



## A infestação por galhas tem um efeito local na assimetria foliar de *Dalbergia ecastophyllum* (Fabaceae)?

Adrian D. G. Chaves, Gabriel P. Murayama, Lucas P. de Medeiros & Sergio Plasier

**RESUMO:** O parasitismo por galhadores pode induzir mudanças morfológicas e alterar a alocação de recursos em suas plantas hospedeiras. Assim, esperamos que as consequências do modo de obtenção de recurso pelo galhador sejam evidenciadas no desenvolvimento da planta hospedeira. Neste estudo, investigamos o efeito local de galhas na assimetria foliar de *Dalbergia ecastophyllum*, uma planta comum em áreas de restinga. Para isso, testamos se a assimetria entre os lados das folhas variava em relação às diferenças entre o número de galhas em cada lado. Nossos resultados mostram que o efeito do grau de infestação local sobre a assimetria foliar não é significativo. Ainda que não tenhamos encontrado evidências de que galhas geram efeitos sobre a assimetria das folhas, não descartamos um possível efeito das galhas sobre o crescimento na escala da planta como um todo.

**PALAVRAS-CHAVE:** desenvolvimento foliar, inseto galhador, interação inseto-planta, leguminosa, parasitismo.

### INTRODUÇÃO

O parasitismo é uma interação ecológica em que um organismo, o parasita, obtém nutrientes de um ou poucos hospedeiros, causando danos sem levar o hospedeiro à morte a curto prazo (Begon, 2009). Interações entre insetos galhadores e plantas são um tipo de parasitismo especializado que induz respostas morfogênicas nas estruturas das plantas (Daly et al., 1998). Insetos galhadores geralmente ovipositam nas partes ventrais das folhas e tanto a fêmea quanto a larva que eclode podem estimular bioquimicamente a folha, ocasionando um crescimento anormal dos tecidos foliares que envolvem a larva. A estrutura resultante do crescimento anormal dos tecidos da planta é denominada galha (Rohfritsch, 1992; Daly et al., 1998). Larvas dentro de galhas consomem recursos produzidos pelo hospedeiro e podem reduzir a área foliar disponível para fotossíntese, o que, em alguns casos, pode levar o hospedeiro à morte (Schick & Dahlsten, 2003).

Uma das espécies de plantas comumente parasitadas por galhas é o arbusto *Dalbergia ecastophyllum* (Fabaceae) (Cassano et al., 2009; Cavalheri et al., 2010; Loiola et al., 2010), uma espécie nativa que habita as restingas e dunas no Brasil (Souza & Capellari Jr., 2004; Souza & Lorenzi, 2005). As galhas se localizam preferencialmente nas nervuras das folhas, de onde o parasita obtém recursos para seu desenvolvimento (Cassano et al., 2009). Os efeitos negativos das galhas sobre o

hospedeiro podem ser mais evidentes em condições de baixa disponibilidade de nutrientes, como as condições em solos arenosos próximos às praias onde *D. ecastophyllum* habita (Carter, 1988).

Testar os efeitos do parasitismo por galhadores no nível do indivíduo em estudos não manipulativos é inviável devido à heterogeneidade de condições de microhabitat (e.g. fatores climáticos, tipos de solo, competição com outras plantas) e de disponibilidade de recursos entre indivíduos, que afetam o crescimento. Entretanto, estudar estruturas em desenvolvimento (e.g. folhas, flores, frutos) é uma alternativa que foi usada por Cavalheri et al. (2010). Os autores encontraram uma associação positiva entre o grau de assimetria foliar e o grau de infestação por galhas em *D. ecastophyllum*. Uma possível causa da assimetria encontrada pelos autores é uma diferença no fluxo de recursos para cada lado da folha devido a uma diferença no grau de infestação entre os lados. No entanto, Cavalheri et al. (2010) não encontraram uma direcionalidade da assimetria relacionada a diferenças no grau de infestação entre os lados das folhas. Apesar disso, o efeito do grau de infestação na assimetria pode ser sutil e ao usar folhas em estágios diferentes de desenvolvimento a capacidade de detecção deste efeito é limitada. Um próximo passo para investigar o possível efeito das galhas sobre a assimetria direcional das folhas é utilizar somente folhas em estágios iniciais de desenvolvimento e, assim,

garantir que a infestação tenha ocorrido durante o período de desenvolvimento da folha, quando poderia de fato ter um efeito sobre o crescimento.

