



PROTEÇÃO CONTRA HERBIVORIA E RESPOSTAS BIÓTICAS INDUZIDAS EM *CECROPIA PACHYSTACHYA* (URTICACEAE)

Guilherme N. Corte

INTRODUÇÃO

Associações entre formigas e plantas são um dos melhores exemplos de interações mutualistas defensivas, nas quais as formigas recebem alimento e/ou abrigo da planta e, em virtude da sua atividade de patrulhamento, removem herbívoros que podem causar prejuízos à sua planta hospedeira. A maioria dessas associações mutualistas parece ser ocasional e não especializada (Beattie 1985). Porém, em certas plantas chamadas mirmecófitas, a associação com as formigas tende a ser mais especializada (Benson 1985). Estudos demonstraram, por exemplo, que formigas residentes em mirmecófitas podem interceptar sinais químicos liberados pelas plantas hospedeiras quando são atacadas por herbívoros. Como resposta a essa sinalização, geralmente ocorre o recrutamento de formigas para as folhas danificadas (Fiala & Maschwitz 1990; Agrawal & Dublin-Thaler, 1999; Christianini & Machado, 2004; Romero e Izzo, 2004). A resposta das formigas à presença de um herbívoro ou de pistas associadas com herbivoria pode ser considerada uma defesa biótica induzida (Christianini & Machado 2004).

Cecropia pachystachya (Urticaceae) é uma mirmecófita de folhas grandes e lobadas (Joly 1977), típica de formações secundárias e de clareiras no interior de florestas Neotropicais (Price *et al.* 1991). Formigas ocupam a região interna do caule oco de *C. pachystachya* e se alimentam de corpúsculos müllerianos, estruturas ricas em glicogênio produzidas na base dos pecíolos, em regiões pilosas denominadas triquílias (Rickson 1971, Janzen 1973). Entretanto, em folhas velhas essas triquílias deixam de ser funcionais e param de produzir corpúsculos müllerianos (Barbosa *et al.*, 2008). O gênero de formiga mais comumente associado a *C. pachystachya* é *Azteca*, cujas operárias podem beneficiar a planta hospedeira de pelo menos duas maneiras: (1) por meio da remoção de trepadeiras que possam sombreá-la e (2) por meio de ataque e remoção de herbívoros (Price *et al.* 1991).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a relação mutualista entre *C. pachystachya* e *Azteca* sp. e

responder às seguintes questões: (1) há diferença de proteção contra herbivoria entre folhas novas e folhas velhas? (2) O dano foliar induz o recrutamento de formigas? (3) A remoção de herbívoros é mais eficiente em folhas recém danificadas? Por se tratar de uma associação mutualista especializada, minhas hipóteses são: (1) operárias de *Azteca* sp. patrulham mais intensamente folhas novas de *C. pachystachya*, (2) são capazes de interceptar algum sinais químicos liberados por folhas da planta hospedeira durante a ocorrência de herbivoria e (3) um dano foliar resulta em uma maior proteção da folha danificada. Dessa maneira, (1) herbívoros colados em folhas novas serão mais frequentemente removidos que aqueles colados em folhas velhas, (2) haverá um maior número de formigas em folhas danificadas em comparação com folhas intactas de mesma idade e, (3) devido à possível indução de proteção biótica, herbívoros colados em folhas recém danificadas serão mais rapidamente removidos que herbívoros colados em folhas não danificadas.

MATERIAIS & MÉTODOS

Área de estudo

Realizei este trabalho nos arredores do Núcleo Perequê no Parque Estadual da Ilha do Cardoso, litoral sul do estado de São Paulo. Amostrei apenas indivíduos de *C. pachystachya* que estavam colonizadas por formigas *Azteca* sp. e que possuíam entre 1,7 e 5,1 m de altura. Cada planta foi utilizada uma única vez e em somente um dos experimentos descritos a seguir.

Experimento 1 – Proteção contra herbivoria em folhas novas ou velhas

Neste experimento, testei se a proteção contra herbívoros ocorre com a mesma intensidade em folhas novas e velhas de *C. pachystachya*. Utilizei 11 indivíduos diferentes e considerei folhas novas aquelas localizadas perto da gema apical da planta e cujas triquílias estavam funcionalmente ativas. Folhas longe da gema apical e com triquílias inativadas, considerei velhas. Para testar a

frequência de remoção de potenciais herbívoros em folhas de diferentes idades de um mesmo indivíduo de *C. pachystachya*, utilizei operários de cupins vivos (Termitidae) como modelos de herbívoros. Colei um cupim na superfície abaxial, próximo ao pecíolo, de uma folha nova, e outro cupim na mesma região de uma folha velha da mesma planta. Após um período de 1 h verifiquei se a remoção destes cupins havia ou não acontecido. Considerei como remoção a ausência do cupim no local em que havia sido colado ou a presença de 15 ou mais formigas ao seu redor.

