



# Defesas físicas em plantas mirmecófitas jovens e adultas

Daniela Maggio, Leticia Zimback, Paula Giroldo & Vitor Oliveira

**RESUMO:** O mutualismo é a interação entre espécies diferentes em que ambas são beneficiadas. No sistema planta-formiga, a planta fornece abrigo, enquanto recebe proteção contra herbivoria. Além da defesa fornecida pelas formigas, as plantas podem também apresentar defesas físicas próprias contra herbívoros. Nosso objetivo foi testar se a ausência de formigas em *Cecropia pachystachya* induz um aumento nas defesas físicas em indivíduos jovens e adultos. Avaliamos a aspereza, resistência e massa por área de folhas em indivíduos jovens e adultos que estavam ou não colonizados por formigas. Não encontramos diferença para nenhuma das variáveis em relação à idade dos indivíduos ou à presença de formigas. Concluimos que para essas variáveis analisadas a espécie não apresenta plasticidade fenotípica induzida pela presença de formigas, nem mudanças ontogenéticas.

**PALAVRAS CHAVE:** *Azteca* sp., formiga, herbivoria, interação inseto-plantas, plasticidade fenotípica.

## INTRODUÇÃO

O mutualismo é a interação entre espécies diferentes em que ambas são beneficiadas (Begon et al., 2006). Em mutualismos de defesa, um indivíduo de uma espécie fornece vantagens, como alimento ou abrigo, podendo receber proteção contra predadores, herbívoros ou parasitas. Os organismos protegidos pelo mutualista geralmente possuem outros mecanismos de defesa que podem ser físicos, químicos e/ou comportamentais (Edmunds, 1974).

Algumas plantas apresentam tanto defesas indiretas, como a provida por organismos mutualistas, quanto defesas físicas diretas, como tricomas e espinhos. A interação entre plantas do gênero *Cecropia* (Urticaceae), conhecidas popularmente como embaúbas, e formigas do gênero *Azteca* é um sistema muito estudado, no qual as formigas protegem a planta contra herbivoria, enquanto obtêm alimento, locais para nidificação e proteção (Beattie & Hughes, 2002). As embaúbas desenvolvem estruturas denominadas triquílias que produzem corpúsculos müllerianos, ricos em glicogênio, que são utilizados pelas formigas como alimento (Janzen, 1969).

Indivíduos jovens devem investir mais em defesas físicas do que adultos, pois os custos de perda de folhas por herbivoria implicam em redução da taxa fotossintética e conseqüente diminuição de recursos alocados para crescimento (Barton & Koricheva, 2010 apud Endara & Coley, 2011). Nesse sentido, esperamos que indivíduos jovens invistam mais em defesas físicas do que adultos. Além disso, esperamos que indivíduos sem formigas invistam

mais em defesas físicas do que indivíduos sob proteção de formigas. Portanto, indivíduos jovens sem formiga investiriam mais em defesas físicas do que adultos sem formiga e do que indivíduos com formigas.

Nosso objetivo foi investigar qual a relação entre defesas físicas em indivíduos jovens e adultos de *C. pachystachya* na presença e ausência de formigas. Dado que *Azteca* sp. protege *C. pachystachya* e considerando que (i) plantas sem formigas estão mais suscetíveis à herbivoria e (ii) que indivíduos jovens devem ser mais suscetíveis à herbivoria, nossa hipótese é que indivíduos jovens sem formigas são aqueles que possuem mais defesas físicas, enquanto indivíduos adultos com formigas são aqueles que possuem menos defesas físicas.

## MATERIAL & MÉTODOS

### ÁREA DE ESTUDO E COLETA DE DADOS

Conduzimos o presente estudo na Reserva de Desenvolvimento Sustentável da Barra do Una (24°32'S; 47°15'O), localizada no município de Peruíbe, litoral sul do estado de São Paulo. Realizamos a coleta em julho de 2015, em indivíduos de *Cecropia pachystachya* localizados na borda da mata, ao longo da estrada de terra que dá acesso à Praia do Una. Consideramos como adultos os indivíduos com mais de 2 m de altura e como jovens os indivíduos com até 2 m de altura. Coletamos folhas de 54 indivíduos divididos em quatro categorias: indivíduo jovem sem formiga (JSF), indivíduo jovem

com formiga (JCF), indivíduo adulto sem formiga (ASF) e indivíduo adulto com formiga (ACF).

Coletamos a segunda folha mais jovem de todos os indivíduos que foram encontrados nos primeiros 3 km da estrada amostrada. Caso houvesse mais de um ramo na planta, coletamos a folha do ramo mais próximo à estrada. Dado que a retirada da folha em *C. pachystachya* é um estímulo para que as formigas apareçam, observamos o comportamento das formigas por 1 min e consideramos que o indivíduo apresentava interação com formigas quando havia um comportamento típico de patrulha das operárias sobre a planta.

