

KARLA NUNES OLIVEIRA

**INTERAÇÃO Cecropia-Azteca E SEUS EFEITOS NA HERBIVORIA
E CRESCIMENTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

O48i
2015
Oliveira, Karla Nunes, 1986-
Interação *Cecropia-Azteca* e seus efeitos na herbivoria e
crescimento / Karla Nunes Oliveira. – Viçosa, MG, 2015.
vi, 75f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Ricardo Ildfonso de Campos.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Mutualismo (Biologia). 2. Formiga. 3. Relação
inseto-planta. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Biologia Geral. Programa de Pós-graduação em Ecologia.
II. Título.

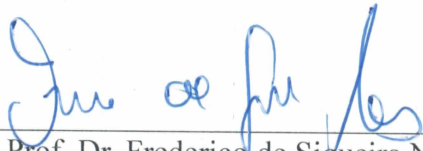
CDD 22. ed. 577.852

KARLA NUNES OLIVEIRA

**INTERAÇÃO *Cecropia-Azteca* E SEUS EFEITOS NA HERBIVORIA E
CRESCIMENTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

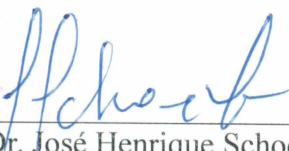
APROVADA: 10 de agosto de 2015.



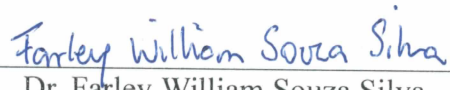
Prof. Dr. Frederico de Siqueira Neves



Prof. Dr. João Augusto Alves de Meira Neto



Prof. Dr. José Henrique Schoereder



Dr. Farley William Souza Silva



Prof. Dr. Ricardo Ildefonso de Campos
(Orientador)

Dedico ao meu pai, meu herói, que é um dos maiores ambientalistas que já conheci, e por quem eu sempre quis ser motivo de orgulho, como uma pequena forma de retribuição a tudo que ele sempre me ofereceu.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, por meio do Departamento de Biologia Geral, e do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, pelo apoio, infraestrutura e fonte de conhecimento.

Aos órgãos de fomento: FAPEMIG pela concessão da bolsa de Doutorado, CAPES pela bolsa de Doutorado Sanduíche, e CNPq pela aprovação do projeto de pesquisa que resultou nessa tese.

Ao Professor Dr. Ricardo I. de Campos pela orientação, suporte técnico, científico e financeiro sempre que necessário, além de sua paciência e amizade. Aos meus co-orientadores Mário Marcos do Espírito-Santo e Lucas A. Kaminski pela orientação.

À University of Utah (EUA), por ter me recebido e pela contribuição científica na minha carreira, especialmente à PhD. Phyllis D. Coley, o PhD. Thomas A. Kursar, e todos os demais membros do laboratório Coley/Kursar.

Ao Prof. Gumercindo e todos os funcionários da Mata do Paraíso por permitir e acompanhar a realização desse trabalho. Ao Prof. João Paulo por me fornecer reagentes químicos.

A todos os integrantes do Laboratório de Ecologia de Formigas, Lab. de Ecologia Vegetal, LabEcol, Orthopterologia, LEEP e àqueles não vinculados a laboratórios, que me auxiliaram nas várias etapas desse projeto desde o início até os dias atuais. Muitíssimo obrigada!!!

A todos os amigos que me proporcionam momentos inesquecíveis, especialmente às minha amigas-irmãs Fabiene, Luci e Cris, as quais sem elas tudo teria sido muito mais difícil. A todos que conheci em Utah, que fez minha permanência lá muito mais agradável e enriquecedora, em especial à Família Scott por ter me acolhido como membro da família.

À minha família, por ser meu amparo, conforto, amor durante toda minha vida acadêmica. E ao meu noivo André que esteve comigo durante toda minha trajetória acadêmica, apoiando todas as decisões, e compreendendo os vários períodos de ausência.

ÍNDICE

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 1: Efeito da colônia de formigas no crescimento da planta: um teste usando o sistema Azteca-Cecropia. (The effect of symbiotic ant colonies on plant growth: a test using an Azteca-Cecropia system - Artigo publicado na revista PLOs ONE)	5
CAPÍTULO 2: Existe efeito da herbivoria sobre o crescimento de indivíduos de <i>Cecropia glaziovii</i> antes de sua colonização por formigas mutualísticas?	37
CONCLUSÕES GERAIS.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

RESUMO

OLIVEIRA, Karla Nunes. D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2015. **Interação Cecropia-Azteca: Herbivoria, Crescimento e Defesa de indivíduos de Cecropia glaziovii Snethl. (Cecropiaceae) na Mata Atlântica.** Orientador: Ricardo Ildelfonso de Campos. Co-orientadores: Mário Marcos do Espírito-Santo; Lucas A. Kaminski.

A herbivoria é uma importante interação ecológica que pode apresentar impactos negativos na sobrevivência, crescimento e reprodução das plantas. A presença de estratégias de defesa podem diminuir esses efeitos ao evitar as injúrias causadas por herbívoros. Dentre as diferentes estratégias de defesa, a defesa biológica por formigas foi considerada a mais efetiva. Entender os benefícios que as plantas recebem da associação com suas formigas mutualísticas pode ajudar a compreender melhor a relação ecológica e evolutiva entre esses organismos. Nesse sentido, esta tese apresenta dois capítulos. No primeiro capítulo, com a finalidade de investigar os benefícios da presença da colônia de formigas para plantas, foram avaliados a taxa de crescimento da planta, a herbivoria, o conteúdo de nitrogênio e os investimentos em outras defesas em indivíduos de *Cecropia glaziovii* naturalmente colonizados e não-colonizados por *Azteca muelleri*. Além do benefício de proteção contra herbivoria, foi encontrado um aumento na taxa de crescimento de plantas colonizadas, que pode inclusive ser um benefício indireto provenientes da proteção contra herbivoria. Assim, no segundo capítulo, com o objetivo de verificar se existe um efeito da herbivoria no crescimento das plantas, foram avaliadas a dinâmica do crescimento, a herbivoria e a fauna de herbívoros em plantas jovens, ainda não colonizadas por formigas. De fato, foi encontrado um efeito negativo da herbivoria no crescimento de plantas jovens, corroborando assim a hipótese de que a proteção pelas formigas contra herbivoria beneficiaria o crescimento da planta. Além disso, os resultados da dinâmica de herbivoria nesse sistema revelaram que altos níveis de herbivoria são encontrados com pouca frequência em plantas jovens no seu ambiente natural. Embora diferentes estudos sejam necessários para determinar as reais causas destes resultados, podemos sugerir um investimento em outros tipos de defesas por essas plantas, evitando que as mesmas alcancem altos níveis de herbivoria ao longo do tempo. Dessa forma, esses resultados podem contribuir para elucidar os mecanismos de investimento em defesas de plantas durante a sua ontogenia. Além disso, se extrapolados para o restante da comunidade vegetal, podem ainda trazer importantes informações acerca dos fatores que afetam o sucesso do estabelecimento de plantas em florestas tropicais. Finalmente, as informações geradas pelos resultados da presente tese podem contribuir para o desenvolvimento da teoria de defesa de plantas.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Karla Nunes. D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2015. **Cecropia-Azteca interaction: Herbivory, Growth and Defense of *Cecropia glaziovii* Snethl. (Cecropiaceae) individuals in Atlantic Forest.** Advisor: Ricardo Ildefonso de Campos. Co-advisor: Mário Marcos do Espírito-Santo; Lucas A. Kaminski.

Herbivory is an important ecological interaction that may negatively impact plant survival, growth and reproduction. Defensive strategies can reduce those effects by avoiding injuries by herbivores. Among the different defensive strategies, the biotic one promoted by ants was considered the most effective. Investigating the benefits that plants receive from their association with mutualistic ants can help better understand the ecological and evolutionary relationship between those organisms. This thesis contains two chapters. On the first chapter, in order to investigate the benefits of ant presence in plants, we evaluated the plant growth rate, herbivory, nitrogen content and other defenses investments on *Cecropia glaziovii* plant individuals naturally colonized and uncolonized by *Azteca muelleri* ants. We found that colonized plants grew faster than uncolonized plants, and this result could be an indirect benefit from herbivory protection. Thus, on the second chapter, in order to verify if there is an herbivory effect on plant growth we evaluated the plant growth dynamics, herbivory and herbivores insects on uncolonized young plants. In fact, we found a negative effect of herbivory on young plant growth, corroborating the hypothesis that protection against herbivory can benefit plant growth. Our results from herbivory dynamics revealed that high levels of herbivory are infrequently found on young plant in its natural environment. Although various studies are needed to explain these results, we can suggest an investment in diverse types of defenses by young plants, preventing them from reaching high levels of herbivory over time. These results may help to fully elucidate the mechanisms of plant defense investment during their ontogeny. Also, if extrapolated to the plant community, they can also provide important information about the factors that affect the successful of plant establishment in tropical forests. Finally, this thesis may contribute to the development of the plant defense theory.

INTRODUÇÃO GERAL

As plantas apresentam diferentes estratégias de defesa que evitam as injúrias causadas por herbívoros (Coley 1986, Coley & Barone 1996, Turley et al. 2013). Essas estratégias de defesa podem ser divididas em químicas, físicas e biológicas (Coley & Barone 2001). As defesas químicas consistem na produção de metabólitos secundários (ex. taninos, fenóis e alcalóides), que são armazenados nos próprios tecidos da planta e causam efeitos negativos diversos nos herbívoros que as consomem (Coley 1986, Boege & Marquis 2005, Massad et al. 2011). Já as defesas físicas estão relacionadas às estruturas morfológicas das plantas, tais como dureza foliar, espinhos e tricomas que dificultam e até inibem o consumo da planta por herbívoros (Hanley et al. 2007, Ohata et al. 2010). Finalmente, as defesas biológicas são aquelas geradas por outros organismos mutualistas, que são atraídos para as plantas por meio de algum recurso da mesma e acabam por protegê-las contra os herbívoros (revisão em Heil & McKey 2003).

A defesa biológica foi considerada um dos tipos de defesa mais efetiva, sendo que as formigas são os animais mais envolvidos nessa relação (Heil & McKey 2003, Rosumek et al. 2009, Llandres et al. 2011, Massad et al. 2011). Diversos grupos de plantas (100 gêneros de plantas neotropicais) desenvolveram estruturas especializadas para alimentar (ex. nectários extraflorais e trichilias) e abrigar (domáceas) formigas, sendo assim denominadas de plantas mirmecófitas (revisão em Heil & McKey, 2003). Essas formigas, em contrapartida, por meio de um comportamento agressivo e predatório de patrulhamento, acabam propiciando uma proteção efetiva contra inimigos naturais das plantas (Oliveira & Pie 1998, Moon et al. 2010, Pringle et al. 2011). Os gêneros de plantas mirmecófitas mais estudados são *Cecropia*, *Vachellia* (*Acacia*) e *Macaranga* (Bronstein et al. 2006, Janzen 1966, Heil et al. 2001, Davies et al. 2001).

Cecropia glaziovii Snethl. pertence à família Urticaceae. Esse gênero é um dos grupos de plantas mirmecófitas mais comuns na região tropical e possui mais de 180 espécies descritas (Longino 1991, Davidson & Fisher 1991, Berg et al. 2005). As espécies de formigas envolvidas são quase exclusivamente pertencentes ao gênero *Azteca* sendo essa associação estudada há muito tempo XIX (Janzen 1969, Yu & Davidson 1997, Campos 2005). Diferentes espécies de *Azteca* já foram encontradas nidificando em troncos de *Cecropia*, sendo que essas diferentes espécies parecem apresentar comportamento altamente agressivo e proteger efetivamente a planta contra herbivoria (Yu & Davidson 1997).

Embora o sistema *Cecropia-Azteca* seja amplamente conhecido, a maioria dos estudos foi conduzida com espécies da Amazônia e América Central (ver revisão em Davidson 2005) e alguns fatores desse sistema permanecem desconhecidos. Existem poucos estudos em outros biomas, como Mata Atlântica brasileira, que possui menor riqueza de sistemas formigas-mirmecófitas que Amazônia e América Central (Benson 1985). Estudos nesse ambiente podem elucidar a generalização dos padrões observados para interação mutualista *Cecropia-Azteca*. A compreensão destes mecanismos fornecerá uma melhor compreensão da relação ecológica e evolutiva entre esses organismos.

Atualmente, os benefícios recebidos pelas formigas (abrigo e alimento) são mais evidentes do que os recebidos pelas plantas, talvez pela maior facilidade de serem avaliados. Dentre os possíveis benefícios recebidos pelas plantas, a proteção contra herbivoria é o mais facilmente detectado em plantas mirmecófitas. Esta proteção contra herbivoria exercida pelas formigas, além de ser um benefício direto, pode também gerar benefícios indiretos para plantas, como aumento na sua taxa de crescimento. Isso porque vários estudos demonstraram que a herbivoria pode apresentar um efeito negativo sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução em plantas (Marquis 1984, Coley 1983, Crawley 1997, Coley & Barone 1996).

Em sistemas naturais, com alta pressão de herbívoros, os efeitos negativos da herbivoria podem ser dificilmente detectados em plantas bem defendidas, uma vez que o investimento em estratégias de defesa pelas plantas diminui a intensidade do dano causado pelos herbívoros, e consequentemente os efeitos negativos da herbivoria (Coley & Barone 1996). Estudos com os indivíduos jovens de plantas podem ser mais adequados para verificar estes efeitos, uma vez que é esperada uma pequena quantidade de defesas físicas (espinhos, tricomas e esclerofilia), químicas e biológicas nessa fase de desenvolvimento das plantas (Herms & Matson 1992, Boege 2005, Boege & Marquis 2005, Davidson 2005), sendo, portanto mais vulneráveis à herbivoria.

O conhecimento da dinâmica de herbivoria em plantas em seu ambiente natural, e as respostas dessas plantas a essa herbivoria podem contribuir para uma compreensão geral das relações entre herbivoria e o investimento em crescimento e defesa pelas plantas. Além disso, os resultados desses estudos podem contribuir para elucidar os mecanismos de investimento em defesas de plantas durante a sua ontogenia, além de trazer importantes informações acerca dos fatores que afetam o sucesso do estabelecimento de plantas em florestas tropicais.

Nesse sentido, esta tese busca contribuir para o desenvolvimento da teoria de defesa de plantas ao investigar os benefícios oferecidos pela defesa biológica para as plantas, que foi considerada o tipo de defesa mais efetiva contra herbívoro. Além disso, fornecer informações da dinâmica de herbívoros e da relação entre herbivoria e crescimento em plantas jovens e sistemas naturais que podem contribuir para elucidar os mecanismos de investimento em defesas de plantas durante a sua ontogenia. Esses resultados, se extrapolados para o restante da comunidade vegetal, podem trazer importantes informações acerca dos fatores que afetam o sucesso do estabelecimento de plantas em florestas tropicais.

Estrutura da tese

A tese está estruturada em dois capítulos:

Capítulo I: Efeito da colônia de formigas no crescimento da planta: um teste usando o sistema Azteca-Cecropia. (Artigo publicado na revista PLOs ONE).

Objetivo: Verificar se a presença da colônia de formigas aumenta a taxa de crescimento da planta, altera herbivoria, conteúdo de nitrogênio e investimentos em defesa em indivíduos de *Cecropia glaziovii* Snethl. (Cecropiaceae) naturalmente colonizados ou não por *Azteca muelleri*.

Especificamente, foram respondidas as seguintes perguntas:

- (i) Indivíduos que já estão colonizados pela formiga crescem mais rapidamente que indivíduos não colonizados?
- (ii) A diferença de crescimento entre esses grupos de indivíduos depende da estação do ano (chuvosa/seca)?
- (iii) Indivíduos que já estão colonizados pela formiga apresentam menor área foliar removida (herbivoria) que indivíduos não colonizados?
- (iv) Indivíduos colonizados apresentam maior conteúdo de nitrogênio proveniente das formigas?
- (v) Existe menor investimento em defesas químicas e físicas em plantas colonizadas do que plantas não-colonizadas?

Capítulo II: Existe efeito da herbivoria sobre o crescimento de *Cecropia glaziovii* antes de sua colonização por formigas mutualísticas?

Objetivo: Investigar se existe efeito da herbivoria sobre o crescimento de indivíduos juvenis iniciais de *C. glaziovii* Snethl. (Cecropiaceae) antes de sua colonização pelas formigas mutualistas. Além disso, descrever a dinâmica temporal de crescimento da planta, herbivoria e da comunidade de herbívoros nesse sistema.

CAPÍTULO 1: Efeito da colônia de formigas no crescimento da planta: um teste usando o sistema Azteca-Cecropia. (Effect of Symbiotic Ant Colonies on Plant Growth: A Test Using an Azteca-Cecropia System. Artigo publicado em março de 2015 na revista PLOS ONE: 10(3): e0120351. doi:10.1371/journal.pone.0120351)

The Effect of Symbiotic Ant Colonies on Plant Growth: A Test Using an Azteca-Cecropia System

Karla N. Oliveira¹, Phyllis D. Coley^{2,3¶}, Thomas A. Kursar^{2,3¶}, Lucas A. Kaminski^{4&}, Marcelo Z. Moreira^{5&}, Ricardo I. Campos^{1¶*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

² Department of Biology, University of Utah, Salt Lake City, Utah, United States of America.

³ Smithsonian Tropical Research Institute, Panama City, Panama.

⁴ Institut de Biologia Evolutiva (CSIC-UPF), Passeig Marítim de la Barceloneta, Barcelona, Spain.

⁵ Laboratório de Ecologia Isotópica, Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA, Universidade de São Paulo – USP, Piracicaba, São Paulo, Brazil.

* Corresponding author

E-mail: ricardo.campos@ufv.br (RIC)

¶These authors contributed to analysis and writing.

&These authors also contributed to writing and conducted isotope analysis.

Abstract

In studies of ant-plant mutualisms, the role that ants play in increasing the growth rates of their plant partners is potentially a key beneficial service. In the field, we measured the growth of *Cecropia glaziovii* saplings and compared individuals that were naturally colonized by *Azteca muelleri* ants with uncolonized plants in different seasons (wet and dry). We also measured light availability as well as attributes that could be influenced by the presence of *Azteca* colonies, such as herbivory, leaf nutrients (total nitrogen and $\delta^{15}\text{N}$), and investments in defense (total phenolics and leaf mass per area). We found that colonized plants grew faster than uncolonized plants and experienced a lower level of herbivory in both the wet and dry seasons. Colonized plants had higher nitrogen content than uncolonized plants, although the $\delta^{15}\text{N}$, light environment, total phenolics and leaf mass per area, did not differ between colonized and uncolonized plants. Since colonized and uncolonized plants did not differ in the direct defenses that we evaluated, yet herbivory was lower in colonized plants, we conclude that biotic defenses were the most effective protection against herbivores in our system. This result supports the hypothesis that protection provided by ants is an important factor promoting plant growth. Since *C. glaziovii* is widely distributed among a variety of forests and ecotones, and since we demonstrated a strong relationship with their ant partners, this system can be useful for comparative studies of ant-plant interactions in different habitats. Also, since this study was carried out near the transition to the subtropics, these results help generalize the geographic distribution of this mutualism and may shed light on the persistence of the interactions in the face of climate change.

Introduction

Cecropia (Cecropiaceae) is a genus of fast-growing Neotropical tree, and is an iconic example of ant-plant mutualisms. The majority of Cecropia species are myrmecophytes, i.e. possess specialized structures for housing and feeding symbiotic ants [1]. Although most Cecropia plants are inhabited by ants, usually in the genus *Azteca* (Formicidae: Dolichoderinae), seedlings do not begin their lives in association with ants [2]. They first have to develop traits to attract ant partners, such as the hollow stems that provide nesting space and the trichilia, located at the base of each leaf petiole, that produce the glycogen-rich Müllerian bodies that feed ants [2, 3, 4]. In turn, ants defend plants against herbivorous insects [1, 5, 6] and encroaching vines [7], and can also increase nutrient availability for their host plants [8].

