

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre

“Assimetria Flutuante como bioindicadora de mudanças ambientais e interações tróficas em *Cecropia pachystachya* (Urticaceae)”

Gisele Medeiros Mendes

Belo Horizonte,

2014

Gisele Medeiros Mendes

“Assimetria Flutuante como bioindicadora de mudanças ambientais e interações tróficas em *Cecropia pachystachya* (Urticaceae)”

Orientadora: Dra. Tatiana G. Cornelissen

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre, da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de mestre.

Belo Horizonte,

2014

Financiamentos:



Fundação de Amparo à Pesquisa do
Estado de Minas Gerais



Apoios e Colaborações:



AGRADECIMENTOS

Profa. Dr. Tatiana G. Cornelissen, minha orientadora, obrigada pela honestidade, seriedade, respeito, credibilidade, competência, dedicação, questionamentos e enormes contribuições. Obrigada pelo carinho. Admiro-te imensamente, e espero ter aprendido um pouco com teu exemplo, tanto na esfera pessoal quanto profissional.

Professores deste programa de pós-graduação, obrigada pelo conhecimento compartilhado e pela seriedade com que realizam seu trabalho.

Funcionários do Instituto de Ciências biológicas-UFMG, em especial aos secretários do curso Frederico e Cristiane por todo o apoio administrativo, pelo carinho, e por estarem sempre dispostos a ajudar.

Colegas do Programa de Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre, em especial à turma do “Zoca”, e a Babí, obrigada por compartilharem suas experiências, bem como pela amizade, apoio, incentivo e carinho.

Aos professores Dr. Frederico de Siqueira Neves e Dr. Tadeu José de Abreu Guerra por aceitarem gentilmente o convite para avaliar este trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Gleizer, obrigada por tudo! Pelo apoio, suporte, amizade, amor, lições...

Aos meus irmãos, Ivan e Ciro, pelo exemplo, carinho e apoio.

À família Mendes, em especial, meus queridos primos, pelo carinho e por acreditarem em mim.

Aos meus afilhados, Pedro e Rihana, obrigada por fazerem dos meus dias mais coloridos.

Tia Perpétua, obrigada por acreditar em mim, pelo apoio, amor e exemplo de força e perseverança.

À Rafaela Missagia, pela amizade e carinho, sem os quais meus dias de pós-graduação teriam sido muito mais difíceis.

À Maria Gabriela pela amizade e apoio.

Amigos de Ouro Preto, São João Del Rei e novos amigos de Belo Horizonte, obrigada por tudo!

Por último, e sem dúvida os mais importantes, meus pais, José Geraldo e Crizete pelo ombro amigo... amor, apoio, orientação, carinho, afeto e dedicação infinita.

*Sem o apoio de cada um de vocês, nada disso teria sido possível.
Meus sinceros agradecimentos.*



Resumo Geral

Este trabalho é o resultado de um estudo realizado com a espécie vegetal *Cecropia pachystachya* (Urticaceae) nas regiões central e campo das vertentes do estado de Minas Gerais, Brasil. *C. pachystachya* é uma espécie importante na recolonização de clareiras naturais e áreas fragmentadas, sendo muito abundante em estradas.

O primeiro capítulo consiste em um estudo dos efeitos da poluição proveniente de estradas e da indústria mineradora no desenvolvimento e nas interações de herbivoria de *C. pachystachya*. Foram calculados índice de assimetria flutuante (FA) foliar e taxas de herbivoria para 20 indivíduos em três estradas, seguindo uma escala de poluição, além de estudos em área controle (n=80). Foi avaliado se a poluição é capaz de provocar maiores desvios no eixo de simetria de folhas de *C. pachystachya*. Além disso, foi investigado se plantas expostas a poluição apresentam melhor qualidade foliar, e portanto, maiores valores de área foliar perdida. Nós não encontramos diferença significativa de assimetria foliar entre as plantas nos diferentes sítios, sugerindo que a poluição não representa um fator de estresse capaz de gerar diferenças no desenvolvimento e, conseqüentemente, na assimetria das folhas da espécie em estudo. As taxas de herbivoria foram maiores em plantas expostas a um maior nível de poluição, o que pode ser explicado devido a um aumento da disponibilidade de nutrientes, como maior disponibilidade de nitrogênio.

O segundo capítulo consiste em um estudo experimental para avaliar o papel de formigas como defesas bióticas em indivíduos de *Cecropia pachystachya* com qualidade nutricional diferente através da manipulação de fatores do tipo *bottom-up* e *top-down*. Para tanto, foram utilizados quatro tratamentos, em um desenho fatorial completo, com 15 réplicas em cada tratamento: 1) plantas controle, sem manipulação; 2) plantas fertilizadas, formigas não manipuladas; 3) plantas não fertilizadas e formigas excluídas e 4) plantas fertilizadas e formigas excluídas. A fertilização e a exclusão de formigas aumentaram significativamente o dano foliar somente para a guilda de insetos mastigadores ($H= 2.589$ $p= 0.002$). Para insetos raspadores não observou-se um padrão claro de distribuição entre os tratamentos e não foi detectada a presença de insetos minadores nas plantas amostradas. Nossos resultados reforçam o papel das formigas como defesa biótica em *C. pachystachya*. Foi demonstrado também que insetos herbívoros mastigadores em *C. pachystachya*, respondem mais fortemente a efeitos *bottom-up* (qualidade da planta hospedeira) do que a efeitos *top-down* (pressão de inimigos naturais).



Introdução Geral

Cecropia, popularmente conhecida como embaúbas, é o maior gênero na família Urticaceae. Compreende aproximadamente 61 espécies reconhecidas e ocorre principalmente nas regiões tropicais, sendo um dos grupos mais importantes de árvores pioneiras nestas regiões (Berg & Rosselli 2005).

Em geral, são árvores de crescimento rápido, comuns e ecologicamente importantes, principalmente em áreas degradadas, vegetação de beira de estrada, regeneração secundária, e em estágios iniciais de sucessão, quando elas são frequentemente dominantes no dossel (Davis 1970, Longino 1989). Geralmente são árvores de pequeno a médio porte, pouco ramificadas, variando entre cinco e 20 m de altura, com troncos variando de 15 a 25 cm de diâmetro (Berg & Rosselli 2005).

A maioria das plantas do gênero *Cecropia*, na região Neotropical, são mirmecófitas, ou seja, ocorrem principalmente em associações mutualísticas com formigas (Del Val & Dirzo 2003). É uma associação amplamente difundida no reino vegetal, sendo que nesta interação, as formigas associadas recebem recompensas como abrigo e alimento e, em contrapartida, as plantas são defendidas contra herbívoros e parasitas (Jansen 1966, Schupp 1986, revisão em Rosumek *et al.* 2009).

Nos neotrópicos, uma das mais importantes associações mutualísticas entre formigas e plantas é entre organismos do gênero *Azteca* e *Cecropia* (Fáveri & Vasconcelos 2004). Nestas interações, as espécies de plantas exibem estruturas especializadas (Fig. 1), como por exemplo: 1) domáceas, pequenos orifícios ocios não vascularizados nos entrenós que servem como abrigo para as formigas (Yu & Davidson 1997); 2) prostoma, um ponto pré-formado em cada entrenó que permite a entrada das rainhas fundadoras nas hastes (Yu & Davidson 1997); e (3) triquílias, presentes em regiões pilosas na base dos pecíolos foliares, que produzem



continuamente os corpúsculos müllerianos, que são estruturas ricas em glicogênio e por sua vez são colhidos pelas formigas associadas (Rickson 1971, Holldobler & Wilson 1990).

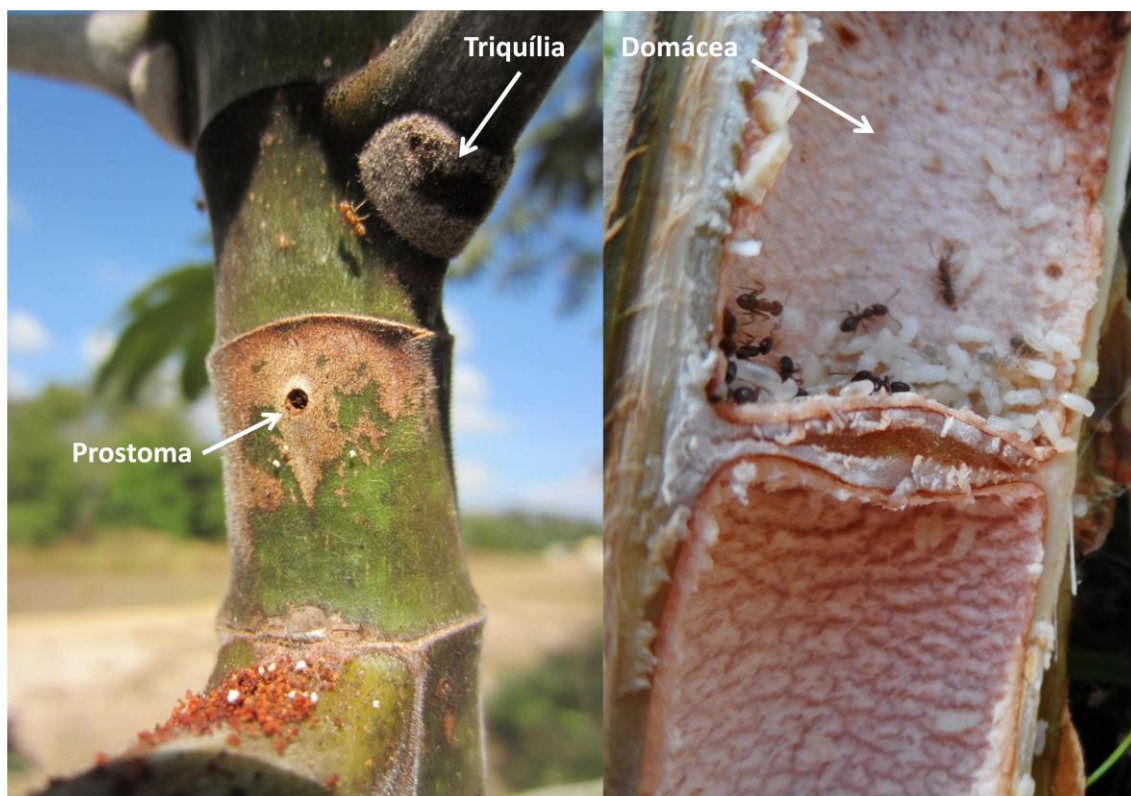


Fig. 1: Detalhes das estruturas de *Cecropia* importantes para associação com formigas. Triquília, denso indumento na base do pecíolo da folha de *C. pachystachya*. Prostoma, locais enfraquecidos nas paredes do tronco abaixo dos septos internodais. Domáceas, pequenos orifícios ocios não vascularizados nos entrenós.

Árvores de *Cecropia*, por sua vez, podem se beneficiar das formigas de várias maneiras. *Aztecans* removem insetos herbívoros como coleópteros e formigas cortadeiras do gênero *Atta* (Schupp 1986, Rocha & Bergallo 1992, Vasconcelos & Casimiro 1997) além de cortar e remover lianas parasitas que tentam escalar os troncos da árvore hospedeira, agindo assim como um agente protetor da planta (Jansen 1969, Schupp 1986). Além da proteção, as formigas também podem prover nutrientes para as plantas, pois, apesar de consumirem produtos vegetais, elas fornecem mais nutrientes do que recebem. Isto porque, por dependerem de outras fontes para alimentação, além do seu hospedeiro, detritos depositados



por estes organismos são uma rica fonte de nitrogênio disponível para a planta (Sagers et al. 2000).

No Brasil, na região extra-amazônica, cinco espécies de *Cecropia* são reconhecidas: *Cecropia hololeuca*, *Cecropia saxatilis*, *Cecropia palmata*, *Cecropia glaziovii* e a espécie mais comum *Cecropia pachystachya* (Berg & Rosselli 2005), que é uma das espécies arbóreas mais abundantes no estado de Minas Gerais, facilmente reconhecidas por suas folhas grandes, circulares, lobadas, com até 40 cm de diâmetro e excentricamente ligadas ao pecíolo (Fig. 2), e tal espécie foi avaliada nesse estudo.

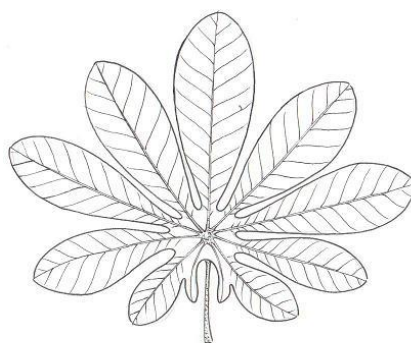


Figura 2. Representação esquemática da folha de *Cecropia pachystachya*.

Este trabalho é o resultado de um estudo realizado com *C. pachystachya* nas regiões central e campo das vertentes, no estado de Minas Gerais, Brasil. Esta dissertação está dividida em dois capítulos. O primeiro capítulo consiste em um estudo dos efeitos da poluição proveniente de estradas e da indústria mineradora no desenvolvimento e herbivoria em *C. pachystachya*. O segundo capítulo consiste em um estudo experimental para avaliar o papel de formigas como defesa biótica em *Cecropia* através da manipulação de fatores do tipo *bottom-up* e *top-down*.



