

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

Comunidade de formigas arborícolas associadas a espécies da família Fabaceae (Plantae) em
uma área de restauração ecológica

Jaqueline Tavares Ribeiro de Oliveira

Dissertação apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
da Universidade de São Paulo, como parte das
exigências para obtenção do título de Mestre
em Ciências, obtido no Programa de
Pós-Graduação em Entomologia

Ribeirão Preto - SP

(2024)

VERSÃO CORRIGIDA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

Comunidade de formigas arborícolas associadas a espécies da família Fabaceae (Plantae) em
uma área de restauração ecológica

Jaqueline Tavares Ribeiro de Oliveira

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências, obtido no Programa de Pós-Graduação em Entomologia.

Orientador: Prof. Dr. Tomas Ferreira Domingues

Ribeirão Preto - SP

(2024)

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Oliveira, Jaqueline Tavares Ribeiro de.

Comunidade de formigas arborícolas associadas a espécies da família Fabaceae (Plantae) em uma área de restauração ecológica
Ribeirão Preto, 2024.

65 p.

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências, obtido no Programa de Pós-Graduação. Área: Entomologia.

Orientador: Domingues, Tomas Ferreira.

1. Fixação Biológica. 2. Nitrogênio 3. Nectários Extraflorais. 4. Mata Atlântica. 5. Formicidae.

AGRADECIMENTOS

Acho que sempre vou começar agradecendo meus pais em qualquer coisa que eu faça. Pois sem eles, sem o seu apoio, seu incentivo, seus esforços da melhor forma que conseguem, talvez eu não tivesse o impulso suficiente para correr atrás dos meus sonhos. Então eu sempre vou agradecê-los por estarem comigo.

Em seguida agradeço ao Professor Tomas Ferreira Domingues por aceitar ser meu orientador e encarar o desafio de me guiar dentro do universo da pesquisa. Agradeço ao professor Fábio Santos do Nascimento por ser o outro pilar durante esse tempo, me ajudando sempre que possível.

Ao laboratório ECOFERP pelo auxílio em minhas idas e vindas até a Floresta da USP. Agradeço imensamente ao laboratório LABCEIS, especialmente a Amália, Jéferson e Sírcio por sua ajuda, apoio e amizade durante todo esse tempo. Espero poder retribuir tudo um dia.

Ao senhor Paulo Roberto Barbosa, do Setor de Áreas Verdes e Meio Ambiente da Prefeitura da USP-RP, por sua disponibilidade de me levar, e com seu conhecimento, me ajudar a identificar as espécies de árvores e me mostrar a sua parte na história da restauração da Floresta da USP. Ao Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA-USP Piracicaba, pela ajuda com as análises isotópicas.

Ao professor Rodrigo Machado Feitosa e ao Laboratório de Sistemática e Biologia de Formigas na UFPR por sua ajuda nas identificações das espécies de formigas e por todo o seu ensinamento acerca deste imenso universo que estes insetos minúsculos são.

À secretária da Pós-graduação em Entomologia, Renata, por ser a salvadora das diversas dúvidas que surgiram durante esse tempo e por me tranquilizar em todas elas. Eu não me esqueci que lhe devo um café ainda.

À professora Ivelize, que foi quem começou e me incentivou durante a minha graduação a tentar entrar no programa de pós-graduação. Obrigada Ive, por confiar no meu potencial.

Além destes que citei, agradeço a todas as outras pessoas, que, de alguma forma, também formaram os pilares desta ponte entre mim, a pesquisa e o conhecimento.

Por fim, agradeço o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) que financiou este trabalho durante o meu período de estadia no Programa de Pós-Graduação em Entomologia.

“Assim como a semente

Eu não sei para onde ir

Através da terra e da sombra, eu cresço

Estou alcançando a luz através das dificuldades”

(AURORA, 2019)

Oliveira, J. T. R. de. “**Comunidade de formigas arborícolas associadas a espécies da família Fabaceae (Plantae) em uma área de restauração ecológica**”. Dissertação – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2024, 65 folhas.

RESUMO

Nas interações inseto-planta um fator que pode influenciar a entomofauna é a performance da planta hospedeira, visto que variações na qualidade e disponibilidade dos recursos são esperadas e conduzem os insetos em direção aos hospedeiros que podem fornecer melhores condições de sobrevivência e reprodução. Por exemplo, a fixação de nitrogênio em nódulos radiculares afeta a aptidão da planta, alterando os recursos disponíveis para as plantas crescerem e se defenderem contra herbívoros. O objetivo do trabalho foi avaliar se há diferença na composição da comunidade de mirmecofauna arborícola associada a 4 espécies de árvores leguminosas em uma área de restauração ecológica na USP-RP, sendo que duas podem apresentar nectários extraflorais (NEFs) e duas sem esta habilidade segundo a literatura. Considerou-se a variabilidade de espécies de formigas encontradas em relação à Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) e a presença/ausência de NEFs ou outras estratégias de cooperação com formigas, como domácias. Para cada espécie arbórea de Fabaceae, 3 indivíduos foram selecionados, onde foram coletados suas folhas e solo circundante para análise de isótopo de N e sua concentração a fim de verificar a ocorrência da FBN e a presença/ausência de NEFs ou domácias. Para comparação isotópica de N, também foram coletadas folhas de 5 espécies arbóreas não-leguminosas. Em cada leguminosa, foram instalados *pitfalls* arbóreos para a captura de formigas, onde a isca utilizada foi uma mistura de sardinha e mel. As coletas ocorreram nas estações seca e chuvosa, duas para cada estação. As análises isotópicas indicaram que os valores do isótopo de N entre leguminosas e não-leguminosas estavam semelhantes, sugerindo que as espécies de Fabaceae podem não estar realmente fixando N. Para as espécies com NEFs foram encontrados indivíduos apresentando estas estruturas, e para a espécie com domácias segundo a literatura, os indivíduos analisados não as apresentaram. Foram encontrados 33 morfotipos de formigas (1 não identificado), divididos em 6 subfamílias e 17 gêneros. A diversidade de formigas não diferiu entre as espécies de leguminosas avaliadas, e não formou grupos distintos. A relação entre a presença/ausência de NEFs e a riqueza ou diversidade de espécies de formigas também não foi corroborada. Uma das possíveis explicações para a diversidade semelhante entre as árvores deste grupo pode ser a idade da restauração, relativamente recente, e a localização dos indivíduos arbóreos analisados, localizados mais ao centro do local, o que nos leva a se questionar se a estruturação da mirmecofauna nos dosséis florestais pode depender de fatores bióticos e abióticos específicos de cada ambiente. Embora não esteja clara neste estudo, a FBN e a toda a influência que ela pode gerar no ecossistema, pode ser uma possível direção para esclarecer a composição de formigas nos dosséis florestais.

PALAVRAS-CHAVE: Fixação Biológica. Nitrogênio. Nectários Extraflorais. Mata Atlântica. Formicidae.

Oliveira, J.T.R. de. “Community of arboreal ants associated with species of the Fabaceae family (Plantae) in an ecological restoration area.” Dissertação ou Tese – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2024, 65 folhas.

ABSTRACT

In insect-plant interactions, a factor that can influence the entomofauna is the performance of the host plant, since variations in quality and availability of resources are expected and lead insects towards hosts that can provide better conditions for survival and reproduction. For example, nitrogen fixation in root nodules impacts plant fitness by altering the resources available for plants to grow and defend themselves against herbivores. The objective of the work was to evaluate whether there is a difference in the composition of the arboreal myrmecofauna community associated with 4 species of leguminous trees in an ecological restoration area in USP-RP, two of which may present extrafloral nectaries (NEFs) and two without this ability according to the literature. The variability of ant species found in relation to Biological Nitrogen Fixation (BNF) and the presence/absence of NEFs or other strategies of cooperation with ants, such as domatia, was considered. For each Fabaceae tree species, 3 individuals were selected, where their leaves and surrounding soil were collected for N isotope analysis and its concentration in order to verify the occurrence of FBN and the presence/absence of NEFs or domatia. For N isotopic comparison, leaves were also collected from 5 non-legume tree species. In each leguminous tree, arboreal pitfalls were installed to capture ants, where the bait used was a mixture of sardines and honey. Collections took place in the dry and rainy seasons, two for each season. Isotopic analyzes indicated that N isotope values between legumes and non-legumes were similar, suggesting that Fabaceae species may not actually be fixing N. For the species with NEFs, individuals were found presenting these structures, and for the species with domatia according to the literature, the individuals analyzed didn't present them. 33 ant morphotypes were found (1 unidentified), divided into 6 subfamilies and 17 genera. The diversity of ants didn't differ between the legume species evaluated, and didn't form distinct groups. The relationship between the presence/absence of NEFs and the richness or diversity of ant species wasn't also corroborated. One of the possible explanations for the similar diversity among the trees in this group may be the age of the restoration, which was relatively recent, and the location of the tree individuals analyzed, located more towards the center of the site. One of the possible explanations for the similar diversity among the trees in this group could be the age of restoration, relatively recent, and the location of the tree individuals analyzed, located more towards the center of the site, which leads us to wonder if the structuring of myrmecofauna in forest canopies, may depend on biotic and abiotic factors specific to each environment. Although it isn't clear in this study, FBN and all the influence it can generate on the ecosystem may be a possible direction for clarifying the composition of ants in forest canopies.

KEYWORDS: Biological Fixation. Nitrogen. Extrafloral Nectaries. Atlantic forest. Formicidae.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Exemplos ilustrativos da diversidade de subfamílias de formigas. A = Agroecomyrmecinae, B = Amblyoponinae, C = Aneuretinae, D = Apomyrminae, E = Dolichoderinae, F = Dorylinae, G= Ectatomminae, H= Formicinae, I= Heteroponerinae, J= Leptanillinae, K= Martialinae, L= Myrmeciinae, M= Myrmicinae, N= Paraponerinae, O= Ponerinae, P= Proceratiinae, Q= Pseudomyrmecinae.....24
- Figura 2.** Território da Floresta da USP.....27
- Figura 3.** Localização geográfica dos indivíduos das espécies selecionadas dentro do Banco in vivo de Diversidade Genética da USP de Ribeirão Preto. Ícone de cor branca = *A.colubrina* (A1,A2,A3), ícone de cor verde = *C. tomentosum* (C1,C2,C3), ícone de cor azul = *E.contariisiiqurum* (E1,E2,E3), e ícone de cor vermelha = *P.elegans* (P1,P2,P3).....29
- Figura 4.** Folhas sendo escaneadas para a análise da área total..... 31
- Figura 5.** Armadilha do tipo *pitfall* arbóreo. A = marcação do volume de água (seta vermelha), B = copo central para isca de sardinha e mel (seta laranja), com espaço para água e detergente neutro (seta azul), C = telhado para evitar que a chuva transborde a armadilha (seta verde), D = identificação do indivíduo arbóreo em que a armadilha foi instalada (seta roxa)..... 33
- Figura 6.** Armadilha do tipo *pitfall* arbóreo instalada em um dos indivíduos selecionados... 34
- Figura 7.** Distribuição de valores (boxplots) de $\delta^{15}\text{N}$ em folhas de espécies de Fabaceae do Banco in vivo de Diversidade Genética da USP de Ribeirão Preto, em relação ao solo..... 36
- Figura 8.** Distribuição de valores (barras) de $\delta^{15}\text{N}$ em folhas de espécies de Fabaceae (em vermelho) do Banco in vivo de Diversidade Genética da USP de Ribeirão Preto, em relação a folhas de espécies não-leguminosas (em azul).....37
- Figura 9.** Comparação da quantidade de N (g) por área foliar (m^2) entre leguminosas e não-leguminosas.....39
- Figura 10.** Comparação do LMA entre leguminosas e não-leguminosas..... 40
- Figura 11.** NEFs (círculo pontilhado em vermelho) das espécies *Anadenanthera colubrina* (A - indivíduo 1, e B - indivíduo 3) e *Enterolobium contariisiiqurum* (C - indivíduo 1, D - indivíduo 2, e E - indivíduo 3)..... 41
- Figura 12.** Indivíduos de *Centrolobium tomentosum* (A - indivíduo 1, B - indivíduo 2, C - indivíduo 3) sem a presença das domácias foliares.....42
- Figura 13.** Diagrama de Venn ilustrando o número de espécies de formiga entre as espécies

de leguminosas.....	46
Figura 14. Curva de rarefação para amostragem feita nas espécies de leguminosas. Resultados com 95% de intervalo de confiança para a extrapolação.....	49
Figura 15. Índice de diversidade de Shannon, comparando a média entre as espécies de leguminosas.....	50
Figura 16. Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS), demonstrando a similaridade da mirmecofauna entre as leguminosas: A - <i>A. colubrina</i> , C - <i>C. tomentosum</i> , E - <i>E. contariisiiqurum</i> , P - <i>P. elegans</i>	50
Figura 17. Diagramas de rank-abundância das espécies de formigas em cada espécie de leguminosa.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação das espécies plantadas no BDG da USP de Ribeirão Preto.....	17
Tabela 2. Relação de espécies da família Fabaceae plantadas no Banco in vivo de Diversidade Genética da USP de Ribeirão Preto e espécies selecionadas para o estudo.....	28
Tabela 3. Comparação das médias (média e desvio padrão) de, N_{area} (g m^{-2}) e N_{massa} (mg g^{-1}) foliar entre as espécies de leguminosas. Letras iguais = sem diferença significativa ($p > 0.05$). Letras diferentes = com diferença significativa ($p < 0.05$).....	38
Tabela 4. Relação de espécies capturadas nas 4 espécies de Fabaceae estudadas, número de indivíduos de formigas e em quais estações foram coletadas. S = estação seca, C = estação chuvosa.....	44
Tabela 5. Estimativa de diversidade assintótica entre as espécies de leguminosas, utilizando a riqueza de espécies observada e estimada (com erro padrão).....	48
Tabela 6. Valores obtidos por meio do Modelo Linear. A riqueza de espécies contabilizada em cada indivíduo vegetal foi utilizada como variável resposta e a presença/ausência de NEFs como variável explicativa.....	53
Tabela 7. Valores obtidos por meio do Modelo Linear. A diversidade de espécies (Índice de Shannon) contabilizada em cada indivíduo vegetal foi utilizada como variável resposta e a presença/ausência de NEFs como variável explicativa.....	53

SUMÁRIO

1. Introdução.....	14
2. Revisão da Literatura.....	15
2.1. Mata Atlântica.....	15
2.1.2. Floresta da USP.....	16
2.2. Leguminosas.....	19
2.2.1. Fixação biológica de nitrogênio e a metodologia de isótopos estáveis.....	19
2.3. Domácias, nectários-extraflorais e sua interação com formigas.....	22
2.4. Formigas.....	23
2.4.1. Formigas arborícolas.....	24
3. Objetivos.....	26
4. Metodologia.....	26
5. Resultados e Discussão.....	35
6. Conclusão.....	54
7. Referências Bibliográficas.....	54

1. INTRODUÇÃO

A incrível diversidade de vida observada na Terra depende da extraordinária e complexa rede de interações ecológicas entre os seres vivos, relações estas que realizaram um papel crucial na especiação e extinção de populações na história do planeta (Del-Claro, Torezan-Silingardi, 2021). Insetos e plantas partilham associações que datam do período Carbonífero, por volta de 300 milhões de anos, com evidências de danos ocasionados por insetos em fósseis preservados de partes vegetais, indicando uma diversidade de fitofagia realizada por estes antes mesmo da origem e diversificação das Angiospermas (Gullan; Cranston, 2012). Os insetos são essenciais para a manutenção dos processos ecossistêmicos, principalmente por atuarem na propagação de plantas por meio da polinização e dispersão de sementes, contribuírem para a reciclagem de nutrientes através do consumo e digestão, além de também participarem na formação, estruturação e manutenção de comunidades de plantas (Gullan; Cranston, 2012).

Excetuando-se as áreas polares, as formigas existem em todos os ambientes terrestres, sendo nos trópicos a sua maior abundância, frequência e diversidade (Baccaro *et al.*, 2015). Mesmo pertencendo a uma única família (Hymenoptera - Formicidae), estes insetos constituem entre 30% e 50% da biomassa animal terrestre da Amazônia (Baccaro *et al.*, 2015). Segundo os mesmos autores, o Brasil possui a maior diversidade de gêneros (31% de todos descritos no mundo) e a segunda maior diversidade de espécies de formigas.

Apesar de ser uma forma de interação relativamente rara entre plantas e formigas, o estudo da relação mutualística entre estes organismos está entre as interações mais estudadas, principalmente a mirmecofilia, na qual plantas apresentam estruturas específicas com funções de atração de formigas ao oferecer alimentação e/ou abrigo (Dáttilo *et al.*, 2009). A existência destas estruturas oferece benefícios à planta, como a proteção das formigas contra insetos herbívoros e concorrentes das plantas (Gullan; Cranston, 2012).

Embora existam diversos estudos sobre as interações formiga-planta, quando comparados ao número de pesquisas focadas na mirmecofauna de solo ou serapilheira, o número de investigações é menor (Schütte *et al.*, 2007). Segundo Davidson e colaboradores (2003), o estudo da mirmecofauna arborícola é importante devido à sua abundância nas regiões tropicais e subtropicais, existindo um alto potencial de descobertas de novas espécies (Lewinsohn; Freitas; Prado, 2005) e interações.

Nas interações inseto-planta um fator que pode influenciar a entomofauna de diversas maneiras é a performance da planta hospedeira, visto que variações na qualidade e disponibilidade dos recursos são esperadas (Costa *et al.*, 2011). Essas variações, que possuem

associação a aspectos ecológicos e processos fisiológicos, levam os insetos em direção aos hospedeiros que podem fornecer melhores condições de sobrevivência e reprodução (Fonseca; Fleck; Fernandes, 2006). Por exemplo, a fixação de Nitrogênio (N) em nódulos de raiz impacta de forma crítica a aptidão da planta, alterando de forma significativa os recursos disponíveis para as plantas crescerem e se defenderem contra herbívoros, aumentando as defesas químicas diretas (Dean; Mescher; Moraes, 2009; Kempel; Brandl; Shädler, 2009; Thamer *et al.*, 2011) ou alterando as defesas indiretas que as plantas usam para recrutar invertebrados mutualistas (Ballhorn; Kautz; Shädler, 2013).

Analisando este contexto, algumas espécies de plantas que constituem a família Fabaceae, além de possuírem associação com microrganismos fixadores de N, estabelecem relações ecológicas com espécies de formigas. Contudo, poucas espécies de árvores deste grupo foram investigadas o suficiente a respeito de possíveis interações formiga-planta, principalmente sobre a comunidade de formigas arborícolas, o que torna interessante uma investigação sobre como a fixação biológica de nitrogênio pode influenciar na mirmecofauna arborícola e se este pode ser um fator que diferencia a comunidade destes insetos no estrato arbóreo. Além disto, como o néctar extrafloral é uma importante fonte de carboidratos e aminoácidos para formigas (Fowler *et al.*, 1991) e que junto com corpos alimentares e domácias compõem um dos métodos de defesa das plantas contra a herbivoria, analisar se o investimento das plantas nestes “atrativos”, ou seja, a presença ou ausência destes elementos, é outro fator que pode influenciar na estruturação da comunidade de formigas arborícolas.

Dado a importância ecológica e econômica de Fabáceas e himenópteros, este trabalho teve por objetivo, avaliar a variação na composição das comunidades de mirmecofauna arborícolas associados a 4 espécies de árvores leguminosas. Foi considerada a variabilidade de espécies de formigas encontrada nas leguminosas em relação à Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) e a presença de nectários extraflorais (NEFs) ou outras estratégias de cooperação com formigas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Mata Atlântica

Das diversas denominações que já recebeu, a Mata Atlântica, segundo as definições feitas pela Lei Federal nº 11.428/2006, abrange as formações florestais e ecossistemas associados citados a seguir: Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Ombrófila Aberta, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Estacional Decidual (formações florestais nativas), manguezais, restingas, campos de altitude, brejos interioranos

e encaves florestais do Nordeste (ecossistemas associados). Desta forma, o bioma apresenta variações na sua fisionomia e diversidade, influenciado por diversos eventos geomorfológicos, climáticos, ecológicos, que unidos, proporcionaram esta diversificação e divisão de formações vegetais (Guedes et.al, 2005).

A grande floresta que originalmente recobria grande parte da região leste brasileira, sofreu um acentuado processo de desmatamento, com sua vegetação natural reduzida a aproximadamente 12% (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA; INPE, 2021). É considerada um dos “hotspots” mundialmente mais importantes, devido a sua vasta riqueza em biodiversidade oriunda de suas variadas formações vegetais (Pais, 2003), e consequente centros de endemismo, estando associado a graves ameaças pelo desmatamento e mudanças climáticas (Sambuichi; Mielke; Pereira, 2009). Segundo informações da Fundação SOS Mata Atlântica (2023), o bioma possui mais de 15 mil espécies de plantas. No entanto, os insetos são um dos grupos menos documentados em levantamentos da fauna brasileira (Batista, 2003, apud Guedes *et al.*, 2005), mesmo sendo esperado concentrações de espécies endêmicas destes animais, seguindo os padrões de espécies vegetais na Mata Atlântica (Guedes *et al.*, 2005) e de se saber sua importância para o ecossistema, como a polinização e dispersão de sementes, por exemplo.

2.1.2. Floresta da USP

Hoje em dia, o que resta da Mata Atlântica permanece sofrendo diversas pressões como: o impacto de mais de 145 milhões de brasileiros que vivem na área, agropecuária e agricultura, exploração predatória de madeira, industrialização, entre outros (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2023). Considerando este estado atual, atividades de restauração ecológica de ecossistemas de Mata Atlântica são imprescindíveis.

