



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

MARCOS LEANDRO DA CRUZ ROCHA

**FORMIGAS ASSOCIADAS À *TURNERA SUBULATA*
(TURNERACEAE): ATRAÇÃO PELO ELAIOSSOMO E
PAPEL NA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES**

São Cristóvão

2017



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

MARCOS LEANDRO DA CRUZ ROCHA

**FORMIGAS ASSOCIADAS À *TURNERA SUBULATA*
(TURNERACEAE): ATRAÇÃO PELO ELAIOSSOMO E
PAPEL NA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES**

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

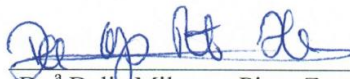
2017

Marcos Leandro da Cruz Rocha

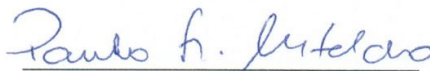
**Formigas associadas à *Turnera subulata* (Turneraceae): atração pelo
elaiossomo e papel na germinação das sementes**

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

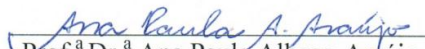
APROVADO :em 03 de fevereiro de 2017.



Dr.^a Delia Milagros Pinto Zevallos
Universidade Federal de Sergipe



Dr. Paulo Felipe Cristaldo
Universidade Federal de Sergipe



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

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2017

À minha mãe Maria de Fátima

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Sergipe (UFS) pela oportunidade oferecida.

À professora Ana Paula Albano Araújo pela orientação, paciência e conversas que me fizeram crescer tanto no lado profissional quanto no pessoal, sou extremamente grato por todo o incentivo que me deu para a realização desse trabalho.

Ao prof. Paulo Fellipe por todo apoio nos experimentos, sugestões e todos os ensinamentos transmitidos, muito obrigado por tudo.

Aos amigos do Laboratório Interações Ecológicas: Dina, Jorge e Josy. Obrigado pela convivência agradável, apoio, companheirismo e pela ajuda nos experimentos.

Ao professor Leandro Bacci pelo apoio no experimento de germinação de sementes.

Aos colegas de graduação em especial as minhas irmãs Luiza e Galdênia por estarem ao meu lado em todos os momentos, ao meu eterno quarteto Geferson, Helberson e Wendson, além de Bruna, Lucas, Karine, Susi, Monise, Camila, Andrew, Rodrigo, Tâmara Weverton, Washington, Fernando, Lorena, Regina, Efrem e tantos outros por estarem sempre ao meu lado nessa trajetória e por acreditarem em mim.

Aos meus queridos professores da graduação.

As minhas amigas de infância: Fernanda, Mayara e Raquel

À minha família por tudo! Especialmente a minha Tia Sula e as minhas primas Eduarda e Eline.

À minha mãe, meu tesouro, meu exemplo, minha companheira de todas as horas. Obrigado por sempre me apoiar na escolha do meu curso e ter me dado condições para que eu realizasse meu sonho.

Enfim, agradeço a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho. Muito obrigado a todos!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABELAS	v
RESUMO	vi
REFERENCIAL TEÓRICO	1
FORMIGAS ASSOCIADAS À <i>TURNERA SUBULATA</i> (TURNERACEAE): ATRAÇÃO PELO ELAIOSOMO E PAPEL NA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES	
1. Introdução	6
2. Material & Métodos	9
3. Resultados	15
4. Discussão	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. Esquema dos bioensaios para avaliar a resposta e escolha das formigas ao odor do elaiossomo. **(A)** Pré-teste para determinar o limiar de resposta das formigas às diferentes concentrações de odor do elaiossomo de sementes de *T. subulata*. Na câmara central onde as formigas foram inseridas foram feitas quatro aberturas em direção às fontes de odor testadas. **(B)** Teste de escolha das formigas entre a concentração do odor do elaiossomo determinada no pré-teste \times odor do hexano (controle). A câmara central onde a formiga foi inserida possuía duas aberturas opostas em direção às fontes de odor. O diâmetro da placa de Petri variou de acordo com a formiga testada (ver Material & Métodos para detalhes). 12
- FIGURA 2. Tempo médio de resposta das diferentes espécies de formigas para escolher uma das concentrações do extrato do elaiossomo de sementes de *Turnera subulata*. 18
- FIGURA 3. Resposta comportamental dos indivíduos das diferentes espécies de formigas que escolheram entre o extrato do elaiossomo de sementes de *Turnera subulata* ou do controle (hexano). Cada barra corresponde à proporção de indivíduos que respondeu ao extrato ou controle 19
- FIGURA 4. Consumo médio (mg) do elaiossomo de sementes de *Turnera subulata* pelas diferentes espécies de formigas associadas. 20

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1. Proporção de escolha por espécie de formigas testadas ao extrato do elaiossomo de semente maduras de *Turnera subulata* em diferentes concentrações.

RESUMO

ROCHA, Marcos Leandro da Cruz. **Formigas associadas à *Turnera subulata* (Turneraceae): atração pelo elaiossomo e papel na germinação das sementes.** São Cristóvão: UFS, 2017. 39p. (Monografia – Bacharelado em Ecologia).

RESUMO. Simbioses entre plantas e formigas incluem casos em que a planta fornece abrigo e/ou alimento para as formigas que, em troca, atuam na defesa ou dispersão de sementes da planta hospedeira. Embora tradicionalmente consideradas mutualísticas, tais interações podem apresentar diferentes resultados de acordo com o contexto ecológico no qual estão inseridas. Aqui, investigamos a atratividade e consumo do elaiossomo pelas cinco espécies de formigas mais frequentemente associadas à *T. subulata*, bem como a contribuição destas espécies para a germinação de sementes e o crescimento das plântulas. Bioensaios comportamentais foram conduzidos a fim de avaliar se as espécies de formigas mais atraídas pelo odor do elaiossomo, são aquelas que mais consomem tal estrutura e contribuem para a germinação e crescimento das plântulas. Nossos resultados mostraram que houve variação na atração das formigas pelo odor e na taxa de consumo do elaiossomo. Porém, nenhuma das formigas contribuiu significativamente para o aumento da germinação das sementes e crescimento das plântulas. Nossos resultados sugerem que o consumo dos elaiossomos pelas formigas não é fator determinante para o sucesso de germinação das sementes de *T. subulata*. No entanto, tais espécies poderiam contribuir para a germinação das sementes de forma indireta, seja carregando as sementes para locais mais propícios à germinação ou reduzindo os riscos bióticos e abióticos. Estudos posteriores devem analisar o papel das formigas na dispersão das sementes de *T. subulata*. Nossos resultados ajudam a elucidar os resultados das interações ecológicas envolvendo formigas-planta.

Palavras-chave: interação planta-formiga, mirmecocoria, sementes, simbiose.

REFERENCIAL TEÓRICO

Alianças biológicas como sistemas dinâmicos: interações formigas-planta.

As interações ecológicas influenciam a dinâmica populacional, a estrutura das comunidades e o funcionamento dos sistemas ecológicos (Ricklefs 2010). Tais interações nem sempre são fixas no tempo e no espaço (Pires & Del-Claro 2014), o que promove maior complexidade e conseqüentemente variações no balanço entre custos/benefícios para as espécies envolvidas (Stadler & Dixon 2005). Alguns estudos demonstraram que até mesmo as interações tradicionalmente consideradas positivas ou antagônicas podem sofrer alterações em seus resultados dependendo do contexto ecológico no qual estão inseridas (Redman *et al.* 2001, Blaser & Atherton 2004, Kersch & Fonseca 2005).

Em algumas interações, as plantas oferecem recursos como abrigo (ex. domácias) e/ou alimento (ex.: nectários extraflorais, elaiossomos) para as formigas. Nectários extraflorais são glândulas produtoras de néctar que não estão relacionadas diretamente com a polinização (González-Teuber & Heil 2009). O néctar extrafloral é a recompensa nutricional mais comum que as plantas oferecem às formigas (Koptur 1992). Já o elaiossomo, consiste em um apêndice rico em lipídios, proteínas e açúcares que tem sido considerado como uma estrutura de especialização da planta para a atração de formigas (Van Derl Pijl 1982), que o utilizam como recurso alimentar. Em troca dos benefícios oferecidos pela planta, as formigas podem realizar proteção contra os herbívoros (Rico-Gray & Oliveira 2007) e/ou atuarem na dispersão das sementes da planta hospedeira (Dominguez- Haydar & Armbrrecht 2011).

