



A susceptibilidade da planta a danos foliares varia de acordo com a disponibilidade de recursos no solo

Karina Camos Tisovec Dufner

RESUMO: Plantas são recursos para várias espécies de herbívoros, dos quais se protegem usando diferentes defesas. A defesa induzida envolve a produção de compostos químicos em resposta a danos. A co-ocorrência de inimigos diferentes poderia aumentar a resposta da defesa induzida, diminuindo assim a susceptibilidade da planta. O objetivo deste trabalho foi investigar como a disponibilidade de recursos para a planta influencia sua susceptibilidade a danos foliares, através da co-ocorrência entre diferentes fitófagos. Calculei um índice de sobreposição a partir da área danificada por cada fitófago em folhas de *Laguncularia racemosa* crescendo em solos pobres e ricos em nutrientes. Nos locais de solo pobre, plantas sofreram menos danos e a co-ocorrência dos diferentes fitófagos foi menor. Isso reforça a importância da defesa induzida específica em ambientes com poucos recursos. Tais mudanças nos mecanismos de defesa da planta modulam indiretamente interações na comunidade de espécies que as usam como recurso.

PALAVRAS-CHAVE: alocação de recursos, defesa induzida, herbivoria, hipótese da disponibilidade de recursos, patógenos foliares, patologias vegetais

INTRODUÇÃO

Plantas servem de recurso para muitas espécies e, portanto, interagem antagonisticamente com cada uma delas. Vertebrados, insetos herbívoros e até microrganismos patogênicos podem ser considerados como inimigos naturais das plantas (Agrios, 2005; Pieterse & Dicke, 2007). Pressões seletivas impostas pelas espécies antagonistas moldaram diferentes estratégias de defesa nas plantas (Walters, 2011). Dentre as estratégias empregadas pelas plantas contra seus inimigos incluem-se defesas estruturais (e.g., tricomas, cutícula espessa), bióticas (e.g., associações com formigas) e também uma gama de compostos químicos (e.g., taninos e fenóis) (Agrawal & Rutter, 1998; Lambers *et al.*, 2008).

A maioria dos compostos usados como defesa nas plantas são metabólitos secundários, os quais podem ser produzidos como resposta a agentes que causaram algum tipo de dano, através de um mecanismo conhecido como defesa induzida (Lambers *et al.*, 2008). A defesa induzida das plantas se assemelha a uma resposta imune, reduzindo a preferência e desenvolvimento dos agentes danosos e contrapondo-se às estratégias de defesa constitutivas (Karban & Baldwin, 1997; Agrawal, 1998). Vários estudos têm mostrado que a indução da defesa química engloba uma cadeia complexa de eventos, envolvendo várias fases. As diferentes

etapas da defesa induzida incluem: (i) o reconhecimento do dano mecânico ou necrose causados pelo herbívoro ou patógeno, (ii) a ativação de vias de cascatas de sinalização que propagam o sinal até células específicas e (iii) a produção de compostos defensivos (Agrios, 2005; Pieterse & Dicke, 2007; Walters & Heil, 2007).

A magnitude na indução de defesas químicas pode aumentar quando diferentes espécies de inimigos naturais co-ocorrem, levando a uma diminuição da susceptibilidade da planta a danos futuros (Walters & Heil, 2007). Sem essa amplificação de defesas, as interações entre as diferentes espécies de inimigos podem aumentar a susceptibilidade da planta a novos danos. Exemplos de correlações positivas entre herbívoros e patógenos podem ser encontrados quando a herbivoria ou espécies de fungos facilitam a entrada de microrganismos patogênicos na planta, através da exposição de tecidos vegetais internos (Al-Naimi *et al.*, 2004). É razoável supor que a magnitude das respostas induzidas nas plantas perante múltiplas espécies antagonistas seja maior em ambientes com recursos mais limitados, já que nesses ambientes os custos associados aos danos das estruturas vegetais são mais altos. Contudo, a planta não pode manter sua defesa sempre nos níveis máximos, pois existem custos associados que podem, por exemplo,

diminuir as taxas de crescimento quanto há um aumento na resistência contra insetos e patógenos (Walters & Heil, 2007).

