

Defesa biológica induzida em *Maieta guianensis* (Melastomataceae)

Maria Beatriz N. Ribeiro, Alison G. Nazareno, Ana Paula O. Alonso & Leonardo C. Trevelin

Introdução

Os danos foliares causados por herbívoros podem resultar em uma redução no crescimento e no sucesso reprodutivo das plantas por eles consumidas. O ataque de herbívoros às folhas provavelmente foi a pressão seletiva que conduziu à evolução de estratégias de defesa em plantas a fim de minimizar a perda de área fotossintetizante (Coley & Kursar, 1996). De forma geral, existem dois tipos de resposta das plantas ao ataque dos herbívoros: a defesa constitutiva e a induzida. A defesa constitutiva ocorre constantemente na planta e os agentes defensivos são mantidos em alta concentração nos tecidos (Ricklefs, 2001). A defesa induzida, por sua vez, ocorre ou aumenta sua intensidade na planta mediante à herbivoria (Agrawal & Dubin-Thaler, 1999). Um dos benefícios da defesa induzida para as plantas seria uma possível redução do custo energético relacionado à defesa, já que enquanto a planta não sofre herbivoria, sua energia é alocada para seu crescimento e reprodução. Por outro lado, o tempo de resposta por parte da planta pode variar de minutos até estações diferentes (Ricklefs, 2001), o que pode representar uma desvantagem para a planta em casos de ataques rápidos ou constantes de herbívoros.

Defesas químicas e físicas induzidas pela herbivoria já foram bem documentadas (ver referências em Agrawal & Dubin-Thaler, 1999) e um exemplo conhecido é o aumento de espinhos em *Acacia drepanolobium* (Leguminosae) após a herbivoria por girafas na África (Young, 1987; Milewski *et al.*, 1991). Porém, pouco se conhece sobre a presença de respostas induzidas para defesas biológicas, tais como a associação de plantas e formigas. Um dos poucos casos conhecidos é o aumento do número de formigas *Azteca* perante um dano em folhas de *Cecropia* (Urticaceae) (Agrawal & Dubin-Thaler, 1999). De acordo com Agrawal & Dubin-Thaler (1999), as formigas apresentam quatro características biológicas que podem fazê-las funcionar como defesas induzidas para as plantas: mecanismos sensoriais aguçados para detectar sinais físicos e químicos, comportamento agressivo, mecanismos de recrutamento rápido e indivíduos dispostos a dar as suas vidas para defender a colônia.

Na Amazônia brasileira existem cerca de 200 espécies de plantas que apresentam relações mutualísticas com formigas (Benson, 1985). Essas espécies, denominadas mirmecófitas, possuem em suas folhas, pecíolos ou caules estruturas especializadas que permitem o estabelecimento de colônias de formigas

(Vasconcelos & Davidson, 2000). Uma espécie mirmecófito bem estudada na Amazônia Central é *Maieta guianensis* (Melastomataceae), uma planta arbustiva que ocorre em baixios. *Maieta guianensis* apresenta relações mutualísticas com formigas da espécie *Pheidole minutula*, que encontram na planta hospedeira domáceas para seu abrigo, corpúsculos perolados e coccídeos que fornecem a elas proteína e açúcares, respectivamente (Vasconcelos, 1991). Na ausência de *P. minutula* ocorre um aumento na herbivoria em *M. guianensis*, o que apoia a hipótese de que a presença das formigas tem um efeito positivo na aptidão da planta (Vasconcelos, 1991). Além disso, o número de indivíduos de *P. minutula* que circulam pelo limbo das folhas de *M. guianensis* na ausência de herbivoria é bastante baixo (Vasconcelos, 1991). Este fato sugere que as formigas patrulham a folha com um número mínimo de indivíduos e que, possivelmente, quando ocorre um dano foliar este número aumenta devido ao recrutamento de outras operárias, assim como ocorre com as formigas *Azteca* em *Cecropia* (Agrawal & Dubin-Thaler, 1999).

O objetivo deste estudo foi responder às seguintes perguntas: (a) *P. minutula* funciona como uma defesa biológica induzida em *M. guianensis*? Nossa hipótese é que *P. minutula* aumenta sua atividade de defesa perante a ocorrência de herbivoria e nossa predição é que as formigas respondem a um dano foliar induzido com o aumento do número de operárias no limbo

da folha. (b) Caso a hipótese acima seja apoiada, a qual estímulo *P. minutula* responde após a herbivoria? Nossa hipótese é que as operárias de *P. minutula* que fazem a patrulha sobre o limbo detectam o dano foliar através de sinais químicos liberados pela folha. Nossa predição é que na presença de um extrato de folhas de *M. guianensis* o número de formigas sobre o limbo da folha aumente.