Desta forma, programas e estudos de preservação e conservação tornaram-se frequentes, com o propósito de compreender e tentar minimizar as consequências futuras do desmatamento para o bioma. De acordo com Del-Claro e Torezan-Silingardi (2006), os antigos programas de conservação focavam principalmente em levantamentos da diversidade de espécies, mecanismos relacionados ao funcionamento dos ecossistemas e preservação da variabilidade genética nas populações. No entanto, estas prioridades estão se modificando e voltando sua atenção para uma visão mais integrativa da biodiversidade, analisando não somente sua abundância, mas também suas interações, o que se denomina “Biodiversidade Interativa” (Del- Claro; Torezan-Silingardi, 2006).

Em 1998, foi iniciado no *campus* da Universidade de São Paulo (USP) na cidade de Ribeirão Preto/SP, um projeto com o título “Floresta da USP”, com o intuito de recompor a floresta estacional semidecidual, um dos tipos de vegetação nativa da região e que faz parte do domínio da Mata Atlântica, em uma área de 75 hectares (ha) (Pais, 2003), onde até então era uma área de plantio de cana-de-açúcar. Este trabalho de restauração ecológica fundamentou-se em plantar por meio de uma distribuição heterogênea, espécies arbóreas nativas de modo a representarem a vegetação original da região, utilizando espécies pioneiras e não pioneiras, escolhidas com base em inventários feitos em remanescentes desta região (Pais, 2003). O trabalho de reflorestamento foi dividido em 2 etapas: a primeira em 1998, compreendeu 30 hectares, com o plantio de 116 mil mudas de árvores de 70 espécies nativas das bacias do Rio Pardo e do Rio Mogi-Guaçu, a qual foi denominada de Área de Recomposição (Almeida, 2017).

Os 45 ha restantes, foram na segunda etapa destinados para se estabelecer um Banco *in vivo* de Diversidade Genética (BDG), com mais de 90 mil mudas plantadas entre 2000 e 2004 (Almeida, 2017). Seu objetivo foi estabelecer populações geneticamente diversas de 45 espécies da flora regional (floresta estacional semidecidual) (Tabela 1), além de também servir futuramente como fonte de sementes com alta variabilidade genética para futuros projetos de restauração (Varanda, 2007). O projeto é visto como precursor na implantação associada a temas de sucessão ecológica, plantações com planejamento matemático e a construção do banco genético representando uma fonte de grande qualidade de sementes, além de conseguir contribuir com um aumento de 20% de cobertura vegetal na área urbana da cidade (Almeida, 2017).

Tabela 1. Relação das espécies plantadas no BDG da USP de Ribeirão Preto.

Espécies	Família
<i>Astronium graveolens</i> Jacq.	Anacardiaceae
<i>Astronium urundeuva</i> Engl.	Anacardiaceae
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	Anacardiaceae
<i>Aspidosperma polyneuron</i> Müll. Arg.	Apocynaceae
<i>Didymopanax morototoni</i> (Aubl.) Decne. & Planch	Araliaceae
<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart.	Arecaceae
<i>Syagrus oleracea</i> (Mart.) Becc.	Arecaceae
<i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman	Arecaceae
<i>Tabebuia roseoalba</i> (Ridl.) Sandwith	Bignoniaceae

<i>Tabebuia vellosi</i> Toledo	Bignoniaceae
<i>Cordia trichotoma</i> (Vell.) Arráb. ex Steud.	Cordiaceae
<i>Croton floribundus</i> Spreng.	Euphorbiaceae
<i>Croton urucurana</i> Baill.	Euphorbiaceae
<i>Acacia polyphylla</i> DC .	Fabaceae
<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan.	Fabaceae
<i>Caesalpinia ferrea</i> Mart. ex Tul.	Fabaceae
<i>Centrolobium tomentosum</i> Guill. ex Benth.	Fabaceae
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Fabaceae
<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong	Fabaceae
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Fabaceae
<i>Holocalyx balansae</i> Micheli	Fabaceae
<i>Machaerium villosum</i> Vogel	Fabaceae
<i>Myroxylon peruiferum</i> L. f.	Fabaceae
<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.	Fabaceae
<i>Platycyamus regnellii</i> Benth.	Fabaceae
<i>Platypodium elegans</i> Vogel.	Fabaceae
<i>Pterogyne nitens</i> Tul.	Fabaceae
<i>Aegiphila sellowiana</i> Cham.	Lamiaceae
<i>Nectandra megapotamica</i> (Spreng.) Mez	Lauraceae
<i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze	Lecythidaceae
<i>Cariniana legalis</i> (Mart.) Kuntze	Lecythidaceae
<i>Lafoensia pacari</i> A. St.-Hil.	Lythraceae
<i>Chorisia speciosa</i> A. St.-Hil	Malvaceae
<i>Genipa americana</i> L.	Malvaceae
<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	Malvaceae
<i>Tibouchina granulosa</i> (Desr.) Cogn.	Melastomataceae
<i>Cedrela fissilis</i> Vell.	Meliaceae
<i>Guarea guidonia</i> (L.) Sleumer	Meliaceae
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Myrtaceae
<i>Gallesia integrifolia</i> (Spreng.) Harms	Petiveriaceae
<i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engl.) Engl.	Rutaceae
<i>Esenbeckia leiocarpa</i> Engl	Rutaceae
<i>Zanthoxylum riedelianum</i> Engl.	Rutaceae
<i>Cecropia pachystachya</i> Trécul	Urticaceae

2.2. Leguminosas

Entre as espécies de árvores utilizadas no plantio do BDG, 14 pertencem à família Fabaceae, também conhecidas como leguminosas, plantas de distribuição cosmopolita. Sendo a terceira maior família de angiospermas, com 630 gêneros e 18.000 espécies descritas (Judd *et al.*, 2009), ocorrem em habitats consideravelmente diversos. No Brasil, estão presentes 212 gêneros e 2.716 espécies, em que 16 destes gêneros e 1.455 espécies são endêmicas ao território brasileiro (Mendes; Chaves, 2015). Ainda conforme os autores, seu hábito é variado, indo de ervas e lianas a arbustos e árvores. Segundo o Grupo de Trabalho de Filogenia de Leguminosas (LPWG, 2017) a família foi dividida em 6 subfamílias: Cercidoideae, Detarioideae, Duparquetioideae, Dialioideae, Caesalpinioideae e Papilionoideae, onde apenas a subfamília Duparquetioideae não é representada no Brasil. Uma das principais características da família é a presença de frutos em forma de vagem, apesar de existirem exceções (Carvalho; Gaiad, 2021).

Em relação a aspectos econômicos, esta família está em segundo lugar em importância, ficando apenas atrás da família Poaceae (Judd *et al.*, 2009), sendo fonte de produtos nas áreas alimentícia, medicinal, ornamental, madeireira, dentre outras (Di Stasi; Hiruma-Lima, 2002). Já no aspecto ecológico, está entre as três principais famílias presentes nos ecossistemas brasileiros (Forzza *et al.*, 2010), onde a maioria das espécies são pioneiras e bem adaptadas a ambientes abertos e com perturbações, em razão, em parte, de sua associação com ectomicorrizas ou com bactérias do gênero *Rhizobium*, que realizam a FBN, possuindo a habilidade de conversão do N atmosférico em amônia (Lewis, 1987 apud Andrade, 2008). Devido a esta associação, o grupo Fabaceae se sobressai como espécies de interesse para sistemas que utilizam produção sustentável, oferecendo serviços na área agrícola como: adubo natural ou verde, cobertura de solo, sombreamento de cultivo, além de várias espécies serem usadas na recuperação de áreas degradadas (Souza, 2012), fazendo com que assim, a família Fabaceae represente uma fonte relevante de N tanto para os ecossistemas quanto para a agricultura (Yahara *et al.*, 2013).

2.2.1. Fixação biológica de nitrogênio e a metodologia de isótopos estáveis

O Nitrogênio é um nutriente comumente limitante (Vitousek; Farrington, 1997), pois é requerido pelas plantas em quantidades superiores a qualquer outro mineral, sendo integrante de muitos componentes celulares vegetais, como a clorofila, aminoácidos e os ácidos nucléicos, influenciando no crescimento vegetal (Taiz *et al.*, 2017).

A quantidade de Nitrogênio na atmosfera, solos e água do planeta é de aproximadamente 4×10^{21} g, porém mais de 99 % deste não está à disposição para 99 % dos organismos, por estar quase que exclusivamente numa forma química (N_2) em que a maior parte dos seres vivos não conseguem usufruir (Nardoto, 2005). A quebra da ligação tripla que mantém conectados os dois átomos de N necessita de uma grande quantidade de energia, que só pode ser rompida por meio de processos industriais que envolvem condições de altas temperaturas e pressão, ou um pequeno número de microrganismos especialistas, através da FBN (Schlesinger, 1997). Contudo, poucas espécies de procariontes contém a enzima nitrogenase que consegue reduzir N_2 em N biologicamente disponível. Chamados de fixadores de N_2 ou diazotróficos, eles são os mediadores do processo de FBN, que geralmente, envolve as formas de simbiose microrganismo-planta vascular (Nardoto, 2005).

Segundo Coletta (2010), na simbiose entre rizóbios e leguminosas são formados nódulos nas raízes do vegetal, os quais são estruturas onde as bactérias *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, e as actinobactérias do gênero *Frankia*, habitam e atuam fixando o N. Nesta simbiose, estes microrganismos utilizam a leguminosa como fonte de carbono, ao mesmo tempo que liberam N fixado na forma de amônia, e que, para evitar a sua toxicidade, é convertido rapidamente em N orgânico para então ser utilizado pela planta (Taiz *et al.*, 2017). A enzima responsável pela catálise do nitrogênio atmosférico (N_2) e sua conversão em amônia (NH_3) é a nitrogenase, processo correspondente a fixação do N (Patreze, 2003). A atividade é controlada por nodulinas, como a Lb, que são produzidas pela planta hospedeira, tendo como função o transporte de oxigênio para a bactéria no centro do nódulo (Patreze, 2003), já que as concentrações de oxigênio ali são baixas em razão da sensibilidade que a enzima nitrogenase tem a este elemento, podendo ser inativadas (De Bruijn *et al.*, 1994), mesmo a bactéria sendo aeróbica (Patreze, 2003).

Ainda segundo Patreze (2003), esta associação ocorre geralmente quando o N está deficiente no solo, pois o processo de fixação biológica demanda considerável quantidade de energia. Os fatores ambientais mais relevantes na região tropical que influenciam a FBN são: a alta temperatura, déficit hídrico e a acidez do solo, que interfere no seu equilíbrio nutricional, permitindo o aumento na concentração ou a falta de certos nutrientes (Patreze, 2003).

Os obstáculos para medir as taxas de FBN em campo levou ao aprimoramento de técnicas que utilizam isótopos estáveis, os quais proporcionam uma análise qualitativa capaz de distinguir a origem do N fixado pelas plantas (Dawson *et al.*, 2002). Existem dois isótopos estáveis de nitrogênio: ^{14}N e ^{15}N , em que a média de abundância atmosférica deles é de 99,63

% para ^{14}N e 0,3663 % para ^{15}N (Nardoto, 2005). Nos estudos que utilizam a metodologia de isótopos estáveis, é predominante o uso da notação delta por mil (δ ‰), em que se evidencia a divergência de uma amostra em relação a um padrão (Barbosa; Barbosa; Salles, 2018). No caso do N, o ar atmosférico (N_2) é considerado o gás padrão de referência (Barbosa; Barbosa; Salles, 2018), e portanto tem valor de $\delta^{15}\text{N}$ igual a zero. Amostras que contêm N geralmente se encontram entre o intervalo de variação entre -20 ‰ e + 20 ‰.

Os tecidos de animais apresentam geralmente valores maiores de $\delta^{15}\text{N}$ quando comparados a valores em plantas e esse crescente enriquecimento se eleva com os níveis tróficos em consequência dos caminhos catabólicos que facilitam a liberação do isótopo mais leve (^{14}N) (Nardoto, 2005). O N existente na matéria orgânica do solo tem inclinação a ser mais rico em ^{15}N quando comparado a tecidos de plantas, o que indica uma discriminação do $\delta^{15}\text{N}$ pela atuação dos microrganismos ao longo do processo de decomposição (Nardoto, 2005). Já a conversão de N_2 em formas orgânicas através da FBN parece diferenciar pouco o valor de $\delta^{15}\text{N}$ (Nardoto, 2005). Em consequência, a assinatura isotópica das leguminosas, durante a fixação de N_2 atmosférico, tendem a ficar próximas de 0 ‰ (Ehleringer; Rundel, 1989), e espécies sem a capacidade de fixação N_2 atmosférico apresentam uma grande variação na razão isotópica que depende da taxa de mineralização de N no solo (Garten Jr.; Miegroet, 1994). Dessa forma, os valores $\delta^{15}\text{N}$ da planta podem ser usados para determinar se a fonte de N é majoritariamente originada da atmosfera ou do solo (Nardoto, 2005).

Estudos têm demonstrado que rizóbios associados a plantas não apenas fixam o N atmosférico, que apoia o metabolismo primário da planta hospedeira, mas também afetam uma ampla variedade de defesas indiretas e diretas das plantas (Summers; Mondor, 2011; Ballhorn; Kautz; Schädler, 2013; Dean; Mescher; Moraes, 2014). O estudo de Godschalx e colaboradores (2015), por exemplo, demonstrou que a maior fixação de N pela espécie *Phaseolus lunatus* (feijão-de-lima) através da associação com rizóbios aumentou as defesas químicas diretas da planta, como a cianogênese, e reduziu a secreção realizada por NEFs, o que consequentemente reduziu a atração de formigas patrulheiras, pertencentes às defesas indiretas da planta. Segundo Thamer e colaboradores (2011), o rizóbio pode fornecer N suficiente para permitir que as plantas se defendam por meio da cianogênese, enquanto aquelas sem esta simbiose tem a disponibilidade de N limitada, o que resulta em um baixo potencial cianogênico e então, um aumento em sua defesa por meio da secreção dos NEFs para atração de formigas. Estudar se essas estratégias se aplicam em outras formas de vegetação, como árvores, pode ser interessante na investigação em como influenciam as interações com outros organismos dentro do ecossistema.

2.3. Domácias, nectários-extraflorais e sua interação com formigas

Associações envolvendo insetos e plantas, sejam elas antagônicas ou mutualísticas, representam grande parte das interações ecológicas que existem, sendo consideradas como a base estrutural de ecossistemas naturais (Torezan-Silingardi, 2012 apud Calixto; Lange; Del-Claro, 2018). Várias espécies de formigas formam interações com plantas usando suas superfícies como substrato para o forrageio, procurando presas (vivas ou mortas), néctar, exsudatos de insetos herbívoros ou das próprias plantas, assim como locais para a construção de ninhos (Calixto; Lange; Del-Claro, 2018).

Assim, as interações entre formigas e plantas podem ser negativas, causando danos à planta, ou positivas, oferecendo proteção contra herbivoria, e/ou desempenhando a função de polinização e dispersão de sementes (Trager *et al.*, 2010). Estas relações positivas podem acontecer de forma oportunista ou mutualística, onde espécies diferentes podem se relacionar para otimizar suas chances de sobreviver no ambiente, ambas fornecendo e recebendo benefícios (Dáttilo *et al.*, 2009).

Algumas espécies de plantas, conhecidas como mirmecófitas, desenvolveram estruturas específicas para formigas colonizar e nidificar (Rico-Gray; Oliveira, 2007). Essas estruturas ocas, chamadas de domácias, podem se originar de modificações em várias partes do vegetal como folhas, tronco, bulbos ou raízes, sendo a associação entre *Acacia cornigera* (L.) Willd. (Fabaceae) e *Pseudomyrmex ferrugineus* (Smith, F., 1877) (Pseudomyrmecinae) o exemplo mais conhecido de mutualismo formiga-planta (Calixto; Lange; Del-Claro, 2018). A diversidade dessas plantas e formigas associadas é alta em várias regiões, com aproximadamente 250 espécies de plantas mirmecófitas na região Neotropical, distribuídas em 14 famílias (Benson, 1985 apud Calixto; Lange; Del-Claro, 2018). Grande parte dos estudos com domácias são realizados devido a interação entre ácaros e plantas, os quais são os mais conhecidos por habitar estas estruturas presentes nas folhas, (e a interação mais encontrada na literatura relacionada ao termo “domácia”) tendo Lundström em 1887, como a primeira pessoa a observar estes animais nestas estruturas e a cunhar o termo (Lundström, 1887 apud Matos *et al.*, 2006). Ao longo do tempo, o termo passou para as outras estruturas encontradas em outras partes das plantas e que são utilizadas como ninho por formigas, sendo estas cavidades bem maiores (Beattie, 1985).

Além das mirmecófitas, há também as espécies vegetais mirmecófilas: plantas associadas a formigas, mas não especializadas (Rico-Gray; Oliveira, 2007). As estruturas presentes nestas plantas têm função de alimentação de animais podendo ser os corpos alimentares - pequenos nódulos com nutrientes nas folhas ou caule, ricos em lipídios,

carboidratos, e proteínas ou aminoácidos (Calixto; Lange; Del-Claro, 2018) - ou os NEFs: glândulas que provém secreções açucaradas (provavelmente contendo aminoácidos também) que atraem tanto formigas quanto outros insetos (Gullan; Cranston, 2012), e que diferente dos nectários presentes nas flores, não estão envolvidos no processo de polinização. A grande quantidade de plantas com NEFs em comunidades vegetais pode ser um efeito da pressão seletiva ocasionada pela acentuada atividade de forrageio das formigas sobre as árvores e seus impactos em outros animais herbívoros (Oliveira; Brandão, 1991 apud Silvestre 2000).

O mutualismo protetor formiga-planta caracteriza-se então pelo forrageio de formigas predadoras em mirmecófilas ou mirmecófitas, que resulta em benefícios às plantas: diminuição da herbivoria e/ou melhoria da aptidão do vegetal (Calixto; Lange; Del-Claro, 2018), como crescimento vegetativo e reprodução (Nascimento; Del-Claro, 2010). Em troca, as formigas recebem alimento direto ou indireto das plantas que aumentam o crescimento e a sobrevivência de suas colônias (Byk; Del-Claro, 2011).

2.4. Formigas

Formigas são os insetos mais abundantes e ecologicamente dominantes do planeta Terra, devido à cooperação proporcionada por sua socialidade (Borowiec; Moreau; Rabeling, 2020). Pertencentes à ordem Hymenoptera, a qual inclui abelhas e vespas, a eussocialidade evoluiu diversas vezes dentro do grupo, sendo as formigas a linhagem mais propagada, numerosa e rica em espécies (Borowiec; Moreau; Rabeling, 2020). Ainda segundo os mesmos autores, as formigas fazem parte do clado Aculeata, onde o ovipositor modificou-se em um órgão que injeta veneno (ferrão), e onde se reúne os casos mais conhecidos de eussocialidade em himenópteros.

As formigas são insetos holometábolos (metamorfose completa), com hábitos alimentares variados, podendo ser herbívoros, carnívoros, fungívoros e onívoros (Baccaro *et al.*, 2015), o que resulta em uma incrível diversidade de forma e função (Figura 1), como por exemplo: formigas de correição, formigas-de-estalo, formigas-tartaruga, cultivadoras de fungos, formigas-explosivas e formigas parasitas-sociais (Borowiec; Moreau; Rabeling, 2020).

Os locais onde constroem seus ninhos também é variado podendo ser no subterrâneo, chegando a grandes profundidades (por exemplo o gênero *Atta*), em gravetos ou troncos ocos (por exemplo o gênero *Strumigenys*) ou frutos caídos no solo, além de existirem espécies totalmente arborícolas (por exemplo *Camponotus senex* Smith, F., 1858) construindo seus

ninhos em cavidades disponíveis nos troncos/ramos de árvores ou em raízes de epífitas (Baccaro *et al.*, 2015).

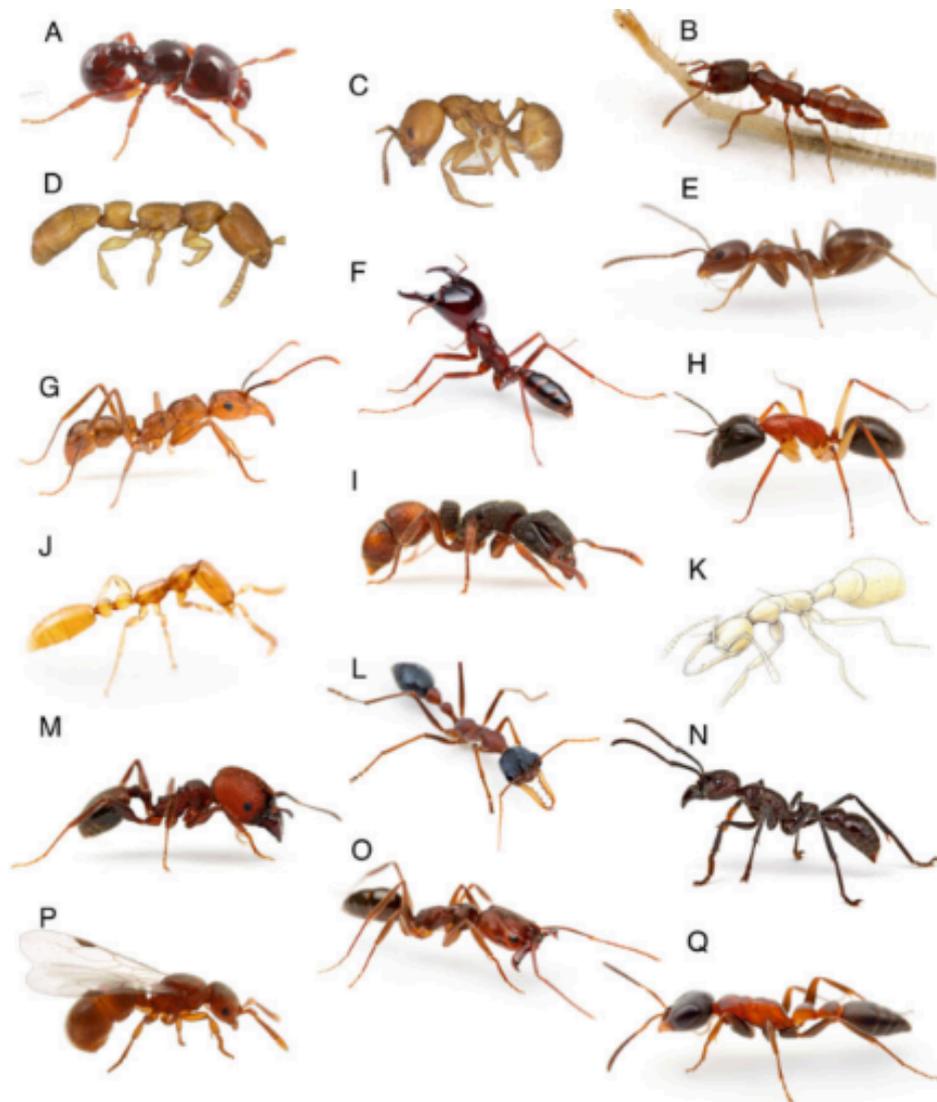


Figura 1. Exemplos ilustrativos da diversidade de subfamílias de formigas. A = Agroecomyrmecinae, B = Amblyoponinae, C = Aneuretinae, D = Apomyrminae, E = Dolichoderinae, F = Dorylinae, G = Ectatomminae, H = Formicinae, I = Heteroponerinae, J = Leptanillinae, K = Martialinae, L = Myrmeciinae, M = Myrmicinae, N = Paraponerinae, O = Ponerinae, P = Proceratiinae, Q = Pseudomyrmecinae.