Among the benefits provided by symbiotic ants, an increase in plant growth rate might be considered one of the most important [1]. However, the effect of mutualistic ant nests on plant development has received limited study [9], especially for Cecropia [5, 10, 11].

Here, we consider three ways by which the presence of *Azteca* might influence the growth of Cecropia: by protecting them against herbivory and pathogens [1, 4]; by increasing nutrients in the host plant [8, 12]; and by reducing the necessity for host plant investment in chemical and physical defenses thereby saving energy to be used in growth [13]. These mechanisms are not mutually exclusive, but so far, no studies have evaluated the relevance of these factors at the same time.

Several studies have shown that herbivory can reduce plant growth and fitness by increasing the susceptibility of plants to pathogens vectored by herbivores and the costly loss of tissue [14, 15, 16, 17]. Thus, *Azteca* ants, which are aggressive, could contribute to higher growth rates in colonized plants by decreasing herbivory [18]. Ants could also contribute to plant growth by increasing or recycling nutrients in host plants. Some studies found that

nitrogen may flow from ants to *Cecropia* plants since *Azteca* can accumulate organic matter inside the domatia (e.g., debris, storing food), providing external nitrogen sources for the plant [8, 12, 19]. In addition, as an alternative strategy to protection by ants, it has also been suggested that *Cecropia* plants without *Azteca* ants can increase their investment in other defensive strategies, which may also result in slower growth due to greater resource allocation to direct defense [1, 4]. Thus, uncolonized plants not receiving ant protection would not only have to invest in food bodies, but also in direct defenses.

Although the myrmecophytic *Cecropia*-*Azteca* systems are widely known, most studies were conducted with species from Amazonia and Central America (see review [2]). There are few studies in other biomes, such as the Atlantic Forest of Brazil, which has a lower richness of myrmecophytic ant systems than the Amazon Region and Central America [20]. Furthermore, few studies include seasonality, which can affect the outcomes of ant-plant interactions [21]. Such studies can elucidate the generality of the observed patterns for *Cecropia*-*Azteca* interactions.

In order to investigate if the presence of ant colonies increases plant growth rates and alters herbivory, nitrogen content and defense investments, we focused on *Cecropia glaziovii* Snethl. (Cecropiaceae) that is naturally colonized by *Azteca muelleri* (Emery 1893) ants in an Atlantic Forest remnant in southeastern Brazil. We specifically addressed the following questions: (1) Do plants colonized by *Azteca* ants have higher growth rates than uncolonized plants in wet and dry seasons?; (2) Do colonized plants have lower herbivory rates than uncolonized plants in both seasons?; (3) Do colonized ants have higher nitrogen content than uncolonized plants and is this due to fertilization by ants; and (4) Is there less investment in chemical and physical defenses in colonized than in uncolonized plants?

Methods

Study site and system

The study was carried out in the Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (EPTEA-MP), Viçosa (20°48'07" S, 42°51'31" W, 648 m asl), Minas Gerais State, Brazil. This area is a private reserve owned by the Federal University of Viçosa (UFV) and all our field sampling was conducted with the permission of the reserve manager Dr. Gumercindo Souza Lima, (Department of Forestry Engineering, UFV). This reserve is a small fragment (195 ha) of the Atlantic Forest of southeastern Brazil characterized by secondary successional forest without disturbance events since 1963. According to the Köopen classification the climate in this area is Cwb, which means that there is a dry and cool winter and a warm summer [22]. The annual rainfall in this area varies from 1,300 to 1,400 mm, and the average annual temperature is 19°C [23], (Fig. 1).

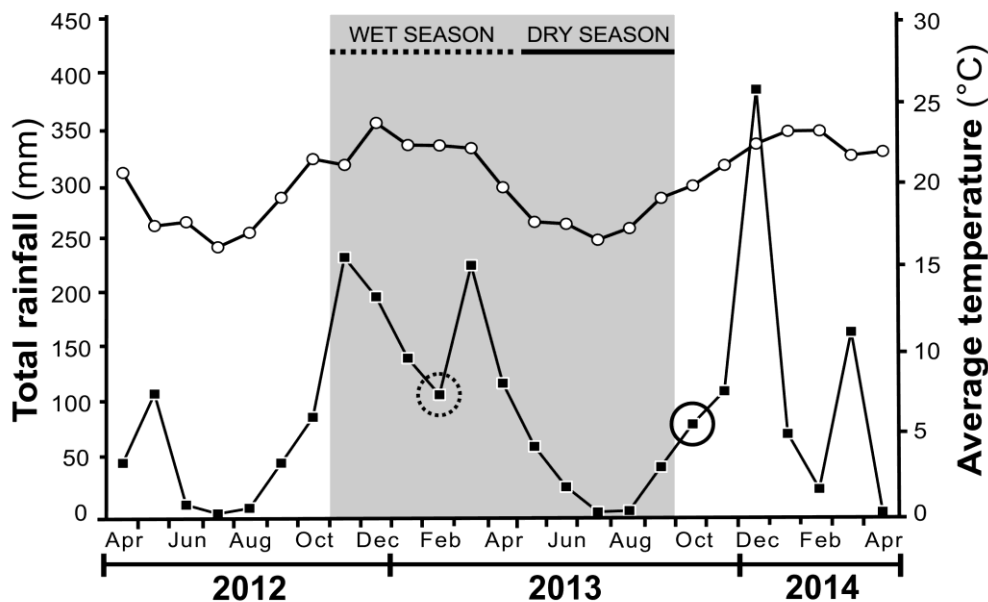


Figure 1. Monthly rainfall and monthly average temperature in the study site. Data obtained from Viçosa Station (INMET) from April 2012 to April 2014. *C. glaziovii* growth

rate was evaluated during the wet season (the dotted black line at the top of the graph) and the dry season (the continuous black line). The dashed black circle indicates the timing of the herbivory measurement in the wet season, the solid black circle indicates herbivory measurement in the dry season, full squares denote rainfall and open circles denote average temperature.

Cecropia glaziovii Snethl. (Cecropiaceae) is a common tree of the Atlantic Forest of Brazil, popularly known as ‘embaúba’ [24]. This species reaches up to 20 m in height; the leaves are often large (to ca. 100 x 100 cm). *C. glaziovii* is associated with ants and usually occurs in areas of secondary growth or forest borders, widely spread from sea level to ~1300 m of altitude [24, 25]. In our study area, *C. glaziovii* is found naturally in high-light treefall gaps. As noted, *C. glaziovii* is colonized by *A. muelleri*, an aggressive ant [26], that also is the most important predator of *Coelomera ianio* (Coleoptera: Chrysomelidae), the major defoliating beetle on *Cecropia* spp. [6, 27].

Plant growth

We selected 48 *C. glaziovii* individuals, 25 of which were naturally colonized by *A. muelleri* and 23 which were not. All plants were less than 3-m tall (0.38-2.99 m; Fig. S1) and distributed in sunny areas with similar light availability or canopy openness (Fig. S2). Plants were carefully inspected for ant presence, which was determined by vigorously shaking the plant stem and subsequently observing the presence/absence of workers in response to the disturbance event. Thus, we considered colonized plants those that had active worker ants. All plants had their height measured during the beginning and end of the rainy season and also in the beginning of the dry season in November 2012, April 2013, and September 2013. In this and other studies, *C. glaziovii* growth has been found to be isometric, which means the diameter is directly proportional to stem height [25, 28] (Fig. S3). For this paper, we

quantified the growth rate of *C. glaziovii* as the increase in height (cm/day). Growth rate was not related to initial size (Fig. S4).

Growth rate (cm/day) was calculated for wet and dry seasons using the increment in stem height: $GR = (H_{\text{final}} - H_{\text{initial}})/t$,

where H is height measured from the ground to the apex of the terminal internode, and t is time in days. We also counted the number of mature trichilia (those that were producing Müllerian bodies) per plant. The trichilia pads at the base of the petiole are large and conspicuous, and on mature trichilia, the Mullerian bodies can be seen on the surface or by pressing the leaf petiole towards the plant's stem.

Herbivory

To determine whether there were differences in herbivory between colonized and uncolonized plants in the wet season (February 2013), we randomly selected 30 individuals of *C. glaziovii* from the same individuals previously evaluated for growth; 15 were naturally colonized by ants and 15 were not. Again, in the end of dry season (October 2013), 39 different individuals were assessed, of which 20 were colonized and 19 uncolonized. For each individual plant, the three most basal leaves were selected and photographed in the field against a white board with 1-cm marks as a reference scale to quantify leaf damage (herbivory). We calculated the total leaf area and the area removed by chewing herbivores using Image J software. The proportion of herbivory was obtained by calculating removed area/total area for each leaf, and then averaged per plant. Since plants were being evaluated for growth rate, removing their leaves to measure herbivory might have influenced their growth. Hence, all the herbivory measurements from February were conducted with the aid of a ladder without removing the leaves. We also noted that some trichilia were infected by a fungus that prevented production of food bodies. We scored the percent of trichilia on all focal plants that were damaged by fungi.

Nitrogen analysis

To evaluate the nitrogen content and the isotope signature in colonized and uncolonized plants, we selected the same 30 individuals of *C. glaziovii* (15 colonized, 15 uncolonized) that we evaluated for herbivory in the dry season. For each individual plant, the three most basal leaves were removed to dry at 40° C for 96 h. Dried plant material was ground to a fine powder, and weighed (2 to 3 mg) in tin capsules for isotope ratio and elemental analyses by Continuous Flow Isotope Ratio Mass Spectrometry, employing a Thermo Scientific Delta Plus mass spectrometer coupled to a Carlo Erba CHN 1110 elemental analyzer (Isotope Ecology Laboratory of the Center for Nuclear Energy in Agriculture, CENA, University of São Paulo). The sample ¹⁵N/¹⁴N isotope ratios were compared to an international standard, atmospheric N₂. Precision, estimated from the reproducibility of the international standards IAEA-N1 and IAEA-N2 [29], was better than ±0.5‰ (2σ). Results are expressed relative to the standards in "delta" notation:

$$\delta^{15}\text{N} = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] * 1000,$$

where R is ¹⁵N/¹⁴N.

Chemical and physical defense

In October 2013, we quantified plant investment in physical and chemical defenses as leaf mass per area (LMA) and total phenolics. We removed three leaves from 48 individual plants, of which half were colonized by ants. While still fresh, leaf area was measured and leaves were dried at 40° C for 96 h and weighed to obtain LMA. For total phenolics, the dried leaves were ground to a powder, weighed, and extracted for 1 h at room temperature with 1ml of aqueous methanol (50:50, v/v of water/methanol) per 50 mg of leaf dry weight. We performed three replicate extractions per sample, and the total phenolic content was determined following the Folin-Denis assay [30], using chlorogenic acid as a standard. The

average total phenolics for each plant was expressed as milligrams of total phenolics per gram of plant dry mass.

Data Analysis

To assess the effect of ant colonization and season on plant growth rate, we used the linear mixed effect model (LMER) function of the lme4 package in software R 3.1.0 [31]. We used this analysis as data were obtained repeatedly on the same plants during subsequent intervals (seasons), and this violates the assumption of sampling independence [32]. We also included initial plant height as a covariate to determine whether it affected plant growth (Fig. S4). We did not include initial stem diameter in this model since *C. glaziovii* growth is isometric, and for this reason plant height and stem diameter are correlated (Fig. S3). The treatment (colonized vs. uncolonized), season, initial height and the interaction between these variables were used as explanatory variables (fixed effects), and as random effects, we assigned the individual plant ID (simulating random blocks) and sampling season (simulating repeated measures in time). We started by fitting a model with all the variables of interest, and in the next model the least significant variable was dropped. When two models were not significantly different, we chose the best-fitting model that had the fewest parameters. Finally, when significant effects of treatment and season were found, we conducted post-hoc tests, using the 'glht' function in the 'multcomp' package [33] for multiple comparisons.

We recorded 5 uncolonized individuals with fungi on the trichilia and none on colonized plants. In order to determine whether fungi in the trichilia influenced plant growth rates, we performed the same growth analysis, using only individuals without fungi. Since the results did not change (Fig. S5), we reported the growth rate results with all of the individuals evaluated. Finally, to minimize ontogenetic effects in the growth analyses, we also compared the growth rates of 12 colonized and 12 uncolonized plants, with very similar diameters, heights and numbers of leaves (Fig. S6).

To test the effect of treatment (colonized vs. uncolonized) and season (wet vs. dry) on herbivory, we used generalized linear models (GLM) in R 3.1.0. We also evaluated the effects of treatment on plant traits ($\delta^{15}\text{N}$ signature, total nitrogen content, total phenolics, LMA) using GLMs. The GLM model was compared with null models and minimal adequate models were adjusted with removal of non-significant terms [32]. After residual analysis, the best herbivory model included Gamma errors, and the best models for all other response variables were those with Gaussian errors. The mean proportion of herbivory was the response variable, and treatment, season and interaction between these variables were the explanatory variables.

Results

We found that colonized plants grew 3.7 times faster than uncolonized plants and had substantially higher growth rates in the wet as compared to the dry season ($\chi^2=15.46$; $P<0.01$; Fig. 2a). In contrast, there was no seasonal difference in growth rates for uncolonized plants ($z = 1.18$; $P=0.24$; Fig. 2a). We found similar results when we performed the statistical analysis with only those individuals of the same size and number of leaves; colonized plants grew faster than uncolonized plants ($\chi^2=4.15$; $P<0.05$; Fig. S6). Although, initially, colonized plants were slightly taller ($F_{(1,46)}= 4.54$; $P<0.05$; Fig. S2), there was no effect of initial height on growth ($\chi^2=0.03$; $P=0.87$; Fig. S5). There was also no difference between colonized and uncolonized plants in the proportion of leaves with mature trichilia (Fig. S1).

As predicted, plants colonized by ants experienced less herbivory than uncolonized plants. Moreover, the same effect of ants was found in both seasons ($F_{(1,67)}=7.8$; $P<0.01$, Fig. 2b) and the herbivory rate was higher in the wet season for both treatments ($F_{(1,66)}=16.39$; $P<0.001$; Fig. 2b).

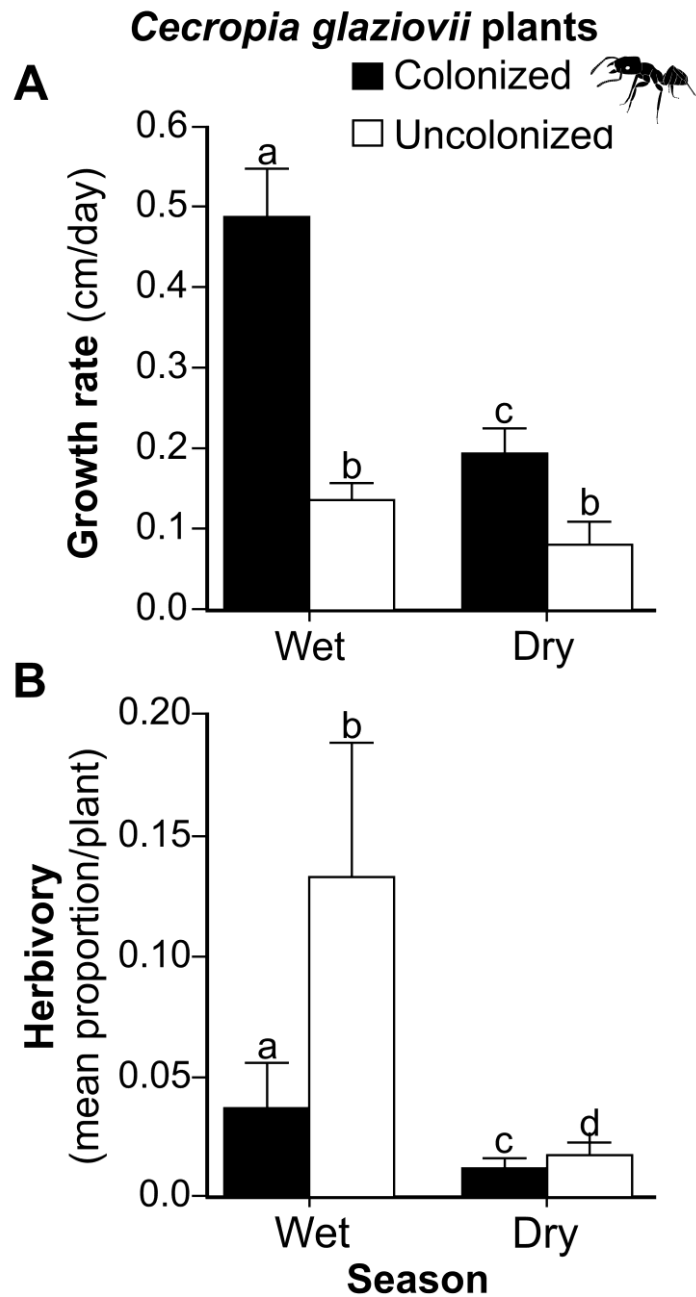


Figure 2. Growth rate (cm/day) (A) and herbivory (B) in wet and dry season. Treatments are *Cecropia glaziovii* plants colonized by *Azteca muelleri* ants (black bars) and uncolonized *C. glaziovii* (white bars). Data were shown as mean \pm SE. Different letters above the bars represent statistically different means ($P < 0.05$).

As we hypothesized, colonized plants had a higher nitrogen content than uncolonized plants ($F_{(1,28)}=8.51$; $P < 0.01$; Fig. 3a), although the isotopic signature, an indicator of the trophic source of nitrogen, did not differ between colonized and uncolonized plants

($F_{(1,28)}=0.96$; $P=0.34$; Fig. 3b). Also, we detected no difference between treatments in total phenolics ($F_{(1,46)}=0.04$; $P=0.85$; Fig. 3c), leaf mass per area (LMA) ($F_{(1,46)}=1.47$; $P=0.23$; Fig. 3d) or light environment ($F_{(1,41)}=2.38$; $P=0.13$; Fig. S2).

