa das interações planta-herbívoros e a necessidade da planta em atrair inimigos naturais nestas situações. Estudos anteriores sugerem que maior produção de néctar extrafloral pode atrair formigas que reduzem a atividade de herbívoros (Teuber et al., 2012). Em *T. subulata*, já foi observado que a presença de formigas reduziu os

danos causados por herbívoros apenas no estágio de floração da planta hospedeira (Cruz et al. 2018). Os autores hipotetizaram que a produção de néctar extrafloral poderia ser dependente de contexto, sendo maior no estágio de reprodução, que representa alto valor de investimento para a planta. Aqui, confirmamos que a ativação dos NEFs depende do contexto ecológico, uma vez que a resposta das plantas às injúrias mecânicas foi dependente do seu estado hídrico (Fig. 1).

Plantas sob baixa disponibilidade hídrica apresentam uma série de mudanças fisiológicas. Nestas condições, as plantas podem ativar e/ou interromper alguns mecanismos para a economia de água (ex. fechamento estomático, aumento do sistema radicular). Além disso, para evitar possível dessecação ou rompimento celular, as plantas podem acumular algumas substâncias (ex. aminoácidos e açúcares) na parede celular, o que aumenta a qualidade de seus tecidos para os herbívoros (Lisar et al., 2012; Penella et al., 2015). De fato, alguns estudos têm observado a preferência dos herbívoros à plantas sob déficit hídrico (Holopainen & Gershenzon, 2010; Meyer et al., 2006; War et al., 2012). No presente estudo, plantas sob déficit hídrico tiveram maior proporção de NEFs ativos apenas quando atacadas por herbívoros. Este resultado poderia ser resultante do fato de que a redução da disponibilidade hídrica representa uma limitação da capacidade da planta em direcionar água ou nutrientes para a produção de néctar extrafloral (Heil, 2015; Roy et al., 2017). Assim, nesta situação, as plantas fazem maior discriminação entre os tipos de injúria, ativando mais seus NEFs somente quando existem danos causados por herbívoros (Baldwin, 1990; Newman & Wagner, 2013). Assim, o padrão encontrado mostra que as plantas conseguem realizar uma otimização de suas defesas, conforme previsto pela Teoria da Otimização Defensiva (Zangerl & Rutledge, 1996). *Turnera subulata* parece sempre ativar mais

defesas indiretas sob herbivoria, no entanto, em situações de estresse sua resposta é mais parcimoniosa em relação à ativação da defesa frente a outros tipos de danos.

Concluindo, nosso estudo mostra que a produção de defesa indireta em *T. subulata* é dependente do déficit hídrico e herbivoria. Dessa forma, podemos esperar que mudanças no contexto ecológico onde ocorrem as interações planta-insetos podem representar diferentes dinâmicas para a estruturação e funcionamento das comunidades. Os resultados do presente trabalho podem auxiliar na compreensão das interações tritróficas envolvendo plantas-herbívoros-predadores.

REFERÊNCIAS

- Agrawal, A. A., & Konno, K. (2009). A model for understanding mechanisms, ecology, and evolution of elant defense against herbivory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40(1), 311–331.
- Aljbory, Z., & Chen, M. S. (2018). Indirect plant defense against insect herbivores: a review. *Insect Science*, 25(1), 2–23.
- Alves, S. E., Bächtold, A., Barônio, G. J., Torezan, H. M., & Del-Claro, K. (2015). Ant–herbivore interactions in an extrafloral nectaried plant: are ants good plant guards against curculionid beetles? *Journal of Natural History*, 49(13–14), 841–851.
- Apple, J. L., & Feener, D. H. (2001). Ant visitation of extrafloral nectaries of Passiflora: The effects of nectary attributes and ant behavior on patterns in facultative ant-plant mutualisms. *Oecologia*, 127(3), 409–416.
- Arbo, M. M., Truyens, S., & Shore, J. S. (2005). Phylogenetic relationships, chromosome and breeding system evolution in *Turnera* (Turneraceae): inferences from its sequence data. *American Journal of Botany*, 92(10), 1749–1758.
- Arimura, G., & Boland, W. (2005). Herbivore-induced, indirect plant defences. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1734(2), 91–111.
- Athanasiou, A., Khosravi, D., Tamari, F., & Shore, J. S. (2003). Characterization and localization of short-specific polygalacturonase in distylous *Turnera subulata* (Turneraceae). *American Journal of Botany*, 90(5), 675–682.
- Baldwin, I. T. (1990). Herbivory simulations in ecological research. *Trends in Ecology & Evolution*, 5(3), 3–5.
- Bolter, C. J., Dicke, M., Van Loon, J. J., Visser, J. H., & Posthumus, M. A. (1997). Attraction of Colorado potato beetle to herbivore-damaged plants during herbivory and after its termination. *Journal of Chemical Ecology*, 23(4), 1003–1023.
- Campos, R. I., & Camacho, G. P. (2014). Ant–plant interactions: the importance of extrafloral nectaries versus hemipteran honeydew on plant defense against herbivores. *Arthropod-Plant Interactions*, 8(6), 507–512.
- Chen, M. S. (2008). Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. *Insect Science*, 15(2), 101–114.
- Cipollini, D., Purrington, C. B., & Bergelson, J. (2003). Costs of induced responses in