Fonte: Modificado de Borowiec, Moreau e Rabeling, 2020.

2.4.1. Formigas arborícolas

Levando em consideração que o habitat original destes himenópteros é a serrapilheira (Hölldobler; Wilson, 1990), algumas espécies se especializaram em ambientes arbóreos devido a sua adaptação a uma alimentação líquida, à base do néctar de NEFs e exsudados de hemípteros (Brühl; Gunsalam; Linsenmair, 1998). Formigas arborícolas, portanto, como citado no item anterior, são aquelas que habitam árvores ou arbustos (Bernstein, 1975), e que nidificam e/ou forrageiam sobre eles (Ribas *et al.*, 2003).

Embora tenham uma elevada abundância nas copas das árvores, esta família não apresenta grande diversidade de espécies na região tropical, quando comparada a outros grupos como Coleoptera, Homoptera ou Hemiptera (Adis; Lubin; Montgomery, 1984; Stork, 1991; Tobin, 1994, 1995 apud Ribeiro; Espírito Santo, 2007). Em consequência, surge a necessidade de adaptações morfológicas e comportamentais a um ambiente mais adverso, que apresenta um número limitado de locais para nidificação, recursos alimentares escassos e concentrados, e um clima mais severo, além dos dosséis tropicais serem bastante secos ao se comparar ao solo (Davidson; Patrell-Kim, 1996; Davidson, 1997; Yanoviak; Kaspari, 2000).

As interações entre espécies (sejam elas positivas ou negativas), como a competição por território e recursos, são consideradas os principais mecanismos que estruturam as comunidades de formigas arbóreas (Tobin, 1997; Dejean *et al.*, 2007). Contudo, outros fatores, como o acesso a locais de nidificação e a estrutura vegetacional (Philpott; Foster, 2005; Powell *et al.*, 2011; Klimes *et al.*, 2012), a diversidade da flora (Ribas *et al.*, 2003; Basset *et al.*, 2012), o distúrbio do habitat (Schulz; Wagner, 2002; Schonberg *et al.*, 2004) e a disposição dos recursos alimentares (Blüthgen; Stork; Fiedler, 2004; Blüthgen; Stork, 2007) se mostraram importantes há pouco tempo nas investigações científicas. Apesar disto, ainda se contesta se os processos envolvidos na composição das comunidades de formigas nos dosséis de florestas tropicais são influenciados por fatores ambientais, interações entre espécies, ou se a composição destas não possui de fato um padrão para sua estruturação (Dejean *et al.*, 2000; Blüthgen; Stork, 2007; Sanders; Cruisinger, 2007; Fayle; Turner; Foster, 2013). Particularmente, ainda sabe-se muito pouco sobre como as interações entre as espécies de árvores e seus recursos para nidificação de formigas, podem influenciar na coexistência de espécies de formigas arborícolas em escalas espaciais menores (Powell *et al.*, 2011; Tanaka; Yamane; Itioka, 2010).

No Brasil, a maioria dos estudos que se concentram nesta área focam ou em populações específicas de formigas arborícolas e árvores, como por exemplo os “Jardins de Formigas” da Floresta Amazônica (Guerra *et al.*, 2001; Rodrigues, 2009; Paula; Lopes, 2013; Vicente; Silva; Izzo, 2020) e do Cerrado (Rodrigues *et al.*, 2008; Nascimento; Del-Claro,

2010; Rosa, 2020), ou em apenas documentar a diversidade sem investigar possíveis mecanismos responsáveis pela montagem de comunidades de formigas associadas a espécies de árvores, como por exemplo no Pantanal (Dambros, 2016), ou na Caatinga (Silva, 2011). Outra barreira para estas investigações, é a própria dificuldade em se acessar e fazer amostragens tão acima do solo (Antoniazzi *et al.*, 2019).

3.OBJETIVOS

Gerais:

O presente trabalho teve como objetivo descrever a mirmecofauna arborícola e avaliar padrões desta comunidade associadas às espécies da família Fabaceae presentes no BDG do campus da USP em Ribeirão Preto. A abordagem deste trabalho foi subdividida em três perguntas: (1) há diferenças de diversidade na comunidade de formigas arborícolas em diferentes espécies de Fabaceae? (2) existindo tais diferenças, a presença da FBN é um fator que pode explicá-la? (3) a presença ou ausência de estruturas mirmecofílicas (NEFs, corpos alimentares, domácias) também são fatores influentes em tais diferenças?

Específicos:

- Determinar a riqueza e diversidade de espécies de formigas arborícolas associadas a quatro espécies de árvores da família Fabaceae;
- Avaliar a ocorrência de FBN e a concentração foliar de N nas árvores selecionadas;
- Determinar a presença de NEFs, corpos alimentares e/ou domácias nas espécies arbóreas selecionadas;
- Avaliar relações entre as comunidades de formigas arborícolas com a FBN e com a presença/ausência de atrativos (NEFs, corpos alimentares, domácias) presentes nas espécies de Fabaceae;

4.METODOLOGIA

Área de Estudo

O estudo foi realizado na Floresta da USP (21° 9' 16,55"S; 47° 51' 41,59"W) na cidade de Ribeirão Preto. Segundo as definições de Köppen (1948), a classificação de clima da cidade é Aw: Clima Tropical de Savana com um verão chuvoso e inverno seco, onde as temperaturas médias são de 19°C no inverno e 25°C no verão, com média de precipitação pluviométrica de 1.427 mm de chuvas por ano, e umidade relativa do ar a 71% (Fundação Instituto de Pesquisas Econômicas - FIPE, 2019). O presente trabalho foi realizado dentro da

área do BDG (Figura 2), onde, como citado anteriormente no tópico 2.1.2, 45 ha foram destinados para o estabelecimento de um banco genético *in vivo* com o objetivo de resgatar 45 espécies da flora regional (VARANDA, 2007).

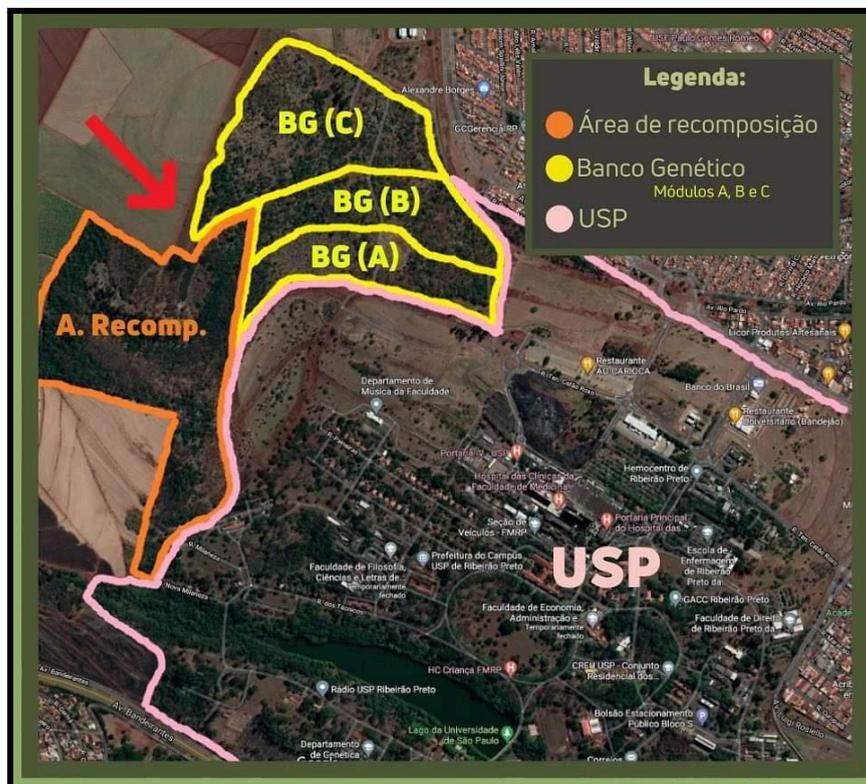


Figura 2. Território da Floresta da USP.

Fonte: Grupo de Ação da Floresta da USP, 2021.

Desenho amostral

No presente trabalho, quatro das 14 espécies existentes de árvores da família Fabaceae no BDG foram previamente selecionadas para a amostragem (Tabela 2), 2 espécies possuindo a capacidade de produzir NEFs e 2 sem esta habilidade, através da descrição de características morfológicas de gêneros feita por Martins (2009). Para cada espécie, 3 indivíduos foram marcados, sem critério específico de escolha, durante visitas à área de estudo, totalizando 12 indivíduos para a coleta de ramos, folhas e instalação de armadilhas para formigas. As espécies foram identificadas com ajuda de um responsável pelo Setor de Áreas Verdes e Meio Ambiente da Prefeitura da USP-RP. Amostras de solo foram também coletadas nas proximidades de cada indivíduo. Ramos coletados de cada indivíduo foram inspecionados visualmente sob lupa, quando se observou a presença ou ausência de estruturas mirmecofílicas (NEFs, corpos alimentares, domácias). Estes ramos também foram utilizados

para confecção de exsicatas, que foram depositadas no Laboratório de Ecologia de Comunidades e Funcionamento de Ecossistemas - ECOFERP-USP/RP. As árvores onde as formigas e as folhas foram coletadas foram identificadas fisicamente (fitas) e sua localização registrada por meio de coordenadas geográficas (Figura 3).

Tabela 2. Relação de espécies da família Fabaceae plantadas no Banco *in vivo* de Diversidade Genética da USP de Ribeirão Preto e espécies selecionadas para o estudo.

Espécies	Subfamília
<i>Acacia polyphylla</i> DC	Caesalpinioideae
<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan. *	Caesalpinioideae
<i>Caesalpinia ferrea</i> Mart. ex Tul.	Caesalpinioideae
<i>Centrolobium tomentosum</i> Guill. ex Benth. **	Papilionoideae
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Detarioideae
<i>Enterolobium contariisiquurum</i> (Vell.) Morong *	Caesalpinioideae
<i>Holocalyx balansae</i> Micheli	Papilionoideae
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Detarioideae
<i>Machaerium villosum</i> Vogel	Papilionoideae
<i>Myroxylon peruiferum</i> L. f.	Papilionoideae
<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.	Caesalpinioideae
<i>Platycyamus regnellii</i> Benth.	Papilionoideae
<i>Platypodium elegans</i> Vogel. **	Papilionoideae
<i>Pterogyne nitens</i> Tul.	Caesalpinioideae

* espécies selecionadas com NEF, ** espécies selecionadas sem NEF.

Características morfológicas das espécies de leguminosas selecionadas

Segundo Carvalho (2003, p. 93-94), as características morfológicas para a espécie *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, são as seguintes:

Forma biológica: árvore perenifólia a semicaducifólia, com 10 a 20 m de altura e 30 a 60 cm de DAP, podendo atingir até 35 m de altura e 1 m de DAP, na idade adulta.(...) Folhas: compostas bipinadas, paripinadas; raque da folha com 15 a 20 cm de comprimento, com 15 a 35 pares de pinas multifoliolados; folíolo linear, assimétrico na base, obtuso, com costa média centralizada, margem ciliada e com um tufo de pêlos na inserção do pecíolo; pecíolo com 3 a 5 cm de comprimento. As folhas apresentam glândulas: uma glândula cônica séssil próxima ao pulvínulo (na base do pecíolo) e 1 a 4 glândulas verde-avermelhadas nos últimos pares de folíolos. Flores: brancas a amareladas, pequenas, perfumadas, reunidas em inflorescências terminais, em panículas de glomérulos com até 40 cm de comprimento. A epiderme externa do ovário dessa espécie é unisseriada, apresentando tricomas secretores e tectores (Siqueira & Oliveira, 2000). Fruto: folículo deiscente por meio de uma fenda única (Lima, 1985), coriáceo, com as margens constritas, marrom-escuro, estreito, com 11 a 30 cm de comprimento e 10 a

15 mm de largura, com uma ligeira constrição entre as lojas seminais, estipe de 10 a 20 mm de comprimento, com 5 a 15 sementes(...).

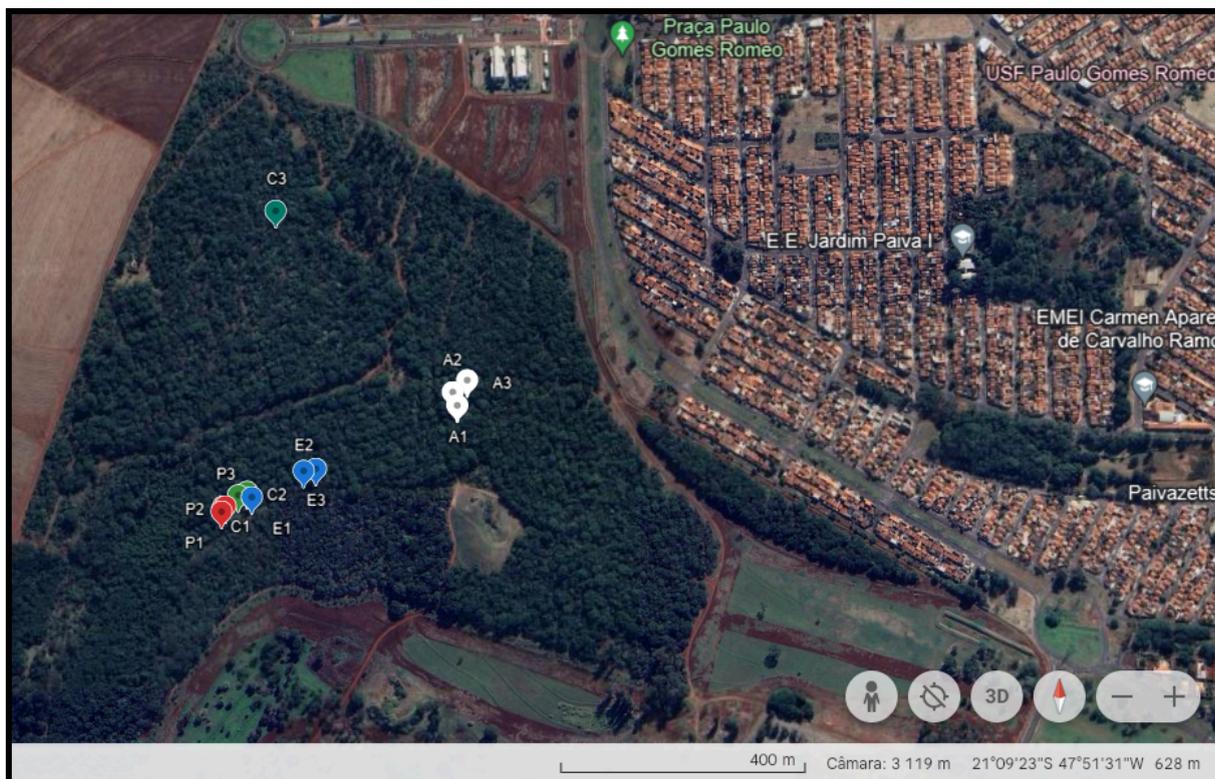


Figura 3. Localização geográfica dos indivíduos das espécies selecionadas dentro do Banco *in vivo* de Diversidade Genética da USP de Ribeirão Preto. Ícone de cor branca = *A.colubrina* (A1,A2,A3), ícone de cor verde = *C. Tomentosum* (C1,C2,C3), ícone de cor azul = *E.contariisiqurum* (E1,E2,E3), e ícone de cor vermelha = *P.elegans* (P1,P2,P3).

Fonte: Imagem extraída da plataforma Google Earth®, 2024.

Para as características da espécie *Centrolobium tomentosum* Guill. ex Benth., Carvalho (2003, p.145-146) descreve da seguinte forma:

Forma biológica: árvore caducifólia, apresentando queda total das folhas no inverno, com 5 a 15 m de altura e 20 a 50 cm de DAP, podendo atingir até 35 m de altura e 100 cm de DAP, na idade adulta.(...)Folhas: compostas, imparipinadas, alternas, com 11 a 19 folíolos, 25 a 45 cm de comprimento; raque cilíndrica, pubescente, folíolos irregularmente opostos ou alternos, ovado-lanceolados, base arredondada ou oblíqua, ápice agudo ou obtuso, assimétrico, piloso de ambos os lados, sendo a face inferior coberta de pêlos ferrugíneos, com 7 a 18 cm de comprimento e 4 a 10 cm de largura, apresentando pontuações resiníferas; pecíolos curtíssimos, 2 a 4 mm de comprimento, cilíndricos, tomentosos.Flores: com cálice castanho-escuro-tomentoso e corola amarelo-alaranjada, com 12 a 19 mm de comprimento, reunidas em panícula terminal com 18 a 30 cm de comprimento, muito ramificadas. Fruto sâmara com 12 a 22 cm de comprimento, provida de larga asa coriácea, tomentosa ou esparso-tomentosa; espinho estilar aderente à asa de 2,5 a 4,5 cm; núcleo seminífero com acúleos tomentosos, com 9 a 20 mm de comprimento; estípete com 2 a 3 mm de comprimento (Lima, 1989/1990; Vidal, 1978)(...).

E para as características de *Enterolobium contariisiqurum* (Vell.) Morong., Carvalho

(2003, p. 886) a descreve como:

Forma biológica: árvore caducifólia, com 10 a 20 m de altura e 40 a 80 cm de DAP, podendo atingir 20 m de altura e 95 cm de DAP na Região Nordeste ou até 40 m de altura e 300 cm de DAP, na Região Centro-Sul.(...) Folhas: compostas, bipinadas, alternas, com até 30 cm de comprimento e 3 a 7 pares de folíolos verde-claros em cima e verde-acinzentados em baixo, com presença de glândulas entre os folíolos e no pecíolo comum (base e no ápice). Flores: hermafroditas, de coloração branca, com 6 a 8 mm de comprimento, em capítulo globoso, com 1 a 4 cm de comprimento, contendo 10 a 20 flores, pedunculados em racemos axilares menores do que as folhas. Fruto: legume bacóide (Barroso *et al.*, 1999), indeiscente, preto quando maduro (persistindo durante o inverno sobre a árvore desnuda), recurvado, carnoso, semilenhoso, possuindo forma característica que faz lembrar uma orelha humana, superfície glabra, profundamente reentrante junto do pedicelo, com 3 a 9 cm de comprimento e 2 a 7 cm de largura, contendo 2 a 12 sementes, no Brasil (Paoli, 1988) e 16 a 22 sementes, na Argentina (Castiglioni, 1975). Cada fruto pesa 8 a 15 g.(...)

Para a espécie *Platypodium elegans* Vogel., Lima e Kuntz (2024, Online) trazem a seguinte descrição:

Árvore ou às vezes arbusto, inermes, ritidoma fissurado. Folhas alternas, imparipinadas; estípulas lineares ou estreitamente lanceoladas; 12-20 pares de folíolos, alternos, elípticos ou oblongos, base arredondada ou truncada, ápice emarginado, face adaxial glabra, face abaxial glabrescente ou pubérula, papiráceos ou subcoriáceos, nervuras secundárias paralelas. Flores 1,8 – 2,4 cm; cálice com tubo infundibuliforme, lobos 5. glabros; corola papilionácea, amarela, pétalas unguiculadas, estandarte orbicular; ovário estipitado pubescente ou glabro. Fruto do tipo sâmara, lateralmente achatada, lustrosa, núcleo seminífero distal, rígido.

Análise Isotópica com $\delta^{15}\text{N}$

A coleta em campo das folhas e solo foi realizada entre os meses de maio e junho de 2022. Amostras de solo em quatro profundidades (0-5, 5-10, 10-20 e 20-30 cm) foram coletadas ao redor de cada árvore selecionada na região do BDG, para a caracterização da razão isotópica das fontes de N para as plantas, totalizando 48 amostras de solo. Em seguida as amostras foram secas em temperatura ambiente por uma semana e então peneiradas, destorroadas e sub-amostras armazenadas em frascos herméticos com capacidade de 7 mL. De cada um dos 12 indivíduos arbóreos selecionados, 5 folhas totalmente expostas ao sol foram coletadas, totalizando 60 amostras, as quais tiveram suas imagens adquiridas em *scanner* de mesa e sua determinação da área total (Figura 4) por meio do programa ImageJ 1.53k (Schneider; Rasband; Eliceiri, 2012). Em seguida, as amostras foram secas em estufa de circulação forçada a 60 °C por 48 h para a determinação da massa seca. Depois, as folhas foram trituradas em um moedor elétrico e colocadas em frascos herméticos com capacidade de 7 mL.



Figura 4. Folhas sendo escaneadas para a análise da área total.

Fonte: O autor.

