



# Idade foliar ou néctar: o que promove a defesa de formigas mutualistas nas folhas de *Talipariti pernambucense* (Malvaceae)?

Isabela Schwan

**RESUMO:** Plantas desenvolveram evolutivamente estratégias de defesa à herbivoria, uma delas é a defesa biótica. Devido à presença de nectários-extraflorais (NEFs) *Talipariti pernambucense* apresenta como defesa biótica associação mutualística principalmente com formigas que a defendem contra herbívoros. Mas o custo de produção dos NEFs é alto, portanto a planta investe sua defesa em regiões mais suscetíveis, como folhas novas recrutando um maior número de formigas. O que induz o comportamento de proteção das formigas em *T. Pernambucense*, se a idade ou o néctar nas folhas. Para isso, observei a remoção do cupim pelas formigas em folhas jovens e velhas na presença e na ausência da fonte de néctar. Há maior remoção de cupim nas folhas com presença da fonte de néctar, de acordo com o esperado, mas a idade é possível que seja mais fácil de visualizar em outro estudo na ausência de NEFs.

**PALAVRAS-CHAVE:** defesa biótica, interação formiga-planta, mecanismo de defesa indireto, mutualismo, nectários extra-florais

## INTRODUÇÃO

Em resposta à herbivoria as plantas desenvolveram ao longo do tempo evolutivo diferentes estratégias de defesa (Schaler *et al.*, 2008). Estas estratégias podem ser de origem química, como a produção de compostos tóxicos localizados em partes da planta (Souls, 1999); física, como a produção de barreiras que impedem ou dificultam o consumo da planta ou bióticas, por meio da associação da planta com outros organismos (Strauss & Zangerl, 2002).

A associação da planta com outros organismos pode ser mediada pela presença de nectários-extraflorais (NEFs) nas folhas. Os NEFs secretam o néctar, uma substância açucarada com outros compostos orgânicos (Baker *et al.* 1978). Devido à secreção do néctar, os NEFs são visitados principalmente por formigas (Ruhren & Handel, 1999) que defendem as plantas do ataque de herbívoros, afetando positivamente a aptidão da planta (Cogni & Freitas, 2003).

Uma estratégia da planta é disponibilizar a atividade de produção de néctar dos NEFs em locais mais suscetíveis à herbivoria, como as folhas novas, com a finalidade de concentrar a atividade das formigas nesses locais (Edwards *et al.*, 2007). Mas essa estratégia de direcionar o patrulhamento das formigas para as folhas mais novas (Cogni & Freitas, 2003) pode influenciar no patrulhamento de defesa das folhas mais velhas (Beattie & Hughes, 2002). Por isso, as folhas mais velhas desenvolveram outra estratégia de defesa, elas esclerificam tornando seus NEFs inativos e a defesa induzida por ele menos importante (Lüttge, 1997).

Considerando que a planta investe em maior produção de néctar nos NEFs de folhas novas, podemos prever que folhas jovens com NEFs obstruídos devem ter o mesmo benefício de folhas velhas com NEFs inativos, assim como folhas jovens com NEFs ativos devem ter o mesmo benefício que folhas velhas com uma fonte alternativa de açúcar. Portanto, folhas velhas com uma fonte alternativa de açúcar pode ter a mesma remoção de herbívoros por formigas que as folhas novas, da mesma forma que folhas jovens com NEFs obstruídos devem ter a mesma remoção de herbívoros por formigas que folhas velhas com NEFs inativos.

Para testar as previsões do parágrafo anterior, escolhi uma planta que tenha NEFs ativos nas folhas novas causando diferença na defesa das formigas, Lemos (2011) observou estas características em *Talipariti pernambucense* (Malvaceae). Um arbusto de 2-4 m de altura comumente encontrado em áreas de mangue e restinga (Joly, 1976) e que as folhas dos indivíduos desta espécie possuem de um a cinco NEFs localizados na base do limbo (Rocha & Neves, 2000). Em um estudo recente, Lemos (2011) demonstrou que as espécies de formigas encontradas sobre *T. pernambucensis* parecem não utilizar a planta inteira como recurso, forrageando preferencialmente nos NEFs de folhas novas e resultando em diferenças na eficácia de defesa anti-herbivoria.