No entanto, os resultados dessas interações podem ser variáveis dependendo do contexto ambiental como, por exemplo, a abundância de herbívoros e formigas associados à planta hospedeira (Rudgers & Strauss 2004), a composição de espécies de formigas associadas (Miller 2007, Cruz & Araujo 2016) e a baixa atividade defensiva das formigas ou

baixa recompensa ofertada pelas plantas (Nogueira *et al.* 2012). Normalmente, observa-se menor frequência de resultados positivos para ambas as espécies envolvidas quando o mutualismo é facultativo. Nas relações formigas-plantas, mutualismos facultativos são mais comuns quando as formigas são atraídas pelos nectários extraflorais ou elaiossomo, mas não nidificam na planta (Heil 2008). Nestas interações facultativas, notam-se várias espécies de formigas ocorrendo em uma mesma espécie de planta hospedeira, com baixa fidelidade das formigas associadas. Nesses casos, as formigas podem executar diferentes comportamentos que podem variar desde benefícios [ex.: dispersão de sementes (Cuautle *et al.* 2005), defesa contra herbívoros (Cruz & Araújo 2016, Del-Claro *et al.* 1996) até antagonismo [ex.: redução do número de visitantes florais pelas formigas (Cuautle & Rico-Gray 2003, Koptur 2005)] ou oportunismo [ex.: consumo do elaiossomo sem dispersão de sementes (Leal 2003)] para a planta. Já nos casos de mutualismo obrigatório, frequentemente há apenas uma espécie de formiga associada à planta (Sanchez 2015).

Dispersão e germinação de sementes: importância do elaiossomo

Diversos agentes podem atuar na dispersão dos diásporos de plantas (ex.: sementes) determinando a riqueza e a distribuição espacial de suas populações (Van Der Pijl 1982). Dentre os agentes dispersores de sementes [ex. vento (dispersão anemocórica), água (hidrocórica) ou animais (zoocórica) (Wilson & Traveset 2000)], os animais são o principal fator, predominando em cerca de 50 a 90% das áreas tropicais (Howe & Smallwood 1982). Os principais dispersores incluem aves (ornitocoria), mamíferos (mamaliocoria) (Tiffney 2004) e formigas (mirmecocoria) (Leal 2003).

Ao realizarem a dispersão de sementes de plantas, as formigas são recompensadas pelo apêndice nutritivo que envolve a semente (elaiossomo). De fato, Leal (2003) relatou

preferência das formigas por sementes recobertas por elaiossomo comparado àquelas não recobertas. As formigas forrageiras utilizam o elaiossomo como suporte para transportar a semente até o ninho, para alimentação das larvas (Beattie & Hughes 2002).

Alguns estudos demonstraram que o consumo do elaiossomo pelas formigas pode acarretar em um maior sucesso de germinação (Pizo & Oliveira 2000, Leal 2003, Passos & Oliveira 2003, Costa & Leal 2007). Leal (2003) sugere que isso acontece porque os elaiossomos são ricos em lipídeos e sofrem ataque de fungos patogênicos que reduzem a viabilidade das sementes; além disso, a remoção do elaiossomo expõe a micrópila das sementes, permitindo a absorção de água necessária à germinação.

Embora formigas possam realizar a dispersão de sementes sem elaiossomos (Leal & Oliveira 2000, Passos & Oliveira 2003), a mirmecocoria verdadeira é considerada aquela em que as formigas dispersam sementes com elaiossomos (Beattie 1985). Os principais benefícios da mirmecocoria incluem: i) transporte das sementes em pontos distantes da planta-mãe, resultando em menor competição e na redução da predação de sementes (Beattie 1985); e ii) transporte das sementes até os ninhos das formigas, onde as condições de germinação são melhores devido ao alto teor de nutrientes (Henao-Gallego *et al.* 2012).

Interações formigas x Turnera

O gênero *Turnera* L. (Turneraceae) possui espécies arbustivas que ocorrem em grande parte da América Latina (Piacente *et al.*, 2002). *Turnera subulata* é uma planta ruderal, amplamente distribuída e abundante em diferentes biomas brasileiros (Arbo 2005), ocorrendo em ambientes naturais e, principalmente, em áreas antropizadas. Nesta espécie, o pecíolo de cada folha apresenta um par de nectários extraflorais, onde normalmente encontram-se formigas associadas (Arbo 2013). Em *T. ulmifolia*, por exemplo, foram encontradas 26

espécies de formigas associadas (Cuautle *et al.* 2005) e estudos mostram que suas relações com a planta hospedeira nem sempre são benéficas para ambas as partes (Cuautle & Rico-Gray 2003; Cuautle *et al.* 2005; Salazar-Rojas *et al.* 2012).

Estudos recentes realizados no nordeste do Brasil (São Cristóvão, Sergipe) investigaram o papel das formigas associadas em relação aos custos e benefícios para a planta hospedeira *T. subulata*. Foram encontradas 21 espécies de formigas associadas à *T. subulata* sendo as mais frequentes: *Braxymyrmex* sp. 1, *Camponotus blandus*, *Crematogaster obscurata*, *Dorymyrmex* sp. 1 e *Solenopsis invicta*. Além de sua alta frequência, *S. invicta* também foi a espécie que mais defendeu a planta. Foi visto que a associação com formigas pode trazer benefícios para *T. subulata*. A maioria das formigas associadas mostram-se potenciais predadoras e realizaram patrulhamento e defesa da planta hospedeira. Além disso, plantas de *T. subulata*, na presença de formigas, investiram mais em reprodução (ex. maior número de flores e frutos) (Cruz & Araújo 2016) do que aquelas sem formigas associadas.

Neste estudo, tivemos como objetivo geral avaliar o papel desta espécie de formigas mais frequentemente associadas à *T. subulata* em relação às suas contribuições para germinação de sementes da planta hospedeira. Para isso, nossos objetivos específicos foram: (i) avaliar o quanto tais espécies são atraídas pelo extrato do odor do elaiossomo; (ii) mensurar a taxa de consumo do elaiossomo das sementes de *T. subulata* pelas formigas; e (iii) avaliar o papel do consumo do elaiossomo pelas formigas na taxa de germinação das sementes e no crescimento das plântulas.

Formigas associadas à *Turnera subulata* (Turneraceae): atração pelo elaiossomo e papel na germinação das sementes

Marcos Leandro da Cruz Rocha, Joseane Santos Cruz, Jailton Jorge Marques,
Dinamarta Virgínio Ferreira, Paulo Felliipe Cristaldo & Ana Paula Albano Araújo

Laboratório de Interações Ecológicas, Departamento de Ecologia, Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, Tel: +55 79 21056926

1. INTRODUÇÃO

As interações entre espécies podem interferir nos padrões e processos ecológicos (Bøhn & Amundsen 2004), desempenhando importante papel na dinâmica e estruturação das comunidades. Uma vez que as interações ecológicas são complexas e dinâmicas, seus resultados podem ser variáveis no tempo e espaço (Pires & Del-Claro 2014) de acordo com o balanço entre custos e benefícios para as partes envolvidas. Simbioses entre plantas e formigas, tradicionalmente consideradas mutualísticas, estão entre as interações ecológicas mais amplamente estudadas (Rico-Gray & Oliveira 2007). Tais interações incluem os casos em que a planta fornece abrigo (p. ex: domáceas) e/ou alimento (nectários extraflorais ou elaiossomos) para as formigas que, em troca, atuam na defesa (Janzen 1966) ou na dispersão de sementes (mimercocoria) da planta hospedeira (Inouye & Taylor 1979).