Embora existam custos ecológicos e genéticos ligados aos mecanismos de defesa química da planta (Walters & Heil, 2007), o custo mais significativo decorre da alocação de recursos nas vias de produção de compostos defensivos em detrimento de investimentos no crescimento e reprodução (Lambers *et al.*, 2008). A produção de um composto contra uma espécie pode representar uma demanda conflitante na medida em que a planta deixa de produzir compostos contra outras espécies antagonistas (Felton & Korth, 2000). Além disso, a ativação da resposta induzida contra determinado tipo de inimigo pode ter efeitos negativos na via de sinalização contra outros inimigos (Walters & Heil, 2007; Lambers *et al.*, 2008). Só é vantajoso para a planta investir em uma defesa específica quando os custos da produção dos metabólitos secundários forem menores que as perdas impostas pelos herbívoros e patógenos. Esse balanço entre custos e benefícios dos mecanismos de defesa empregados pode mudar se existe uma variação ambiental na disponibilidade de recursos para as plantas. Segundo a Hipótese da Disponibilidade de Recursos, em ambientes com recursos limitados, a perda de uma folha por herbivoria ou por doenças significa um prejuízo mais severo ao balanço energético da planta, de modo que sob essas condições a planta deveria investir mais em defesa (Janzen, 1974; Coley & Barone, 1996).

Neste estudo investiguei como a disponibilidade de recursos para as plantas influencia sua susceptibilidade a danos através da co-ocorrência entre diferentes inimigos naturais. Espero que em ambientes com solos pobres em nutrientes, além dos danos gerais em folhas serem menores, também seja encontrado um menor grau de co-ocorrência entre tipos distintos de fitófagos (aqui definidos genericamente como insetos herbívoros e/ou microrganismos consumidores de vegetais).

MATERIAIS & MÉTODOS

Área de estudo e coleta de dados

Realizei este trabalho em Julho de 2016, durante a IX edição do Curso de Campo da Mata Atlântica. A área de estudo engloba um manguezal próximo

à praia do Guaraú (-24°22,396', -047°01,150') localizado dentro da Área de Proteção Ambiental Cananéia-Iguape-Peruíbe (APA-CIP), no litoral sul do estado de São Paulo. Para avaliar como a disponibilidade de recursos para a planta influencia a ocorrência de diferentes tipos de fitófagos, amostréi folhas de indivíduos de *Laguncularia racemosa* L. (Combretaceae) (mangue-branco) crescendo em dois ambientes distintos de um mesmo mangue. Um dos ambientes é caracterizado por ter um solo mais rico em nutrientes para as árvores. No outro ambiente, conhecido como mangue-anão, o solo tem uma composição mais arenosa levando a uma menor disponibilidade de recursos e baixa produtividade das árvores (Feller, 1995; Naidoo, 2006). As duas áreas do mangue foram consideradas como representantes de ambientes contrastantes quanto à disponibilidade de recursos para a planta.

Delimitei dois transectos paralelos ao rio Guaraú com 50 metros de comprimento, sendo um no solo pobre em nutrientes e o segundo no solo rico. Ao longo desses transectos selecionei 10 indivíduos de *L. racemosa*, mantendo uma distância mínima entre eles de cerca de cinco metros, de modo que as copas das árvores amostradas não se tocassem. Para cada indivíduo selecionado coletei cinco folhas da parte superior da copa e outras cinco da parte inferior, controlando assim um possível viés gerado pela variação no gradiente vertical da copa. Para selecionar quais folhas seriam amostradas, partindo da base do tronco, fiz uma coleta aleatória sorteando apenas um dos ramos sempre que havia uma bifurcação, até o sorteio de apenas uma folha no ramo.

Analisei cada folha quanto ao tipo e nível de dano causado por diferentes inimigos naturais. Como tipos de inimigos considereí indícios de atividade de dois sub-grupos de herbívoros, os exófagos classificados em duas categorias (mastigadores e raspadores) e os endófagos também em duas categorias (minadores e um tipo não identificado, possivelmente um ácaro, mas que denominei apenas de morfotipo, Figura 1a-d). Como um segundo grupo, considereí a categoria dos fungos (Figura 1e). Neste trabalho, esses cinco tipos de inimigos antagonistas são considerados como representantes de fitófagos, em um sentido amplo do termo, como agentes que causam danos foliares. Para avaliar o nível do dano contabilizei a área ocupada por cada tipo de fitófago, utilizando como referência uma grade com quadrados de 5mm x 5mm (25mm², Figura 1f).

