

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CÊNCIAS BIOLÓGICAS

Sincronismo e eficiência de defesas ao longo do desenvolvimento foliar em
Eriotheca gracilipes (Malvaceae)

Danilo Ferreira Borges dos Santos

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia MG
Julho - 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CÊNCIAS BIOLÓGICAS

Sincronismo e eficiência de defesas ao longo do desenvolvimento foliar em
Eriotheca gracilipes (Malvaceae)

Danilo Ferreira Borges dos Santos

Orientadora: Helena Maura Torezan Silingardi
Coorientador: Kleber Del Claro

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia MG
Julho - 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CÊNCIAS BIOLÓGICAS

Sincronismo e eficiência de defesas ao longo do desenvolvimento foliar em
Eriotheca gracilipes (Malvaceae)

Danilo Ferreira Borges dos Santos

Helena Maura Torezan Silingardi
INBIO-UFU

Kleber Del Claro
INBIO-UFU

Homologado pela coordenação do curso de
Ciências Biológicas em __/__/__

Coordenadora: Celine de Melo

Uberlândia MG
Julho – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CÊNCIAS BIOLÓGICAS

Sincronismo e eficiência de defesas ao longo do desenvolvimento foliar em
Eriotheca gracilipes (Malvaceae)

Danilo Ferreira Borges dos Santos

Aprovado pela banca examinadora em / / Nota:

Helena Maura Torezan-Silingardi

Uberlândia, de de

Dedico este estudo
aos meus pais *Sônia* e *Cláudio*
e as minhas irmãs *Nayara*, *Lara* e *Gabriela*

Amor incondicional...

AGRADECIMENTOS

A toda minha família pelo apoio em minha carreira.

A todos meus professores pela inspiração.

Aos meus queridos amigos, pela força e motivação.

Ao Prof. Dr. Kleber Del Claro pela motivação e excelente orientação

A Profa. Dra. Helena Maura Torezan Silingardi pela dedicação, apoio e pela excelente orientação.

Ao doutorando Eduardo Calixto Soares pela motivação, apoio, paciência e inspiração.

Ao LECI pela oportunidade de pesquisa.

Aos diretores do CCPIU, por disponibilizar a área de estudo.

A CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Eternamente grato

RESUMO

Plantas podem apresentar diferentes tipos de estratégias e defesas contra o ataque de herbívoros ao longo do desenvolvimento foliar, sendo que essas podem ser sincronizadas ou apresentar picos distintos ao longo do tempo para garantir um melhor desempenho. O presente estudo buscou verificar se existe sincronismo e/ou picos de efetividade de defesas ao longo do desenvolvimento foliar em *Eriotecha gracilipes* (Malvaceae), uma planta do Cerrado com nectários extraflorais. A pesquisa foi realizada em uma área preservada de cerrado sentido restrito, onde as defesas química, biótica e física foram analisadas ao longo do desenvolvimento foliar. Os resultados mostraram que as defesas química e biótica são prioritariamente empregadas em estágios jovens e intermediários de desenvolvimento e perdem a efetividade durante o estágio adulto, onde a defesa física se sobressai através da dureza foliar. Portanto, verifica-se que existe tanto o sincronismo de defesas quanto picos de efetividade ao longo do desenvolvimento foliar em *E. gracilipes*, ambas contribuindo para minimizar o ataque de herbívoros.

Palavras-chave: Herbivoria; Dureza foliar; Defesa biótica, Cerrado.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	1
1.1 Interação inseto - planta	1
1.2 Defesas das plantas.....	2
1.3 Cerrado	4
1.4 Justificativa e objetivo.....	5
2.MATERIAIS E MÉTODOS	6
2.1 Área de estudo	6
2.2 Espécie em estudo	7
2.3 Efetividade da Defesa.....	8
2.4 Dureza foliar.....	8
2.5 Atividade dos nectários	9
2.6 Análise dos dados.....	9
3.RESULTADOS	9
3.1 Defesa biótica.....	9
3.2 Dureza foliar.....	10
3.3 Atividade dos nectários	11
4.DISSCUSSÃO.....	11
5.CONCLUSÃO	14
6.REFERÊNCIAS	15

1. INTRODUÇÃO

1.1 Interação inseto-planta

As associações ecológicas podem ser, em sentido amplo, diretas e indiretas, exercendo papel fundamental na sobrevivência e no *fitness* das espécies interagentes (ver ABRAHAMSON, 1989; BYK & DEL-CLARO, 2010). Através delas, os organismos garantem os recursos básicos à sobrevivência, como alimento, abrigo e parceiros sexuais (SHCMITZ & SUTTLE, 2009) e, para isso, interagem entre si de diversas maneiras, constituindo diferentes tipos de interações, como o mutualismo, o antagonismo e o neutralismo (ABRAHAMSON, 1989).