Formigas são consideradas o maior grupo de invertebrados dispersores de sementes (Folgarait 1998, Beattie & Hughes 2002). Algumas plantas possuem suas sementes recobertas por elaiossomo – apêndice rico em proteínas e lipídeos – que normalmente são atrativos para algumas espécies de formigas por representarem um importante complemento nutricional de suas dietas (Gammans *et al.* 2005, Fischer *et al.* 2008, 2005). Estudos demonstram que os elaiossomos são normalmente transportados até o ninho das formigas por serem preferidos principalmente para alimentação das larvas (Fischer *et al.* 2005). Este comportamento pode contribuir tanto para o aumento da produtividade das colônias de formigas quanto para o sucesso de germinação das sementes no solo dos ninhos, os quais são ricos em nutrientes. Além disso, o sucesso de germinação devido à dispersão de sementes por formigas pode ser decorrente de outros benefícios, como por exemplo: colonização de novos *habitats* (Whitney 2002), diminuição da competição intraespecífica entre plântulas (Bronstein *et al.* 2006, Gibson

1993) e da predação de sementes por animais (O'Dowd & Hay 1980, Tanaka *et al.* 2015); além de proteção contra stress abiótico (ex. fogo) (Christian & Stanton 2004). O papel positivo das formigas no sucesso de germinação de sementes tem sido observado principalmente em solos pobres em nutrientes (Leal *et al.* 2007). Em uma escala maior, a dispersão de sementes por formigas pode influenciar inclusive os padrões de distribuição espacial das populações de plantas (Gómez *et al.* 2005).

Assim como as demais interações planta-formiga, a mirmecocoria também tem sido reportada como fortemente dependente de contexto (Giladi 2006, Pfeiffer *et al.* 2010, Chlumský *et al.* 2012). Em alguns casos, espécies de formigas associadas à determinadas plantas hospedeiras podem se comportar como "trapaceiras" (*cheat*) removendo o elaiossomo da semente sem realizar a dispersão (Boulay *et al.* 2007). Similarmente, algumas plantas podem liberar substâncias indutoras de comportamento de dispersão, sem recompensar nutricionalmente as formigas (Turner & Frederickson 2013). Variações nos resultados dessas interações são mais comuns em associações facultativas do que nas obrigatórias. Isto pode ser explicado pelas diferenças de custos e benefícios inerentes à associação entre espécies e pela possível existência de uma série de condições em que os parceiros são desnecessários ou absolutamente prejudiciais (Bronstein 1994, Pereira & Trigo 2013).

Plantas do gênero *Turnera* L. (Turneraceae) são reconhecidas por apresentarem interações com formigas. Estas plantas possuem porte arbustivo e estão distribuídas do sul dos Estados Unidos até a Argentina (Prata *et al.* 2013). A espécie *T. subulata* ocorre em todo o nordeste brasileiro (Arbo 2005), tanto em ambientes naturais como em áreas antropizadas. Estas plantas, apresentam na base de suas folhas um par de nectário extrafloral e possuem sementes cobertas por elaiossomo (Arbo 2013). Recentemente, 21 espécies de formigas foram observadas em associações facultativas com *T. subulata*

(Cruz & Araújo 2016). A presença destas formigas associadas contribuiu para o aumento na reprodução e diminuição da herbivoria na planta hospedeira (Cruz & Araújo 2016). No entanto, a atratividade e o consumo do elaiossomo pelas formigas associadas, bem como a contribuição relativa destas para a germinação das sementes de *T. subulata* ainda não foi estudado.

No presente estudo, investigamos a atração e consumo do elaiossomo pelas cinco espécies de formigas mais frequentemente associadas à *T. subulata*, bem como a contribuição destas espécies para a germinação de sementes e o crescimento das plântulas da planta hospedeira. Especificamente, testamos as hipóteses de que (i) as espécies de formigas associadas apresentam diferentes respostas em relação à atratividade do extrato do elaiossomo; (ii) as espécies de formigas mais atraídas pelo extrato do elaiossomo atuam de maneira mais efetiva em sua remoção e que (iii) as formigas que mais removem o elaiossomo são as que mais contribuem para o sucesso de germinação das sementes e para o crescimento das plântulas de *T. subulata*. Os resultados desse trabalho visam a compreensão da dinâmica de custos-benefícios que determinam os resultados das interações ecológicas, assim como para o entendimento da estruturação de comunidades.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Formigas associadas a *T. subulata*

As cinco espécies de formigas mais frequentemente associadas à *T. subulata* - *Brachymyrmex* sp1., *Camponotus blandus*, *Crematogaster obscurata*, *Dorymyrmex* sp1. e *Solenopsis invicta* (Cruz & Araújo 2016) - foram coletadas diretamente nos ninhos do *campus* da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Os indivíduos amostrados foram mantidos em B.O.D. sob temperatura controlada (25°C), sem oferta de alimento, por 24 horas antes da realização dos testes. Para cada espécie estudada, foram feitas coletas em três ninhos distintos. As formigas foram identificadas por comparação com material da Coleção Entomológica do Laboratório Interações Ecológicas da UFS.

2.2. Extração do odor do elaiossomo de *T. subulata*

Sementes maduras de *T. subulata* foram obtidas em julho de 2015 de cinco plantas do *campus* da Universidade Federal de Sergipe (UFS) (10°55'35"S, 37°6'14"O), São Cristóvão, Sergipe. Os elaiossomos foram removidos das sementes com auxílio de uma pinça entomológica esterilizada e pesados em balança de precisão.

Extratos do elaiossomo destas sementes foram obtidos a partir da imersão dos elaiossomos em 100 µl de *n*-hexano (99% P.A./ACS; Neon Comercial Ltda.[®], São Paulo-SP) por 24 horas à aproximadamente 4 °C. Após a extração, os elaiossomos foram retirados e foram adicionados mais 100 µl de *n*-hexano. Para o cálculo da concentração, o peso do elaiossomo foi dividido pelo volume final de hexano após a extração. Os extratos finais foram acondicionados em freezer à -18 °C para utilização nos bioensaios comportamentais.

2.3. Atratividade do elaiossomo das sementes de *T. subulata* para as formigas associadas

Pré-testes foram realizados a fim de se obter um limiar de resposta das formigas às concentrações do extrato do elaiossomo. Em seguida, o bioensaio principal de atratividade foi realizado utilizando, para cada espécie de formiga, a concentração do extrato do elaiossomo que desencadeou o comportamento de atração (ver abaixo).

Ambos experimentos (pré-teste e bioensaio principal) foram realizados em placas de Petri forradas com papel filtro. Os diâmetros das placas variaram proporcionalmente ao tamanho dos indivíduos das espécies de formigas testadas (*Brachymyrmex* sp.: 5,5 cm Ø; *Cr. obscurata*, *Dorymyrmex* sp. e *Solenopsis invicta*: 9 cm Ø; e *Ca. blandus*: 15 cm Ø). No centro de cada placa foi inserida uma câmara menor de plástico (*Brachymyrmex* sp.: 3,0 cm Ø; *Cr. obscurata*, *Dorymyrmex* sp. e *Solenopsis invicta*: 4,0 cm Ø; e *Ca. blandus*: 5,2 cm Ø) onde um indivíduo de formiga foi acondicionado. Em todos os casos foram registrados a concentração escolhida e o tempo gasto para a formiga fazer a escolha, considerando-se o tempo máximo de espera de 300 segundos. Após este período, se o indivíduo não apresentou uma escolha, foi considerado como “sem resposta”. Para cada réplica foram utilizados uma nova placa de Petri e um novo indivíduo. Todos os bioensaios foram realizados entre maio e julho de 2016, das 14 às 17:00, em condições de laboratório sob temperatura (25 °C) e luz controladas. Para cada espécie testada foram realizadas dez repetições por ninho ($N=3$), totalizando 30 réplicas por espécie de formigas/bioensaio.