Material & métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado em agosto de 2007, na Fazenda Dimona (02°20'19"S; 60°06'09"W), área pertencente ao Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF), Amazônia Central. Indivíduos adultos de *M. guianensis* foram amostrados ao azar em uma floresta de baixio ao longo de trilhas existentes nos arredores do acampamento.

Coleta de dados

Para responder à primeira pergunta amostramos 15 indivíduos adultos de *M. guianensis*. Em cada planta escolhemos três folhas, cada uma pertencente a um ramo diferente. Em uma das folhas aplicamos o tratamento "corte", no qual cortamos a folha a 2 cm do ápice, transversalmente à sua nervura principal. Em outra aplicamos o tratamento "toque", que era um controle de procedimento, no qual pressionamos suavemente o ápice da folha

com uma pinça, sem danificá-la. A terceira folha experimental foi usada como “controle” e permaneceu intacta.

Para responder à segunda pergunta amostramos outros sete indivíduos adultos de *M. guianensis*. Em uma folha aplicamos o tratamento “extrato”, no qual pingamos uma gota de extrato foliar de *M. guianensis* a 2 cm do ápice da folha. Para fazer o extrato foliar escolhemos dois indivíduos jovens de *M. guianensis* que ainda não haviam sido colonizados por *P. minutula*. Retiramos três folhas maduras de cada indivíduo e fizemos um macerado com as folhas e 20 ml de água filtrada. Guardamos o extrato em um pote fechado para evitar que compostos voláteis fossem perdidos. Em outra folha, aplicamos o tratamento “água”, que era um controle de procedimento no qual pingamos uma gota de água filtrada a 2 cm do ápice da folha. A terceira folha experimental foi usada como “controle” e permaneceu intacta.

Os critérios de seleção das folhas experimentais em cada planta foram que elas deveriam ser novas, apresentar danos causados por herbivoria similares e não superiores a 6% e que apresentassem o mesmo número de formigas forrageando sobre o limbo foliar no tempo zero. Aplicamos todos os tratamentos ao mesmo tempo e os experimentos duraram 8 minutos. Passado este tempo, contamos o número de formigas caminhando na superfície superior da folha. A contagem de formigas operárias foi feita com distinção entre dois

tamanhos facilmente perceptíveis, grande e pequeno. Operárias grandes só saem da domécea para carregar presas grandes capturadas na folha ou defender a colônia (G. Machado, com. pess.), funcionando como um indicativo adicional do processo de defesa da planta pelas formigas.

Analisamos os dados de ambos os experimentos com uma ANOVA de um fator em blocos, na qual cada indivíduo de *M. guianensis* representou um bloco e o fator era, no caso do primeiro experimento, a simulação do dano, que ocorreu em três níveis: o “corte” efetivo da folha, o “toque” simulando apenas a perturbação física da folha e o “controle”, no qual nada era alterado. No caso do segundo experimento, novamente tínhamos um fator (estímulo químico) em três níveis: extrato de *M. guianensis*, água destilada e o “controle” (Zar, 1984).

Resultados

A simulação de dano foliar em *M. guianensis* induziu um aumento no número de operárias de *P. Minutula* sobre as folhas. O número de indivíduos de *P. minutula* sobre o limbo da folha ao final do primeiro experimento foi significativamente maior no tratamento “corte” e não apresentou diferença significativa entre o tratamento “toque” e o “controle” ($F_{2,28} = 30,40$; $P < 0,001$; Figura 1). Além disso, a resposta das formigas ao dano foliar foi devido a um estímulo químico, já que o número de formigas no limbo da

folha ao final do segundo experimento foi significativamente maior no tratamento "extrato" do que no tratamento "água" e no controle ($F_{2,12} = 71,51$; $p < 0,001$; Figura 2).

Aparentemente, o comportamento de *P. minutula* após a simulação do dano foliar e a adição do extrato de *M. guianensis* não foi diferente para ambos os tratamentos. Após aproximadamente alguns minutos, a operária de *P. minutula* que estava patrulhando o limbo da folha de *M. guianensis* detectava a região onde

estava o dano ou o extrato foliar. Em seguida, a operária retornava à domécea e outras operárias surgiam e se deslocavam até a região do dano ou do extrato foliar. Observamos também que em 60% das plantas do experimento de dano foliar ($n = 15$) apareceram operárias grandes nas folhas onde aplicamos o tratamento "corte" e o mesmo padrão foi observado em 43% das plantas do segundo experimento ($n = 7$) nas folhas onde aplicamos o tratamento "extrato".