As pressões produzidas pelos diferentes tipos de interações são importantes para manter e estruturar as comunidades e os ecossistemas terrestres. Essas interações vão permitir o bom funcionamento das redes ecológicas, nas quais os organismos podem influenciar no controle populacional, na ciclagem de matéria, na transferência unidirecional da energia, entre outras funções (DEL-CLARO & TOREZAN-SILINGARDI, 2009; PRICE *et al.*, 2011; SANDERS *et al.*, 2008). Uma das principais associações entre espécies que pode ser utilizada para aumentar nossa compreensão sobre como as comunidades se estruturam, são as interações inseto-planta (EHRLICH & RAVEN, 1964; THOMPSON, 2009). Essas interações existem desde o período Siluriano (aproximadamente 425 milhões de anos) e grande parte do sucesso na conquista do ambiente terrestre, tanto dos insetos como das plantas, deve-se a elas (EDWARDS *et al.*, 1995; LABANDEIRA, 2002; MISOF *et al.*, 2014). Hoje, podemos contemplar uma grande diversidade de interações e de especializações resultantes desses milhões de anos de contato entre as espécies.

Os insetos, por exemplo, se especializaram nas mais diversas formas, tamanhos e adaptações para obterem seu alimento, como os folívoros, os polinívoros, os nectarívoros, os carnívoros, os hematófagos, dentre outras. As plantas, por outro lado, também se adaptaram

às pressões exercidas sobre elas, desenvolvendo defesas químicas, físicas e bióticas, as quais serão discutidas com maiores detalhes nos próximos tópicos (COLEY & BARONE, 1996; DEL-CLARO, 2012).

De forma geral, para melhor compreensão das funcionalidades de comunidades e ecossistemas, essas associações devem ser abordadas em nível multitrófico. Um bom exemplo de interação multitrófica ocorre em plantas extranectaríferas, portadoras de nectários extraflorais (NEFs). Neste caso, a interação entre planta e herbívoro, primeiro e segundo nível trófico respectivamente, é influenciada pela presença de formigas, a qual atua como o terceiro nível trófico (ROSUMEK *et al.*, 2009). As formigas podem exercer um efeito *top-down*, dispersando e/ou predando herbívoros, o que influencia diretamente o sucesso reprodutivo da planta (DEL-CARO, 2004).

1.2 Defesas das plantas

Como produtores primários, as plantas atuam como fonte de energia ao sustentar muitos níveis tróficos e, desta forma, recebem enormes pressões seletivas, principalmente dos herbívoros (MARQUIS *et al.*, 2012). Essas pressões comprometem o desenvolvimento, o estabelecimento e o sucesso reprodutivo das plantas (COLEY & BARONE, 1996). Dessa forma, para se manter no ambiente, as plantas desenvolveram estratégias de defesa para poder lidar com essas pressões (AGRAWAL & FISHBEIN, 2006; DEL CLARO *et al.*, 2016), sendo que essas estratégias podem ser classificadas como físicas, químicas e bióticas (COLEY & BARONE, 1996; DEL-CLARO, 2012).

As defesas físicas (também chamadas defesas mecânicas) são adaptações morfológicas que as plantas utilizam para diminuir as taxas de herbivoria, dificultando o acesso dos herbívoros aos seus tecidos, bem como dificultando a mastigação e a digestão. Como exemplo, podemos citar os tricomas, a dureza foliar e os espinhos (DAVIDSON *et al.*, 1989,

COLEY & BARONE, 1996, FÜRSTENBERG-HÄGG *et al.*, 2013). Os tricomas são apêndices epidérmicos que funcionam como estruturas eficientes na restrição de acesso a determinadas partes da planta. Davidson *et al.* (1989) mostraram que os tricomas, além de dificultar o forrageamento de determinadas espécies de formigas, também as deixavam mais vulneráveis pela dificuldade de locomoção. A dureza foliar também pode ocorrer por substâncias que as plantas acumulam ao longo do desenvolvimento, como por exemplo o tanino, que confere rigidez à folha. Essa rigidez dificulta a mastigação, como também a digestão do tecido (COLEY & BARONE, 1996). Em folhas rígidas, os insetos que apresentam aparelho sugador perfurante, como por exemplo os afídeos, deverão realizar um esforço maior para alcançar os tecidos vegetais e especialmente os tecidos vasculares (DIXON, 1975).