No pré-teste de concentração, dentro de cada placa de Petri foram delimitados quatro círculos (um por ponto cardeal) (Fig. 1A), no qual foi aplicado, com auxílio de uma seringa Hamilton[®], 5 µL das diferentes concentrações testadas (0,007; 0,01; 0,02 e

0,05 mg/ μ l). A câmara central na qual a formiga foi acondicionada tinha quatro aberturas (uma por ponto cardeal) (Fig. 1A).

O bioensaio principal consistiu em um teste de escolha entre o controle (hexano) e a concentração do extrato do elaiossomo que cada espécie de formiga respondeu no pré-teste. A câmara central na qual a formiga foi acondicionada tinha duas aberturas (ver Fig. 1B). Os tratamentos foram aplicados, com auxílio de uma seringa Hamilton[®], em dois pedaços de papel filtro de aproximadamente 0,5 cm, dispostos em lados opostos da placa (Fig. 1B). As concentrações do extrato do elaiossomo aplicadas para cada espécie de formiga foram: 0,007 mg/ μ l para *Brachymyrmex* sp. e 0,01 mg/ μ l para *Cr. obscurata*, *Dorymyrmex* sp. e *S. invicta* (ver Resultados). A espécie *Ca. blandus* não respondeu a nenhuma das concentrações testadas, e desta forma não foram testadas neste bioensaio (ver mais detalhes em Resultados).

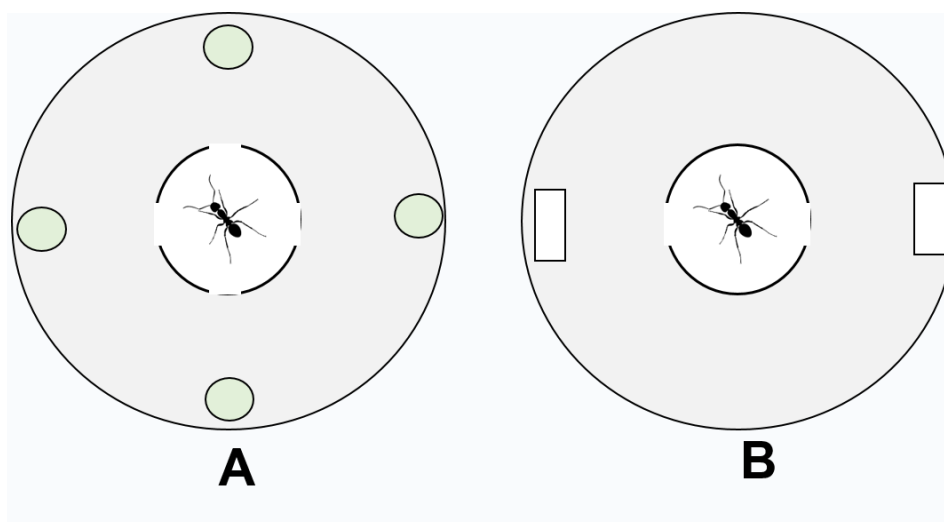


Fig. 1. Esquema dos bioensaios para avaliar a resposta e escolha das formigas ao extrato do elaiossomo. **(A)** Pré-teste para determinar o limiar de resposta das formigas às diferentes concentrações de extrato do elaiossomo de sementes de *T. subulata*. Na câmara central onde as formigas foram inseridas foram feitas quatro aberturas em direção às fontes de odor testadas. **(B)** Teste de escolha das formigas entre a concentração do extrato do elaiossomo determinada no pré-teste \times odor do hexano (controle). A câmara central onde a formiga foi inserida possuía duas aberturas opostas em direção às fontes de odor. O diâmetro da placa de Petri variou de acordo com a formiga testada (ver Material & Métodos para detalhes).

2.4. Efeito das formigas associadas na remoção do elaiossomo de sementes de *T. subulata*

O experimento foi conduzido utilizando as quatro espécies de formigas que responderam ao odor do elaiossomo. Cada repetição consistiu em uma placa de Petri (5,5 cm Ø) contendo duas sementes maduras e frescas de *T. subulata* (previamente pesadas em balança de precisão), juntamente com dez indivíduos de formiga. Um pedaço de algodão umedecido com 2 µL de água testada foi mantido em cada placa. Foram realizadas 50 repetições para cada espécie de formiga, totalizando 200 sementes. As placas de Petri foram mantidas em B.O.D. com temperatura controlada (± 25 °C) por 24 horas. Posteriormente, as sementes de cada placa foram novamente pesadas. A diferença entre o peso (mg) inicial e final das sementes foi utilizada como a medida do consumo do elaiossomo pelas formigas.

2.5. Efeito das formigas associadas na germinação de sementes de *T. subulata*

Para a condução do experimento, sementes de *T. subulata* foram submetidas a oito tratamentos distintos: semente intacta (IN), elaiossomo removido por formigas (EF – sendo um tratamento distinto para cada uma das quatro espécies de formigas (*Brachymyrmex* sp., *Cr. obscurata*, *Dorymyrmex* sp. e *S. invicta*), elaiossomo removido manualmente (EM), escarificação com água quente (SA) e escarificação manual (SM).

Para o estabelecimento do tratamento EF (elaiossomo removido por formiga), duas sementes foram colocadas em cada placa de Petri (60 x 15mm), contendo um pedaço de algodão umedecido, onde foram inseridos dez indivíduos de uma mesma espécie de formiga. As placas, contendo as sementes e as formigas, foram cobertas com papel filme e mantidas em B.O.D., à temperatura de 27°C e fotoperíodo de 12h, durante

24h. No caso do tratamento EM (elaioosomo removido manualmente), o processo foi realizado utilizando estereomicroscópio, onde cada elaioosomo foi retirado com o auxílio de pinças, evitando qualquer tipo de danos às sementes. Para a escarificação com água (SA), as sementes foram colocadas em potes de vidro de 5mL preenchidos com água a temperatura de 80°C, previamente aquecidos em micro-ondas durante 10 segundos. As sementes foram retiradas da água depois de 1h, após resfriamento das mesmas. Para o tratamento escarificação manual (SM), os elaioosomos foram removidos e foram feitos três cortes paralelos (nos extremos e no meio da semente) nas sementes utilizando estilete, com o auxílio de um esteriomicroscópio.

Em todos os tratamentos foram utilizadas sementes maduras, provenientes de 50 indivíduos de *T. subulata*. Para cada tratamento foram utilizadas cinco plantas distintas, sendo dez repetições/planta, totalizando 50 repetições/tratamento. Cada repetição consistiu em duas sementes, totalizando 800 sementes. Sementes foram depositadas em sementeira de isopor separadas por células (2 sementes/célula = uma réplica). O substrato utilizado consistiu em uma mistura de húmus de minhoca e areia (50:50).

O delineamento foi feito em blocos inteiramente casualizados. As sementes foram irrigadas diariamente com 5mL de água/célula. Avaliações diárias foram feitas durante 30 dias para mensurar: o tempo gasto para emergência das plântulas e a altura final das mesmas.

2.6. Análises Estatísticas

Os dados foram analisados no *software* estatístico *R* (R Development Core Team 2015) por meio de Modelagem Linear Generalizada (GLM) seguido de análises de resíduos para verificar a adequabilidade das distribuições e dos modelos utilizados. Em

todos os casos, as diferenças entre os tratamentos (“espécie de formiga”) foram verificadas por meio de Análise de Contraste (Crawley 2007, 2002), no qual foram agrupados os tratamentos que não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$).

Para verificar se o tempo médio de resposta (*y-var*) ao pré-teste de concentração varia entre as espécies de formigas testadas (*x-var*), os dados foram submetidos à Análise de Deviância (ANODEV), utilizando-se distribuição de erros Normal. Análises similares foram realizadas para verificar o efeito da concentração escolhida para cada espécie de formigas testada, independentemente.

A atratividade do odor do elaiossomo foi verificado por meio de teste do Qui-Quadrado (χ^2), independentemente para cada espécie de formiga. Em todos os casos, o tempo médio de resposta dos indivíduos foi a variável dependente (*y-var*) e o odor escolhido (odor do elaiossomo ou hexano) foi a variável explicativa (*x-var*). Para analisar o efeito das espécies de formigas (*x-var*) na remoção do elaiossomo (*y-var* = mg consumida), os dados foram submetidos à ANODEV, com distribuição de erros Normal.