Para a avaliação da ocorrência de FBN, foi utilizada a técnica de isótopos estáveis, baseada na variação das razões isotópicas entre $^{15}\text{N}:$ ^{14}N (Nardoto et al, 2014). As amostras de solo e folhas foram novamente moídas e sub amostras analisadas em um analisador elementar acoplado a um espectrômetro de massa para quantificações de concentração de carbono e N (%), além de suas razões isotópicas ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$), no Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA-USP, em Piracicaba. Quando as assinaturas isotópicas das folhas são mais semelhantes às fontes de $\delta^{15}\text{N}$ no solo, conclui-se que não há FBN. Quando o valor de $\delta^{15}\text{N}$ das folhas se aproxima de zero (o valor isotópico do $\delta^{15}\text{N}$ atmosférico), conclui-se que o N fixado provém da FBN. Para uma melhor caracterização da ocorrência de FBN, a assinatura isotópica em folhas de 5 espécies não-leguminosas (1 indivíduo de cada) também foi realizada: *Croton urucurana* Spreng. (Euphorbiaceae), *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae), *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lythraceae), *Schinus terebinthifolia* Raddi (Anacardiaceae).

Amostragem de formigas arborícolas

As coletas em campo de formigas ocorreram dentro do período seco entre os meses de setembro e novembro de 2022, e no período chuvoso entre os meses de fevereiro e março de 2023, havendo duas coletas para cada período totalizando 4 coletas e 48 amostras. Para a coleta destes insetos presentes no estrato arbóreo foram utilizadas armadilhas do tipo *pitfall* arbóreo (Figura 5).

A metodologia baseou-se na proposta em Ribas *et al.* (2003) e adaptada por Silva *et al.* (2011), com adaptações feitas para o presente projeto em que: um recipiente de plástico transparente com 12 cm de diâmetro e 8 cm de profundidade (capacidade de 500 mL) foi fixado com barbante e fita adesiva, junto ao tronco de cada árvore selecionada, a 1,5 m de distância do solo (Figura 6), e preenchido com solução de água e detergente (usado para quebrar a tensão superficial da água e impedir a fuga de insetos que caírem na armadilha) na proporção de 250 mL de água e 5 mL de detergente. No centro do recipiente, um frasco menor (preso ao fundo do pote), com 7 cm de diâmetro e 6,5 cm de profundidade (capacidade de 120 mL) continha a isca composta de uma mistura de aproximadamente 12g de sardinha e mel (6g de sardinha e 6g de mel). Acima do pote foi colada com palitos de madeira a tampa pertencente ao pote plástico para evitar que a armadilha transbordasse em caso de chuva, com espaço entre a tampa e a borda do pote, para que os insetos conseguissem passar. Toda a estrutura permaneceu em campo por um período de 48 h, sendo então recolhida e levada ao laboratório.

Todos os espécimes coletados foram triados e identificados até o nível taxonômico mais exclusivo (quando possível) através de um estereomicroscópio, com as identificações baseadas em Baccaro *et al.* (2015), chaves de identificação a nível de espécie (Feitosa; Prada-Achiardi, 2019; Borgmeier, 1959; Wild, 2007; DuBois, 1986; Longino; Fernández, 2007) e com auxílio do Laboratório de Sistemática e Biologia de Formigas da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, o qual identificou parte do material coletado (24 morfotipos). Cada morfotipo/espécie identificado foi montado com um a dois indivíduos representantes e depositados no laboratório ECOFERP.

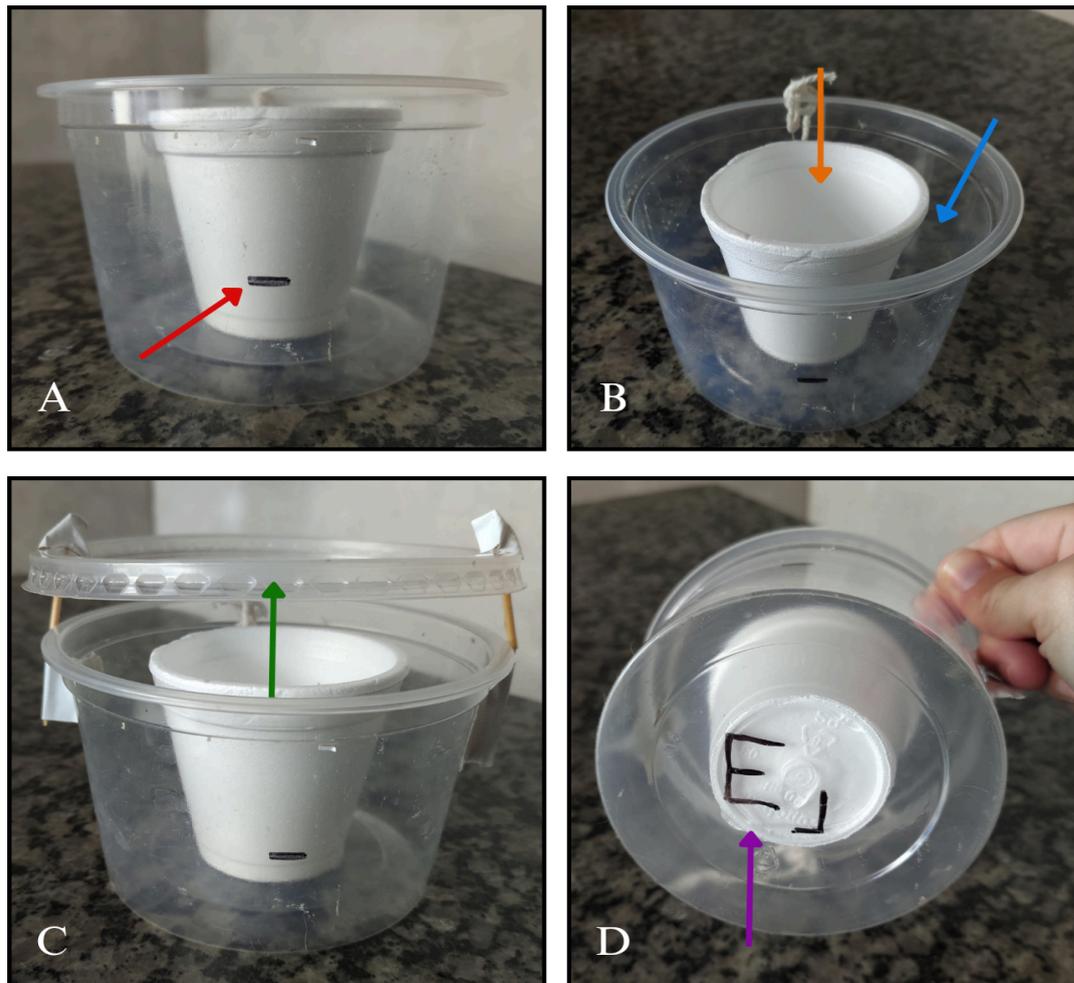


Figura 5. Armadilha do tipo *pitfall* arbóreo. A = marcação do volume de água (seta vermelha), B = copo central para isca de sardinha e mel (seta laranja), com espaço para água e detergente neutro (seta azul), C = telhado para evitar que a chuva transborde a armadilha (seta verde), D = identificação do indivíduo arbóreo em que a armadilha foi instalada (seta roxa).

Fonte: O autor.



Figura 6. Armadilha do tipo *pitfall* arbóreo instalada em um dos indivíduos selecionados.

Fonte: O autor.

Análises Estatísticas

Nas análises das concentrações de N e seu isótopo dentro do grupo de leguminosas e entre leguminosas e não-leguminosas, foi utilizado o teste Shapiro-Wilk para testar a normalidade dos dados e o Teste de Levene para testar a homogeneidade da variância. Como os dados seguiram uma distribuição normal e variância homogênea foram aplicados os testes paramétricos: Teste-t para análises entre os dois grupos (leguminosas e não-leguminosas), e ANOVA para análises entre as quatro espécies de leguminosas, seguido do teste *pos-hoc* de Tukey quando detectado diferenças significativas.

Para a análise dos dados sobre as espécies de formigas foram utilizados dados de frequência da ocorrência das espécies como métrica de abundância, obtendo-se a riqueza e a quantidade de espécies exclusivas em cada espécie de leguminosa através do Diagrama de Venn. Para dados de diversidade utilizou-se o índice de diversidade Shannon-Wiener e curvas de rarefação por meio do pacote iNEXT (Chao *et al.*, 2014) para avaliar o quão eficiente foi a

quantidade de amostras realizadas no presente trabalho. As curvas foram construídas baseada no número de amostras (*sample-based*). Também foi calculado a distribuição normal e a homogeneidade da variância por meio dos testes citados acima. Como os dados não apresentaram uma distribuição normal, foi realizado o teste não-paramétrico Friedman para verificar diferenças na fauna de formigas entre as espécies de leguminosas.

Também foi realizada uma Análise de similaridade (ANOSIM) para verificar se houve a formação de grupos na mirmecofauna entre as espécies vegetais e quais foram semelhantes/diferentes entre si. Posteriormente foi feito um Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS) com o índice de Bray-Curtis (já que os dados são de abundância) para visualização da ANOSIM. O NMDS é uma variação do Escalonamento Multidimensional (MDS) sendo uma técnica de ordenação que se baseia em uma matriz de distância, usada principalmente quando se pretende reduzir em pequenas dimensões dados multidimensionais complexos (Bakker, 2024). Desta forma, a técnica tenta traçar as unidades amostrais de modo que as distâncias entre estas unidades no espaço de ordenação estejam na mesma ordem de classificação que as distâncias entre unidades amostrais que foram medidas pela matriz de distância original (Bakker, 2024). Para analisar a qualidade da ordenação no NMDS, ou seja, quão bem preservado o algoritmo conseguiu organizar as distâncias conforme representadas na matriz original (Dexter; Rollwagen-Bollens; Bollens, 2018), utilizou-se o valor da métrica *Stress*, gerada pelo NMDS, que segundo Clarke (1993) pode se avaliar da seguinte forma:

- *Stress* < 0.05 - excelente representação sem possibilidade de má interpretação;
- *Stress* < 0.1 - boa ordenação sem um risco real de falsas inferências;
- *Stress* < 0.2 - ainda pode ser um gráfico útil, apesar de valores superiores possuírem potencial para má interpretação.
- *Stress* > 0.2 - provável produção de gráficos perigosos para se interpretar.

Para a analisar a relação entre diversidade de formigas e FBN, NEFs e domácias, uma regressão por meio de um modelo linear foi realizada com as variáveis explicativas sendo FBN, NEFs e domácias e a riqueza de espécies como variável resposta. A mesma análise foi feita também para o Índice de Shannon como variável resposta. Todas as análises acima foram realizadas por meio do ambiente R 4.1.2 (R Core Team, 2021).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

FBN e concentrações de N em leguminosas e não-leguminosas

As análises de isótopo de N sugeriram que as leguminosas selecionadas estavam assimilando N por meio da FBN. Quando comparado os níveis de $\delta^{15}\text{N}$ do solo com as folhas

das leguminosas (Figura 7), observou-se que as assinaturas isotópicas das folhas estavam mais próximas àquela da atmosfera (entre 0‰ e 2‰), diferentemente do solo que apresentou um valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ igual a 8,84‰, indicando uma possível assimilação por meio da FBN, resultado semelhante encontrado por Coletta *et al.* (2009). Comparando os valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre as espécies de leguminosas não houve diferença significativa entre elas ($F_{\text{valor}} = 0,88$; $p = 0,49$). Nardoto (2005) também encontrou solo com valores altos de $\delta^{15}\text{N}$ nas florestas da região do platô de Manaus (AM) e em Santarém (PA), enquanto no Cerrado os para a região de Brasília (DF) os valores foram menores do que a região amazônica.

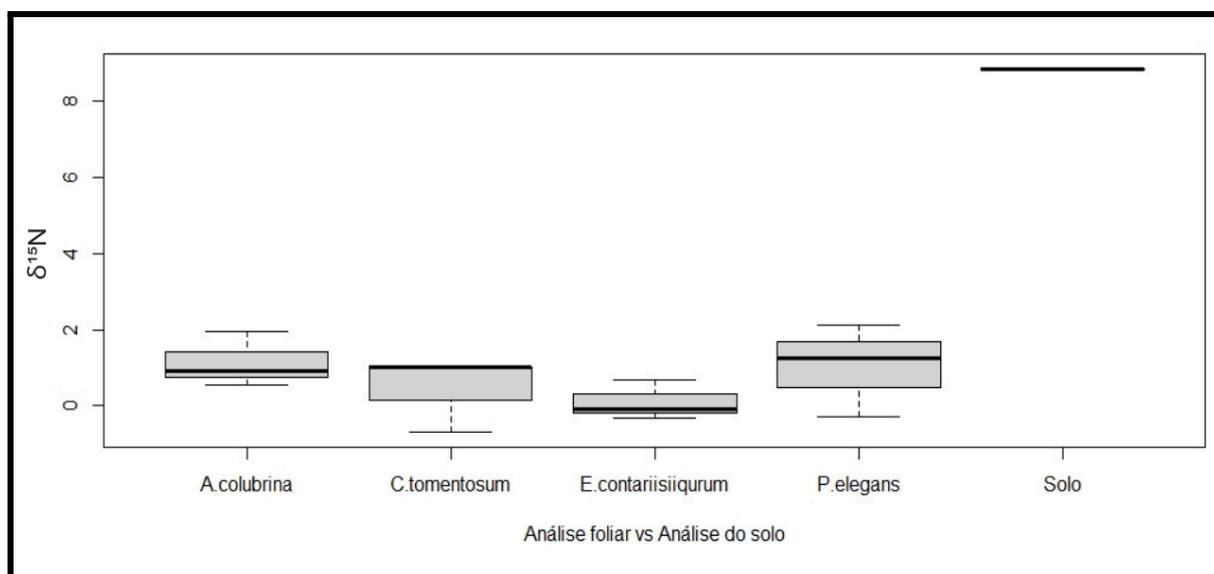


Figura 7. Distribuição de valores (boxplots) de $\delta^{15}\text{N}$ em folhas de espécies de Fabaceae do Banco *in vivo* de Diversidade Genética da USP de Ribeirão Preto, em relação ao solo.

No entanto, quando comparado os valores de plantas leguminosas com as não leguminosas por meio do teste T (Figura 8), os valores da média foliar de $\delta^{15}\text{N}$ da maior parte das plantas analisadas ficaram semelhantes aos exibidos pelas espécies de leguminosas (entre 0‰ e 2‰), não tendo diferença significativa entre os grupos ($t_{\text{valor}} = 1,98$; $p = 0,43$). Isto sugere que os indivíduos de Fabaceae avaliados neste estudo podem não estar fixando N, tornando-se difícil afirmar quais plantas estariam obtendo N por meio da FBN ao usar a técnica de isótopos estáveis. Nardoto (2005) também encontrou padrões semelhantes com exceção da área de Cerrado com queimada estudado em Brasília, onde as leguminosas tiveram valor médio maior ($p < 0,05$) que as não leguminosas. Em seu estudo Nardoto (2005) sugere como alternativa, utilizar os valores de fósforo (P) e as razões de N/P e C/P para

determinar se a FBN estaria de fato acontecendo em espécies fixadoras, já que estas tendem a utilizar mais P.

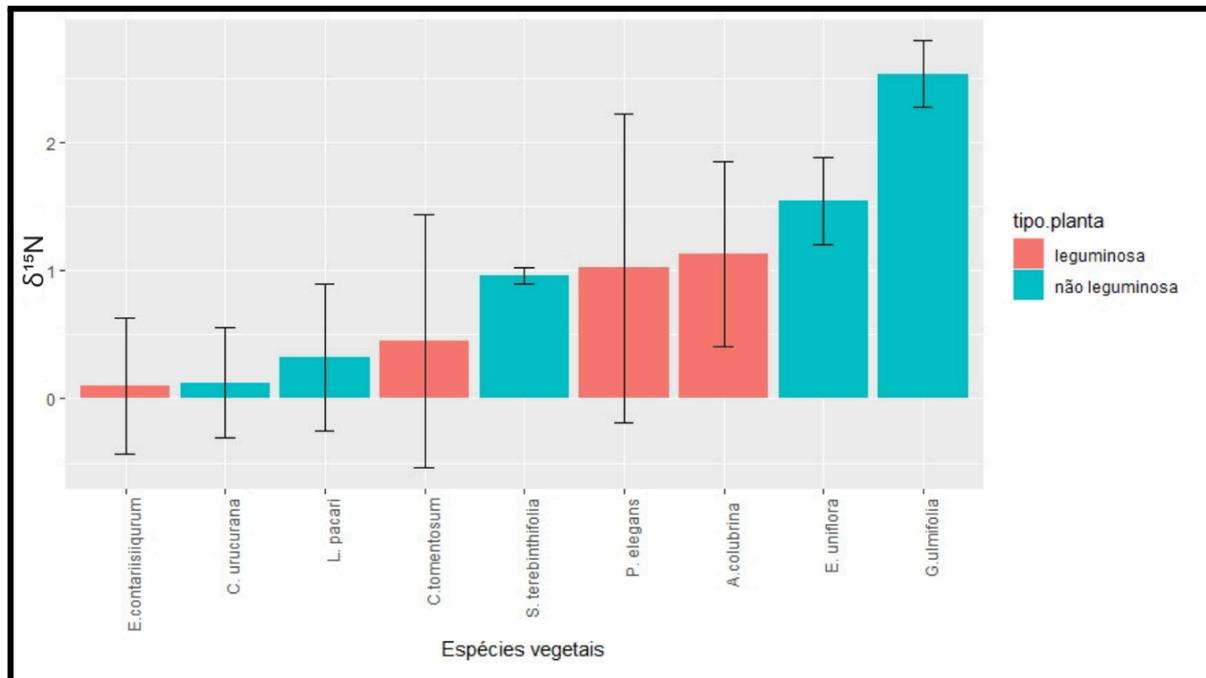


Figura 8. Distribuição de valores (barras) de $\delta^{15}N$ em folhas de espécies de Fabaceae (em vermelho) do Banco *in vivo* de Diversidade Genética da USP de Ribeirão Preto, em relação a folhas de espécies não-leguminosas (em azul).

Uma possível explicação para que as leguminosas talvez não estejam fixando N, reside no fato de que no histórico do local, haviam plantações de cana-de-açúcar (Pais, 2003), e possivelmente o solo ali foi fertilizado durante anos, não sendo então a disponibilidade de nutrientes juntamente com o N um fator limitante que levasse as leguminosas a se utilizarem da FBN para adquiri-lo. Além disso, fertilizantes nitrogenados sintéticos como sais de amônio e ureia derivam da amônia (NH_3) que é produzida pelo processo Haber-Bosch, que envolve a redução do N_2 atmosférico por meio de um catalisador sob alta temperatura e pressão por H_2 (que pode ser derivado do metano ou do gás natural) (Inácio; Urquiaga, 2017). Desta forma, os fertilizantes sintéticos possuem valores de $\delta^{15}N$ próximos ao N_2 atmosférico ($\delta^{15}N = 0\%$) (Inácio; Urquiaga, 2017), o que pode ter feito com que os valores de $\delta^{15}N$ indicassem erroneamente uma possível FBN.

No estudo de Amazonas (2010), duas restaurações de Floresta Estacional Semidecidual de idades diferentes foram comparadas com uma floresta madura. O autor observou um valor médio baixo de $\delta^{15}N$ foliar ($1,25 \pm 2\%$) nas áreas de restauração que

indicam uma possível aquisição de N por meio da FBN pelas leguminosas comparada com as não-leguminosas ($1,92 \pm 1,91\%$), indicando que estas florestas ainda possuem limitações em relação a disponibilidade de N, o que poderia levar à FBN como um recurso.

Na análise da quantidade de N total por área foliar ($N_{\text{área}}$, g m^{-2}) entre as leguminosas houve diferença significativa ($F_{\text{valor}} = 7,43$; $p = 0,01$), onde a espécie *P. elegans* obteve diferença significativa com *A. colubrina* ($p = 0,01$) e com *E. contariisiiqurum* ($p = 0,02$) (Tabela 3). Para a quantidade de N total por massa foliar (N_{massa} , mg g^{-1}), houve também diferença significativa entre as espécies ($F_{\text{valor}} = 16,62$; $p = 0,0008$), onde *P. elegans* obteve média com diferença significativa com as três outras espécies: *A. colubrina* ($p = 0,0004$), *C. tomentosum* ($p = 0,01$) e *E. contariisiiqurum* ($p = 0,02$) e a espécie *E. contariisiiqurum* obteve diferença levemente significativa com a espécie *A. colubrina* ($p = 0,04$) (Tabela 3). Já a comparação entre os valores da razão entre a massa foliar por área foliar (LMA), não foram encontrados valores significativos ($F_{\text{valor}} = 1,09$; $p = 0,40$).

Tabela 3. Comparação das médias (média e desvio padrão) de $N_{\text{área}}$ (g m^{-2}) e N_{massa} (mg g^{-1}) foliar entre as espécies de leguminosas. Letras iguais = sem diferença significativa ($p > 0,05$). Letras diferentes= com diferença significativa ($p < 0,05$).

Espécie	$N_{\text{área}}$	N_{massa}
<i>P. elegans</i>	3.55 ± 0.51^a	37.78 ± 4.22^d
<i>E. contariisiiqurum</i>	2.19 ± 0.25^b	29.94 ± 2.28^e
<i>C. tomentosum</i>	2.60 ± 0.62^{ab}	29.22 ± 1.54^e
<i>A. colubrina</i>	1.98 ± 0.26^b	22.82 ± 1.30^{ef}

Quando outros dados foram comparados entre leguminosas e não-leguminosas por meio do teste T, além dos valores de $\delta^{15}\text{N}$, a análise entre a quantidade de N foliar, também não teve resultado significativo entre os dois grupos ($t_{\text{valor}} = 1,99$; $p = 0,08$). Resultados diferentes foram encontrados por Nardoto (2005) e Amazonas (2010), onde as leguminosas obtiveram concentrações de N maiores do que não-leguminosas. Contudo, as análises entre $N_{\text{área}}$ (Figura 9) e LMA (Figura 10) apresentaram significância, onde em ambas comparações as leguminosas obtiveram as maiores médias ($N_{\text{área}} - t_{\text{valor}} = 4,69$; $p = 0,01$; e LMA - $t_{\text{valor}} = 2,55$, $p = 0,03$).