O objetivo deste trabalho foi responder à pergunta: o que promove a proteção das folhas de *T.pernambucense* por formigas: (1) a idade foliar

ou (2) o néctar? Minhas hipóteses são de que: (1) a idade da folha nos ramos de *T. pernambucense* não interfere na defesa pelas formigas, (2) e sim a presença de uma fonte de néctar. Minha previsão é de que as formigas removerão herbívoros nas folhas jovens e adultas que possuem néctar.

## MATERIAL & MÉTODOS

### Área de estudo

Realizei o estudo na praia do Arpoador da Estação Ecológica Jureia-Itatins (24°S; 47°W), no município de Peruíbe, litoral sul do estado de São Paulo. Os indivíduos de *T. pernambucense* amostrados formam uma mancha de cerca de 20 m<sup>2</sup> na borda da restinga.

### Coleta de dados

Estimei a remoção dos herbívoros em folhas jovens e velhas, com e sem fonte de néctar em blocos de quatro folhas de um mesmo ramo de *T. pernambucense* totalizando 54 ramos e 216 folhas. Para escolher os ramos, estabeleci uma área de 10 m<sup>2</sup> no limite entre a praia e a vegetação arbustiva da restinga, e marquei os ramos de até 2 m de altura. Depois de marcá-los, considerei as três primeiras folhas de cada ramo como folhas jovens (excluindo as folhas não expandidas) e a partir da quarta folha considerei as folhas velhas.

Para testar a idade das folhas, velhas e jovens, com e sem açúcar, se as promovem a defesa da formigas na presença de outros herbívoros, elaborei o seguinte experimento: sorteei as folhas jovens quanto ao tipo de tratamento a ser aplicado. Na primeira folha jovem sorteada obstruí os NEFs com fita crepe e na segunda, deixei os NEFs expostos para servir de controle. Nas demais folhas do ramo consideradas velhas, também sorteei o tipo de tratamento que deveria aplicar. Na primeira folha velha sorteada adicionei uma fonte de açúcar e na segunda adicionei uma fonte de água para servir de controle. Adicionei a fonte alternativa de açúcar utilizando pedaços de papel filtro de 1 cm<sup>2</sup> embebidos em solução saturada de sacarose (NEFs artificiais). Para o controle adicionei os pedaços de papel filtro embebidos em água (NEFs água). Para simular a presença de um herbívoro, fixei um operário de cupim (Termitidae) com cola branca na face abaxial de cada folha próximo às fontes de néctar.

Observei cada ramo durante aproximadamente 2 h, repondo os NEFs artificiais e NEFs água que eventualmente caíam. Em seguida, registrei o número de cupins que foram removidos ou movidos

pelas formigas.

### Análise de dados

Para analisar a remoção de cupins pelas formigas na presença e na ausência da fonte de néctar, tanto em folhas jovens como velhas, foram aplicados quatro testes: dois para testar o efeito da idade das folhas com e sem presença de néctar e os outros dois para testar o efeito da fonte de açúcar em cada classe de idade. Apliquei a correção de Bonferroni para estabelecer o critério de significância por experimento, dividindo-o pelo número de testes para obter um critério de significância para cada teste individual. Assim, dividi o critério de significância pelo número de testes e o considerei como 0,0125 (Gotelli, 2004).