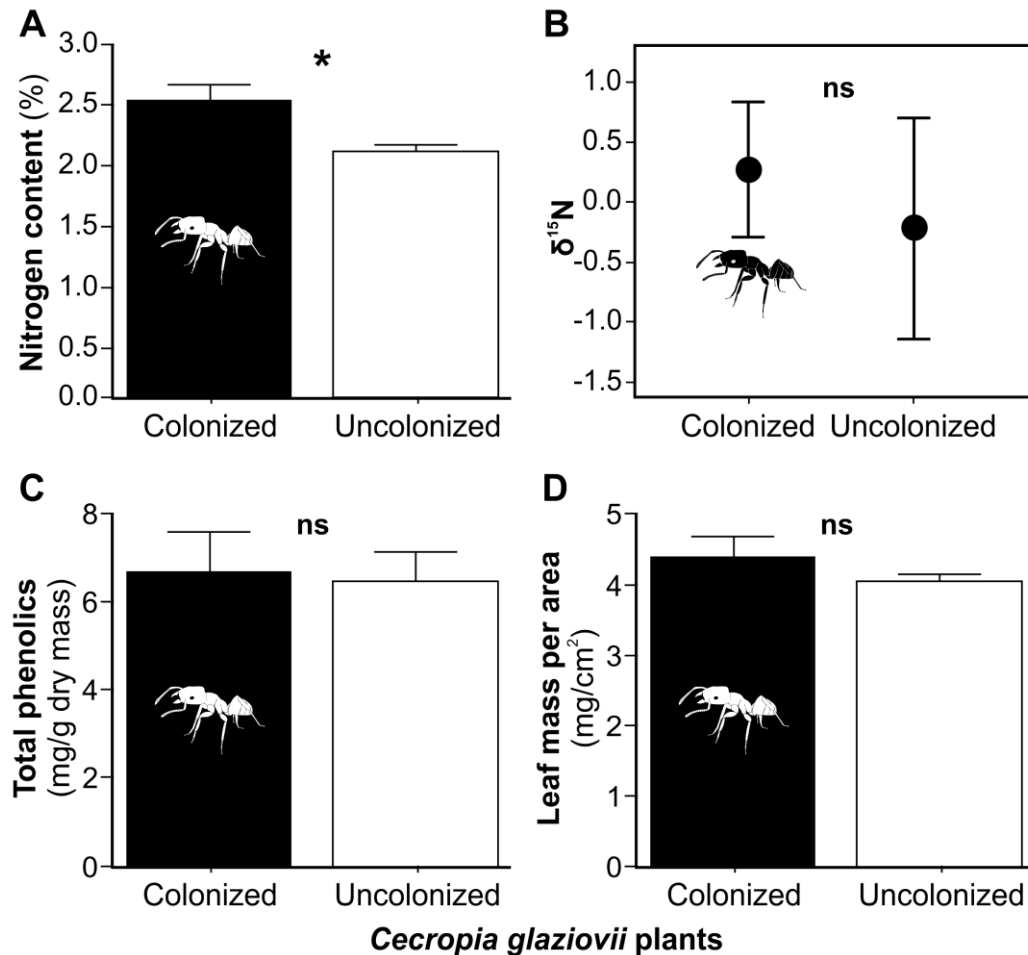


Figure 3. The nitrogen content (A), isotope signature of ^{15}N (B), total phenolics (C) and LMA (D). Treatments are *Cecropia glaziovii* plants colonized by *Azteca muelleri* ants (black bars) and uncolonized *C. glaziovii* (white bars). Data were shown as mean \pm SE. * represents statistically different means ($P < 0.05$).

Discussion

Colonized plants grew faster than uncolonized plants in both seasons, and this result is independent of *C. glaziovii* ontogeny. Considering all results together, we suggest that the most likely explanation for enhanced growth is the presence of ants. However since we did

not experimentally manipulate the presence of ants, we cannot definitively determine whether the differences in plant performance were because the presence of ants caused plants to grow larger or because colonized plants were healthier prior to colonization. Nonetheless, even if ant colonies preferentially establish on healthier plants, colonized *Cecropia* would still receive the protection from herbivores that clearly improves growth. Our results corroborate other studies showing that ants protect myrmecophytic plants against herbivory [4, 5, 9, 34, 35]. Silveira et al. [27] found that *A. muelleri* effectively defended *Cecropia* against a specialist herbivore, *Coelomera ianio* (Coleoptera: Chrysomelidae). In fact, we found this beetle on some uncolonized plants in our study area (K. Oliveira, pers. obs.). It is probable that the lower herbivory found in our study for colonized plants is due to the aggressive behavior of *A. muelleri* [6], and this could contribute to higher plant growth rates. Poorter [36], in a study with six genera of plants, including *Cecropia*, found that a 10 percent reduction in leaf area leads to a 10 percent reduction in height growth for saplings. Similarly, Marquis [37] found, for a tropical shrub, *Piper arieianum*, that removal of 10 percent of leaf area from single reproductive branch produced 80% fewer viable seeds, and those damaged branches grew less, thus affecting plant fitness.

The highest herbivory rate recorded in this study was for uncolonized plants in the wet season ($13.3\% \pm 0.05$), which is similar to other studies from tropical forests [17, 38, 39]. For *Cecropia* spp., Coley [40] found 12-18% of herbivory, while in other myrmecophytes the herbivory rate varied between 4-12% [18]. In our study, the herbivory rate was higher in the wet season, as found for *Cecropia insignis* [40] and *Cecropia peltata* [4]. These results might be due to an increase in the populations of herbivores in this season. Insects change in abundance with seasonality, especially where wet and dry seasons alternate [41, 42]. In the wet season, new leaves are produced and herbivorous insect populations synchronize their cycles with food availability, leading to greater rates of herbivory [17, 41]. The fact that the

differences between colonized vs. uncolonized plants in growth rate and herbivory were much greater in the wet season has implications for the strength of the mutualism in the face of climate change. Since this region is likely to experience more extreme or longer dry seasons under climate change [43], and consequently lower herbivore pressure, the strength of the mutualism may weaken in the future [44].

It is well known that the production of different defensive strategies has high energetic costs for plants, especially in limited resource environments [13, 45, 46]. Moreover, once a resource is used in chemical defense production, it cannot be used in other processes such as plant growth or reproduction [45, 47]. Thus, based on the fact that colonized plants already invest in food body production for ant protection [48, 49, 50], we can suppose that it will be unnecessary for them to invest in other defensive strategies, and thus plants could grow faster. Here, we found that colonized and uncolonized plants had the same proportion of functional trichilia, showing that both groups produced Müllerian bodies. Even if uncolonized plants produce fewer food bodies than colonized plants [11, 50], uncolonized plants still pay a cost but receive no benefit from ants. This cost without a benefit could negatively impact the growth of uncolonized plants. Our results do not support the hypothesis that the investment in chemical and physical defenses is higher in uncolonized individuals, or that colonized plants reduce their chemical defense in order to avoid 'superfluous' costs resulting from redundant defenses. We conclude that ants, rather than chemical or mechanical defense, are responsible for the lower herbivory in colonized plants. Phenolics, the most widespread and abundant class of secondary metabolites, and LMA, also considered to be effective against herbivores [17, 40, 51], did not differ between treatments. Although we did not quantify all classes of secondary metabolites, our results suggest that uncolonized plants make similar investments in direct defense as colonized plants. The maintenance of direct defenses in colonized plants

may be because not all herbivores are deterred by ants [52, 53]. Moreover, phenolic compounds, particularly flavonoids and anthocyanins, can protect against photodamage [54].

Another mechanism by which ants can increase plant growth is through nitrogen supplementation. Although we found a difference in nitrogen content between colonized and uncolonized, this result cannot be attributed to the trophic upgrading that would be expected from ant-derived nutrients since we did not find a difference in isotope signature. If ants supply their host with added nutrients, then such plants should be richer in ^{15}N than those without ants [8]. We found a non-significant trend for higher $\delta^{15}\text{N}$ in colonized versus uncolonized plants in our study. Defosse et al. [55] suggested that for tropical trees, nitrogen is not the best nutrient on which to focus because it is not as limiting as it is for ant–epiphyte symbioses described in the first studies of nutrient flux from ants to plants. Fisher et al. [56] also found that ant-derived nitrogen has minor importance for the ground-rooted understory myrmecophytes. In our study we worked with relatively young plants (ranging from 0.38 to 2.99 m height), and it may be that the soil is a sufficient source of N. Recently it has been suggested that fungal partners could improve nitrogen transfer from ants to plants, since complex molecules, such as ant debris, may not be absorbed by the surface of domatia [57, 58]. However, this remains unevaluated for *Cecropia*. We also found that colonized plants had higher total nitrogen content than uncolonized, but we cannot relate it directly to ant fertilization since, as noted, we did not find a significant difference in isotope signatures.

In addition to the effect of herbivory, defensive trade-offs, and nitrogen on *Cecropia* growth rates, it has been hypothesized that Azteca ants could benefit the plants by providing parasite control. In a *Cecropia*-Azteca system in French Guiana, plants with Azteca ants had a lower percentage of trichilia infected by the fungus *Fusarium moniliforme* and higher height than uncolonized plants [11]. This fungus produces growth-inhibiting mycotoxins that cause necrosis in plants [59]. Roux et al. [11] suggested that ants protected plants against the fungus

attacking trichilia, which, in turn, might improve plant growth. In our study we found only five individuals with visible fungus on trichilia, and the growth analysis excluding them did not change our results. Thus, although we cannot totally discard the role of pathogens in plant growth, they did not influence our results.

Although we think it likely that ants are the main reason for enhanced growth, another possibility is that colonized plants were healthier prior to colonization and queens preferentially chose or survived better in healthier plants. Higher light conditions would be an obvious cue for queens, but light regimes were the same for colonized and uncolonized plants (Fig. S2). Of all the leaf traits we measured, only foliar nitrogen content differed between colonized and uncolonized plants. Higher nitrogen could lead to greater photosynthesis and growth but is unknown whether Azteca queens in flight can use leaf N as an indication of a healthy host. Additionally, healthier plants may favor later stages of establishment. After landing on the chosen host, the founding queen recognizes the prostomata area, gnaws an entrance hole, enters the stem, and establishes colonies in the domatia [49, 60]. The interactions occurring inside the domatia that affect establishment are also unknown, but it is common in *Cecropia* to find several dead and moribund Azteca queens inside the basal internodes [61]. Perhaps, after colonization, ant queens may be more successful in colony establishment in healthier host plants. Thus, we cannot rule out the possibility that healthier plants grow faster and also promote the establishment of ant colonies.

Ecological and evolutionary benefits and costs of ant-plant mutualism may vary among species pairs, plant age, local environmental conditions and identity and the abundance of ant partners [19, 21, 62]. We show here that *Cecropia* plants colonized by Azteca colonies have higher growth rates than plants without ants, and that this is most likely related to protection against herbivory and perhaps higher nitrogen content. Our results show similar patterns in both seasons which suggest a strong mutualistic relationship between *C. glaziovii*

and *A. muelleri* even in the face of environmental fluctuations [21]. Moreover, our patterns are similar to studies of *Cecropia* in other environments, such as the Amazon and Central America. Since *C. glaziovii* is widely distributed among a variety of forests as well as at different elevations in southern Brazil, and since we demonstrated a strong relationship with their ant partners, this system can be useful for comparative studies of ant-plant interactions in different habitats, and may help predict the persistence of the interaction in the face of climate change [46]. Finally, studies that focus on ant colony establishment and the frequency of plant occupancy in different altitudinal and spatial scales along the geographic distribution of *C. glaziovii* seem a promising topic for future research.

Acknowledgments

We thank J. Longino for ant identification and suggestions, members of the Coley/Kursar laboratory and the Writing Center at The University of Utah for useful comments on earlier versions of this manuscript. We also thank R. R. Solar and J. O. Silva for help with statistical analysis; J. A. A. Meira-Neto for help with hemispherical photos, and all field assistants. This article is a portion of the PhD dissertation of the first author under the supervision of Ricardo I. Campos at Ecology graduate program at Universidade Federal de Viçosa-MG/Brazil

References

1. Heil M, McKey D (2003) Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34: 425-453.
2. Davidson DW (2005) *Cecropia* and its biotic defenses. In: Berg CC, Rosselli PF, editors. *Cecropia*. *Flora Neotropica Monograph*. Bronx New York: The New York Botanical Garden. pp. 214-226.

3. Rickson FR (1976) Anatomical development of the leaf trichilium and Müllerian bodies of *Cecropia peltata* L. *Am J Bot* 63: 1266-1271.
4. Del-Val E, Dirzo R (2003) Does ontogeny cause changes in the defensive strategies of the myrmecophyte *Cecropia peltata*? *Plant Ecol* 169: 35-41.
5. Schupp EW (1986) Azteca protection of *Cecropia*: Ant occupation benefits juvenile trees. *Oecologia* 70: 379-385.
6. Rocha CFD, Bergallo HG (1992) Bigger ant colonies reduce herbivory and herbivore residence time on leaves of an ant-plant: *Azteca muelleri* vs. *Coelomera ruficornis* on *Cecropia pachystachya*. *Oecologia* 91: 249-252.
7. Janzen DH (1969) Allelopathy by myrmecophytes: The ant *Azteca* as an allelopathic agent of *Cecropia*. *Ecology* 50: 147-153.
8. Dejean A, Petitclerk F, Roux O, Orivel J, Leroy C (2012) Does exogenic food benefit both partners in an ant-plant mutualism? The case of *Cecropia obtusa* and its guest *Azteca* plant-ants. *C R Biol* 335: 214-219.
9. Chamberlain SA, Holland JN (2009) Quantitative synthesis of context dependency in ant-plant protection mutualism. *Ecology* 90: 2384-2392.
10. Faveri SB, Vasconcelos HL (2004) The *Azteca-Cecropia* association: Are ants always necessary for their host plants? *Biotropica* 36: 641-646.
11. Roux O, Céréghino R, Solano PJ, Dejean A (2011) Caterpillars and fungal pathogens: two co-occurring parasites of an ant-plant mutualism. *PLoS ONE* 6: e20538.
12. Sagers C L, Ginger SM, Evans RD (2000) Carbon and nitrogen isotopes trace nutrient exchange in an ant-plant mutualism. *Oecologia* 123: 582-586.
13. Coley PD (1986) Costs and benefits of defense by tannins in a neotropical tree. *Oecologia* 70: 238-241.

14. Janzen DH (1979) New horizons in the biology of plant defense. In: Rosenthal GA, Janzen DH, editors. *Herbivores: Their interactions with plant secondary metabolites*. New York: Academic Press. pp. 331-350.
15. Marquis RJ (1984) Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science*. 226: 537-539.
16. Huntly N (1991) Herbivores and the dynamics of communities and ecosystems. *Annu Rev Ecol Syst* 22: 477-503.
17. Coley PD, Barone JA (1996) Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annu Rev Ecol Syst* 27: 305-35.
18. Frederickson ME (2005) Ant species confer different partner benefits on two Neotropical myrmecophytes. *Oecologia* 143: 387-395.
19. Trimble ST, Sagers CL (2004) Differential host use in two highly specialized ant-plant associations: Evidence from stable isotopes. *Oecologia* 138: 74-82.
20. Benson WW (1985) Amazon ant-plant. In: Prance GT, Lovejoy T, editors. *Amazonia*. Oxford: Pergamon Press. pp. 239-266.
21. Pringle EG, Akçay E, Raab TK, Dirzo R, Gordon DM (2013) Water stress strengthens mutualism among ants, trees, and scale insects. *PLoS Biol* 11: e1001705.
22. Peel MC, Finlayson BL, McMahon TA (2007) Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrol Earth Syst Sci Discuss* 4: 439–473.
23. Silva CA, Vieira MF, Amaral CH (2010) Floral attributes, ornithophily and reproductive success of *Palicourea longepedunculata* (Rubiaceae), a distylous shrub in southeastern Brazil. *Rev Bras Bot* 33: 207-213.
24. Berg CC, Rosselli PF (2005) *Cecropia*. *Flora Neotropica Monograph* 94. The New York Botanical Garden, Bronx, New York. 230 p.

25. Sposito TC, Santos FAM (2001) Scaling of stem and crown in eight *Cecropia* (*Cecropiaceae*) species of Brazil. *Am J Bot* 88: 939-949.
26. Longino JT (1991) Azteca ants in *Cecropia* trees: taxonomy, colony structure, and behavior. In: Huxley CR, Cutler DF, editors. *Ant-plant interactions*. Oxford: Oxford University Press. pp. 271-288.
27. Silveira RD, Anjos N, Zanuncio JC (2002) Natural enemies of *Coelomera ianio* (*Coleoptera: Chrysomelidae*) in the region of Viçosa, Minas Gerais, Brazil. *Rev Biol Trop* 50: 117-120.
28. Santos FAM (2000) Growth and leaf demography of two *Cecropia* species. *Rev Bras Bot* 23: 133-141.
29. Barrie A, Prosser SJ (1996) Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: Boutton TW, Yamasaki S-I, eds. *Mass spectrometry of soils*. New York: Marcel Dekker. pp. 1-46.
30. Swain T, Hillis WE (1959) The phenolics constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric* 10: 63:68.
31. R Core Team (2014) *R: A language and environment for statistical computing*. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>.
32. Crawley M (2002). *Statistical computing: An introduction to data analysis using S-Plus*. John Wiley & Sons Inc., Baffins Lane. 761 p.
33. Hothorn T, Bretz F, Westfall P, Heiberger RM (2008) *Multcomp: simultaneous inference in general parametric models*. URL: <http://CRAN.R-project.org>. R package version 1.0-0.
34. Heil M, Hilpert A, Fiala B, Linsenmair KE (2001) Nutrient availability and indirect (biotic) defence in a Malaysian ant-plant. *Oecologia* 126: 404-408.

35. Trager MD, Bhotika S, Hostetler JA, Andrade GV, Rodriguez-Cabal MA, et al. (2010) Benefits for plants in ant-plant protective mutualisms: A meta-analysis. *PLoS ONE* 5: e14308.
36. Poorter L (2001) Light-dependent changes in biomass allocation and their importance for growth of rain forest tree species. *Funct Ecol* 15: 113-123.
37. Marquis RJ (1992) A bite is a bite is a bite? Constraints on response to folivory in *Piper arieianum* (Piperaceae). *Ecology* 73: 143-152.
38. Kalka MB, Smith AR, Kalko, EKV (2008) Bats limit arthropods and herbivory in a tropical forest. *Science* 320: 71.
39. Lamarre GPA, Baraloto C, Fortunel C, Dávila N, Mesones I, et al. (2012) Herbivory, growth rates, and habitat specialization in tropical tree lineages: implications for Amazonian beta-diversity. *Ecology* 93: S195-S210.
40. Coley PD (1983) Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecol Monogr* 53: 209-234.
41. Wolda H (1978) Seasonal fluctuations in rainfall, food and abundance of tropical insects. *J Anim Ecol* 47: 369-381.
42. Novotny V, Basset I (1998) Seasonality of sap-sucking insects (Auchenorrhyncha, Hemiptera) feeding on *Ficus* (Moraceae) in a lowland rain forest in New Guinea. *Oecologia* 115: 514-522.
43. IPCC – International Panel on Climate Change (2007). *Climate change 2007: Mitigation. Contribution of Working group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge: Cambridge University Press.
44. Moraes SC, Vasconcelos HL (2009) Long-term persistence of a Neotropical ant-plant population in the absence of obligate plant-ants. *Ecology* 90: 2375-2383.