Capítulo I: Assimetria flutuante e herbivoria em *Cecropia pachystachya* (Urticaceae) ao longo de um gradiente de poluição

Gisele Medeiros Mendes^{1*} e Tatiana G. Cornelissen²

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, ² Universidade Federal de São João Del Rei.

*gimendes_bio@yahoo.com.br

Resumo

O crescente aumento do tráfego rodoviário e da extração mineral sugere que a poluição sobre a vegetação é intensa, e pouco se sabe sobre os efeitos dessa poluição nas plantas e comunidade de insetos herbívoros associados. A assimetria flutuante (FA), representada por pequenas variações aleatórias na simetria de caracteres bilaterais, tem sido amplamente usada como indicativo de instabilidade no desenvolvimento de plantas e animais, sendo uma ferramenta importante para a avaliação das respostas biológicas ao estresse ambiental. Plantas expostas ao estresse abiótico podem ter os níveis de herbivoria maiores devido a um aumento da disponibilidade de nutrientes, e pouco se sabe como as taxas de herbivoria se modificam com o impacto de estradas. Nesse sentido, o presente estudo avaliou se a poluição oriunda de estradas e da indústria mineradora é capaz de provocar maiores desvios no eixo de simetria de folhas de *Cecropia pachystachya*. Além disso, foi investigado se plantas expostas a poluição apresentam melhor qualidade foliar, e portanto, maiores valores de área foliar perdida. Foram coletadas dez folhas de 20 indivíduos de *C. pachystachya* em três estradas com diferentes níveis de poluição e área controle (n=80 plantas). FA foi calculada como a diferença entre as larguras direita (RW) e esquerda (LW) da folha, usando-se a nervura central como referência, e o índice de assimetria flutuante por planta foi calculado ($FA_{index} = |RW-LW| / N$, onde N representa o número de medidas realizadas). A área foliar perdida foi determinada através da razão entre a área foliar total e a área foliar perdida. Nós não encontramos diferença significativa de assimetria foliar entre as plantas dos diferentes sítios ($p=0.079$), sugerindo que a poluição não representa um fator de estresse capaz de gerar diferenças no desenvolvimento e, conseqüentemente, na assimetria das folhas da espécie em estudo. Uma relação positiva entre as taxas de área foliar perdida e gradiente de poluição foi verificada ($p<0.05$). Observou-se ainda diferença nas concentrações de nitrogênio entre as áreas amostradas ($p<0.001$). O presente trabalho indica que o estresse ambiental em *Cecropia pachystachya* parece ser independente das variações morfológicas, ou seja, para a espécie em questão, medidas de FA não podem ser utilizadas como indicadores de exposição ao estresse. Desta forma, pode ser interessante medir outras variáveis fisiológicas, como concentração de compostos de defesa e alterações na proporção de nutrientes para defesas químicas. Além disso, os resultados sugerem que indivíduos sob impacto das estradas podem ser mais susceptíveis ao ataque de insetos por apresentarem características nutricionais, como maior disponibilidade de nitrogênio, que podem influenciar a escolha por insetos herbívoros.

Palavras chave: *Cecropia pachystachya*, assimetria flutuante, herbivoria, qualidade da planta, poluição.



Abstract

The traffic and the mineral extraction increasing suggests that pollution on vegetation is intense, and little is known about the effects of pollution on plants and herbivorous insects associated community. The fluctuating asymmetry (FA) represents small, random variations in the symmetry of bilateral characters, and it has been widely used as an indicator of developmental instability of plants and animals. Recently, it has become an important tool for evaluating the biological responses to environmental stress. Plants exposed to abiotic stressors may have higher levels of herbivory due to increased availability of nutrients, but little is known about how the rates of herbivory are modified with the impact of roads. In this context, the present study evaluated whether roads and the mining industry pollution can cause major deviations in the axis of symmetry of leaves of *Cecropia pachystachya*. Furthermore, it was investigated whether plants exposed to pollution have better leaf quality and, therefore, larger values of leaf area removed by herbivores. Ten leaves of 20 individuals of *C. pachystachya* were collected on three roads with different levels of pollution and also in a control area ($n = 80$ plants). FA was calculated as the difference between the right (RW) and left (LW) leaf widths, using the midrib as a reference, and the index of fluctuating asymmetry was calculated per plant as $FA\ index = | RW-LW | / N$, where N represents the number of measurements taken. Leaf area removed was determined by the ratio between total leaf area and leaf area removed. There was no significant difference in FA amongst plants of different sites ($p = 0.079$), suggesting that pollution might not be a stress factor that can generate differences in leaf development and, consequently, in leaf asymmetry of this species. A positive relationship between rates of leaf area removed and gradient of pollution was observed ($p < 0.05$). Also, there was a significant difference in foliar nitrogen concentration amongst sampling areas ($p < 0.001$). This study indicated that environmental stress in *Cecropia pachystachya* appears to be independent of leaf morphological variation, and, for this species, FA measurements cannot be used as an indicator of exposure to stress. Thus, it may be interesting to measure other physiological variables such as concentration of defensive compounds and changes in the ratio of nutrients to chemical defenses. Furthermore, our results suggested that individuals under the impact of roads may be more susceptible to insect attack, exhibiting variable nutritional characteristics - such as increased availability of nitrogen - which may influence the choice by herbivorous insects.

Keywords: *Cecropia pachystachya*, fluctuating asymmetry, herbivory, plant quality, pollution.



Introdução

Atualmente, a maioria dos ecossistemas naturais tem sido alterados pelo homem por diferentes maneiras (Söderman *et al.* 2007). Mudanças na estrutura de comunidades e no funcionamento dos ecossistemas após perturbações de origem antrópica são de interesse central para a ecologia, e um dos grandes desafios dos ecólogos é o entendimento dos fatores que afetam a resiliência de tais funções ecossistêmicas (Moretti *et al.* 2006).

Dentre as perturbações de origem antrópica que afetam o funcionamento de ecossistemas destacam-se as estradas e as atividades relacionadas à mineração (Spellerberg 2007, Zvereva & Kozlov 2010), que são fundamentais para o desenvolvimento econômico da sociedade, no entanto, podem impactar de forma negativa a biota adjacente (Monteiro 2005, Spellerberg 2007, Mechi & Sanches 2010).

Historicamente a indústria mineradora está sujeita a uma imagem negativa junto à sociedade devendo-se a consequências de suas atividades que alteram o ecossistema em grandes áreas através de exposição de resíduos, da supressão de cobertura vegetal, da alteração de corpos d'água ou da escavação de grandes volumes de terra (Taveira 2003, Candia *et al.* 2009, Mechi & Sanches 2010).

O sistema rodoviário está entre as fontes mais comuns de poluição, principalmente através da produção de poeira, seja ela produzida pelo escapamento de carros ou de sua própria superfície (Farmer 1993). E a deposição de poeira é um dos principais poluentes e distúrbios oriundos da estrada que afetam a biota, podendo ter impactos sobre a vegetação, incluindo desde a destruição de células vegetais, bloqueio de estômatos, mortalidade, até mesmo, mudanças nas comunidades de invertebrados associados (Farmer 1993, Spellerberg 2007). Tais impactos são ainda mais agravados em estradas não pavimentadas, onde a produção de poeira é maior (Farmer 1993, Reis *et al.* 2013).



Assim, faz-se necessária a busca de bioindicadores sensíveis para serem utilizados na conservação e manejo de populações perturbadas, que sejam capazes de detectar mudanças na performance dos indivíduos afetados e conseqüentemente na estrutura das comunidades biológicas associadas às estradas e indústria mineradora.

A assimetria flutuante (FA), representa pequenas variações aleatórias na simetria de caracteres bilaterais e é um parâmetro amplamente usado como medida de instabilidade de desenvolvimento em plantas e animais (Díaz *et al.* 2004). A avaliação de FA na morfologia de um organismo está emergindo rapidamente como uma ferramenta importante para a avaliação das respostas biológicas ao estresse ambiental (Fair & Breshears 2005). Em uma recente meta-análise, Beasley *et al.* (2013) demonstraram que a assimetria flutuante é um bioindicador sensível ao estresse ambiental, ao revisar 53 estudos que revisaram 42 espécies e 179 relações entre indivíduos e o meio biótico ou abiótico. O estresse ambiental, no geral, explicou 36% da variação da FA nos estudos revisados e tal relação foi ainda mais forte para estresse de origem antropogênica comparado ao estresse de origem 'natural'.

A instabilidade de desenvolvimento - um indicativo de estresse ambiental ou genético (Polak 2003) - é a inabilidade de um genótipo produzir o mesmo fenótipo em um ambiente em particular ou em certas condições (Moller & Saddle 1997). Uma vez que o desenvolvimento de ambos os lados de um caractere bilateral estão sob o controle dos mesmos genes, o grau de assimetria de um organismo indica interferências durante o processo de desenvolvimento em certas condições bióticas e abióticas (Palmer 1996, Moller & Saddle 1997). Conseqüentemente, o efeito fenotípico é observado em padrões de desvio de determinados caracteres, padrões esses controlados e influenciados pelo genótipo e pelo ambiente (Van Dongen *et al.* 2009).

Aumentos significativos da assimetria flutuante foram estudados para diversas espécies de plantas e animais em resposta a vários tipos de estresse, incluindo fatores ambientais, como



condições climáticas (Wilsey *et al.* 1998, Valkama & Kozlov 2001), poluição (Kozlov *et al.* 1996), urbanização (Weller & Ganzhorn 2004), e deficiência ou excesso de nutrientes (Moller 1995).

Para plantas, a assimetria flutuante é normalmente medida através de desvios de um eixo de simetria, normalmente usando-se a nervura central ou distâncias entre nervuras periféricas como eixos de referência. Nestes casos, a hipótese de trabalho é que organismos que se desenvolvem em ambientes livres de estresse são capazes de corrigir erros aleatórios no desenvolvimento (Freeman *et al.* 2004) e assim não são produzidos desvios do eixo de simetria bilateral. À medida que o estresse ambiental aumenta, a habilidade de resistir a perturbações no desenvolvimento ou a resiliência dos organismos em se recuperar de tais perturbações resulta em instabilidades ou erros de desenvolvimento, que podem ser facilmente medidos como desvios da simetria (revisado por Moller & Saddle 1997, Hoffman & Woods 2003). Nestes casos, a assimetria flutuante é maior em populações estressadas comparadas a populações controle ou a populações sob menor nível de estresse.

Além de ser um indicativo de estresse, a assimetria flutuante em folhas pode ser usada por insetos herbívoros como um previsor da qualidade da planta, influenciando positivamente a abundância dos insetos (Cornelissen & Stiling 2005). De acordo com a hipótese do estresse das plantas (PSH) proposta por White (1969) e White (1984), plantas expostas ao estresse abiótico podem ter os níveis de herbivoria maiores devido a um aumento da disponibilidade de nutrientes, a diminuição da concentração de compostos de defesa e/ou alterações na proporção de nutrientes para defesas químicas. Estudos anteriores realizados principalmente com plantas lenhosas indicam uma relação positiva entre assimetria flutuante e herbivoria (veja Cornelissen & Stiling 2011), indicando que a assimetria pode ser usada como indicativo da qualidade da planta e susceptibilidade ao ataque de insetos herbívoros.



Com mais de um milhão de espécies descritas, os artrópodes, comumente encontrados em diferentes ambientes - tanto naturais quanto modificados - desempenham diversos papéis nos ecossistemas (Price 1997, Zvereva & Kozlov 2010). Em recente revisão, demonstrou-se que tanto a riqueza quanto a abundância de insetos é maior em áreas impactadas pela poluição que em áreas não impactadas (Zvereva & Kozlov 2010). Se considerarmos insetos como organismos modelo, por exemplo, pouco se sabe sobre como as taxas de herbivoria se modificam com o impacto de estradas. O entendimento dos mecanismos através dos quais as estradas trazem impactos na biota terrestre tem grandes aplicações práticas para o aferimento da saúde de um determinado ecossistema, assim como para a sugestão de medidas mitigadoras que minimizem ou controlem estes impactos.

Neste contexto, este estudo teve como objetivos (1) usar a assimetria flutuante de *Cecropia pachystachya*, como indicativo de estresse ambiental ao avaliar a variação da FA em áreas sob diferentes graus de poluição e (2) investigar de maneira observacional como as interações tróficas de herbivoria em *C. pachystachya* se modificam nesses ambientes impactados. As seguintes hipóteses foram testadas: 1) A assimetria flutuante em *C. pachystachya* é maior em áreas onde a poluição é mais intensa comparada a áreas onde o nível de poluição é menor 2) Folhas de *C. pachystachya* em áreas onde a poluição é mais intensa diferem em qualidade nutricional de folhas presentes em áreas onde o nível de poluição é menor, e 3) as taxas de herbivoria em *C. pachystachya* são maiores nas áreas onde a poluição é mais intensa comparadas à co-específicas em áreas menos impactadas, ou seja, onde o nível de poluição é menor.



Materiais e métodos

Sistema de estudo

Cecropia, popularmente conhecida como embaúbas, é o maior gênero na família Urticaceae, compreendendo aproximadamente 61 espécies reconhecidas. Ocorre principalmente nas regiões tropicais, sendo um dos grupos mais importantes de árvores pioneiras nestas regiões (Berg & Rosselli 2005). No Brasil, na região extra-amazônica, cinco espécies de *Cecropia* são reconhecidas, sendo *Cecropia pachystachya* uma das espécies arbóreas mais abundantes no estado de Minas Gerais (Bocchese *et al.* 2008) e foi avaliada nesse estudo. *Cecropia pachystachya* é uma espécie importante na recolonização de clareiras naturais e áreas fragmentadas, sendo muito abundante em estradas.