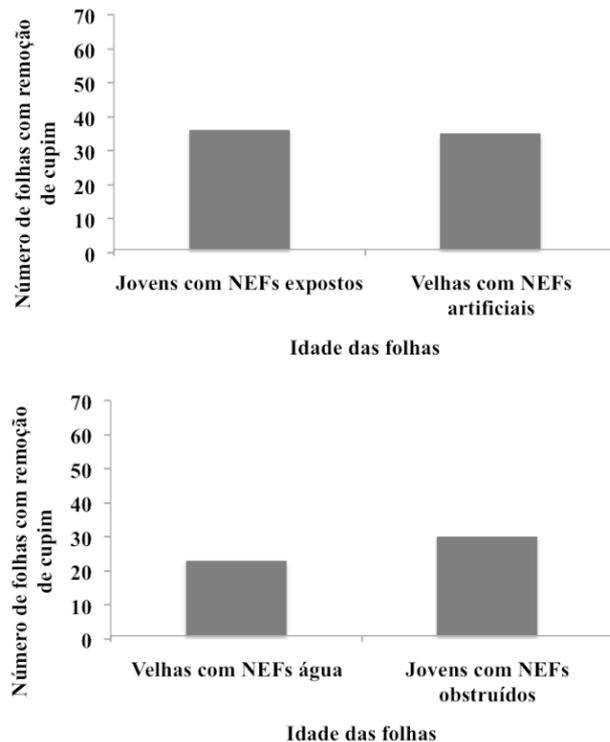
### 1. Idade

Para testar a hipótese de que a defesa pelas formigas é influenciada pela idade da folha, utilizei como estatística de interesse o número de folhas em que os cupins foram removidos ou movidos nas folhas jovens e velhas, mantendo constante o efeito da presença e da ausência da fonte de néctar. A comparação foi feita entre folhas jovens e velhas de dois grupos: ausência da fonte de néctar (folhas jovens com NEFs obstruídos e folhas velhas com NEFs água) e presença da fonte de néctar (folhas jovens com NEFs expostos e folhas velhas com NEFs artificiais). Permutei ao acaso a ocorrência de remoção de cupins entre as folhas de diferentes idades do mesmo ramo acontecerem ao acaso, para simular a hipótese nula de que não haveria diferença no número de remoções quanto entre folhas jovens e velhas. Em seguida contei o número de valores que foram maiores ou iguais a diferença das somas obtidos da aleatorização. Dividi este número obtido pelo número de permutações e determinei o valor do critério de significância que poderia ser encontrado sob o cenário nulo.

### 2. Néctar

Para testar a hipótese de que a defesa pelas formigas é influenciada pelo néctar na folha, utilizei como estatística de interesse o número de folhas em que os cupins foram removidos ou movidos nas folhas jovens com os NEFs expostos e com os NEFs obstruídos e nas folhas velhas com os NEFs de água e com os NEFs artificiais, mantendo constante o efeito da idade das folhas. A comparação foi feita para cada um dos grupos de idade da folha, folhas jovens com e sem a presença da fonte de néctar e velhas com e sem a presença da fonte de néctar. Realizei 10.000 permutações da ocorrência de remoção de cupins entre folhas de mesmas idades

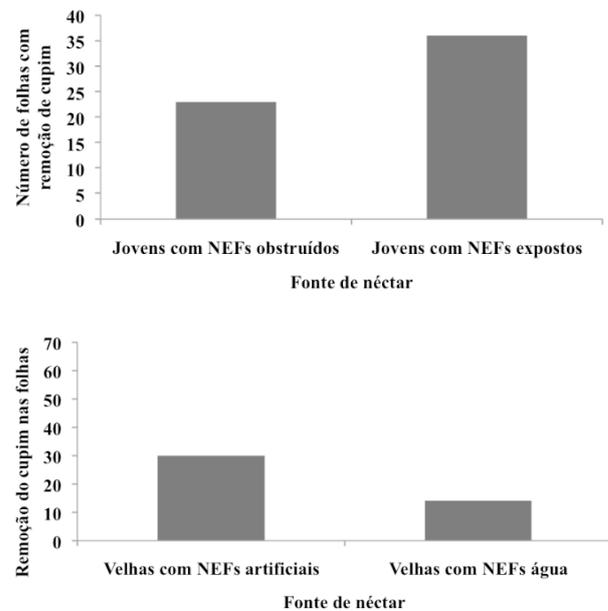
com diferença de presenças e ausências da fonte de néctar, do mesmo ramo para simular a hipótese nula de que não haveria diferença no número de cupins quanto a disponibilidade de néctar. Em seguida contei o número de valores que foram maiores ou iguais a diferença das somas obtidos da aleatorização. Dividi este número obtido pelo número de permutações e determinei o valor do critério de significância que poderia ser encontrado sob o cenário nulo.



