



Variação morfológica foliar em *Clidemia capitellata* (Melastomataceae): dos tricomas à herbivoria

Adriana Carolina Acero-Murcia

RESUMO: Plasticidade fenotípica é a capacidade que um genótipo tem expressar diferentes fenótipos em diferentes condições ambientais. Nas plantas, a folha pode apresentar respostas plásticas sob diferentes intensidades luminosas, por exemplo, na área foliar e na pilosidade. O objetivo foi investigar qual é a relação entre área foliar, pilosidade e herbivoria em *C. capitellata* sob diferentes condições de luz. Para isto, foram coletadas 120 folhas (jovens-velhas) de 30 indivíduos *C. capitellata* em dois ambientes (sombra-luz). Foi estimada a densidade de tricomas, a área foliar e a área foliar consumida para cada folha. Encontrou-se que a densidade de tricomas foi menor na sombra, e à medida de área foliar aumentou, e a herbivoria também. O aumento da área foliar tem a vantagem de capturar mais energia solar, mas a diminuição na densidade dos tricomas resulta com um custo associado maior por herbivoria na sombra.

PALAVRAS CHAVE: herbivoria, mudança microclimática, pixirica, radiação solar, variação morfológica.

INTRODUÇÃO

Os seres vivos estão expostos constantemente a mudanças em diferentes condições bióticas, como herbivoria ou presença de predadores, e abióticas, como a temperatura, radiação solar, precipitação, disponibilidade de nutrientes. A resposta de um mesmo genótipo frente às mudanças ambientais pode ser expressa com diferentes fenótipos, resposta que é chamada de plasticidade fenotípica (Pigliucci 2001; Pigliucci & Preston 2004). Por exemplo, as pulgas de água *Daphnia* produzem grandes carapaças de defesa quando na presença de compostos químicos liberados na água pelo predador (Pigliucci 2001). Como consequência, o genótipo se expressa com a capacidade de gerar uma carapaça maior nos indivíduos e gera uma característica física mais vantajosa que faz que o indivíduo consiga evitar o ataque do predador e sobreviver no ambiente.

A plasticidade fenotípica, além de ser documentada para alguns animais, é mais condizente, pois estas não se locomovem, gerando uma relação mais estreita com as condições de luz, temperatura, água e nutrientes do ambiente. As respostas de modulação a estes fatores abióticos acontecem principalmente em duas vias: a morfológica e a fisiológica. Por exemplo, uma planta que tem a mesma condição luminosa pode responder na via fisiológica com uma maior captação de CO₂ ou na via morfológica com o aumento na espessura foliar (Gianoli 2004),

um estudo realizado com três espécies de árvores de cacau evidenciou uma resposta morfológica da *Genipa americana* em condições de maior radiação solar foi um maior crescimento do caule (Oliveira *et al.*, 2010). Outro estudo focado na fisiologia de folhas de *Hibiscus pernambucensis* evidenciou que a eficiência energética em termos de captação de CO₂ foi menor em áreas com maior radiação solar (Lima *et al.*, 2010).

As plantas podem ter diversas respostas morfológicas para as variações luminosas que podem ser observadas nas folhas, no caule, nas raízes ou nos frutos (Pigliucci & Preston 2004). Vários estudos sobre plasticidade morfológica em plantas têm demonstrado que sob menor quantidade de luz, a área foliar se expande e a espessura foliar diminui (Gianoli 2004; Lopes 2012; Molina-Montenegro *et al.*, 2012). Um deles é um experimento com *Brachiaria decumbes* e *Arachis pintoi*, as quais tiveram uma maior área foliar e uma menor espessura foliar em condições de sombra, comprovando a plasticidade morfológica em baixas intensidades luminosas (Gobbi *et al.*, 2011).