Áreas de estudo

O estudo foi realizado nas regiões central e campo das vertentes do estado de Minas Gerais, Brasil, em três estradas com diferentes graus de poluição e uma área controle (Fig. 1 e 2): 1- *Estrada de Miguel Burnier (MB)*: localizada no quadrilátero Ferrífero em Minas Gerais, no entorno das mineradoras Gerdau Açominas e Namisa (20°27'0.20"S; 43°45'53.00"O), área de maior impacto ambiental, não pavimentada, com forte influência das mineradoras e tráfego intenso de caminhões; 2- *Estrada real (ER)*: trecho entre os municípios de Ouro Preto e Ouro Branco (20°27'47.03"S; 43°35'23.93"O), área intermediária de impacto ambiental, com influência apenas da estrada pavimentada com tráfego intenso; 3- *Estrada Parque (EP)*: localizada entre os municípios de Prados e Tiradentes (21°05'52.05"S; 44°08'44.08"O), área intermediária de impacto ambiental, com influência apenas da estrada não pavimentada com tráfego moderado; e 4- *Área de Proteção Ambiental Serra de São José (APA)*: entre os municípios



de Santa Cruz de Minas e Tiradentes ($21^{\circ}06'55.87''S$; $44^{\circ}11'27.75''O$), como população controle.

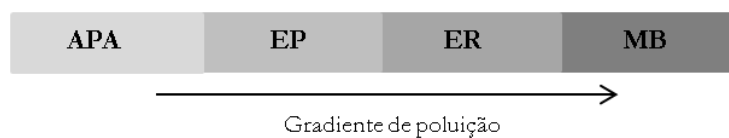


Fig. 1 Gradiente de poluição nas áreas amostradas: área controle (APA), seguido de Estrada Parque (EP), Estrada Real (ER), e Miguel Burnier (MB).



Fig. 2 Áreas de amostragem: 1. Miguel Burnier (MB), estrada não pavimentada com tráfego intenso de caminhões e influência da indústria mineradora, 2. Estrada real (ER), pavimentada, com tráfego intenso; 3. Estrada Parque (EP), não pavimentada, com tráfego moderado; e 4. Área de Proteção Ambiental Serra de São José (APA), população controle.

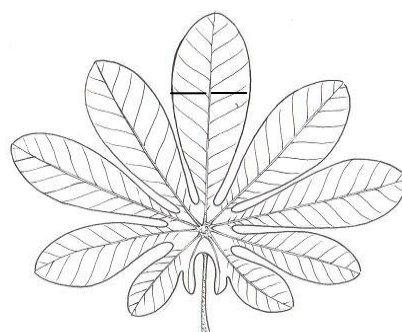


Amostragem

Padrões de assimetria foliar, qualidade nutricional das plantas e herbivoria foram examinados para 80 indivíduos de *C. pachystachya* entre agosto e dezembro de 2013. Foram selecionados 20 indivíduos em cada um dos quatro sítios de estudo e de cada árvore, foram coletadas no dossel dez folhas que foram imediatamente prensadas e herborizadas. As folhas de cada indivíduo foram separadas em dois grupos: cinco folhas foram usadas para estimar a herbivoria e cinco folhas intactas foram utilizadas para análises de FA. A altura e o diâmetro à altura do peito (DAP) foram registrados como estimador de tamanho/idade, uma vez que a assimetria flutuante pode variar com a idade e tamanho dos indivíduos.

Medidas de Assimetria Flutuante

Para avaliar os níveis de assimetria flutuante, FA foi determinada como a diferença entre as larguras direita (RW) e esquerda (LW) da folha, usando-se a nervura central como referência, dividido pelo fator de correção N, que é o número de medidas realizadas (veja medidas na Fig. 3).



$$FA_{\text{index}} = (| RW-LW |) / N$$

Fig. 3 Representação esquemática das medidas de assimetria flutuante em folha de *Cecropia* (veja texto para descrição das variáveis) e índice de assimetria flutuante (FA Index).

Estas distâncias foram medidas após digitalização de cada folha utilizando o software Image J. As folhas de *C. pachystachya* variam no número de lóbulos, podendo exibir de sete a



12, assim as medições foram feitas entre o primeiro e segundo lóbulo em metade das folhas e entre o primeiro e o último lóbulo na outra metade.

Medidas de qualidade nutricional

Para verificar se existe estresse ambiental em *Cecropia pachystachya*, que é independente das variações morfológicas, cada folha, ainda em campo, foi usada para tomar medidas de eficiência fotoquímica, usando-se um medidor portátil de fluorescência de clorofila (Minolta SPAD 502DL). O SPAD 502L é um equipamento que permite medidas rápidas e produz estimativas confiáveis de clorofila foliar (Richardson *et al.* 2002, Gáborcik 2003, Ferrier *et al.* 2004). O teor de clorofila (Chl) na folha é utilizado para predizer o estado nutricional em plantas, devido ao fato da quantidade desse pigmento correlacionar-se positivamente com teor de nitrogênio foliar (Yoder & Pettigrew-crosby 1995). Portanto, a quantificação do conteúdo de Chl permite uma medida indireta do estado nutricional foliar (Moran *et al.* 2000).

Foram tomadas ainda em campo, medidas de espessura foliar usando-se um micrômetro digital, já que esta pode aumentar com o grau de poluição em resposta á processos fisiológicos e morfológicos, como por exemplo para evitar perda de água (Maranho *et al.* 2006). Sabe-se ainda que a espessura foliar influencia as taxas de herbivoria por atuar como barreira física ao ataque por insetos herbívoros (Lucas *et al.* 2000).

Medidas de herbivoria

A fim de verificar o efeito da poluição nas taxas de herbivoria de *Cecropia*, foram analisadas cinco folhas para cada um dos 20 indivíduos em cada área. As taxas de herbivoria por insetos mastigadores foram quantificadas através da digitalização e posterior mensuração da área foliar total e área foliar removida em plantas de todos os grupos com o auxílio do software Image J. Para insetos minadores foi determinada a frequência de ocorrência de minas



em cada uma das áreas e a ocorrência de insetos raspadores foi identificada através de matrizes de presença/ausência.

Análise de dados

Identificam-se padrões verdadeiros de assimetria flutuante se os valores de RW-LW são normalmente distribuídos, com um valor médio que não se desvia significativamente de zero, refletindo assim desvios aleatórios a partir do fenótipo de simetria bilateral. Para testar se existem padrões verdadeiros de FA em *C. pachystachya* utilizou-se testes t de uma amostra (usando-se $\mu=0$), o teste de normalidade de Lilliefors.

Todas as variáveis analisadas neste estudo foram submetidas inicialmente ao teste de Lilliefors para testar a normalidade dos dados e quando necessárias, transformações do tipo log (e $\log x+1$, onde x é a variável de interesse) foram empregadas para homogeneizar as variâncias e linearizar os dados.

A fim de verificar se existem diferenças nos valores de FA entre os sítios e avaliarmos a influência da poluição na concentração de nitrogênio e espessura foliar foi realizada uma análise de variância de um fator (One-Way ANOVA), seguido pelo teste *a posteriori* de Tukey para comparação entre as médias. Foi feita ainda, uma regressão linear simples para testar se o conteúdo de nitrogênio está diretamente relacionado ao nível de FA das plantas, usando-se a média das cinco folhas por indivíduos como réplica da variável independente.

Para verificar os efeitos da poluição nas taxas de herbivoria por insetos mastigadores, primeiro foi realizada uma análise de variância para testar se há diferença na área foliar total entre os sítios. Como não houve diferença ($F_{3,76}=1.988$, $p=0.123$), usamos a área foliar removida total como medida de herbivoria, e não a porcentagem de área removida. Em seguida, para analisarmos as diferenças de área foliar removida por insetos mastigadores e



frequência de ocorrência de insetos minadores entre os sítios, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado. As análises foram conduzidas no SYSTAT 12.

Resultados

Padrões de assimetria flutuante ao longo de um gradiente de poluição

Das 779 folhas medidas de *Cecropia*, apenas 13 foram perfeitamente simétricas (RW-LW=0), representando apenas 1.7% dos casos e foram detectados padrões verdadeiros de assimetria flutuante em *Cecropia pachystachya* (Fig. 4). Os valores de FA (RW-LW) foram distribuídos normalmente e não se desviam significativamente de zero no conjunto de dados testados, mostrando que não há nenhuma evidência de antissimetria ou simetria direcional ($t=0.779$, $p=0.436$). O menor valor de FA encontrado foi zero e o maior valor 1.610 (média=0.237, SD=0.244). Indivíduos de *Cecropia pachystachya* em áreas sob influência da atividade mineradora e da estrada com tráfego intenso apresentaram os maiores níveis de assimetria flutuante (Fig. 5), mas a diferença entre as quatro áreas não foi estatisticamente significativa ($F_{3,76}=2.34$, $p=0.07$). Plantas coletadas na área sob influência da estrada e também da indústria mineradora (MB) apresentaram valor médio de FA = 0.279, enquanto plantas da área controle (APA), sem impacto da estrada e da mineração, apresentaram valor médio de FA = 0.185.

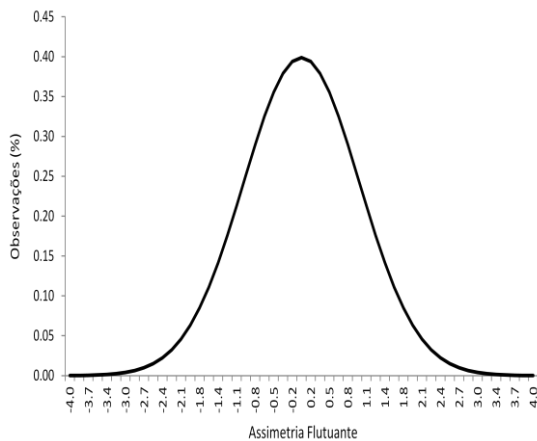


Fig. 4 Padrões gerais de FA em folhas de *C.pachystachya* (média= 0.009, $t= 0.779$, $df=778$, $p= 0.436$).

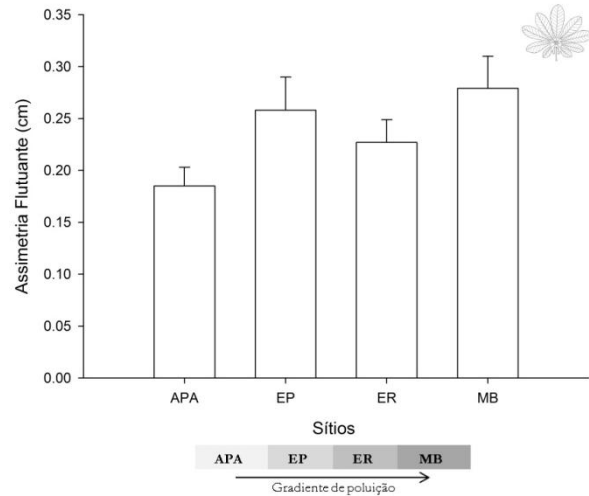


Fig. 5 Padrões de FA em folhas de *C.pachystachya* ao longo de um gradiente de poluição. Barras indicam média \pm SE.

Qualidade nutricional

Folhas de *C. pachystachya* sob influência de poluição apresentaram melhor qualidade nutricional para os herbívoros do que as folhas na área controle (Fig. 6 e 7).

As concentrações de clorofila foram maiores nas folhas presentes em áreas sob impacto de poluição comparadas às folhas da área controle ($F_{3,76}= 29.15$, $p<0.0001$). As concentrações de clorofila foliar, entretanto, não estão diretamente relacionadas com valores de FA em cada planta amostrada. Nenhuma relação direta (e significativa) foi observada entre o índice de assimetria flutuante por planta e a concentração de clorofila foliar ($p > 0.05$). Quanto à espessura, as folhas de *C. pachystachya* variaram entre 0,104 a 0,362 mm. Houve diferença entre os sítios ($F_{3,76}= 5.482$, $p=0.044$), e o maior valor médio de espessura foi observado para plantas coletadas na Estrada Real (ER), sendo as folhas da área mais poluída (MB) as menos espessas. Os sítios APA e ER diferiram de MB ($p=0.046$ e $p=0.002$, respectivamente), e EP e ER diferiram entre si ($p=0.044$)(Fig. 7).

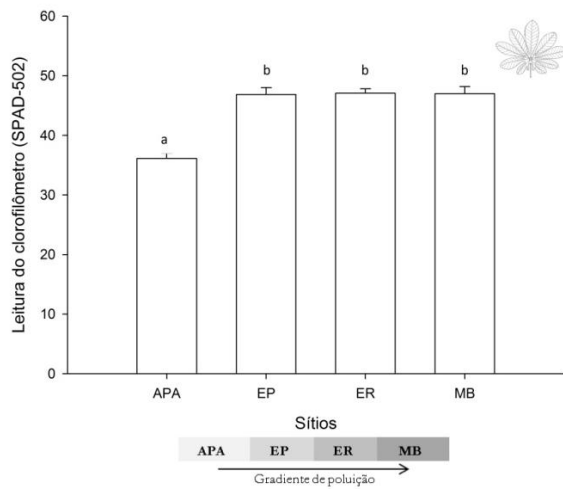


Fig. 6 Diferenças na concentração de clorofila foliar em *C. pachystachya* em áreas com diferentes graus de poluição. Barras indicam média \pm SE.