**Figura 1.** (A) Número de remoções dos cupins colados nas folhas jovens e velhas na presença da fonte de néctar. As folhas jovens com os NEFs expostos e as folhas velhas com os NEFs artificiais não obtiveram diferença significativa na remoção de cupim. (B) Número de remoções dos cupins colados nas folhas jovens e adultas na ausência da fonte de néctar. As folhas velhas com os NEFs água tiveram maior remoção de cupim em comparação as folhas jovens com os NEFs obstruídos.

## 2. Néctar

Trinta e seis folhas jovens com NEFs expostos tiveram remoção de cupim contra 23 folhas jovens NEFs obstruídos (Figura 2A), resultando em diferença significativa ( $p = 0,0026$ ). Trinta folhas velhas com NEFs artificiais tiveram remoção de cupim contra 14 das folhas velhas com NEFs água (Figura 2B), também diferença significativa ( $p = 0,0001$ ).



**Figura 2.** (A) O número de remoções dos cupins colados nas folhas jovens com os NEFs obstruídos foi menor em comparação com os NEFs expostos, sendo significativo. (B) O número de remoção dos cupins colados nas folhas velhas com a adição dos NEFs artificiais foi maior em comparação com as folhas velhas com NEFs de água.

## DISCUSSÃO

Mantendo a idade constante, houve maior remoção do cupim pelas formigas nas folhas com a presença da fonte de néctar. Como esperado, folhas jovens com NEFs expostos e folhas velhas com os NEFs artificiais tiveram maior remoção de cupim do que as folhas jovens com NEFs obstruídos e folhas velhas com NEFs água. Esse resultado nos mostra que a presença de uma fonte de açúcar promove a defesa da folha, pois aumentou a remoção de potenciais herbívoros nas folhas das duas idades. Hiratata (2009) observou que indivíduos de *T. pernambucensis* produziram mais néctar nos NEFs após danos causados por herbivoria. Sabendo que o custo de produção dos NEFs é alto, plantas de ambiente de restrição sofrem pressão seletiva para direcionar sua energia para maior produção de néctar proporcionando o patrulhamento das formigas para as regiões com tecidos mais suscetíveis, resultando em ocupação preferencial de folhas novas mais sujeitas a herbivoria.

Em relação ao efeito da idade das folhas com e sem fonte de açúcar, houve diferença significativa

na ção dos cupins pelas formigas na ausência da fonte. Na presença de fonte de açúcar, a remoção foi a mesma em folhas jovens e velhas, mas na ausência da fonte de açúcar as folhas jovens tiveram uma maior remoção dos herbívoros. Portanto há interação entre a fonte de açúcar e idade das folhas, já que o impacto da presença de fonte de açúcar depende da idade da folha. Uma explicação é espécies de formigas forragearem nas folhas mais novas porque é onde o néctar está normalmente disponível, e elas estariam adaptadas a buscar esse recurso neste local (Lemos, 2011). Se a redução da atividade dos NEFs tem maior impacto nas folhas velhas que deixam de ser patrulhadas pelas formigas elas teriam mais a perder, no entanto não é isso que ocorre.