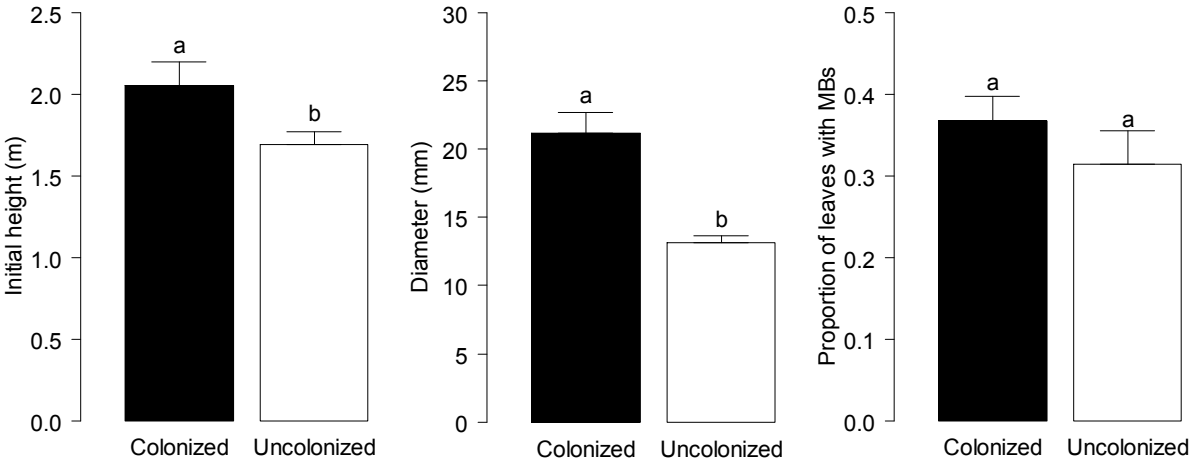
45. Coley PD, Bryant JP, Chapin FS (1985) Resource availability and plant anti-herbivore defense. *Science* 230:895-899.
46. Massad TJ, Fincher RM, Smilanich AM, Dyer L (2011) A quantitative evaluation of major plant defense hypotheses, nature versus nurture, and chemistry versus ants. *Arthropod Plant Interact* 5:125-139.
47. Herms DA, Mattson WJ (1992) The dilemma of plants: to grow or defend. *Q Rev Biol* 67: 283-335.
48. Letourneau DK (1990) Code of ant-plant mutualism broken by parasite. *Science* 248: 215-217.
49. Yu DW, Davidson DW (1997) Experimental studies of species-specificity in Cecropia-ant relationships. *Ecol Monogr* 67: 273-294.
50. Folgarait PJ, Johnson HL, Davidson DW (1994) Responses of Cecropia to experimental removal of Müllerian bodies. *Funct Ecol* 8: 22-28.
51. Hanley ME, Lamont BL, Fairbanks MM, Rafferty CM (2007) Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst* 8: 157-178.
52. Freitas AVL, Oliveira PS (1996) Ants as selective agents on herbivore biology: Effects on the behaviour of a non-myrmecophilous butterfly. *J Anim Ecol* 65: 205-210.
53. Machado G, Freitas AVL (2001) Larval defence against ant predation in the butterfly *Smyrna blomfieldia*. *Ecol Entomol* 26: 436-439.
54. Close DC, McArthur C (2002) Rethinking the role of many plant phenolics—protection from photodamage not herbivores? *Oikos* 199:166–172.
55. Defosse E, Djieto-Lordon C, McKey D, Selosse MA, Blatrix R (2010) Plant-ants feed their host plant, but above all a fungal symbiont to recycle nitrogen. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* doi:10.1098/rspb.2010.1884.

56. Fisher RC, Wanek W, Richter A, Mayer V (2003) Do ants feed plants? A ^{15}N labelling study of nitrogen fluxes from ants to plants in the mutualism of *Pheidole* and *Piper*. *J Ecol* 91: 126-134.
57. Dejean A, Solano PJ, Ayroles J, Corbara B, Orivel J (2005) Arboreal ants build traps to capture prey. *Nature* 434: 973.
58. Defosse E, Selosse MA, Dubois MP, Mondolot L, Faccio A, et al. (2009) Ant-plants and fungi: a new threeway symbiosis. *New Phytol* 182: 942–949.
59. Cole RJ, Kirksey JW, Cluter HG, Doupnik BL, Peckham JC (1973) Toxin from *Fusarium moniliforme*: effects on plants and animals. *Science* 179: 1324-1326.
60. Longino JT (1989) Geographic variation and community structure in an ant-plant mutualism: *Azteca* and *Cecropia* in Costa Rica. *Biotropica* 21: 126-132.
61. Nishi AH, Romero GQ (2008) Colonization pattern of *Cecropia* by *Azteca* ants: influence of plant ontogeny, environment and host plant choice by queens. *Sociobiology* 52: 367-376.
62. Trager MD, Bruna EM (2006) Effects of plant age, experimental nutrient addition and ant occupancy on herbivory in a neotropical myrmecophyte. *J Ecol* 94: 1156-1163.

Supporting Information

S1 Fig. Initial traits of individuals of colonized by ants vs. those that were not colonized.

At the beginning of this study, colonized individuals had heights between 0.38 to 2.99 m and 3 to 12 leaves (8.33 ± 0.69 ; mean \pm SE), while uncolonized individuals varied between 1.10 to 2.08 m with 3 to 8 leaves (4.84 ± 0.30). There was a significant difference in initial height between colonized plants (black bars) and uncolonized plants (white bars) ($F_{(1,46)} = 4.54$; $P < 0.05$) and in diameter stem ($F_{(1,38)} = 22.30$; $P < 0.001$). There was no difference in the proportion of leaves with Müllerian bodies (MBs) between colonized and uncolonized plants ($F_{(1,38)} = 1.50$; $P = 0.23$). Different letters above the bars represent statistically different means ($P < 0.05$).



S1 Table. Linear mixed effects models for *C. glaziovii* growth.

Models	AIC	Deviance	χ^2	P
m1=Ant+Season+InitialHeight+ Ant:Season	-36.355	-54.355	8.0307	0.0046*
m2=Ant+Season+InitialHeight	-30.324	-46.324	-	-
In this step, we choose the model m1 as the best model.				
m1=Ant+Season+ InitialHeight +Ant:Season	-36.355	-54.355	0.0279	0.8674
m3=Ant+Season+Ant:Season	-38.327	-54.327	-	-
Finally, we choose the model m3 as the best model.				

Bold types were those variables that we tried to remove in the subsequent model. If they were significant different ($P < 0.05^*$), they were maintained in the model. Akaike information criterion (AIC) values, Deviance, χ^2 and P-values are presented for each model. Ant refers to colonized and uncolonized plants, while Season refers to wet and dry season.

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses -Multiple Comparisons of Means: User-defined Contrasts

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Col.Wet - Col.Dry	0.29606	0.04609	6.424	1.33e-10 *
Uncol. Wet - Uncol.Dry	0.05656	0.04805	1.177	0.239
Uncol. Wet - Col. Wet	-0.35259	0.05335	-6.609	3.86e-11 *
Uncol. Dry - Col. Dry	-0.11309	0.05335	-2.120	0.034 *

Col means colonized plants, while Uncol means uncolonized plants.

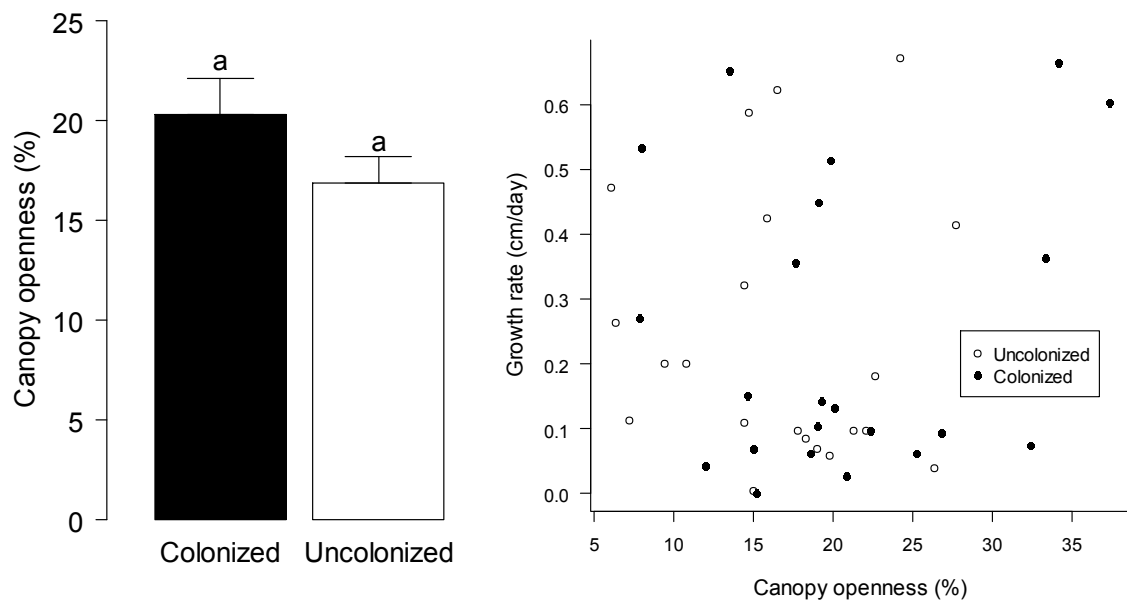
S2 Fig. Canopy openness for plants colonized by ants vs. plants that were uncolonized.

In July 2014, in order to confirm that colonized and uncolonized plants had the same light availability, we selected 22 colonized and 21 uncolonized individuals that were also evaluated for growth. The other five plants from our growth evaluation were dead. Hemispherical photographs were taken under each plant, at a standardized height of 1m from soil. These photos were taken around sunrise when the sky was overcast. Photos were taken with an Fc-E9 fisheye adapter lens mounted on a Nikon Coolpix 5700 camera. The images were analyzed in Gap Light Analyzer software [1], and we used the percentage canopy openness to estimate light-availability. There was no difference between the canopy openness for colonized or

uncolonized plants ($F_{(1,41)}=2.38$; $P=0.13$). There was also no effect of light availability on plant growth ($F_{(1,41)}=0.43$; $P=0.51$). **Growth rate was calculated for the entire period of study (Height (September 2013) – Height (November 2012) / 249 days) in order to verify the effect of light on plant growth.

Reference

1. Frazer GW, Canham CD, Lertzman KP (1999) Gap Light Analyzer (GLA), Version 2.0: Imaging software to extract canopy structure and gap light transmission indices from true-colour fisheye photographs, users manual and program documentation. New York: Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia, and the Institute of Ecosystem Studies, Millbrook.



S2 Table. Analyses of deviance of the models showing the effects of traits in *C. glaziovii*.

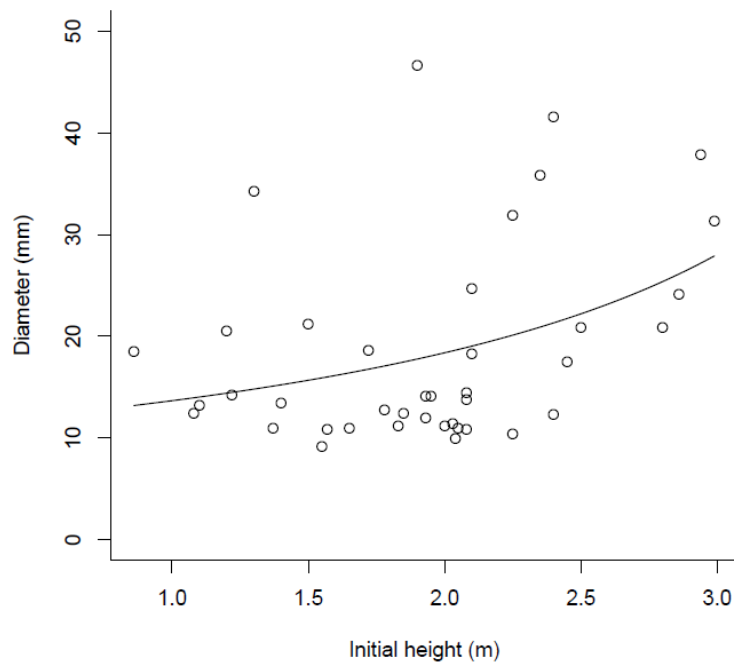
The explanatory variable named Ant represents uncolonized and colonized individuals.

Different samples sizes were used for each analysis (See the methodology section for details).

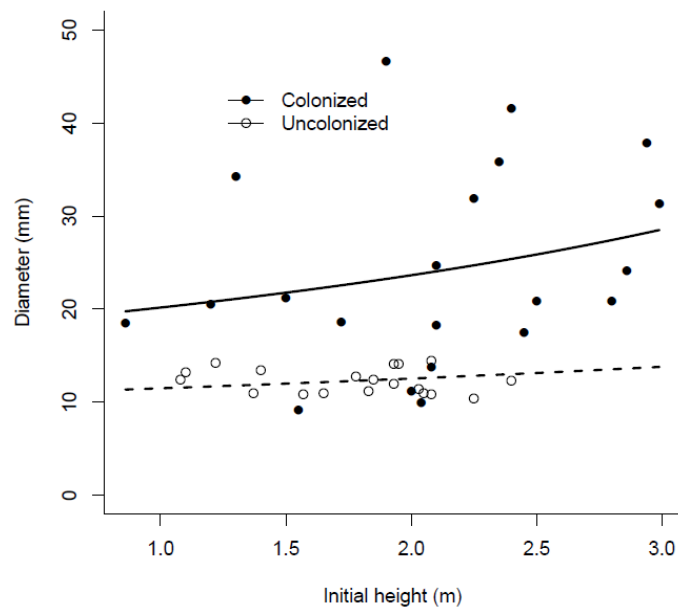
Response variable	Explanatory Variable	Error distribution	GL	Deviance	Residual GL	Residual Deviance	F	P
Initial height	Null	Gaussian	-	-	47	17.423	-	-
	Ant	Gaussian	1	1.5651	46	15.858	4.54	0.03849*
Diameter of stem	Null	Gaussian	-	-	39	3691.1	-	-
	Ant	Gaussian	1	1427.6	38	2263.5	23.967	0.00002*
Herbivory	Null	Gamma	1	-	68	213.72	-	-
	Ant	Gamma	1	20.08	67	193.64	7.7958	0.0068*
	Season	Gamma	1	42.22	66	151.42	16.392	0.0001*
Nitrogen content	Null	Gaussian	-	-	29	6.0374	-	-
	Ant	Gaussian	1	1.407	28	4.6302	8.5085	0.00689*
$\delta^{15}\text{N}$	Null	Gaussian	-	-	29	54.91	-	-
	Ant	Gaussian	1	1.8167	28	53.093	0.9581	0.3361
Total phenolics	Null	Gaussian	-	-	47	661.24	-	-
	Ant	Gaussian	1	0.6219	46	660.62	0.0433	0.8361
Leaf mass per area	Null	Gaussian	-	-	47	0.0001	-	-
	Ant	Gaussian	1	0.000003	46	0.0001	1.4679	0.2319

S3 Fig. The relationship between initial height and stem diameter in *C. glaziovii*. a) all plants ($F_{(1,38)}=5.44$, $P<0.05$), and b) the same relationship for colonized (solid line) and uncolonized plants (dashed line) separately ($F_{(1,38)}=12.66$, $P<0.01$). We used generalized linear models (GLMs) with a Gamma error structure.

a)

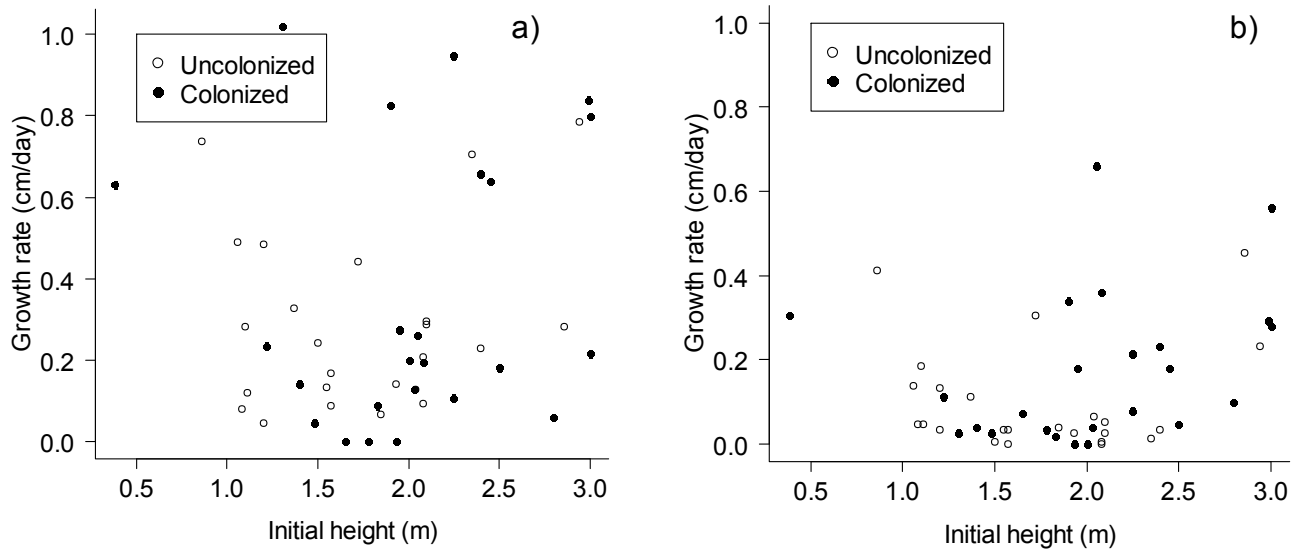


b)

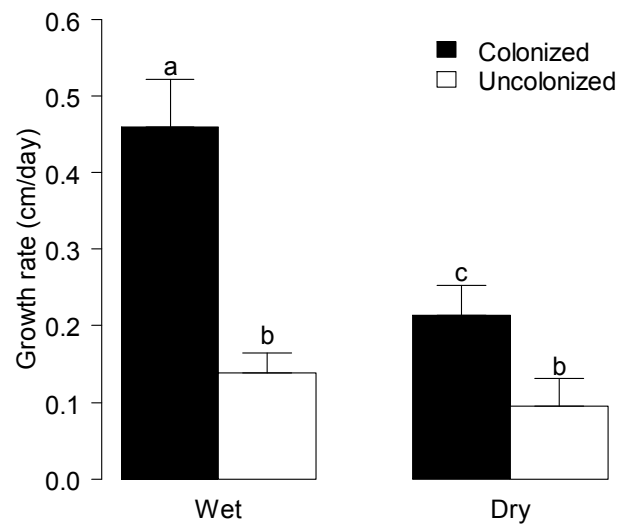


S4 Fig. The relationship between growth rate and initial height for both treatments.

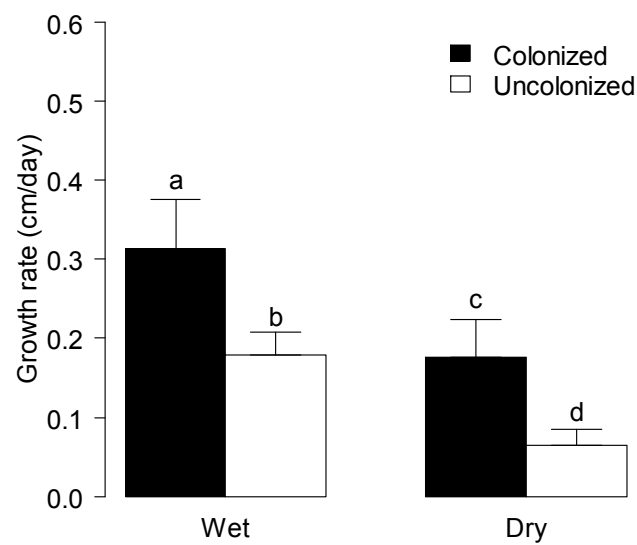
Open circles represent uncolonized individuals and solid circles represent colonized individuals in (a) wet season and in (b) dry season. There was no effect of initial height on growth rate ($\chi^2=0.027$; $P=0.867$).



S5 Fig. Growth rate (cm/day) for plants without fungus attack to trichilia. Treatments are plants colonized by ants (black bars) and uncolonized (white bars). Different letters above the bars represent statistically different means ($P < 0.05$). Colonized plants grew faster than uncolonized plants and had higher growth rates in the wet as compared to the dry season ($\chi^2 = 13.86$; $P < 0.01$). In contrast, there was no seasonal difference in growth rates for uncolonized plants ($z = 0.97$; $P = 0.33$).



S6 Fig. Growth rate (cm/day) for plants with the same height and diameter. The treatments are plants colonized by ants (black bars) and uncolonized (white bars). The 12 plants in each treatment had the same height ($F_{(1,22)}=2.77$; $P=0.11$), diameter ($F_{(1,22)}= 3.58$; $P=0.07$) and number of leaves (Deviance $_{(1,22)}= 1.1834$; $P=0.28$). Different letters above the bars represent statistically different means for within-season comparisons. Colonized plants grew faster than uncolonized plants ($\chi^2=4.15$; $P<0.05$); and had higher growth rates in the wet as compared to the dry season ($\chi^2=48.43$; $P<0.001$).