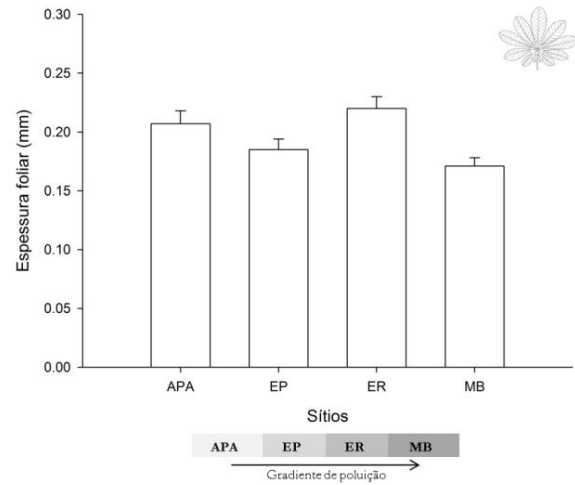


Fig. 7 Diferenças na espessura foliar em *C. pachystachya* em áreas com diferentes graus de poluição. Barras indicam média \pm SE.

Padrões de herbivoria ao longo de um gradiente de poluição

Plantas em áreas sob impacto da poluição apresentaram maiores taxas de ataque de herbívoros de vida livre comparadas a plantas na áreas controle ($H=15.34$, $p<0.05$), observando-se diferenças significativas entre a área total removida entre os sítios sob influência de poluição comparados a área controle. No sítio de maior nível de poluição, ou seja, com influência de estradas e da indústria mineradora (MB), a média (\pm SE) da área foliar removida por insetos mastigadores foi de 11.613 ± 2.841 cm², enquanto nos locais com níveis moderados de poluição, EP e ER, as médias foram de 20.806 ± 7.949 e 9.842 ± 2.854 , respectivamente. A menor taxa de remoção foi observada na área controle, onde insetos removeram 1.819 ± 0.509 cm² de área foliar de *Cecropia* (Fig. 8).

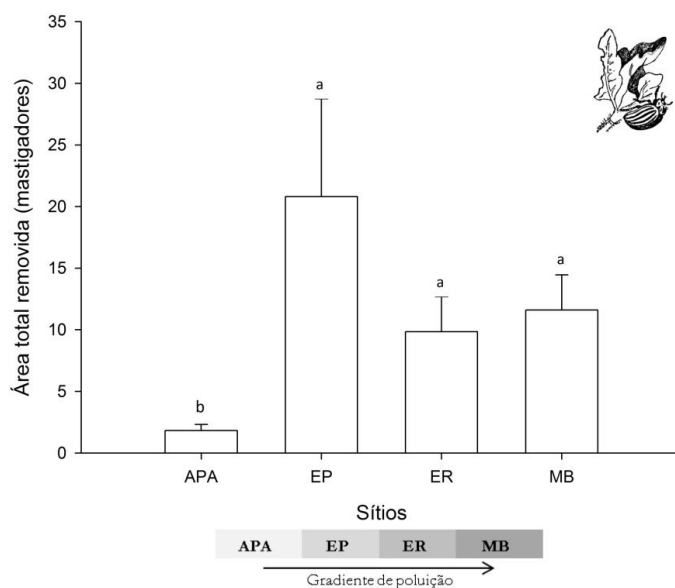


Fig. 8 Padrões de herbivoria em *C. pachystachya* em áreas com diferentes graus de poluição. As barras representam média (\pm SE) da área foliar removida por insetos herbívoros mastigadores nos 4 sítios.

Não houve diferença na abundância de insetos minadores entre os quatro sítios ($H=5.34$, $p > 0.05$), mas a frequência de insetos raspadores foi maior nas áreas sob impacto de poluição comparadas a área controle (MB= 90%; EP= 90%; ER= 75% e APA 60%).

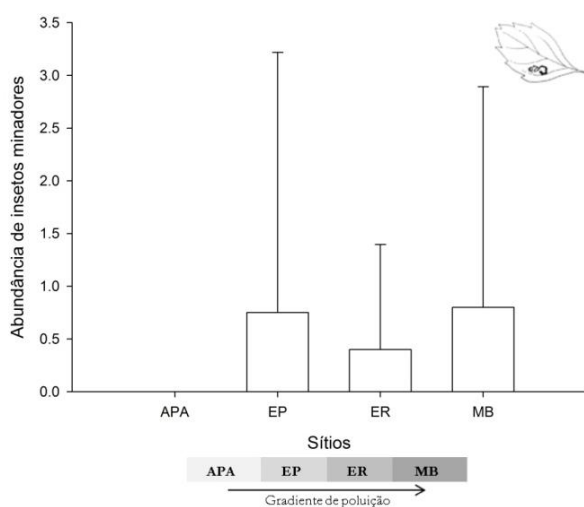


Fig. 9 Abundância de insetos herbívoros minadores nos sítios ($p < 0.05$). Barras indicam média \pm SD.

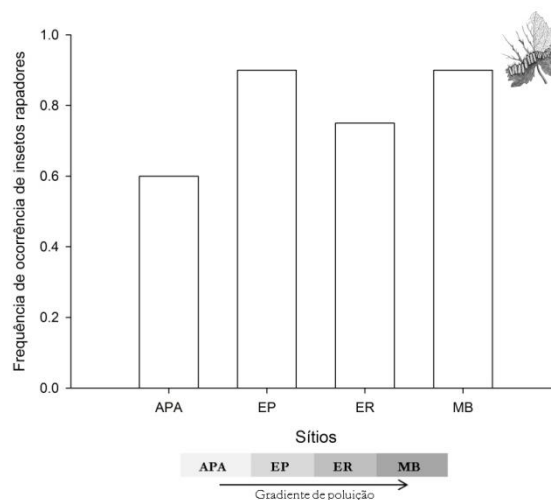


Fig. 10 Frequência de ocorrência de insetos raspadores nos sítios (MB= 90%; EP= 90%; ER= 75% e APA 60%).



Discussão

O presente estudo mostrou que existem padrões verdadeiros de assimetria flutuante em *Cecropia pachystachya*, porém FA não difere entre as plantas expostas a diferentes níveis de poluição. Adicionalmente, os resultados apoiam a hipótese de que as plantas expostas a maior grau de poeira apresentam maiores valores de área foliar removida e concentração de nitrogênio foliar.

Assimetria Flutuante ao longo de um gradiente de poluição

Nossos resultados não corroboram a hipótese de que os níveis de assimetria flutuante em *Cecropia pachystachya* são maiores à medida que o estresse ambiental aumenta. Apesar de existirem padrões verdadeiros de FA nas folhas de *C. pachystachya*, nós não encontramos associação entre FA e grau de exposição à poluição proveniente de estradas e da indústria mineradora, sugerindo que a poluição pode não representar um fator de estresse capaz de gerar diferenças no desenvolvimento e, conseqüentemente, na assimetria das folhas da espécie em estudo. Uma hipótese alternativa é que indivíduos de *C. pachystachya*, por serem plantas pioneiras de ambientes sob estresse ambiental, nutricional e higró-térmico estão adaptadas às condições de estresse impostas pelas estradas e têm a capacidade de corrigir erros no desenvolvimento que se expressariam na forma de assimetria flutuante.

A assimetria flutuante tem sido amplamente utilizada como medida de instabilidade no desenvolvimento de plantas. Vários trabalhos relataram um aumento de FA em resposta a vários tipos de estresse, incluindo fatores ambientais, como a poluição (Kozlov *et al.* 1996, Valkama & Kozlov 2001) e aumento da disponibilidade de nutrientes (Moller 1995). Entretanto, Graham e colaboradores (2010) ressaltaram que a FA pode ser um indicador de estresse menos sensível do que as mudanças fisiológicas, morfológicas específicas ou medidas



de performance dos indivíduos, como a redução nas taxas de crescimento. Resultados semelhantes foram encontrados por Kanegae e Lomônaco (2003) que estudaram a resposta de pulgões a diferentes temperaturas e não encontraram uma relação linear dos níveis de FA com valores de temperatura, sugerindo que as adversidades do meio afetam mais efetivamente o tamanho dos organismos e que, portanto, este seria um indicativo de estresse mais eficiente do que a FA de um caráter propriamente dito.

Nossos dados indicaram que presença de FA é uma característica populacional de *C. pachystachya*, mas esta não tem variação ambiental em função do grau de poluição, sugerindo que *C. pachystachya* é capaz de compensar o estresse imposto pelo ambiente poluído. Por se tratar de uma espécie pioneira, *C. pachystachya*, pode ser capaz de suportar determinados níveis de estresse sem alterações na sua assimetria, que seria desviada em resposta a outros agentes perturbadores. As mudanças biológicas associadas à perda e à fragmentação de habitat, como a construção de estradas, podem de certa forma estar favorecendo espécies adaptadas a paisagens alteradas por ação do homem, como as pioneiras. Desta forma, pode ser interessante medir outras variáveis fisiológicas, como concentração de compostos de defesa e alterações na proporção de nutrientes para defesas químicas.

Qualidade foliar e padrões de herbivoria ao longo de um gradiente de poluição

Se a assimetria flutuante é um indicativo de estresse, espera-se maiores níveis de herbivoria e melhor qualidade nutricional de plantas em condição de estresse comparadas à plantas controle. Observou-se que indivíduos na área sob maior impacto da poluição (MB) apresentaram concentração de nitrogênio foliar (medido indiretamente através da mensuração de Chl foliar) significativamente maior comparados a indivíduos em áreas sob menor impacto ou áreas controle (Fig. 6), corroborando a hipótese do estresse de plantas (PSH de White



1969). Segundo essa hipótese, plantas sob estresse ambiental tendem a sintetizar menor quantidade de proteínas e possuem assim, maior concentração de nitrogênio disponível em suas folhas, podendo essa característica ser responsável pelas maiores taxas de herbivoria encontradas em plantas sob condição de estresse nutricional ou higrótérmico (White 1969, 1984). Apesar da assimetria flutuante e qualidade nutricional de plantas estar relacionada em alguns sistemas planta-herbívoro, não observou-se relação significativa entre a variação de FA e variação de nitrogênio foliar em cada indivíduo estudado, independentemente do gradiente de poluição (todas as regressões: $p > 0.05$).

Zvereva e Kozlov (2010) demonstraram que tanto a riqueza quanto a abundância de insetos é maior em áreas impactadas pela poluição comparadas a áreas não impactadas. Assim como tem sido demonstrado por outros estudos, Braun & Fluckiger (1984), por exemplo, relataram que poluentes provenientes de estradas na Suíça podem causar estresse fisiológico em algumas plantas e torná-las mais suscetíveis ao ataque de pulgões. Cuevas-Reyes e colaboradores (2013) também demonstraram que a área foliar removida em *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) foi maior em locais com maior nível de urbanização. Tais resultados corroboram a meta-análise de Zvereva e Kozlov (2010), que sugerem aumento na riqueza e abundância de insetos herbívoros de vida livre – especialmente mastigadores – que infligem maiores danos em suas plantas hospedeiras. Tal meta-análise indicou ainda que insetos herbívoros em áreas poluídas tendem a aumentar em densidade devido à redução nas populações de seus predadores naturais, criando o chamado “enemy-free space” em áreas sob impacto. Para *Cecropia pachystachya* neste estudo, apenas fatores do tipo *bottom-up* (qualidade nutricional da planta hospedeira) foram avaliados nas 4 áreas, mas tal sistema carece de informações sobre variação de efeitos do tipo *top-down* (pressão de inimigos naturais) nas taxas de herbivoria. Não se sabe, por exemplo, como a defesa biótica por formigas associadas a esta espécie



mirmecófita variam ao longo do grau de poluição e dificuldades logísticas na remoção experimental de formigas nas áreas sob impacto da mineração e poluição dificultam generalizações nesse momento.

Apesar da riqueza e abundância de insetos em áreas poluídas não ter sido avaliada neste estudo, indivíduos de *C. pachystachya* em áreas sob maior impacto da poluição (MB) apresentaram maior perda de área foliar por herbivoria que indivíduos na área menos poluída (APA). A maior área foliar removida por mastigadores, entretanto, foi observada na Estrada Parque, o que pode ser explicado pela identidade dos insetos, a presença de formigas cortadeiras (*obs. pss*), idade das plantas na área (fator histórico) ou características nutricionais das plantas, como a presença de compostos de defesa, que não foram avaliadas neste estudo. Já os insetos raspadores apresentaram maiores frequências de ocorrência nas áreas mais impactadas pela poeira e poluição. Corroborando a sugestão de Zvereva & Kozlov (2010), os insetos endófagos tendem a não ser afetados negativamente pela poluição, como demonstrado para os insetos minadores em *C. pachystachya*. O modo de alimentação endófaga permite a esta guilda se beneficiar dos nutrientes das plantas sem influência da deposição da poeira ou de metais pesados.

Indivíduos presentes na área sob maior impacto ambiental apresentam valores de espessura foliar menores comparados a indivíduos na área de impacto moderado e área controle, sugerindo que este parâmetro pode exercer importante papel como um obstáculo ao ataque de insetos (Wei *et al.* 2000, Peeters 2002). Desta forma, a espessura foliar proporciona textura coriácea às folhas desta espécie, dificultando a alimentação por insetos herbívoros, e explicando assim, os baixos níveis de herbivoria nos indivíduos da área controle.