Com o aumento da área foliar, também pode aumentar o risco de herbivoria pela diminuição dos instrumentos de defesa das plantas, como os tricomas. Trabalhos como de Nascimento *et al.*, (2008) sugeriram que as folhas com maior pilosidade têm

maior vantagem para evitar a herbivoria, e evitar a perda de água por transpiração em condições de excessiva radiação solar (Gianoli 2004; Aoyama & Mazzoni-Viveiros, 2006). Por o mencionado anteriormente, as plantas que possuem tricomas, como *Clidemia capitellata* ou pixirica, se convertem em um bom modelo de estudo, porque é um arbusto, amplamente distribuído em diferentes ambientes como bordas de floresta, clareiras e margens de rios e, além disso, possui tricomas glandulares abundantes no caule, folhas, flores e frutos (Goldenberg *et al.*, 2005).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi investigar qual é a relação entre a área foliar, a pilosidade e a herbivoria em *C. capitellata* sob diferentes condições de luz. Partindo das premissas que indivíduos de *C. capitellata* em áreas com menor intensidade luminosa têm maior área foliar e que, conforme aumenta a área foliar diminui a densidade de tricomas, a hipótese foi que indivíduos de *C. capitellata* em áreas com menor intensidade luminosa têm menor densidade de tricomas. Se a hipótese anterior for corroborada, e supondo que com menor densidade de tricomas haveria maior herbivoria, foi elaborada uma segunda hipótese de que, como consequência, indivíduos de *C. capitellata* em áreas com menor intensidade luminosa teriam maior herbivoria.

MATERIAL & MÉTODOS

Coleta de dados

O local de estudo foi o bairro Guaraú, no município de Peruíbe no litoral sul do estado de São Paulo (24°22'16.64" S 47°1'37.70"O). Foi realizada uma busca ativa de 30 indivíduos de *C. capitellata* distribuídos em oito quarteirões. Foram coletados no máximo dois indivíduos por quarteirão, com um total de 15 indivíduos em área de sombra e outros 15 indivíduos em área de luz. Em condições de luz, os indivíduos estariam expostos a uma radiação solar direta durante a maior parte do dia (lado oeste do quarteirão), e na condição de sombra os indivíduos não estariam expostos a radiação solar em nenhum momento (lado leste do quarteirão) (Figura 1).

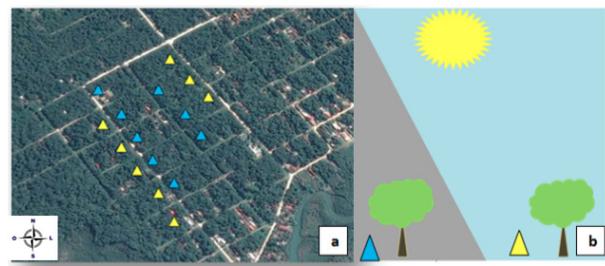


Figura 1. Mapa com pontos de coleta dos indivíduos de *C. capitellata* e exemplo de ambientes com diferentes condições de luz a) Mapa de distribuição dos pontos geográficos de coleta nos quarteirões do bairro Guaraú b) representação esquemática de um indivíduo de *C. capitellata* no ambiente de sombra (triângulos azuis) e no ambiente de luz (triângulos amarelos).

Depois de encontrar um indivíduo de *C. capitellata*, a copa do arbusto foi dividida em quatro quadrantes, depois foi sorteado o número do quadrante. Selecionado o quadrante, foi sorteado um ramo dentro do quadrante, e dentro do ramo foram coletados o primeiro par de folhas (jovens) e o terceiro par de folhas (velhas). No caso em que o ramo não tivesse o par de folhas, foi coletada a única folha e novamente foi sorteado outro ramo do mesmo indivíduo, até completar o par. Ao fim da amostragem, foram coletadas 120 folhas no total, 60 folhas para cada ambiente.

Para calcular a área foliar, foi utilizado o programa ImageJ®, para o qual foi necessário ter uma foto de cada folha. Para estimar a densidade de tricomas, foi contado o número de tricomas em uma área de 4mm² próxima à nervura central (Barreto *et al.*, 2016), e daí dentro de cada par de folhas, uma vez se contou a densidade na margem central direita e na outra folha na margem central esquerda próxima à nervura central.

Para calcular o índice de herbivoria, foi utilizado o programa ImageJ®, para o qual foi necessário ter a medida prévia de área total da folha e depois calcular a área consumida da folha. Finalmente, para obter o índice de herbivoria, a medida da área foliar consumida foi dividida pela área foliar total, para realizar todos os cálculos, se fez a média do par jovem e a média do par velho em todas as variáveis para cada indivíduo.

