

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Instituto de Biologia
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal



Dissertação

Interações multitróficas no gravatá-do-banhado (Apiacea): um teste do papel protetivo das formigas.

Thales Henrique Germann

Thales Henrique Germann

Interações multitróficas no gravatá-do-banhado (Apiaceae): um teste do papel protetivo das formigas.

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Sebastian Felipe Sendoya Echeverry

Co-orientador: Prof. Dr. Cristiano Agra Iserhard

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

H518i Henrique, Germann, Thales

Interações multitróficas no gravatá-do-banhado (Apiaceae) :
um teste do papel protetivo das formigas / Germann, Thales
Henrique, Sendoya, Sebastian Felipe ; Sebastian Felipe Sendoya
Echeverry, orientador ; CristianoAgra Iserhard, coorientador. —
Pelotas, 2022.

48 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Biologia Animal, Instituto de
Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Defesa biótica. 2. Gravatá-do-banhado. 3. Mutualismo. 4.
Trofobiontes. I. Felipe, Sendoya, Sebastian.
II. Echeverry, Sebastian Felipe Sendoya, orient. III. Iserhard,
Cristiano Agra, coorient. IV. Título.

CDD :
574.524

Thales Henrique Germann

Interações multitróficas no gravatá-do-banhado (Apiaceae): um teste do papel protetivo das formigas.

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biologia Animal, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 16/09/2022

Banca examinadora:

Prof. Dr. Marco Silva Gottschalk

Doutor em Biologia Animal pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Lucas Augusto Kaminski

Doutor em Ecologia pela Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Sebastian Felipe Sendoya Echeverry (Orientador)

Doutor em Ecologia pela Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Cristiano Agra Iserhard (Coorientador)

Doutor em Biologia Animal pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dedico este trabalho aos meus filhos,
Carlos, Rafaello e Ítalo Germann.

Agradecimentos

Ao Professor Dr. Sebastian Felipe Sendoya Echeverry pela oportunidade concedida, pela paciência comigo e todo tempo dedicado com explicações, correções, etc. Alguns professores tornam-se inesquecíveis na nossa vida, seja pelo conhecimento admirável ou pelo profissionalismo exemplar e com certeza eu levarei muitas lições aprendidas durante esse processo.

Ao Prof. Dr. Cristiano Agra Iserhard, que da mesma forma dedicou seu tempo e seu conhecimento à minha formação e ao meu crescimento profissional, sempre me incentivando com palavras de conforto em momentos mais complicados. Com certeza também ficará marcado na minha vida para sempre.

Aos colegas do laboratório de comportamento e ecologia de formigas, que me receberam de forma tão singular, sempre dispostos a ajudar.

À Prof^a. Dr^a. Vera Regina dos Santos Wolff, sempre muito solícita e atenciosa, por prontamente ajudar na identificação da espécie da cochonilha. Mais um exemplo de uma grande profissional com a qual eu pude contar para a realização deste estudo.

À UFPel por me fornecer as instalações e condições necessárias para a realização deste trabalho, mesmo em época de resistência aos ataques que as instituições públicas de educação superior vem sofrendo.

Aos meus pais, Carlos e Eloísa, que sempre acreditaram na minha capacidade, dedicaram suas vidas a minha criação e educação e são os maiores exemplos que eu poderia ter. Tudo que tenho e sou é graças a eles e este trabalho não poderia ser diferente.

Ao meu irmão, Jonas Germann, companheiro de vida e meu exemplo durante toda nossa infância e juventude e meu maior amigo para todo sempre.

À minha tia e segunda mãe, Ereni Freitas, com a qual eu pude contar durante toda minha vida e principalmente nos momentos mais difíceis sempre esteve ao meu lado. Essa conquista também é tua. Minha gratidão e orgulho por ti são eternos.

A minha companheira de campo, de profissão e de vida Karina Silva, que esteve comigo em todos os momentos, tornando tudo mais fácil e prazeroso. Faltariam palavras para descrever a importância do teu companheirismo, vou apenas escrever algo que sempre digo: Sou muito feliz ao teu lado.

Aos meus filhos Carlos, Rafaello e Ítalo que são a maior motivação que eu poderia ter para me tornar uma pessoa melhor e buscar ser um exemplo a cada dia. Algo que só o amor infinito e incondicional pode oferecer.

Resumo

GERMANN, Thales Henrique. **Interações multitróficas no gravatá-do-banhado (Apiaceae): um teste do papel protetivo das formigas.** 48f. Dissertação de mestrado. Instituto de Biologia, Programa de Pós de Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2022.

As interações mutualísticas das formigas são facilmente observáveis, manuseáveis e se sustentam ao longo do tempo, podendo ser consideradas um sistema modelo para compreender a associação e a defesa das plantas. Uma das formas de defesa anti-herbivoria utilizada pelas plantas é a defesa biótica, que consiste na remoção de herbívoros por predadores, protegendo indiretamente a planta. O principal grupo envolvido nesta defesa são as formigas, que além de proteger as plantas contra seus inimigos naturais e diminuir a herbivoria, recebem recompensas alimentares. Esse papel de proteção desempenhado pelas formigas está presente em diversas espécies vegetais, com plantas que possuem estruturas especializadas, algum mecanismo atrativo ou até mesmo que abriguem hemípteros. A interação que ocorre entre hemípteros sugadores e formigas é chamada trofobiose. Os trofobiontes excretam para as formigas atendentes um alimento líquido rico em açúcares. Outra característica importante da biologia das formigas é a construção de formigueiros, sendo uma atividade fundamental para diversos serviços ecossistêmicos. O objetivo desse estudo foi avaliar a atuação de *Camponotus termitarius* na remoção de herbívoros em plantas de *Eryngium pandanifolium* (gravatá-do-banhado) nas proximidades dos ninhos. Avaliamos também o papel relativo que a presença de trofobiontes tem nesta remoção. O estudo foi realizado em uma região campestre localizada no Campus Capão do Leão da Universidade Federal de Pelotas, no município Capão do Leão. Para avaliarmos a defesa biótica perante a presença de potenciais herbívoros nas plantas próximas a ninhos e a influência dos trofobiontes, foram utilizados cupins para simular a herbivoria. A defesa biótica fornecida pelas formigas foi avaliada através dos comportamentos observados nas interações com os cupins em vários tipos de variáveis respostas, como: (i) quantidade de formigas na planta; (ii) quantidade de toques das formigas aos cupins; (iii) tempo transcorrido até o primeiro toque; (iv) quantidade de ataque aos cupins; (v) tempo transcorrido até o primeiro ataque; (vi) quantidade de remoções dos cupins e (vii) tempo transcorrido até a remoção. De um total de 360 cupins utilizados, registramos 259 interações, divididas entre 53 toques, 128 ataques e 78 remoções, envolvendo 214 formigas da espécie *C. termitarius*. Dentre as 60 plantas do experimento, 14 tiveram presença/interação de *C. rufipes*, portanto foram excluídos do N de alguns experimentos, restando então 46 com interação de *C. termitarius*, destas, 23 estavam próximas de ninhos e 23 distantes de ninhos. Os resultados são consistentes com a hipótese de que plantas próximas aos ninhos recebem uma maior proteção da formiga *C. termitarius* contra herbivoria. Dentre as plantas próximas, a distância em que o ninho se encontra é irrelevante para a defesa biótica. O efeito da presença de trofobiontes neste cenário aumenta o patrulhamento e reconhecimento de possíveis ameaças à planta, porém não aumenta os ataques.

Palavras-chave: Defesa Biótica. Gravatá-do-banhado. Mutualismo. Trofobiontes.

Abstract

GERMANN, Thales Henrique. **Multitrophic interactions in the bow tie (Apiaceae): a test of the protective role of ants.** 48f. Masters dissertation. Instituto de Biologia, Programa de Pós de Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2022.

The mutualistic interactions of ants are easily observable, manageable, sustained over time, and can be considered a model system to understand plant association and defense. One of the forms of anti-herbivory defense used by plants is the biotic defense, which consists of the removal of herbivores by predators, indirectly protecting the plant. The main group involved in this defense are the ants, which in addition to protecting plants against their natural enemies and decreasing herbivory, receive food rewards. This protective role played by ants is present in several plant species, with plants that have specialized structures, some attractive mechanisms, or even that harbor hemipterans. The interaction that occurs between sucking hemipterans and ants is called trophobiosis. Trophobionts excrete a liquid food rich in sugars for the attendant ants. Another important feature of ant biology is the construction of anthills, which is a fundamental activity for several ecosystem services. This study aimed to evaluate the role of *Camponotus termitarius* in removing herbivores from *Eryngium pandanifolium* (swamp bowtie) plants near the nests. We also evaluated the relative role that the presence of trophobionts plays in this removal. The study was carried out in a rural region located in the Campus Capão do Leão of the Federal University of Pelotas, in the municipality of Capão do Leão (southern Brazil). To evaluate the biotic defense in plants, according to proximity to nest and the influence of trophobionts, termites were used as a surrogate of potential herbivores. The biotic defense provided by the ants was evaluated through the behaviors observed in the interactions with termites in several types of response variables that were considered as (i) quantity of ants in the plant; (ii) number of touches by ants to termites; (iii) time elapsed until the first ring; (iv) amount of termite attack; (v) time elapsed until the first attack; (vi) number of termite removals and (vii) time elapsed until removal. From a total of 360 termites used, we recorded 259 interactions, divided into 53 touches, 128 attacks, and 78 removals, involving 214 ants of the species *C. termitarius*. Among the 60 plants in the experiment, 14 had the presence/interaction of *C. rufipes*, therefore they were excluded from some experiments, leaving 46 with the interaction of *C. termitarius*, of which 23 were closer to nests and 23 were far from nests. The results are consistent with the hypothesis that plants close to the nests receive greater protection from the ant *C. termitarius* against herbivory. Among nearby plants, the distance at which the nest is located is irrelevant for biotic defense. The effect of the presence of trophobionts in this scenario increases patrolling and recognition of possible threats to the plant but does not increase attacks.

Keywords: Biotic Defense. Bathing bowtie. Mutualism. Trophobionts.

Sumário

1. Introdução geral	9
2. Capítulo único	15
2.1 Introdução	16
2.2 Materiais e métodos	22
2.3 Resultados	26
2.4 Discussão	34
3. Conclusão.....	36
4. Considerações finais.....	36
5. Referências bibliográficas.....	38
6. Anexo 1	48

1.Introdução

Ao longo do seu ciclo de vida todas as espécies se envolvem em várias interações interespecíficas. O mutualismo pode ser entendido como uma destas interações onde ocorre uma exploração recíproca entre as espécies envolvidas, sendo que estas procuram aumentar suas chances de sobrevivência, ambas provendo e recebendo benefícios (BRONSTEIN, 1994; CHOMICKI *et al.*, 2019). As interações mutualísticas podem ser conflituosas e os benefícios, em geral, dependem das condições e recursos disponíveis, onde cada organismo envolvido usufrui de benefícios líquidos (DÁTTILO *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2013).

As interações mutualísticas inseto-planta estão entre o grupo de relações de espécies mais antigo do ambiente terrestre, surgindo na Era Mesozóica, mais precisamente entre o período Jurássico e o Cretáceo (MARTINS, 2013). Essas relações moldaram a biodiversidade terrestre através da criação, extinção e coevolução de interações mediadas por um equilíbrio de perdas e ganhos (THOMPSON, 2013), nas quais a oferta dos recursos das plantas é trocada por serviços dos animais. Muitas vezes as plantas sofrem alto custo, pois seus recursos podem ser seus próprios tecidos quando consumidos por herbívoros. Outras vezes os benefícios são altos, pois além das plantas se beneficiarem com os processos de polinização, dispersão de sementes, nutrição do solo, elas recebem proteção contra herbívoros de uma terceira espécie parceira (BRONSTEIN, 1998; DÁTTILO *et al.*, 2009; RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007).

As formigas são um dos animais mutualistas mais comuns em ambientes terrestres (NESS *et al.*, 2010). Para compreendermos melhor o papel ecológico das espécies deste táxon, uma das prioridades é entender melhor a dinâmica dessas interações, bem como o seu papel nas comunidades. Como as interações mutualísticas das formigas são facilmente observáveis, manuseáveis e se sustentam ao longo do tempo, tal relação pode ser considerada um sistema modelo para compreender a associação e a defesa das plantas (NESS *et al.*, 2010).

Uma das formas de defesa anti-herbivoria utilizada pelas plantas é a defesa

biótica, que consiste na predação de herbívoros por formigas que, assim, protegem indiretamente a planta. O principal grupo envolvido nesta defesa são as formigas, que além de proteger as plantas contra seus inimigos naturais e diminuir a herbivoria, recebem recompensas alimentares (HEIL; MCKEY, 2003; RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; TRAGER *et al.*, 2010; GONÇALVEZ-SOUZA, 2016). Esse papel de proteção desempenhado pelas formigas está presente em diversas espécies vegetais pertencentes a mais de 40 famílias (GONÇALVEZ-SOUZA, 2016). Neste caso, está relacionado com plantas que possuem estruturas especializadas destinadas a alimentar e/ou servir de abrigo para as formigas, aquelas que possuem algum mecanismo atrativo ou até mesmo plantas que abriguem hemípteros (DÁTTILO *et al.*, 2009; CAMPOS; CAMACHO, 2014). Na Amazônia, por exemplo, existem mais de 200 espécies de plantas mirmecofíticas, que são espécies que possuem interações formiga-planta de tipo obrigatório, apresentando estruturas adequadas e específicas para a colonização e nidificação (NOMURA *et al.*, 2000; CALIXTO *et al.*, 2018). Existem também espécies de plantas mirmecófilas que são associadas às formigas, mas não especializadas, que possuem estruturas para atrair formigas por uma recompensa alimentar, como nectários extraflorais (NOMURA *et al.*, 2000; CALIXTO *et al.*, 2018).

Muitas espécies de formigas protegem alguns grupos de hemípteros sugadores e suas plantas hospedeiras de inimigos naturais afastando predadores, parasitoides e demais herbívoros, configurando uma relação chamada de trofobiose (FERREIRA, 2020). Esta relação entre formigas e hemípteros resulta em custos e benefícios para as plantas envolvidas, conformando uma associação que surgiu no início do Oligoceno (WHEELER, 1914; DELABIE, 2001), causando, também, um efeito positivo nos trofobiontes (FERREIRA, 2020). Esses insetos excretam para as formigas atendentes um alimento líquido rico em açúcares, aminoácidos, vitaminas e minerais (*honeydew* ou melada), o que confere recurso alimentar às formigas e estas oferecem um papel protetor aos trofobiontes (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990; STADLER, 2008; IBARRA-ISASSI; OLIVEIRA, 2018).