Este estudo avaliou os efeitos que a poluição oriunda das estradas e indústrias mineradoras pode exercer sobre indivíduos de *Cecropia pachystachya* e como os insetos



respondem a este impacto. Essas plantas estão constantemente expostas a diferentes pressões bióticas e abióticas que incluem as condições ambientais adversas e um aumento do impacto por insetos herbívoros. O presente trabalho indica que o estresse ambiental em *Cecropia pachystachya* pode ser independente das variações morfológicas, ou seja, para a espécie em questão, medidas de FA não podem ser utilizadas como previsor da instabilidade de desenvolvimento, já que não existe uma relação positiva entre os níveis de FA e gradiente de poluição, e portanto não pode então ser utilizada como indicador de exposição ao estresse. Desta forma, pode ser interessante medir outras variáveis fisiológicas, como concentração de compostos de defesa ou alterações na proporção de nutrientes para defesas químicas, que podem ser capazes de reforçar a hipótese de que o estresse ambiental sofrido por *Cecropia pachystachya* sob influência de poluição é independente de variáveis morfológicas. Além disso, nosso trabalho sugere que indivíduos sob impacto das estradas podem apresentar melhor qualidade nutricional em termos de nitrogênio foliar e espessura e, conseqüentemente, estão mais susceptíveis ao ataque de insetos herbívoros.



Capítulo II: Efeitos da qualidade da planta e inimigos naturais nas taxas de herbivoria em

Cecropia pachystachya (Urticaceae)

Gisele Medeiros Mendes^{1*} e Tatiana G. Cornelissen²

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, ² Universidade Federal de São João Del Rei.

[*gimendes_bio@yahoo.com.br](mailto:gimendes_bio@yahoo.com.br)

Resumo

O entendimento do grau com que forças *bottom-up* e *top-down* limitam populações e comunidades ainda é um dos grandes desafios para os ecólogos, e a manipulação dessas forças podem alterar as taxas de herbivoria em plantas. O nitrogênio, por exemplo, é considerado como fator limitante para a maioria das plantas e populações de insetos e a fertilização nitrogenada pode ter fortes efeitos na abundância de insetos herbívoros e nas taxas de herbivoria em plantas. Além disso, a defesa biótica por formigas pode influenciar diretamente a população de insetos herbívoros, resultando em aumento nas taxas de herbivoria, na densidade de herbívoros e redução do fitness da planta hospedeira quando as formigas são excluídas. Neste estudo investigamos experimentalmente o papel de formigas como defesa biótica em indivíduos de *Cecropia pachystachya* em diferentes qualidades nutricionais, manipulando as formigas *Azteca sp.* como fator do tipo *top-down* e manipulando a qualidade nutricional das plantas através da fertilização nitrogenada como o efeito do tipo *bottom-up*. Foram utilizados quatro tratamentos, em um desenho fatorial completo, com 15 réplicas em cada tratamento: 1) plantas controle, sem manipulação; 2) plantas fertilizadas, formigas não manipuladas; 3) plantas não fertilizadas e formigas excluídas e 4) plantas fertilizadas e formigas excluídas. A fertilização e a exclusão de formigas aumentaram significativamente o dano foliar somente para a guilda de insetos mastigadores ($H= 2.589$ $p= 0.002$). Para insetos raspadores não existe um padrão claro de distribuição entre os tratamentos e não foi detectada a presença de insetos minadores nas plantas amostradas. Nossos resultados reforçam o papel das formigas como defesa biótica em *Cecropia pachystachya*. Além disso, foi demonstrado que insetos herbívoros mastigadores em *C. pachystachya* respondem mais fortemente a efeitos *bottom-up*, como a qualidade da planta hospedeira do que a efeitos *top-down* causados por inimigos naturais.

Palavras chave: *Cecropia pachystachya*, herbivoria, qualidade da planta, efeito *bottom-up*, efeito *top-down*.



Abstract

Understanding the degree to which populations and communities are limited by both bottom-up and top-down forces is still a major challenge for ecologists. Manipulation of bottom-up and top-down forces can alter herbivory rates in plants. Nitrogen, for example, is considered a limiting factor for most plant and insect populations, and nitrogen fertilization may have strong effects on the abundance of insect herbivores. In addition, biotic defense by ants can directly influence the population of herbivores, such as increased rates of herbivory and herbivore density, as well as reduction in plant fitness after ant exclusion. In this study, we experimentally investigated the role of ants as biotic defense in individuals of *Cecropia pachystachya* with varying degrees of manipulation of bottom-up (fertilization) and top-down (ant exclusion) factors. Four treatments were used in a fully factorial design, with 15 replicates for each treatment: 1) control plants, without manipulation; 2) fertilized plants, ants not manipulated; 3) unfertilized plants and excluded ants and 4) fertilized plants and ants excluded. Fertilization and exclusion of ants significantly increased leaf damage only by chewing insects ($H= 2.589$ $p= 0.002$). For rasapers there is no clear pattern of distribution between treatments and leaf miners were not detected in the sampled plants. Our results reinforce the role of ants as biotic defenses on *Cecropia pachystachya*. Furthermore, it was demonstrated that plant fertilization and ant exclusion significantly increased leaf damage only by chewing insects and herbivory was more influenced by bottom-up effects, such as the quality of the host plant than the top-down effects caused by natural enemies.

Keywords: *Cecropia pachystachya*, herbivory, plant quality, bottom-up effects, top-down effects.



Introdução

O papel da qualidade da planta e da pressão exercida por inimigos naturais nas taxas de herbivoria têm sido extensivamente estudados (e.g., Björkman *et al.* 2000, Williams *et al.* 2001, Cornelissen & Stiling 2006a) e tais efeitos foram formalizados em diversas hipóteses que avaliam efeitos do tipo de baixo para cima (*bottom-up*) e de cima para baixo (*top-down*) na riqueza, abundância, diversidade e desempenho de insetos em plantas hospedeiras (revisão em Price 1997, Halaj & Wise 2001). Apesar da literatura abordando os efeitos de forças *bottom-up* e *top-down* sobre insetos herbívoros ser vasta e antiga (veja Hairston *et al.* 1960), entender o grau com que estas forças limitam essas populações e estruturam as comunidades é ainda um dos grandes desafios de ecólogos (Hunter 2001, veja meta-análises de Halaj & Wise 2001, Mäntylä *et al.* 2010).

O controle *bottom-up* - limitação por recursos- é ativado principalmente por fatores abióticos e nesses casos, os organismos produtores podem ser fortemente limitados pelos recursos disponíveis, restringindo assim seus consumidores (Hunter & Price 1992). Variações do tipo *bottom-up* e seus efeitos nas taxas de herbivoria têm sido avaliados por meio de manipulações na qualidade de plantas através do uso de fertilizantes e seus efeitos na nutrição foliar (Moran & Hamilton 1980, Augner 1995, Cornelissen & Stiling 2006b). O nitrogênio, por exemplo, é considerado como fator limitante para a maioria das plantas e populações de insetos (White 1969, 1984). A fertilização nitrogenada tem um amplo efeito em várias características da planta, tais como crescimento individual e concentração de nitrogênio foliar (Schütz *et al.* 2008), aumentando assim, a disponibilidade de alimentos para insetos herbívoros (Butler *et al.* 2012). Em uma recente meta-análise, Butler *et al.* (2012), observaram fortes efeitos positivos da fertilização nitrogenada na abundância de insetos, fato este anteriormente



observado em revisão qualitativa de Waring & Cobb (1992), demonstrando que insetos respondem positivamente a fertilizantes.

Por outro lado, o controle denominado *top-down* é a pressão exercida por inimigos naturais - como predadores, parasitas e patógenos - em consumidores primários. A hipótese de controle do tipo *top-down* (Hairston *et al.* 1960) prevê a existência de cascatas tróficas, onde a presença ou ausência de inimigos naturais apresentaria efeitos em cascata em consumidores primários e produtores primários, de forma que a exclusão, por exemplo, de inimigos naturais relaxaria o controle exercido sobre as populações de herbívoros, infligindo assim maior dano em plantas hospedeiras. Formigas que nidificam em plantas mirmecófilas geralmente fornecem serviços de proteção contra inimigos naturais, e a defesa biótica por formigas pode influenciar diretamente a população de insetos herbívoros, como aumento nas taxas de herbivoria, na densidade de herbívoros e redução do fitness da planta hospedeira quando estas são excluídas (Rosumek *et al.* 2009).

Nos neotrópicos, uma das mais importantes associações mutualísticas entre formigas e plantas ocorre entre organismos dos gêneros *Azteca* e *Cecropia* (Fáveri & Vasconcelos 2004). Nesta interação, a planta oferece estruturas especializadas que servem como abrigo (domáceas) no interior dos troncos (Yu & Davidson 1997), e alimentos (corpúsculos müllerianos) ricos em glicogênio (Rickson 1971, Holldobler & Wilson 1990). Formigas do gênero *Azteca*, por sua vez, beneficiam as plantas hospedeiras por remover insetos herbívoros como coleópteras e formigas cortadeiras do gênero *Atta* (Schupp 1986, Rocha & Bergallo 1992, Vasconcelos & Casimiro 1997), e por cortar e remover lianas parasitas que tentam escalar os troncos da árvore hospedeira (Jansen 1969, Schupp 1986), além de fornecer nutrientes para as plantas através de suas fezes (Sagers *et al.* 2000).



O gênero *Cecropia* se distribui desde o México até o sul do Brasil, onde ocupa quase todo o território brasileiro (Berg & Rosselli 2005). E, apesar da natureza ubíqua e da diversidade de *Cecropia* na região neotropical, surpreendentemente poucos estudos têm utilizado uma abordagem experimental fatorial para investigar a relação entre essas plantas e suas formigas associadas. Além disso, embora estudos que investiguem a importância dos fatores *bottom-up* ou *top-down* para insetos herbívoros tenham sido extensivamente realizados, poucos destes estudos têm realizado manipulações simultâneas da qualidade da planta e pressão de inimigos naturais em sistemas terrestres. Dessa forma, hipotetiza-se que a manipulação de forças do tipo *bottom-up* e *top-down* podem alterar as taxas de herbivoria em espécies de *Cecropia*, com aumento das taxas de herbivoria em plantas com aumento da qualidade nutricional e redução da defesa propiciada por formigas.

O objetivo deste estudo foi investigar de maneira experimental o papel de formigas como defesa biótica em plantas de qualidade nutricional diferentes. Nesse sentido manipulamos a proteção por formigas do gênero *Azteca* como efeito *top-down* e a manipulação da qualidade nutricional das plantas através da fertilização nitrogenada como o efeito *bottom-up*. Assim, investigou-se os efeitos da qualidade da planta e pressão de inimigos naturais nas taxas de herbivoria de *Cecropia pachystachya*. As seguintes hipóteses foram testadas: 1) As formigas exercem papel de defesa biótica em *C. pachystachya*, e as taxas de herbivoria são maiores quando estas são excluídas e 2) Se formigas exercem de forma eficaz o papel de defesa biótica, e assumindo que indivíduos com maior qualidade nutricional estão mais propensos ao ataque por insetos herbívoros, então plantas fertilizadas e com exclusão de formigas sofrem as maiores taxas de dano foliar.



Materiais e métodos

Sistema de estudo

Cecropia pachystachya, popularmente conhecida como embaúbas, ocorre principalmente nas regiões tropicais. É uma espécie pioneira importante na recolonização de clareiras naturais e áreas fragmentadas nestas regiões, facilmente reconhecidas por suas folhas grandes, circulares e lobadas (Berg & Rosselli 2005). Ocorrem principalmente em associações mutualísticas com formigas do gênero *Azteca* (Del Val & Dirzo 2003), sendo que nesta interação, as formigas associadas recebem recompensas como abrigo e alimento e, em contrapartida, as plantas são defendidas contra herbívoros e parasitas (Jansen 1966, Schupp 1986, revisão em Rosumek *et al.* 2009).

Área de Estudo

O experimento foi desenvolvido de junho a novembro em 2013, na Área de Proteção Ambiental da Serra de São José, situada no centro-sul do estado de Minas Gerais, Brasil (21°06'55.87"S; 44°11'27.75"O) (Fig. 1). A Serra de São José consiste em várias montanhas com altitudes que variam de 900 a 1.400 m e estende-se por cerca de 12km, percorrendo os municípios de São João Del Rei, Tiradentes, Coronel Xavier Chaves e Prados (Oliveira-Filho & Machado 1993). O clima da região tem estações bem definidas, uma fria e seca, entre abril e setembro, e uma quente e chuvosa, entre outubro e maio (Silva *et al.* 2011). Além da alta riqueza de espécies de plantas e animais, tal região apresenta muitas espécies endêmicas e ameaçadas de extinção (Alves & Kolbek 2009), sendo reconhecida como uma área de extrema importância para a conservação da natureza dentro do Estado de Minas Gerais (PROBIO 2004).