CAPÍTULO 2: Existe efeito da herbivoria sobre o crescimento de *Cecropia glaziovii* antes de sua colonização por formigas mutualísticas? (Artigo no formato da Revista Biotropica)

Existe efeito da herbivoria sobre o crescimento de *Cecropia glaziovii* antes de sua colonização por formigas mutualísticas?

Karla N. Oliveira¹ & Ricardo I. Campos¹

1. Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Universidade Federal de Viçosa, Campus Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

Resumo

A herbivoria pode apresentar impactos negativos na sobrevivência, crescimento e reprodução das plantas. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi verificar se existe um efeito da herbivoria no crescimento de indivíduos jovens de *Cecropia glaziovii*, ainda não colonizadas por formigas. Foram avaliadas durante 24 meses a dinâmica do crescimento, a herbivoria e a fauna de herbívoros associados às plantas. Foi encontrado um efeito negativo da herbivoria no crescimento de plantas jovens, podendo possivelmente atrasar o processo de colonização das plantas por formigas. Além disso, os resultados da dinâmica de herbivoria revelaram que altos níveis de herbivoria são encontrados em baixa frequência em plantas jovens no seu ambiente natural. Assim, é provável que essas plantas invistam em outros tipos de defesas, como defesas químicas, evitando que as mesmas alcancem altos níveis de herbivoria ao longo do tempo. Esses resultados podem contribuir para elucidar os mecanismos de investimento em defesas de plantas durante a sua ontogenia. Além disso, se extrapolados para o restante da comunidade vegetal, podem ainda trazer importantes informações acerca dos fatores que afetam o sucesso do estabelecimento de plantas em florestas tropicais.

Palavras-chave: insetos, herbívoros, crescimento, dinâmica.

Introdução

A HERBIVORIA É UMA DAS INTERAÇÕES MAIS BEM ESTUDADAS EM ECOLOGIA (REVISÃO em Coley & Barone 1996, Schmitz 2008) sendo que vários estudos demonstraram que ela pode apresentar um efeito negativo sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução em plantas (Marquis 1984, Coley 1983a, Crawley 1997, Coley & Barone 1996). À medida que a planta cresce, o impacto da herbivoria pode mudar, deixando de causar morte instantânea para provocar uma diminuição no crescimento e na fecundidade dos indivíduos (Crawley 1989, Howe 1990, Warner & Cushman 2002). Plantas mais jovens podem ser consideradas mais sensíveis à herbivoria, uma vez que elas apresentam menor quantidade absoluta de tecido foliar e biomassa de raiz e caule (Marquis 1984). Assim, a reposição de partes perdidas pela herbivoria, como tecido fotossintético, pode ser letal para a planta nas fases jovens de seu desenvolvimento (Herms & Matson 1992, Boege & Marquis 2005). Por outro lado, a herbivoria pode comprometer indiretamente o desenvolvimento da planta através do aumento da susceptibilidade a doenças, uma vez que determinados herbívoros podem atuar como vetores de patógenos de plantas (Janzen 1979, Crawley 1986, Power 1987, Gilbert 2002).

As plantas apresentam diferentes estratégias de defesa que evitam os efeitos negativos causados pela herbivoria (Coley 1983b, 1986, Coley & Barone 1996, Turley et al. 2013). Essas defesas são relacionadas principalmente à estrutura física da planta, tais como a presença de espinhos e tricomas (Levin 1973, Agrawal & Fishbein 2006, Hanley et al. 2007); à produção de compostos químicos tóxicos aos herbívoros (Feeny 1976, Coley 1986, Mithöfer & Boland 2012), e às interações mutualísticas com outros organismos que protegem contra a herbivoria (Heil & McKey 2003, Rosumek et al. 2009). Entretanto, plantas jovens podem apresentar menor quantidade de defesas físicas (Hanley et al. 2007, Barton & Koricheva 2010, Ochoa-Lopez et al. 2015) e químicas do que plantas mais velhas (Del-Val & Dirzo 2003, Boege & Marquis 2005). Além disso, indivíduos juvenis por serem pequenos não

apresentam a capacidade de abrigar e/ou alimentar organismos mutualistas (Davidson 2005, Del-Val & Dirzo 2003), diminuindo assim sua capacidade total de se defender. Isso se deve provavelmente ao alto custo de produção de defesas nos estágios iniciais de desenvolvimento onde o crescimento seria prioridade fisiológica (Herms & Matson 1992). De maneira geral, devido ao baixo investimento em defesa dos indivíduos juvenis, associado à sua baixa capacidade de recuperação aos eventos de herbivoria, é esperado que esses indivíduos sejam mais vulneráveis a herbivoria.

Por outro lado, embora os efeitos negativos da herbivoria no crescimento de plantas sejam bem conhecidos, efeitos neutros ou positivos podem ser também encontrados (McNaughton 1983, Belsky 1986, Hawkes & Sullivan 2001). Isso porque as respostas das plantas à herbivoria dependem de vários fatores, tais como intensidade e frequência da herbivoria, bem como do tecido afetado, estágio de desenvolvimento da planta, presença de estratégias de defesa, disponibilidade de recursos do ambiente, incluindo sazonalidade ambiental (Maschinski & Whitham 1989, Crawley 1997, Hawkes & Sullivan 2001). Plantas que sofrem herbivoria durante sua estação de crescimento (geralmente associada a uma maior pluviosidade) se recuperam mais facilmente após eventos de herbivoria do que quando o dano ocorre fora dessa estação (Coley 1983a, Maschinski & Whitham 1989). Por outro lado, a sazonalidade ambiental pode interferir na pressão de herbivoria, que por sua vez, influenciaria as respostas das plantas ao dano sofrido (Crawley 1997). Os insetos são considerados o principal grupo de herbívoros (Lewinsohn et al. 2005), e sua abundância está fortemente correlacionada com a sazonalidade (Wolda 1978, Novotny & Basset 1998). De modo geral, em ambientes sazonais há um aumento na oferta de recursos na estação chuvosa, como a produção de folhas novas, e a população de insetos herbívoros pode então sincronizar seus ciclos com a disponibilidade de alimentos, levando a maiores taxas de herbivoria nesse período (Wolda 1978, Coley & Barone 1996).

Não existe um único modelo que contempla todas as respostas das plantas à herbivoria, sendo necessários estudos em diferentes sistemas e situações para aumentar a compreensão geral dessas respostas (Hawkes & Sullivan 2001). Conhecer o tipo de resposta em plantas jovens à herbivoria e a realização de estudos envolvendo diferentes tipos de defesa podem, por exemplo, contribuir para elucidar os mecanismos de investimento em defesas de plantas durante sua ontogenia (Ochoa-López et al. 2015). Além disso, a maioria dos estudos que testaram o efeito da herbivoria sobre características do fitness de plantas realizaram experimentos de simulação de herbivoria (corte de folhas) (Marquis 1984, Maschinski & Whitham 1989, Alabarce & Dillenburg 2014), o que pode gerar níveis não naturais de herbivoria (Hendrix 1988, Strauss & Agrawal 1999). Dessa forma, mais estudos que demonstrem o efeito da herbivoria em sistemas completamente naturais são necessários.

Para estudos que envolvem herbivoria e crescimento, plantas do gênero *Cecropia* são ideais, pois apresentam poucas folhas e não produzem ramos laterais por muitos anos, simplificando assim a avaliação do crescimento (Schupp 1986). Além disso, são consideradas espécies pioneiras e, portanto, seus indivíduos precisam investir em crescimento rápido para que possam superar os outros competidores em ambientes de clareiras ou habitats perturbados (Tilman 1985, Huston & Smith 1987, Davidson 2005). Algumas espécies do gênero *Cecropia* são mirmecófitas, apresentando estruturas especializadas para alimentar e abrigar formigas do gênero *Azteca* que as protegem contra herbivoria, o que torna esse sistema ainda mais interessante (Longino 1991, Yu & Davidson 1997, Berg et al. 2005). Entretanto, os indivíduos juvenis de *Cecropia* não apresentam defesa biológica por formigas, pois precisam primeiramente desenvolver as estruturas, como trichilia para produção de corpúsculos mullerianos, que as possibilitam serem colonizadas (Campos 2005, Davidson 2005, Del-Val & Dirzo 2003). Em indivíduos jovens de *Cecropia glaziovii* Snethl. não-colonizados por *Azteca muelleri* (Emery 18931) foi sugerido que a herbivoria é um processo importante pois

pode determinar menores taxas de crescimento (Oliveira et al. 2015), porém isso não foi possível ser testado empiricamente com os dados do referido artigo, uma vez que não foram realizados acompanhamentos contínuos no tempo. Assim, uma estimativa real dos níveis naturais de herbivoria no tempo e então uma correlação com o crescimento pode trazer informações mais precisas sobre o real efeito da herbivoria no crescimento dessa espécie de planta.

Poucos estudos avaliaram a porcentagem de área foliar removida de forma repetida ao longo do tempo (Ver revisão Coley & Barone 1996, Moles et al. 2011). Isso dificulta a interpretação dos resultados do efeito da herbivoria sobre o crescimento das plantas uma vez que o crescimento e a remoção de área foliar por herbívoros são eventos contínuos no tempo (Coley 1983a, Lamarre et al. 2012). Assim, para avaliar o efeito da herbivoria no sucesso da planta é importante acompanhar a herbivoria no tempo (Coley 1983a). Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo investigar se existe efeito da herbivoria sobre o crescimento de indivíduos juvenis iniciais de *C. glaziovii* durante 24 meses antes de sua colonização por formigas mutualistas, e se esse efeito difere entre as estações chuvosa e seca. Além disso, será determinada a dinâmica temporal de crescimento da planta, herbivoria e a comunidade de herbívoros nesse sistema.

Metodologia

Área de Estudo

O estudo foi realizado na Estação de pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (EPTEA-MP). A mata do paraíso (20°38'07", 42°51'31"W) é uma reserva que possui aproximadamente 195 ha e pertence a Universidade Federal de Viçosa (UFV), sendo administrada pelo Departamento de Engenharia Florestal da mesma universidade. Essa RPPN

está inserida na região no Bioma de Mata Atlântica e possui como vegetação predominante a Floresta Estacional Semidecidual Montana (Meira-Neto e Martins 2002), possuindo também pequenas áreas de capoeira e pastagens em regeneração. O clima é do tipo Cwb (segundo Köppen) com verões chuvosos e quentes e invernos secos e frios (Vianello & Alvez 1991). Quanto à topografia, a maioria do parque apresenta vales estreitos com relevo acidentado, ondulado e montanhoso, mas também se encontram algumas faces mais planas. A espécie *Cecropia glaziovii* foi escolhida para esse estudo, e ela ocorre naturalmente nas áreas de solos mais úmidos da Mata do Paraíso.

Desenho amostral

Em julho de 2012, foram obtidos 100 indivíduos jovens de *Cecropia glaziovii* Snethl. (Urticaceae) com aproximadamente seis meses de idade e variando de 17 a 27 cm de altura (21.5 ± 0.56). Esses indivíduos foram obtidos de uma empresa especializada (Flora Londrina), localizada na cidade de Londrina-PR. O material vegetativo e reprodutivo da planta matriz, que originou as sementes para produção das mudas, foi devidamente identificado e depositado no herbário da UFV com o código VIC nº 37.610.

Os indivíduos de *C. glaziovii*, que se encontravam mantidos em tubetes, foram expostos a pleno sol e ficaram dois dias sem receber água (aclimação). Após esse período elas foram molhadas novamente e plantadas na Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (EPTEA-MP). O plantio foi realizado em áreas com condições semelhantes de umidade e luminosidade no entorno de duas represas (lagos) presentes na área de estudo, sendo que os indivíduos apresentavam distância mínima de 5m entre si. As plantas foram acompanhadas mensalmente durante um período de 26 meses (julho de 2012 a outubro de 2014), compreendendo dois períodos chuvosos (outubro/2012 a abril/2013, e novembro/2013 a abril/2014) e dois períodos secos (maio/2013 a outubro/2013, e maio/2014

a outubro/2014; Fig. 1). Em todos os meses foram avaliadas a herbivoria e a taxa de crescimento absoluto (TCA). Além disso, durante o período de outubro de 2013 a outubro de 2014, também foi avaliada a fauna de herbívoros associados a esses indivíduos.

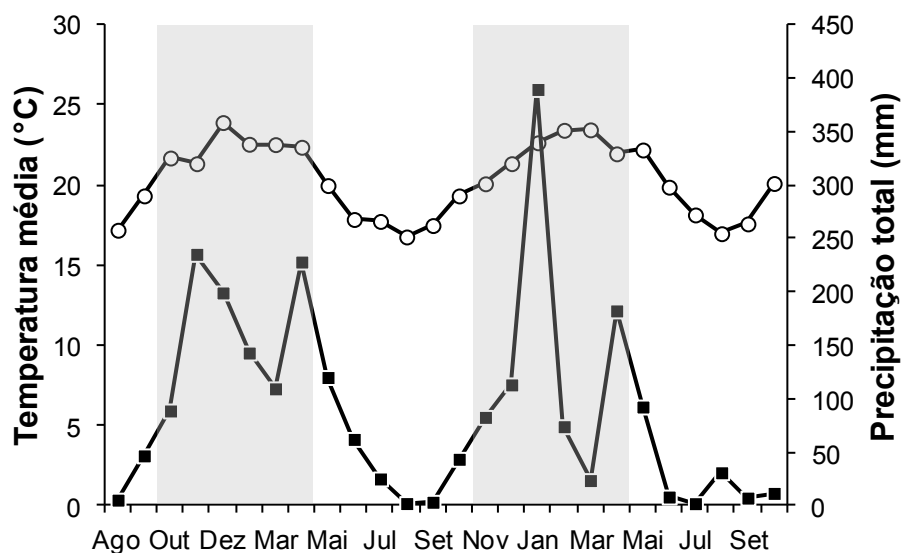


Fig. 1. Precipitação mensal e média mensal de temperatura na área de estudo. Dados obtidos da estação Viçosa (INMET) de agosto de 2012 a outubro de 2014. Quadrados pretos demonstram a precipitação e círculos brancos demonstram a temperatura média. O período destacado em cinza refere-se às estações chuvosas.

a) Quantificação da herbivoria

A herbivoria foi quantificada por meio da área foliar perdida em todas as folhas da planta em cada mês. Uma superfície de papel branca, com escala de 1 cm, foi colocada em baixo das folhas da planta, e estas foram fotografadas sem serem removidas. A porcentagem de dano foliar é obtida usando o software Image J (Rasband 2006). Nesse programa, as imagens de cada folha são processadas separadamente. As imagens sofrem um processo de conversão binária (preto = folha e branco = cartolina), com a calibração da distância feita com a escala em centímetros utilizada. Assim, é possível determinar o número de pixels presente em um centímetro (cm) e extrapolar para a área foliar (cm²). Depois disso é feito o cálculo do número de pixels brancos inseridos dentro da área foliar e com isso é calculada a área foliar

removida da folha [(área removida/área total) x 100]. Por fim, foi obtida uma média da porcentagem de herbivoria por planta em cada mês. A herbivoria foi quantificada em todas as folhas (novas e velhas) presentes na planta, sendo, portanto, uma medida geral da herbivoria total na planta em um dado momento.

b) Amostragem dos insetos:

Durante o período de um ano (outubro de 2013 a outubro de 2014), todas as plantas foram avaliadas mensalmente quanto à fauna de herbívoros. Essa amostragem foi realizada por coleta direta com auxílio de pinças entomológicas durante os três primeiros minutos de avaliação da planta. Nessa coleta direta, foi utilizado o auxílio de um sugador entomológico para aumentar o poder de captura. Nesse período, também foram contados em campo o número de ovos e lagartas do principal inseto especialista encontrado (Wilmott et al. 2001). Esse herbívoro foi identificado no primeiro ano de estudo após suas lagartas serem coletadas e criadas em laboratório sob condições controladas (25°C, 60% de umidade, 12:12 h fotoperíodo) para posterior identificação.

c) Medida da taxa de crescimento:

A taxa de crescimento absoluta (TCA) dos indivíduos estudados foi quantificada através de um aumento na altura (do solo ao ápice do entrenó terminal) dos indivíduos em um determinado tempo (Coley 1988, Schupp 1986). Essa taxa foi calculada pela seguinte fórmula: $TC = (A_2 - A_1) / (T_2 - T_1)$, onde, A_1 e A_2 representam a variação da altura (cm) em duas amostras consecutivas tomadas nos tempos T_1 e T_2 . Nesse estudo, foram realizadas avaliações mensais, e, portanto, a medida de tempo, entre as avaliações, foi a quantidade de dias, gerando assim uma taxa de crescimento por dia (cm/dia). Entretanto, para uma estimativa geral, foi

calculada também a taxa de crescimento anual (m.ano^{-1}) durante o período de dois anos de estudo.

Análise de dados

Ao final de 27 meses de avaliação, dos 100 indivíduos de plantas, somente 31 indivíduos de *C. glaziovii* permaneceram vivos, os quais foram usados para as análises de dados desse estudo. Apesar das avaliações começarem em julho de 2012, foram considerados nas análises estatísticas apenas os meses a partir de outubro de 2012, que correspondem ao início da estação chuvosa.

a) Crescimento x herbivoria

Para verificar se a taxa de crescimento de indivíduos jovens de *C. glaziovii* foi influenciada pela herbivoria, os dados foram organizados de forma que o crescimento da planta foi relacionado à herbivoria sofrida por ela em um mês anterior. Isso porque a taxa de crescimento da planta em cada mês corresponde a um incremento (negativo, neutro ou positivo) que ocorreu em sua altura desde a última avaliação (mês anterior), e esse incremento pode ser considerada uma resposta à herbivoria sofrida pela planta naquele momento. (Marquis 1984, Maschinski & Whitham 1989, Alabarce & Dillenburg 2014).

Foi construído um modelo linear de efeito misto com distribuição normal (Crawley 2013) para verificar se existe um efeito da herbivoria no crescimento de indivíduos de *C. glaziovii*, e se esse efeito difere entre estação chuvosa e seca. O uso do modelo misto se deve aos dados terem sido obtidos repetidamente nas mesmas plantas durante intervalos subsequentes (meses) que violaria o pressuposto de independência das amostras (indivíduos de plantas) (Crawley 2013). Assim, a identidade da planta foi considerada como a variável

aleatória do modelo. Para o restante do modelo, a taxa de crescimento mensal foi utilizada como variável resposta, e a porcentagem média de herbivoria acumulada no mês, estação (chuvosa e seca) e interação (herbivoria:estação) foram utilizadas como variáveis explicativas. Foi utilizado o método backward, que consiste em começar por modelos completos contendo todas as variáveis explicativas (herbivoria e estação) e a sua interação (herbivoria:estação), seguido da remoção progressiva (uma a uma) das variáveis não significativas até a obtenção do modelo mínimo adequado (Crawley 2013).

b) Crescimento e herbivoria ao longo do tempo

Para verificar se a taxa de crescimento, abundância de folhas totais, herbivoria e abundância de herbívoros (variáveis respostas) variaram entre os meses (variável explicativa) de estudo, também foram construídos modelos lineares de efeito misto (um para cada variável resposta). Para os modelos com a taxa de crescimento e herbivoria como variáveis respostas, foi utilizada a distribuição normal dos dados, que é normalmente indicada para dados contínuos (Crawley 2005). Porém, os resíduos do modelo de herbivoria foram melhorados com a aplicação da função logarítmica. Para os modelos com abundância de folhas e de herbívoros, foi utilizada a distribuição de erros Poisson que é adequado para dados de contagem (Crawley 2005). As diferenças entre os níveis da variável categórica (mês) foram testadas, utilizando as análises de contraste (Crawley 2005). Por fim, foram construídos também modelos lineares de efeito misto para verificar se a herbivoria e abundância total de herbívoros (variáveis respostas) diferiram entre estação: chuvosa e seca (variável explicativa). Todas as análises foram conduzidas no software R 3.1.0 (R Development Core Team 2011).