Para analisar a contribuição das formigas na germinação de sementes de *T. subulata*, os tempos médios gastos para germinação de 50% das sementes, nos diferentes tratamentos, foram estimados através de análises de sobrevivência, com distribuição de Weibull, utilizando o pacote *survival*. O censor tradicionalmente utilizado na análise de sobrevivência correspondeu à germinação (1) ou não (0) de uma das duas sementes de cada repetição.

3. RESULTADOS

3.1. Limiar de resposta das formigas à concentração do extrato do elaiossomo de *T. subulata*

As espécies de formigas responderam à uma das concentrações testadas, com exceção de *Ca. blandus*, em que apenas uma das 30 formigas respondeu ao odor do elaiossomo. O tempo médio de resposta das formigas ao teste de concentração variou significativamente entre as espécies ($P < 0,001$; Fig. 2). *Crematogaster obscurata* foi a espécie que respondeu mais rapidamente ($138,1 \pm 3,1$ s.; média \pm e.p), seguida por *Brachymyrmex* sp. ($243,9 \pm 26,5$ s.), *Dorymyrmex* sp. ($228,0 \pm 19,3$ s.) e *S. invicta* ($190,3 \pm 17,5$ s.). *Brachymyrmex* sp. e *Dorymyrmex* sp. não diferiram significativamente entre si ($P = 0,39$). Já o tempo médio de resposta do único indivíduo de *Camponotus blandus* foi estimado em $296,9 \pm 3,1$ s.

No entanto, as espécies de formigas não apresentaram preferência de escolha para nenhuma das concentrações testadas (Tabela 1). Sendo assim, o teste de atratividade foi conduzido com a concentração de $0,007$ mg/ μ l para *Brachymyrmex* sp.; enquanto para as demais formigas (*Cr. obscurata*, *Dorymyrmex* sp e *S. invicta*) que apresentam similar tamanho corporal, a concentração foi utilizada de $0,01$ mg/ μ l .

Tabela 1. Proporção de escolha por espécie de formigas testadas ao extrato do elaiossomo de semente maduras de *Turnera subulata* em diferentes concentrações.

Espécie testada	Concentração (mg/μl)	Proporção de escolha	P
<i>Brachymyrmex</i> sp.	0,007	0,64±0,19	0,79 n.s
	0,01	0,06±0,06	
	0,02	0,00±0,00	
	0,05	0,28±0,19	
<i>Crematogaster obscurata</i>	0,007	0,11±0,06	0,83 n.s
	0,01	0,44±0,05	
	0,02	0,24±0,009	
	0,05	0,19±0,03	
<i>Dorymyrmex</i> sp.	0,007	0,23±0,14	0,79 n.s
	0,01	0,15±0,07	
	0,02	0,33±0,33	
	0,05	0,28±0,17	
<i>Solenopsis invicta</i>	0,007	0,36±0,01	0,70 n.s
	0,01	0,20±0,11	
	0,02	0,25±0,14	
	0,05	0,18±0,03	

n.s. – $P > 0,05$

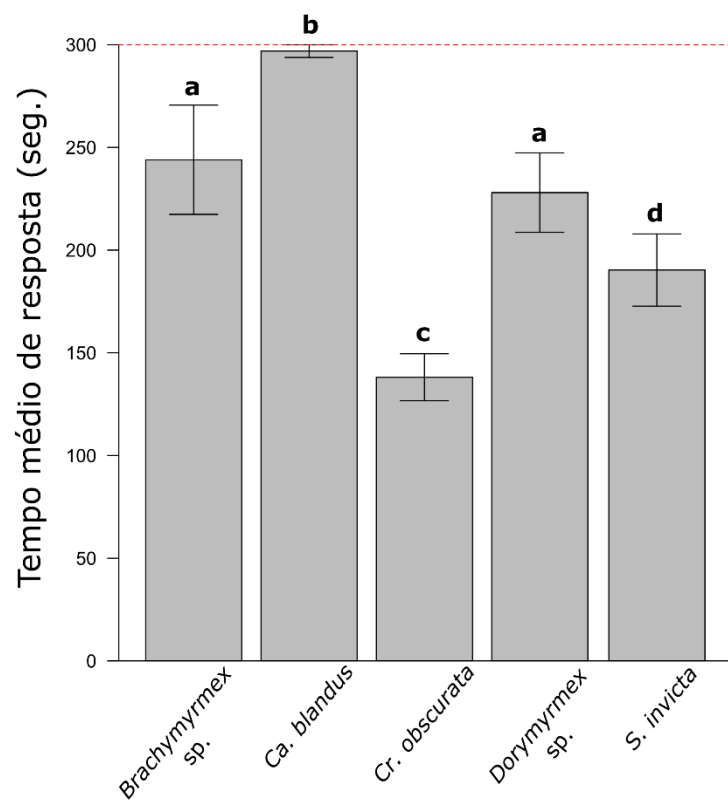


Fig. 2. Tempo médio de resposta das diferentes espécies de formigas para escolher uma das concentrações do odor do elaiossomo de sementes de *Turnera subulata* (pré-teste, ver Material & Métodos).

3.2. Atratividade ao extrato do elaiossomo de *T. subulata*

Crematogaster obscurata e *S. invicta* apresentaram significativamente uma maior proporção média de indivíduos escolhendo o extrato do elaiossomo do que o hexano (controle) ($\chi^2=8,33$, $P=0,003$ [*Cr. obscurata*], $\chi^2=5,26$, $P=0,02$ [*S. invicta*]; Fig. 3). Por outro lado, os indivíduos de *Brachymyrmex* sp. e *Dorymyrmex* sp. não mostraram diferenças na escolha entre o extrato do elaiossomo e o controle (*Brachymyrmex* sp.: $\chi^2=1$, $P=1$; *Dorymyrmex* sp.: $\chi^2=0,42$, $P=0,512$; Fig. 3).

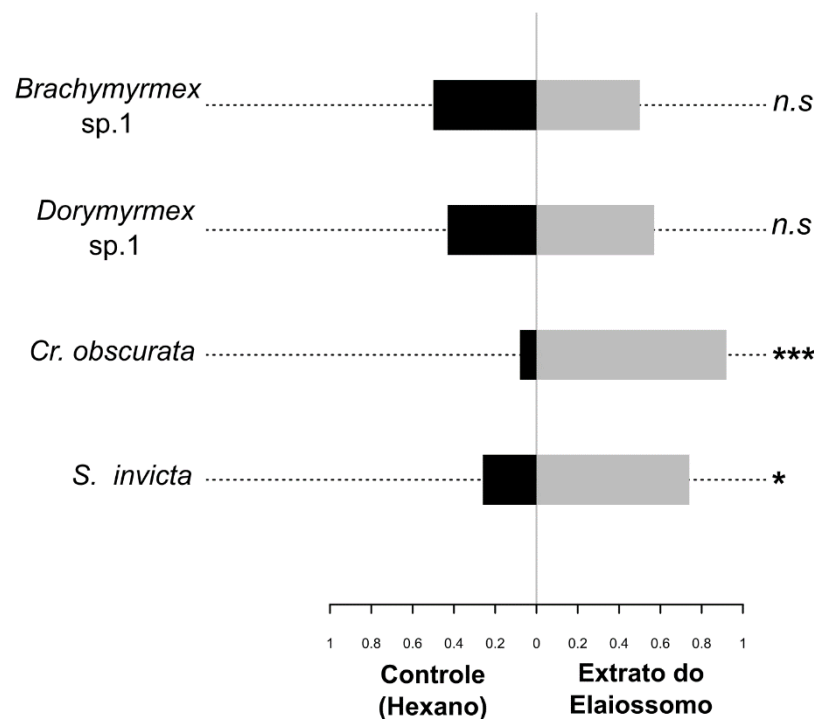


Fig. 3. Resposta comportamental dos indivíduos das diferentes espécies de formigas que escolheram entre o extrato do elaiossomo de sementes de *Turnera subulata* ou do controle (hexano). Cada barra corresponde à proporção de indivíduos que respondeu ao extrato ou controle. * $P<0,05$; *** $P<0,005$.