O objetivo deste estudo foi investigar o efeito do redirecionamento local de recursos promovido pelas galhas na assimetria de folhas de *D. ecastaphyllum*. Sabendo que galhas são capazes de redirecionar parte do fluxo de recursos dentro da planta (Schoonhoven et al., 2005; Miranda, 2010), uma possibilidade é que um maior número de galhas poderia gerar um incremento na alocação de recursos localmente, promovendo um aumento do tamanho do lado mais infestado da folha. Nesse sentido, nossa primeira hipótese é que o lado da folha com um maior grau de infestação por galhas terá um maior desenvolvimento foliar em relação ao lado com menor infestação. Por outro lado, galhas podem atuar como um dreno fisiológico para a planta, reduzindo o abastecimento local na escala da folha e prejudicando o desenvolvimento do lado mais infestado (Miranda, 2010). Dessa forma, nossa segunda hipótese é que o lado da folha com um maior grau de infestação por galhas será menor. Apesar de ambas as hipóteses preverem um incremento da assimetria entre os lados da folha, a direcionalidade desta assimetria difere de acordo com o possível efeito local das galhas na folha.

## MATERIAL & MÉTODOS

### ÁREA DE COLETA E COLETA DE DADOS

Coletamos folhas de *D. ecastaphyllum* em uma área de restinga na Reserva de Desenvolvimento Sustentável da Barra do Una (24°17'-24°35'S; 47°00'-47°30'O), localizada no litoral sul do estado de São Paulo. Coletamos aproximadamente 50 folhas de ramos de *D. ecastaphyllum* localizados a 2 m uns dos outros. Para aumentar a chance de que a infestação por galhas tenha ocorrido na fase de crescimento das folhas, coletamos somente folhas no final do processo de expansão que continham galhas e estavam localizadas próximas ao ápice do ramo. Se houvesse mais de uma folha no mesmo ramo com as características descritas acima, sorteávamos a folha a ser amostrada. Descartamos folhas que tivessem marcas de herbivoría nas bordas, por não ser possível medir a área foliar com precisão. Também descartamos folhas que possuíam somente galhas muito pequenas ou galhas muito escuras, que indicam galhas mortas, pois tanto galhas muito pequenas quanto galhas mortas não têm um efeito significativo sobre o crescimento foliar (Rohfritsch, 1992).

## ÁREA DAS FOLHAS E NÚMERO DE GALHAS

Delimitamos cada lado das folhas pela nervura central da folha e calculamos o número de galhas do lado com mais galhas ( $L_+$ ) e do lado com menos galhas ( $L_-$ ). Em seguida, calculamos a diferença  $D_L = L_+ - L_-$  para cada folha (Figura 1). Como tínhamos um número muito maior de folhas (mais de 10 folhas) com  $D_L = 1$  e  $D_L = 2$  do que folhas com outros valores de  $D_L$ , sorteamos 10 folhas do total de folhas com estes valores de diferença. O número final de folhas usadas nas análises foi 37 folhas.

Fotografamos a face abaxial de todas as folhas e quantificamos a área do lado com mais galhas ( $A_+$ ) e do lado com menos galhas ( $A_-$ ) usando o programa Image J (Figura 1). Dado que uma mesma alteração na área foliar pode ter magnitudes diferentes em folhas de diferentes tamanhos, corrigimos este efeito usando a diferença relativa entre os lados da folha como  $D_A = \frac{A_+ - A_-}{A_T}$ , onde  $A_T$  é a área total da folha.

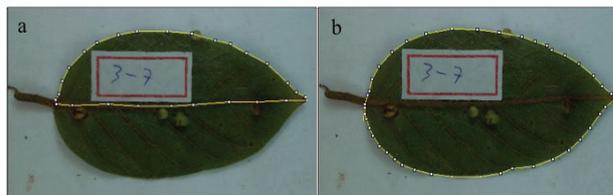


Figura 1. Exemplo de folha de *Dalbergia ecastaphyllum* usada para o cálculo do número de galhas e da área de cada lado. O lado com mais galhas (lado inferior na imagem) possui  $L_+ = 4$  galhas e o lado com menos galhas (lado superior na imagem) possui  $L_- = 1$  galha, resultando em uma diferença  $D_L = 3$  galhas. (a) Área da folha com menos galhas,  $A_- = 6,805 \text{ cm}^2$  e (b) área total da folha,  $A_T = 14,024 \text{ cm}^2$ , ambas delimitadas por linhas amarelas. Neste exemplo,  $D_A = 0,029$ .

### ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Fizemos uma regressão linear para avaliar o efeito do grau de infestação de galhas sobre o grau de assimetria foliar. Na regressão linear, usamos  $D_L$  como variável preditora e  $D_A$  como variável resposta. A previsão em relação à nossa hipótese de que o lado da folha com um maior grau de infestação por galhas teria um maior desenvolvimento foliar em relação ao lado com menor infestação era que haveria um efeito positivo sobre  $D_A$ . A previsão em relação à nossa hipótese de que o lado da folha com um maior grau de infestação por galhas seria menor era que faria um efeito negativo sobre  $D_A$ .