Teste de premissas

Antes de testar as hipóteses, foram realizados dois testes de premissas. Para testar a premissa que a área foliar é maior no ambiente de sombra desde que a folha é jovem e até sua maturidade, foram realizadas duas comparações, uma entre as folhas jovens em cada ambiente e outra entre as folhas velhas em cada ambiente. A estatística de interesse foi a diferença entre as médias da área foliar dos ambientes de sombra e luz. Em nos dois casos, foi simulado um cenário nulo com 5500 permutações, considerando que não existia diferença entre os ambientes para área foliar.

Para testar a premissa de que quanto maior área foliar há uma menor densidade de tricomas, foi testado se existe uma menor densidade de tricomas nas folhas velhas que nas folhas jovens nos dois ambientes. A estatística de interesse foi a média das diferenças da densidade de tricomas entre as duas idades foliares para cada indivíduo independentemente do ambiente. Neste caso, foi simulado um cenário nulo com 5500 permutações, considerando que não existia diferença entre as idades foliares para a densidade de tricomas.

O cálculo da densidade de tricomas teve como objetivo determinar se em cada ambiente a densidade de tricomas diminuía com a idade foliar e comparar posteriormente os dois ambientes. Partindo de duas perspectivas i) as folhas jovens de *C. capitellata* brotam com o mesmo número de tricomas nos dois ambientes, e a densidade diminui com o aumento da área foliar na sombra ii) as folhas jovens de *C. capitellata* que estão no ambiente de luz nascem com maior número tricomas (Ver Anexo 1).

Teste de hipóteses

Para testar a previsão da primeira hipótese de que o ambiente de sombra tem uma menor densidade de tricomas que o ambiente de luz, a estatística de interesse foi a diferença das médias da densidade de tricomas de todas as folhas entre os dois ambientes. Foi simulado um cenário nulo com 5500 permutações, considerando que não existia diferença na quantidade de tricomas entre ambientes.

Para testar a previsão da segunda hipótese de que no ambiente de sombra tem uma maior herbivoria devido a baixa densidade de tricomas, a estatística de interesse foi a diferença das médias de herbivoria para todas as folhas entre os dois ambientes.

Foi simulado um cenário nulo com 10000 permutações, considerando que não existia diferença entre os ambientes para a herbivoria.

Para realizar as duas análises de premissas e hipóteses, foi utilizado os pacotes Rsampling e Shiny (Prado *et al.*, 2016; Chang *et al.*, 2015) do programa R (R Core Team, 2016).

RESULTADOS

Teste de premissas

A área foliar dos indivíduos de *C. capitellata* para as folhas jovens variou de 18,54 a 198,64 cm² e de 12,12 a 48,01 cm². Para as folhas velhas variou de 20,01 a 202,01 cm² e de 50,41 a 140,46 cm². As áreas foliares foram maiores para as duas idades foliares nos dois ambientes, a folha jovem da sombra teve quase o duplo da área da folha jovem da luz ($p=0$) e a diferença nas folhas velhas teve quase a mesma magnitude ($p=0,005$; Figura 2).

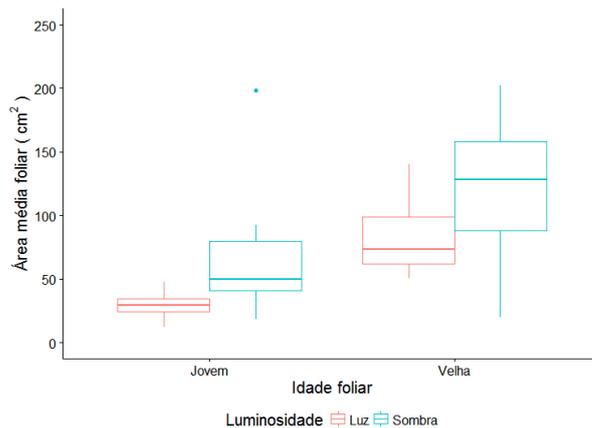


Figura 2. Comparação entre a área foliar média (cm²) em relação à idade foliar (jovem e velha) nos dois ambientes (luz e sombra). As caixas indicam o desvio padrão. As linhas horizontais centrais das caixas são as médias da área foliar média e as linhas verticais são os valores máximos e mínimos dentro de cada idade foliar. Os pontos fora das caixas são os valores discrepantes. O asterisco significa um valor estatístico de $p \leq 0,005$.