A literatura disponível sobre a visitação das formigas às plantas sugere que tal relação está ligada a vários fatores, como: (i) locais adequados para nidificar; (ii) proximidade de seus recursos alimentares favoritos, como o *honeydew* que os trofobiontes expelem; (iii) presença de nectários florais e extraflorais; (iv) forrageamento das formigas em busca de presas (BATTIE, 1985; DELABIE, 2001;

DAVIDSON *et al.*, 2003; RYCO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; BLÜTHGEN; FELDHAAR, 2010; LOPES, 2013; KOCH *et al.*, 2014; DA ROCHA, 2016). A incidência de ninhos de formigas nas plantas faz com que a chegada de herbívoros que poderiam prejudicar a planta seja controlada, além de aumentar, melhorar a ocorrência de nutrientes para as plantas podendo até diminuir a quantidade de fitopatógenos (NESS *et al.*, 2010).

As formigas estão entre os animais com maior riqueza de espécies no ambiente terrestre, atualmente com registro de mais de 18.500 mil espécies conhecidas pela ciência (ANTWEB, 2022), sendo que para florestas tropicais, como na Amazônia brasileira, a estimativa de biomassa das formigas é quatro vezes maior que a biomassa de todos os vertebrados (FITTKAU; KLINGE 1973). Essa dominância prevalente de formigas nos ecossistemas brasileiros faz com que as interações formiga-planta-herbívoro sejam de extrema importância para a organização de teias tróficas e manutenção da biodiversidade (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Para que a biodiversidade tenha uma avaliação apropriada deve-se englobar a riqueza das interações animal-planta, que inclui desde os papéis ecológicos das espécies envolvidas, a natureza das interações, até a diversidade do habitat e a variação geográfica. Assim, a conservação da biodiversidade das interações necessita ser considerada como prioridade para a conservação de comunidades biológicas viáveis (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

A elevada dominância de formigas se deve, também, ao fato de que estes organismos são insetos sociais, vivendo em colônias com milhares de operárias (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Sua alimentação variada e sua grande abundância faz com que as formigas tenham um papel ecológico importante na maioria dos ecossistemas que habitam (ELISEI *et al.*, 2012). Algumas espécies são especialistas em cultivar e comer fungos, outras são predadoras de artrópodes, outras se alimentam principalmente de líquidos açucarados, e ainda muitas espécies que possuem uma dieta diversificada, abrangendo uma vasta gama de itens vegetais e animais (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990). Alguns autores identificaram os recursos forrageados por formigas do gênero *Camponotus* e observaram que alguns indivíduos carregaram presas vivas, como larvas de artrópodes, comprovando assim um hábito alimentar predatório, oportunista e indicando uma função importante no controle de populações (ELISEI *et al.*, 2012).

Outra característica importante da biologia das formigas é a construção de

formigueiros, sendo uma atividade fundamental para diversos serviços ecossistêmicos. Para formigas que nidificam no solo os ninhos podem alterar as propriedades do solo, como porosidade, drenagem, concentração de nutrientes e matéria orgânica, podendo influenciar também a fauna do solo (BAXTER; HOLE, 1967; LOCKABY; ADAMS, 1985; CARLSON; WHITFORD, 1991). Além disso, conforme o formigueiro cresce, ocorre uma alteração produzida pelas formigas com o amontoamento do solo, preparando o terreno para uma sucessão de espécies de plantas com diferentes características de história de vida (FOLGARAIT *et al.*, 2002). Formigas que nidificam no solo, em particular formigas de construção de montes, são consideradas engenheiras do ecossistema (FOLGARAIT *et al.*, 1998), pois modulam a disponibilidade de recursos do solo e criam ou modificam habitats para outras espécies (COSARINSKY, 2006). Por exemplo, as formigas da espécie *Camponotus punctulatus* formam seus ninhos entre 1 ou 2 anos após a área que era utilizada para cultivo tenha ficado em repouso e, caso não ocorra intervenção antrópica, seus ninhos poderão ficar ativos por mais de vinte anos (SIMAS *et al.*, 2001) alterando a composição dos microrganismos nos ninhos, modificando a plantas ao seu redor e a mesofauna, e aumentando a fertilidade do solo em volta do ninho (FOLGARAIT *et al.*, 2007). Além disso, os formigueiros de *C. punctulatus* geram um aumento considerável da riqueza florística quadrática nos Campos Altos da Argentina em qualquer época do ano (LEWIS *et al.* 1991).

O gênero *Camponotus* (Hymenoptera, Formicidae) possui uma ampla distribuição global com mais de 1000 espécies e 500 subespécies pertencentes a 45 subgêneros (ANTWIKI, 2022). Sua alta riqueza de espécies, polimorfismo e elevados níveis de variação intraespecífica e geográfica fazem com que a taxonomia do gênero seja complexa (ANTWIKI, 2022). No Brasil, ocorre em todas as regiões sendo, portanto, bem distribuída (SIMAS *et al.*, 1997; JANICKI *et al.*, 2016). No Rio Grande do Sul o gênero tem larga ocorrência, com o registro mais antigo realizado no município de Taquara em 1894 (SIMAS *et al.*, 1997).

Camponotus termitarius EMERY, 1902 foi considerada por Gorosito *et al.* (2006), Fuster (2012), Folgarait; Gorosito (2001), Folgarait *et al.* (2002), entre outros, como uma subespécie de *Camponotus punctulatus*. Segundo estes autores, as formigas pertencentes a esta espécie possuem ampla distribuição, estando presente na Argentina, Brasil, Paraguai, Peru e Uruguai (GOROSITO *et al.*, 2006). Esta espécie pode construir pequenos ninhos embaixo do solo, sob a cobertura de capim, ou

grandes formigueiros acima do solo (GOROSITO *et al.*, 2006) e está associada com diferentes espécies de trofobiontes (FUSTER, 2012). Do ponto de vista pedológico, *C. termitarius* podem construir dois tipos de ninhos, o tipo I, em forma de cratera, menos visível na paisagem, pequeno em diâmetro e altura; o material do solo é apenas depositado na superfície e os ninhos são suscetíveis à erosão. O tipo II são ninhos epigéicos, maiores, consistentes, cimentados, às vezes cobertos por vegetação (Fig. 3D), são muito persistentes ao longo do tempo podendo afetar fortemente a heterogeneidade espacial da superfície do solo (GOROSITO *et al.*, 2006). Desta forma, são responsáveis pela mudança na composição do solo, tornando-o mais fértil, havendo maior crescimento de plantas onde há ninhos (FOLGARAIT *et al.*, 2002; GONZALEZ-POLO *et al.*, 2004). Distúrbios produzidos pelas práticas agrícolas levam *C. termitarius* a construir ninhos do tipo II (GOROSITO *et al.*, 2006), que podem ser formigueiros em forma de cone com tamanho de aproximadamente 1 m de altura e 2 m de diâmetro (FOLGARAIT; GOROSITO, 2001), constituindo-se de terra endurecida, com base circular, coberto de vegetação, em sua maioria de monocotiledôneas e dicotiledôneas, sendo predominante as gramíneas (GRECCO *et al.*, 1994).

As estratégias de forrageamento em formigas do gênero *Camponotus* são variadas, com operárias forrageando solitárias ou com a colaboração e recrutamento com outras operárias (YAMAMOTO, 2004). Alguns estudos sobre o forrageio em diferentes espécies do gênero *Camponotus* demonstram grande variação na distância percorrida. Por exemplo, *Camponotus sericeiventris* percorre de 8,70 até 79 metros (ELISEI *et al.*, 2012; SILVA, 2018) e *Camponotus atriceps* pode percorrer até 7 metros (COSTA, 2004).

Estudos com *C. punctulatus* na Argentina demonstraram um estilo de vida diferente quando a colônia amadurece, cerca de 3 anos após a colonização, onde a maioria das formigas encontram-se em ninhos acima do solo (FOLGARAIT *et al.*, 2004). Estes ninhos aumentam dramaticamente sua densidade nos campos de arroz recentemente abandonados, assim como o número de formigas (FOLGARAIT *et al.*, 2004). Pelo seu comportamento onívoro, *C. punctulatus* não apresenta uma ameaça às culturas, apesar do aumento de colônias em locais com perturbações agrícolas (FOLGARAIT *et al.*, 2007). Porém, o ninho possui uma estrutura compacta com grandes dimensões que se torna altamente resistente à erosão dificultando o trânsito de máquinas e o manejo do gado (FOLGARAIT *et al.*, 1998; SIMAS *et al.*, 2007), acumulando maior quantidade de nutrientes e matéria orgânica que o solo ao seu

redor (PARIS *et al.*, 2008). A formação desse tipo de ninho também está associada à regiões de áreas inundadas (LEWIS *et al.*, 1991).

A espécie de planta *Eryngium pandanifolium* (Cham & Schltdl) (Gravatá-do-Banhado), como o próprio nome popular sugere, também está relacionada às áreas inundadas, muitas vezes formando aglomerados e manchas na vegetação (JOLY, 1998; BRASIL, 2009). O gravatá atua como fonte de abrigo e alimento para diversas espécies da fauna de ecossistemas de banhado, em sua grande maioria artrópodes, mas com registro também de interações com aves, mamíferos e anfíbios (FONTANA, 1998; FIDELIS *et al.*, 2009; MARTINS, 2009; CAMPOS, 2010; QUINTELA *et al.*, 2010; CAMPOS; FERNÁNDEZ, 2011; PALACIO; GIRINI, 2018). Entre estas interações destacam-se as associações com trofobiontes, em especial cochonilhas e membracídeos (RUFFINELLI; 1970; DE SALUSO, 1997).

2. Capítulo 1

Interações multitróficas no gravatá-do-banhado (Apiacea): um teste do papel protetivo das formigas.

Thales Henrique Germann*, Cristiano Agra Iserhard, Sebastian Felipe Sendoya Echeverry.

Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Capão do Leão - RS, Brasil, Campus Universitário, S/N., Caixa Postal 345, 96010-900 Capão do Leão, RS, Brasil.

*Autor correspondente: thaleshg@gmail.com

2.1 Introdução

Os pesquisadores estão cada vez mais atentos as interações entre organismos, como, por exemplo, o mutualismo, que se resume em uma relação na qual organismos de espécies diferentes interagem para seu benefício mútuo (DÁTTILO *et al.*, 2009; TOWNSEND *et al.*, 2009). Dentre as relações mutualísticas, uma das mais estudadas é a interação ecológica entre plantas e insetos, a qual evoluiu em função das vantagens oferecidas às plantas por alguns dos insetos que forrageavam em sua superfície (DÁTTILO *et al.*, 2009). A defesa biótica anti-herbivoria é uma das formas de interação utilizada pelas plantas, que vão desde substâncias químicas secretadas pela própria planta até a defesa indireta através de animais predadores de herbívoros e atração de parasitoides que realizam controle biológico sobre insetos herbívoros (DOS SANTOS SOARES; MACHADO, 2007; MOURA *et al.*, 2021; BRUCE; PICKETT, 2007; TEIXEIRA, 2016). No caso das formigas, elas protegem as plantas de seus inimigos naturais, doenças e ocasionalmente, competidores e em troca recebem alimento (secreções açucaradas) e abrigo (DO NASCIMENTO; DEL-CLARO, 2010; CAMPOS; CAMACHO, 2014).

As interações que as formigas estabelecem com as plantas são importantes para o sistema adaptativo da planta causando mudanças significativas na estrutura da comunidade dos organismos que vivem nela (STYRSKY; EUBANKS, 2007; SANDERS; VAN VEEN, 2011). Em alguns casos, estas interações causam efeitos negativos para vegetação, destacando-se, por exemplo, as altas taxas de herbivoria provocadas pelas formigas cortadeiras (LEAL *et al.*, 2014) e a visitação floral de algumas espécies de formigas agressivas que afastam potenciais polinizadores ao forragearem a planta (NESS, 2006). Por outro lado, podem-se citar também estudos sobre interações do tipo mutualismo protetor, como formigas e nectários extraflorais (EFNs) de plantas, onde as formigas oferecem proteção em troca de alimentos líquidos ricos em açúcar (BRONSTEIN, 1998; CARADONNA *et al.*, 2017). Outro tipo de interação protetora envolve formigas e insetos trofobiontes, como os hemípteros sugadores de seiva, que são protegidos pelas formigas em troca do líquido açucarado que eles secretam (*honeydew* ou melada) (RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007).

Entre as formigas atraídas por insetos sugadores trofobiontes estão aquelas pertencentes ao gênero *Camponotus*, que apresentam um comportamento agressivo repelindo ou predando outros insetos herbívoros, que poderiam ser prejudiciais para a planta (STYRSKY; EUBANKS, 2007; STYRSKY; EUBANKS, 2010). Esse

comportamento das formigas faz com que a comunidade de herbívoros associados às plantas hospedeiras seja alterada reduzindo, de forma indireta, os efeitos danosos da herbivoria por outras espécies (ZHANG *et al.*, 2012; SENDOYA *et al.*, 2016). A maior densidade de insetos trofobiontes na planta pode causar um aumento considerável do número de formigas nas plantas, mediando os resultados desse mutualismo (EUBANKS; STYRSKY, 2009). Dado (i) o tamanho restrito das áreas de forrageamento do gênero *Camponotus* (YAMAMOTO, 2004; COSTA, 2004; ELISEI *et al.*, 2012; SILVA, 2018), (ii) as mudanças na decomposição do solo que os ninhos causam (PARIS *et al.*, 2008), (iii) a diferença na riqueza florística ao redor do ninho (LEWIS *et al.*, 1990), e que as formigas podem atuar defendendo as plantas contra herbivoria (OLIVEIRA *et al.*, 2012) sendo que os benefícios líquidos nas relações mutualísticas são influenciadas pelo ambiente ao redor (DÁTTILO *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2013) deve-se levar em conta nos estudos de interações de colônias a distribuição espacial dos ninhos (FOLGARAIT *et al.*, 2007). Em termos gerais, podemos esperar que, além da presença de recurso alimentar (trofobiontes), a localização dos ninhos e a proximidade com relação à vegetação seja um bom preditor do seu papel como reguladores de herbívoros.