Usamos como estatística de interesse o valor  $\alpha$  da inclinação da reta de regressão encontrada. Para testar se o valor observado de  $\alpha$  era significativo, permutamos os valores de áreas entre os lados de cada folha e calculamos o valor da inclinação

da reta de regressão para 1.000 aleatorizações. Testamos simultaneamente as nossas duas hipóteses por meio de um teste bicaudal. Em relação à nossa primeira previsão, calculamos a proporção (p) de vezes em que os valores de  $\alpha$  eram maiores ou iguais ao valor  $\alpha$  observado. Para testar nossa segunda previsão, calculamos a proporção (p) de vezes em que os valores de  $\alpha$  eram menores ou iguais ao valor  $\alpha$  observado. Como o teste foi bicaudal, consideramos que a inclinação observada era significativa se o valor de p fosse menor do que 0,025. A regressão linear e as aleatorizações foram realizadas no ambiente de programação R 3.1.3 (R Core Team, 2015).

## RESULTADOS

A área total de folhas  $A_T$  variou de 14,024 cm<sup>2</sup> a 73,084 cm<sup>2</sup>. O número total de galhas por folha variou de 1 a 76 e a média de galhas por folha foi de 8,2. A inclinação da reta de regressão entre a diferença no número de galhas por lado da folha ( $D_l$ ) e a diferença relativa entre as áreas dos respectivos lados da folha ( $D_A$ ) foi  $\alpha = -0,354$  (Figura 2). Este valor de inclinação não foi maior ( $p = 0,842$ ) nem menor ( $p = 0,158$ ) do que o esperado pela hipótese nula.

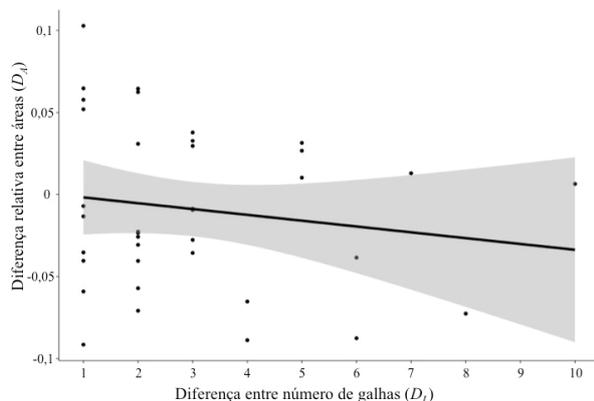


Figura 2. Diferença ( $D_l$ ) entre o número de galhas do lado da folha com mais galhas ( $D_A$ ) e o número de galhas do lado da folha com menos galhas ( $D$ ) em função da diferença relativa entre as áreas dos respectivos lados da folha ( $D_A$ ). A região cinza representa o intervalo de confiança de 95% da reta de regressão. DISCUSSÃO

Nossos resultados indicam que não existe um efeito local de galhas na assimetria foliar de *D. ecastophyllum*. Uma possível explicação é que o efeito local de galhas em uma folha pode resultar em uma redução do crescimento da folha como um todo e não gerar assimetria direcional. Dessa maneira, podemos prever que folhas infestadas por um maior número de galhas serão menores do que folhas pouco infestadas. Contudo, observamos valores elevados de assimetria não direcional em folhas com uma mesma diferença entre o número de galhas em cada lado. Por exemplo, em folhas com

uma galha de diferença entre lados, encontramos variações maiores que 10% na assimetria de área foliar (Figura 2). A assimetria observada pode ser considerada flutuante e estar associada a outros fatores bióticos e abióticos estressantes, como a baixa disponibilidade de recursos (Cornelissen & Stiling, 2005 apud Cavelheri et al., 2010). Assim, a assimetria seria uma resposta ontogenética ao efeito negativo do estresse sobre o desenvolvimento total da folha (Steinberg, 2012) e não ao efeito local na alocação de recursos pelas galhas.

Outra possível explicação para nossos resultados é que o efeito local causado por galhas na assimetria foliar seja muito sutil e não fomos capazes de detectá-lo. Esse efeito poderia ter sido detectado se tivéssemos uma maior quantidade de dados com uma grande diferença entre os lados da folha em número de galhas. No entanto, folhas com essa diferença elevada são raras. Essa raridade deve ser resultado da baixa probabilidade de fêmeas depositarem ovos em somente um lado da folha, dado que existe uma preferência pela oviposição em nervuras, as quais estão distribuídas de maneira aproximadamente uniforme pelo limbo foliar (Cassano et al., 2009).