Resultados

Crescimento x herbivoria

Houve um efeito negativo da herbivoria sobre o crescimento das plantas estudadas em um período de dois anos de avaliação ($\chi^2=5.64$; $P=0.017$; Fig. 2), sendo que esse efeito não diferiu entre estação chuvosa e seca ($\chi^2=0.09$; $P=0.77$; Fig. 2). As taxas de crescimento registradas em alguns momentos obtiveram valores negativos, uma vez que foi verificada a evidência de dano por mastigador no ápice da planta que foi responsável pela diminuição na altura total dos indivíduos. De forma geral, segundo nosso modelo linear (Fig. 2), as plantas que sofrem em média 10% de herbivoria crescem 8.43% menos, enquanto as que sofrem 80% de herbivoria tem uma redução de 67.37% no seu crescimento.

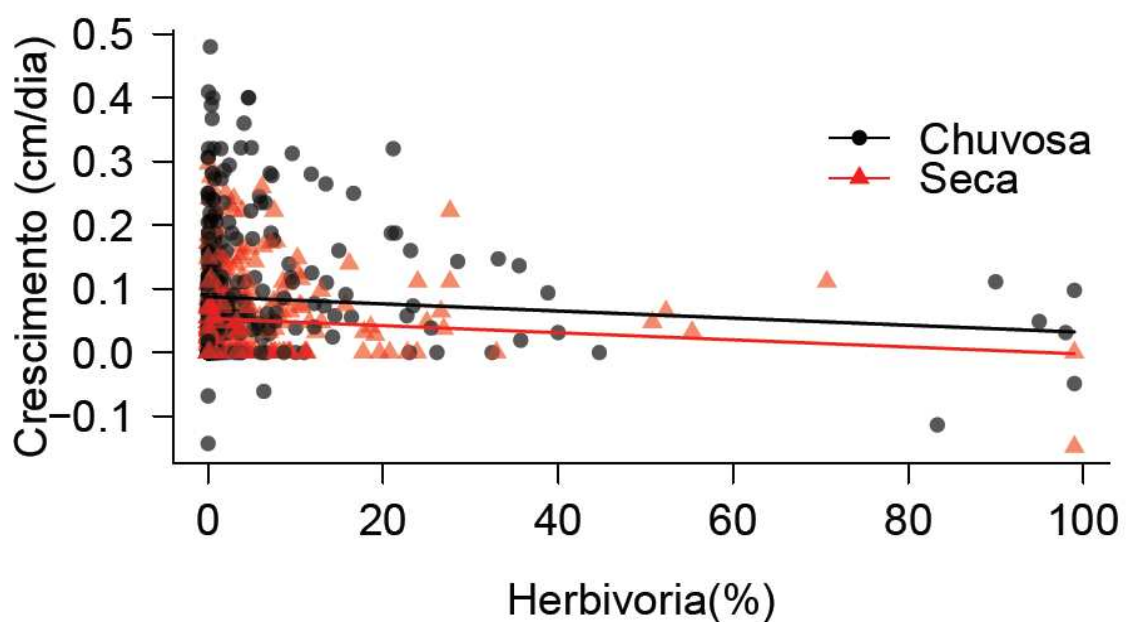


Fig. 2. Relação entre a porcentagem mensal média acumulada de herbivoria e a taxa de crescimento (cm/dia) de indivíduos jovens de *C. glaziovii* na estação chuvosa (círculo preenchido de preto) e seca (triângulo vermelho) durante 24 meses de avaliação. Equações da reta: $y=0.0874678-0.0005580*x$ (estação chuvosa); $y=0.0533145-0.0005580*x$ (estação seca).

Nossos modelos lineares indicam que plantas que sofrem 10% de herbivoria (taxa mais frequente encontrada no estudo), crescem em média 23,65 cm/ano, enquanto plantas que não são mastigadas crescem em média 25,69 cm/ano. Dessa forma, plantas que sofrem 10% de herbivoria demoram 3,8 meses a mais para atingirem 1 metro de altura do que plantas que não sofrem nenhuma herbivoria (39,8 e 36 meses, respectivamente para plantas com 10% e 0% de herbivoria alcançarem 1m de altura).

Crescimento ao longo do tempo

Em um período de dois anos, as plantas do presente estudo cresceram de 21.5 ± 0.56 para 67.68 ± 4.46 , gerando uma taxa média de crescimento de aproximadamente 23 cm/ano. A taxa de crescimento (cm.dia^{-1}) diferiu entre os meses em ambos os anos ($\chi^2=261.46$, $P<0.001$; Fig. 3). Em geral, janeiro e abril foram os meses com maior taxa de crescimento das plantas no primeiro ano de avaliação, e novembro a fevereiro no segundo ano (Fig. 3). O mês de fevereiro de 2014 apresentou a maior taxa de crescimento durante todo período de estudo ($\chi^2 = 8.302$, $P<0.01$; Fig. 3). Também foi encontrada diferença na taxa de crescimento entre as estações, sendo maior na estação chuvosa ($\chi^2=37.77$; $P<0.001$; Fig. 2).

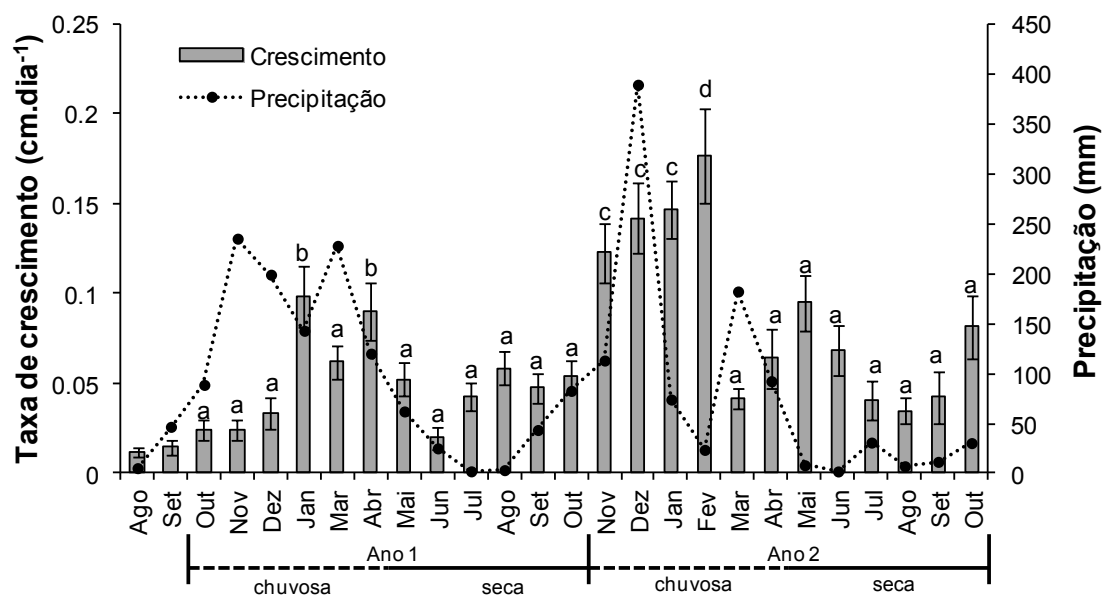


Fig. 3. Taxa de crescimento (cm.dia⁻¹) de indivíduos juvenis de *C. glaziovii* durante o período de agosto de 2012 a outubro de 2014. Os meses de agosto e setembro iniciais não foram utilizados nas análises estatísticas, mas foram apresentados aqui apenas como dados descritivos.

Herbivoria ao longo do tempo

A porcentagem média de herbivoria acumulada por planta para todo o período de estudo foi de 4.04%, apresentando picos de 11.8 % de herbivoria em janeiro do primeiro ano e abril do segundo ano (Fig. 4). A porcentagem média de herbivoria diferiu entre os meses de estudo ($\chi^2=113.95$, $P<0.001$; Fig. 4), sendo duas vezes maior na estação chuvosa que na estação seca, considerando todo o período de estudo ($\chi^2=15.86$, $P<0.001$; Fig. 5).

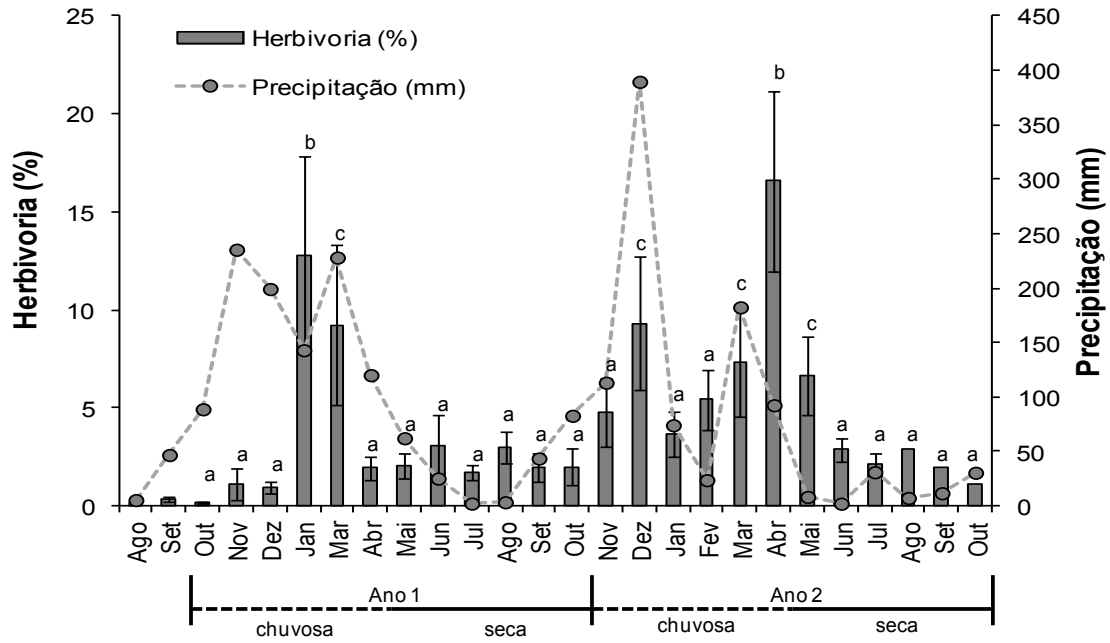


Fig. 4. Herbivoria acumulada (% média por planta) de indivíduos juvenis de *C. glaziovii* durante o período de agosto de 2012 a outubro de 2014. Os meses de agosto e setembro iniciais não foram utilizados nas análises estatísticas, mas foram apresentados aqui apenas como descritivos.

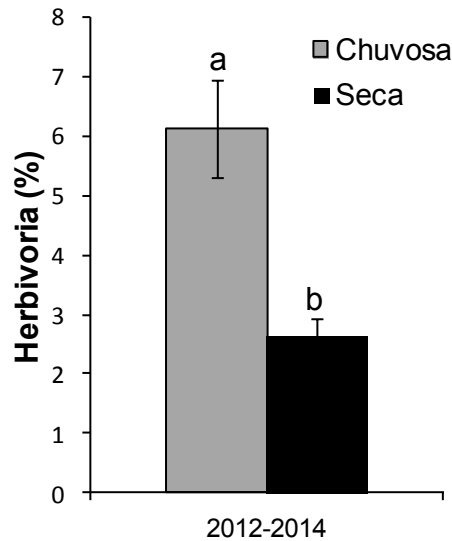


Fig. 5. Porcentagem média de herbivoria acumulada (%) em indivíduos jovens de *C. glaziovii* durante a estação chuvosa e seca em todo período de estudo.

Em nível individual, houve uma variação de 0 a 99% de porcentagem média de herbivoria durante os meses de estudo, porém a frequência dos maiores níveis de herbivoria foram raros (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência de observações registradas para cada classe de herbivoria.

	Classes de herbivoria (%)					Total
	0	0<n≤25	25<n≤50	50<n≤75	75<n≤100	
% de observações	22.93	73.2	2.21	0.55	1.11	100%
Nº de observações	166	530	16	4	8	724

Fauna de herbívoros ao longo do tempo

Durante um ano de avaliação (novembro 2013 a outubro 2014), foram amostrados 118 insetos mastigadores e 72 insetos sugadores, totalizando 190 insetos herbívoros. Desse total, 105 indivíduos foram insetos imaturos e 85 foram insetos adultos.

a) Insetos imaturos:

A maioria dos insetos mastigadores amostrados (76.3%) foram imaturos, sendo 84 imaturos da ordem Lepidoptera e seis ninfas da ordem Orthoptera (Acrididae). Das 84 lagartas, 25 foram da espécie *Colobura dirce* (29.8%), e as demais não foram identificadas. Apenas 15 insetos sugadores (21%) estavam em estágio imaturo.

b) Insetos adultos:

Os insetos adultos mastigadores (28 indivíduos) pertenceram a 13 morfoespécies diferentes, enquanto os 57 insetos adultos sugadores pertenceram a 23 morfoespécies diferentes, totalizando 36 diferentes morfoespécies (Tabela 2). Dentre os mastigadores, a família de maior destaque foi Chrysomelidae, enquanto para sugadores a família Cicadellidae apresentou maior número de representantes (Tabela 2).

Tabela 2. Lista de morfoespécies dos insetos adultos encontrados em indivíduos juvenis de *Cecropia glaziovii*.

Ordem	Morfoespécie	Ordem	Morfoespécie
Mastigadores		Cont. sugadores	
Coleoptera	Carabidae sp.1	Hemiptera	Flatidae sp. 2
Coleoptera	Cerambycidae sp.1	Hemiptera	Cicadellidae sp.1
Coleoptera	Crysomelidae sp.1	Hemiptera	Cicadellidae sp.2
Coleoptera	Crysomelidae sp.2	Hemiptera	Cicadellidae sp.3
Coleoptera	Crysomelidae sp.3	Hemiptera	Cicadellidae sp.4
Coleoptera	Crysomelidae sp.4	Hemiptera	Cicadellidae sp.5
Coleoptera	Crysomelidae sp.5/Cassidinae	Hemiptera	Cicadellidae sp.6
Coleoptera	Crysomelidae sp.6	Hemiptera	Cicadellidae sp.7
Coleoptera	Crysomelidae sp.7	Hemiptera	Cicadellidae sp.8
Coleoptera	Crysomelidae sp.8/Cryptocephalinae	Hemiptera	Cicadellidae sp.9
Coleoptera	Crysomelidae sp.9	Hemiptera	Cicadellidae sp.10
Coleoptera	Curculionidae sp.1.	Hemiptera	Cicadellidae sp.11
Coleoptera	Lycidae sp.1	Hemiptera	Cicadellidae sp.12
Sugadores		Hemiptera	Membracidae sp.1
Hemiptera	Aetalionidae sp.1	Hemiptera	Membracidae sp.2
Hemiptera	Alydidae sp.1	Hemiptera	Miridae sp.1
Hemiptera	Berytidae sp.1	Hemiptera	Pentatomidae sp.1
Hemiptera	Flatidae sp. 1	Hemiptera	Pentatomidae sp.2
		Hemiptera	Tingidae sp.1

O principal inseto herbívoro encontrado se alimentando de folhas dos indivíduos jovens de *C. glaziovii* foi a lagarta de *Colobura dirce* (Nymphalidae), sendo esse inseto considerado como herbívoro especialista de *C. glaziovii* (Wilmott et al. 2001) Durante um ano de avaliação da população desse herbívoro (outubro de 2013 a outubro de 2014), foi detectada diferença na abundância de ovos entre os meses ($\chi^2=20.798$; $P<0.001$), sendo registrados dois picos: em outubro 2013 e em fevereiro/março de 2014 (Fig. 6). Da mesma forma, a abundância de lagartas de *C. dirce* variou entre os meses ($\chi^2=5.95$; $P=0.014$), porém foi maior nos meses de novembro, abril e maio (Fig. 6), que foram os meses subsequentes aos meses com maiores abundância de ovos.

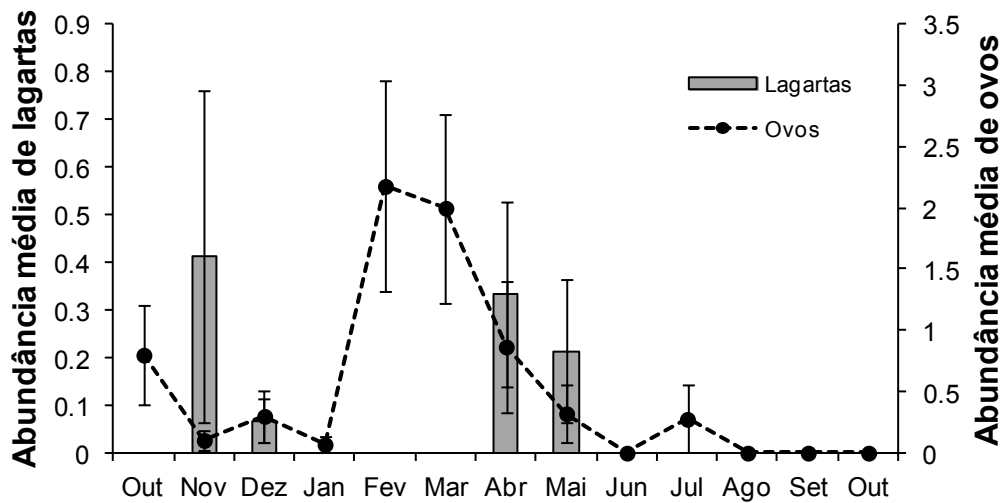


Fig. 6. Abundância média de lagartas e ovos de *Colobura dirce* em indivíduos jovens de *C. glaziovii*.

No segundo ano de avaliação, foram encontrados dois picos de herbivoria (dezembro/2013 e abril/2014; Fig. 4), que foram relativamente coincidentes aos picos na abundância de lagartas da especialista *C. dirce* (novembro 2013 e abril 2014; Fig. 6 e 7). Porém, um aumento na abundância de outros herbívoros, em geral não foi acompanhado de um aumento nos valores de herbivoria registrados para as plantas, assim como foi encontrado para *C. dirce*. (Fig. 7).

A abundância total dos outros herbívoros também diferiu entre os meses ($\chi^2 = 12.608$; $P < 0.001$ /outras lagartas; $\chi^2 = 31.34$; $P < 0.001$ /outras mastigadores), sendo fevereiro de 2013 o mês de maior abundância de outras lagartas, e novembro 2013 e abril 2014 os meses de maior abundância de outros mastigadores (Fig. 7). Dentre os insetos mastigadores, foi registrada uma única vez, em apenas um dos indivíduos de *C. glaziovii* durante todo o período de estudo, a ocorrência do besouro *Coelomera lanio* (Dalman 1983) (Chrysomelidae), que é considerado especialista de *Cecropia* spp (Silveira et al. 2002).