3.3. Efeito das formigas associadas na remoção do elaiossomo de sementes de *T. subulata*

Embora as formigas tenham consumido o elaiossomo das sementes, em nenhuma observação estes foram totalmente consumidos. A quantidade de elaiossomo consumido apresentou variação significativa entre as espécies estudadas ($F_{1,38}=6,577$, $P = 0,014$; Fig. 4). Os indivíduos de *Brachymyrmex* sp., *Cr. obscurata* e *Dorymyrmex* sp. consumiram, em média, uma maior quantidade de elaiossomo quando comparado aos indivíduos de *S. invicta* (Fig. 4).

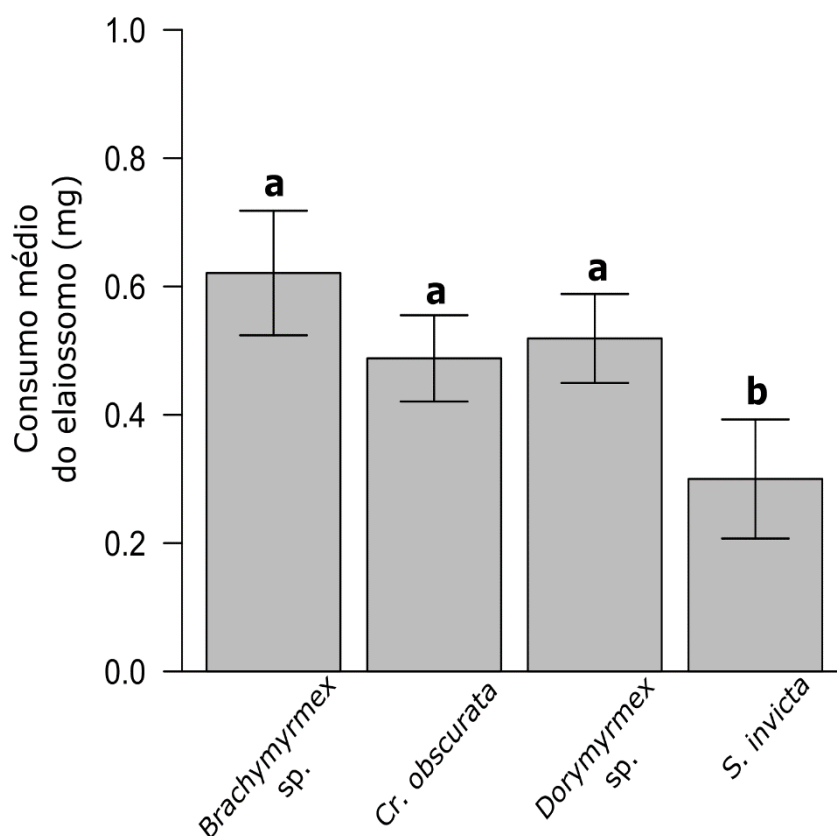


Fig. 4. Consumo médio (mg) do elaiossomo de sementes de *Turnera subulata* pelas diferentes espécies de formigas associadas. Barras correspondem à média \pm erro padrão.

3.4. Efeito das formigas na germinação de sementes de *T. subulata*

O tempo médio gasto para a germinação das sementes ($\chi^2 = 12,115$, $d.f.=391$, $P = 0,098$) e a altura das plântulas ($F_{7,190}=1,078$, $P=0,378$) não foram afetados significativamente pelos tratamentos.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo, investigamos o quanto as cinco espécies de formigas mais frequentemente associadas à *T. subulata* são atraídas e consomem o elaiossomo, bem como o papel das mesmas na germinação das sementes da planta hospedeira. De forma geral, nossos resultados demonstraram que apesar de algumas espécies de formigas serem atraídas pelo odor (Fig. 2) e consumirem o elaiossomo (Fig. 3), nenhuma delas promoveu um aumento no sucesso germinativo das sementes e nem no crescimento das plântulas de *T. subulata*.

Nas interações facultativas (ex. planta-formigas), a planta hospedeira normalmente está associada com uma distinta composição e abundância de formigas ao longo do tempo e espaço (Heil & Mckey 2003). Estas variações podem resultar em associações consideradas contexto-dependente (Bronstein 1994, Di Gusto *et al.* 2001, Chamberland & Holland 2009), que nem sempre resultam em um balanço positivo para ambas as partes envolvidas. A contribuição das formigas na germinação de sementes da planta hospedeira, seja de forma direta ou indireta, depende inicialmente da atratividade do elaiossomo para as mesmas. Aqui, verificamos que embora a maioria das formigas tenha percebido o sinal emitido pelo elaiossomo (respondendo as concentrações no pré-teste), *Cr. obscurata* e *S. invicta* responderam mais rapidamente (Fig. 2) e em maior proporção do que as demais espécies (Fig. 3). Fatores como o tamanho do elaiossomo (Hughes & Westoby 1992), sua constituição química e aspectos nutricionais (Hughes *et al.* 1994) têm sido determinantes na atratividade das formigas ao elaiossomo. Estudos sugerem que quando o custo da recompensa oferecida pela planta é superior ao sinal emitido na atratividade, as plantas poderiam investir mais na qualidade do sinal do que na recompensa, gerando assim um sinal de 'trapaça' (Benitez-Vieyra *et al.* 2010, Edwards & Yu 2007). Uma vez atraídas pelo sinal do elaiossomo, o consumo do mesmo

pode ser dependente de sua recompensa, seja em relação à quantidade ou qualidade nutricional (Sheridan *et al.* 1996). Isso poderia explicar porque *S. invicta*, apesar de ter respondido mais prontamente ao odor do elaiossomo, foi a que teve a menor taxa de consumo dentre todas as formigas analisadas. Da mesma forma, poderia ser o motivo pelo qual nenhuma das espécies estudadas removeu completamente o elaiossomo das sementes. Adicionalmente, a taxa de consumo do elaiossomo pode depender da necessidade nutricional intrínseca de cada colônia.

O simples consumo e remoção do elaiossomo pelas formigas pode representar um benefício direto para a germinação das sementes. Ao consumir o elaiossomo as formigas podem injetar saliva e promover escarificações que otimizam o processo de germinação (Hughes & Westoby 1992). No entanto, no presente estudo, as formigas associadas não contribuíram para o sucesso de germinação e crescimento das plântulas de *T. subulata*. Nossos resultados indicam que o consumo direto dos elaiossomos pelas formigas estudadas não é o fator que poderia desencadear algum benefício para a germinação em *T. subulata*. No entanto, deve-se considerar que o papel positivo das formigas na germinação das sementes pode ser representado por uma gama de benefícios indiretos (Whitney 2002, Bronstein *et al.* 2006, Gibson 1993, O'Dowd & Hay 1980, Tanaka *et al.* 2015, Christian & Stanton 2004). Por exemplo, de acordo com a hipótese da dispersão dirigida ("*Directed dispersal hypothesis*"), as formigas são capazes de descartar as sementes no ninho ou próximos ao ninho, que são locais enriquecidos em nutrientes, possibilitando desta maneira, um aumento na germinação das sementes (Giladi 2006). De fato, Leal *et al.* (2007), observaram um aumento na germinação de quatro espécies vegetais da Caatinga Brasileira em solos de ninhos de formigas em comparação com solos de outros locais. Assim, não podemos descartar o

papel das espécies de formigas estudadas aqui na germinação, uma vez que os benefícios indiretos da germinação não foram analisados.