Apesar dos dois tipos de interações com as formigas, entre EFNs e trofobiontes, serem semelhantes, existem diferenças notáveis como: os EFNs são recursos tipicamente dispersos na planta, e a melada secretada pelos hemípteros é produzida por manchas agregadas de insetos representando um fluxo grande e contínuo de recursos (RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007). Além disso, esta melada pode ser nutricionalmente mais rica em relação a maior concentração de açúcares e aminoácidos do que o néctar extrafloral (RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007). Por ser mais valiosa, a melada pode provocar competição interespecífica entre formigas dependendo da sua disponibilidade, estabilidade e valor nutricional (BLÜTHGEN; FIEDLER, 2004; COUTO, 2021).

A espécie *Eryngium pandanifolium* Cham. & Schltdl (Apiaceae) (gravatá-do-banhado) (Fig. 1) é uma planta nativa na América do Sul, ocorrendo no Paraguai, Uruguai, Argentina e Brasil, contém uma estrutura em forma de roseta que é característica do gênero (MACULAN, 2007). É uma das espécies de gravatás-do-banhado que formam densas moitas que possuem ótimo efeito, como abrigo para outros animais (MACULAN, 2007), sendo uma planta atrativa para diversos artrópodes que são parte da cadeia alimentar de muitos animais (MACULAN, 2007).

Os gravatás-do-banhado possuem uma distribuição de dominância, onde seguem um padrão espacial de muitas plantas juntas no mesmo espaço, ou seja, agregadas e com maiores quantidades de espécimes ao redor das áreas alagadas (BASSA, 2021). Os gravatás são divididos em duas regiões principais: somática e reprodutiva. A região somática é composta pela estrutura basal ou base onde encontram-se folhas com forma de roseta longas, estreitas e bordas com espinhos serrilhados que atribuem proteção contra mamíferos herbívoros de grande porte (MACULAN, 2007). Na base das folhas geralmente ocorre acúmulo de água, que serve como criadouro para larvas de mosquitos, por exemplo. Já a região reprodutiva é formada por um caule ereto, rígido, com inflorescências ramificadas que podem chegar até quatro metros de altura (MACULAN, 2007).

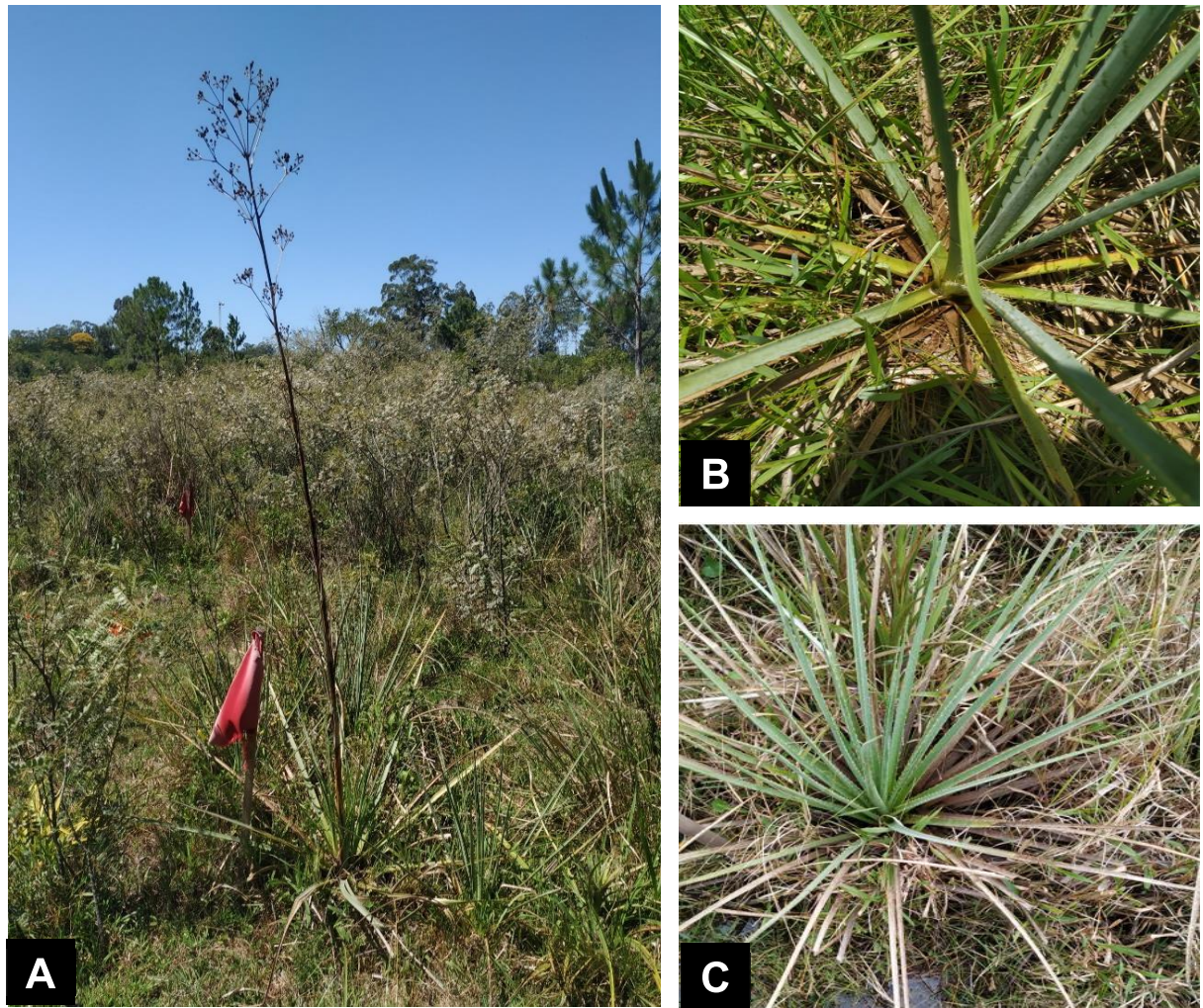


Figura 1. Espécie de planta nativa na América do Sul *Eryngium pandanifolium* (Apiaceae) (gravatá-do-banhado), na região campestre localizada no Campus Capão do Leão da Universidade Federal de Pelotas, no município Capão do Leão. **A)** Gravatá-do-banhado com inflorescência. **B)** e **C)** Gravatá-do-banhado sem inflorescência.

Apesar de não haver estudos publicados com registros de interações de formigas em gravatás, é possível encontrar em algumas regiões a presença de formigas e grandes ninhos de *Camponotus termitarius* (EMERY, 1902) nos gravatás-do-banhado, construídos próximos, ao redor e anexos às plantas. Morales (2021, dados não publicados) registrou a relação da ocorrência de *C. termitarius* com os recursos espaciais e alimentares da planta *E. pandanifolium*, bem como a presença de ninhos satélites na planta (que são pequenos ninhos dentro da planta que ficam próximos às fontes alimentares de interesse) que também servem como proteção para trofobiontes (Fig. 2) (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990; OLIVEIRA; DEL-CLARO, 2005). *Camponotus termitarius* é normalmente encontrada em pastagens baixas com uma característica construção de ninhos em forma de grandes montículos. Anteriormente era denominada como *Camponotus punctulatus* subsp. *termitarius*, porém atualmente pode ser tratada como uma espécie propriamente dita, sendo localmente simpátrica com *C. punctulatus* (WILD, 2007).



Figura 2: Extensão do ninho da formiga *Camponotus termitarius*, que serve como proteção para trofobiontes.

Camponotus termitarius (Fig. 3) são responsáveis pela mudança na composição do solo, tornando-o mais fértil, havendo maior crescimento de plantas onde há ninhos (FOLGARAIT *et al.*, 2002; GONZALEZ-POLO *et al.*, 2004). Estudos anteriores no local já demonstraram a relação de visitação/interação entre o gravatá-do-banhado e a formiga, inclusive com registros de extensões de ninhos na planta (MORALES, 2021, dados não publicados). Porém, não há estudos conclusivos indicando se as formigas interagem com as plantas ao redor dos formigueiros e se essa interação pode se traduzir em defesa contra herbívoros.

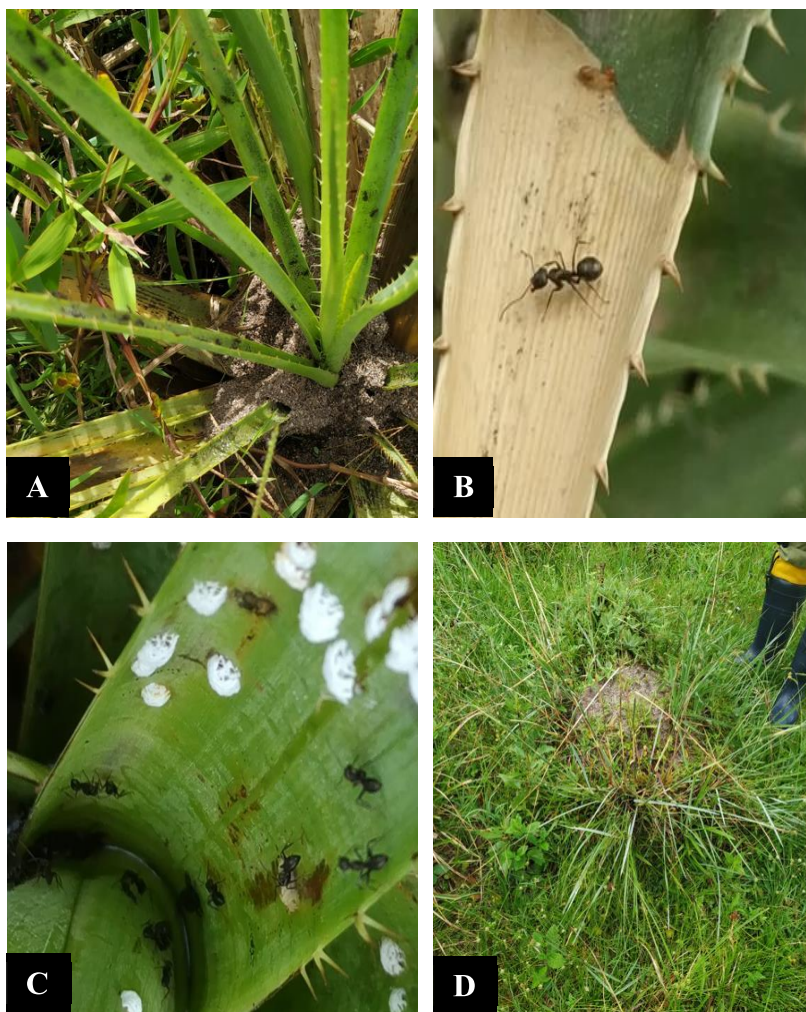


Figura 3. Planta *Eryngium pandanifolium* (gravatá-do-banhado) com extensão do ninho de *Camponotus termitarius* e espécimes da formiga *Camponotus termitarius* forrageando. Ninhos epigêicos da espécie de formiga *Camponotus termitarius* com vegetação, respectivamente A, B, C e D.

Neste estudo, avaliamos a atuação de *C. termitarius* na remoção de herbívoros em plantas de *E. pandanifolium* nas proximidades dos ninhos. Avaliamos também o papel relativo que a presença de trofobiontes tem nesta remoção, o que deve afetar

as plantas que ocorrem ao redor das colônias dentro desse ambiente modificado. Dada a intensa presença destas formigas nos campos úmidos do Pampa do extremo sul do Rio Grande do Sul, é esperado que sua atividade tenha um efeito nos artrópodes visitando a vegetação. Se estas formigas atuam na remoção de herbívoros, podemos esperar um efeito de proteção à estas plantas próximas a ninho. A distância relativa da planta ao ninho também pode exercer um efeito na remoção de herbívoros, já que é esperado encontrar maior número de indivíduos forrageando em plantas mais próximas aos ninhos (FOLGARAIT; GOROSITO, 2001). Além disto, esperamos que a presença dos trofobiontes seja um fator regulando os padrões de forrageamento das formigas pelas plantas que os abrigam, sejam elas próximas ou não aos formigueiros. Sendo assim, esperamos que o efeito destas formigas como protetoras esteja sujeito à presença de hemípteros trofobiontes nas plantas e seja mais intenso nas proximidades do formigueiro.

2.2 Materiais e métodos

2.2.1 Área de estudo

O estudo foi realizado em uma região campestre localizada no Campus Capão do Leão da Universidade Federal de Pelotas, no município Capão do Leão (31° 46' 3" S e 52° 26' 55" W). O espaço utilizado é uma área de campo eventualmente alagada, possui vegetação arbustiva densa, típica de restinga, formando pequenas manchas ao longo do campo. O relevo do local possibilita a formação de banhados em épocas mais chuvosas, porém devido ao solo arenoso grande parte da água acumulada é drenada naturalmente quando não há chuvas, e alguns banhados perenes secam somente nas épocas secas de verão (BASSA, 2021). O clima da região é subtropical úmido constituído pelas quatro estações climáticas bem marcadas (MORENO, 1961; KUINCHTNER; BURIEL, 2001). O local apresenta abundância de grandes ninhos de formigas de *C. termitarius*. Observações preliminares no local revelaram que a planta *E. pandanifolium* (gravatá-do-banhado) é abundante e frequentemente apresenta artrópodes, inclusive hemípteros trofobiontes de formigas (MORALES, 2021, dados não publicados).

2.2.2 Experimento de remoção de herbívoros

Para avaliarmos a defesa biótica oferecida pela *C. termitarius* nas plantas próximas a ninhos, bem como a influência dos trofobiontes, o método utilizado como base foi o proposto por Pacelhe *et al.* (2019), que consiste em avaliar a defesa biótica

fornecida pelas formigas perante a presença de potenciais herbívoros. Diversos trabalhos utilizando cupins como modelos de herbívoros tiveram sucesso em demonstrar a interação entre a formiga e este tipo de presa (JAFFE *et al.*, 1995; DE OLLIVEIRA NEVES *et al.*, 2014; PACELHE *et al.*, 2019; TUMA *et al.*, 2020). O experimento de remoção de herbívoros foi realizado durante o mês de dezembro de 2021, caracterizado pelo final da primavera e início do verão. Em cada planta colocamos cupins vivos do gênero *Nasutitermes*. O uso de cupins para simular herbívoros em estudos de interações formiga-planta é comum (CAMPOS; CAMACHO, 2014), pois pode-se controlar sua quantidade e as formigas prontamente os atacam. Com isso, o objetivo foi avaliar o comportamento de defesa de *C. termitarius* em relação a uma ameaça padronizada.