Utilizamos três variáveis para mensurar as defesas físicas: a massa foliar por área (MFA), o índice de resistência (IR) e o índice de aspereza (IA) das folhas. Cada variável foi calculada a partir de diferentes dígitos da folha palmada de cada indivíduo amostrado (Figura 1).

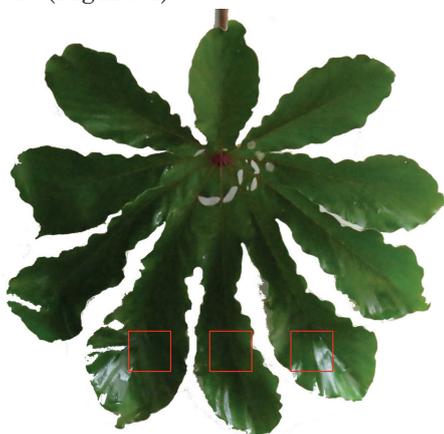


Figura 1. Folha palmada de *Cecropia pachystachya* e os dígitos em que foram tomadas as medidas do estudo: (1) dígito utilizado para obter o índice de aspereza (IA), (2) dígito utilizado para obter o índice de resistência (IR) e (3) dígito utilizado para obter a massa foliar por área (MFA).

### MASSA FOLIAR POR ÁREA (MFA)

A MFA é comumente utilizada para estimar o balanço entre a quantidade de carbono e de nitrogênio em uma folha (Wilson et al., 1999 apud Stanley, 2010). Altos valores de MFA representam grande alocação de recursos em compostos de defesa estrutural a base de carbono (Westoby et al., 2002 apud Stanley, 2010). Retiramos de cada folha um quadrado de 4 cm<sup>2</sup>, incluindo a nervura principal, e secamos todas as amostras em um forno convencional por 20 min. Pesamos as amostras em uma balança com precisão de 1 mg e dividimos o peso seco obtido pela área do quadrado. Nossas previsões eram que folhas de indivíduos jovens sem formiga teriam MFA maior e que folhas de indivíduos adultos com formiga teriam MFA menor quando comparadas às outras categorias.

### ÍNDICE DE RESISTÊNCIA (IR)

O IR foliar está relacionado à tensão necessária para que a folha se rompa. A tensão é um bom indicador da alocação de compostos carbonados para defesa estrutural e está relacionada à resistência contra danos mecânicos, incluindo herbivoria (Cornelissen et al., 2003). Calculamos o IR da folha a partir do dígito central da folha de *C. pachystachya* e retiramos um retângulo de 2 x 5 cm, incluindo a nervura principal. O procedimento consistiu em fixar esse retângulo da folha em um dinamômetro de 500 g acoplado a um recipiente (Figura 2). Adicionamos água ao recipiente progressivamente até que a folha se rompesse (conforme protocolo de Macedo-Rego, 2012). O IR, portanto, foi obtido em função do volume de água que a folha suportava antes de se romper e este valor foi transformado em peso (N). Nossas previsões eram que folhas de indivíduos jovens sem formiga teriam IR maior e que folhas de indivíduos adultos com formiga teriam IR menor quando comparadas às outras categorias.



Figura 2. Equipamento utilizado para determinar o índice de resistência (IR) das folhas de *Cecropia pachystachya*. Acoplamos a tira retangular da folha (indicada pela seta) no dinamômetro e adicionamos água ao recipiente progressivamente até que a folha se rompesse.

### ÍNDICE DE ASPEREZA (IA)

O IA relaciona-se com a capacidade da folha repelir herbívoros. O IA foi obtido em função de uma avaliação tátil categórica realizada com 10 voluntários; nenhum deles sabia à qual categoria as folhas pertenciam. Cada um dos voluntários comparou par a par todas as categorias de folha

(JSF x JCF; JSF x ASF; JSF x ACF; JCF x ASF; JCF x ACF; ASF x ACF) e decidiu qual era a mais áspera. O valor do IA foi o número de vezes em que uma folha foi avaliada como mais áspera. Cada folha foi avaliada em três pareamentos diferentes e, portanto, o valor máximo de aspereza para cada indivíduo foi três. Nossas previsões eram que folhas de indivíduos jovens sem formiga teriam IA maior e que folhas de indivíduos adultos com formiga teriam IA menor quando comparadas às outras categorias.