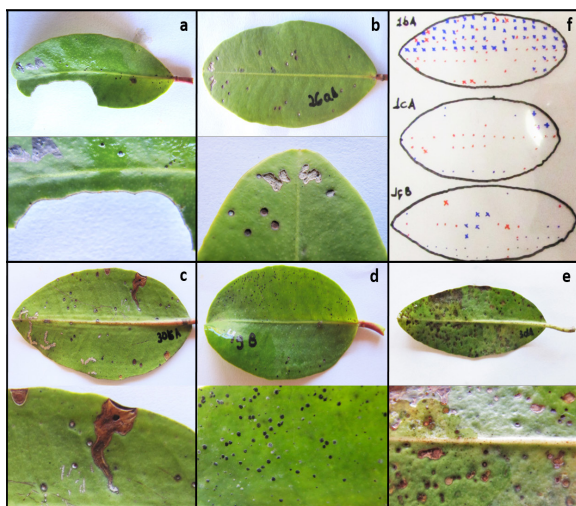


Figura 1. Exemplos de fotos gerais e aproximadas das folhas de *Laguncularia racemosa* amostradas com os cinco tipos de fitófagos e o método de contagem da área danificada. Tipos de fitófagos: (a) mastigador, (b) raspador, (c) minador, (d) morfotipo e (e) fungo. (f) Desenho em transparência das folhas com os símbolos de cada tipo de fitófago presente.

Análise dos dados

Para cada folha considerei o nível de dano como a área ocupadas pelo fitófago na folha (FF) dividido pela área total da folha (TF). Como área total de ocorrência do fitófago somei a área ocupada em todas as folhas (FT) nas quais aquele fitófago apareceu para os dois ambientes separadamente. Análises exploratórias mostraram que as proporções de área afetada pelos diferentes fitófagos, de forma geral, não são diferentes entre os estratos da copa nos dois ambientes (Anexo 1). Por isso, não foi necessário fazer as análises ponderando pelo fator do estrato da copa.

Considerando que a folha é um recurso para os fitófagos, calculei o índice de sobreposição (IS) de uso de Bray-Curtis para esse recurso, para cada par de fitófagos, como:

$$IS = \sum_{i=1}^N \min(x_i, y_i)$$

Onde x_i e y_i são as proporções da área total (FF/FT) ocupada pelos fitófagos x e y na folha i . N é o número total de folhas. Calculei o IS para cada

par de fitófagos (*i.e.*, as combinações entre mastigador, raspador, minador, morfotipo e fungo), nos dois ambientes. O IS pode ser utilizado para inferir o quanto os diferentes tipos de fitófagos coexistem e assim o quanto poderiam influenciar a susceptibilidade da folha aos diferentes danos. O valor de IS pode variar de zero a um, representando pares de fitófagos que não têm nenhuma coincidência quanto ao uso da folha até pares que utilizam exatamente da mesma maneira o recurso (*i.e.*, co-ocorreram). Tenho como expectativa que os valores de IS para todos os pares de fitófagos sejam menores nos indivíduos de *L. racemosa* que crescem no trecho do mangue com solo pobre em nutrientes.

Em seguida, calculei a diferença dos valores de IS dos ambientes pobre e rico em nutrientes de forma pareada para as dez combinações possíveis de fitófagos. Comparando a média dessas diferenças com uma distribuição gerada sob o cenário nulo, no qual não há efeito da disponibilidade de nutrientes sobre a susceptibilidade da planta, é possível testar a hipótese alternativa. Para gerar essa distribuição nula usei uma permutação com 10.000 rodadas trocando os valores de IS dos pares de fitófagos entre os ambientes pobre e rico em nutrientes. A hipótese de que no ambiente com menos recursos a co-ocorrência entre fitófagos ser menor pode ser corroborada caso a frequência da MD observada não ocorrer mais de 5% das vezes.