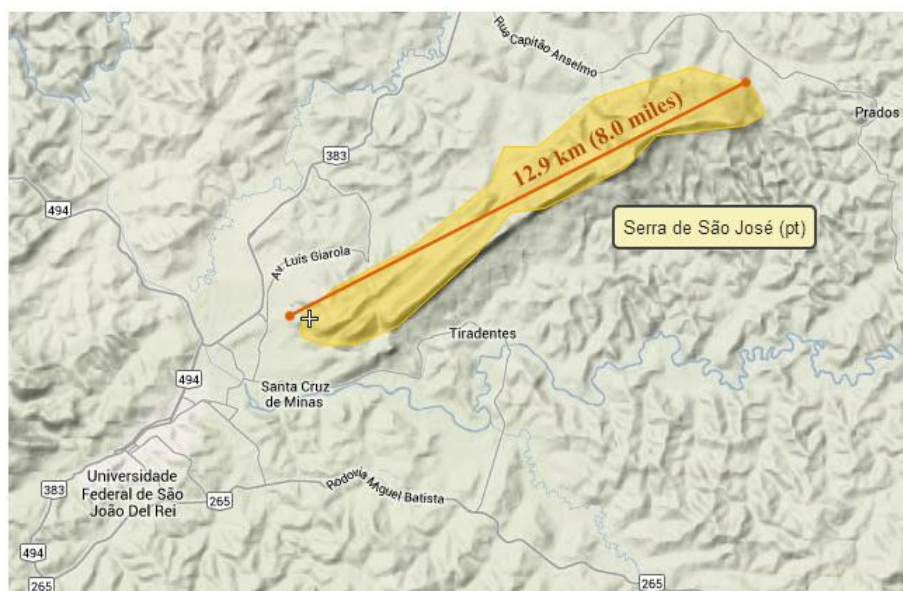


Fig. 1 Área de amostragem: Área de Proteção Ambiental Serra de São José (APA Serra São José).

Desenho Experimental

Para avaliar o papel de formigas como defesa biótica em *C. pachystachia*, 60 plantas foram marcadas em campo, e nestas foi registrada a altura, o número de folhas disponíveis e o diâmetro à altura do peito (DAP) antes da manipulação experimental. Diante das dificuldades de manipular plantas muito altas, apenas indivíduos com no máximo 3,0 m de altura foram selecionados. Todas as plantas marcadas estavam habitadas por *Azteca* sp., sendo que a ocupação por formigas foi determinada sacudindo vigorosamente a planta e/ou com pequenos toques próximo aos prostomas. No caso de indivíduos ocupados, as formigas invadiram rapidamente a parte externa da haste da planta.

Os efeitos da qualidade da planta e da defesa exercida pelas formigas nas taxas de herbivoria foram investigados usando um desenho fatorial 2 x 2 (Fig. 2). As 60 árvores foram



divididas em quatro tratamentos, permitindo 15 réplicas de cada tratamento, como se segue: F/SF adição de fertilizantes e exclusão de formigas; F/F adição de fertilizante e formigas não manipuladas; C/SF sem adição de fertilizante e exclusão de formigas; e C/F plantas controle, sem manipulação (ver figura 2).

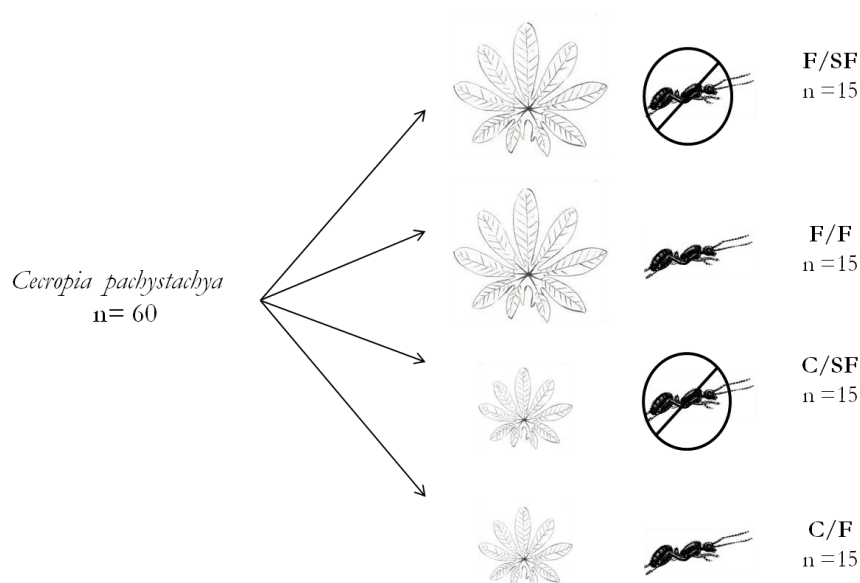


Fig. 2. Diagrama esquemático da metodologia empregada. Tratamentos: F/SF adição de fertilizantes e exclusão de formigas; F/F adição de fertilizante e formigas não manipuladas; C/SF sem adição de fertilizante e exclusão de formigas; e C/F plantas controle, sem manipulação.

As plantas do grupo controle foram apenas marcadas e identificadas em campo com placas metálicas permanentes. Nas 30 plantas dos tratamentos de exclusão de formigas (tratamentos C/SF e F/SF), as formigas foram excluídas de acordo com metodologia proposta em Fáveri e Vasconcelos (2004), injetando-se com seringa 5.0mL do inseticida de contato Attack® (0,25% cipermetrina p/v; 100% veículo (qsp) p/v), nos internós das plantas colonizados por *Azteca sp.*. Tal inseticida de contato possui tempo residual muito curto e não afeta a colonização de herbívoros nas plantas com formigas removidas, como demonstrado



em experimentos anteriores (e.g., Izzo & Vasconcelos 2002; Fáveri & Vasconcelos 2004). Por um período de seis meses consecutivos, de junho a novembro de 2013, as plantas foram reavaliadas em intervalos regulares de 15 dias, e em casos de recolonização (novos prostomas abertos) o inseticida foi reaplicado.

Nas 30 plantas onde a qualidade nutricional foi manipulada (tratamentos F/SF e F/F), adicionou-se ao redor do caule em dias não chuvosos, 25 gramas de fertilizantes granular a base de amônia (Sulfato de amônia) diluído em 300 mL de água. Foram realizados três eventos de fertilização durante os meses secos de junho e julho e antes da estação chuvosa, em novembro de 2013.

Medidas de herbivoria

A fim de verificar as taxas de herbivoria nos diferentes tratamentos, cinco folhas foram coletadas para cada um dos 15 indivíduos em cada tratamento em dezembro de 2013. Foram coletadas folhas mais jovens afim de detectar o efeito acumulado da fertilização nitrogenada. As taxas de herbivoria por insetos mastigadores foram quantificadas através da digitalização e posterior mensuração da área foliar total e área foliar removida em plantas de todos os grupos com o auxílio do software Image J. Tal dano foi calculado como a soma da área foliar perdida em cada folha em função da área foliar total. Usou-se as 5 folhas por indivíduo para cálculo da área foliar média por planta avaliando-se posteriormente os 15 indivíduos por tratamento. Para insetos minadores foi determinada a frequência de ocorrência de minas e a ocorrência de insetos raspadores foi identificada com dados de presença/ausência em cada folha amostrada.

Análise de dados

As variáveis analisadas foram submetidas inicialmente ao teste de Lilliefors para testar a normalidade dos dados e homocedasticidade de variâncias. Para avaliar se a área foliar total e



área foliar removida diferiam entre os tratamentos foi feito um teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, já que os dados não alcançaram normalidade mesmo após transformações. Como a área foliar total não diferiu entre os tratamentos ($H= 2.589$, $p> 0.05$), usou-se valores da área total removida por indivíduo e, não porcentagem de área foliar perdida, como estimativa de herbivoria. Para todas as análises estatísticas foi utilizado o software SYSTAT 12 (2007).

Nós examinamos a magnitude dos efeitos dos tratamentos de fertilização (*bottom-up*) e de exclusão de inimigos naturais (*top-down*) aplicados aos indivíduos de *Cecropia* calculando-se tamanhos de efeito através da análise da razão resposta (Hedges *et al.* 1999), usando-se os 15 indivíduos de cada tratamento como réplicas. A razão resposta é a razão da medida de determinada variável do grupo experimental em relação ao grupo controle e tem a vantagem de estimar o tamanho do efeito do tratamento como mudança proporcional resultante da manipulação experimental (Rosemberg *et al.* 2000). Calculou-se a média e desvio padrão da área foliar perdida nos tratamentos CF (controle), CSF (efeito *top-down* apenas), FF (efeito *bottom-up* apenas) e FSF (efeito *bottom-up* + *top-down*) usando-se até 5 folhas de cada um dos 15 indivíduos e contrastou-se os valores médios dos 3 tratamentos em relação ao controle total. Usou-se o log natural da razão resposta como $lr=\ln (\bar{X}T'/\bar{X}CF)$, onde $\bar{X}T'$ representa a média de cada um dos 3 tratamentos (CSF, FF e FSF) e $\bar{X}CF$ representa a média do controle total (sem manipulação experimental). Números proporcionais negativos indicam redução na área foliar perdida em relação ao controle e números proporcionais positivos indicam aumento da área foliar perdida nos tratamentos em relação ao controle.

Para estimar o efeito cumulativo (E++) para as 15 réplicas por tratamento, os efeitos foram combinados usando-se a média ponderada e um modelo fixo de análise (Rosemberg *et*



al. 2000). Os efeitos cumulativos foram considerados significativos se os intervalos de confiança (95%) não continham o valor zero.

Resultados

A aplicação do formicida Attack[®] em *Cecropia pachystachya* nos tratamentos exclusão de formigas mostrou-se eficaz. Foram raros os eventos de recolonização, e quando estes ocorreram, o inseticida foi reaplicado novamente, não sendo necessária a aplicação mais do que duas vezes durante todo o experimento.

As guildas de insetos herbívoros em *C. pachystachya* apresentaram resposta à manipulação das forças *top-down* e *bottom-up* com diferentes magnitudes. A fertilização e a exclusão de formigas aumentaram significativamente o dano foliar para insetos herbívoros mastigadores em árvores *C. pachystachya* ($H= 2.589$ $p= 0.002$). Os insetos removeram até 31% da folha, e o tratamento FSF (adição de fertilizantes e exclusão de formigas) apresentou as maiores taxas de herbivoria, sendo a média (\pm SE) da área foliar removida por insetos mastigadores de 26.534 ± 6.676 cm². Nos tratamentos FF (adição de fertilizante e formigas não manipuladas) e CSF (sem adição de fertilizante e exclusão de formigas) as médias foram de 20.574 ± 7.216 e 13.818 ± 4.927 , respectivamente. E a menor taxa de remoção foi observada no tratamento CF (plantas controle, sem manipulação), onde insetos removeram 1.707 ± 0.536 cm² de área foliar de *Cecropia* (Fig. 3). Já para a guilda de insetos raspadores não existe um padrão claro de distribuição entre os tratamentos (Fig. 4), e não foi detectada a presença de insetos minadores nas plantas amostradas.

Para *C. pachystachya*, detectou-se fortes efeitos da fertilização na porcentagem de área foliar perdida (Fig. 5). Plantas fertilizadas apenas apresentaram um aumento de mais de 300% na área foliar perdida por herbivoria ($E+++3,003$, 95% CI= 2,35 a 3,65) em relação ao



controle total, sem manipulação de fatores do tipo *bottom-up* ou *top-down*. Plantas que não foram fertilizadas, mas tiveram as formigas removidas apresentaram aumento de 156% nas taxas de herbivoria ($E_{++}=1,56$, 95%CI=1,02 a 2,10) em relação ao tratamento CF, enquanto plantas com a manipulação tanto dos fatores *bottom-up* (fertilização) e *top-down* (exclusão de formigas) simultaneamente apresentaram aumento nas taxas de herbivoria em relação ao controle total semelhantes ao aumento do efeito causado pela fertilização apenas, em torno de 275% ($E_{++}=2,74$, 95% CI= 2,23 a 3,25, Fig. 5).

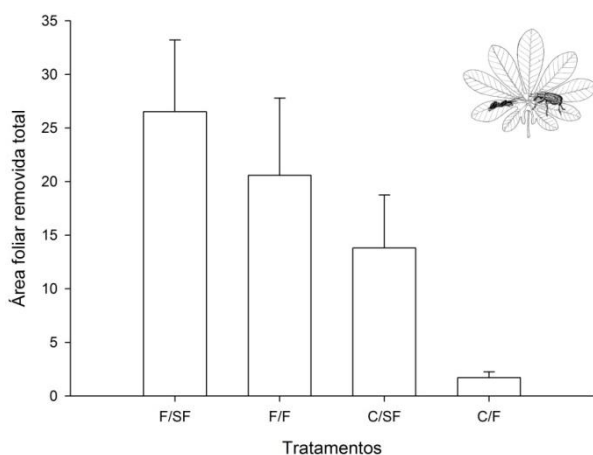


Fig. 3. Área foliar removida por insetos herbívoros mastigadores nos quatro tratamentos ($p = 0,002$). F/SF adição de fertilizantes e exclusão de formigas; F/F adição de fertilizante e formigas não manipuladas; C/SF sem adição de fertilizante e exclusão de formigas; e C/F plantas controle, sem manipulação. Barras indicam média \pm SE.