Foram separadas 60 plantas aleatórias da espécie *E. pandafinolium*, escolhidas em linha reta no sentido norte e com distância de no mínimo 5 metros da próxima planta (Fig. 4).

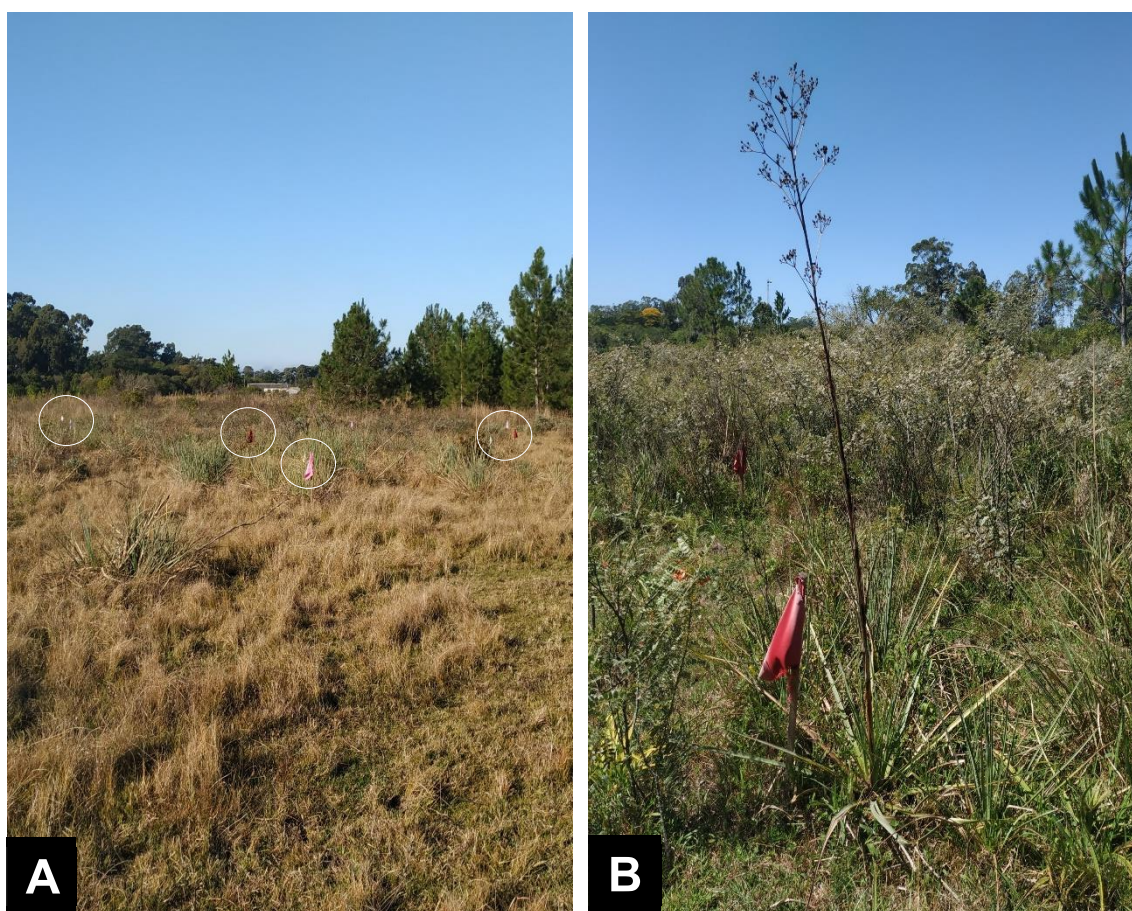


Figura 4. Plantas da espécie *Eryngium pandafinolium* marcadas para o experimento com um método assistemático (A e B).

Após as marcações os cupins operários foram coletados vivos em campo, durante o experimento, de colônias diferentes com pincel de pintura artística pequeno do tipo orelha de boi tamanho 2. Realizamos uma contagem prévia de formigas, trofobiontes e outros insetos que estivessem na planta durante 3 minutos sem perturbação do ambiente, somente com observação. Em cada planta foram escolhidas 3 folhas, aleatoriamente, para iniciar o experimento. Com auxílio de uma agulha hipodérmica foram colocadas duas gotas pequenas de cola escolar, para fixar o cupim vivo, na base e no centro de cada folha, porém em uma folha por vez. O cupim foi adicionado de costas em cima da gota de cola, sem poder se locomover para fora da folha, com a ajuda do pincel para evitar danos nos cupins e mantê-lo vivo. Durante a montagem do experimento foi tomado cuidado especial para perturbar o mínimo possível a planta para evitar desencadear alguma resposta agressiva atípica das formigas.

A partir do momento que o cupim é colado na folha, tanto na base quanto no centro, começam a ser cronometrados 5 minutos para observação das interações das formigas que estão na planta. Passados os 5 minutos, fomos para a próxima folha e repetimos o procedimento com todas as folhas e com todas as 60 plantas. Consideramos “plantas próximas à ninhos” aquelas em que os formigueiros de *C. termitarius* estavam em um raio de 3 metros de distância da planta focal, e “plantas distantes a ninhos” quando não havia nenhum formigueiro no raio de 3 metros da planta. Do total de 60 plantas, 14 estavam próximas à ninhos de *Camponotus rufipes* que foram responsáveis pela interação com os cupins, portanto descartadas de nossas análises, restando assim 46 plantas. Destas, 23 são plantas próximas à ninhos (raio de até 3 metros) e 23 são plantas distantes dos ninhos (ausência de ninhos em um raio de 3 metros). Para os grupos de plantas com trofobiontes separamos entre presença e ausência de membracídeos e cochonilhas. Tivemos um total de 15 plantas com a presença de cochonilhas e 31 plantas com ausência e para membracídeos um total de 9 plantas com a presença e 31 plantas com ausência. Consideramos uma interação de ataque da formiga ao cupim quando a formiga feriu ou consumiu o cupim, um toque quando a formiga o tocou com suas antenas sem feri-lo e a remoção do cupim para outro local ou em direção ao ninho.

2.2.3 Análises de dados

As análises tiveram três partes de acordo com as hipóteses previamente levantadas. Nossa primeira hipótese era de que a presença de ninhos próximos as

plantas exerceriam uma influência na defesa biótica do gravata-do-banhado. Neste caso, nós avaliamos a defesa biótica fornecida pelas formigas decompondo os comportamentos observados nas interações com os cupins em vários tipos de resposta. As variáveis respostas consideradas foram: (i) quantidade de formigas na planta; (ii) quantidade de toques das formigas aos cupins; (iii) tempo transcorrido até o primeiro toque; (iv) quantidade de ataque aos cupins; (v) tempo transcorrido até o primeiro ataque; (vi) quantidade de remoções dos cupins e (vii) tempo transcorrido até a remoção.

Para medirmos a presença de formigas na planta, fizemos uma contagem prévia ao experimento, antes da perturbação no ambiente, para avaliar a preferência das formigas pelas plantas próximas aos ninhos. O tempo transcorrido até o primeiro toque, ataque ou remoção foi medido em segundos após o cupim ser fixado na folha. Nas variáveis quantidade de toques aos cupins e tempo transcorrido até o primeiro toque, consideramos os toques de antena e de apêndices locomotores das formigas aos cupins, indicando a frequência com que a formiga passa durante o forrageamento, além da taxa de encontro e reconhecimento de possíveis ameaças à planta. Sobre a variável ataque aos cupins, avaliamos a quantidade de mordidas, o que significaria uma defesa biótica efetiva, e o tempo transcorrido até o primeiro ataque, indicador de agressividade durante o forrageamento. A taxa de exclusão de herbívoros da planta foi medida através da quantidade de cupins removidos e o tempo transcorrido até a remoção pelas formigas, confirmando a defesa biótica. Para todas as variáveis respostas foram comparados os dados de plantas com ninhos presentes e ausentes em distâncias muito curtas (menos de 3 m). Esta etapa foi realizada com testes não paramétricos de Mann-Whitney, uma vez que a variável resposta não seguia a distribuição normal do erro.

Nossa segunda hipótese era de que a proximidade do ninho à planta focal exerceria influência na remoção de herbívoros, ou seja, as chances de receber uma defesa biótica proveniente da interação com formigas diminuiria com o distanciamento à planta mais próxima. Para medir a proximidade dos ninhos à planta focal, foi utilizado uma trena, e considerado a presença ou ausência de ninhos num raio de 3 metros. As variáveis resposta e os critérios avaliados foram os mesmos da primeira hipótese, porém neste caso foram utilizados modelos generalizados assumindo uma distribuição do erro do tipo binomial negativa.

A partir da contagem prévia, sem perturbação, do número de indivíduos de formigas e trofobiontes separamos os grupos de plantas com e sem cochonilhas e membracídeos. Também foram utilizadas as mesmas variáveis resposta para nossa terceira hipótese que era sobre a influência que os trofobiontes poderiam exercer nesse cenário. Neste caso foi feito separadamente para cochonilhas e para membracídeos. Em ambos os casos foram usados testes não paramétricos de Mann-Whitney.

2.3 Resultados

De um total de 360 cupins utilizados, registramos 259 interações, divididas entre 53 toques, 128 ataques e 78 remoções, envolvendo 214 formigas da espécie *C. termitarius*. Em algumas plantas de *E. pandanifolium* encontramos concentrações de membracídeos protegidos por uma extensão do ninho de *C. rufipes* (Fig. 5) localizado na base da planta e formado pela mesma palha utilizada nas colônias. Também foram encontradas extensões de ninhos de *C. termitarius* na base da planta, porém constituídas de terra endurecida semelhante às colônias. Em ambos os casos sempre foram encontrados trofobiontes no interior, sendo protegidos, como cochonilhas da espécie *Aonidiella araucariae* Costa Lima, 1951 (Diaspididae) (Fig. 6) e membracídeos da espécie *Kronides incumbens* Germar, 1835 (Membracidae) (Fig. 5).



Figura 5: Membracídeos da espécie *Kronides incumbens* encontrados na planta *Eryngium pandanifolium* (gravatá-do-banhado) sendo protegidos por uma extensão do ninho construída pela formiga *Camponotus rufipes*.



Figura 6: Cochonilha da espécie *Aonidiella araucariae* sendo atendida por uma formiga da espécie *Camponotus termitarius*, encontradas na planta *Eryngium pandanifolium* (gravatá-do-banhado).

2.3.1 Presença de ninho próximo a planta

Encontramos uma maior quantidade de formigas observadas forrageando nas plantas próximas aos ninhos no período anterior ao experimento (ou seja, previamente à perturbação no ambiente) do que nas plantas distantes à ninhos (Teste de Wilcoxon $W=427$, $p<0,001$) (Fig. 1, ANEXO 1). Um dos indicativos para defesa biótica nas plantas é o ataque aos cupins pelas formigas, que apresentou uma taxa maior em plantas próximas do que em plantas distantes (Teste de Wilcoxon $W= 424,5$; $p<0,001$). Além disso, o tempo transcorrido até o primeiro ataque aos cupins pela formiga em plantas próximas foi mais rápido quando comparado com plantas distantes (Teste de Wilcoxon $W= 99,5$; $p<0,001$) (Fig. 7C, 7D). Relacionamos a defesa biótica efetiva com a remoção de cupins pelas formigas, onde nas plantas próximas a remoção foi maior quando comparada com plantas distantes (Teste de Wilcoxon $W= 408,5$; $p<0,001$). No que se refere ao tempo transcorrido até a remoção dos cupins pelas formigas, nas plantas próximas foi mais rápido do que a remoção das plantas distantes (Teste de Wilcoxon $W=119,5$; $p<0,001$; (Fig. 7E, 7F)). Finalmente, em relação aos toques das formigas nos cupins e o tempo transcorrido até o primeiro toque, significando uma taxa de encontro e reconhecimento de possíveis ameaças à planta, entre as plantas

perto e distante, não houve diferença (Teste de Wilcoxon $W = 303,5$; $p = 0,340$; Teste de Wilcoxon $W = 239$; $p = 0,538$ respectivamente) (Fig. 7A, 7B).

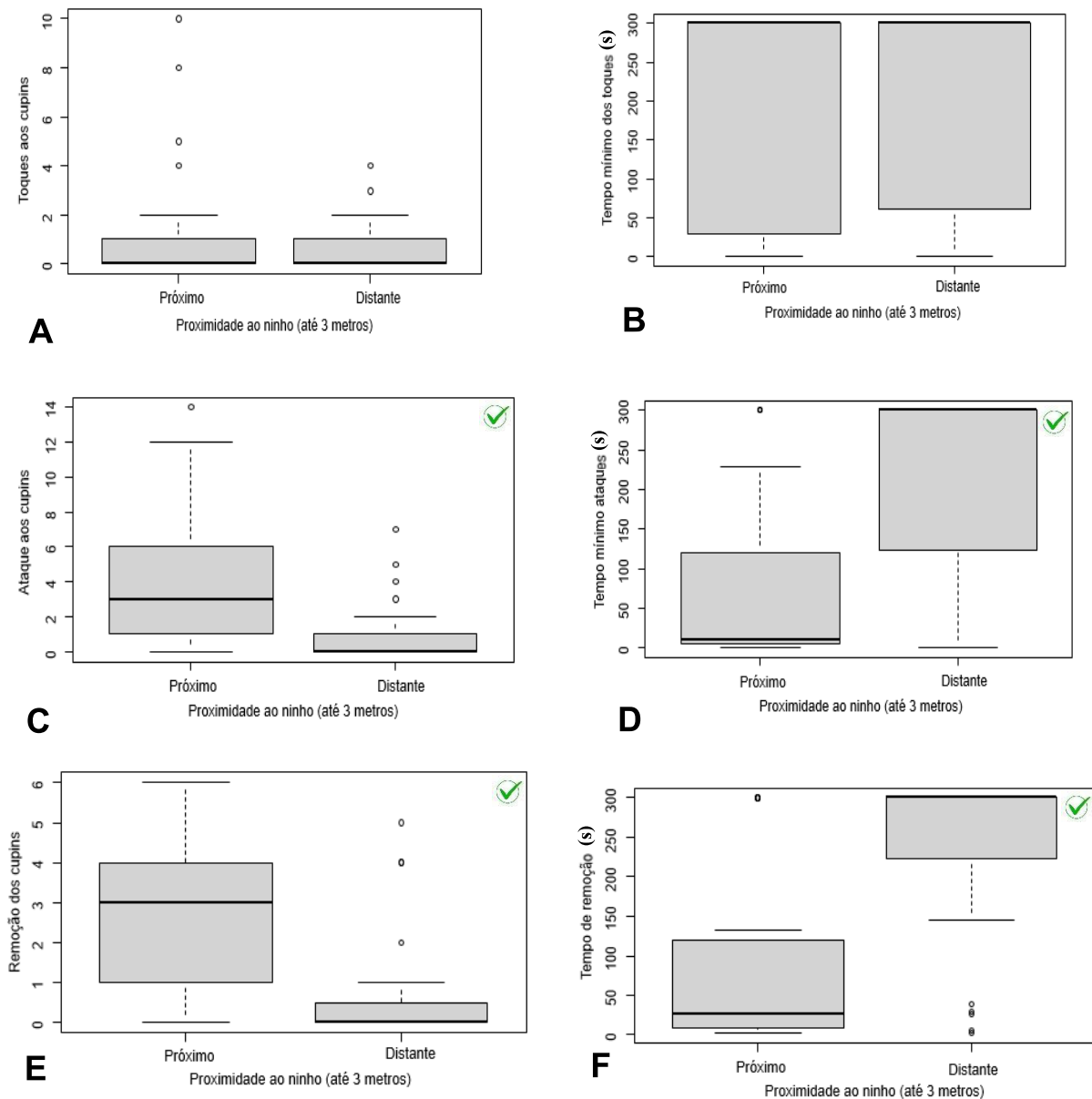


Figura 7. Boxplot comparando as interações da formiga *Camponotus termitarius* aos cupins em plantas próximas a ninhos (até 3 metros) e distantes (mais de 3 metros). **A)** Número de toques. **B)** Tempo transcorrido até o primeiro toque. **C)** Ataque aos cupins. **E)** Remoção dos cupins. **F)** Tempo transcorrido até a remoção dos cupins. Linha preta é a mediana, os quartis são as linhas horizontais apresentando quatro partes iguais, e assim cada parte representa 1/4 da amostra ou população a partir da mediana, os pontos representam os extremos.