Deve-se considerar ainda que, mesmo uma possível ausência de benefício do papel das formigas na germinação de sementes de *T. subulata*, pode estar sendo compensado por outras funções que propiciem um aumento no *fitness* da planta. Estudos anteriores mostraram que as formigas associadas à *T. subulata* reduziram a herbivoria e aumentaram o investimento reprodutivo da planta hospedeira comparado às plantas sem formigas (Cruz & Araújo, 2016). A defesa da planta hospedeira é desempenhada principalmente por quatro das cinco espécies de formigas testadas no presente estudo: *Ca. blandus*, *Cr. obsturata*, *Dorymyrmex sp* e *S. invicta*. Estudos futuros devem tentar analisar o papel destas formigas associadas na dispersão das sementes de *T. subulata*. Tais estudos, aliados aos resultados obtidos aqui, podem ser úteis para o entendimento da dinâmica das interações facultativas envolvendo planta-formigas.

REFERÊNCIAS

- ALVES-SILVA, E., B. ALEXANDRA, J. B. GUDRYAN, M. T. S. HELENA, and D. C. KLEBER. 2014. Ant–herbivore interactions in an extrafloral nectaried plant: are ants good plant guards against curculionid beetles? *J. Nat. Hist.* 49: 1-11.
- ANTWEB. Species: *Camponotus blandus*. Disponível em: <<https://www.antweb.org/description.do?species=blandus&genus=camponotus&rank=species>>. Acesso em: 03 jan. 2017
- ARBO, M. M. 2013. Turneraceae. In A. P. Prata, M. C. Amaral, M. C. Farias, and M. v. Alves (Eds.) *Flora de Sergipe*. pp. 533-459.
- ARBO, M.M. 2005. Estudios sistemáticos en *Turnera* (Turneraceae). III. Series Anomalaes y *Turnera*. *Bonplandia* 14: 115-318.
- BEATTIE, A. J., and L. HUGHES. 2002. Ant-plant interactions. In C. M. Herrera and O. Pellmyr (Eds.) *Plant-Animal Interaction*. pp. 211-235, Oxford: Blackwell Publishing.
- BENITEZ-VIEYRA, S., M. ORDANO, J. FORNONI, K. BOEGE, and C. A. DOMÍNGUEZ. 2010. Selection on signal–reward correlation: limits and opportunities to the evolution of deceit in *Turnera ulmifolia* L. *J. Evol. Biol.* 23: 2760-2767.
- BLASER, M. J., and J. C. ATHERTON. 2004. *Helicobacter pylori* persistence biology and disease. *J. Clin. Invest.* 113: 321–333.
- BØHN, T., and P-A. AMUNDSEN. 2004. Ecological Interactions and Evolution: Forgotten Parts of Biodiversity? *Biosci.* 54 : 804-805.
- BOULAY, R., J. COLL-TOLEDANO, A. J. MANZANEDA, and X. CERDÁ. 2007. Geographic variations in seed dispersal by ants: are plant and seed traits decisive? *Naturwissenschaften* 94: 242-246.
- BRONSTEIN, J. L. 1994. Conditional outcomes in mutualistic interactions. *Trends Ecol. Evol.* 9: 214-217.
- BRONSTEIN, J. L., R. ALARCÓN, and M. GEBER. 2006. The evolution of plant–insect mutualisms. *New Phytol.* 172: 412-428.
- BUENO, O. C., and A. E. C. CAMPOS-FARINHA. 1999. Formigas urbanas 2: estratégias de controle. *Vetores & Pragas* 5: 5-7.
- CAMPOS-FARINHA, A. E. C., and O. C. BUENO. 2005. Formigas lava-pés: uma espécie invasora. *Vetores & Pragas* 15: 28-29.
- CHAMBERLAND, S. A., and J. N. HOLLAND. 2009. Quantitative synthesis of context

- dependency in ant-plant protection mutualisms. *Ecology* 90: 2384-2392.
- CHLUMSKÝ, J., P. KOUTECKÝ, V. JÍLKOVÁ, and M. ŠTECH. 2012. Roles of species-preferential seed dispersal by ants and endozoochory in *Melampyrum* (Orobanchaceae). *J. Plant Ecol.* 6: 232-239.
- CHRISTIAN, C. E., and M. L. STANTON. 2004. Cryptic consequences of a dispersal mutualism: seed burial, elaiosome removal, and seed-bank dynamics. *Ecology* 85: 1101-1110.
- COSTA, U. A. S., and I. R. LEAL. 2007. Dispersão de sementes por formigas na floresta Atlântica nordestina. 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Vegetal, Ccb, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE.
- CRAWLEY, M. 2002. *Glim for Ecologists*. London: Blackwell Scientific Publications.
- CRAWLEY, M. J. 2007. *The R book*. John Wiley and Sons.
- CRUZ, N. G., and A. P. A. ARAÚJO. 2016. Formigas associadas a *Turnera subulata* (Turneraceae): custos e/ou benefícios para planta hospedeira? Universidade Federal de Sergipe. Mestrado em Ecologia e Conservação.
- CUAUTLE, M. and V. RICO-GRAY. 2003. The effect of wasps and ants on the reproductive success of the extrafloral nectaried plant *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *Funct. Ecol.* 17: 417-423.
- CUAUTLE, M., V. RICO-GRAY, and C. DIAZ-CASTELAZO, C. 2005. Effects of ant behaviour and presence of extrafloral nectaries on seed dispersal of the Neotropical myrmecochore *Turnera ulmifolia* L. (Turneraceae). *Biol. J. Linn. Soc.* 86: 67-77.
- CUEZZO, F. Subfamília Dolichoderinae. In: FERNÁNDEZ, F. (Ed.). *Introducción a las hormigas de la región Neotropical*. 2003. Bogotá-COL: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. p. 291-298.
- DEL-CLARO, K., V. BERTO, and W. REU. 1996. Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). *J. Trop. Ecol.* 12: 887-892.
- DI GUSTO, B. G. M. ANSTETT, E. DOUNIAS, and D. B. McKEY. 2001. Variation in the effectiveness of biotic defence: the case of an opportunistic ant-plant protection mutualism. *Oecologia* 129: 367-375.
- DOMINGUEZ-HAYDAR, Y., and I. ARMBRECHT. 2011. Response of ants and their seed removal in rehabilitation areas and forests at el cerrejón coal mine in Colombia. *Restor. Ecol.* 19: 78-184.
- EDWARDS, D. P., and D. W. YU. 2007. The roles of sensory traps in the origin,

- maintenance, and breakdown of mutualism. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 61: 1321-1327.
- FERNÁNDEZ, F. Lista de los géneros de hormigas del mundo. In: FERNÁNDEZ, F. (Ed.) 2003. Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Bogotá-COL: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. p. 371-378.
- FERNÁNDEZ, F., and S. SENDOYA. 2004. List of Neotropical ants (Hymenoptera: Formicidae). *Biota Colombiana* 5: 3-93.
- FISCHER, R. C., A. RICHTER, F. HADACEK, and V. MAYER. 2008. Chemical differences between seeds and elaiosomes indicate an adaptation to nutritional needs of ants. *Oecologia* 155: 539-547.
- FISCHER, R. C., S. M. ÖLZANT, W. WANEK, and V. MAYER. 2005. The fate of *Corydalis cava* elaiosomes within an ant colony of *Myrmica rubra*: elaiosomes are preferentially fed to larvae. *Insectes Soc.* 52: 55-62.
- FOLGARAIT, P. J. 1998. Ant biodiversity and its relationship to ecosystem functioning: a review. *Biodivers. Conserv.* 7: 1221-1244.
- GAMMANS, N., J. M. BULLOCK, and K. SCHÖNROGGE. 2005. Ant benefits in a seed dispersal mutualism. *Oecologia* 146: 43-49.
- GIBSON, W. 1993. Selective Advantages to Hemi-Parasitic Annuals, Genus *Melampyrum*, of a Seed-Dispersal Mutualism Involving Ants: I. Favorable Nest Sites. *Oikos* 67: 334-344.
- GILADI, I. 2006. Choosing benefits or partners: a review of the evidence for the evolution of myrmecochory. *Oikos* 112: 481-492.
- GÓMEZ, C., X. ESPADALER, and J. M. BAS. 2005. Ant behaviour and seed morphology: a missing link of myrmecochory. *Oecologia* 146: 244-246.
- GONZÁLEZ-TEUBER, M., and M. HEIL. 2009. Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. *Plant Signal. Behav.* 4: 809-813.
- HEIL, M. 2008. Indirect defense via tritrophic interactions. *New Phytologist* 178: 41-61.
- HEIL, M., and D. MCKEY. 2003. Protective ant-plant interactions as models system in ecological and evolutionary research. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34: 425-453.
- HENAO-GALLEGO, N., ESCOBAR-RAMÍREZ, S., CALLE, Z., MONTOYA-LERMA, J. AND I. ARMBRECHT. 2012. An artificial aril designed to induce seed hauling by ants for ecological rehabilitation purposes. *Restor. Ecol.* 20: 555-560.
- HOWE, H. F. and SMALLWOOD, J. 1982. Ecology of seed dispersal. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 13: 201-228.