Experimento 2 – Recrutamento de formigas como resultado da ocorrência de herbivoria

Testei a hipótese de que formigas interceptam sinais químicos liberados pelas folhas durante a ocorrência de herbivoria em 11 indivíduos de *C. pachystachya*. Escolhi duas folhas novas de um mesmo e designei aleatoriamente (jogando uma moeda) uma delas como controle e a outra como tratamento. No grupo tratamento, cortei um lobo da folha com uma tesoura para simular herbivoria. No grupo controle apenas toquei a folha com uma pinça, mas não a cortei ou rasguei. Contei o número de formigas nas folhas tratamento e nas folhas controle imediatamente antes do início do experimento e também aos 5 e 10 min após o início do experimento.

Experimento 3 – Remoção de herbívoros em folhas danificadas e em folhas intactas

A herbivoria pode induzir o recrutamento de formigas em folhas danificadas (Christianini & Machado, Romero & Izzo, 2004) e, portanto, herbívoros que estiverem presentes em folhas recém danificadas devem ser mais rapidamente removidos que aqueles presentes em folhas inteiras. Para testar essa hipótese, utilizei 14 indivíduos de *C. pachystachya* e, em cada um deles, escolhi duas folhas novas e designei aleatoriamente uma delas como controle e outra como tratamento. Na folha tratamento, coleí um cupim na superfície abaxial, próximo ao pecíolo, e simulei um dano de herbivoria cortando um lobo da folha com uma tesoura. Na folha controle, coleí um cupim na mesma posição, mas não causei dano algum à folha. Após um período de 15 min, verifiquei se os cupins haviam sido removidos em cada uma das folhas experimentais. Considerei os cupins removidos usando os mesmos critérios estabelecidos no experimento 1.

Análises estatísticas

Testei a existência de diferença na frequência de remoção de cupins em folhas novas e velhas por

meio de um teste exato de Fisher. Para a avaliação de recrutamento de formigas *Azteca* sp. como resultado de herbivoria em folhas de *C. pachystachya*, calculei a diferença das médias de formigas presentes nas folhas tratamento e controle. Em seguida, comparei esse valor a uma distribuição de frequências de diferenças de médias de formigas presentes nos dois grupos gerada por meio de uma aleatorização do número de indivíduos registrados nas folhas tratamento e controle. O número de formigas presentes foi permutado entre os grupos tratamento e controle dentro da mesma planta e mesmo período de tempo (0, 5 ou 10 min) em um total de 1.000 iterações. Para testar as diferenças no número de formigas entre os períodos, realizei o mesmo procedimento, entretanto, permutei os valores (número de formigas) de cada período dentro da mesma planta e do mesmo tratamento. Por fim, analisei a remoção de cupins em folhas danificadas ou intactas utilizando um teste exato de Fisher.

RESULTADOS

A remoção de cupins foi maior em folhas novas que em folhas velhas (teste exato de Fisher, $p = 0,02$; Figura 1).

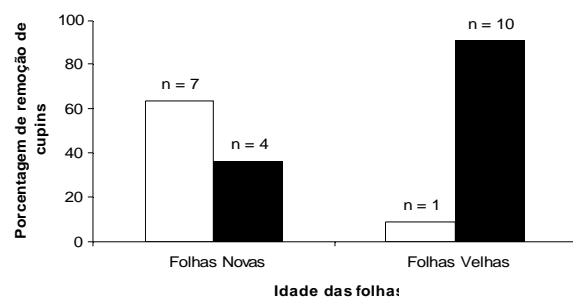


Figura 1. Porcentagem de cupins removidos (barras brancas) e não removidos (barras pretas) por formigas em folhas novas e velhas de indivíduos de *Cecropia pachystachya*.