2.3.2 Distância do ninho da planta

Para avaliarmos se o grau de proximidade do ninho a planta exerce influência na defesa biótica, comparamos as plantas do grupo de plantas próximas entre si

(N=23) e as respectivas distâncias da planta ao ninho. Dentre as plantas próximas o grau de proximidade do ninho não demonstrou uma relação com a quantidade/contagem de formigas sem perturbação ($p=0,383$ e $R^2=0,047$; Fig. 8A) e assim para todas as outras variáveis resposta: toques, ($p=0,418$ e um $R^2=0,047$; Fig. 8B), tempo transcorrido até o primeiro toque (taxa de encontro) ($p=0,166$ e $R^2=0,08$), ataques das formigas aos cupins ($p=0,102$ e $R^2=0,155$; Fig. 8C) bem como o tempo transcorrido até o primeiro ataque ($p=0,101$ e $R^2=0,149$), remoção dos cupins pelas formigas ($p=0,974$ e $R^2<0,001$ Fig. 8D), assim como o tempo transcorrido para remoção ($p=0,541$ e $R^2=0,023$).

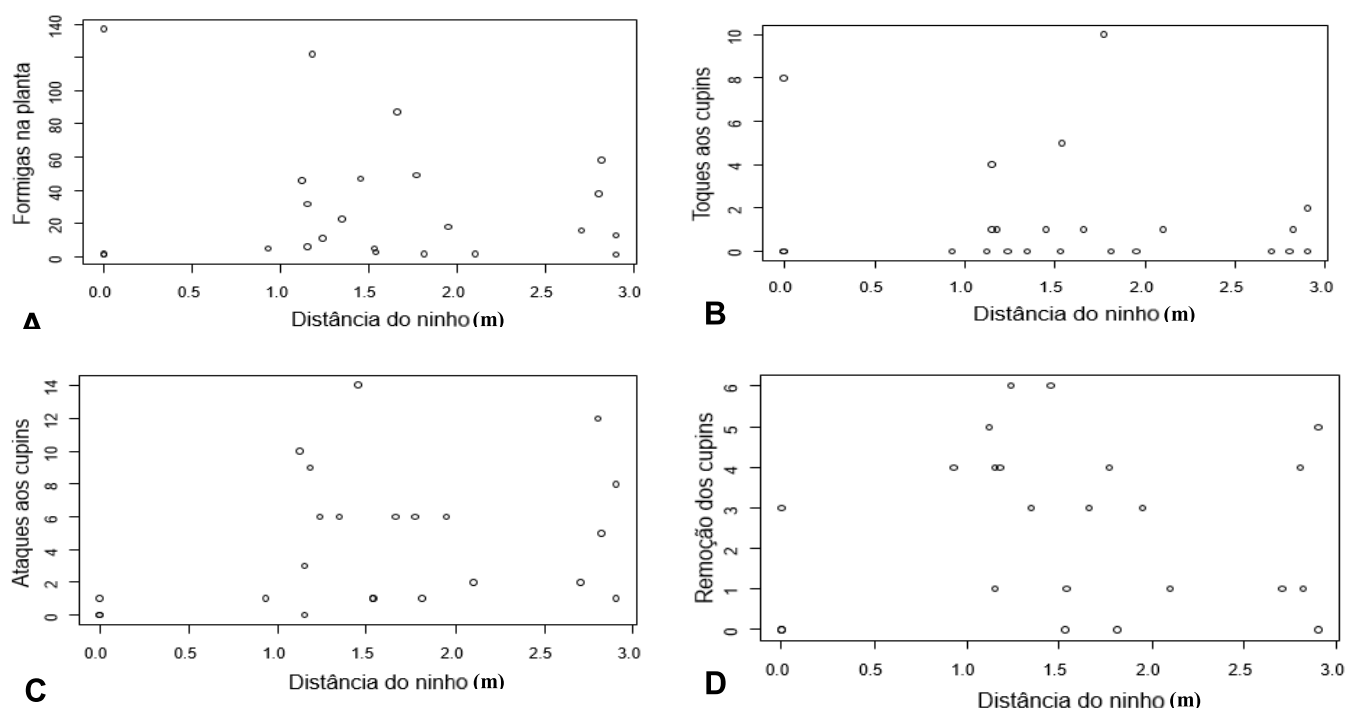


Figura 8. Boxplot comparando as interações da formiga *Camponotus termitarius* aos cupins em plantas próximas a ninhos (até 3 metros). **A)** Contagem de formigas sem perturbação. **B)** Toques aos cupins. **C)** Ataque aos cupins. **D)** Remoção dos cupins. Os pontos nos gráficos representam a quantidade de cada tipo de interação dos indivíduos de *Camponotus termitarius*.

2.3.3 Presença de trofobiontes na planta

A presença de trofobiontes, cochonilhas e membracídeos nas plantas, não gerou diferença na quantidade de indivíduos de *C. termitarius* na contagem sem perturbação anterior ao experimento, nem para membracídeos (Teste de Wilcoxon $W=184$; $p=0,459$; Fig. 2, ANEXO 1), tão pouco para cochonilhas (Teste de Wilcoxon $W=207,5$; $p=0,224$; Fig. 3, ANEXO 1). Houve um maior patrulhamento e

reconhecimento de herbívoros pelas formigas nas plantas com trofobiontes, indicado por um maior número de toques das formigas nos cupins para plantas com membracídeos (Teste de Wilcoxon $W = 128$; $p = 0,018$; Fig. 9A) e com cochonilhas (Teste de Wilcoxon $W = 177,5$; $p = 0,035$; Fig. 10A). Comparando os resultados entre membracídeos e cochonilhas para o tempo transcorrido até o primeiro toque foi mais curto para os membracídeos (Teste de Wilcoxon $W = 291,5$; $p = 0,036$; Fig. 9B) do que as cochonilhas (Teste de Wilcoxon $W = 324$; $p = 0,131$; Fig. 10B). Após o patrulhamento intenso, parece ter havido uma perda de interesse na presa do experimento (cupim) evidenciado na pouca diferença nos ataques aos cupins nas plantas com e sem trofobiontes, tanto para os membracídeos (Teste de Wilcoxon $W = 239,5$; $p = 0,535$; Fig. 9C) quanto para cochonilhas (Teste de Wilcoxon $W = 252,5$; $p = 0,828$; Fig. 10C). A presença dos trofobiontes não interferiu em relação ao tempo transcorrido até o primeiro ataque aos cupins ($W = 193$; $p = 0,597$) para membracídeos (Fig. 9D) e para cochonilhas ($W = 263,5$; $p = 0,990$) (Fig. 10D). Não encontramos diferença nos ataques entre plantas com e sem trofobiontes, a remoção dos cupins pelas formigas manteve esse padrão para membracídeos (Teste de Wilcoxon $W = 192,5$; $p = 0,576$ Fig. 9E) e cochonilhas (Teste de Wilcoxon $W = 236,5$; $p = 0,549$; Fig. 10E). O tempo transcorrido até a remoção dos cupins pelas formigas nas plantas com e sem trofobiontes não gerou diferença para membracídeos (Teste de Wilcoxon $W = 271$; $p = 0,147$; Fig. 9F) nem para cochonilhas (Teste de Wilcoxon $W = 311,5$; $p = 0,257$; Fig. 10F).

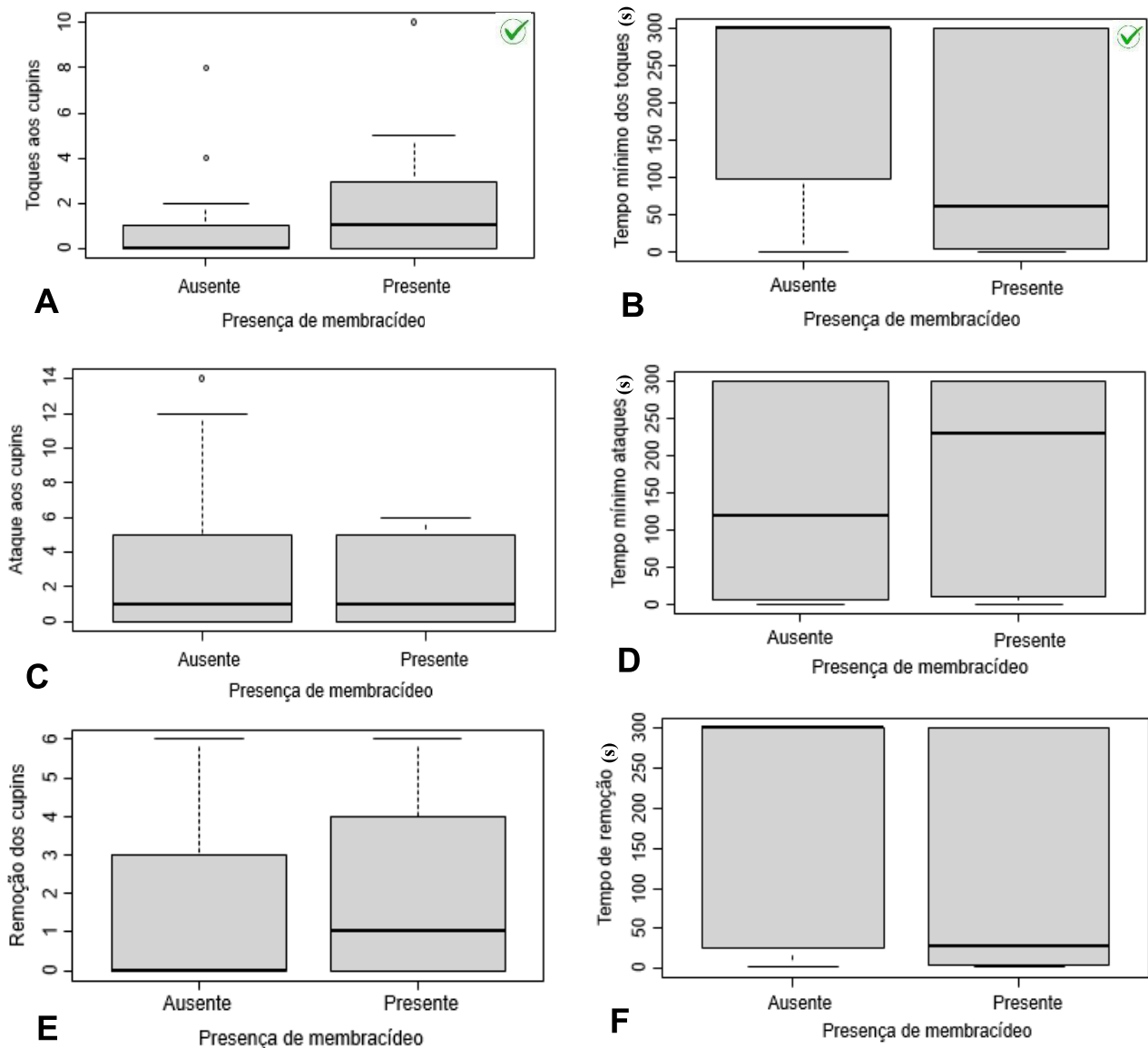


Figura 9. Boxplot comparando as interações da formiga *Camponotus termitarius* aos cupins em plantas próximas a ninhos (até 3 metros) e distantes (mais de 3 metros), com ausência e presença de membracídeos. **A)** Toques aos cupins. **B)** Tempo transcorrido até o primeiro toque aos cupins. **C)** Ataques aos cupins. **D)** Tempo transcorrido até o primeiro ataque aos cupins. **E)** Remoção dos cupins. **F)** Tempo transcorrido até a remoção dos cupins. Linha preta é a mediana, os quartis são as linhas horizontais apresentando quatro partes iguais, e assim cada parte representa 1/4 da amostra ou população a partir da mediana, os pontos representam os extremos.