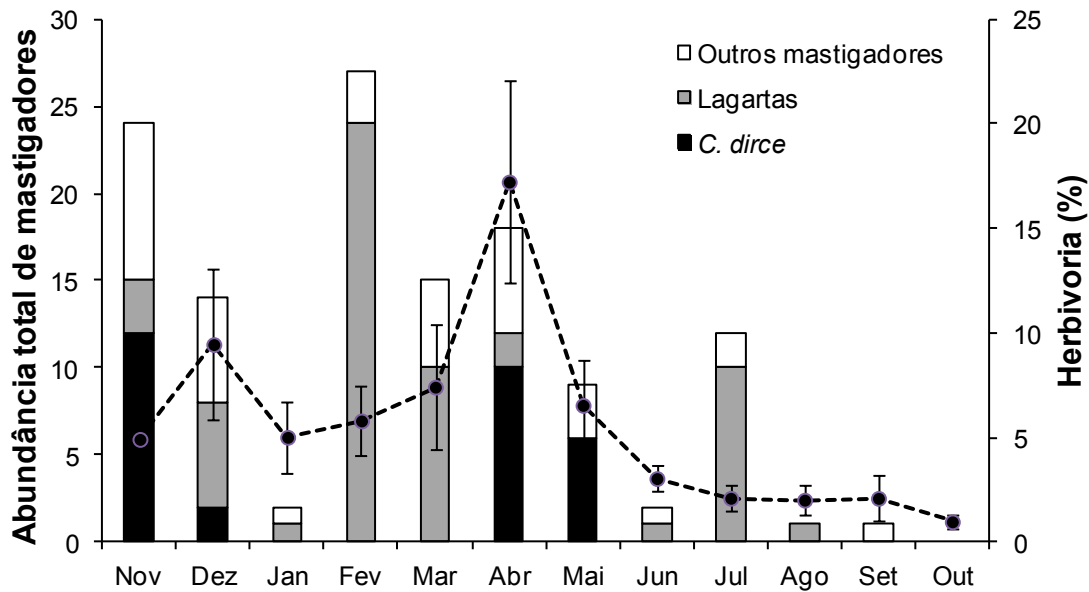


Fig.

7. Abundância total de lagartas de *Colobura dirce*, outros mastigadores, outras lagartas, e herbivoria (%) de indivíduos jovens de *C. glaziovii*.

No geral, a estação chuvosa apresentou maior abundância de herbívoros do que a estação seca ($\chi^2 = 7.1657$; $P < 0.001$; Fig. 8).

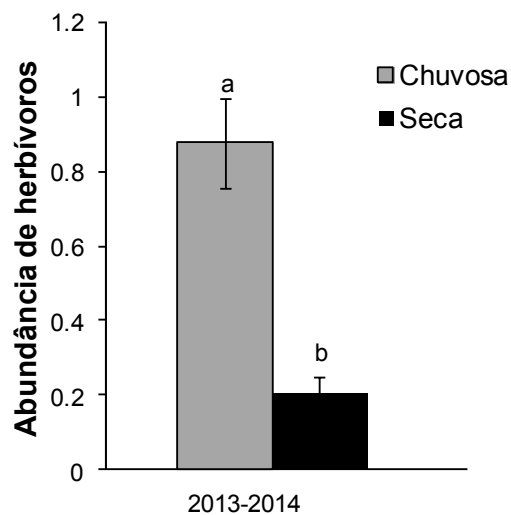


Fig. 8. Abundância de insetos herbívoros durante as estações chuvosa e seca.

Discussão

a) Efeito da herbivoria no crescimento

A porcentagem média de herbivoria sofrida pela planta afetou negativamente a taxa de crescimento de indivíduos jovens de *C. glaziovii*. De acordo com o estudo de Alvarez-Buylla & Martinez Ramos (1992) em *Cecropia obtusifolia*, os indivíduos avaliados em nosso estudo podem ser considerados juvenis iniciais (0.3 – 1 cm de diâmetro), que seria a primeira fase de desenvolvimento após o estágio de plântulas. Por serem menores, com menor quantidade de folhas e, portanto, apresentarem menor quantidade de biomassa total e/ou reserva, indivíduos juvenis teriam menor capacidade de recuperação após eventos de herbivoria do que indivíduos adultos (Marquis 1984, Crawley 1989). Além disso, o crescimento de indivíduos jovens em ambiente florestal é limitado pela quantidade de luz interceptada para fotossíntese (Poorter 2001), e qualquer perda de área foliar por herbívoros poderia ser suficiente para comprometer o crescimento e estabelecimento dessas plantas. De fato, Poorter (2001), em seu estudo com seis gêneros de plantas, incluindo *Cecropia*, encontrou que 10% de perda de área foliar em indivíduos jovens (0.6-3m) levam a uma redução de 10% no crescimento em altura. Similarmente, nossos resultados mostram que 10% de herbivoria causa um decréscimo de aproximadamente 8% na taxa de crescimento de indivíduos jovens de *C. glaziovii*. Além disso, nossas estimativas sugerem que indivíduos jovens com essa porcentagem de herbivoria demorariam quase 4 meses a mais para atingir 100 cm de altura, do que normalmente demorariam na ausência de herbivoria. Esses resultados, embora devam ser considerados com bastante cautela, apresentam importantes repercussões ecológicas para essas plantas, visto que para *Cecropia pachystachya*, indivíduos com 1m de altura possuem 100% de chance de serem colonizados por formigase, portanto, de apresentarem defesa biológica (Campos, 2005).

Assim, além de comprometer o crescimento da planta, a herbivoria pode atrasar a aquisição da defesa biológica por formigas nessas plantas.

O impacto geral da herbivoria sobre o crescimento de plantas depende primariamente da intensidade e da frequência dos eventos de herbivoria (Crawley 1997). De maneira geral, eventos muito intensos de herbivoria como perda total da área fotossintética, mesmo que raros, podem causar a mortalidade imediata de indivíduos juvenis (Hendrix 1988). Em outro extremo, eventos de menores intensidades, mesmo que muito frequentes, podem ser tolerados por algumas plantas (Strauss & Agrawal 1999, Fornoni et al. 2003). Porém, plantas que experimentam eventos de herbivoria muito frequentes podem sofrer com efeitos negativos indiretos, como diminuição da habilidade competitiva, impedindo que as plantas alcancem o período reprodutivo, embora esses efeitos sejam mais difíceis de serem avaliados (Hendrix 1988). Em nosso estudo, os eventos de alta intensidade de herbivoria foram raros (1.6% do total de observações), e apesar de não causarem a morte imediata das plantas avaliadas, eles causaram severa diminuição do crescimento. Por exemplo, plantas que sofreram eventos de 80% de herbivoria apresentaram uma redução drástica de 67% na taxa de crescimento no mês seguinte. Por outro lado, menores intensidades de herbivoria (10%) foram mais frequentes e embora tenham também reduzido o crescimento, essa redução foi bem menor (8%) quando comparada com eventos de alta intensidade. Em geral, apesar de poucas observações terem sido caracterizadas por mais de 50% de herbivoria, esses eventos causaram um forte impacto negativo da herbivoria no crescimento das plantas avaliadas.

O alto número de observações de menores intensidades de herbivoria (0-25%) encontrado em nosso estudo evidencia a manutenção de baixos níveis de herbivoria nessas plantas em seu ambiente natural. Isso provavelmente se deve ao investimento em diferentes estratégias de defesas desenvolvidas pelas plantas, apesar disso não ter sido avaliado no presente estudo. Plantas tropicais apresentam em média 12% de herbivoria, e essa taxa tem

sido atribuída à grande diversidade de estratégias de defesas nos trópicos (Coley & Barone 1996). Por outro lado, é pouco provável que indivíduos em estágio juvenil invistam em altas concentrações de defesas (Boege & Marquis 2005). Isso porque o investimento em estratégias defensivas pode apresentar alto custo para a planta, principalmente nas fases iniciais de desenvolvimento onde os recursos são considerados limitantes e destinados a importantes prioridades fisiológicas, como o crescimento (Herms & Mattson 1992, Boege & Marquis 2005).

Mais especificamente, as plantas jovens do presente estudo podem ter sofrido um efeito negativo da herbivoria por dois fatores principais. Primeiramente, é esperada uma pequena quantidade de defesas físicas (espinhos, tricomas e esclerofilia) e químicas em indivíduos jovens (Boege 2005, Boege & Marquis 2005). Em segundo lugar e possivelmente o mais importante, plantas jovens, por serem menores, não possuem a capacidade de abrigar e/ou alimentar organismos mutualistas (Del-Val & Dirzo 2003, Davidson 2005). Isso se torna ainda mais grave, pois a defesa biológica desempenhada por formigas foi considerada uma das defesas mais efetivas para plantas (Massad et al. 2011). No caso de espécies mirmecófitas de *Cecropia*, as plantas precisam atingir determinada altura e diâmetro para que tenha espaço suficiente para o desenvolvimento da colônia de formigas (Campos 2005, Nishi & Romero 2008), e para desenvolver a trichilia, estrutura especializada para produção de corpúsculos mullerianos ricos em glicogênio para alimentar as formigas (Rickson 1976, Del-Val & Dirzo 2003).

Entretanto, deve existir algum mecanismo para diminuir a intensidade da injúria causada por herbívoros em indivíduos juvenis, e assim impedir que afete diretamente a sua população e a persistência da espécie no ambiente (Crawley 1989, Maron & Crone 2006). Indivíduos juvenis devem investir em uma concentração de defesa suficiente, mesmo que sejam em menores concentrações quando comparadas às plantas maduras, e/ou apresentar

determinados compostos de defesa eficiente que diminua a intensidade da injúria causada por herbívoros, ou até mesmo a presença de defesas induzidas. Além disso, mecanismos de tolerância à herbivoria poderiam atuar conjuntamente e reduzir o impacto negativo dos herbívoros no crescimento das plantas (Strauss & Agrawal 1999, Fornoni 2011, Kariñho-Betancourt & Nuñez-Farfan 2015). Plantas maiores já podem ser colonizadas por formigas e apresentam, portanto, a defesa biológica contra herbivoria, que pode ser suficiente para diminuir os níveis de herbivoria encontrados nessas plantas, favorecendo assim o seu crescimento (Oliveira et al. 2015). Dessa forma, estudos que investigam os mecanismos de defesas em plantas jovens são necessários para explicar a alta frequência de eventos de baixa intensidade de herbivoria nessas plantas.

Além da frequência e intensidade de herbivoria encontrada em sistemas naturais, nosso estudo contemplou também o efeito da sazonalidade nesse sistema. Assim, seria esperado um efeito negativo da herbivoria mais drástico na estação seca, uma vez que a taxa de crescimento de plantas tropicais, incluindo *Cecropia* aumenta com o aumento da precipitação durante a estação chuvosa, e, portanto, representa a estação de crescimento das plantas (Zalamea et al. 2011, Wagner et al. 2012, Zalamea 2013). De fato, os indivíduos de *C. glaziovii* cresceram mais durante a estação chuvosa, porém isso não causou um efeito diferenciado da herbivoria na taxa de crescimento. De maneira geral, a estimativa de taxa de crescimento encontrada nesse estudo (0.232 m.ano^{-1}) está dentro da variação na taxa de crescimento (0.12 a 1.44 m.ano^{-1}) encontrada por Santos (2000) para indivíduos de *C. glaziovii* com altura entre 0.20 a 4 m , e por Schupp (1986) em *C. obtusifolia* (0.05 e 2.00 m.ano^{-1}).

b) Herbivoria e fauna de herbívoros

A porcentagem média de herbivoria (por mês) encontrada para todo o período de estudo foi de 4.04% (± 0.45), e embora tenha sido variável durante todo o estudo, foi consideravelmente maior na estação chuvosa, chegando a 18%. Esses resultados corroboram com outros estudos que também encontraram maiores taxas de herbivoria na estação chuvosa. Em indivíduos de *Cecropia peltata* não colonizados por suas formigas mutualísticas, foi encontrada uma maior taxa de herbivoria de 7.8% também na estação chuvosa (Del-Val & Dirzo 2003). Em indivíduos de *Cecropia insignis* (0.75 a 1.5 m), Coley e colaboradores (1983a) encontraram 6.3% de herbivoria média por mês na estação chuvosa e apenas 1.2 % na estação chuvosa. Da mesma forma, Oliveira e colaboradores (2015) encontraram 13.3% de herbivoria na estação chuvosa e 1.7% na estação seca para indivíduos de *C. glaziovii* ainda não colonizados por formigas. As maiores taxas de herbivoria encontradas para estação chuvosa provavelmente se deve a um aumento na população de herbívoros nesse período. De fato, foi encontrada uma maior abundância de insetos herbívoros na estação chuvosa, que pode ter contribuído para as maiores taxas de herbivoria encontradas.

Para determinar os padrões de herbivoria sofrido por uma planta hospedeira, é importante conhecer os herbívoros e a sua dinâmica populacional no sistema, bem como o grau de especialização do herbívoro pelo hospedeiro (Vehviläinen et al. 2007, Jactel & Brockhoff 2007). Ninfas de acridídeos (Orthoptera) já foram registradas causando herbivoria em *C. peltata* (Schupp 1986), e também foram encontrados algumas vezes em nosso estudo. Da mesma forma, a presença de imaturos da ordem Lepidoptera pode ter grande contribuição para gerar os valores de herbivoria registrados nesse estudo, uma vez que esse grupo de herbívoros é bem conhecido como sendo os principais responsáveis por altas taxas de herbivoria em plantas (Dyer et al. 2007). Embora a maioria das lagartas encontradas nesse estudo não tenha sido precisamente identificada (em nível de espécie), é pouco provável que elas sejam as mais importantes para determinação dos valores de herbivoria encontradas em

indivíduos jovens de *C. glaziovii* nesse estudo. Isso porque um aumento na sua abundância em fevereiro não coincidiu com um aumento dos valores de herbivoria nas plantas. Por outro lado, um aumento na população do herbívoro *Colobura dirce* pode ter sido responsável pelos maiores valores de herbivoria encontrados na estação chuvosa, uma vez que já é sabido que plantas do gênero *Cecropia* são hospedeiras de lagartas de *C. dirce*, principalmente em estágios juvenis (Willmott et al. 2001).

Para o presente estudo, foram encontrados dois picos de abundância de *C. dirce*, que coincidem com a estação chuvosa e com os dois principais picos de herbivoria registrados no segundo ano desse estudo. Um aumento na abundância de lagartas em novembro pode não ter provocado um pico de herbivoria imediato, uma vez que essas lagartas poderiam estar nos primeiros instares de desenvolvimento, ou seja, estavam começando a se alimentar das folhas. Da mesma forma, as lagartas detectadas em abril poderiam estar nos estágios finais de desenvolvimento e por isso, já teriam se alimentado mais. Entretanto, nesse estudo não foram avaliados os diferentes instares das lagartas de *C. dirce*.

A família mais representativa de herbívoros mastigadores no nosso estudo foi *Chrysomelidae*, com oito morfoespécies registradas e a espécie *Coelomera lanio*. De fato, as famílias *Chrysomelidae* e *Curculionidae* são os principais herbívoros encontrados em florestas tropicais e são, juntamente com os imaturos de *Lepidoptera*, os principais responsáveis pela herbivoria foliar (Basset et al. 2001, Neves et al. 2013). O besouro *Coelomera lanio* é frequentemente encontrado se alimentando de plantas do gênero *Cecropia* (Rocha & Bergalo 1992, Silveira et al. 2002), e mesmo que tenha sido detectado uma única vez em nosso estudo, pode também ter colaborado para os valores de herbivoria registrados nesse estudo. Embora esse estudo tenha detectado a presença desses dois herbívoros especialistas de *Cecropia*, novos esforços são necessários para determinar a importância de cada um deles para o sistema e para os valores de herbivoria encontrados. A alta taxa de herbivoria em *Cecropia insignis*

foi atribuída principalmente à presença de herbívoros especialistas (Coley 1983a), demonstrando assim a importância de conhecer a identidade dos herbívoros no nosso sistema de estudo.

Conclusões

Esse foi um dos poucos estudos que demonstrou que existe um efeito negativo da herbivoria no crescimento de plantas jovens em seu ambiente natural. Além disso, foi encontrada baixa frequência de eventos com altas intensidades de herbivoria, demonstrando que plantas, apesar de afetadas negativamente pela herbivoria, são resistentes ao efeito da mesma. No entanto, é importante ressaltar que vários fatores influenciam as respostas das plantas à herbivoria, e não existe um único modelo que contempla todas as respostas. Dessa forma as conclusões apresentadas acima devem ser interpretadas cuidadosamente, uma vez que tais respostas dependem ainda de vários outros fatores externos à planta, tais como a presença de competidores, disponibilidade de nutriente no ambiente, tempo (estação de crescimento da planta) em que ocorreu o dano (Maschinski & Whitham 1989, Crawley 1997). Tais fatores podem ainda atuar conjuntamente, o que dificulta, portanto, incorporação de todos eles em um único modelo preditivo.

De forma geral, nossos resultados sugerem que apesar da herbivoria diminuir a taxa de crescimento nos estágios juvenis de desenvolvimento de *C. glaziovii* parece existir mecanismos que atuam diminuindo a intensidade de herbivoria nessa planta, o que se extrapolado para o restante da comunidade vegetal, pode ser um dos fatores determinantes para o sucesso do estabelecimento de plantas em florestas tropicais.

Referências Bibliográficas

- AGRAWAL, A. A. AND M. FISHBEIN. 2006. Plant defense syndromes. *Ecology*. 87: S132-S149.
- ALABARCE, F. S. AND L. R. DILLENBURG. 2014. A possible ontogenetic trade-off between defense and tolerance in response to simulated herbivory in seedlings and saplings of *Araucaria angustifolia*. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 26: 147-156.
- ALVAREZ-BUYLA, E. R. AND M. MARTINEZ-RAMOS. 1992. Demography and allometry of *Cecropia Obtusifolia*, a neotropical pioneer tree – An evaluation of the climax-pioneer paradigm for tropical rain forests. *J. Ecol.* 80: 275-290.
- BASSET, Y., H. P. ARBELENC AND H. BARRIOS. 2001. Stratification and diel activity of arthropod assemblages. *Biol. J. Linn. Soc.* 72: 585–607.
- BARTON, K. E. AND J. KORICHEVA. 2010. The ontogeny of plant defense and herbivory: Characterizing general patterns using meta-analysis. *Am. Nat.* 175: 481-493.
- BELSKY, A. J. 1986. Does herbivory benefit plants? A review of the evidence. *Am. Nat.* 127: 870-892.
- BERG, C. C., AND P. F. ROSSELLI. 2005. *Cecropia*. *Flora Neotropica*. Monograph 94. The New York Botanical Garden, Bronx, New York.
- BOEGE, K. 2005. Herbivore attack in *Casearia nitida* influenced by plant ontogenetic variation in foliage quality and plant architecture. *Oecologia*. 143: 117-125.
- BOEGE, K. AND R. J. MARQUIS. 2005. Facing herbivory as you grow up: The ontogeny of resistance in plants. *Trends Ecol Evol.* 20: 441-448.
- CAMPOS, R. I. 2005. Emergence pattern of myrmecophytic food reward structures in *Cecropia pachystachya*. *Sociobiology*. 45: 355-365.
- COLEY, P. D. 1983a. Intraspecific variation in herbivory on two tropical tree species. *Ecology*. 64: 426-433.

- COLEY, P. D. 1983b. Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecol. Monogr.* 53: 209-234.
- COLEY, P. D. 1986. Costs and benefits of defense by tannins in a neotropical tree. *Oecologia.* 70: 238-241.
- COLEY, P. D. 1988. Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of anti-herbivore defense. *Oecologia.* 74: 531-536.
- COLEY, P. D., AND J. A. BARONE. 1996. Herbivory and plant defences in tropical forests. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27: 305-35.
- CRAWLEY, M. J. 1986. Life history and environment. pp. 253-290. In M. J. Crawley (Ed.). *Plant ecology.* Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- CRAWLEY, M. J. 1989. Insect herbivores and plant population dynamics. *Annu. Rev. Entomol.* 34: 531-564.
- CRAWLEY, M. J. 1997. Plant-herbivore dynamics. pp. 401-474. In M. J. Crawley (Ed.) *Plant ecology.* Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- CRAWLEY, M. J. 2005. *Statistics: An Introduction using R.* John Wiley & Sons. Mathematics - 342 pages.
- DAVIDSON, D. W. 2005. Cecropia and its biotic defenses. pp. 214-226. In C. C. Berg, and P. F. Rosselli (Eds.). *Cecropia. Flora Neotropica. Monograph 94.* The New York Botanical Garden, Bronx, New York.
- DEL-VAL, E., AND R. DIRZO. 2003. Does ontogeny cause changes in the defensive strategies of the myrmecophyte *Cecropia peltata*? *Plant Ecol.* 169: 35-41.
- DYER, L. A., M. S. SINGER, J. T. LILL, J. O. STIREMAN, G. L. GENTRY, R. J. MARQUIS, R. E. RICKLEFS, H. F. GREENEY, D. L. WAGNER, H. C. MORAIS, I. R. DINIZ, T. A. KURSAR, AND P. D. COLEY. 2007. Host specificity of Lepidoptera in tropical and temperate forests. *Nature.* 448: 696-700.