RESULTADOS

Dentre as 200 folhas analisadas (*i.e.*, 100 para cada ambiente), apenas uma delas não apresentou indícios de atividade dos fitófagos e estava presente no mangue com alta disponibilidade de recursos no solo. O fitófago responsável pela maior área danificada foi o fungo, seguido pelo morfotipo não identificado de endófago (Tabela 1). Apenas o raspador afetou uma área maior no ambiente de solo pobre (Tabela 1). A análise da área total danificada pelo conjunto dos cinco fitófagos confirmou que na média as árvores do mangue de solo pobre são menos afetadas pelas espécies antagonistas (-0,094, $p = 0,015$; Figura 2). O IS dos pares de fitófagos foi em média -0,049 ($p = 0,016$) menor no mangue com o solo pobre (Figura 3). Apenas a interação entre fungo e raspador apresentou o sentido contrário ao esperado (Figura 3).

Tabela 1. Porcentagem da área danificada por cada tipo de fitófago considerando a área total de folhas nos ambientes pobre e rico em nutrientes para indivíduos de *Laguncularia racemosa* (n = 200).

Área danificada por cada tipo de fitófago (%)					
Ambiente	Mastigador	Raspador	Minador	Morfotipo	Fungo
Solo pobre	0,9	1,57	0,75	6,18	18,87
Solo rico	2,41	0,91	2,59	6,46	25,42

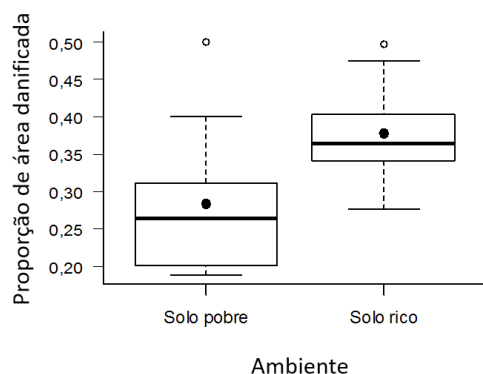


Figura 2. Proporção da área danificada considerando o conjunto de folhas para cada um dos indivíduos de *Laguncularia racemosa* crescendo em solos pobres e ricos em nutrientes (n = 20). A caixa engloba metade dos valores encontrados sendo que a barra central corresponde à mediana. Os pontos cheios pretos indicam os valores das médias.

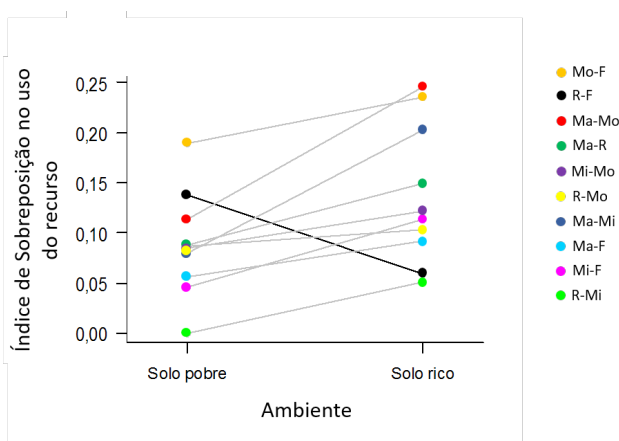


Figura 3. Valores do índice de sobreposição (IS) de uso da folha de indivíduos de *Laguncularia racemosa* para os cinco tipos de fitófagos (Ma – mastigador, R – raspador, Mi – minador, Mo – morfotipo, F – fungo) (n = 200). As linhas conectam os valores referentes ao mesmo par de interação entre os tipos de fitófagos. A linha preta indica os IS que mudaram no sentido contrário ao esperado.

DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho confirmam que em ambientes com pouca disponibilidade de nutrientes no solo plantas têm menos danos nas folhas, possivelmente por um aumento no investimento em defesa. A hipótese da co-ocorrência de fitófagos ser menor em plantas crescendo no mangue de solo pobre também foi corroborada, isso pode indicar que além de aumentar sua defesa em geral, a planta está respondendo com uma defesa induzida específica.

A teoria da defesa induzida assume que os custos da planta só se defender quando atacada (*i.e.*, custos dos danos durante a fase de resposta da planta) não ultrapassam os custos que ela teria de manter um nível constantemente alto de defesa (Walters & Heil, 2007). Essa compensação deve ser mais acentuada em condições com poucos recursos, sendo vantajoso para a planta responder rapidamente ao sofrer algum tipo de dano. Como a planta não tem muitos recursos à sua disposição sua defesa deve ser mais eficiente e uma possível demanda conflitante nos mecanismos de defesa é em relação a qual dos fitófagos essas defesas devem ser dirigidas.