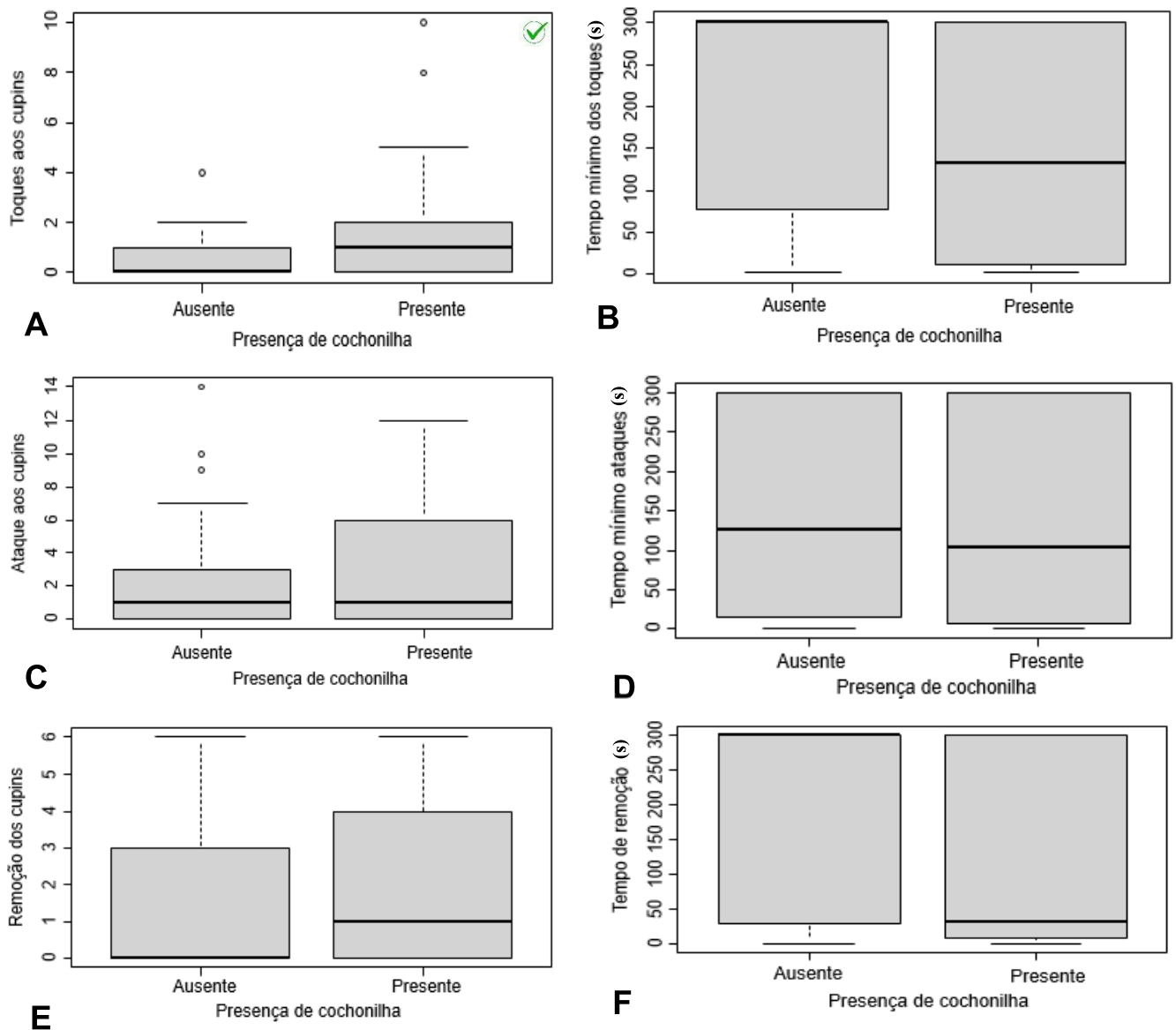


Figura 10. Boxplot comparando as interações da formiga *Camponotus termitarius* aos cupins em plantas próximas a ninhos (até 3 metros) e distantes (mais de 3 metros), com ausência e presença de cochonilhas. **A)** Toques aos cupins. **B)** Tempo transcorrido até o primeiro toque aos cupins. **C)** Ataques aos cupins. **D)** Tempo transcorrido até o primeiro ataque aos cupins. **E)** Remoção dos cupins. **F)** Tempo transcorrido até a remoção aos cupins. Linha preta é a mediana, os quartis são as linhas horizontais apresentando quatro partes iguais, e assim cada parte representa 1/4 da amostra ou população a partir da mediana, os pontos representam os extremos.

2.4 Discussão

Nossos resultados são consistentes com a hipótese de que plantas mais próximas aos ninhos recebem uma maior proteção da formiga *C. termitarius* contra herbivoria, sendo que as distâncias em que o ninho se encontra, mensuradas neste trabalho, é irrelevante para esta defesa biótica. O efeito da presença de trofobiontes

neste cenário aumenta o patrulhamento e reconhecimento de possíveis ameaças à planta (herbívoros), porém não aumenta os ataques.

Trabalhos prévios realizados na região já demonstraram a relação entre a densidade de ninhos e a visitação das formigas *C. termitarius* ao gravatá-do-banhado (MORALES, 2021, dados não publicados). A partir dos nossos estudos, podemos inferir que a presença de ninhos também resulta em uma maior defesa biótica às plantas próximas. Isto pode ser devido a agressividade das formigas que não diferem apenas entre as espécies, mas também em uma mesma espécie, podendo mudar dependendo do número de companheiros de ninho ao redor (KATAYAMA; SUZUKI, 2005). Campos; Camacho (2014), estudando diversas espécies de plantas, também demonstraram que as formigas tendem a ser mais agressivas perto de seu ninho ou de fontes de alimento.

O grupo de plantas próximas também foi estudado separadamente, para avaliarmos se o grau de proximidade do ninho com a planta causaria algum efeito na remoção de herbívoros por *C. termitarius*. Por exemplo, se ninhos que estavam a 0,5 metros da planta focal responderiam com a maior remoção de herbívoros do que ninhos distantes 2,5 metros. Todos os parâmetros avaliados (contagem sem perturbação, toque, ataque, remoção e interação) não apresentaram diferenças significativas. Isso pode ser explicado pelo fato da densidade de ninhos próximos à planta exercer uma maior influência na visitação das formigas (MORALES, 2021, dados não publicados), do que a distância relativa de um ninho a planta. Vale ressaltar que a relação da densidade dos ninhos pode ser afetada negativamente pela distância dos corpos d'água e que a densidade de ninhos traz consigo uma maior quantidade de operárias forrageando no ambiente (DUTRA, 2021, dados não publicados). Sendo assim, a quantidade de ninhos ao redor da planta exerceria uma maior influência na remoção de herbívoros do que a simples distância de um ninho à planta.

A densidade de ninhos de *C. punctulatus* (Mayr) na Província de Corrientes, Argentina, vem demonstrando uma relação entre o aumento na produção de arroz e o aumento no número de ninhos pertencentes à formiga nativa (FOLGARAIT *et al.*, 2002). Nos locais com vegetação pouco alterada, esta espécie de formiga faz ninhos subterrâneos ou pequenos montes (FOLGARAIT *et al.*, 2007). Entretanto, as atividades agrícolas parecem ter promovido ninhos epigéicos (FOLGARAIT *et al.*, 2007). Outros estudos relacionam esse tipo de construção de ninhos em locais que

ocorrem inundações esporádicas (LEWIS *et al.*, 1991). *Camponotus punctulatus* possui habilidades de se estabelecer, colonizar e dominar comunidades perturbadas, e quanto maior o dano causado ao solo pela agricultura, mais suscetível a invasão por *C. punctulatus* (FOLGARAIT; GOROSITO, 2001). Atividades agrícolas mais intensas e o cultivo do arroz com suas inundações removem competidores e grande parte da macrofauna deixando mais espaços e recursos disponíveis para essa invasão (FOLGARAIT *et al.*, 2003). Em uma revisão, Styrsky & Eubanks (2007) avaliaram os efeitos das interações formigas-hemípteros nas plantas, destacando a importância da proximidade das colônias de formigas às plantas hospedeiras. Neste caso, a distância pode influenciar a resposta numérica das formigas aos hemípteros produtores de melada, mesmo sendo essa uma questão não aprofundada nos artigos citados por eles. Nossos estudos demonstram um avanço nesse sentido. A presença de ninhos próximos à planta altera as relações mutualísticas formiga-planta-herbívoros e considerando a relação entre a agricultura e o crescimento populacional e densidade de ninhos epigéicos (FOLGARAIT *et al.*, 2002), podemos prever uma mudança também nas relações interespecíficas quando atividades agrícolas invadem o habitat da formiga.

As interações mutualísticas entre formigas e trofobiontes são amplamente estudadas (DÁTTILO *et al.*, 2009; FLEIG, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2012; IBARRA-ISASSI *et al.*, 2016) e alguns estudos sugerem que o líquido açucarado que os hemípteros produzem poderia ter uma função parecida com a dos nectários extraflorais (CARROLL; JANZEN, 1973). Ambos, juntamente com a associação das formigas, podem reduzir o ataque de herbívoros à planta (OLIVEIRA; DEL-CLARO, 2005). Estas relações tri-tróficas e seus custos e benefícios podem ser afetados, dentre outros fatores, pela presença e abundância de outros organismos e também depende das espécies envolvidas (KAMINSKI *et al.*, 2009). Entretanto, no nosso estudo dentre as variáveis medidas (contagem sem perturbação, toque, ataque, remoção e interação), apenas o toque apresentou diferenças significativas nas plantas com e sem trofobiontes. Nas plantas com trofobiontes associados, houve um maior número de toques, tanto para cochonilhas, quanto para membracídeos, demonstrando um maior patrulhamento da *C. termitarius*, mas sem terminar em ataques ou remoções. O ataque das formigas aos cupins pode ser devido ao forrageamento, em que a formiga preda o cupim (herbívoros potencial) para usar como fonte de alimento;

devido a defesa do ninho, em que a formiga ataca o cupim por representar uma ameaça para a colônia (o que explicaria os ataques a cupins em plantas próximas); e devido a defesa do trofobionte, a formiga ataca o cupim para defender o trofobionte. A partir dos nossos resultados, pode-se deduzir que a formiga não está protegendo os trofobiontes. Se a formiga estivesse usando os cupins como alimento, os ataques seriam mais frequentes do que o que encontramos. Com isso, o mais provável seria que o comportamento agressivo das formigas seja devido, em sua maior parte, à defesa da colônia. Além disso, observamos a presença de estruturas de proteção construídas pelas formigas na base das plantas ao redor trofobiontes, considerados como ninhos satélites (Fig. 2, Fig. 5) (VANEK; POTTER, 2010). Esses ninhos estão situados na base da planta, sugerindo uma maior concentração de formigas nessa região. Em nosso experimento, inserimos um cupim na base e outro no centro da folha, essa última parte da folha pode ter sido menos visitada pelas formigas pela presença de ninho satélite na base, já que as formigas forrageiam e patrulham essa região da planta com maior intensidade.

Portanto, atingimos resultados relevantes para o estudo sobre as interações mutualísticas formiga-planta-herbívoro para o bioma Pampa no Rio Grande do Sul, servindo de base para os próximos estudos sobre esse tipo de interação. Nossos dados demonstram uma maior defesa biótica da *C. termitarius* nas plantas *E. pandanifolium* próximas a ninhos, essa interação pode oferecer benefício líquido para ambas as espécies envolvidas. Vale ressaltar que a interação formiga-planta nem sempre resulta em benefício para a planta, indicando a presença de condicionantes entre elas: as espécies de formigas associadas, densidade de formigas, demanda nutricional da colônia de formigas, estratégia de defesa de herbívoros, e espécies vegetais associadas (CALIXTO *et al.*, 2018). Estudos em plantas com nectários extraflorais também demonstraram que, apesar de frequentemente mutualísticas, as relações com formigas podem ser antagônicas, interrompendo a polinização e a reprodução das plantas, sendo que esta condição está relacionada a densidade da formiga na planta (CHAMBERLAIN; HOLLAND, 2008).

A perturbação ambiental de origem antrópica pode ter um papel na condicionalidade desta interação multitrófica planta-formiga-trofobionte, pois causa um aumento na densidade de ninhos, principalmente nos campos de arroz (FOLGARAIT *et al.*, 2002). Além de ocasionar uma mudança na paisagem com o

passar do tempo, com formigueiros resistentes e cada vez maiores, dificultando inclusive a movimentação de pastadores (FOLGARAIT *et al.*, 2007). A presença de trofobiontes também pode causar alterações no comportamento da formiga como a construção de ninhos satélites para cobertura e proteção destes hemípteros. (VANEK; POTTER, 2010), essas alterações de comportamento podem influenciar na defesa biótica oferecida pela planta.

3. Conclusão

A defesa biótica contra herbívoros oferecida pela formiga *Camponotus termitarius* é maior em plantas próximas aos ninhos. Uma pequena diferença na distância da planta focal ao ninho e a presença de trofobiontes não demonstrou ser um fator de interferência nesta defesa biótica. Esta espécie de formiga sofreu uma recente mudança taxonômica tornando-se assim uma espécie propriamente dita, com isso existem poucos trabalhos sobre a sua ecologia. Entretanto, este trabalho desenvolveu um novo conhecimento sobre as relações de defesa biótica oferecida pelas formigas *C. termitarius* em plantas próximas ao ninho na região e aborda assuntos importantes a serem estudados para melhor entender a ecologia da formiga e suas interações com as espécies de plantas do Pampa.

4. Considerações finais

Consideramos que nosso estudo avançou no entendimento sobre as relações de defesa biótica oferecida pelas formigas *C. termitarius* em plantas próximas ao ninho. Devido à escassez de estudos com esta espécie de formiga, trabalhos complementares são de grande relevância para ajudar na compreensão das suas relações de defesa biótica com plantas. Dentre estes, podemos citar: (i) análises morfológicas e moleculares para uma identificação mais precisa da *C. termitarius* da região do Pampa gaúcho em diferentes localidades e habitats; (ii) a extensão da área de forrageamento da espécie para medir qual a distância da defesa biótica oferecida pelas formigas às plantas; (iii) repetir o nosso experimento com cupins no inverno para comparar com o verão, já que o nosso foi executado somente no verão. Neste último caso, através de observações pudemos constatar que durante o inverno as formigas ficavam agrupadas na região basal da planta, provavelmente por ser uma região que oferece uma maior proteção aos efeitos abióticos dessa época do ano. Em nossas visitas ao campo durante o inverno, observamos uma maior interação de *C. termitarius* com os membracídeos, pois ambos se encontravam associados nessa mesma região. Além disso, muitas vezes os membracídeos estavam protegidos embaixo das extensões de ninhos.

Estudos para observar a defesa biótica pelas formigas na época reprodutiva das plantas também são necessários, ou seja, verificar se a defesa biótica também ocorre nas inflorescências das plantas que possuem proximidade ao ninho. Por fim, comparar a época alagada com a época seca, pois nessas condições poucas plantas possuem a sua base seca e essas plantas podem ser redutos para *C. termitarius* nessa época do ano, principalmente aquelas plantas que possuem ninhos satélites.