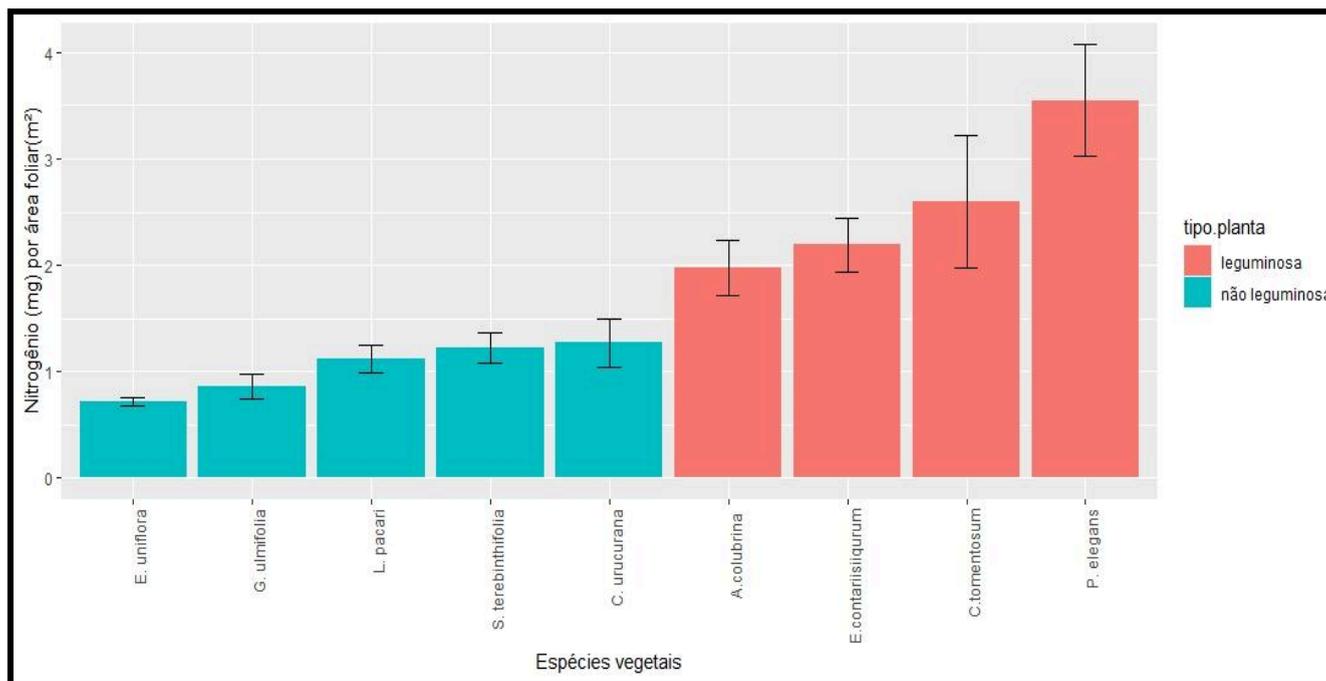


Figura 9. Comparação da quantidade de N (g) por área foliar (m²) entre leguminosas e não-leguminosas.

Segundo Nardoto (2005), isso pode ser devido a uma maior capacidade de assimilar N pelas leguminosas e uma alta capacidade fotossintética. No entanto, isso estaria sendo feito sob o custo de maior perda de água (Nardoto, 2005), o que pode explicar o porquê do LMA das leguminosas também ter sido maior do que as não-leguminosas, já que segundo Gonzales (2017) além do uso eficiente e disponibilidade de nutrientes, o uso e a disponibilidade de água também afeta no investimento em resistência foliar das plantas, fazendo com que estas aumentem sua densidade foliar e massa por área, por exemplo, mesmo estando em um ambiente com solo fértil, mas com estresse hídrico.

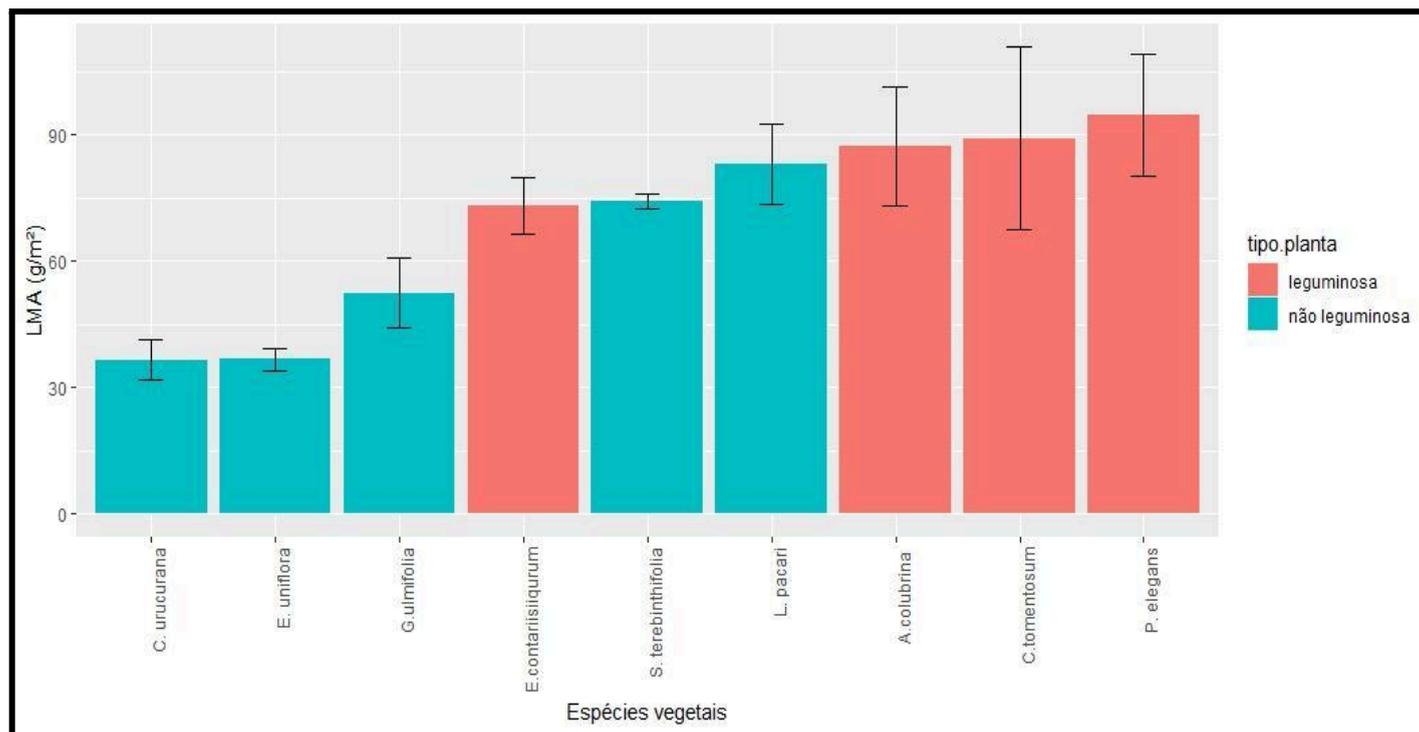


Figura 10. Comparação do LMA entre leguminosas e não-leguminosas.

NEFs e domácias

As espécies *A. colubrina* e *E. contariisiquurum* apresentaram NEFs, corroborando as descrições feitas por Carvalho (2003) e Martins (2009) (Figura 11). Apenas em um dos indivíduos de *A. colubrina* não foi possível a coleta devido à escassez de ramos com folhas e a altura em que estes se encontravam, impedindo a sua coleta. Na espécie *E. contariisiquurum* não foram detectadas as glândulas existentes entre os folíolos no ápice foliar, descrito por Carvalho (2003) e Martins (2009). Em relação às domácias, não foram encontrados indícios de estruturas nos ramos analisados e nada na literatura que indicasse a sua existência nestas duas espécies de plantas, o que seria interessante investigar em estudos posteriores, já que a existência destas estruturas não se limita a apenas ramos, mas também podem ocorrer em folhas (Calixto; Lange; Del-Claro, 2018). Por exemplo, há estudos que descreveram domácias foliares em várias espécies de angiospermas no Brasil, como o de Barros (1961,1968) e Ramalho *et al.* (2014), onde a única espécie do presente estudo que foi estudada e apresentando domácias foi *C. tomentosum*, com domácias foliares do tipo “em bolsa” que segundo Barros (1961) apresentam-se na forma de pequenas bolsas insinuando-se sob a nervura principal no encontro com as nervuras secundárias, existindo um tipo de reentrância no tecido foliar axilar das nervuras, podendo esta entrada ser pilosa ou não.

Contudo, não foi observada a estrutura descrita acima em nenhum dos indivíduos analisados da espécie (Figura 12). Devido ao foco da maioria dos estudos ser concentrado em domácias foliares e ácaros, talvez um estudo mais profundo sobre outras estruturas das plantas seja importante para investigar a existência ou não de domácias e se há interações com formigas (foco do presente estudo).

Quanto à espécie *P. elegans*, não foram encontrados NEFs nem domácias ou outro tipo de glândulas nos ramos e folhas observados neste estudo, e nem em dados na literatura.

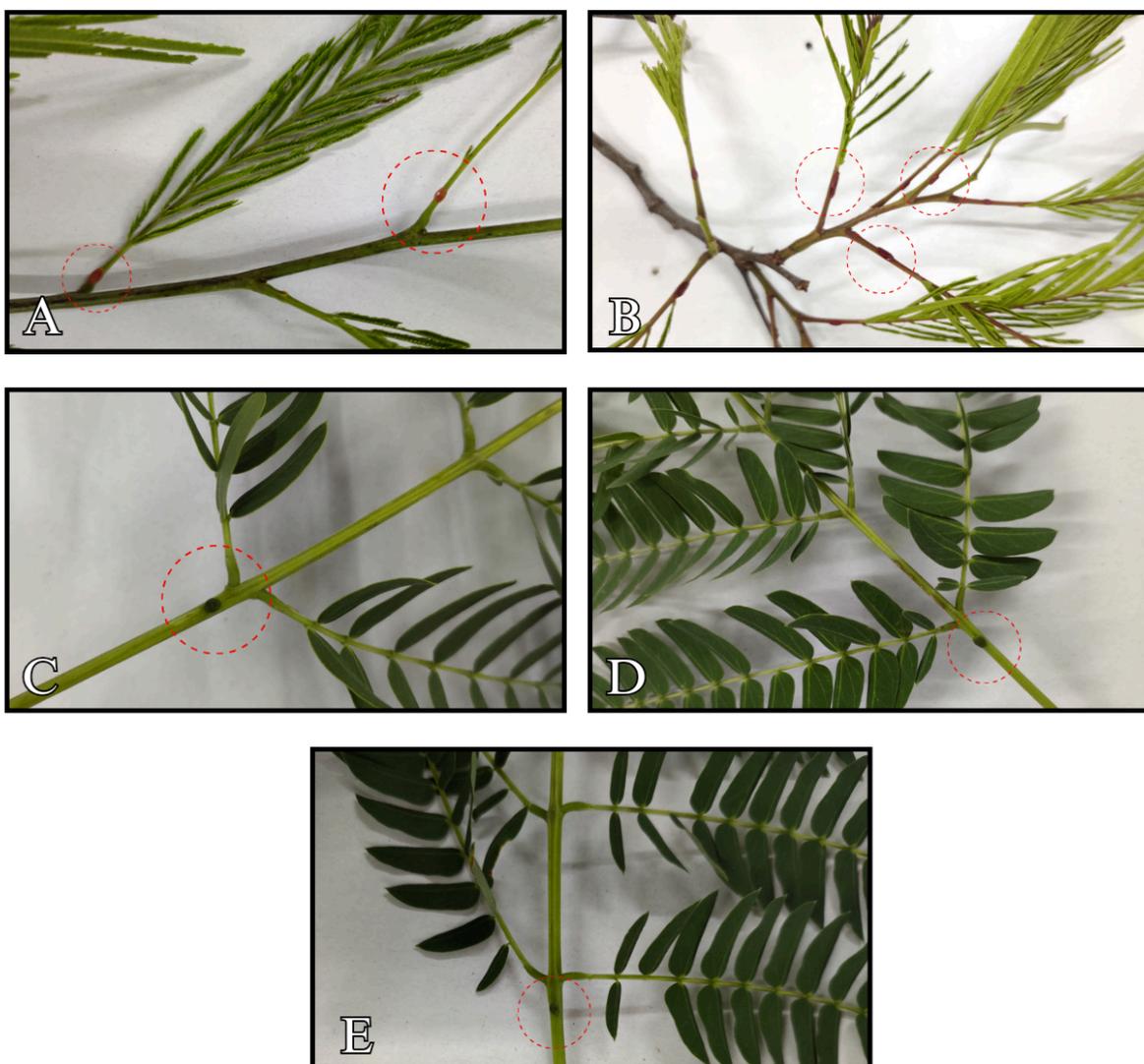


Figura 11. NEFs (círculo pontilhado em vermelho) das espécies *A. colubrina* (A - indivíduo 1, e B - indivíduo 3) e *E. contariisiiqurum* (C - indivíduo 1, D - indivíduo 2, e E - indivíduo 3).

Fonte: O autor.

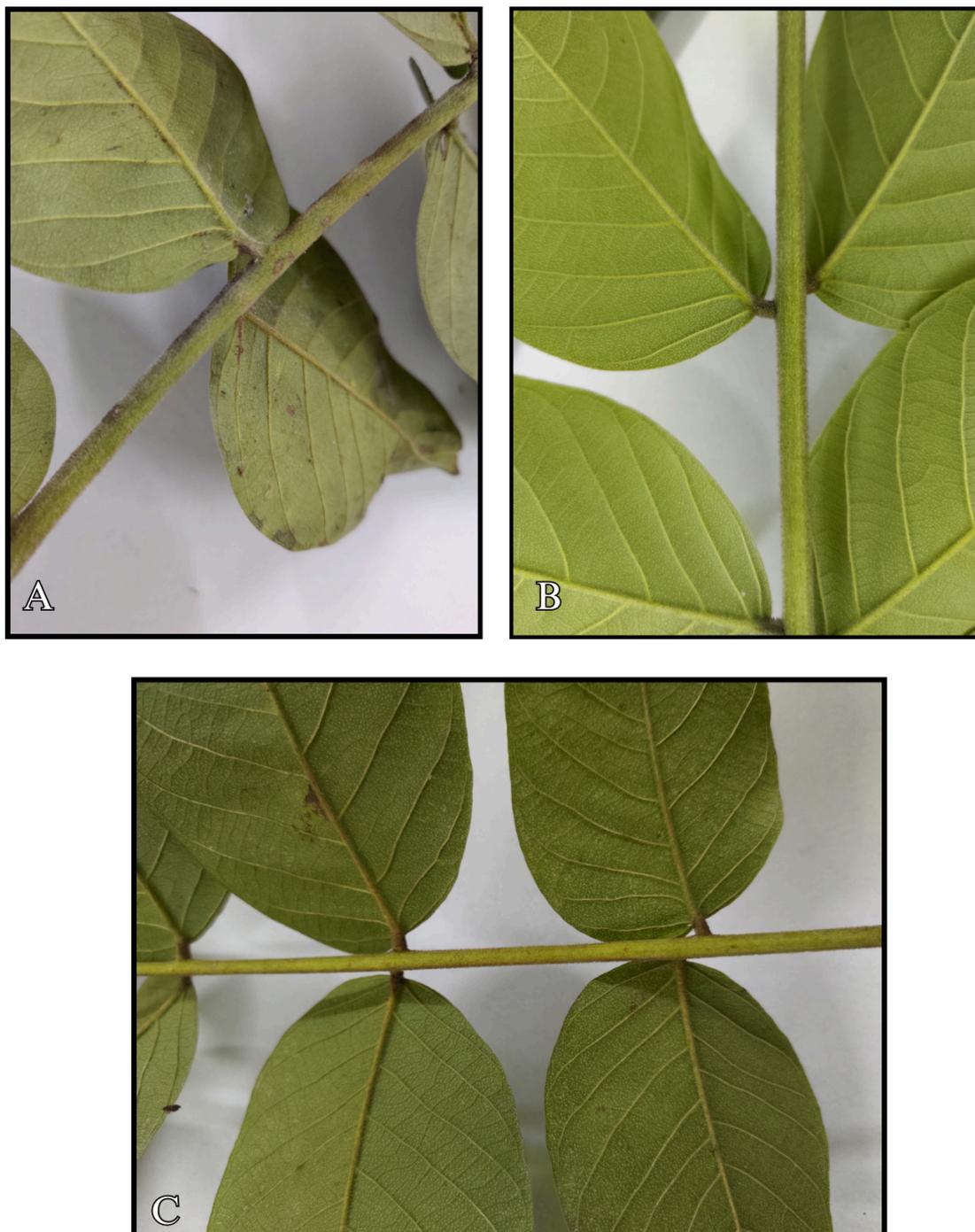


Figura 12. Indivíduos de *C. tomentosum* (A - indivíduo 1, B - indivíduo 2, C - indivíduo 3) sem a presença das domácias foliares.

Fonte: O autor.

Riqueza de espécies de formigas

Nas quatro espécies de leguminosas, foram coletados 13.795 indivíduos da família Formicidae, totalizando 32 espécies e um morfotipo não identificado, 17 gêneros distribuídos em seis subfamílias: Dolichoderinae (2 spp.), Ectatomminae (3 spp.), Formicinae (9 spp.),

Myrmicinae (12 spp.), Ponerinae (1 spp.) e Pseudomyrmecinae (5 spp.) (Tabela 4). Apesar da subfamília Myrmicinae apresentar o maior número de representantes, o gênero *Camponotus* (Formicinae) apresentou o maior número de espécies (8 spp.). Em segundo lugar ficou o gênero *Pseudomyrmex* (Pseudomyrmicinae) com 5 espécies e em terceiro lugar os gêneros *Cephalotes* e *Pheidole* com 3 espécies cada. Para Coelho (2011), dos 20 gêneros relatados em seu estudo, *Pheidole* foi o mais diverso (13 spp.) estando presente tanto no estrato arbustivo quanto no arbóreo em remanescentes de floresta ombrófila densa (domínio da Mata Atlântica) no estado do Rio de Janeiro. Em seguida, vieram os gêneros *Linepithema* (9 spp.), *Solenopsis* (8 spp.), *Pseudomyrmex* (7 spp.) e *Brachymyrmex* (6 spp.). Já para Dambros (2016), dos 30 gêneros encontrados, aqueles com maior riqueza foram *Pseudomyrmex* (17 spp.) e *Camponotus* (12 spp) nas formações vegetacionais de cambarazal e cordilheiras no norte do Pantanal. Em seu estudo em áreas de transição de Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica no estado de Sergipe, Antoniazzi *et al.* (2019) encontraram 26 gêneros nos dosséis estudados, onde o gênero *Pseudomyrmex* apresentou o maior número de espécies (13 spp.), seguido dos gêneros *Camponotus* e *Cephalotes* (10 spp.).

Esta predominância de espécies da subfamília Myrmicinae, se deve a grande diversidade do grupo em escala regional e global (Hölldobler; Wilson, 1990) e à extrema adaptação aos mais variados habitats (Fowler *et al.*, 1991). Coelho (2011) e Dantas *et al.* (2011), também encontraram padrões semelhantes, mesmo os estudos estando em domínios vegetacionais ou biomas diferentes (floresta ombrófila densa - domínio da Mata Atlântica -, e área de transição do Cerrado com a Caatinga, respectivamente) .

Segundo Baccaro *et al.* (2015), o gênero *Camponotus* é o maior gênero de Formicidae, com mais de mil espécies já descritas, sendo dominante e distinto, podendo seus ninhos serem construídos desde o solo até a copa de árvores. O gênero *Pseudomyrmex* também é bastante comum e com ampla distribuição, sendo formigas comumente arborícolas, onde 20% destas têm associações com plantas mirmecófitas e plantas com NEFs (Baccaro *et al.*, 2015).

Comparando o presente estudo com os citados acima, é possível observar que o número de gêneros encontrados neste estudo (17) pode ser considerado elevado, visto que somente 4 espécies de árvores (12 indivíduos), restritas à família Fabaceae foram analisadas. Enquanto nos outros estudos, seja pela quantidade de indivíduos, seja pelo número de espécies de plantas ou estágios sucessionais, a amostragem foi consideravelmente maior: Coelho (2011) - 9 fragmentos florestais com amostragem em 20 árvores e 20 arbustos em cada fragmento estudado, Dambros (2016) - 2 fitofisionomias, com 5 áreas amostradas para

cada fitofisionomia, em 3 quadrantes de 5x5 m para cada área, e Antoniazzi *et al.*, (2019) - dois estágios sucessionais, com 5 quadrantes para cada estágio, 15 árvores amostradas para cada quadrante. Acrescenta-se à observação o fato do presente estudo utilizar apenas uma técnica de coleta (*pitfall* arbóreo) sobre a vegetação, e a área analisada ser parte de uma restauração ecológica de apenas 25 anos de idade.

Em relação ao número de espécies de formigas em cada espécie de leguminosa, *E. contariisiiqurum* apresentou o maior número (23 spp.). O gênero mais representativo foi *Camponotus* com sete espécies e *Pseudomyrmex* com cinco espécies. *A. colubrina* e *C. tomentosum* tiveram o mesmo número de espécies (18 spp.), em que para ambas, o gênero mais representativo foi *Camponotus* (6 e 7 spp., respectivamente). *P. elegans* totalizou 13 espécies, onde o gênero *Camponotus* também foi o mais representativo (6 spp.).