A densidade de tricomas nos indivíduos de *C. capitellata*, para o ambiente de luz em folha jovem variou de 13 a 38 tricomas/mm² e em folha velha variou de 8 a 17 tricomas/mm². Para o ambiente de sombra em folha jovem variou de 9 a 26 tricomas/mm² e em folha velha variou de 5,5 a 15 tricomas/mm². A densidade média de tricomas diminuiu das folhas jovens para as velhas ($p=0$; Figura 3).

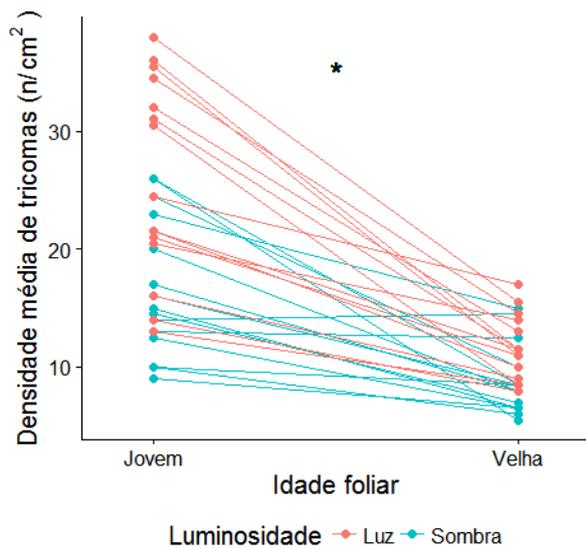


Figura 3. Comparação entre a densidade média de tricomas (cm^2) em relação à idade foliar (jovem e velha) nas diferentes condições de luminosidade (luz e sombra). As linhas conectam um par do mesmo indivíduo e os pontos são o valor médio de uma folha. O asterisco significa um valor estatístico de $p \leq 0,005$.

Teste de hipóteses

A densidade de tricomas em *C. capitellata* nos dois ambientes foi diferente, as folhas jovens e velhas do ambiente com luz tiveram médias de densidade mais altas que as médias para as folhas jovens e velhas do ambiente de sombra ($p=0,004$; Figura 3).

O índice de herbivoria em *C. capitellata*, para o ambiente de luz nas folhas jovens variou de 0 a 0,016 e nas folhas velhas variou de 0 a 0,028 e para o ambiente de sombra, as folhas jovens variaram de 0 a 0,09 e nas folhas velhas variaram de 0 a 0,14. Em comparação, o ambiente de luz foi menor que para o ambiente de sombra ($p=0,015$; Figura 4).

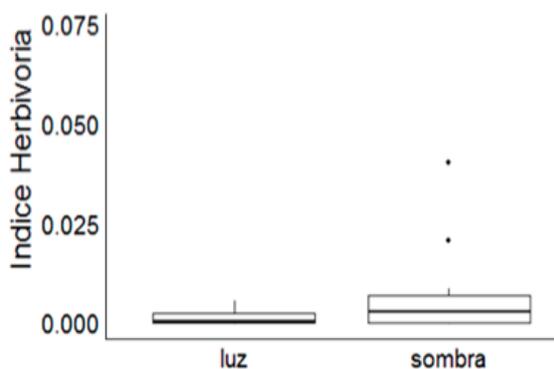


Figura 4. Comparação do índice de herbivoria em cada ambiente. As caixas indicam o desvio padrão. As linhas horizontais centrais das caixas são as médias do índice de herbivoria e as linhas verticais são os valores máximos dentro de cada ambiente. Os pontos fora das caixas são os valores discrepantes.