5. Referências bibliográficas

ANTIKI. **AntWiki: As formigas – online.** Disponível em: <https://www.antwiki.org>. Acesso em 15 de junho de 2022.

ANTWEB. Versão 8.76.4. **Academia de Ciências da Califórnia.** Disponível em: <https://www.antweb.org>. Acesso em 15 de junho de 2022.

BRONSTEIN, J. L. The contribution of ant-plant protection studies to our understanding of mutualism 1. **Biotropica**, v. 30, n. 2, p. 150-161, 1998.

BRONSTEIN, J. L. Conditional outcomes in mutualistic interactions. **Trends in ecology & evolution**, v. 9, n. 6, p. 214-217, 1994.

BASSA, P. G. **Variações estruturais ligadas à fenologia em plantas de Eryngium: consequências para as comunidades de aranhas.** Universidade Federal de Pelotas. Programa de Pós-Graduação em Biologia animal. Dissertação de mestrado. Pelotas. 2021.

BATTIE, A. J. **The Evolutionary Ecology of Ant-Plant Mutualisms.** 1. ed. Cambridge: Cambridge University Press. p. 196. 1985.

BAXTER, F. P.; HOLE, F.D. Ant (*Formica cinerea*) pedoturbation in a prairie soil. **Soil Science Society of America Journal**, v. 31, n. 3, p. 425-428, 1967.

BLÜTHGEN, N.; FIEDLER, K. Competition for composition: Lessons from nectar-feeding ant communities. **Ecology**, v. 85, n. 6, p. 1479-1485, 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente: **Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade.** 2009.

BRUCE, T. J. A; PICKETT, J. A. Plant defence signalling induced by biotic attacks. **Current opinion in plant biology**, v. 10, n. 4, p. 387-392, 2007.

CALIXTO, E.S.; LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Protection mutualism: an overview of ant-plant interactions mediated by extrafloral nectaries. **Oecologia Australis**, v. 22, n. 4, 2018

CAMPOS, R. E. *Eryngium* (Apiaceae) phytotelmata and their macroinvertebrate

communities, including a review and bibliography. **Hydrobiologia**, [s.l.], v. 652, n.1, p. 311-328, 2010.

CAMPOS, R. E.; FERNÁNDEZ L. A. Coleopterans associated with plants that form phytotelmata in subtropical and temperate Argentina, South America. **Journal of Insect Science**, EUA, v. 11, n. 147, p. 1-18, 2011.

CAMPOS, R. I.; CAMACHO, G. P. Ant-plant interactions: the importance of extrafloral nectaries versus hemipteran honeydew on plant defense against herbivores. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 8, n. 6, p. 507-512, 2014.

CARADONNA, P. J. et al. Interaction rewiring and the rapid turnover of plant-pollinator networks. **Ecology letters**, v. 20, n. 3, p. 385-394, 2017.

CARROLL, C. R.; JANZEN, D. H. Ecology of foraging by ants. **Annual Review of Ecology and systematics**, p. 231-257, 1973.

CARLSON, S. R.; WHITFORD, Walter G. Ant mound influence on vegetation and soils in a semiarid mountain ecosystem. **American Midland Naturalist**, p. 125-139, 1991.

COSTA, A. P. **Forrageamento de *Camponotus atriceps* Smith, 1858 (Hymenoptera; Formicidae) sob condições antrópicas, em Uberlândia, Minas Gerais**. Universidade Federal de Uberlândia. Instituto de Genética e Bioquímica. Curso de Ciências Biológicas. Monografia de conclusão de curso. 2004.

COUTO, M. M. B. **A distância geográfica aumenta a dissimilaridade de interações entre formigas e insetos trofobiontes através da substituição das espécies envolvidas**. Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Gestão da Vida Selvagem. Universidade Federal de Minas Gerais. Dissertação de mestrado. 2021.

COSARINSKY, M. I. Nest micromorphology of the neotropical mound building ants *Camponotus punctulatus* and *Solenopsis* sp. **Sociobiology**, v. 47, n. 2, p. 329-344, 2006.

CHAMBERLAIN, S. A.; HOLLAND, J. N. Density-mediated, context-dependent consumer-resource interactions between ants and extrafloral nectar plants. **Ecology**, v. 89, n. 5, p. 1364-1374, 2008.

CHOMICKI, G. et al. The impact of mutualisms on species richness. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 34, n. 8, p. 698-711, 2019.

DAVIDSON, D. et al. Explaining the abundance of ants in lowland tropical rainforest canopies. **Science**, EUA, v. 300, n. 5621, p. 969-972, 2003.

DÁTTILO, W. et al. Interações mutualísticas entre formigas e plantas. **EntomoBrasilis**, v. 2, n. 2, p. 32-36, 2009.

DA ROCHA, W. D. **Formigas e bromélias epífitas em um mosaico agroflorestal: padrões ecológicos e rede de interações**. 2016. Tese de Doutorado-Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

DE OLIVEIRA NEVES, A. C. et al. Co-existence of ants and termites in *Cecropia pachystachya* Trécul (Urticaceae). **Sociobiology**, v. 61, n. 1, p. 88-94, 2014.

DE SALUSO, M. L. R. Artrópodos associados al “caraguatá”, *Eryngium paniculatum* (Apiaceae). **Revista Científica Agropecuaria**, v. 1, p. 35-37, 1997.

DO NASCIMENTO, E. A.; DEL-CLARO, K. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 205, n. 11, p. 754-756, 2010.

DELABIE, J.H.C. Trophobiosis between Formicidae and Hemiptera (*Sternorrhyncha* and *Auchenorrhyncha*): an overview. **Neotropical Entomology** 30, 501–16. 2001.

DUTRA, B. P. **A influência dos diferentes tipos de cobertura de vegetação sobre a densidade de ninhos de *Camponotus termitarius* em áreas de Restinga**. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Ciências Biológicas. Curso de Ciências Biológicas. Trabalho de Conclusão de Curso. Pelotas. 2021.

DOS SANTOS SOARES, A. M.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica–Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 10, 2007.

ELISEI, T.; JUNIOR, C. R.; GUIMARÃES, D. L.; PREZOTO, Fabio. Comportamento de forrageio de *Camponotus sericeiventris* Guérin, 1838 (Hymenoptera, Formicidae) em ambiente urbano. **EntomoBrasilis**, v. 5, n. 2, p. 170-172, 2012.

EMERY, C. Untitled. *Camponotus punctulatus* Mayr, subsp. *termitarius* IN: n. subsp. Wasmann, E. **Neues über die zusammengesetzten Nester und gemischten Kolonien der Ameisen**. [part]. **Allgemeine Zeitschrift für Entomologie**, v. 7, p. 293-298, 1902.

EUBANKS, M. D.; STYRSKY, J. D. Ant-Hemipteran mutualisms: keystone interactions that alter food web dynamics and influence plant fitness. In: **Trophic and**

guild in biological interactions control. Springer, Dordrecht, p. 171-189. 2006.

FERREIRA, V. C. M. **Efeitos diretos e indiretos das interações de trofobiose entre hemípteros sugadores e formigas na reprodução de uma planta ornitófila**. Universidade Federal de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre. Dissertação de mestrado. Belo Horizonte. 2020.

FIDELIS, A. *et al.* Effects of Disturbance on Population Biology of the Rosette Species *Eryngium Horridum Malme* in Grasslands in Southern Brazil. **Plant Ecology**, [s.l.], v. 195, n. 1, p. 55-67, 2008.

FITTKAU, E. J.; KLINGE, H. On biomass and trophic structure of the central Amazonian rain forest ecosystem. **Biotropica**, p. 2-14, 1973.

FOLGARAIT, P. J. Ant biodiversity and its relationship to ecosystem functioning: a review. **Biodiversity & Conservation**, v. 7, n. 9, p. 1221-1244, 1998.

FOLGARAIT, P. J. *et al.* Soil properties and the macrofauna community in abandoned irrigated rice fields of northeastern Argentina. **Biology and fertility of soils**, v. 38, n. 6, p. 349-357, 2003.

FOLGARAIT, P. J. *et al.* Effects of *Camponotus punctulatus* ants on plant community composition and soil properties across land-use histories. **Plant Ecology**, v. 163, n. 1, p. 1-13, 2002.

FOLGARAIT, P. J.; D'ADAMO, Paola; GILBERT, Lawrence E. A grassland ant community in Argentina: the case of *Solenopsis richteri* and *Camponotus punctulatus* (Hymenoptera: Formicidae) attaining high densities in their native ranges. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 97, n. 3, p. 450-457, 2004.

FOLGARAIT, P. J. *et al.* *Camponotus punctulatus* ant's demography: a temporal study across land-use types and spatial scales. **Insectes sociaux**, v. 54, n. 1, p. 42-52, 2007.

FOLGARAIT, P. J.; GOROSITO, Norma B. Invasion of *Camponotus punctulatus* ants in sown pastures: consequences for ant activity and diversity. **Ecología austral**, v. 11, n. 01, p. 049-057, 2001.

FONTANA, C. S. Description of the nest and eggs of the Black-and white *Monjita* *Heteroxolmis dominicana*. **Cotinga**, [s.l.], v.8, n.1, p. 79-81, 1998.

FUSTER, A. Especies de hormigas asociadas a *Prosopis ruscifolia* Griseb. en ambientes salinos del Chaco Semiárido. **Quebracho (Santiago del Estero)**, v. 20, n. 1, p. 29-38, 2012.

FLEIG, E. D. **Estudo da Interação entre a formiga *Camponotus punctulatus* Mayr (Hymenoptera: formicidae) e o pulgão-preto-dos-citros (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae).** Tese de Doutorado (Fitotecnia), UNISINOS, Porto Alegre, 2011.

GRECCO, M. M.; SIMAS, V. R.; SIMAS, C. A. **Estrutura e organização dos formigueiros de *Camponotus (Tanaemyrmex) punctulatus* Mayr, 1868, em Uruguaiana, RS.** Revista da FZVA, v. 6, n. 1, 1994.

GONZALEZ-POLO, M.; FOLGARAIT, P. J.; MARTÍNEZ, A. Evaluación estacional del efecto de los nidos de *Camponotus punctulatus* sobre la biomasa y la actividad microbiana en una pastura subtropical de Argentina. **Ecología austral**, v. 14, n. 2, p. 149-163, 2004.

GOROSITO, N. B. et al. Morphological changes in *Camponotus punctulatus* (Mayr) anthills of different ages. **Geoderma**, v. 132, n. 3-4, p. 249-260, 2006.

GONÇALVES-SOUZA, T. Induced biotic response in Amazonian ant-plants: the role of leaf damage intensity and plant-derived food rewards on ant recruitment. **Sociobiology**, v. 63, n. 3, p. 919-924, 2016.

HEIL, M.; MCKEY, D. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, p. 425-453, 2003.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The ants.** Harvard University Press, 1990.

IBARRA ISASSI, J. E. *et al.* **Interações entre formigas, membracídeos, flores e visitantes florais em vegetação de cerrado: estudo experimental com *Byrsonima intermedia* A. Juss (Malpighiaceae).** 2016. 52p. Dissertação de Mestrado- Programa de Pós-Graduação em Ecologia- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016.

IBARRA-ISASSI, J.; OLIVEIRA, P. S. Indirect effects of mutualism: ant-treehopper associations deter pollinators and reduce reproduction in a tropical shrub. **Oecologia**, v. 186, n. 3, p. 691-701, 2018.

JAFFE, K.; RAMOS, C.; ISSA, S. Trophic interactions between ants and termites that share common nests. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 88, n. 3, p. 328-333, 1995.

JANICKI, J., NARULA, N., ZIEGLER, M., GUÉNARD, B. Economo, E.P. Visualizando e interagindo com dados de biodiversidade de grande volume usando aplicativos de mapeamento web cliente-servidor: **O desenho e implementação de**

antmaps.org. **Informática Ecológica** 32: 185-193. 2016.

JOLY, A. B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 12. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, p. 777. 1998.

KAMINSKI, L. A. et al. Ecologia comportamental na interface formiga-planta-herbívoros: interações entre formigas e lepidópteros. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 1, p. 27-44, 2009.

KATAYAMA, N.; SUZUKI, N. The importance of the encounter rate between ants and herbivores and of ant aggressiveness against herbivores in herbivore exclusion by ants on *Vicia angustifolia* L. (Leguminosae) with extrafloral nectaries. **Applied Entomology and Zoology**, v. 40, n. 1, p. 69-76, 2005.

KOCH, E. et al. **Mudanças na comunidade de formigas e na interação formiga-planta durante o desenvolvimento de *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae)**. Tese (Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) - Universidade Federal de Uberlândia. p. 41. 2014.

KUINCHTNER, A.; BURIOL, G. A. Clima do Estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação climática de Köppen e Thornthwaite. **Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas**, v. 2, n. 1, p. 171-182, 2001.

LEAL, I. R.; WIRTH, R.; TABARELLI, M. The multiple impacts of leaf-cutting ants and their novel ecological role in human-modified neotropical forests. **Biotropica**, v. 46, n. 5, p. 516-528, 2014.

LEWIS, J. P.; FRANCESCHI, A.; STOFELLA, S. L. Effect of ant-hills on the floristic richness of plant communities of a large depression in the Great Chaco. **Revista de biología tropical**, p. 31-39, 1991.

LOCKABY, B. G.; ADAMS, J. C. Pedoturbation of a forest soil by fire ants. **Soil Science Society of America Journal**, v. 49, n. 1, p. 220-223, 1985.

LOPES, B. C. Formigas visitantes de inflorescências de *Actinocephalus polyanthus* (Bong.) Sano (Eriocaulaceae). **Biotemas**, v. 26, n. 4, p. 75-83, 2013.

MACULAN, K. **Estudos taxonômicos e fisiológicos das espécies do gênero *Eryngium* L. (Apiaceae - Saniculoideae) ocorrentes na área compreendida pelo Campus da Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, Rio Grande do Sul**. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Curso de Ciências Biológicas. Trabalho de Conclusão de Curso. Pelotas. 2007.

MARTINS, A. C. Abordagens históricas no estudo das interações planta-polinizador. **Oecologia Australis**, v. 7, n. 7 (2), p. 229-242. 2013.

MARTINS, L. A. **Comportamento reprodutivo e social de *Scinax squalirostris* (Lutz, 1995) (Anura, Hylidae) sob influência de fatores ambientais**. 2009. Dissertação de mestrado (Ciências Biológicas) - Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

MORALES, D. F. **Fatores que determinam a presença de formigas em plantas de *Eryngium pandanifolium* Cham. & Schltdl. (Apiaceae) em campos temperados no sul do Rio Grande do Sul**. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Curso de Ciências Biológicas. Trabalho de Conclusão de Curso. Pelotas. 2007.