Tabela 4. Relação de espécies capturadas nas 4 espécies de Fabaceae estudadas, número de indivíduos de formigas e em quais estações foram coletados. S = estação seca, C = estação chuvosa.

Subfamília	Gênero/Espécie	Nº de indivíduos	Estação	<i>A. col</i>	<i>C. tom</i>	<i>E. ent</i>	<i>P. ele</i>
Dolichoderinae	<i>Linepithema leucomelas</i> Emery, 1894	2	S				X
	<i>Dorymyrmex sp.1</i>	4	C			X	
Ectatomminae	<i>Acanthoponera mucronata</i> Roger, 1860	1	C			X	
	<i>Ectatomma tuberculatum</i> Olivier, 1792	134	S/C	X			
	<i>Gnamptogenys sp. 1</i>	1	C				X
Formicinae	<i>Brachymyrmex sp1</i>	88	S/C	X	X	X	X
	<i>Camponotus ager</i> Smith, F. 1858	5	S	X	X		
	<i>Camponotus arboreus</i> Smith, F. 1858	66	S/C	X	X	X	X
	<i>Camponotus blandus</i> Smith, F. 1858	242	S/C	X	X	X	X
	<i>Camponotus aff. crassus</i> Mayr, 1862	2	S			X	
	<i>Camponotus crassus</i> Mayr, 1862	164	S/C	X	X	X	X
	<i>Camponotus melanoticus</i> Emery, 1894	487	S/C	X	X	X	X
	<i>Camponotus renggeri</i> Emery, 1894	92	S/C		X	X	X
	<i>Camponotus substitutus</i> Emery, 1894	428	S/C	X	X	X	X
Myrmicinae	<i>Acromyrmex sp.1</i>	1	C	X			
	<i>Atta sexdens</i> Linnaeus, 1758	15	C			X	
	<i>Cephalotes clypeatus</i> Fabricius, 1804	12	S/C			X	
	<i>Cephalotes eduarduli</i> Forel, 1921	3	S/C	X		X	

	<i>Cephalotes pusillus</i> Klug, 1824	38	S/C		X	X	
	<i>Crematogaster sp. 1</i>	2	C	X			
	<i>Pheidole oxyops</i> Forel, 1908	683	S/C	X	X	X	
	<i>Pheidole radoszkowskii</i> Mayr, 1884	8	S/C		X		
	<i>Pheidole sp.1</i>	3	C	X			
	<i>Monomorium floricola</i> Jerdon, 1851	1	S	X			
	<i>Solenopsis sp.1</i>	20	S/C	X			X
	<i>Wasmannia auropunctata</i> Roger, 1863	11.257	S/C	X	X	X	X
Ponerinae	<i>Neoponera villosa</i> Fabricius, 1804	8	S/C	X		X	X
Pseudomyrmicinae	<i>Pseudomyrmex gracilis</i> Fabricius, 1804	6	S/C	X	X	X	X
	<i>Pseudomyrmex tenuis</i> Fabricius, 1804	4	C		X	X	X
	<i>Pseudomyrmex termitarius</i> Smith, F., 1855	9	S		X	X	
	<i>Pseudomyrmex urbanus</i> Smith, F., 1877	3	S/C		X	X	
	<i>Pseudomyrmex sp. 1</i>	5	C	X		X	
Morfotipo s/identificação	—	1	S		X		

A predominância do gênero *Camponotus* pode estar relacionada a grande diversidade de habitats que as espécies deste gênero podem utilizar e também a sua dieta flexível, podendo forragear no solo ou vegetação (Ramos *et al.*, 2003; Yamamoto & Del-Claro, 2008). Dantas *et al.* (2011) também encontrou este gênero em grande abundância em suas coletas, assim como Coelho (2011).

A ocorrência de formigas cultivadoras de fungo (*Atta sexdens* e *Acromyrmex sp.1*) em iscas de sardinha e mel não é algo comumente relatado nos estudos, já que o conteúdo das iscas não é o foco alimentar destas espécies, podendo terem caído acidentalmente na isca. Algumas espécies como *Monomorium floricola*, *Crematogaster sp.1*, e as próprias formigas cultivadoras de fungos, ocorreram apenas uma vez durante as coletas ou foi capturado apenas um único indivíduo representante, o que pode estar ligado ao período das coletas (Silva; Silvestre, 2004) ou a especificidade da fitofisionomia de estudo, que abriga espécies adaptadas às condições que são fornecidas tanto pela composição da flora quanto da sazonalidade (Dambros, 2016).

Através do Diagrama de Venn (Figura 13), observou-se que as quatro leguminosas também apresentaram espécies exclusivas: *A. colubrina* e *E. contariisiiqurum* com 5 espécies

e *C. Tomentosum* e *P. elegans* com 2 espécies exclusivas. As espécies exclusivas de *A. colubrina* foram: *Ectatomma tuberculatum*, *Monomorium floricola*, *Crematogaster sp. 1*, *Acromyrmex sp. 1*, e *Pheidole sp.1*. *C. tomentosum* teve como espécie exclusiva: *Pheidole radoszkowski* e o morfotipo não identificado. As espécies de *E. contariisiquurum* foram: *Camponotus aff. crassus*, *Cephalotes chypeatus*, *Dorymyrmex sp.1*, *Atta sexdens*, e *Acanthoponera mucronata*. Por fim, *P. elegans* teve *Linepithema leucomelas* e *Gnamptogenys sp.1* como espécies exclusivas. Uma das possibilidades de algumas espécies serem exclusivas pode ser devido a uma amostragem próxima a ninhos, ou mesmo a presença de ninhos nas árvores analisadas que não foram detectados.

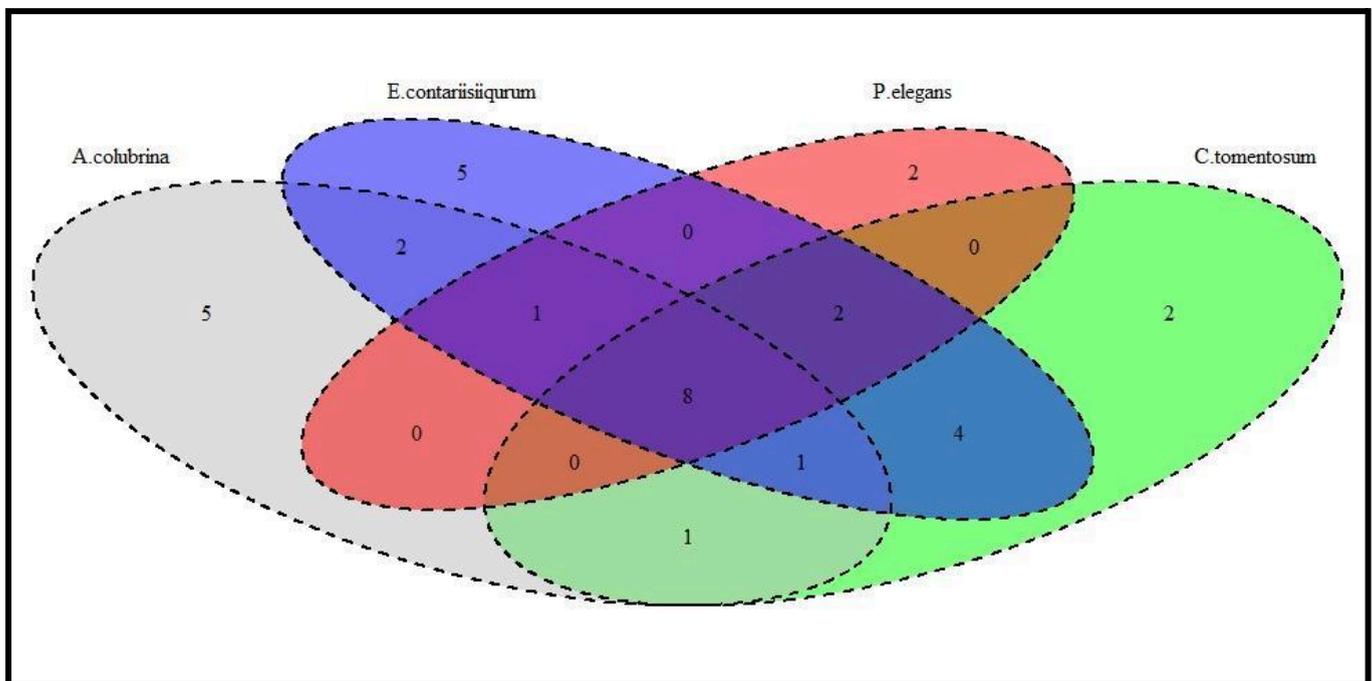


Figura 13. Diagrama de Venn ilustrando o número de espécies de formiga entre as espécies de leguminosas.

Ao todo 8 espécies apareceram em todas as espécies de leguminosas: *Brachymyrmex sp 1.*, *Camponotus arboreus*, *Camponotus blandus*, *Camponotus crassus*, *Camponotus melanoticus*, *Camponotus substitutus*, *Pseudomyrmex gracilis* e *Wasmannia auropunctata*. Os demais gêneros foram encontrados em duas ou três espécies de leguminosas.

Das 32 espécies de formigas identificadas, 12 são citadas na literatura com hábitos tipicamente arborícolas: *Acanthoponera mucronata*, *Camponotus arboreus*, *Camponotus crassus*, *Cephalotes chypeatus*, *Cephalotes eduarduli*, *Cephalotes pusillus*, *Crematogaster sp.1*, *Neoponera villosa*, *Pseudomyrmex gracilis*, *Pseudomyrmex tenuis*, *Pseudomyrmex termitarius*, *Pseudomyrmex urbanus* e *Pseudomyrmex sp.1*.

O gênero *Acanthoponera* nidifica e forrageia exclusivamente na vegetação, sendo formigas noturnas e suas colônias construídas em árvores de florestas úmidas, apesar de existir registros em bosques secos ou em ambiente urbano (Baccaro *et al.*, 2015).

Várias espécies do gênero *Camponotus* podem ser arborícolas (Baccaro *et al.*, 2015), podendo seus ninhos estarem em estruturas construídas fora de troncos e galhos de árvores utilizando papelão (material rígido composto de fibras vegetais mastigadas e umedecidas) ou seda (Antwiki, 2024a), e sendo a maior parte onívora (Baccaro *et al.*, 2015). A espécie *Camponotus arboreus* teve registros de nidificação em bromélias *Vriesea friburgensis* na Ilha de Santa Catarina, no Brasil (Schmid *et al.*, 2014). Já DaRocha *et al.* (2015) estudaram a diversidade de formigas encontradas em bromélias de uma única árvore de *Erythrina*, espécie comum em ser sombra no cultivo de cacau, em um centro de pesquisa agrícola em Ilhéus, Brasil. Ali *Camponotus crassus* foi encontrado em 7 bromélias diferentes, mas associada a galhos e cavidades de casca, em vez de solo suspenso ou serapilheira, das plantas. Fagundes *et al.* (2010) relatam nidificação da espécie em bambu.

O gênero *Cephalotes* é exclusivamente arborícola, nidificando em cavidades ou fendas encontradas na vegetação, sendo onívoras e podendo eventualmente forragear na serapilheira (Baccaro *et al.*, 2015). A maior parte das espécies do gênero *Crematogaster* são arborícolas generalistas também visitando NEFs, mas podendo ter ninhos no solo e na serapilheira (Baccaro *et al.*, 2015). Muitas espécies forrageiam nas árvores, e podem nidificar em partes deterioradas de árvores ainda de pé e em cavidades de troncos e galhos de árvores ou constroem ninhos de papelão (Eguchi; Viet; Yamane, 2011).

Evidências advindas de estudos filogenéticos sugerem que o ancestral do gênero *Neoponera* foi um predador especialista no solo, o que ainda é visível em algumas espécies do gênero (Baccaro *et al.*, 2015). No entanto, duas outras estratégias foram desenvolvidas a partir desta condição ancestral: predação especializada de cupins pela espécie *Neoponera laevigata*, e a migração para o estrato arbóreo na espécie *Neoponera villosa* (Baccaro *et al.*, 2015), sendo uma das raras Ponerinae com este comportamento (Dejean; Corbara, 1990), podendo forragear no solo (Antwiki, 2024b) e também coletar néctar (Paul; Roces, 2003).

Por fim, grande parte das espécies do gênero *Pseudomyrmex* possuem hábito arborícola, podendo ser encontradas em vários habitats, inclusive em áreas perturbadas (beira de estradas, e matas secundárias) (Baccaro *et al.*, 2015). Seus ninhos são construídos geralmente em galhos de árvores ou cavidades ocas derivadas da escavação feita por larvas de lepidópteros e coleópteros (Baccaro *et al.*, 2015).

O restante das espécies encontradas não são tipicamente arborícolas, podendo eventualmente nidificar na vegetação (com exceção, de *Acromyrmex sp.1*, *Atta sexdens*, *Dorymyrmex sp.1*, *Pheidole oxyops* e *Pheidole radoszkowski*, que nidificam no solo), mas geralmente têm seus ninhos construídos no solo e exploram tanto o solo, serapilheira quanto a vegetação atrás de recursos alimentares como néctar e outros animais, como por exemplo *Ectatomma tuberculatum*, que foi registrada como a formiga visitante mais comum de NEFs de plantas *Tocoyena formosa* em um local de estudo do Cerrado no sudeste do Brasil (Sanz-Veiga *et al.*, 2017) mas tem seus ninhos construídos geralmente no solo.

Diversidade de espécies de formigas entre as espécies de leguminosas

Na estimativa de riqueza de espécies, a análise da rarefação estimou 27 espécies para *A.colubrina*, 29 para *C.tomentosum*, 28 para *E. contariisiiqurum* e 32 para *P. elegans* (Tabela 5). A riqueza amostrada, portanto, correspondeu a 66,6%, 62,0%, 82,1% e 40,6% respectivamente. Na curva de rarefação (Figura 14) a riqueza de formigas nas espécies de leguminosas tenderam a se sobreporem (observando os intervalos de confiança), indicando que não há uma diferença significativa entre a riqueza de espécies. Além disso, nenhuma curva apresentou estabilização, o que para amostragem com formigas é algo comum de ocorrer, já que o esforço tem que ser grande para se atingir a completa amostragem de espécies, devido à grande diversidade do grupo (Silva, Silvestre, 2000). Coelho (2011) obteve resultados semelhantes com suas análises, onde apenas uma curva de um dos locais analisados atingiu a estabilização de amostragem.

Tabela 5. Estimativa de diversidade assintótica entre as espécies de leguminosas, utilizando a riqueza de espécies observada e estimada (com erro padrão).

Assembleia	Riqueza Observada	Riqueza Estimada
<i>A.colubrina</i>	18	27 ± 16
<i>C. tomentosum</i>	18	29 ± 10
<i>E. contariisiiqurum</i>	23	28 ± 9
<i>P. elegans</i>	13	32 ± 10

A extrapolação máxima da curva de rarefação estimou um aumento de até 5 espécies para *A.colubrina*, *C.tomentosum*, e *P. elegans*, e 4 espécies para *E. contariisiiqurum*,

totalizando um aumento de até 19 espécies encontradas caso mais 12 campanhas de amostragem fossem realizadas.

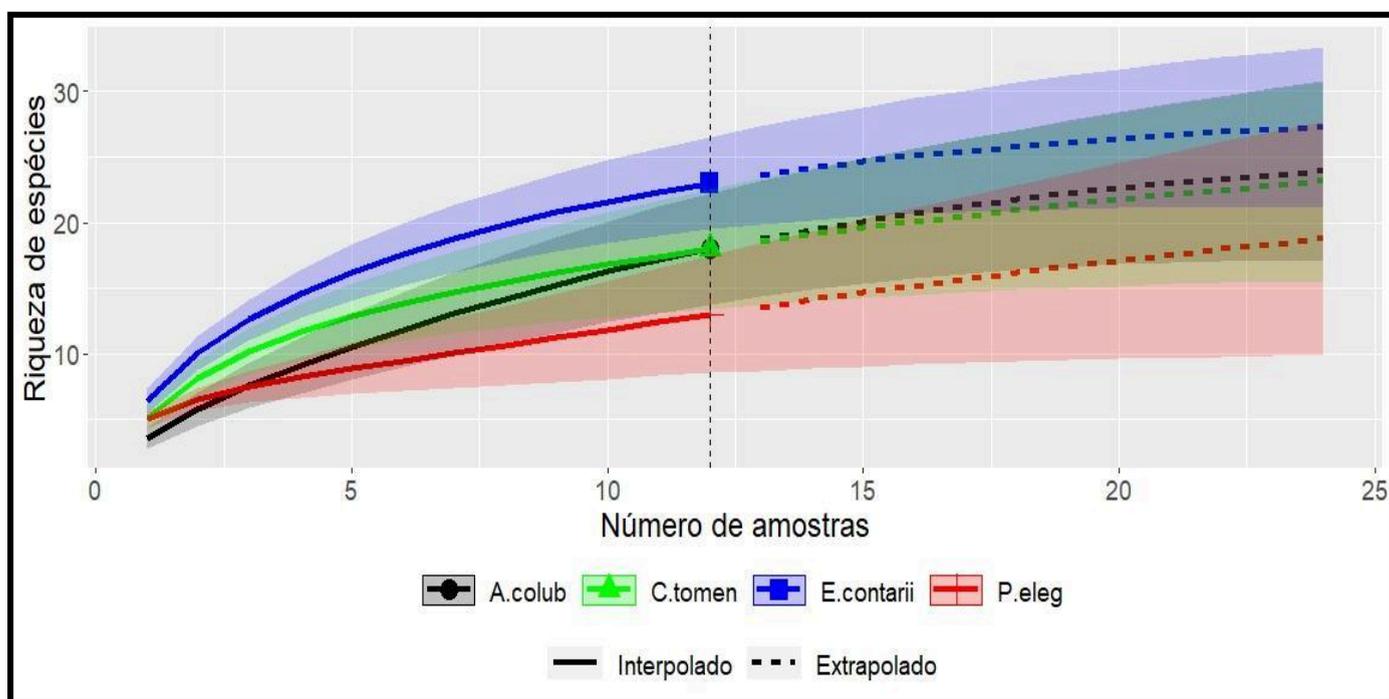


Figura 14. Curva de rarefação para amostragem feita nas espécies de leguminosas. Resultados com 95% de intervalo de confiança para a extrapolação.

No geral, o índice de diversidade de Shannon-Wiener foi maior para a espécie *E. contariisiiqurum* e menor para a *P. elegans* (Figura 15). No entanto, quando analisado pelo teste de Friedman para verificar diferenças de diversidade entre as espécies de leguminosas, o resultado não apresentou diferença significativa (Friedman = 2,7; $p = 0,44$) indicando que não há diferença na comunidade de formigas entre as espécies de leguminosas, mesmo estas apresentando espécies exclusivas. A análise ANOSIM e o gráfico gerado pelo NMDS com stress igual a 0,04 (Figura 16) confirmaram o nosso resultado obtido através do teste de Friedman ao demonstrar que não há dissimilaridade entre as espécies de leguminosas em relação à composição das espécies de formigas (ANOSIM_R = 0,18; $p = 0,14$), não formando, portanto, grupos diferentes entre as leguminosas.

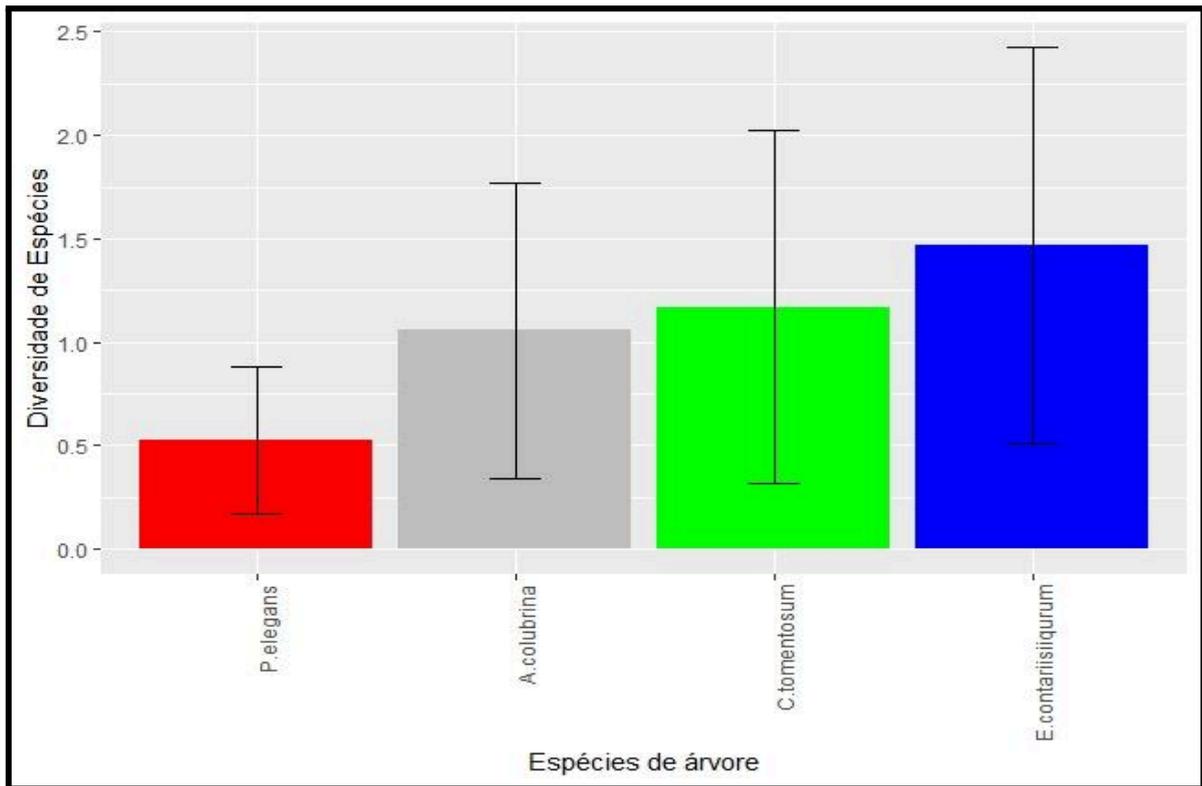


Figura 15. Índice de diversidade de Shannon, comparando a média entre as espécies de leguminosas.