## ANÁLISE DE DADOS

As estatísticas de interesse foram as diferenças das médias de (i) MFA; (ii) IR e (iii) IA entre as quatro categorias de plantas. Para construir o cenário nulo, aleatorizamos de forma estratificada (i) o conjunto de dados de presença e ausência de formigas dentro de cada nível do fator idade (jovem e adulto) e (ii) o conjunto de dados de jovens e adultos dentro de cada nível do fator formigas (presença e ausência). Fizemos um teste de significância a partir do cenário nulo (1.000 permutações,  $\alpha = 0,05$ ) em que não haveria diferença entre as médias das diferentes categorias para todas as variáveis testadas. Realizamos todas as análises estatísticas no ambiente R 3.1.3 (R Development Core Team, 2015) utilizando o pacote Rsampling (Prado et al., 2015).

## RESULTADOS

Amostramos aproximadamente o mesmo número de indivíduos para as quatro categorias: JSF = 16 indivíduos, JCF = 11 indivíduos, ASF = 10 indivíduos e ACF = 17 indivíduos. A média de MFA dos indivíduos JSF foi de 8,78 mg/cm<sup>2</sup> (DP ± 4,16), dos indivíduos ASF foi de 12,05 mg/cm<sup>2</sup> (± 5,17), dos indivíduos JCF foi de 7,06 mg/cm<sup>2</sup> (± 2,90) e de indivíduos ACF foi de 11,35 mg/cm<sup>2</sup> (± 4,34) (Figura 3a). A diferença das médias não foi significativa para indivíduos jovens e adultos considerando a categoria relacionada à presença e ausência de formiga ( $p = 1,000$ ), nem para indivíduos com e sem formigas considerando o fator idade (jovens e adultos) ( $p = 0,171$ ).

A média do IR dos indivíduos JSF foi de 10,28 N (± 3,00), dos indivíduos ASF foi de 10,09 N (± 2,22), dos indivíduos JCF foi de 9,36 N (± 3,88) e dos indivíduos ACF foi de 9,35 N (± 3,09) (Figura 3b). A diferença das médias não foi significativa para indivíduos jovens e adultos considerando a categoria relacionada à presença e ausência de formigas ( $p = 0,371$ ), nem para indivíduos com e sem formigas considerando o fator idade (jovens e

adultos) ( $p = 0,125$ ).

Os valores mínimos e máximos de IA para cada categoria variaram entre 0 e 3. A média do IA dos indivíduos JSF foi 1,3 (± 1,15), dos indivíduos ASF foi 1,2 (± 1,22), dos indivíduos JCF foi 2 (± 0,94) e dos indivíduos ACF foi 1,5 (± 0,97) (Figura 3c). A diferença das médias não foi significativa para indivíduos jovens e adultos considerando a categoria relacionada à presença e ausência de formigas ( $p = 0,234$ ), nem para indivíduos com e sem formigas considerando o fator idade (jovens e adultos) ( $p = 0,946$ ).

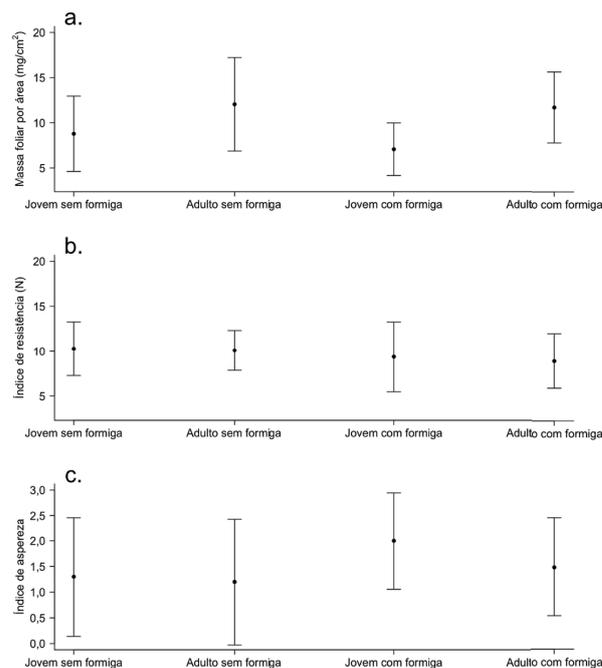


Figura 3. Valores médios (± DP) das defesas físicas analisadas em indivíduos jovens e adultos com e sem formiga de *Cecropia pachystachya*: (a) massa foliar por área, (b) índice de resistência foliar e (c) índice de aspereza foliar.

## DISCUSSÃO

Nossa hipótese era que indivíduos jovens de *Cecropia pachystachya* sem formigas teriam mais defesas físicas quando comparados a indivíduos adultos sem formigas e a indivíduos jovens e adultos com formigas. Não observamos diferença significativa para nenhuma das variáveis em relação à idade ou à presença de formiga. Assim, não encontramos que, para as variáveis analisadas, indivíduos de *C. pachystachya* apresentam plasticidade fenotípica induzida pela presença de formiga, pois a colonização por formigas não implica na redução do investimento nas defesas físicas diretas.