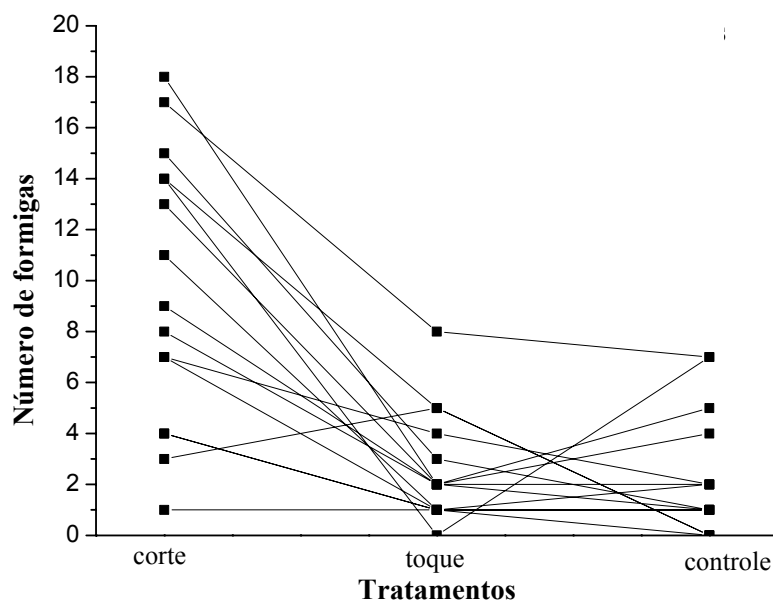


Figura 1. Número de formigas de *Pheidole minutula* 8 min após a aplicação dos tratamentos "corte", "toque" e "controle" em cada indivíduo de *Maqueta guianensis*. Os pontos interligados por linhas são equivalentes a um bloco (indivíduo).

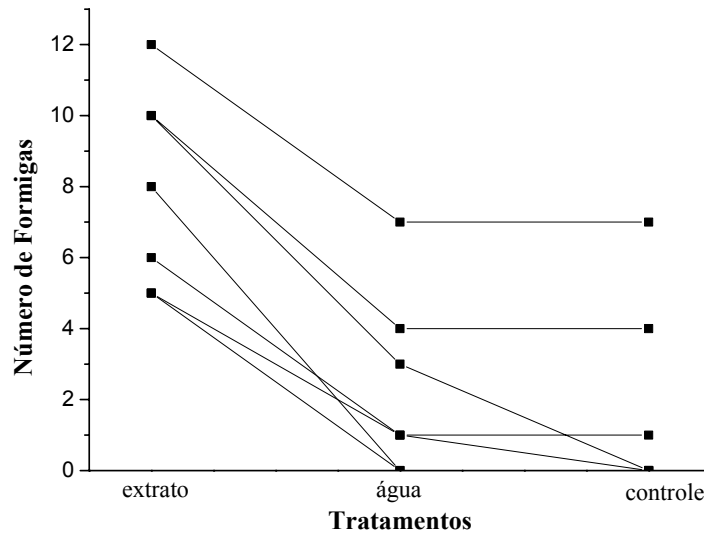


Figura 2. Número de formigas de *Pheidole minutula* 8 min após a aplicação dos tratamentos "extrato", "água" e "controle" em cada indivíduo de *Maieta guianensis*. Os pontos interligados por linhas são equivalentes a um bloco (indivíduo).

Discussão

O principal objetivo deste estudo foi testar se *P. minutula* atua como uma defesa biológica induzida em *M. guianensis*. Nossa hipótese de que as formigas aumentam sua atividade de defesa perante a ocorrência de herbivoria foi corroborada, já que perante uma simulação de dano foliar as formigas responderam caminhando sobre a folha em maior número do que quando a folha estava intacta. Outro objetivo do trabalho foi testar se as formigas eram atraídas quimicamente até o local do dano, o que parece ser verdade, já que seu número só aumentou sobre o limbo da folha no tratamento com estímulo químico (extrato de *M. guianensis*).