A defesa química é derivada de compostos produzidos pelas plantas. As plantas são capazes de produzir duas classes de compostos, os primários e os secundários. Os compostos primários são substâncias envolvidas diretamente com as necessidades básicas para o crescimento e manutenção geral das plantas, tais como a produção de carboidratos, lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos e clorofilas. Os compostos secundários são substâncias envolvidas com outras necessidades das plantas, estes compostos podem funcionar como defesa química, a qual garantem vantagens adaptativas e competitivas necessárias para sua interação com o meio (GERHENZON & ENGELBERTH, 2013). Esses compostos secundários não são universais, assim como os primários, e são característicos de cada espécie ou até mesmo para um determinado táxon (FÜRSTENBERG-HÄGG *et al.*, 2013; AGRAWAL & FISHBEIN, 2006). Existem diversas classes desses compostos químicos, como por exemplo, os nitrogenados: alcalóides, aminas, glucosinatos; os terpenóides: monoterpenos, saponinas, curcubitacinas; os fenólicos: flavonoides, quinonas, dentre outros. Cada uma dessas substâncias irá exercer uma ou mais funções para a planta. Por exemplo: alcalóides são

compostos extremamente tóxicos para insetos; os monoterpenos possuem odores desagradáveis; e os fenóis-simples servem como antimicrobianos (AOYAMA & LABINAS, 2012).

A defesa biótica é uma estratégia de defesa da que utiliza de associações indiretas para atração de predadores de seus herbívoros, *e.g.* NEFs (ELIAS, 1983; KOPTUR, 1992; MARAZZI *et al.*, 2013) e exsudatos de hemípteros (DEL-CLARO & OLIVEIRA, 1999; FAGUNDES *et al.*, 2013). Os NEFs são estruturas secretoras de um líquido rico em carboidratos e outros compostos diluídos (GONZÁLEZ-TEUBER & HEIL, 2009), o qual atrai uma gama de artrópodes predadores (ver MARAZZI *et al.*, 2013), principalmente formigas (ROSUMEK *et al.*, 2009), mas também aranhas (NAHAS *et al.*, 2012; STEFANI *et al.*, 2015; DEL-CLARO *et al.*, 2016) e vespas (MARAZZI, 2013).

Calixto *et al.* (2015) mostraram que existe um sincronismo e picos de efetividade de defesas foliares em *Qualea multiflora* (Vochysiaceae), uma árvore do Cerrado. Os autores mostraram que a planta altera suas estratégias de defesa melhorando a eficácia de proteção em determinados momentos do desenvolvimento foliar e, desta forma, está sempre com alguma estratégia de defesa ativa contra a herbivoria. No entanto, a despeito da existência desses diferentes tipos de defesa, estas só serão benéficas para as plantas se apresentarem alta efetividade contra os herbívoros.

1.3 Cerrado

O Cerrado corresponde aproximadamente a 22% da extensão territorial do Brasil, coincidindo em grande parte com o Planalto Central brasileiro, sendo ainda a savana tropical mais diversa em fauna e flora (OLIVEIRA FILHO & RATTER, 2002). Sua importância também pode ser vista pelo grande número de espécies endêmicas somadas a uma rápida degradação ambiental e diminuição na sua área preservada, o que torna o cerrado um dos

hotspots de biodiversidade ameaçada (MYERS *et al.*, 2000). A vegetação típica do Cerrado *sensu lato* é extremamente variável, podendo apresentar desde fitofisionomias de campo aberto até florestas. Algumas de suas fitofisionomias são: campo limpo, onde predomina uma vegetação herbácea rasteira sem arbustos; campo sujo, com predomínio de vegetação rasteira de herbáceas com alguns arbustos de forma bem espalhada; campo cerrado, onde há uma vegetação rasteira com árvores e arbustos espalhados; cerrado *sensu stricto*, onde há o predomínio de árvores e arbustos, ambos podendo atingir uma faixa de 3 a 8 m de altura, constituindo uma copa que representa aproximadamente 30% da cobertura, mas ainda assim, apresenta vegetação herbácea entre elas; entre outros tipos de fitofisionomias (OLIVEIRA FILHO & RATTER, 2002).