- HUGHES, L., and M. WESTOBY. 1992. Fate of seeds adapted for dispersal by ants in Australian *Sclerophyll* vegetation. *Ecology* 73: 1285-1299.
- HUGHES, L., M. WESTOBY, and E. JURADO. 1994. Convergence of elaiosomes and insect prey: evidence from ant foraging behaviour and fatty acid composition. *Funct. Ecol.* 8: 358-365.
- INOUE, D. W., and O. R. TAYLOR. 1979. A temperate region plant-ant-seed predator system: consequences of extra floral nectar secretion by *Helianthella quinquenervis*. *Ecology* 60: 2-7.
- JANZEN, D. H. 1966. Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *evolution* (N. Y). 20: 249-275.
- KERSCH, M. F., and C. R. FONSECA. 2005. Abiotic factors and the conditional outcome of an ant-plant mutualism. *Ecology* 86: 2117-2126.
- KOPTUR S. 1992. Extrafloral nectar-mediated interactions between insects and plants. In: Bernays E, editor. *Insect-plant interactions*. CRC Press; 1992. pp. 81-129.
- KOPTUR, S. 2005. Nectar as fuel for plant protetctors. In: WÄCKERS, F.L., and RIJN, P.C.J (Eds). *Plant-provided food for carnivorous insects: a protective mutualism and its applications*. Cambridge University Press, New York, 75-108.
- LEAL, I. R. 2003. Dispersão de sementes por formigas na Caatinga. In: Leal, I.R. Tabarelli, M.; Silva, J. M. C. *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Editora Universitária da UFPE, Recife, 692p.
- LEAL, I. R. and P. S. OLIVEIRA, 2000. Foraging ecology of attine ants in a Neotropical savanna: seasonal use of fungal substrate in the Cerrado vegetation of Brazil. *Insectes Sociaux* 47: 376-382.
- LEAL, I. R., R. WIRTH, and M. TABARELLI. 2007. Seed dispersal by ants in the semi-arid Caatinga of northeast Brazil. *Ann. Bot.* 99: 885-894.
- MILLER, T. E. X. 2007. Does having multiple partners weaken the benefits of facultative mutualism? A test with cacti and cactus-tending ants. *Oikos* 116: 500-512.
- NOGUEIRA, A., E. GUIMARÃES, S. R. MACHADO, and L. G. LOHMANN. 2012. Do extrafloral nectaries present a defensive role against herbivores in two species of the family Bignoniaceae in a Neotropical savannas? *Plant Ecol.* 213: 289-301.
- O'DOWD, D. J., and M. E. HAY. 1980. Multalism between Harvester Ants and a Desert Ephemeral: Seed Escape from Rodents. *Ecology* 61: 531-540.
- PASSOS, L., and P. S. OLIVEIRA. 2003. Interactions between ants, fruits, and seeds in a restinga forest in south-eastern Brazil. *J. Trop. Ecol.* 19:261-270.

- PEREIRA, M. F., and J. R. TRIGO. 2013. Ants have a negative rather than a positive effect on extrafloral nectaried *Crotalaria pallida* performance. *Acta Oecol.* 51: 49–53.
- PFEIFFER, M., H. HUTTENLOCHER, and M. AYASSE. 2010. Myrmecochorous plants use chemical mimicry to cheat seed-dispersing ants. *Funct. Ecol.* 24: 545–555.
- PIACENTE, S., E. E. S. CAMARGO, A. ZAMPELLI, J. S. GRACIOSO, A. R. SOUZA BRITO, C. PIZZA, and W. VILEGAS. 2002. Flavonoids and arbutin from *Turnera diffusa*. *Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. C J. Biosci.* 57: 983-985.
- PIRES, L. P., and K. DEL-CLARO. 2014. Variation in the outcomes of an ant-plant system: Fire and leaf fungus infection reduce benefits to plants with extrafloral nectaries. *J. Insect Sci.* 14: 84.
- PIZO, M. A, and P. S. OLIVEIRA. 2000. The use of fruits and seeds by ants in the Atlantic forest of southeast Brazil. *Biotropica* 32: 851-861
- PRATA, A., M. AMARAL, M. FARIAS, and M. ALVES. 2013. Flora de Sergipe vol. 1. A. Prata, M. Amaral, M. Farias, and M. Alves (Eds.). Editora Triunfo, Aracaju.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing. The R Foundation for Statistical Computing. ISBN: 3-900051-07-0, Vienna, Austria.
- REDMAN, R. S., D. D. DUNIGAN, and R. J. RODRIGUEZ, 2001. Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: Who controls the outcome, host or invader? *New Phytol.* 151: 705-716.
- RICKLEFS, R.E. 2010. A Economia da Natureza. 6ª ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- RICO-GRAY, V., and P. S. OLIVEIRA. 2007. The ecology and evolution of ant-plant interactions V. Rico-Gray and P. S. Oliveira (Eds.). University of Chicago Press, Chicago.
- RUDGERS, J. A., and S. Y. STRAUSS. 2004. A selection mosaic in the facultative mutualism between ants and wild cotton. *P. Roy. Soc. Lond. B Bio.* 27: 2481-2488.
- SALAZAR-ROJAS, B., V. RICO-GRAY, A. CANTO, and M. CUAUTLE. 2012. Seed fate in the myrmecochorous Neotropical plant *Turnera ulmifolia* L. from plant to germination. *Acta Oecol.* 40: 1-10.
- SANCHEZ, A. 2015 Fidelity and Promiscuity in an Ant-Plant Mutualism: A Case Study of *Triplaris* and *Pseudomyrmex*. *Plos One* 10: 0143535-0143535.
- SHERIDAN, S. L., K. A. IVERSEN, and H. ITAGAKI. 1996. The role of chemical senses in seed-carrying behavior by ants: A behavioral, physiological, and morphological

- study. *J. Insect Physiol.* 42: 149–159.
- STADLER, B., and A. F. G. DIXON. 2005. Ecology and evolution of aphid-ant interactions. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36: 345-372.
- TANAKA, K., K. OGATA, H. MUKAI, A. YAMAWO, and M. TOKUDA. 2015. Adaptive Advantage of myrmecochory in the ant-dispersed herb *Lamium amplexicaule* (Lamiaceae): predation avoidance through the deterrence of post-dispersal seed predators. *PLoS One* 10: e0133677.
- TIFFNEY, B. H. 2004. Vertebrate dispersal of seed plants through time. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35:1-29.
- TURNER, K. M., and M. E. FREDERICKSON. 2013. Signals can trump rewards in attracting seed-dispersing ants. *PLoS One* 8: e71871.
- VAN DER PIJL, L. 1982. Principles of dispersal in higher plants. Springer-Verlag, Berlin.
- WHITNEY, K. D. 2002. Dispersal for distance? *Acacia ligulata* seeds and meat ants *Iridomyrmex viridiaeneus*. *Austral Ecol.* 27: 589-595.
- WILSON, M. F., and A. TRAVESSET. 2000. The ecology of seed dispersal. Pp 31-37 in Fenner, M. (ed.) *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*. Oxon: CABI Publishing.