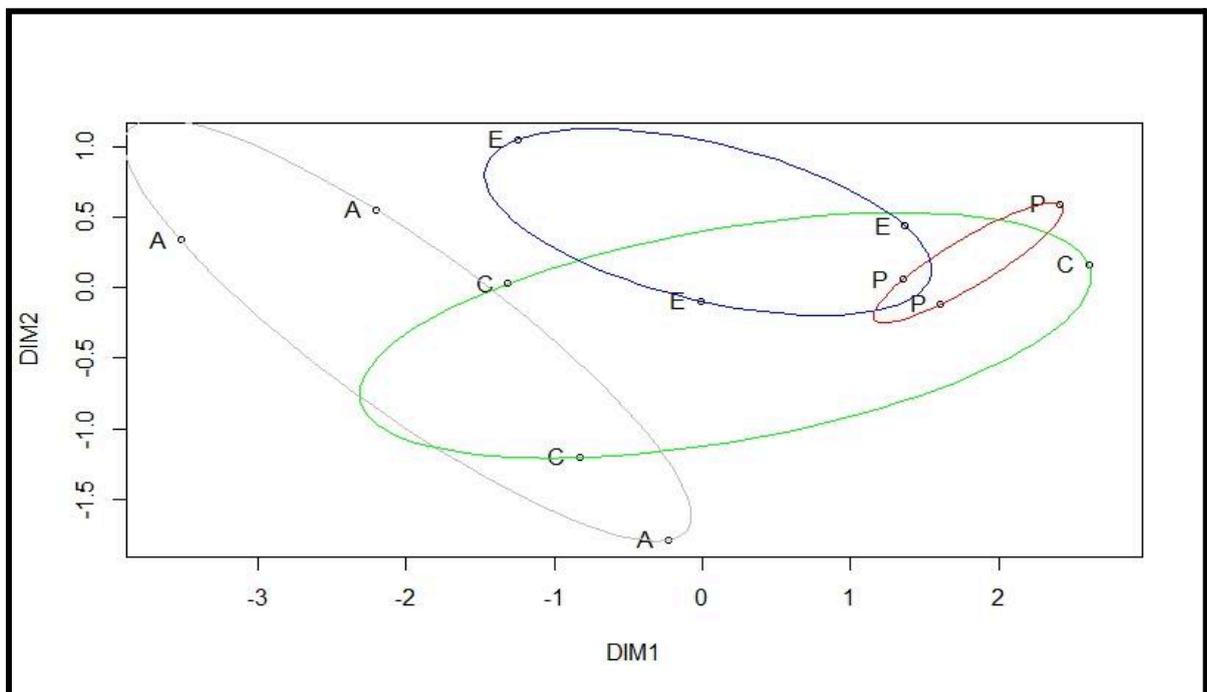


Figura 16. Escalonamento Multidimensional Não- Métrico (NMDS), demonstrando a similaridade da mirmecofauna entre as leguminosas: A - *A. colubrina*, C - *C. tomentosum*, E - *E. contariisiquurum*, P - *P. elegans*.

Coelho (2011) encontrou resultado semelhante em sua análise entre os estratos arbustivo e arbóreo, onde não houve diferença e as espécies de formigas do estrato arbustivo eram sub-amostras do estrato arbóreo. Já para Dambros (2016), houve formação de grupos de espécies de formigas diferentes entre as formações vegetacionais analisadas.

Uma das possíveis explicações para que se obtivesse uma diversidade semelhante na mirmecofauna foi a ampla distribuição e frequência das espécies do gênero *Camponotus* (principalmente *C. melanoticus*) ocorrendo em todas as espécies de leguminosas (Figura 17), e do grande número de indivíduos de *Wasmannia auropunctata* (Tabela 4), que pode ser explicada pela forma de recrutamento massivo da espécie (Cereto, 2008), ou da presença de ninhos próximos às árvores amostradas. Em *A. colubrina* e *P. elegans*, o gênero *Camponotus* compartilhou uma dominância com poucas espécies, se observarmos o súbito declínio de suas abundâncias (Figura 17). Em *C. tomentosum* e *E. contariisiiqurum*, a abundância entre as espécies foi mais uniforme de modo que não houve dominância de apenas uma única espécie de formiga e o declínio da abundância é mais suave (Figura 17). Em seus resultados, Coelho (2011) sugere que a predominância do gênero *Camponotus* modificou suas análises de ordenação, o que fez com que não houvesse formação de grupos distintos.

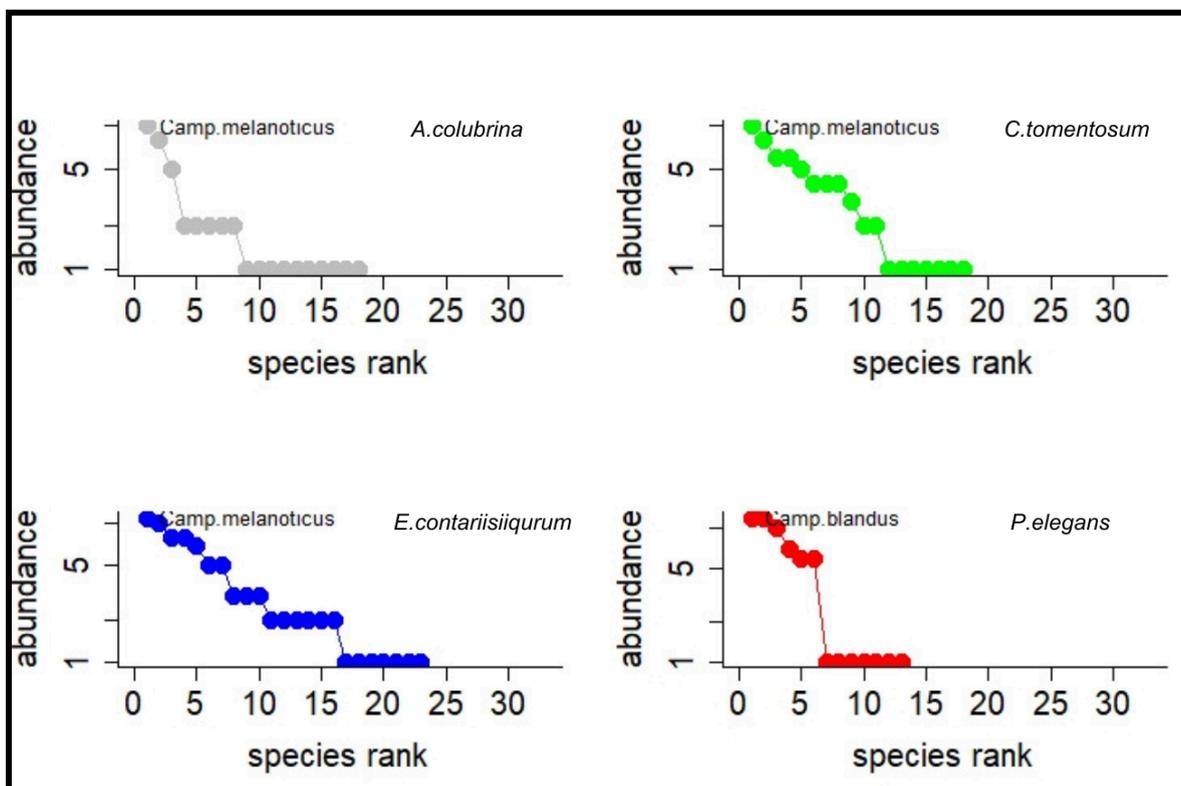


Figura 17. Diagramas de rank-abundância das espécies de formigas em cada espécie de leguminosa.

Outra possibilidade é a localização espacial da planta hospedeira ser mais importante para a composição de espécies de formigas do que a planta em si (Ribeiro; Espírito Santo, 2007). Campos *et al.* (2006a) demonstraram que em dosséis de florestas secundárias semidecíduais do Parque do Rio Doce, a composição da mirmecofauna respondeu melhor à sua localidade do que à planta analisada ou ao habitat em específico. Nos locais da floresta mais preservados observou-se uma constância de espécies, enquanto espécies sobre árvores em bordas próximas a agroecossistemas apresentaram uma maior variação temporal na sua composição, e uma predominância de espécies indicadoras de ambientes perturbados. Observando a localização dos indivíduos estudados no presente estudo, estes tenderam a estar mais próximos do centro do BDG do que das bordas, o que pode ter influenciado na constância da mirmecofauna nas árvores. Em outro estudo, Campos *et al.* (2006b) também mostrou que a composição da mirmecofauna arborícola em associação com indivíduos jovens era uma sub-amostragem da fauna que estava presente nas copas das árvores adultas. Além de colocar em evidência uma influência ontogenética sobre a fauna, o trabalho sugere que a diversidade de espécies de formigas em florestas é influenciada pela maturidade do dossel florestal. Árvores mais velhas e copas com grande porte reúnem espécies de insetos inexistentes em outros habitats mais simplificados (Campos *et al.*, 2006b). Apesar de no presente estudo este não ter sido o foco, as idades dos indivíduos, bem como o tamanho de suas copas, podem ter influenciado a composição da mirmecofauna, já que a restauração da Floresta da USP pode ser considerada ainda jovem.

Quanto às análises de relação entre a diversidade de espécies e a FBN, NEFs e domácias, como as análises isotópicas não foram capazes de indicar se as árvores estavam realmente utilizando N oriundo da FBN, pois as espécies não-leguminosas apresentaram resultados semelhantes, não foi possível dar continuidade nas análises e verificar se a fixação de N possui alguma relação com a diversidade de espécies de formiga. Além disso, também não foram encontradas domácias em nenhum indivíduo das espécies analisadas, o que descarta esta variável da análise, restando apenas a análise da relação entre presença/ausência de NEFs e a riqueza de espécies, e o Índice de Shannon. Os resultados do modelo linear não indicaram relação entre a presença/ausência de NEFs com a riqueza de espécies de formigas (Tabela 6), nem com a diversidade calculada pelo Índice de Shannon (Tabela 7). Antoniazzi *et al.* (2019) também não encontraram relação entre os NEFs e a riqueza de espécies de formigas em suas análises. Uma possível explicação sugerida pelos mesmos autores é a de que os NEFs têm um efeito limitado na mirmecofauna (Camarota *et al.* 2015; Sendoya *et al.* 2016), provavelmente devido a sua sazonalidade restrita, estando as secreções associadas à

produção de novas folhas e botões, o que aumenta a atividade de forrageio das formigas (Blüthgen; Reifenrath 2003; Melo; Machado; Alves, 2010; Schoereder *et al.* 2010; Lange; Dáttilo; Del-Claro, 2013), o que pode ter ocorrido também no presente estudo.

Tabela 6. Valores obtidos por meio do Modelo Linear. A riqueza de espécies contabilizada em cada indivíduo vegetal foi utilizada como variável resposta e a presença/ausência de NEFs como variável explicativa.

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	9.333	1.756	5.315	0.000484***
nefSIM	1.067	2.605	0.410	0.691741

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 4.302 on 9 degrees of freedom
 Multiple R-squared: 0.01829, Adjusted R-squared: -0.09079
 F-statistic: 0.1677 on 1 and 9 DF, p-value: 0.6917

Tabela 7. Valores obtidos por meio do Modelo Linear. A diversidade de espécies (Índice de Shannon) contabilizada em cada indivíduo vegetal foi utilizada como variável resposta e a presença/ausência de NEFs como variável explicativa.

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	0.8495	0.3160	2.688	0.0249 *
nefSIM	0.4324	0.4687	0.923	0.3803

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.7741 on 9 degrees of freedom
 Multiple R-squared: 0.08641, Adjusted R-squared: -0.0151
 F-statistic: 0.8512 on 1 and 9 DF, p-value: 0.3803

Estudos que analisaram os efeitos da fixação biológica de N no restante das interações dentro do ecossistema ainda são escassos, tendo como exemplo o estudo recente de

Godschalx *et al.* (2023). Os autores demonstraram que, através da FBN feito por rizóbios, a composição química foliar foi alterada, onde as plantas analisadas investiram em defesas por meio da cianogênese, o que consequentemente deixou de atrair defesas indiretas contra herbivoria como formigas e vespas parasitóides, e passou a atrair besouros crisomelídeos herbívoros. Isto demonstra que os microrganismos simbiotes podem mediar as interações tróficas da planta ao influenciar suas defesas diretas e indiretas, causando um efeito cascata nas interações inseto-planta (Godschalx *et al.*, 2023). No entanto, o estudo utilizou uma espécie herbácea da família Fabaceae, sendo rasteira e mais fácil de observar a fixação ou não de N. Estudos sobre a influência da FBN sobre árvores de grande porte do grupo Fabaceae e suas interações com outros organismos em ambientes naturais são escassos, sendo interessante investigações para averiguar se o que ocorre com as herbáceas também pode ser observado em árvores que também fazem parte da formação de florestas, e que são fonte de recursos para os formicídeos. O uso da técnica de isótopos estáveis junto às concentrações de nutrientes foliares e do solo pode ser uma alternativa para a avaliação da FBN em indivíduos de grande porte em ambientes naturais.

6. CONCLUSÃO

A diferença na diversidade e composição da mirmecofauna nas espécies de árvores, parece não ser determinada pela espécie da planta hospedeira em si, ou pela presença/ausência de NEFs nas plantas, o que leva a pensar se a estruturação de comunidades de formicídeos nos dosséis florestais, sua composição, depende da reunião de fatores bióticos e abióticos diferentes presentes em cada ambiente. Apesar de não ter se mostrado clara neste estudo, a FBN e a toda a influência que ela pode gerar no ecossistema, pode ser uma possível direção para o esclarecimento acerca desta estruturação nos dosséis florestais, onde estudos posteriores com experimentos inicialmente em laboratório e depois em ambiente natural (seguindo o modelo de Godschalx *et al.*, 2015, 2023), e talvez com mais técnicas de amostragem de formigas podem ser interessantes para analisar o seu efeito sobre a interação formiga-planta.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIS, J; LUBIN, Y. D.; MONTGOMERY, G. G. Arthropods from the canopy of inundated and terra firme forests near Manaus, Brazil, with critical considerations on the pyrethrum-fogging technique. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 19, n. 4, p. 223-236, 1984.

ALMEIDA, L. **Em Ribeirão Preto, USP transformou fazenda de café em área verde.**

Disponível

em:<<https://jornal.usp.br/universidade/em-ribeirao-preto-usp-transformou-fazenda-de-cafe-e-m-area-verde/>>. Acesso em: 24 out. 2023.

AMAZONAS, N. T. **Ciclagem do nitrogênio em uma cronosequência formada por florestas restauradas e floresta natural.** 2010. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - área Recursos Florestais) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

ANDRADE, A. L. P. **A subfamília Faboideae (Fabaceae Lindl.) no Parque Estadual do Guartelá, Município de Tibagi, Estado do Paraná.** 2008. 130f. Dissertação (Mestrado em Ciências – área Botânica) da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

ANTONIAZZI, R. *et al.* Ant species richness and interactions in canopies of two distinct successional stages in a tropical dry forest. **The Science of Nature**, v. 106, n. 20, p. 1-14, abr. 2019.

ANTWIKI. **Camponotus.** Disponível em: <<https://www.antwiki.org/wiki/Camponotus>>. Acesso em: 26 jan. 2024a.

ANTWIKI. **Neoponera villosa.** Disponível em: <https://www.antwiki.org/wiki/Neoponera_villosa>. Acesso em: 26 jan 2024b.

AURORA. **The Seed.** Universal Music Operations Limited, 2019. Disponível em: <<https://youtu.be/96GWa4G4fHw?si=W73bQHRJ-RvKCO5D>>. Acesso em: 17 mar. 2024.

BACCARO, F. B. *et al.* **Guia para os gêneros de formigas do Brasil.** Manaus: INPA, 2015.

BAKKER, J. D. **Applied Multivariate Statistics in R.** Disponível em: <<https://uw.pressbooks.pub/appliedmultivariatestatistics/front-matter/introduction/>>. Acesso em: 06 fev. 2024.

BALLHORN, D. J.; KAUTZ, S.; SHÄDLER, M. Induced plant defense via volatile production is dependent on rhizobial symbiosis. **Oecologia**, v. 172, p. 833-846, jul. 2013.

BARBOSA, N da S.; BARBOSA, N. da S.; SALLES, L. de Q. Métodos de avaliação de isótopos estáveis ($\delta^2\text{H}$ e $\delta^{18}\text{O}$) na Hidrologia: uma revisão. **Terrae Didatica**, v. 14, n. 2, p. 157-172, jul./set., 2018.

BARROS, M. A. A. de. I - Ocorrência de domácias nas Angiospermas . **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 18, p. 113-130, 1961.

BARROS, M. A. de. II - Ocorrência das domácias nas angiospermas. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 25, p. 7-15, 1968.

BASSET, *et al.* Arthropod diversity in a Tropical Forest. **Science**, v. 338, p. 1481-1484, dez. 2012.

- BEATTIE, A. J. **The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms**. Cambridge: Cambridge University Press, 1985.
- BERNSTAIN, R. A. Foraging Strategies of Ants in Response to Variable Food Density. **Ecology Society of America**, v. 56, n. 1, p. 213-219, 1975.
- BLÜTHGEN, N.; REIFENRATH, K. Extrafloral nectaries in an Australian rainforest : structure and distribution. **Aust J Bot**, v. 51, p. 515-527, 2003.
- BLÜTHGEN, N.; STORK, N. E. Ant mosaics in a tropical rainforest in Australia and elsewhere: a critical review. **Austral Ecology**, v. 32, p. 93–104, 2007.
- BLÜTHGEN, N.; STORK, N. E.; FIEDLER, K. Bottom-up control and co-occurrence in complex communities: honeydew and nectar determine a rainforest ant mosaic. **Oikos**, v. 106, p. 344-358, 2004.
- BORGMEIER, T. Revision of the genus *Atta* Fabricius (Hymenoptera, Formicidae). **Studia Ent.**, vol. 2, p. 321-390, 1959.
- BOROWIEC, M. L.; MOREAU, C. S.; RABELING, C. Ants: phylogeny and classification. In: STARR, C. (ed.) **Encyclopedia of Social Insects**, Cham: Springer, 2020.
- BRASIL. **Lei nº 11.428, de 22 de dezembro de 2006**. Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do Bioma Mata Atlântica, e dá outras providências. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/111428.htm>. Acesso em: 23 out. 2023.
- BRÜHL, C. A.; GUNSALAM, G.; LINSÉNMAIR, K. E. Stratification of ants (Hymenoptera, Formicidae) in a primary rain forest in Sabah, Borneo. **Journal of Tropical Ecology**, v. 14, p. 285-297, 1998.
- BYK, J.; DEL-CLARO, K. Ant–plant interaction in the Neotropical savanna: direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. **Population Ecology**, v. 53, p. 327-332, set. 2011.
- CALIXTO, E. S.; LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Protection mutualism: an overview of ant-plant interactions mediated by extrafloral nectaries. **Oecologia Australis**, v. 22, n. 4, p. 410-425, 2018.
- CAMAROTA, F. *et al.* Extrafloral nectaries have a limited effect on the structure of arboreal ant communities in a Neotropical savanna. **Ecology**, v. 96, p. 231–240, 2015.
- CAMPOS, R. I. *et al.* Effect of habitat structure on ant assemblages (Hymenoptera : Formicidae) associated to two pioneer tree species. **Sociobiology**, v. 47, n. 2, p. 1-17, 2006a.
- CAMPOS, R. I. *et al.* Relationship between tree size and insect assemblages associated with *Anadenanthera macrocarpa*. **Ecography**, v. 29, n. 3, p. 442-450, 2006b.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. 1 v.. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica ; Colombo, PR : Embrapa Florestas, 2003.

CARVALHO, P. E. R.; GAIAD, S. **Fabaceae**. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/especies_arboreas_brasileiras/arvore/CONT000fu17wvyo02wyiv807nyi6s9ggg9il.html>. Acesso em: 27 out. 2021.

CERETO, C. E. **Formigas em restinga na região da Lagoa Pequena, Florianópolis, SC: levantamento taxonômico e aspectos ecológicos**. 2008. 106 f. Monografia (Curso de Ciências Biológicas) da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

CHAO, A. *et al.* Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. **Ecological Monographs**, v.84, p.45-67, 2014.

CLARKE, K. R. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. **Australian Journal of Ecology**, v. 18, p. 117-143, 1993.

COELHO, R. C. de S. **Comunidades de formigas (Hymenoptera: Formicidae) do estrato arbustivo-arbóreo em fragmentos florestais de Mata Atlântica no Rio de Janeiro**. 2011. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - área Conservação da Natureza) - Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais e Florestais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.

COLETTA, L. D. *et al.* Fixação Biológica de Nitrogênio em áreas de restauração: abundância natural de ¹⁵N de leguminosas arbóreas nativas plantadas por semeadura direta. In: XXXII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 2009, Fortaleza, **Anais...** Fortaleza: UFC, 2009.

COLETTA, L. D. **Estudo da fixação biológica de nitrogênio em leguminosas (família Fabaceae) arbóreas tropicais através de enriquecimento isotópico do ¹⁵N**. 2010. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - área Química na Agricultura e Meio Ambiente) - Programa de Pós Graduação em Ciências do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

COLWELL, R. K.; RAHBEK, C.; GOTELLI, N. J. The mid-domain effect and species richness patterns: what have we learned so far? **American Naturalist**, v. 163, n. 3, p: E1-E23, 2004.

CONCEIÇÃO, E. S. da. **Desenvolvimento do mosaico de formigas arborícolas dominantes e sua importância no controle biológico natural dos insetos associados ao cacauero (*Theobroma cacao* L.)**. 2011. 120 f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Programa de Pós Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

COSTA, F. V. da. *et al.* Relationship between plant development, tannin concentration and insects associated with *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae). **Arthropod-Plant Interactions**, v. 5, p. 9-18, mar. 2011.