Vasconcelos (1991) mostrou que a mortalidade de indivíduos de *M. guianensis* cujas

colônias de *P. minutula* foram experimentalmente removidas era muito mais alta que em plantas colonizadas. Entretanto, o trabalho não demonstrou como o processo de defesa ocorre. Nosso trabalho contribui para a compreensão do mutualismo / e provê informações sobre como a defesa da planta pelas formigas acontece. Na ausência de herbivoria, as operárias de *P. minutula* realizam o patrulhamento da folha em uma ação constante, porém com um número pequeno de indivíduos (entre 1 e 5 ao longo do dia, segundo Vasconcelos, 1991). Quando ocorre o dano foliar, a planta libera compostos químicos e, quando uma operária detecta o dano durante sua patrulha, ela volta para a domécea e parece recrutar as outras operárias, que, então, se dirigem até o local do dano. É importante ressaltar que apenas nos tratamentos que simularam dano foliar apareceram operárias

grandes, que só saem da domácea para carregar animais mortos na folha ou defender a colônia (G. Machado, com. pess.). Por isso, podemos inferir que o fato dessas formigas se deslocarem para local do dano é uma evidência de que há uma ação de defesa ocorrendo no local.

A resposta das formigas perante um dano atua como uma defesa induzida em *M. guianensis*. Durante o tempo de resposta das formigas à herbivoria, a planta é danificada e não se beneficia de seu sistema de defesa. Esse atraso entre indução e resposta é bastante conhecido quando se trata de defesa química induzida e sabe-se que o atraso pode durar minutos ou mesmo dias (Ricklefs, 2001). No entanto, é importante ressaltar que, ao contrário do que ocorre no caso de defesas físicas e químicas induzidas, aparentemente a manutenção da colônia de formigas representa um custo constante para a planta, já que a produção de corpúsculos perolados e a manutenção dos coccídeos devem ocorrer independentemente do dano. Portanto, ao mesmo tempo que as formigas funcionam como uma defesa induzida, o gasto energético de *M. guianensis* com a defesa parece ser constante, como ocorre para a defesa constitutiva.

Finalmente, a relação mutualística entre *M. guianensis* e *P. minutula* parece ser obrigatória, já que a herbivoria sobre a planta aumenta muito na ausência da formigas (Vasconcelos, 1991). Além disso, as formigas se alimentam quase que exclusivamente de

corpúsculos perolados produzidos pela planta e de substâncias açucaradas liberadas por coccídeos que vivem nas domáceas (Vasconcelos, 1991). Sugerimos que estudos futuros avaliem se o composto químico ao qual *P. minutula* responde é espécie-específico. A especificidade do composto químico poderia ser testada comparando-se a resposta de *P. minutula* a compostos produzidos a partir de folhas de diferentes espécies de Melastomataceae.

Referências bibliográficas

- Agrawal, A.A. & B.J. Dubin-Thaler. 1999. Induced responses to herbivory in the Neotropical ant-plant association between *Azteca* ants and *Cecropia* trees: response of ants to potential inducing cues. *Behaviour Ecology and Sociobiology*, 45: 47-54.
- Benson, W.W. 1985. Amazon ant-plants, pp. 239-266. In: *Amazônia* (G.T. Prance & T.E. Lovejoy, eds.) Pergamon Press, New York.
- Coley, P.D. & J.A. Barone. 1996. Herbivory and plant defenses. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27: 305-335.
- Coley, P.D. & T.A. Kursar. 1996. Anti-herbivore defenses of young tropical leaves: physiological constraints and ecological tradeoffs, pp. 305-336. In: *Tropical forest plant ecophysiology* (R.L. Chazoy, ed.). University of Utah, Salt Lake City.

- Milewski, A.V.; T.P. Young & D. Madden. 1991. Thorns as induced defenses: experimental evidence. *Oecologia*, 86: 70-75.
- Ricklefs, R.E. 2001. *The economy of nature*. Freeman and Company, New York.
- Vasconcelos, H.L. 1991. Mutualism between *Maieta guianensis* Aubl., a myrmecophytic melastome, and one of its ant inhabitants: ant protection against insect herbivores. *Oecologia*, 87: 295-298.
- Vasconcelos, H.L. & D.W. Davidson. 2000. Relationship between plant size and ant associates in two Amazonian ant-plants. *Biotropica*, 32: 100-110.
- Young, T.P. 1987. Increased thorn length in *Acacia drepanolobium* - an induced response to browsing. *Oecologia*, 71: 436-438.
- Zar, J.H. 1984. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Englewoods Cliffs, New Jersey.

Orientação: Glauco Machado