Ao contrário do que ocorreu nas folhas controle não danificadas (Figura 2A), a simulação de herbivoria resultou em um aumento no número de formigas presentes nas folhas danificadas ($p < 0,001$; Figura 2B). A diferença entre o número de formigas presentes nas folhas tratamento e controle aumentou em 10 das 11 plantas analisadas após a simulação de herbivoria e ficou igual em apenas uma delas. Esse aumento ocorreu entre o intervalo de tempo compreendido entre 0 e 5 min ($p = 0,001$; Figura 2B). No intervalo de tempo de 5 a 10 min, o número de formigas continuou elevado, mas não apresentou mudanças ($p = 0,36$; Figura 2B), indicando que o aumento no número de formigas acontece em um curto período de tempo após a percepção da herbivoria.

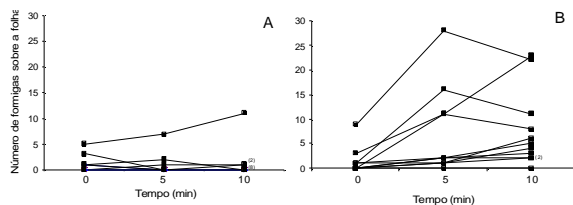


Figura 2. Número de formigas sobre as folhas de *Cecropia pachystachya* nos grupos (A) controle, no qual as folhas não foram cortadas e (B) tratamento, no qual as folhas foram cortadas. Os números entre parênteses indicam a quantidade de valores idênticos sobrepostos.

Folhas danificadas apresentaram uma frequência de remoção de cupins que folhas intactas da mesma idade (teste exato de Fisher = 0,004). Em 13, das 14 folhas tratamento analisadas (92,8%), o cupim foi removido em um intervalo de 15 min, enquanto que a remoção ocorreu em apenas 5 das 14 folhas (35,7%) controle no mesmo período de tempo.

DISCUSSÃO

Os resultados encontrados demonstram que as formigas *Azteca* sp. removeram a maior parte dos cupins colados em folhas de indivíduos de *C. pachystachya* e que essa remoção foi maior em folhas novas que em folhas velhas. Além disso, a simulação de herbivoria das folhas induziu um rápido recrutamento de formigas para a região afetada e uma conseqüente remoção dos cupins. A maior remoção dos cupins e a indução de recrutamento de formigas para a folha danificada podem ser interpretadas como uma proteção efetiva contra a herbivoria proporcionada pelas formigas à sua planta hospedeira. Izzo & Vasconcelos (2002) obtiveram resultados semelhantes com a mirmecófita amazônica *Hirtella myrmecophila* (Chrysobalanaceae) e sua formiga residente *Allomerus octoarticulatus*. Para esse sistema, os autores demonstraram que a presença da formiga na planta resulta em um decréscimo na herbivoria da planta hospedeira, particularmente em folhas mais novas da planta hospedeira. A maior remoção de cupins em folhas novas em *C. pachystachya* por formigas *Azteca* sp. pode ser resultado da presença de triquílias funcionais na base dos pecíolos destas folhas. Como as triquílias presentes em folhas mais velhas deixam de produzir corpúsculos müllerianos, estas folhas podem não ser mais atrativas para as formigas, já que um deslocamento até elas resultaria em um gasto energético sem uma recompensa nutritiva. Outra possibilidade seria que folhas jovens atraem mais herbívoros (Fonseca

1994) e, dessa forma, ao forragear nestas folhas, a probabilidade de encontrar uma presa em potencial seria maior que em folhas mais velhas. Além disso, a manutenção de um grande número de formigas durante toda a vida da folha poderia acarretar um custo muito alto para planta hospedeira. Nesse caso, a defesa biótica oferecida por formigas poderia ser substituída por defesas químicas (compostos secundários) ou mecânicas (maior espessura) em folhas mais velhas.

A simulação de herbivoria em folhas de *C. pachystachya* resultou em um rápido recrutamento de formigas *Azteca* sp. até o local onde ocorreu o dano, além de um maior número de formigas recrutadas nas folhas tratamento que o número encontrado nas folhas controle durante todo o período de observação. Estudos anteriores demonstraram comportamento semelhante de formigas em outras espécies de plantas mirmecófitas como resposta a danos na folha ou à presença de herbívoros (Christianini & Machado 2004; Romero & Izzo 2004). Uma possível interpretação para esse resultado é a de que um dano em uma folha da planta hospedeira seria um sinal confiável da presença de um herbívoro e, como consequência, de um provável alimento com nutrientes diferentes e/ou complementares daqueles oferecidos pela planta através dos corpúsculos müllerianos. De acordo com Christianini & Machado (2004), essa resposta das formigas em função da presença de um herbívoro ou de pistas associadas com herbivoria pode ser considerada uma defesa biótica induzida pela planta, já que o número de formigas nas folhas aumenta rápida e localmente após o dano foliar. Após um período de 10 min, o número de formigas nas folhas tratamento continuou elevado, mas não apresentou diferenças em relação ao primeiro período de amostragem (5 min). Isso sugere que formigas recrutam co-específicos provavelmente como uma tentativa de melhorar a sua capacidade de procura por um herbívoro, porém, ao não encontrarem a presa após um período de procura, o recrutamento cessa. Após o término do recrutamento, algumas das formigas que estavam ocupadas na procura podem abandonar o local e retornar às atividades que desempenhavam anteriormente.