Uma defesa bastante eficiente seria aquela na qual a resposta é focada a inimigos para os quais as plantas estão mais susceptíveis. Este trabalho mostrou que os fungos constituíram o grupo que mais causou danos às folhas, representando assim um inimigo importante para as plantas. Esse maior impacto pode ser agravado pelas condições de alta humidade relativa e alta temperatura que favorecem a proliferação dos fungos em mangues (Odum *et al.*, 1982). Caso a resposta induzida em plantas com restrição de recursos seja específica aos primeiros inimigos que as atacam, os tipos de compostos produzidos para defesa dependeriam da ordem de chegada dos agentes danosos. Ao focar suas defesas para o grupo inicial de inimigos a

planta acaba influenciando a co-ocorrência entre diferentes grupos de espécies inimigas.

Mudar a perspectiva de olhar pelo lado da planta, e passar a olhar pelo lado das espécies antagonísticas também pode elucidar diferentes processos que poderiam estar por trás dos padrões encontrados neste trabalho. Para a escala de um inseto ou fungo a planta pode representar um complexo conjunto de habitats com características e condições diferentes (Al-Naimi *et al.*, 2004). Embora a competição seja muito estudada em animais e plantas, ainda é pouco avaliada no contexto de patógenos (Al-Naimi *et al.*, 2004). Sabe-se que as interações entre herbívoros e outras espécies que utilizam a planta como recurso podem ser influenciadas por questões químicas e fisiológicas da própria planta (Al-Naimi *et al.*, 2004) e pelo uso do recurso por outras espécies (Sendoda, 2007). A influência da planta sobre essas interações pode ser investigada considerando como a co-ocorrência muda ao alterarem-se as condições da planta, e assim indiretamente do recurso de outras espécies, e se essas mudanças são diferentes para grupos específicos de espécies (*e.g.*, herbívoros rapadores e fungos). Um dos mecanismos de interferência indireta poderia justamente ocorrer pelas respostas induzidas diferenciais da planta que ao mudar seu fenótipo pode influenciar toda uma comunidade de espécies (Pieterse & Dicke, 2007).

O fato de praticamente todas as folhas terem tido algum grau de dano levanta a possibilidade de que, mesmo adaptadas, plantas de mangue ainda podem sofrer com o ambiente estressante. Isso faz sentido dentro da Hipótese do Estresse, segundo a qual em ambientes estressantes as plantas deixam de investir em defesa para poderem manter outros processos vitais (Janzen, 1974; Coley & Barone, 1996). Desse modo, parece que plantas de mangue apresentam tanto respostas para o estresse diminuindo de modo geral o investimento em defesa, como ainda tem outro efeito de modularem esse investimento de acordo com os nutrientes do solo.

Embora outros trabalhos já tenham mostrado como a disponibilidade de recursos pode influenciar o nível de herbivoria em plantas de restinga e do costão rochoso (Zuluaga *et al.*, 2013), poucos são os trabalhos que avaliam essas interações no ambiente de mangue (Odum *et al.*, 1982; Feller, 1995). Feller (1995), também avaliou fatores que poderiam estar relacionados a uma maior incidência de danos em *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae) e não encontrou relação com a disponibilidade de recursos, embora tenha encontrado para a altura da maré e níveis de água. Para compreender melhor os motivos que levam a esses padrões contrastantes

é preciso desenvolver novos estudos, avaliando espécies vegetais diferentes e considerando vários grupos de inimigos naturais (*e.g.*, insetos herbívoros e microrganismos patogênicos). Mais estudos também poderiam ajudar a entender porque aparentemente as plantas não se defendem tão bem no mangue, uma vez que praticamente todas as folhas apresentaram algum tipo de dano.