Finalmente, a ausência de um efeito em uma escala local não descarta a possibilidade de existir um efeito significativo na escala do indivíduo como um todo. Dessa maneira, insetos galhadores em uma determinada folha podem reduzir a quantidade de recursos disponíveis para tecidos em desenvolvimento em toda a planta. Como foi demonstrado por Bagatto et al. (1996), insetos galhadores podem drenar até 70% do total de carbono produzido pela planta, alterando assim a distribuição de recursos por toda a planta. Além de drenar recursos, as galhas podem reduzir a capacidade fotossintética da planta, gerando um déficit de recursos ainda maior (Schick & Dahlsten, 2003). Concluímos que ainda não existem evidências suficientes para afirmar que as galhas geram efeitos direcionais na assimetria das folhas de *D. ecastophyllum*. Estudos futuros podem testar experimentalmente o efeito local de galhas na assimetria foliar, manipulando folhas infestadas e eliminando as galhas e larvas presentes em um dos lados de folhas em expansão para acompanhar o desenvolvimento foliar.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Diogo Melo e ao Glauco Machado pela orientação e valiosas discussões sobre o nosso estudo. Agradecemos ao Diogo Melo pela ajuda na coleta em campo, na estruturação do manuscrito e pela ajuda com a análise de dados.

## REFERÊNCIAS

- Bagatto, G.; L.C. Paquette & J.D. Shorthouse. 1996. Influence of galls of *Phanacis taraxaci* on carbon partitioning within common dandelion, *Taraxacum officinale*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 79:111-117.
- Begon, M. 2009. Ecological epidemiology, pp. 220-226. Em: *The Princeton guide to ecology* (M. Levin, ed.). Princeton University Press, New Jersey.
- Carter, R.W.G. 1988. Coastal environments an introduction to the physical, ecological and cultural systems of coastlines. Academic Press, London.
- Cassano, C.R.; M.T. Cezerin.; R.S. Bovendorp & A.P. Aguiar. 2009. Seleção de locais de oviposição por insetos galhadores em folhas de mar-meleiro *Dalbergia ecastophyllum* (Fabaceae). Em: Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica” (G. Machado; P.I.K.L. Prado & A.A. Oliveira, eds.). USP, São Paulo.
- Cavalheri, H.B.; A.S. Lima, D. Zanelato; G. Oliveira & P. Condé. 2010. Assimetria foliar como resposta à infestação por galhas. Em: Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica” (G. Machado; P.I.K.L. Prado & A.Z. Martini, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Daly, H.V.; J.T. Doyen & A.H. Purcell. 1998. Introduction to insect biology and diversity. Oxford University Press, Oxford.
- Loiola, M.; A.M. Nievas; D.R. Nascimento; G. Oliveira & P.A. Bogiani. 2010. Oviposição preferencial de insetos galhadores em *Dalbergia ecastophyllum* (Fabaceae). Em: Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica” (G. Machado; P.I.K.L. Prado & A.Z. Martini, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Miranda, M.L. 2010. Modelos mecânicos de fluxo de nutrientes explicam a distribuição de galhas sobre a superfície foliar de *Dalbergia ecastophyllum* (Fabaceae)? Em: Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica” (G. Machado; P.I.K.L. Prado & A.Z. Martini, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- R Development Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rohfritsch, O. 1992. Patterns in gall development, pp. 60-86. Em: *Biology of insect-induced galls* (J.D. Shorthouse & O. Rohfritsch, eds.). Oxford University Press, Oxford.
- Schick, K.N. & D.L. Dahlsten. 2003. Gallmaking and insects, pp 464-466. Em: *Encyclopedia of insects* (V.H. Resh & R.T. Cardé, eds.). Academic Press, USA.
- Schoonhoven, L.M.; J.J.A. van Loon & M. Dick. 2005. *Insect-plant biology*. Oxford University Press, Oxford.
- Souza, V.C.S. & L. Capellari Jr. 2004. A vegetação das dunas e restingas da Estação Ecológica Juréia-Itatins, pp. 103-114. Em: *Estação Ecológica Juréia-Itatins – Ambiente físico, flora e fauna* (O.A.V. Marques & V. Duleba, eds.). Editora Holos, Ribeirão Preto.
- Steinberg, C.E.W. 2012. *Stress ecology: Environmental stress as ecological driving force and key player in evolution*. Springer. Berlin.
- Ulian, C.; H. Kondrat; T. Cunha & T. Mello. 2012. Assimetria de folhas de *Dalbergia ecastophyllum* (Fabaceae) expostas a estresses ambientais múltiplos na faixa costeira. Em: Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica” (G. Machado; P.I.K.L. Prado & A.Z. Martini, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.

Orientação: Diogo Melo