Também não obtivemos evidências de uma mudança ontogenética para as variáveis analisadas tal como esperávamos. Entretanto, ao contrário do esperado, observamos que o valor médio de MFA de indivíduos adultos foi relativamente maior do que

o de indivíduos jovens. Apesar de não termos avaliado a significância dessa diferença, se esse padrão for confirmado, ele pode ser devido ao fato de que valores mais altos de MFA não estão relacionados apenas a defesas físicas contra herbívoros, mas também com a proteção do aparelho fotossintético e à resistência à dessecação (Westoby et al., 2002 apud Stanley, 2010). Valores mais altos de MFA para indivíduos adultos podem estar relacionados ao hábito pioneiro das embaúbas, comumente encontrada em áreas com alta luminosidade. Como o presente estudo foi realizado na borda de uma floresta, os indivíduos jovens, por possuírem menos de 2 m de altura, podem estar em ambientes um pouco mais sombreados.

Plantas não apresentam apenas defesas físicas, mas também defesas químicas, como metabólitos secundários e proteinases que reduzem a digestibilidade dos tecidos foliares (Howe & Schaller, 2008). A expressão dessas defesas pode ocorrer ao longo da vida (ontogenia) ou por plasticidade fenotípica, induzida ou inibida após ataques por herbívoros, por exemplo. É possível, portanto, que *C. pachystachya* apresente plasticidade fenotípica ou mudança ontogenética para outras formas de defesa. Estudos que avaliem a presença de outras defesas físicas, como tricomas, e de defesas químicas em indivíduos jovens e adultos de *C. pachystachya*, com e sem formigas, podem elucidar o papel de outros tipos de defesa na espécie.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Danilo pela orientação do projeto, ao Tiago pela ajuda em campo, a Renata pela ajuda no experimento de “rasgância” e à Dri pelas contribuições e sugestões no manuscrito. Obrigada ao Glauco, Diana, Rafael, Diog(r)o, Lucas Medeiros, Luísa, Irina, Laura, Gabriela e Paula por emprestaram a sensibilidade de seus dedos para nossa medida de asperância.

## REFERÊNCIAS

- Beattie A.J. & L. Hughes. 2002. Ant-plant interactions, pp. 211-235. Em: Plant-animal interactions an evolutionary approach (C.M. Herrera & O. Pellmyr, eds.). Blackwell Publishing, Malden.
- Begon, M.; C.R. Townsend & J.L. Harper. 2006. Symbiosis and mutualism, pp. 381-409. Em: Ecology: from individuals to ecosystems. Blackwell Publishing, Malden.
- Borges, A.; L. Pavani; T. Carrijo & V. Marques. 2007. Desenvolvimento de triquílias e colonização por formigas *Azteca* sp. em embaúba (*Cecropia pachystachya*, Urticaceae). 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.
- Cornelissen, J.H.C.; S. Lavorel; E. Garnier; S. Díaz; N. Buchmann; D.E. Gurvich; P.B. Reich; H. ter Steege; H.D. Morgan; M.G.A. van der Heijden; J.G. Pausas & H. Poorter. 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botanic*, 51: 335-380.
- Edmunds, M. 1974. Defence in animals: a survey of anti-predator defences. Longman, New York.
- Endara, M.J. & P.D. Coley. 2011. The resource availability hypothesis revisited: a meta-analysis. *Functional Ecology*, 25:389-398.
- Howe, G.A. & A. Schaller, 2008. Direct defenses in plants and their induction by wounding and insect herbivores. Em: Induced plant resistance to herbivory (A. Schaller, ed.). Springer. Stuttgart.
- Janzen, D.H. 1969. Allelopathy by myrmecophytes: the ant *Azteca* as an allelopathic agent of *Cecropia*. *Ecology*, 50: 147-153.
- Macedo-Rego, R.C. 2012. O tamanho das folhas de *Talipariti pernambucense* (Malvaceae) prediz seu investimento em defesa biótica contra herbivoria? Em: Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica” (Machado, G.; P.I.K.L. Prado & A.M.Z. Martini, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Prado, P.; A. Chalon & A.A. Oliveira. 2015. Rsampling: ports the workflow of “Resampling stats” add-in to R. R package version 0.0.0.3.
- R Development Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Stanley, E. 2010. Herbivoría y características foliares en función de la edad en hojas de *Piper* sp. (Piperaceae). Em: Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica” (Machado, G.; P.I.K.L. Prado & A.M.Z. Martini, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.

Orientação: Danilo G. Muniz