Este estudo mostra que existe uma interação da resposta de defesa das plantas em função da disponibilidade de nutrientes, com plantas de ambientes com poucos recursos sofrendo menos danos. A mudança nos mecanismos de defesa influencia indiretamente a comunidade de espécies que usam a planta como recurso, influenciando as interações entre elas e diminuindo a co-ocorrência de fitófagos. Assim, do mesmo modo que a interação dos inimigos naturais das plantas poderia aumentar a susceptibilidade a danos vegetais, a resposta da planta a esses perigos pode interferir na relação entre as espécies inimigas.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que ajudaram com perguntas, comentários e sugestões durante a fase de elaboração do projeto. À Adriana pela ajuda na identificação das “berebas” foliares e revisão preliminar do artigo. Ao Adrian pela enorme ajuda durante toda a coleta, análises e pela paciência nesse e nos outros projetos do curso. À Diana e à Paula pelo auxílio na contagem de quadradinhos, planilhamento dos dados e indicações de leitura. Ao Billy e ao Paulo por todo o desgaste neural e empenho em buscar a melhor forma de analisar os dados. À Letícia por me apoiar e incentivar em alguns momentos bem difíceis. E também ao Rafael e ao Zé Pedro pelas horas de sono disponibilizadas para formular os comentários e sugestões do artigo. Obrigada galera!

REFERÊNCIAS

- Al-Naimi, F.A., K.A. Garrett & W.W. Bockus. 2005. Competition, facilitation, and niche differentiation in two foliar pathogens. *Oecologia*, 143:449-957.
- Agrawal, A.A. 1998. Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science*, 279:1201-1202.
- Agrawal, A.A. & M.T. Rutter, 1998. Dynamic anti-herbivore defense in ant-plants: the role of induced responses. *Oikos*, 83:227-236.
- Agrios, G.N. 2005. *Plant pathology*. Elsevier Academic Press, Oxford.

- Coley, P.D. & J.A. Barone. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27:305-335.
- Feller, I.C. 1995. Effects of nutrient enrichment on growth and herbivory of dwarf red mangrove (*Rhizophora mangle*). *Ecological Monographs*, 65(4):477-505.
- Felton, G.W. & K.L. Korth. 2000. Trade-offs between pathogen and herbivore resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 3:309-314.
- Janzen, D.H. 1974. Tropical blackwater rivers, animals, and mast fruiting by the Dipterocarpaceae. *Biotropica*, 6:69-103.
- Karban, R. & T. Baldwin. 1997. *Induced responses to herbivory*. University of Chicago Press, Chicago.
- Lambers, H.F.; S.T. Chapin II & T.L. Pons. 2008. *Plant physiological ecology*. Springer, Nova Iorque.
- Naidoo, G. 2006. Factors contributing to dwarfing in the mangrove *Avicennia marina*. *Annals of Botany*, 97:1095-1101.
- Odum, W.E.; C.C. McIvor & T.J. Smith. 1982. *The ecology of the mangroves of South Florida: a community profile*. U.S. Fish and Wildlife Service, Washington.
- Pieterse, M.J. & M. Dicke. 2007. Plant interactions with microbes and insects: from molecular mechanisms to ecology. *Trends in Plant Science*, 12:1360-1385.
- Sendoda, A.M.C. 2007. Co-ocorrência de galha e outros danos por folívoros em guanandi, *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), da restinga arbustiva da ilha do Cardoso, litoral sul de São Paulo. Em: *Livro do curso de Campo "Ecologia da Mata Atlântica"* (G. Machado; G.S. Requena; P.I.K.L. Prado & A.M.Z. Martini, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Walters, D. & M. Heil. 2007. Costs and trade-offs associated with induced resistance. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 71:3-17.
- Walters, D. 2011. *Plant defense: warding off attack by pathogens, herbivores and parasitic plants*. Wiley-Blackwell, Singapura.
- Zuluaga, C.; D. Sartor; J. Correia, M. Sugawara e I. Silva. 2013. Herbivoria em dois ambientes com alta e baixa disponibilidade de nutrientes e água. Em: *Livro do curso de Campo "Ecologia da Mata Atlântica"* (G. Machado; G.S. Requena; P.I.K.L. Prado & A.M.Z. Martini, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.

ANEXOS

Anexo 1. Proporção de área das folhas com danos causados pelos diferentes tipos de fitófagos nos dois estratos da copa para cada ambiente de mangue. O lado esquerdo de cada gráfico apresenta os valores para a área pobre em recursos e o lado direito para a área rica em recursos. O eixo da variável dependente indica a proporção de área da folha afetada para cada fitófago e está em escalas diferentes para melhor visualização. Apenas a comparação dos fungos entre estratos no ambiente pobre foi significativa ($p = 0,006$).