A maior porcentagem de remoção de herbívoros em folhas onde ocorreu a simulação de herbivoria corrobora a hipótese de que o dano foliar da planta hospedeira induz uma defesa biótica pelas formigas, resultando em uma maior proteção de tecidos que estiverem sendo atacados. A indução de recrutamento de formigas pode ser bastante efetiva contra herbívoros móveis. Na tentativa de

um herbívoro se alimentar da planta hospedeira, um recrutamento de formigas deve fornecer uma resposta rápida para minimizar danos mais extensos nas folhas. Em uma interação obrigatória entre plantas mirmecófitas e suas formigas residentes, a aptidão da colônia de formigas pode ser tão intimamente relacionado ao vigor da planta hospedeira que um maior dano causado por herbivoria deve ser prontamente respondido e evitado. Dessa maneira, uma rápida remoção de herbívoros em folhas danificadas deve ser favorecida através de seleção.

Durante a coleta de dados, observei que formigas *Azteca* sp. recrutam outros indivíduos de sua colônia em resposta a um extrato aquoso de folhas de *C. pachystachya*. Isso pode significar que a indução de recrutamento pode ser resultado da liberação de compostos químicos em folhas danificadas. Agrawal & Dubin-Thaler (1999) encontraram uma relação positiva entre a extensão do dano foliar em *C. obtusifolia* e o número de operárias da formiga *Azteca* sp. que foram recrutadas. Segundo os autores, o recrutamento ocorre provavelmente porque as formigas *Azteca* sp. podem detectar compostos voláteis, os quais são produzidos em grande quantidade e concentração em danos foliares mais extensos. Assim, é provável que no sistema *C. pachystachya* – *Azteca* sp., as formigas utilizem características químicas de sua planta hospedeira para interceptar e responder a compostos liberados por tecidos danificados. Entretanto, essa hipótese ainda necessita ser testada de forma experimental em campo. Outras sugestões para possíveis trabalhos futuros com o sistema *Cecropia pachystachya* – *Azteca* sp. seriam: (1) testar se ocorre variação na quantidade de corpúsculos müllerianos produzidos antes e depois de um dano por herbivoria, (2) relacionar a intensidade do recrutamento com o nível de dano foliar sofrido pela planta e (3) relacionar a intensidade do recrutamento com o tamanho da colônia presente na planta hospedeira.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Glauco Machado pelas idéias na montagem do projeto, pela ajuda no campo e por mostrar que não se deve acreditar em tudo o que chega até os nossos ouvidos. Ao Paulo Inácio Prado por transformar um amontoado de números em algum significado; ao “projeto de guia” Gustavo “Billy Boy” Requena pela ajuda na coleta e análise de dados; à Camila Castanho pelo chiclete Trident e também pela ajuda na análise de dados; ao Alê por arrumar o fusível na primeira festa; a Janaína Cortinoz pela ajuda na coleta de material e por me