DAMBROS, J. **Formicidae (Hexapoda: Hymenoptera) de dossel em diferentes formações vegetacionais na região norte do Pantanal de Mato Grosso, Brasil**. 2016. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais - área Uso e Conhecimento da Biodiversidade) Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, 2016.

DANTAS, K. S. Q. *et al.* Formigas (Hymenoptera: Formicidae) em diferentes estratos numa região de transição entre os biomas do Cerrado e da Caatinga no norte de Minas Gerais. **MG. Biota**, v. 4, n. 4, out./nov. 2011.

DAROCHA, W. D. *et al.* How does bromeliad distribution structure the arboreal ant assemblage (Hymenoptera: Formicidae) on a single tree in a Brazilian Atlantic forest agroecosystem? **Myrmecological News**, v. 21, p. 83-92, 2015.

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

DAVIDSON, D. W. The role of resource, imbalances in the evolutionary ecology of tropical arboreal ants. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 61, p. 153-181, 1997.

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

DAVIDSON, D. W.; PATRELL-KIM, L. Tropical arboreal ants: why so abundant? In: GIBSON, A. C. (ed.) **Neotropical Biodiversity and Conservation**. Los Angeles: Mildred E. Mathias Botanical Garden, 1996.

DAWSON, T. E. *et al.* Stable Isotopes in Plant Ecology. **Annu. Rev. Ecol. Syst.**, v. 33, p. 507-559, 2002.

DEAN, J. M.; MESCHER, M.C.; MORAES, C.M de. Plant–rhizobia mutualism influences aphid abundance on soybean. **Plant and Soil**, v. 323, p. 187-196, 2009.

DEAN, J. M.; MESCHER, M.C.; MORAES, C.M de. Plant Dependence on Rhizobia for Nitrogen Influences Induced Plant Defenses and Herbivore Performance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n.1, p. 1466-1480, jan. 2014.

DE BRUIJN, F. J. *et al.* Regulation of nodulin gene expression. **Plant and Soil**, v.161, p. 59-68, 1994.

DEJEAN, A.; CORBARA, B. Predatory behavior of a neotropical arboricolous ant: *Pachycondyla villosa* (Formicidae: Ponerinae). **Sociobiology**, v. 17, n. 2, p. 271-285, 1990.

DEJEAN, A. *et al.* The arboreal ant mosaic in Cameroonian rainforest. **Sociobiology**, v.35, n. 2, p. 1-21, jan. 2000.

DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. Comportamento animal, interações ecológicas e conservação. In: ROCHA, C. F. D. R.; SLUYS, M. V.; BERGALLO, H. G. (Org.) **Biologia da Conservação: Essências**. Rio de Janeiro: Rima Editora, 2006.

DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. An Evolutionary Perspective on Plant-Animal Interactions. In: DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. (Ed.) **Plant-Animal Interactions: Source of Biodiversity**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2021.

- DEXTER, E.; ROLLWAGEN-BOLLENS, G.; BOLLENS, S. M. The trouble with stress: A flexible method for the evaluation of nonmetric multidimensional scaling. **Limnology and Oceanography: Methods**, v. 16, p. 434-443, 2018.
- DI-STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: Editora UNESP, 2002.
- DUBOIS, M. B. A revision of the native New World species of the ant genus *Monomorium* (*Minimum* Group) (Hymenoptera: Formicidae). **Science Bulletin**, v. 53, n. 2, p. 65-119, 1986.
- EGUCHI, K.; VIET, B. T.; YAMANE, S. Generic Synopsis of the Formicidae of Vietnam (Insecta: Hymenoptera), Part I — Myrmicinae and Pseudomyrmecinae. **Zootaxa**, v. 2078, p. 1-61, maio 2011.
- EHLERINGER, J. R.; RUNDEL, P.W. Stable Isotopes: History, Units, and Instrumentation. In: RUNDEL, P. W. *et al.* (Ed.) **Stable Isotopes in Ecological Research**. New York: Springer-Verlag New York Inc., 1989.
- FAGUNDES, R. *et al.* O bambu *Merostachys fischeriana* (Bambusoideae: Bambuseae) como Habitat para formigas de Floresta Tropical Montana. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 16, nov./dez. 2010.
- FAYLE, T. M.; TURNER, E. C.; FOSTER, W. A. Ant mosaics occur in SE Asian oil palm plantation but not rain forest and are influenced by the presence of nest-sites and non-native species. **Ecography**, v. 36, p. 01-07, 2013.
- FEITOSA, R. M.; PRADA-ACHIARDI, F. C. Subfamilia Ectatomminae. In: FERNÁNDEZ, F.; GUERRERO, R. J.; DELSINNE, T. (eds). **Hormigas de Colombia**. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 2019.
- FONSECA, C. R.; FLECK, T.; FERNANDES, G. W. Processes driving ontogenetic succession of galls in a canopy tree. **Biotropica**, v. 38, p. 514-521, 2006.
- FORZZA, R. C. *et al.* (Org.). **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.
- FOWLER, H. G. *et al.* Ecologia nutricional de formigas. In: PANIZZZI, A. R.; PARRA, R. P. (Edit.) **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991.
- FUNDAÇÃO INSTITUTO DE PESQUISAS ECONÔMICAS; FIPE. **Justificativa técnica da Lei de parcelamento, uso e ocupação do solo - Anexo V - Relatório Síntese Ambiental**. Ribeirão Preto: Secretaria do Planejamento e Desenvolvimento Urbano, 2019.
- FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA; INPE. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica: período 2019/2020, relatório técnico**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2021.
- FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA; INPE. **Espécies da Mata Atlântica**. Disponível em:

<<https://cms.sosma.org.br/conheca/mata-atlantica/#:~:text=A%20Mata%20Atl%C3%A2ntica%20abriga%20milhares,insetos%20e%20outros%20animais%20invertebrados>>. Acesso em: 23 out. 2023.

GARTEN JR., C. T.; MIEGROET, H. V. Relationships between soil nitrogen dynamics and natural ^{15}N abundance in plant foliage from Great Smoky Mountains National Park.

Canadian Journal of Forest Research, v. 24, n. 8, p. 1636-1645, 1994.

GODSCHALX, A. L. *et al.* Ants are less attracted to the extrafloral nectar of plants with symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia. **Ecology**, v. 96, n. 2, p. 348-354, fev. 2015.

GODSCHALX, A. L. *et al.* Nitrogen-fixing Rhizobia affect multitrophic interactions in the field. **Journal of Insect Behaviour**, p. 1-12, maio 2023.

GOOGLE EARTH. **Localização geográfica do BDG- USP/RP**. Disponível em:

<https://earth.google.com/web/search/21%C2%B0+09%27+16.55%22S+47%C2%B0+51%27+41.59%22+W/@-21.15154167,-47.86120264,661.65204171a,2949.29185266d,34.99998897y,0h,0t,0r/data=CigiJgokCZgU97q1JDXAeAF_qzkWKTXAGQSR0eST60fAIRL3CyGU8EfA>. Acesso em 29 jan. 2024.

GOMES, J. P.; IANUZZI, L.; LEAL, I. R. Resposta da comunidade de formigas aos atributos dos fragmentos e da vegetação em uma paisagem da Floresta Atlântica Nordestina.

Neotropical Entomology, v. 39, n. 6, p. 898-905, dez. 2010.

GONZALES, C. V. **Efeito da disponibilidade de nutrientes no solo nos traços físicos foliares em linhagens de árvores tropicais na Amazônia Central**. 2017. 39 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - área Botânica) Programa de Pós-Graduação em Botânica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2017.

GRUPO DE AÇÃO DA FLORESTA DA USP. **Vocês sabiam que existem diferenças entre o Banco Genético e a Área de Recomposição dentro da Floresta da USP?** Ribeirão Preto, 13 ago. 2021. Facebook: Grupo de Ação da Floresta da USP. Disponível em:

<<https://www.facebook.com/share/p/noKvfXpDL1Q35zhm/?mibextid=2JQ9oc>>. Acesso em 3 nov. 2023.

GUEDES, M.L.S. *et al.* Breve incursão sobre a biodiversidade da Mata Atlântica. In:

FRANKE, C.R. *et al.* (Org.) **Mata Atlântica e Biodiversidade**. Salvador: Edufba, 2005.

GUERRA, B. R. *et al.* Caracterização dos jardins de formiga em *Conceveiba martiana*

(Euphorbiaceae) na Reserva do Km 41, Amazônia Central. In: CURSO DE CAMPO ECOLOGIA DA FLORESTA AMAZÔNICA, 2001, Manaus. **Anais...** Manaus: INPA. p. 82-84.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os insetos: um resumo de entomologia**. ed.4. São Paulo: Roca, 2012.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Paleontologia Electronica**, v. 4, p. 1-9, jun. 2001.

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

- INÁCIO, C. de T.; URQUIAGA, S. **Aplicações da análise de isótopos estáveis na agricultura**. 1 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2017.
- JUDD, W. S. *et al.* **Sistemática Filogenética: um enfoque filogenético**. ed. 3. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- KEMPEL, A.; BRANDL, R.; SHÄDLER, M. Symbiotic soil microorganisms as players in aboveground plant–herbivore interactions – the role of rhizobia. **Oikos**, v. 118, p. 634-640, abr. 2009.
- KLIMES, P. *et al.* Why are there more arboreal ant species in primary than in secondary tropical forests? **Journal of Animal Ecology**, v. 81, p. 1103–1112, 2012.
- KÖPEN, W. **Climatología: con un estudio de los climas de la tierra**. México: Fondo de Cultura Económica, 1948,
- LANGE, D.; DÁTILLO, W.; DEL-CLARO, K. Influence of extrafloral nectary phenology on ant–plant mutualistic networks in a Neotropical savanna. **Ecol Entomol**, v. 38, p.463-469, 2013.
- LEAL, I. R.; FERREIRA, S. O.; FREITAS, A. V. L. Diversidade de formigas de solo em um gradiente sucessional de Mata Atlântica, ES, Brasil. **Biotemas**, v. 6, n. 2, p. 42-53, jan. 1993.
- LEWINSOHN, T. M.; FREITAS, A. V. L.; PRADO, P. I. Conservation of terrestrial invertebrates and their habitats in Brazil. **Conservation Biology**, v. 19, p. 640-645, jun. 2005.
- LIMA, A.G.; KUNTZ, J. **Platypodium in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB23124>>. Acesso em: 27 dez. 2023.
- LONGINO, J. T. ; FERNÁNDEZ, F. Taxonomic review of the genus *Wasmannia*. In: SNELLING, R. R; FISHER, B. L.;WARD, P. S. (eds). **Advances in Ant Systematics (Hymenoptera: Formicidae): Homage To E. O. Wilson – 50 Years Of Contributions**. Memoirs of the American Entomological Institute, v. 80, 2007.
- LPWG. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. **Taxon**, v. 66, n. 1, p. 44-77, fev. 2017.
- MARTINS, M. V. **Leguminosas arbustivas e arbóreas de fragmentos florestais remanescentes no noroeste paulista**. 2009. 161 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - área Botânica - Taxonomia Vegetal) - Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.
- MATOS, C. H. C. *et al.* Domácias e seu papel na defesa das plantas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 1021-1026, maio/jun., 2006.
- MELO, Y.; MACHADO, S. R.; ALVES, M. Anatomy of extrafloral nectaries in Fabaceae from dry-seasonal forest in Brazil. **Bot J Linn Soc**, v. 163, n. 1, p. 87-98, 2010.

- MENDES, R. M. de S.; CHAVES, B. E. **Sistemática Vegetal: noções básicas com enfoque em algumas famílias de angiospermas representativas no Brasil.** ed. 2. Fortaleza: Editora UECE, 2015.
- NARDOTO, G. B. **Abundância natural de ^{15}N na Amazônia e Cerrado – implicações para ciclagem de nitrogênio.** 2005. 100 f. Tese (Doutorado em Ecologia de Agroecossistemas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.
- NARDOTO, G. B. *et al.* Basin-wide variations in Amazon forest nitrogen-cycling characteristics as inferred from plant and soil ^{15}N : ^{14}N measurements. **Plant Ecology & Diversity**, v. 7, p. 173-187, 2014.
- NASCIMENTO, E. A. do.; DEL-CLARO, K. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 205, p.754-756, nov. 2010.
- PAIS, M. P. **Artrópodos e suas relações de herbivoria como bioindicadores nos primeiros estágios de uma recomposição de floresta estacional semidecidual em Ribeirão Preto, SP.** 2003. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências - área Entomologia) - Programa de Pós Graduação em Entomologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, Ribeirão Preto, 2003.
- PATREZE, C. M. Fixação de nitrogênio e micorrização em leguminosas de mata ciliar. 2003. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - área Biologia Vegetal) - Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2003.
- PAUL, J.; ROCES, F. Fluid intake rates in ants correlate with their feeding habits. **Journal of Insect Physiology**, v. 49, p. 347-357, 2003.
- PAULA, J. D. de.; LOPES, A. Jardins de formigas na Amazônia Central: um experimento de campo utilizando cupins vivos como iscas. **Acta Amazônica**, v. 43, n. 4, p. 447-453, dez. 2013.
- PHILPOTT, S. M.; FOSTER, P. F. Nest-site limitation in coffee agroecosystems: artificial nests maintain diversity of arboreal ants. **Ecological Applications**, v. 15, n. 4, p. 1478-1485, ago. 2005.
- POWELL, S. *et al.* Canopy connectivity and the availability of diverse nesting resources affect species coexistence in arboreal ants. **Journal of Animal Ecology**, v. 80, p. 352-360, 2011.
- RAMALHO, T. K. dos A. *et al.* Leaf domatia in montane forest and Caatinga in the semiarid of Pernambuco State: Morphology and ecological implications. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 36, n. 3, p.327-332, jul./set. 2014.
- RAMOS, L. de S. *et al.* Comunidades de formigas (Hymenoptera: Formicidae) de serapilheira em áreas de cerrado “stricto sensu” em Minas Gerais. **Lundiana**, v. 4, n. 2, p. 95-102, 2003.

- R Core Team. 2021. **A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.** Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>.
- RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P. S. **The ecology and evolution of ant-plant interactions.** Chicago: The University of Chicago Press, 2007.
- RIBAS, C. R. *et al.* Tree heterogeneity, resource availability, and larger scale processes regulating arboreal ant species richness. **Austral Ecology**, v. 28, p. 305-314, jun. 2003.
- RIBEIRO, S. P.; ESPÍRITO SANTO, N. B. Ecologia de formigas de dosséis florestais. **Biológico**, v. 69, p. 183-187, 2007.
- RODRIGUES, A. **O papel dos microfungos associados aos jardins das formigas Attini (Hymenoptera: Formicidae).** 2009. 149 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - área Microbiologia Aplicada) Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas - Microbiologia Aplicada do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, 2009.
- RODRIGUES, C. A. *et al.* Comunidade de Formigas Arborícolas Associadas ao Pequiizeiro (*Caryocar brasiliense*) em Fragmento de Cerrado Goiano. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 57, p. 39-44, jul.dez. 2008.
- ROSA, T. F. **Incêndios de alta intensidade e seus efeitos sobre a comunidade de formigas arborícolas do Cerrado.** 2020. 41 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) Programa de Pós Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.
- ROSUMEK, F. B. *et al.* Formigas de solo e de bromélias em uma área de Mata Atlântica, Ilha de Santa Catarina, sul do Brasil: Levantamento de espécies e novos registros. **Biotemas**, v. 21, n. 4, p. 81-89, dez. 2008.
- SAMBUICHI, H. R.; MIELKE, M. S.; PEREIRA, C. E. (Org.) **Nossas árvores : conservação, uso e manejo de árvores nativas no sul da Bahia.** Ilhéus: Editus, 2009.
- SANDERS, N. J.; CRUTSINGER, G. M. An ant mosaic revisited: dominant ant species disassemble arboreal ant communities but co-occur randomly. **Biotropica**, v. 32, n. 3, p. 422-427, 2007.
- SANZ-VEIGA, P. A. *et al.* Pericarpial nectary-visiting ants do not provide fruit protection against pre-dispersal seed predators regardless of ant species composition and resource availability. **Plos One**, v. 12, n. 12, p. 1-18, dez. 2017.
- SCHOEREDER, J. *et al.* The arboreal ant community visiting extrafloral nectaries in the Neotropical cerrado savanna. **Terr Arthropod Rev**, v. 3, p. 3-27, 2010.
- SCHMID, V. S. *et al.* Inflorescences of the Bromeliad *Vriesea friburgensis* as Nest Sites and Food Resources for Ants and Other Arthropods in Brazil. **Hindawi Publishing Corporation Psyche**, v. 2014, p. 1-9, 2014.

- SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 671–675, 2012.
- SCHLESINGER, W. H. **Biogeochemistry: An Analysis of Global Change**. ed. 2. California: Academic Press, 1997.
- SCHONBERG, L. A. *et al.* Arboreal ant species richness in primary forest, secondary forest, and pasture habitats of a Tropical Montane Landscape. **Biotropica**, v. 36, n. 3, p. 402-409, 2004.
- SCHULZ, A.; WAGNER, T. Influence of forest type and tree species on canopy ants (Hymenoptera: Formicidae) in Budongo Forest, Uganda. **Oecologia**, v. 133, p. 224-232, 2002.
- SENDOYA, S. F. *et al.* Foliage-dwelling ants in a Neotropical savanna: effects of plant and insect exudates on ant communities. **Arthropod Plant Interact** 10, v. 10, p. 183–195, 2016.
- SHÜTTE, M. S. de. *et al.* Inventário estruturado de formigas (Hymenoptera, Formicidae) em floresta ombrófila de encosta na ilha da Marambaia, RJ. **Iheringia - Série Zoológica**, v. 97, p. 103-110, mar. 2007.
- SILVA, E. M. da. **Estrutura da comunidade de formigas (Hymenoptera – Formicidae) associada a duas paisagens de caatinga em Milagres –Bahia**. 2011. 57 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) Programa de Pós Graduação em Zoologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2011.
- SILVA, G. L. *et al.* Análise preliminar de mosaico de formigas arbóreas: métodos comparativos para investigação de insetos de dossel. **MG.Biota**, v. 3, n. 5, p. 25-42, dez.-jan. 2010/2011.
- SILVA, R. R. da.; SILVESTRE, R. Diversidade de formigas (Hymenoptera: Formicidae) em Seara, oeste de Santa Catarina. **Biotemas**, v. 13, n. 2, p. 85-105, 2000.
- SILVA, R. R. da.; SILVESTRE, R. Riqueza da fauna de formigas(Hymenoptera: Formicidae) que habita as camadas superficiais do solo em Seara, Santa Catarina. **Papéis Avulsos de Zoologia - Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo**, v. 44, n. 1, p. 1-11, 2004.
- SILVESTRE, R. **Estrutura de comunidades de formigas do Cerrado**. 2000. 201 f. Tese (Doutorado em Ciências - Área Entomologia) - Programa de Pós-Graduação em Entomologia Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, Ribeirão Preto, 2000.
- SOUZA, L. A. G. de. **Guia da biodiversidade de fabaceae do Alto Rio Negro**. Manaus: Projeto Fronteiras, 2012.
- SOUZA, L. A. de. **Relações mutualísticas e antagônicas entre insetos e *Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich (Malpighiaceae) em área de Cerrado**. 2015. 80 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Programa de Pós Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.
- STORK, N. E. The composition of the arthropod fauna of Bornean lowland rain forest trees. **Journal of Tropical Ecology**, v. 7, n. 2, p. 161-180, maio, 1991.

SUMMERS, M. C.; MONDOR, E. B. Rhizobium alters inducible defenses in broad bean, *Vicia faba*. **Open Journal of Ecology**, v. 1, n. 3, p. 57-62, 2011.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. ed. 6. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TANAKA, H. O.; YAMANE, S.; ITIOKA, T. Within-tree distribution of nest sites and foraging areas of ants on canopy trees in a tropical rainforest in Borneo. **Population Ecology**, v. 52, p. 147-157, 2010.

THAMER, S. *et al.* Dual benefit from a belowground symbiosis: nitrogen fixing rhizobia promote growth and defense against a specialist herbivore in a cyanogenic plant. **Plant and Soil**, v. 341, p. 209-219, abr. 2011.

TOBIN, J. E. Competition and coexistence of ants in a small patch of rainforest canopy in Peruvian Amazonia. **Journal of the New York Entomological Society**, v. 105, n. 1 / 2, p. 105-112, 1997.

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

VARANDA, E. M. Banco Genético da Floresta da USP em Ribeirão Preto: resgate de espécies para a recuperação de áreas degradadas. In: VIII CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 2007, Caxambu, **Anais...** Caxambu: SEB.

VICENTE, R. E.; SILVA; I. V. da.; IZZO, T. J. Jardins de formigas: qual o estado do conhecimento sobre essas interações mutualísticas entre formigas e plantas? **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, v. 15, n. 1, p. 55-63, maio 2020.

VITOUSEK, P. M.; FARRINGTON, H. Nutrient limitation and soil development: Experimental test of a biogeochemical theory. **Biogeochemistry**, v. 37, n. 1, p. 63-75, abr. 1997.

WILD, A. L. Taxonomic revision of the ant genus *Linepithema* (Hymenoptera: Formicidae). **University of California Publications in Entomology**, v. 126, p.1-151, 2007.

YAHARA, T. *et al.* Global legume diversity assessment: concepts, key indicators, and strategies. **Taxon**, v. 62, p. 249-266, abr. 2013.

YAMAMOTO, M.; DEL-CLARO, K. Natural history and foraging behavior of the carpenter ant *Camponotus sericeiventris* Guérin, 1838 (Formicinae, Campotonini) in the Brazilian tropical savanna. **Acta Ethologica**, v. 11, n. 2, p. 55-65, 2008.

YANOVIK, S. P.; KASPARI, M. Community structure and the habitat templet: ants in the tropical forest canopy and litter. **Oikos**, v. 89, p. 259-266, 2000.