- FEENY, P. 1976. Plant apparency and chemical defense. *Recent Advances in Phytochemistry* (eds J.W. Wallace & R.L. Mansell), pp. 1–40. Plenum Press, New York.
- FORNONI, J. 2011. Ecological and evolutionary implications of plant tolerance to herbivory. *Funct. Ecol.* 25: 399–407.
- GILBERT, G. S. 2002. Evolutionary ecology of plant diseases in natural ecosystems. *Annu. Rev. Phytopathol* 40:13–43.
- HANLEY, M. E., B. L. LAMONT, M. M. FAIRBANKS, AND C. M. RAFFERTY. 2007. Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 8: 157-178.
- HAWKES, C. V. AND J. J. SULLIVAN. 2001. The impact of herbivory on plants in different resource conditions: A meta-analysis. *Ecology.* 82: 2045-2058.
- HEIL, M., AND D. MCKEY. 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34: 425-453.
- HENDRIX, S. D. 1988. Herbivory and its impact on plant reproduction. pp. 246–263. In J. Lovett-Doust and L. Lovett-Doust (Eds). *Plant reproductive ecology*. New York, NY: Oxford University Press.
- HERMS, D. A. AND W. J. MATTSON. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *Q. Rev. Biol.* 67: 283-335.
- HOWE, H. F. 1990. Survival and growth of juvenile *Virola surinamensis* in Panama: effects of herbivory and canopy closure. *J. Trop. Ecol.* 6: 259-280.
- HUSTON M. AND T. SMITH. 1987. Plant succession: Life history and competition. - *Am. Nat.* 130: 168-198.
- JACTEL, H. AND E. G. BROCKRHOFF. 2007. Tree diversity reduces herbivory by forest insects. *Ecol. Lett.* 10:835-848.

- JANZEN, D. H. 1979. New horizons in the biology of plant defense. pp. 331-350. In G. A. Rosenthal and D. H. Janzen (Eds.). *Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York.
- KARIÑHO-BETANCOURT, E. AND J. NÚÑEZ-FARFÁN. 2015. Evolution of resistance and tolerance to herbivores: testing the trade-off hypothesis. *PeerJ* 3: e789.
- LAMARRE, G. P. A., C. BARALOTO, C. FORTUNEL, N. DÁVILA, I. MESONES, J. G. RIOS, M. RÍOS, E. VALDERRAMA, M. V. PILCO, AND P. V. A. FINE. 2012. Herbivory, growth rates, and habitat specialization in tropical tree lineages: implications for Amazonian beta-diversity. *Ecology*. 93: S195-S210.
- LEVIN, D. A. 1973. The role of trichomes in plant defense. *Q. Rev. Biol.* 48: 3-15.
- LEWINSOHN, T. M., V. NOVOTNY, AND Y. BASSET. 2005. Insects on plants: Diversity of herbivore assemblages revisited. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36: 597-620.
- LONGINO, J. T. 1991. Azteca ants in *Cecropia* trees: taxonomy, colony structure, and behavior. pp. 271-288. In C. R. Huxley, and D. F. Cutler (Eds.). *Ant-plant interactions*. Oxford University Press, Oxford.
- MARON, J. L. AND E. CRONE. 2006. Herbivory: effects on plant abundance, distribution and population growth. *Proc. R. Soc. B* 273: 2575–2584.
- MARQUIS, R. J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science*. 226: 537-539.
- MASCHINSKI, J. AND T. G. WHITHAM. 1989. The continuum of plant responses to herbivory: The influence of plant association, nutrient availability, and timing. *Am. Nat.* 134: 1-19.
- MASSAD, T. J., R. M. FINCHER, A. M. SMILANICH, AND L. DYER. 2011. A quantitative evaluation of major plant defense hypotheses, nature versus nurture, and chemistry versus ants. *Arthropod-Plant Interact.* 5: 125-139.

- MCNAUGHTON, S. J. 1983. Compensatory plant growth as a response to herbivory. *Oikos* 40: 329-336.
- MEIRA-NETO, J. A. AND F. R. MARTINS. 2002. Composição florística de uma floresta estacional semidecidual montana no município de Viçosa-MG. *Revista Árvore* 26: 437-446.
- MITHÖFER, A. AND W. BOLAND. 2012. Plant defense against herbivores: Chemical aspects. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63:431–50.
- MOLES, A. T., S. P. BONSER, A. G. B. POOREL, I. R. WALLIS AND W. J. FOLEY. 2011 Assessing the evidence for latitudinal gradients in plant defence and herbivory. *Funct. Ecol.* 25: 380-388.
- NEVES, F. S., C. F. SPERBER, R. I. CAMPOS, J. P. SOARES AND S. P. RIBEIRO. 2013. Contrasting effects of sampling scale on insect herbivores distribution in response to canopy structure. *Rev. Biol. Trop.* 61: 125-137.
- NISHI, A. H. AND G. Q. ROMERO. 2008. Colonization pattern of *Cecropia* by Azteca ants: Influence of plant ontogeny, environment and host plant choice by queens. *Sociobiology* 52: 367-376.
- NOVOTNY, V., AND I. BASSET. 1998. Seasonality of sap-sucking insects (Auchenorrhyncha, Hemiptera) feeding on *Ficus* (Moraceae) in a lowland rain forest in New Guinea. *Oecologia*. 115: 514-522.
- OCHOA-LÓPEZ, S., N. VILLAMIL, P. ZEDILLO-AVELLEYRA AND K. BOEGE. 2015. Plant defence as a complex and changing phenotype throughout ontogeny. *Ann. Bot.* 1-10.
- OLIVEIRA, K. N., P. D. COLEY, T. A. KURSAR, L. A. KAMINSKI, M. Z. MOREIRA AND R. I. CAMPOS. 2015. The effect of symbiotic ant colonies on plant growth: A test using an Azteca-*Cecropia* system. *PLoS ONE* 10: e0120351.

- POORTER, L. 2001. Light-dependent changes in biomass allocation and their importance for growth of rain forest tree species. *Funct. Ecol.* 15: 113-123.
- POWER, A. G. 1987. Plant community diversity, herbivore movement, and an insect-transmitted disease of maize. *Ecology* 68: 1658-1669.
- R CORE TEAM. 2011. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: the R Foundation for Statistical Computing. ISBN: 3-900051-07-0. Available online at <http://www.R-project.org/>.
- RASBAND, W. S. 2006. ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, <http://rsb.info.nih.gov/ij>. (accessed July 2009).
- RIBEIRO, S. P., P. P. BORGES, C. GASPAR, C. MELO, A. R. M. SERRANO, J. AMARAL, C. AGUIAR, G. ANDRE AND J. A. QUARTAU. 2005. Canopy insect herbivores in the Azorean laurisilva forests: key host plant species in a highly generalist insect community. *Ecography*. 28: 315-330.
- RICKSON, F. R. 1976. Anatomical development of the leaf trichilium and Müllerian bodies of *Cecropia peltata* L. *Am. J. Bot.* 63: 1266-1271.
- ROCHA, C. F. D., AND H. G. BERGALLO. 1992. Bigger ant colonies reduce herbivory and herbivore residence time on leaves of an ant-plant: *Azteca muelleri* vs. *Coelomera ruficornis* on *Cecropia pachystachya*. *Oecologia*. 91: 249-252.
- ROSUMEK, F. B., F. A. O. SILVEIRA, F. D. S. NEVES, N. P. D. U. BARBOSA, L. DINIZ, Y. OKI, F. PEZZINI, G. W. FERNANDES, AND T. CORNELISSEN. 2009. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia* 160: 537-549.
- SANTOS, F. A. M. 2000. Growth and leaf demography of two *Cecropia* species. *Rev. Bras. Bot.* 23: 133-141.
- SCHMITZ, O. J. 2008. Herbivory from individuals to ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 39:133-152.

- SCHUPP, E. W. 1986. Azteca protection of Cecropia: Ant occupation benefits juvenile trees. *Oecologia*. 70: 379-385.
- SILVEIRA, R. D., N. ANJOS, AND J. C. ZANUNCIO. 2002. Natural enemies of *Coelomera lanio* (Coleoptera: Chrysomelidae) in the region of Viçosa, Minas Gerais, Brazil. *Rev. Biol. Trop.* 50: 117-120.
- STRAUSS, S. Y. AND A. A. AGRAWALL. 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Tree* 14: 179-185.
- TILMAN, D. 1985. The resource-ratio hypothesis of plant succession. *Am. Nat.* 125: 827-852.
- TURLEY, N. E., R. M. GODFREY AND M. T. J. JOHNSON. 2013. Evolution of mixed strategies of plant defense against herbivores. *New Phytol.* 197: 359–361.
- VEHVILÄINEN, H., J. KORICHEVA, K. RUOHOMÄK AND T. JOHANSSON. 2007. Tree species diversity influences herbivore abundance and damage: meta-analysis of long-term forest experiments. *Oecologia* 152: 287-298.
- VIANELLO, R. L. AND A. R. ALVEZ. 1991. *Meteorologia básica e aplicações*. Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 449 p.
- WAGNER, F., V. ROSSI, C. STAHL, D. BONAL AND B. HÉRAULT. 2012. Water availability is the main climate driver of neotropical tree growth. *PLoS ONE* 7: e34074.
- WARNER, P. J. AND J. H. CUSHMAN. 2002. Influence of herbivores on a perennial plant: Variation with life history stage and herbivore species. *Oecologia* 132: 77-85.
- WILLMOTT, K. R., L. M. CONSTANTINO AND J. P. W. HALL. 2001 A Review of *Colobura* (Lepidoptera: Nymphalidae) with comments on larval and adult ecology and description of a sibling species. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 94: 185-196.
- WOLDA, H. 1978. Seasonal fluctuations in rainfall, food and abundance of tropical insects. *J. Anim. Ecol.* 47: 369-381.

- YU, D. W., AND D. W. DAVIDSON. 1997. Experimental studies of species-specificity in Cecropia-ant relationships. *Ecol. Monogr.* 67: 273-294.
- ZALAMEA, P. C., F. MUNOZ, P. R. STEVENSON, C.E. T. PAINE, C. SARMIENTO, D. SABATIER AND P. HEURET. 2011. Continental-scale patterns of Cecropia reproductive phenology: evidence from herbarium specimens. *Proc. R. Soc. B.*
- ZALAMEA, P. C., C. SARMIENTO, P. R. STEVENSON, M. RODRÍGUEZ, E. N. AND P. HEURET. 2013. Effect of rainfall seasonality on the growth of *Cecropia sciadophylla*: intraannual variation in leaf production and node length. *J. Trop. Ecol.* 29: 361-365.

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados encontrados na presente tese corroboram o padrão geral conhecido de proteção das formigas contra herbivoria para o sistema *Cecropia*-Azteca, além de evidenciar os benefícios obtidos pela planta através dessa proteção, como o aumento na taxa de crescimento de plantas colonizadas. Isso porque existe um efeito negativo da herbivoria no crescimento de plantas jovens. Assim, uma redução dos níveis de herbivoria leva a um aumento na taxa de crescimento das plantas. Tais resultados ressaltam ainda mais a importância da proteção exercida pelas formigas contra herbivoria, pois além de evitar a perda de tecido fotossintético por si, proporciona o aumento na taxa de crescimento das plantas.

Além disso, os resultados da dinâmica de herbivoria nesse sistema revelam que altos níveis de herbivoria são pouco frequentes em plantas jovens de *C. glaziovii* no seu ambiente natural. Apesar de diferentes estudos serem necessários para determinar as causas destes resultados, o investimento em outros tipos de defesas deve ser investigado como uma importante causa desses resultados em plantas jovens. Dessa forma, esses resultados poderão contribuir para elucidar os mecanismos de investimento em defesas de plantas durante a sua ontogenia. Além disso, se extrapolados para o restante da comunidade vegetal, poderão ainda trazer importantes informações acerca dos fatores que afetam o sucesso do estabelecimento de plantas em florestas tropicais. Dessa forma, as informações geradas pelos resultados da presente tese contribuem para maior compreensão da relação mutualística entre plantas mirmecófitas e suas formigas, e para o desenvolvimento da teoria de defesa de plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENSON, W. W. 1985. Amazon ant-plant. In G. T. Prance and T. Lovejoy (Eds.). Amazonia, pp. 239-266. Pergamon Press, Oxford, UK.
- BERG, C. C., AND P. F. ROSSELLI. 2005. Cecropia. Flora Neotropica. Monograph 94. The New York Botanical Garden, Bronx, New York.
- BOEGE, K. 2005. Herbivore attack in *Casearia nitida* influenced by plant ontogenetic variation in foliage quality and plant architecture. *Oecologia*. 143: 117-125.
- BOEGE, K. AND R. J. MARQUIS. 2005. Facing herbivory as you grow up: The ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology & Evolution* 20: 441-448.
- BRONSTEIN, J. L., R. ALARCÓN AND M. GEBER. 2006. The evolution of plant–insect mutualisms. *New Phytologist* 172 : 412–428.
- BRYANT, J. P., F. S. CHAPIN, D. R. KLEIN. 1983. Carbon/nutrient balance in boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos* 40: 357-368.
- CAMPOS, R. I. 2005. Emergence pattern of myrmecophytic food reward structures in *Cecropia pachystachya*. *Sociobiology* 45:355-365.
- COLEY, P. D. 1983. Intraspecific variation in herbivory on two tropical tree species. *Ecology*. 64: 426-433.
- COLEY, P. D., BRYANT, J. P., CHAPIN, F. S. 1985. Resource availability and plant anti-herbivore defense. *Science* 230: 895-899.
- COLEY, P. D. 1986. Costs and benefits of defense by tannins in a neotropical tree. *Oecologia*. 70: 238-241.
- COLEY, P. D., AND J. A. BARONE. 1996. Herbivory and plant defences in tropical forests. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27: 305-35.

- COLEY, P. D., AND J. A. BARONE. 2001. Ecology of Defenses, Pages 11-21, In: S. Levin (ed.). Encyclopedia of Biodiversity. Vol 2.
- CRAWLEY, M. J. 1997. Plant–herbivore dynamics. pp. 401–474. In M. J. Crawley (Ed.) Plant ecology. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- DAVIDSON, D. W. 2005. Cecropia and its biotic defenses. In C. C. Berg, and P. F. Rosselli (Eds.). Cecropia. Flora Neotropica. Monograph 94. pp. 214–226. The New York Botanical Garden, Bronx, New York.
- DAVIDSON, D. W. AND B. L. FISHER. 1991. Symbiosis of ants with Cecropia as a function of light regime. In: Ant-Plant Interactions (C. R. Huxley & D.F.Cutler, eds.), Oxford University Press, Oxford, p.289-309.
- DAVIES, S. J., S. K. LUM AND L. K. WANG. 2001. Evolution of myrmecophytism in western Malesian Macaranga (Euphorbiaceae). Evolution 55:1542-59.
- ENDARA, M-J. AND P. D. COLEY. 2010. The Resource Availability Hypothesis revisited: a meta-analysis. Functional Ecology. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01803.x>
- FEENY, P. 1976. Plant apparency and chemical defense. Recent Advances in Phytochemistry (eds J.W. Wallace & R.L. Mansell), pp. 1–40. Plenum Press, New York.
- HANLEY, M. E., B. L. LAMONT, M. M. FAIRBANKS, AND C. M. RAFFERTY. 2007. Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. 8: 157-178.
- HEIL, M., A. HILPERT, B. FIALA, K. E. LINSENMAIR. 2001. Nutrient availability and indirect (biotic) defence in a Malaysian ant-plant. Oecologia. 126: 404-408.
- HEIL, M., AND D. MCKEY. 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 34: 425-453.

- HERMS, D. A. AND W. J. MATTSON. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology* 67: 283-335.
- JANZEN, D. H. 1966. Coevolution of mutualism between ants and Acacias in Central America. *Evolution* 20: 249-275.
- JANZEN, D. H. 1969. Allelopathy by myrmecophytes: the ant *Azteca* as an allelopathic agent of *Cecropia*. *Ecology* 50:147-153.
- LLANDRES, A. L., M. A. RODRIGUEZ-GIRONES, AND R. DIRZO. 2011. Plant stages with biotic, indirect defences are more palatable and suffer less herbivory than their undefended counterparts. *Biological Journal of the Linnean Society* **101**:536-543.
- LONGINO, J. T. 1991. *Azteca* ants in *Cecropia* trees: taxonomy, colony structure, and behavior. In C. R. Huxley, and D. F. Cutler (Eds.). *Ant-plant interactions*. pp. 271-288. Oxford University Press, Oxford.
- MARQUIS, R. J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science*. 226: 537-539.
- MASSAD, T. J., R. M. FINCHER, A. M. SMILANICH, AND L. DYER. 2011. A quantitative evaluation of major plant defense hypotheses, nature versus nurture, and chemistry versus ants. *Arthropod-Plant Interactions* 5: 125-139.
- MOON, D. C., A. M. ROSSI, J. DEPAZ, L. MCKELVEY, S. ELIAS, E. WHEELER, AND J. MOON. 2010. Ants provide nutritional and defensive benefits to the carnivorous plant *Sarracenia minor*. *Oecologia* 164: 185-192.
- OHATA, M., A. FURUMOTO, AND N. OHSAKI. 2010. Local adaptations of larvae of the butterfly *Pieris napi* to physical and physiological traits of two *Arabis* plants (Cruciferae). *Ecological Research* 25: 33-39.

- OLIVEIRA, P. S. AND M. R. PIE. 1998. Interaction between ants and plants bearing extrafloral nectaries in cerrado vegetation. *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil* 27: 161-176.
- PRINGLE, E. G, R. DIRZO, AND D. M. GORDON. 2011. Indirect benefits of symbiotic coccoids for an ant-defended myrmecophytic tree. *Ecology* 92: 37-46.
- ROSUMEK, F. B., F. A. O. SILVEIRA, F. D. S. NEVES, N. P. D. U. BARBOSA, L. DINIZ, Y. OKI, F. PEZZINI, G. W. FERNANDES, AND T. CORNELISSEN. 2009. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia* 160: 537-549.
- SAGERS, C. L., S. M. GINGER, AND R. D. EVANS. 2000. Carbon and nitrogen isotopes trace nutrient exchange in an ant-plant mutualism. *Oecologia*. 123: 582-586.
- SCHUPP, E. W. 1986. Azteca protection of *Cecropia*: Ant occupation benefits juvenile trees. *Oecologia*. 70: 379-385.
- TURLEY, N. E., R. M. GODFREY, M. T. J. JOHNSON. 2013. Evolution of mixed strategies of plant defense against herbivores. *New Phytologist* 197: 359–361.
- YU, D. W., AND D. W. DAVIDSON. 1997. Experimental studies of species-specificity in *Cecropia*-ant relationships. *Ecological Monographs* 67: 273-294.