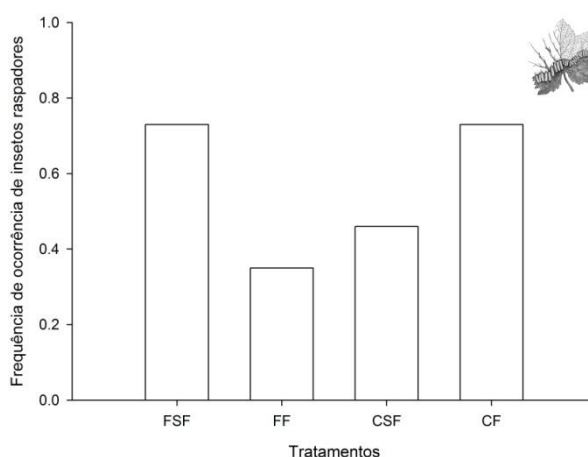


Fig. 4. Frequência de ocorrência de insetos raspadores nos quatro tratamentos: F/SF adição de fertilizante e exclusão de formigas 73%; F/F adição de fertilizante e formigas não manipuladas 35%; C/SF sem adição de fertilizante e exclusão de formigas 46%; e C/F plantas controle, sem manipulação 73%.

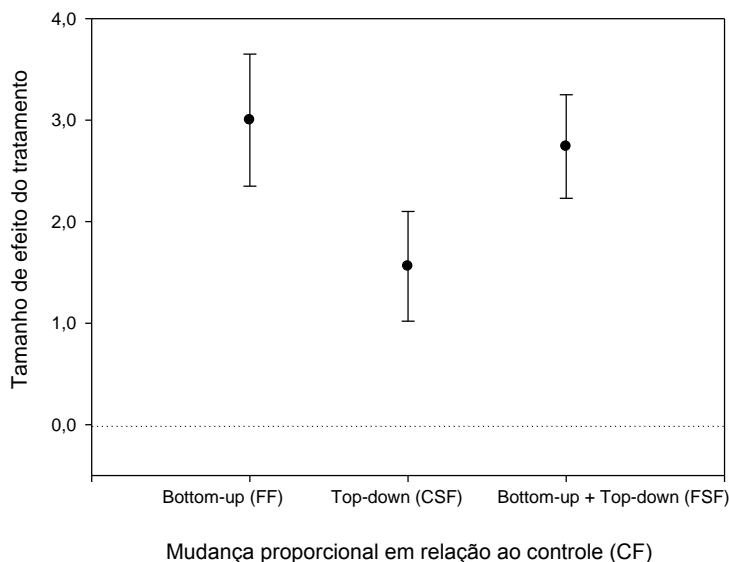


Fig. 5. Análise de efeitos dos tratamentos aplicados em *Cecropia* nas taxas de herbivoria. Efeitos *bottom-up* referem-se à adição de fertilizante enquanto efeitos *top-down* referem-se à exclusão de inimigos naturais. Os efeitos são significativos quando os intervalos de confiança não contêm o zero (linha tracejada indicada no gráfico).

Discussão

Em nosso estudo, foram manipulados simultaneamente fatores *bottom-up* e *top-down* para uma comunidade de insetos herbívoros em *Cecropia pachystachya*, e as análises dos efeitos da qualidade da planta e inimigos naturais sobre as taxas de herbivoria mostraram que, para a guilda de insetos mastigadores as forças *bottom-up* e *top-down* juntas atuam fortemente em nosso sistema. No entanto, quando analisados os efeitos de cada força isolada, os efeitos *bottom-up* dominaram em relação aos efeitos *top-down*, que impactam significativamente a abundância desses herbívoros, entretanto, numa escala menor. Já para as guildas de insetos raspadores e minadores, os primeiros não apresentaram um padrão claro de distribuição entre os tratamentos e para o último não foi detectada a presença nas plantas amostradas.



Nossos resultados reforçam o papel de formigas como defesa biótica em *C. pachystachya*, após redução da pressão *top-down* houve um aumento considerável do dano foliar (Fig.5). Rocha & Bergallo, 1992 relataram que *Azteca muelleri* expelam adultos do coleóptera *Coelomera ruficornis* em *Cecropia pachystachya*. Além disso, em recente meta-análise, Rosumek *et al.* (2009) relataram que a presença de formigas em plantas, em geral, afeta a abundância local e distribuição de predadores e insetos herbívoros, afetando por sua vez, os níveis de herbivoria e fitness da planta. Tal revisão quantitativa demonstrou que plantas em que as formigas foram experimentalmente removidas apresentaram níveis de herbivoria foliar quase 50% maiores que plantas em que formigas foram mantidas e tal resultado era explicado pelo aumento da densidade de insetos herbívoros nas plantas em que a defesa biótica foi relaxada. Em nosso estudo, não avaliou-se a abundância de insetos herbívoros em indivíduos de *Cecropia*, mas o dano observado foi normalmente causado por Lepidoptera e Coleoptera (Apêndice 1) e a área foliar removida foi significativamente maior em plantas fertilizadas e sem formigas, corroborando os resultados de estudos anteriores da importância de fatores bióticos e abióticos nas taxas de herbivoria (Hunter 2001).

As manipulações de forças *bottom-up* no sistema de estudo indicam a importância da manipulação da qualidade foliar para insetos, já que as taxas de herbivoria foram maiores em plantas fertilizadas em comparação às plantas controle (Fig. 5). A fertilização tem um amplo efeito em várias características da planta, tais como crescimento do indivíduo e concentração de nitrogênio foliar (Schütz *et al.* 2008). O aumento da qualidade nutricional nas plantas fertilizadas ofereceu suporte para maiores taxas de dano foliar por insetos mastigadores em comparação com as plantas controle. Vários trabalhos relataram um aumento da densidade de insetos herbívoros em resposta à fertilização (revisão em Butler *et al.* 2012). Cornelissen & Stiling (2006a), por exemplo, em um estudo com carvalhos indicaram que várias guildas de



insetos herbívoros respondem com um aumento na densidade à melhoria da qualidade da planta através de fertilização.

Para *Cecropias*, este é o primeiro estudo que simultaneamente manipulou fatores do tipo *bottom-up* e *top-down*, avaliando as variações nas taxas de herbivoria sofridas pelos indivíduos. Fáveri & Vasconcelos (2004), por exemplo, questionam se as formigas são sempre necessárias como defesas bióticas em embaúbas, argumentando que as taxas de herbivoria em *Cecropia concolor* e *C. purpurascens* na Amazônia são baixas (entre 5 e 8%), independente da presença ou não de *Azteca alfari*. Tais autores sugerem que as baixas taxas de herbivoria em ambientes e condições naturais sugerem que o papel das formigas como defesas bióticas deve se realizar apenas em situações de aumento de densidade de herbívoros, indicando uma condicionalidade na associação mutualística. Nossos resultados reforçam essa sugestão, por indicarem que em condições de aumento da qualidade foliar através da fertilização, as taxas de herbivoria são aumentadas e fica claro o papel das formigas *Azteca* como defensoras de suas plantas hospedeiras.

Em nosso estudo, a fertilização aumentou o dano foliar em 300% ao passo que a remoção de formigas aumentou este dano em 156%, sugerindo assim, que a qualidade da planta é um fator que atua mais fortemente sobre as taxas de herbivoria do que pressão de inimigos naturais. Estudos anteriores sugerem que forças *bottom-up* e *top-down* agem concomitantemente para influenciar populações de insetos herbívoros, entretanto forças *bottom-up* definem o cenário em que as forças *top-down* irão agir, de forma que a pressão do inimigo varia de acordo com o crescimento e qualidade da planta (Hunter & Price 1992; Price 2002). Em uma análise semelhante - manipulação fatorial da pressão de predação e qualidade da planta para insetos herbívoros - em carvalhos, Forkner & Hunter (2000) observaram que as forças do tipo *bottom-up* dominam no sistema em questão e que as forças de *top-down* são



relativamente fracas. Além disso, Denno *et al.* (2003) também observaram que o efeito da adição de nitrogênio é superior ao impacto da predação por aranhas para a guilda de insetos sugadores e, em geral, os efeitos do tipo *bottom-up* dominaram sobre os impactos do tipo *top-down*. Este é o primeiro estudo com este enfoque realizado em um sistema mirmecofítico neotropical, indicando assim a importância da manipulação simultânea das condições nutricionais e defensivas da planta hospedeira para de fato avaliar o papel das formigas como defesas bióticas em condições aumentadas de herbivoria foliar.

Nosso estudo mostrou também uma variabilidade na resposta de diferentes guildas de insetos herbívoros às manipulações. Houve fortes efeitos na densidade de insetos mastigadores enquanto para insetos raspadores não foi encontrado um padrão claro de distribuição. Algumas espécies ou guildas podem não responder fortemente a processos *bottom-up* e *top-down*, como sugerido por Moran & Scheidler (2002) que manipularam tanto forças *top-down* e *bottom-up*, em uma comunidade vegetal sucessional e observaram que, embora a adição de fertilizantes tenha causado mudanças na biomassa de plantas, muitas espécies de herbívoros não foram afetados pela manipulação experimental. Destaca-se assim, a importância de examinar vários componentes de comunidades ao abordar as interações tróficas, já que os processos *top-down* e *bottom-up* não agem de forma isolada (Moran & Scheidler 2002), mas o dano foliar acumulado por diversas guildas tem o potencial de alterar características das plantas hospedeiras como a performance, o crescimento e a produção de flores e frutos.

As evidências apresentadas aqui reforçam o papel de formigas como defesa biótica em *Cecropia pachystachya*. Além disso, forças *bottom-up* dominaram nosso sistema e a manipulação desta força causou um aumento de 300% no dano foliar comparada às plantas controle, enquanto a redução da pressão *top-down* causou uma redução de 156%. No entanto, apesar da



força *bottom-up* dominar em nosso sistema, os resultados indicam que não existe uma predominância exclusiva de controle *top-down* ou *bottom-up* e ambos são importantes para determinar a interação entre plantas-herbívoros-inimigos naturais. Estudos futuros irão analisar outras variáveis fisiológicas como concentração de nitrogênio foliar e compostos de defesa - como taninos - após eventos de fertilização e exclusão de formigas.



Conclusão Geral

Este estudo mostrou que o estresse ambiental em *Cecropia pachystachya* parece ser independente das variações morfológicas, ou seja, para a espécie em questão, medidas de FA não podem ser utilizadas como indicadores de exposição ao estresse. Além disso, os resultados sugerem que indivíduos sob impacto das estradas podem ser mais susceptíveis ao ataque de insetos por apresentarem características nutricionais, como maior disponibilidade de nitrogênio, que podem influenciar a escolha por insetos herbívoros.

As evidências apresentadas neste estudo reforçam o papel das formigas como defesa biótica em *Cecropia pachystachya*. Além disso, forças *bottom-up* dominam em nosso sistema, entretanto os resultados indicam que não existe uma predominância exclusiva de controle *top-down* ou *bottom-up*, e ambos são importantes para determinar as relações entre plantas, insetos herbívoros e inimigos naturais neste sistema tropical.



Referências

- Alves RJV, Kolbek J (2009) Summit vascular flora of Serra de São José , Minas Gerais , Brazil. Check List 5:35–73.
- Augner M (1995) Low nutritive quality as a plant defence: effects of herbivore-mediated interactions. *Evol Ecol* 9:605–616.
- Beasley DAE, Bonisoli-alquati A, Mousseau TA (2013) The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: A meta-analysis. *Ecol Indic* 30:218–226. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.02.024>
- Berg CC, Rosselli PF (2005) *Cecropia*. Flora Neotrop. The New York Botanical Garden, Bronx., New York, p 234
- Björkman C, Bengtsson B, Häggström H (2000) Localized outbreak of a willow leaf beetle: plant vigor or natural enemies? *Popul Ecol* 42:91–96.
- Bocchese A, Oliveira M De, Kleber A, Laura A (2008) Germinação de sementes de *Cecropia pachystachya* Trécul (Cecropiaceae) em padrões anteriores e posteriores à passagem pelo trato digestório de aves dispersoras de sementes. *Rev Biol e Ciências da Terra* 8:19–26.
- Braun S, Fluckiger W (1984) Increased population of the aphid *Aphis pini* at a motorway. Part 2-The effect of drouyht and deicing salt. *Environ Pollut Series A*:261–270.
- Butler J, Garratt MPD, Leather SR (2012) Fertilisers and insect herbivores: a meta-analysis. *Ann Appl Biol* 161:223–233. doi: [10.1111/j.1744-7348.2012.00567.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2012.00567.x)
- Candia RC, Hennies WT, Iramina W, Elguera JFS (2009) Mineração Análise de acidentes fatais na mineração - o caso da mineração no Peru. *Rev Esc Minas* 62:517–532.
- Cornelissen T, Stiling P (2005) Perfect is best: low leaf fluctuating asymmetry reduces herbivory by leaf miners. *Oecologia* 142:46–56. doi: [10.1007/s00442-004-1724-y](https://doi.org/10.1007/s00442-004-1724-y)
- Cornelissen T, Stiling P (2011) Similar responses of insect herbivores to leaf fluctuating asymmetry. *Arthropod Plant Interact* 5:59–69. doi: [10.1007/s11829-010-9116-1](https://doi.org/10.1007/s11829-010-9116-1)
- Cornelissen T, Stiling P (2006a) Responses of different herbivore guilds to nutrient addition and natural enemy exclusion. *Ecoscience* 13:66–74.
- Cornelissen T, Stiling P (2006b) Does low nutritional quality act as a plant defence? An experimental test of the slow-growth , high-mortality hypothesis. *Ecol Entomol* 31:32–40.