mostrar que Guilherme é um ótimo nome quando há alguém chamado “Ogustes”; ao Paulo Ilha pela ajuda na coleta de material e por quebrar a descarga bem no dia do meu revertério intestinal; ao Mandrake por não conseguir parar de babar no dia após a festa, a Brother Jú por povoar o imaginário popular; a Luisa por 1.843 “ois quicantes”; a Marcela por incomodar os golfinhos correndo todo dia de manhã, a Ana Z. por começar com a e terminar com z; a Fralda por mostrar que por mais que você pense que esta atrasado, sempre tem alguém pior; à Pantufa e ao Fernando pela companhia em alguns goles de Cataia; a Thais pelas informações a respeito do Papaculídeo; a Suzana pelas discussões sobre aranhas e suas teias; ao Edson por me ensinar onde fica a praia de Itacuruçá; a Paula pelos ensinamentos durante os primeiros projetos; a Cobrinha por destilar o seu veneno nas horas mais oportunas; ao Daniel por mostrar que a ressaca é muito pior que um relatório no inferno; a Clarissa pelas dicas sobre a localização das embaúbas; a Natália “coração-de-pedra” por ocupar a cabeça e o tempo do Mixú; ao Pedro por demorar horas para comer sua refeição proporcionando, assim, tempo para que seus colegas repetissem a mistura pela sétima vez; aos ayatolás dos cupins, Sadam e Osama, que ofereceram um grande contingente de seu povo na tentativa de derrubar o império *Azteca*; à árvore que rachou a minha cabeça no início do curso e fez com que nunca mais eu desviasse de meu caminho a Deus, que no quinto dia criou as *Cecropias*, no sexto as encheu de formigas e no sétimo inventou a biologia para tentar entender esse sistema e a estatística para mostrar que ele não significava nada. E, por fim, agradeceria ao Mixú pelas discussões e companheirismo durante esse curso, porém ele não me deixou usar o computador para imprimir esse trabalho e tudo foi por água a baixo.

REFERÊNCIAS

- Agrawal A.A. & Dubin-Thaler B.J. 1999. Induced responses to herbivory in the Neotropical ant-plant association between *Azteca* ants and *Cecropia* trees: response of ants to potential inducing cues. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 45: 47–54.
- Barbosa C., Cortinóz J., Nascimento M. & Lapate M. 2008. Formigas em embaúbas: onde fica a sala de jantar? Livro do curso de campo Ecologia da Mata Atlântica”. Disponível em: <http://ecologia.ib.usp.br/curso>
- Begon M. Townsend C.R. & Harper J.L. 2007. *Ecologia: de indivíduos a ecossistemas*. ArtMed, Porto Alegre.

- Beattie A.J. 1985. *The evolutionary ecology of ant-plant interactions*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Benson W.W. 1985. Amazon ant plants, pp. 239–266. Em: *Amazonia*. (Prance G.T. & Lovejoy T.E. eds). Pergamon Press, Oxford.
- Bronstein J.L. 1998. The contribution of plant protection studies to our understanding of mutualism. *Biotropica* 30: 150–161.
- Christianini A.V. & Machado G. 2004. Induced biotic responses to herbivory and associated cues in the Amazonian ant-plant *Maieta poeppigii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 112: 81–88
- Fiala B. & Maschwitz U. 1990. Studies on the South East Asian ant-plant association *Crematogaster borneensis/Macaranga*: adaptations of the ant partner. *Insectes Sociaux* 37: 212–231
- Fonseca C.R. 1994. Herbivory and the long-lived leaves of an Amazonian ant-tree. *Journal of Ecology* 82: 833–842.
- Heil M., Fiala B., Linsenmair K.E., Zott G., Menke P. & Maschwitz U. 1997 Food body production in *Macaranga triloba* (Euphorbiaceae): a plant investment in anti-herbivore defence via symbiotic ant partners. *Journal of Ecology* 85: 847–861.
- Izzo T.J. & Vasconcelos H.L. 2002. Cheating the cheater: domatia loss minimizes the effects of ant castration in an Amazonian ant-plant. *Oecologia* 133: 200–205.
- Janzen D.H. 1973. Dissolution of mutualism between *Cecropia* and its *Azteca* ants. *Biotropica* 5: 15–28.
- Joly A.B. 1977. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. Companhia Editora Nacional, São Paulo.
- Kitajima K., Mulkey S.S., Samaniego M. & Wright S.J. 2002 Decline of photosynthetic capacity with leaf age and position in two tropical pioneer tree species. *American Journal of Botany* 89: 1925–1932.
- Ricklefs R. E. 1996. *A economia da natureza*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Rickson F.R. 1971. Glycogen plastids in Müllerian body cells of *Cecropia peltata*, a higher green plant. *Science* 173: 344–347.
- Price P.W., Lewinsohn T.M., Fernandes G.W. & Benson W.W. 1991. *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. Wiley-Interscience, Nova Iorque.
- Romero G.Q. & Izzo T.J. 2004 Leaf damage induces ant recruitment in the Amazonian ant-plant *Hirtella myrmecophila*. *Journal of Tropical Ecology* 20: 675–68.