DISCUSSÃO

Neste trabalho, o objetivo foi investigar qual é a relação entre a área foliar, pilosidade e a herbivoria em *C. capitellata* sob diferentes condições de luz. Segundo o esperado, a tendência foi que a área foliar é maior no ambiente de sombra desde que a folha é jovem até sua maturidade. Além disso, foi encontrada uma menor densidade de tricomas nas folhas velhas que nas folhas jovens para cada indivíduo independente do ambiente. A hipótese de que a densidade de tricomas é diferente em cada ambiente foi comprovada. Sendo que no ambiente com luz teve uma maior densidade de tricomas quando comparado com o ambiente de sombra, e a hipótese para índice de herbivoria foi comprovada, dado que, foi encontrado que a herbivoria foi maior na sombra.

Os indivíduos de *C. capitellata* têm uma maior área foliar tanto nas folhas jovens como nas folhas velhas no ambiente de sombra. Em relação à diferença encontrada para área foliar na sombra, é possível sugerir que a variação morfológica nas folhas de *C. capitellata* é influenciada pela necessidade de capturar maior energia luminosa para realizar fotossíntese. Esta resposta a necessidade de luz pode gerar em *C. capitellata* a vantagem adaptativa de colonizar novos ambientes onde a escassez de luz não vai ser um limitante (Gianoli 2004). Dado isto, é possível inferir que o principal mecanismo responsável pela variação na morfologia foliar, espessura e variação nos indumentos como tricomas nas plantas é a mudança da radiação solar devido à escassez ou excesso de energia luminosa (Gonoring 2012; Raven 2013).

Devido à alta densidade de tricomas (38 tricomas/mm^2) que as folhas no ambiente de luz em *C. capitellata* possuem, posso inferir que na sombra a planta não investe no aumento de tricomas, provavelmente por que a principal necessidade é captar energia luminosa, e os tricomas geram reflexão da luz (Gianoli 2004). Neste caso, *C. capitellata* tem um maior investimento na produção de tricomas no ambiente de luz porque, ao estar mais exposta ao sol, é mais susceptível a perder água por evapotranspiração ou por aquecimento foliar excessivo. Além disso, ao gerar mais tricomas tem a possibilidade de refletir cerca de 50% da radiação solar (Aoyama & Mazzoni-Viveiros 2006; Lüttge 2008; Raven 2013). Segundo os resultados, pode haver duas possibilidades para ter mais tricomas no ambiente de luz: uma seria ter plasticidade não só evidenciada na variação foliar, mas também na densidade de tricomas, e portanto é possível que a produção de tricomas seja maior no ambiente de

luz desde seu estágio inicial até sua maturidade (folhas jovens), porque precisa manter água na folia ou a outra possibilidade seria produzir números equivalentes de tricomas nos dois ambientes e variar esta densidade na área foliar.

A expansão da área foliar e a baixa densidade de tricomas na sombra pode gerar uma facilidade na mobilidade dos herbívoros nas folhas velhas. Estudos como o de Biral (2012) e Barbosa *et al.* (2010) observaram que existe uma preferência dos herbívoros por folhas com menos tricomas. Devido aos resultados encontrados, é razoável supor que *C. capitellata*, ao diminuir a densidade de tricomas com o aumento da área foliar, pode estar sujeita a maior pressão de herbivoria, porque deixa áreas foliares desprovidas de defesa. Deste modo, posso sugerir que a variação na morfologia foliar de *C. capitellata* nos dois ambientes pode gerar uma vantagem para captar mais luz, mas ao mesmo tempo estar mais exposta ao ataque por parte de herbívoros.

Em síntese, os resultados indicam que a captação de luz é a principal razão pela qual a área foliar e a densidade de tricomas em *C. capitellata* têm variação nos dois ambientes. Por outra parte, os indivíduos de *C. capitellata* do ambiente de luz provavelmente tiveram um maior investimento na produção de tricomas para proteção contra a evapotranspiração e para proteção contra herbivoria. Em relação à densidade de tricomas em indivíduos de *C. capitellata* nos dois ambientes, foi evidenciado que a atividade de herbivoria nas folhas que tem menos tricomas é maior, neste caso a herbivoria foi maior nos indivíduos de *C. capitellata* que estão na sombra.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente ao Billy e a Diana pela orientação e ajuda no desenvolvimento do manuscrito, ao Adrian pela ajuda com as gráficas e pelas críticas e sugestões ao longo do curso, ao Pietro, Gabriel e Murillo pelas dicas com o ImageJ, ao Paulo pelas análises estatísticas, ao Glauco, a Dri, a Rena, e a Paula por seus abraços e conselhos quando os necessitei, a Leti, a Cami, a Vini, a Biffi, a Rena, a Lousse, a Kiss, a Luanne, a Lygia, Andrés e a todos os colegas com os quais compartilhei boa parte do meu tempo, em todo este processo de aprendizado.