- Cuevas-Reyes P, Gilberti L, González-Rodríguez A, Fernandes GW (2013) Patterns of herbivory and fluctuating asymmetry in *Solanum lycocarpum* St. Hill (Solanaceae) along an urban gradient in Brazil. *Ecol Indic* 24:557–561. doi: 10.1016/j.ecolind.2012.08.011
- Davis RB (1970) Seasonal differences in internodal lengths in *Cecropia* trees; a suggested method for measurement of past growth in height. *Turrialba* 20:100–104.
- Denno RF, Gratton C, Dobel H, Finke DH (2003) Predation risk affects relative strength of top-down and bottom-up impacts on insect herbivores. *Ecology* 84:1032–1044.
- Díaz M, Pulido FJ, Møller AP (2004) Herbivore effects on developmental instability and fecundity of holm oaks. *Oecologia* 139:224–34. doi: 10.1007/s00442-004-1491-9
- Van Dongen S, Lens L, Pape E, et al. (2009) Evolutionary history shapes the association between developmental instability and population-level genetic variation in three-spined sticklebacks. *J Evol Biol* 22:1695–707. doi: 10.1111/j.1420-9101.2009.01780.x
- Fair JM, Breshears DD (2005) Drought stress and fluctuating asymmetry in *Quercus undulata* leaves: confounding effects of absolute and relative amounts of stress? *J Arid Environ* 62:235–249. doi: 10.1016/j.jaridenv.2004.11.010
- Farmer AM (1993) The effects of dust on vegetation- a review. *Environmental Pollut* 79:63–75.
- Fáveri S, Vasconcelos H (2004) The *azteca-cecropia* association: are ants always necessary for their host plants? *Biotropica* 36:641–646.
- Ferrier S, Powell G, Richardson K (2004) Mapping more of terrestrial biodiversity for global conservation assessment. *Bioscience* 54:1101–1109.
- Forkner RE, Hunter MD (2000) What Goes up Must Come down? Nutrient Addition and Predation Pressure on Oak Herbivores. *Ecology* 81:1588. doi: 10.2307/177309
- Freeman DC, Brown ML, Duda JJ, et al. (2004) Photosynthesis and fluctuating asymmetry as indicators of plant response to soil disturbance in the fall-line sandhills of georgia: a case study using *rhus copallinum* and *ipomoea pandurata*. 165:805–816.
- Gáborcik N (2003) Relationship between contents of chlorophyll (a + b) (SPAD values) and nitrogen of some temperate grasses. *Photosynthetica* 41:285–287.
- Graham JH, Raz S, Hel-Or H, Nevo E (2010) Fluctuating Asymmetry: Methods, Theory, and Applications. *Symmetry (Basel)* 2:466–540. doi: 10.3390/sym2020466
- Hairston NG, Smith FE, Slobodkin LB (1960) Community Structure , Population Control , and Competition. *Am Nat* 94:421–425.
- Halaj J, Wise DH (2001) Terrestrial trophic cascades: how much do they trickle? *Am Nat* 157:262–81. doi: 10.1086/319190



- Hedges L V., Gurevitch J, Curtis P (1999) The meta-analysis of response ratios in experimental ecology. *Ecology* 80:1150–1156.
- Hoffman AA, Woods RE (2003) Associating environmental stress with developmental stability: problems and patterns. *Dev. Instab. –causes consequences*. University Press, Oxford, pp 387–401
- Holldobler B, Wilson E. (1990) *The ants*. 732.
- Hunter MD (2001) Multiple approaches to estimating the relative importance of top-down and bottom-up forces on insect populations: Experiments , life tables , and time-series analysis. *Basic Appl Ecol* 2:295–309.
- Hunter MD, Price P w. (1992) Playing Chutes and Ladders: Heterogeneity and the Relative Roles of Bottom-Up and Top- Down Forces in Natural Communities. *Ecology* 73:724–732.
- Izzo T, Vasconcelos H (2002) Cheating the cheater: domatia loss minimizes the effects of ant castration in an Amazonian ant-plant. *Oecologia* 133:200–205. doi: 10.1007/s00442-002-1027-0
- Jansen DH (1966) Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution (N Y)* 20:249–275.
- Jansen DH (1969) Allelopathy by Myrmecophytes: The Ant Azteca as an Allelopathic Agent of Cecropia Author (s): Daniel H . Janzen Published by: Ecological Society of America Stable URL □ : <http://www.jstor.org/stable/1934677> . *Ecology* 50:147–153.
- Kanegae AP, Lomônaco C (2003) Plasticidade Morfológica, Reprodutiva e Assimetria Flutuante de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) sob Diferentes Temperaturas. *Neotrop Entomol* 32:37–43.
- Kozlov M V., Wilsey BJ, Koricheva J, Haukioja E (1996) Fluctuating asymmetry of birch leaves increases under pollution impact. *J Appl Ecol* 33:1489–1495.
- Longino JT (1989) Geographic variation and community structure in an ant-plant mutualism: Azteca and Cecropia in Costa Rica. *Biotropica* 21:126–132.
- Lucas P, Turner IM, Dominy NJ, Yamashita N (2000) Mechanical Defences to Herbivory. *Ann Bot* 86:913–920. doi: 10.1006/anbo.2000.1261
- Mäntylä E, Klemola T, Laaksonen T (2010) Birds help plants: a meta-analysis of top-down trophic cascades caused by avian predators. *Oecologia* 165:143–51. doi: 10.1007/s00442-010-1774-2
- Maranho LT, Galvão F, Preussler KH, et al. (2006) Efeitos da poluição por petróleo na estrutura da folha de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl ., Podocarpaceae. *Acta Bot Brasilica* 20:615–624.



- Mechi A, Sanches D (2010) Impactos ambientais da mineração no Estado de São Paulo. *Estud avançados* 24:209–220.
- Moller AP (1995) Leaf-mining insects and fluctuating asymmetry in elm *Ulmus glabra* leaves. *J Anim Ecol* 64:697–707.
- Moller AP, Saddle JP (1997) Asymmetry, developmental stability, and evolution. 291.
- Monteiro M de A (2005) Meio século de mineração industrial na Amazônia e suas implicações para o desenvolvimento regional. *Estud avançados* 19:187–207.
- Moran JA, Mitchell AK, Goodmanson G, Stockburger KA (2000) Differentiation among effects of nitrogen fertilization treatments on conifer seedlings by foliar reflectance: a comparison of methods. *Tree Physiol* 20:1113–20.
- Moran MD, Scheidler AR (2002) Effects of nutrients and predators on an old-field food chain: interactions of top-down and bottom-up processes. *Oikos* 1:116–124.
- Moran N, Hamilton WD (1980) Low nutritive quality as defense against herbivores. *J Theor Biol* 86:247–254. doi: 10.1016/0022-5193(80)90004-1
- Moretti M, Duelli P, Obrist MK (2006) Biodiversity and resilience of arthropod communities after fire disturbance in temperate forests. *Oecologia* 149:312–27. doi: 10.1007/s00442-006-0450-z
- Oliveira-filho AT De, Machado JN de M (1993) Composição florística de uma Floresta Semidecídua Montana, na Serra de São José, Tiradentes, Minas Gerais. *Acta Bot Brasilica* 7:71–88.
- Palmer AR (1996) Waltzing with asymmetry. *Bioscience* 46:518–53.
- Peeters PJ (2002) Correlations between leaf structural traits and the densities of herbivorous insect guilds. *Biol J Linn Soc* 77:43–65. doi: 10.1046/j.1095-8312.2002.00091.x
- Polak M (2003) Developmental instability – causes and consequences. 459.
- Price PW (1997) *Insect Ecology*, 3rd ed. 874.
- Price PW (2002) Resource-driven terrestrial interaction webs. *Ecol Res* 17:241–247. doi: 10.1046/j.1440-1703.2002.00483.x
- PROBIO (2004) Áreas prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da Biodiversidade Brasileira- Projeto de Conservação e Utilização Sustentável da Diversidade Biológica Brasileira.



- Reis PC, DaRocha WD, Falcão LA, et al. (2013) Ant Fauna on *Cecropia pachystachya* Trácul (Urticaceae) Trees in an Atlantic Forest Area, Southeastern Brazil. *Sociobiology* 60:222–228. doi: 10.13102/sociobiology.v60i3.222-228
- Richardson AD, Duigan SP, Berlyn GP (2002) An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytol* 153:185–194. doi: 10.1046/j.0028-646X.2001.00289.x
- Rickson FR (1971) Glycogen Plastids in Mullerian Body Cells of *Cecropia peltata*--A Higher Green Plant. *Science* 173:344–7. doi: 10.1126/science.173.3994.344
- 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.
- Rosemberg MS, Adams D., Gurevitch J (2000) MetaWin: Statistical software for meta-analysis.
- Rosumek FB, Silveira F a O, de S Neves F, et al. (2009a) Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia* 160:537–49. doi: 10.1007/s00442-009-1309-x
- Rosumek FB, Silveira FA, Neves F de S, et al. (2009b) Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia* 160:537–549. doi: 10.1007/s00442-009-1309-x
- Sagers CL, Ginger SM, Evans RD (2000) Carbon and nitrogen isotopes trace nutrient exchange in an ant-plant mutualism. *Oecologia* 123:582–586. doi: 10.1007/PL00008863
- Schupp EW (1986) Azteca protection of Cecropia: ant occupation benefits juvenile trees. *Oecologia* 70:379–385.
- Schütz K, Bonkowski M, Scheu S (2008) Effects of Collembola and fertilizers on plant performance (*Triticum aestivum*) and aphid reproduction (*Rhopalosiphum padi*). *Basic Appl Ecol* 9:182–188. doi: 10.1016/j.baae.2006.07.003
- Silva NG da, Alves RJV, Pereira JF, Rivadavia F (2011) Lentibulariaceae, Serra de São José, Minas Gerais, Brazil. *Check List* 7:120–127.
- Söderman F, Van Dongen S, Pakkasmaa S, Merilä J (2007) Environmental stress increases skeletal fluctuating asymmetry in the moor frog *Rana arvalis*. *Oecologia* 151:593–604. doi: 10.1007/s00442-006-0611-0
- Spellerberg IF (2007) Ecological Effects of Roads and Traffic: A Literature Review. *Glob Ecol Biogeogr Lett* 7:317–333.
- Taveira ALS (2003) Provisão de recursos financeiros para o fechamento de empreendimentos mineiros. 209.



- Del Val E, Dirzo R (2003) Does ontogeny cause changes in the defensive strategies of the myrmecophyte *Cecropia peltata*? *Plant Ecol* 169:35–41.
- Valkama J, Kozlov M V. (2001) Impact of climatic factors on the developmental stability of mountain birch growing in a contaminated area. *J Appl Ecol* 38:665–673. doi: 10.1046/j.1365-2664.2001.00628.x
- Vasconcelos HL, Casimiro AB (1997) Influence of *Azteca alfari* Ants on the Exploitation of Cecropia Trees by a Leaf-Cutting Ant. *Biotropica* 29:84–92. doi: 10.1111/j.1744-7429.1997.tb00009.x
- Waring NL, Cobb NS (1992) The impact of plant stress on herbivore population dynamics. *Insect – plant Interact.* CRC Press., Boca Raton, FL, USA, pp 168–226
- Wei J, Zou L, Kuang R, He L (2000) Influence of Leaf Tissue Structure on Host Feeding Selection by Pea Leafminer *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). *Zool Stud* 39:295–300.
- Weller B, Ganzhorn JU (2004) Carabid beetle community composition, body size, and fluctuating asymmetry along an urban-rural gradient. *Basic Appl Ecol* 5:193–201. doi: 10.1078/1439-1791-00220
- White TCR (1984) The abundance of invertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants. *Oecologia* 63:90–105.
- White TCR (1969) An Index to Measure Weather-Induced Stress of Trees Associated With Outbreaks of Psyllids in Australia. *Ecology* 50:905–909.
- Williams IS, Jones TH, Hartley SE (2001) The role of resources and natural enemies in determining the distribution of an insect herbivore population. *Ecol Entomol* 26:204–211.
- Wilsey BJ, Haukioja E, Koricheva J, Sulkioja M (1998) Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and elevation in tree-line birches. *Ecology* 79:2092–2099.
- Yoder BJ, Pettigrew-crosby RE (1995) Predicting Nitrogen and Chlorophyll Content and Concentrations from Reflectance Spectra (400-9 , 500 nm) at Leaf and Canopy Scales. *Remote Sens Env* 53:199–211. doi: SSDI 0034-4257(95)00135-N
- Yu DW, Davidson DW (1997) Experimental studies of species-specificity in Cecropia – ant relationships. *Ecol Monogr* 67:273–294.
- Zvereva EL, Kozlov M V (2010) Responses of terrestrial arthropods to air pollution: a meta-analysis. *Environ Sci Pollut Res Int* 17:297–311. doi: 10.1007/s11356-009-0138-0



Apêndice 1 – Aspectos de insetos herbívoros e formigas *Azteca* sp. em *Cecropia pachystachya*.



Painel superior, esquerda para direita: folhas completamente atacadas por formigas cortadeiras, insetos herbívoros (Coleoptera) e raspadores (Lepidoptera). Painel inferior, esquerda para direita: imaturos de Lepidoptera (raspadores), formigas *Azteca* após manipulação das plantas hospedeiras, dano causado por inseto mastigador em folhas e inseto herbívoro (Coleoptera).