A falta de investimento em NEFs de folhas velhas não é um problema de proteção para a planta. Outros trabalhos mostram que a maioria das formigas são atraídas por folhas jovens com NEFs mais ativos e que folhas velhas esclerificam o que pode ser pelo menor patrulhamento das formigas. Kersch & Fonseca (2007), observaram que plantas mirmecofílicas localizadas em solos férteis aumentam a produção de néctar de todas as folhas do ramo para atrair as formigas que conseqüentemente, diminuem a herbivoria em suas folhas por igual. Macedo-Rego (2012), observou que a medida que as folhas amadurecem se tornam mais esclerificadas e investem proporcionalmente menos em seus NEFs principais que deixam de crescer. Estudos futuros poderiam investigar ções que avaliem a ocorrência induzida pelas formigas em folhas jovens e velhas onde o néctar é disponível detectando a quantidade de produção de néctar extra-floral após um intervalo de tempo. Outro estudo futuro poderia ser quanto a quantidade de produção de néctar nos NEFs em folhas de diferentes durezas.

## REFERÊNCIAS

- Baker, H.G.; P.A. Opler & I. Baker. 1978. A comparison of the amino acid complements of floral and extrafloral nectars. *Botanical Gazette*, 139:322-332.
- Beattie, A. & L. Hughes. 2002. Ant-plant interactions, pp. 211-235. Em: *Plant-animal interactions – an evolutionary approach* (C.M. Herrera & O. Pellmyr, eds.). Blackwell Science, UK.
- Cogni, R.; A.V.L. Freitas & P.S. Oliveira. 2003. Interhabitat differences in ant activity on plant foliage: ant at extrafloral nectaries of *Hibiscus pernambucensis* in sandy and mangrove forests. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 107:125- 131.
- Edwards, D.P.; R. Arauco; M. Hassal; W.J. Sutherland; K. Chamberlain; L.J. Wadhams & D.W. Yu. 2007. Protection in ant-plant mutualism: an adaptation or a sensory trap? *Animal Behavior*, 74:377-385.
- Galetto, L. & L.M. Bernardello. 1992. Extrafloral nectaries that attract ants in Bromeliaceae: structure and nectar composition. *Canadian Journal of Botany*, 70:1101–6.
- Gotelli, N.J. & A.M. Ellison. 2004. *A primer of ecological statistics*. Sinauer Associates, USA.
- Hirata, R. 2009. Danos foliares por herbivoria aumentam a produção de néctar dos nectários extraflorais de *Hibiscus pernambucensis* (Malvaceae)? Em: Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica” (G. Machado; P.I.K.L. Prado & A.A. Oliveira, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Joly, A.B. 1976. *Botânica - introdução à taxonomia vegetal*. Editora Nacional, São Paulo.
- Kersch, M.F. & C.R. Fonseca. 2007. Abiotic factors and the conditional outcome of an ant-plant mutualism. *Ecology*, 86:2117-2126.
- Lemos, P. 2011. Distribuição espacial e co-ocorrência de formigas mutualísticas em arbustos de *Hibiscus pernambucensis* (Malvaceae) Em: Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica” (G. Machado; P.I.K.L. Prado & A.M.Z. Martini, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Lüttge, U. 1997. *Physiological ecology of tropical plants*. Springer-Verlag, Berlin.
- Macedo-Rego, R.C. 2011. O tamanho das folhas de *T. pernambucense* (Malvaceae) prediz seu investimento em defesa biótica contra herbivoria? Em: Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica” (G. Machado; P.I.K.L. Prado & A.M.Z. Martini, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Rocha J.F. & L.J. Neves. 2000. Anatomia foliar de *Hibiscus tiliaceus* L. e *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae). *Rodriguesia*, 51:113–132.
- Ruhren, S. & S.N. Handel. 1999. Jumping spiders (Salticidae) enhance the seed production of a plant with extrafloral nectaries. *Oecologia*, 119:227-230.
- Schaler, A. 2008. *Induced plant resistance to herbivory*. Springer, Stuttgart.
- Souns, J.W. 1999. *Insect-plant interactions and induced plant defence*. Novartis Foundation,

England.

Strauss, S.Y. & A.R. Zangerl. 2002. Plant-insect interactions in terrestrial ecosystems, pp. 77-106. Em: *Plant-animal interactions – an evolutionary approach* (C.M. Herrera & O. Pellmyr, eds.). Blackwell Publishing Company, Oxford.