REFERÊNCIAS

- Aoyama, E. M & S. C. Mazzoni-Viveiros. 2006. *Adaptações estruturais das plantas ao ambiente*. Instituto de Botânica. Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, São Paulo.
- Barbosa, J.M.; D. Goedert; M.B. Santos; M. Loiola & T.K. Martins. 2010. Tricomas glandulares conferem defesa contra herbivoria em *Clidemia* sp. (Melastomataceae). Em: *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.
- Barreto, C.; G. Kayano.; P. Pollo & Reis, V. 2016. Herbivoria e defesa induzida em uma espécie de Melastomataceae com tricomas glandulares. Em: *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.
- Chang, W.; J. Cheng.; J.J. Allaire.; Y. Xie & J. McPherson. 2015. Shiny: Web Application Framework for R. R package version 0.12.1. <https://CRAN.R-project.org/package=shiny>.
- Gianoli, E. 2004. Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas, pp. 13-25. Em: *Mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas*. (Hernán Marino Cabrera, eds). Valparaíso-Chile.
- Gobbi, K.; R. García.; M. Contin.; A. Garcez & G. Cipriano. 2011. Área foliar específica e anatomía foliar quantitativa do capim-braquiária e do amendoim-forrageiro submetidos a sombreamento. *Revista brasileira de Zootecnia*. 40(7):1436-1444.
- Goldenberg, R.; C.M. Fogaça & H.B. Dequech. 2005. *Clidemia*, *Ossaea* e *Pleiochiton* (Melastomataceae) no estado do Paraná, Brasil. *Hoehnea*. 32(3): 453-466
- Gonoring, M. 2012. Plasticidade fenotípica de plantas jovens de *Handroanthus chrysothrichus* (Mart. ex DC.) Mattos (Bignoniaceae) em resposta a radiação solar. Teses de Mestrado. Universidade Federal de Espírito Santo. 91 pp.
- Lima, A.; H. Cavalheri.; T. Martins.; T. Vieira & M. M. Pires. 2010. Plasticidade fenotípica fisiológica em *Hibiscus pernambucensis* (Malvaceae). Em: *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.

- Lopes, J. 2012. Plasticidade na espessura entre folhas de sol e de sombra em árvores de borda. Em: *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. 2008. *Physiological Ecology of Tropical Plants*. Springer. Berlin.
- Molina-Montenegro, M.; C. Torres-Díaz.; F. Carrasco-Urra.; L. A. González-Silvestre & E. Gianoli. 2012. Plasticidad fenotípica en dos poblaciones antárticas de *Colobanthus quitensis* (Caryophyllaceae) bajo un escenario simulado de cambio global. *Gayana Botánica*. 69(1):152-160.
- Nascimento, M.; G. N. Corte.; P.H. Valdujo & T. B. Guedes. 2008. *Pilosidade e espessura de folhas em ambientes sob diferentes incidências de luz na restinga*. Em: *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.
- Oliveira, M.; M. Schramm.; A. Oliveira.; S. França.; A-A. Furtado & F. Pinto. 2010. Growth and phenotypic plasticity of three woody species with potencial use in agroforestry systems. *Scientia Forestalis*. 38(87): 527-534.
- Pigliucci, M & K. Preston. 2004. *Phenotypic Integration: Studying the Ecology and Evolution of complex phenotypes*. Oxford University Press. New York.
- Pigliucci, M. 2001. *Phenotypic Plasticity*. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, Maryland.
- Prado, P.; A. Chalom & A. Oliveira. 2016. Rsampling: Ports the Workflow of "Resampling Stats" Add-in to R. R package version 0.1.1.
- R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Raven, E & S. R. Eichhorn. 2013. *Biology of Plants*. The Bridgeman Art Library International. United States of America.