- plants. *Basic and Applied Ecology*, 4(1), 79–85.
- Cruz, N. G., Cristaldo, P. F., Bacci, L., Almeida, C. S., Camacho, G. P., Santana, A. S., Araújo, A. P. A. (2018). Variation in the composition and activity of ants on defense of host plant *Turnera subulata* (Turneraceae): Strong response to simulated herbivore attacks and to herbivore's baits. *Arthropod-Plant Interactions*, 12(1), 113–121.
- Dáttilo, W., Aguirre, A., Flores-Flores, R. V., Fagundes, R., Lange, D., García-Chávez, J., Rico-Gray, V. (2015). Secretory activity of extrafloral nectaries shaping multitrophic ant-plant-herbivore interactions in an arid environment. *Journal of Arid Environments*, 114, 104–109.
- Dicke, M., & Hilker, M. (2003). Induced plant defences: From molecular biology to evolutionary ecology. *Basic and Applied Ecology*, 4(1), 3–14.
- Ehrlich, P. R., & Raven, P. H. (1964). Butterflies and plants: A study in coevolution. *Evolution*, 18(4), 586.
- Heil, M. (2015). Extrafloral nectar at the plant-insect interface : A spotlight on chemical ecology , phenotypic plasticity , and food webs. *Annual Review of Entomology*, 60, 213–232.
- Heil, M., Koch, T., Hilpert, A., Fiala, B., Boland, W., & Linsenmair, K. E. (2001). Extrafloral nectar production of the ant-associated plant, *Macaranga tanarius*, is an induced, indirect, defensive response elicited by jasmonic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(3), 1083–1088.
- Hilker, M., & Meiners, T. (2006). Early herbivore alert: Insect eggs induce plant defense. *Journal of Chemical Ecology*, 32(7), 1379–1397.
- Holopainen, J. K., & Gershenzon, J. (2010). Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends in Plant Science*, 15(3), 176–184.
- Jones, I. M., & Koptur, S. (2015). Dynamic extrafloral nectar production: The timing of leaf damage affects the defensive response in *Senna mexicana* var. *Chapmanii* (Fabaceae). *American Journal of Botany*, 102(1), 58–66.
- Karban, R., & Thaler, J. S. (1999). Plant phase change and resistance to herbivory. *Ecology*, 80(2), 510–517.
- Lisar, S., Motafakkerzad, R., & Mosharraf, I. M. (2012). Water stress in plants: Causes, effects and responses. In *Water Stress* (pp. 1–15). InTech.
- Mattson, W. J., & Haack, R. A. (1987). The role of drought in outbreaks of plant-eating insects: Drought's physiological effects on plants can predict its influence on insect

- populations. *Bioscience*, 37(2), 110–118.
- Meyer, S. T., Roces, F., & Wirth, R. (2006). Selecting the drought stressed: Effects of plant stress on intraspecific and within-plant herbivory patterns of the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Functional Ecology*, 20(6), 973–981.
- Miller, T. E. X. (2014). Plant size and reproductive state affect the quantity and quality of rewards to animal mutualists. *Journal of Ecology*, 102(2), 496–507.
- Ness, J. H. (2006). A mutualism's indirect costs: The most aggressive plant bodyguards also deter pollinators. *Oikos*, 113(3), 506–514.
- Newman, J. R., & Wagner, D. (2013). The influence of water availability and defoliation on extrafloral nectar secretion in quaking aspen (*Populus tremuloides*). *Botany*, 91(June), 761–767.
- Oppel, C. B., Dussourd, D. E., & Garimella, U. (2009). Visualizing a plant defense and insect counterploy: Alkaloid distribution in *Lobelia* leaves trenched by a plusiine caterpillar. *Journal of Chemical Ecology*, 35(6), 625–634.
- Penella, C., Nebauer, S. G., Bautista, A. S., López-Galarza, S., & Calatayud, A. (2015). Strategies to avoid salinity and hydric stress of pepper grafted plants. *Procedia Environmental Sciences*, 29, 211–212.
- Price, P. W., Bouton, C. E., Gross, P., Bruce, A., Thompson, J. N., & Weis, A. E. (1980). Interactions among three trophic levels: Influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 11, 41–65.
- R Development Core Team. (2015). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria: The R Foundation for Statistical Computing.
- Rocha, M. L. C., Cristaldo, P. F., Cruz, J. S., Sacramento, J. J. M., Ferreira, D. V., & Araújo, A. P. A. (2018). Ants associated with *Turnera subulata* (Turneraceae): Elaiosome attraction, seed dispersion and germination. *Neotropical Entomology*.
- Rosumek, F. B., Silveira, F. A. O., De S. Neves, F., Newton, N. P., Diniz, L., Oki, Y., Cornelissen, T. (2009). Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia*, 160, 537–549.
- Roy, A. R., Schmitt, A. J., Thomas, J. B., & Carter, C. J. (2017). Review: Nectar biology: from molecules to ecosystems. *Plant Science*, 262, 148–164.
- Showler, A. T., & Moran, P. J. (2003). Effects of drought stressed cotton, *Gossypium hirsutum* L., on beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), oviposition, and larval feeding preferences and growth. *Journal of Chemical Ecology*, 29(9), 1997–

2011.

- Teuber, M. G., Silva Bueno, J. C., Heil, M., & Boland, W. (2012). Increased host investment in extrafloral nectar (EFN) Improves the efficiency of a mutualistic defensive service. *PLoS ONE*, 7(10), 1-9.
- Wäckers, F. L., & Bonifay, C. (2004). How to be sweet? Extrafloral nectar allocation by *Gossypium hirsutum* fits optimal defense theory predictions. *Ecology*, 85(6), 1512–1518.
- War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., & Sharma, H. C. (2012). Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant Signaling and Behavior*, 7(10), 1306-1320.
- Zangerl, A. R., & Rutledge, C. E. (1996). The probability of attack and patterns of constitutive and induced defense: A test of optimal defense theory. *The American Naturalist*, 147(4), 599–608.