MORENO, J. A. Clima do Rio grande do Sul. **Boletim Geográfico do Rio Grande do Sul**, n. 11, p. 49-83, 1961.

MOURA, R. F. et al. Biotic defenses against herbivory. In: **Plant-animal interactions**. Springer, Cham, p. 93-118. 2021.

NOMURA, M.; ITIOKA, T.; ITINO, T. Variations in abiotic defense within myrmecophytic and non-myrmecophytic species of *Macaranga* in a Bornean dipterocarp forest. **Ecological Research**, v. 15, n. 1, p. 1-11, 2000.

NESS, J. H. A mutualism's indirect costs: the most aggressive plant bodyguards also deter pollinators. **Oikos**, v. 113, n. 3, p. 506-514, 2006.

NESS, J.; MOONEY, K.; LACH, L. Ants as mutualists. **Ant ecology**, p. 97-114, 2010.

OLIVEIRA, P. S. et al. Multitrophic interactions in a neotropical savanna: ant-hemipteran systems, associated insect herbivores and a host plant. **Biotic interactions in the tropics: their role in the maintenance of species diversity**, p. 414-438, 2005.

OLIVEIRA, P. S.; DA SILVA, A. F.; MARTINS, A. B. Ant foraging on extrafloral nectaries of *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) in cerrado vegetation: ants as potential antiherbivore agents. **Oecologia**, v. 74, n. 2, p. 228-230, 1987.

OLIVEIRA, P. S.; SENDOYA, S. F.; DEL-CLARO, K. Defesas bióticas contra herbívoros em plantas de cerrado: interações entre formigas, nectários extraflorais e insetos trofobiontes. In DEL-CLARO, Kleber. TOREZAN-SILINGARDI, Helena Maura. **Ecologia das interações plantas-animais**. Technical Books, Rio de Janeiro, p. 157-165. 2012.

OLIVEIRA, P.S.; DEL-CLARO, K. Multitrophic interactions in a neotropical

savanna: ant-hemipteran systems, associated insect herbivores, and a host plant. In: Burslem DFRP, Pinard MA, Hartley SE, editors. *Biotic Interactions in the Tropics*. Cambridge(UK): **Cambridge University Press**, p. 414-438, 2005.

PALACIOS, F. X.; GIRINI J. M. Biotic interactions in species distribution models enhance model performance and shed light on natural history of rare birds: a case study using the straight-billed reedhaunter *Limnortyx rectirostris*. **Journal of Avian Biology**, [s.l.], v. 49, n.11, 2018.

PARIS, C. I. et al. Litter decomposition and soil organisms within and outside of *Camponotus punctulatus* nests in sown pasture in Northeastern Argentina. **Applied soil ecology**, v. 40, n. 2, p. 271-282, 2008.

PEREIRA, T.; ROSSINE, Fernando; CABRAL, Juarez; VAZ, Renata. A fertilidade do solo afeta as relações mutualísticas entre *Dalbergia ecastophyllum* (Fabaceae) e bactérias fixadoras de nitrogênio? **Prática de Ecologia da Mata Atlântica**. Curso de Pós-Graduação em Ecologia – Universidade de São Paulo. 2013.

PACELHE, F. T. et al. Nectar quality affects ant aggressiveness and biotic defense provided to plants. **Biotropica**, v. 51, n. 2, p. 196-204, 2019.

QUINTELA, F. M.; SANTOS, M. B.; OLIVEIRA, S. V. COSTA, R. C.; CHRISTOFF, A.U. Wild boars and feral pigs (Suidae, *Sus scrofa*) in the Restinga of Rio Grande, RS, Brazil: ecosystems of occurrence and preliminary data on environmental impacts. **Neotropical Biology and Conservation**, [s.l.], v. 5, n. 3, p. 172-178, 2010.

RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P. S. The ecology and evolution of ant-plant interactions. In: **The Ecology and Evolution of Ant-Plant Interactions**. University of Chicago Press, 2007.

SANDERS, Dirk; VAN VEEN, FJ Frank. Ecosystem engineering and predation: the multi-trophic impact of two ant species. **Journal of Animal Ecology**, v. 80, n. 3, p. 569-576, 2011.

RUFFINELLI, A. Contribucion al conocimiento de los homopteros auquenorrincos del Uruguay. **Zoologia Agrícola**. Publicacion Tecnica n° 1. Del Centro de Investigación em Sanidad Vegetal del Ministerio de Ganaderia y Agricultura. 1970.

STADLER, B. et al. **Mutualism: ants and their insect partners**. Cambridge university press, 2008.

SILVA, L. S. **Inventário comportamental de Camponotus comatulus, Mackay 2010 (Hymenoptera: Formicidae) em uma área de Cerrado à nordeste do**

Estado do Maranhão, Brasil. Universidade Federal do Maranhão. Centro de Ciências Agrárias e Ambientais. Curso de Ciências Biológicas. Monografia de conclusão de curso. Chapadinha/MA. 2018.

SENDOYA, S. F. et al. Foliage-dwelling ants in a neotropical savanna: effects of plant and insect exudates on ant communities. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 10, n. 3, p. 183-195, 2016.

SIMAS, V. R.; COSTA, Ervandil Corrêa; SIMAS, Claudia Aires. Aspectos etológicos de *Camponotus punctulatus* Mayr, 1868 (Hymenoptera: Formicidae). **Revista de FZVA**. Uruguaiana, v. 4, n. 1, p. 1-9. 1997.

SIMAS, V. R. et al. Determinação do formato com maior frequência em formigueiros de *Camponotus punctulatus* Mayr, 1868 (Hymenoptera: Formicidae). **Revista FZVA**. Uruguaiana, v. 7/8, n. 1, p. 33-40. 2000/2001.

STYRSKY, J. D.; EUBANKS, M. D. Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 274, n. 1607, p. 151-164, 2007.

STYRSKY, J. D.; EUBANKS, M. D. A facultative mutualism between aphids and an invasive ant increases plant reproduction. **Ecological Entomology**, v. 35, n. 2, p. 190-199, 2010.

TEIXEIRA, J. P. F. Comunicação entre plantas como estratégia de defesa. **Instituto Agrônomo, Centro de Recursos Genéticos Vegetais, Campinas (SP)**, 2016.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em ecologia**. Artmed Editora, 2009.

THOMPSON, J. N. 2013. Relentless Evolution. Chicago: **University of Chicago Press**: p. 499.

TUMA, J.; EGGLETON, P.; FAYLE, T. M. Ant-termite interactions: an important but under-explored ecological linkage. **Biological Reviews**, v. 95, n. 3, p. 555-572, 2020.

TRAGER, M. D. et al. Benefits for plants in ant-plant protective mutualisms: a meta-analysis. **PLoS One**, v. 5, n. 12, p. e14308, 2010.

VANEK, S. J.; POTTER, D. A. An interesting case of ant-created enemy-free space for magnolia scale (Hemiptera: Coccidae). **Journal of insect behavior**, v. 23, n. 5, p.389-395, 2010.

VASCONCELOS, H. L. Respostas das formigas à fragmentação florestal. **Série**

técnica IPEF, v. 12, n. 32, p. 95-98, 1998.

WILD, A. L. A catalogue of the ants of Paraguay (Hymenoptera: Formicidae). **Zootaxa**, v. 1622, n. 1, p. 1–55-1–55, 2007.

WHEELER, W. M. **The ants of the Baltic Amber**. BG Teubner, 1914.

YAMAMOTO, Marcela. **Ecologia e comportamento da formiga *Camponotus sericeiventris* Guérin, 1838 (Formicinae, Camponotini) no Cerrado**. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação e Conservação de Recursos Naturais. Dissertação de mestrado. Minas Gerais. 2004.

ZHANG, S.; ZHANG, Y.; MA, K. The ecological effects of the ant–hemipteran mutualism: a meta-analysis. **Basic and Applied Ecology**, v. 13, n. 2, p. 116-124, 2012.

Anexo 1

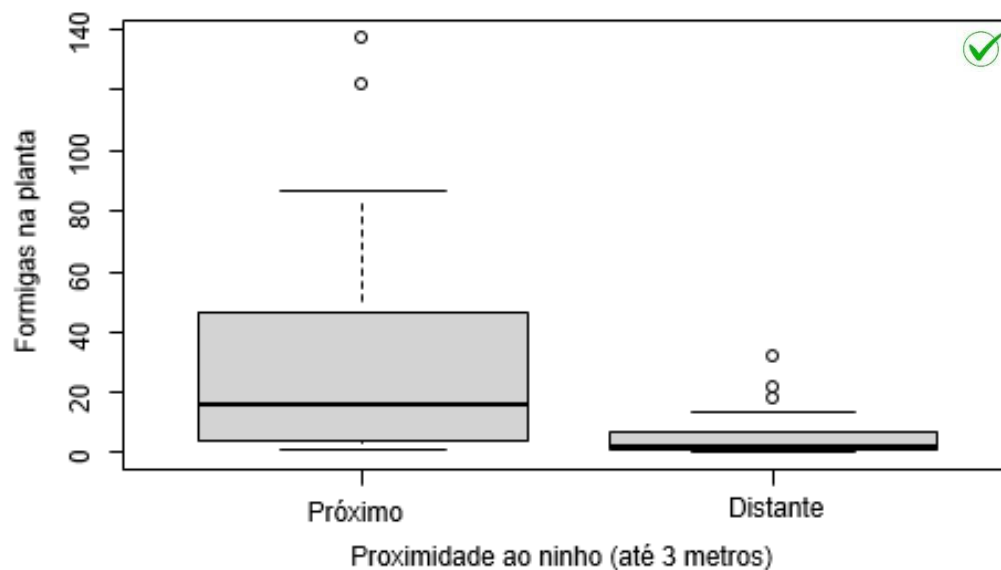


Figura 1. Contagem de formigas da espécie *Camponotus termitarius*, sem perturbação em plantas próximas a ninhos (até 3 metros) e distantes (mais de 3 metros). Linha preta é a mediana, os quartis são as linhas horizontais apresentando quatro partes iguais, e assim cada parte representa 1/4 da amostra ou população a partir da mediana, os pontos representam os extremos.

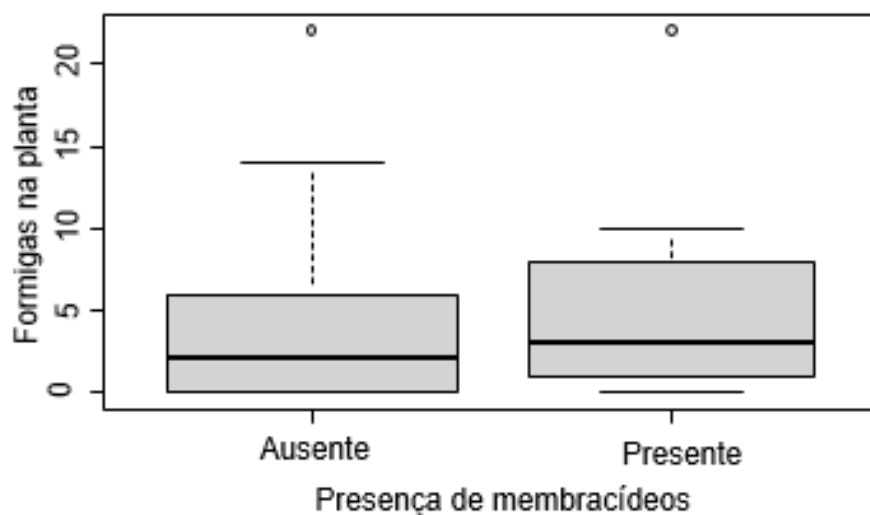


Figura 2. Contagem de formigas da espécie *Camponotus termitarius* sem perturbação em plantas próximas a ninhos (até 3 metros) e distantes (mais de 3 metros), com ausência e presença de membracídeos. Linha preta é a mediana, os quartis são as linhas horizontais apresentando quatro partes iguais, e assim cada parte representa 1/4 da amostra ou população a partir da mediana, os pontos representam os extremos.

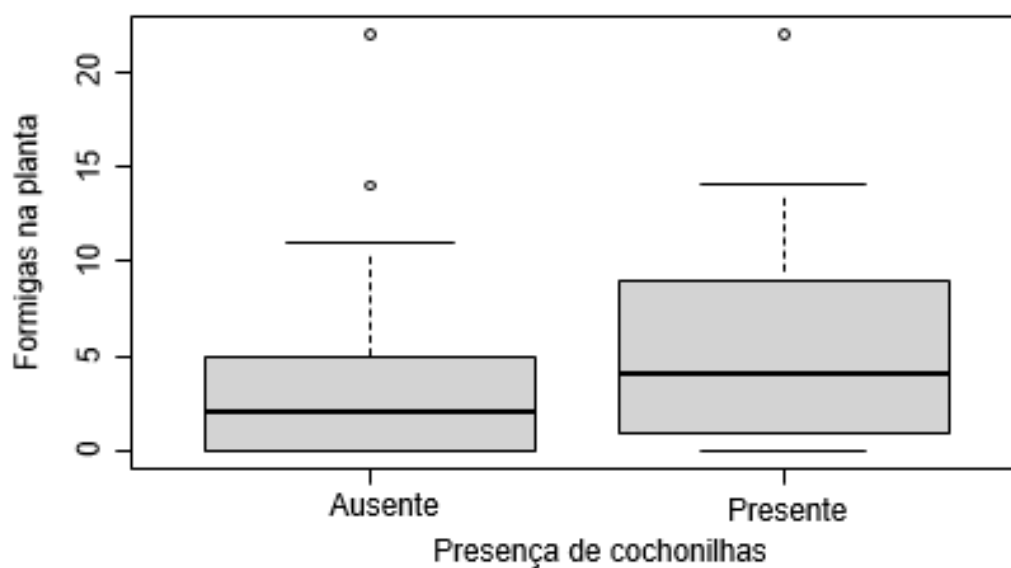


Figura 3. Contagem de formigas da espécie *Camponotus termitarius* sem perturbação em plantas próximas a ninhos (até 3 metros) e distantes (mais de 3 metros), com ausência e presença de cochonilhas. Linha preta é a mediana, os quartis são as linhas horizontais apresentando quatro partes iguais, e assim cada parte representa 1/4 da amostra ou população a partir da mediana, os pontos representam os extremos.