Muitas plantas do Cerrado apresentam NEFs e formigas, o que representa uma defesa biótica para a planta. *Eriotheca gracilipes* (Malvaceae) é um exemplo disso. Essa espécie de planta apresenta NEFs no pecíolo das folhas, os quais são visitados por formigas e aranhas (ROSUMEK *et al.*, 2009, NAHAS *et al.*, 2012; STEFANI *et al.*, 2015; DEL-CLARO *et al.*, 2016). Essas visitas influenciam diretamente na reprodução vegetal, ou seja, no número de frutos e no número de sementes por frutos, aumentando significativamente o *fitness* da planta (STEFANI *et al.*, 2015). Além disso, folhas jovens apresentam diferentes colorações (tons avermelhados) de folhas adultas e já desenvolvidas (tons de verde), o que sugere a presença de compostos químicos como as antocianinas (flavonóides), que atuam como inibidores da ação de herbívoros (KARAGEORGOU & MANETAS, 2006).

1.4 Justificativa e objetivo

Estudar as relações entre insetos e plantas em uma esfera multitrófica é, portanto, essencial para o entendimento dos impactos na diversidade, densidade, riqueza e distribuição dos produtores, tornando-se uma interação chave na manutenção de comunidades e

ecossistemas (HAIRSTON *et al.*, 1960; POLIS *et al.*, 2000; ROMERO & VASCONCELLOS-NETO, 2004; SCHMITZ & SUTTLE, 2001).

Com base nisso, nosso objetivo foi analisar o sincronismo e a eficiência das defesas foliares de *Eriotheca gracilipes* ao longo do desenvolvimento foliar. Nesse sentido, buscamos identificar se as defesas presentes na *E. gracilipes* ocorrem de forma simultânea, ou se as defesas são sequenciais. Para isso levantamos as seguintes questões: i) *Eriotheca gracilipes* possui sincronismo de defesas ao longo do desenvolvimento foliar? ii) se existir sincronismo dessas defesas, elas atuam com a mesma efetividade quando isoladas (nesse caso, química e física isoladas da defesa biótica)? A partir dessas questões, levantamos a seguinte hipótese: *Eriotheca gracilipes* possui sincronismo de defesas ao longo do desenvolvimento foliar e suas defesas são mais efetivas quando sincronizadas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O estudo de campo foi desenvolvido na Reserva Particular do Patrimônio Natural do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU), Minas Gerais. A área está compreendida dentro do Cerrado *lato sensu*, sendo a principal fitofisionomia presente o cerrado sentido restrito (ver BACHTOLD *et al.*, 2013 e VILELA *et al.*, 2014 para uma caracterização melhor da área). A área possui uma vegetação visualmente dominada por arbustos e árvores que podem atingir 3-8 metros de altura. O local possui duas estações bem definidas, uma seca de maio a setembro e uma chuvosa de outubro a abril, com média anual de precipitação de 1550 mm e temperatura de 22° C (ARRUDA *et al.*, 2006; DEL-CLARO & RÉU, 1996).

2.2 Espécie em estudo

A planta escolhida para esse estudo foi *Eriotheca gracilipes* Malvaceae (Figura 1a e 1b), uma árvore semidecídua comum nos cerrados da região sudeste de Minas Gerais (OLIVEIRA & BATALHA, 2005; SOUZA *et al.*, 2009) e presente na área de estudo. As folhas de *E. gracilipes* são compostas (geralmente com cinco folíolos) e alternadas (SOUZA *et al.*, 2009). Seu período reprodutivo se estende de maio a agosto, suas flores são autoincompatíveis e ficam receptivas por dois a três dias após sua antese (OLIVEIRA *et al.*, 1992). *Eriotheca gracilipes* possui NEFs com formato achatado na base dos pecíolos (OLIVEIRA & LEITÃO-FILHO, 1987), os quais são visitados por formigas (Figura 1c, 1d e 1e), aranhas (ver STEFANI *et al.*, 2015) e vespas (Figura 1f).

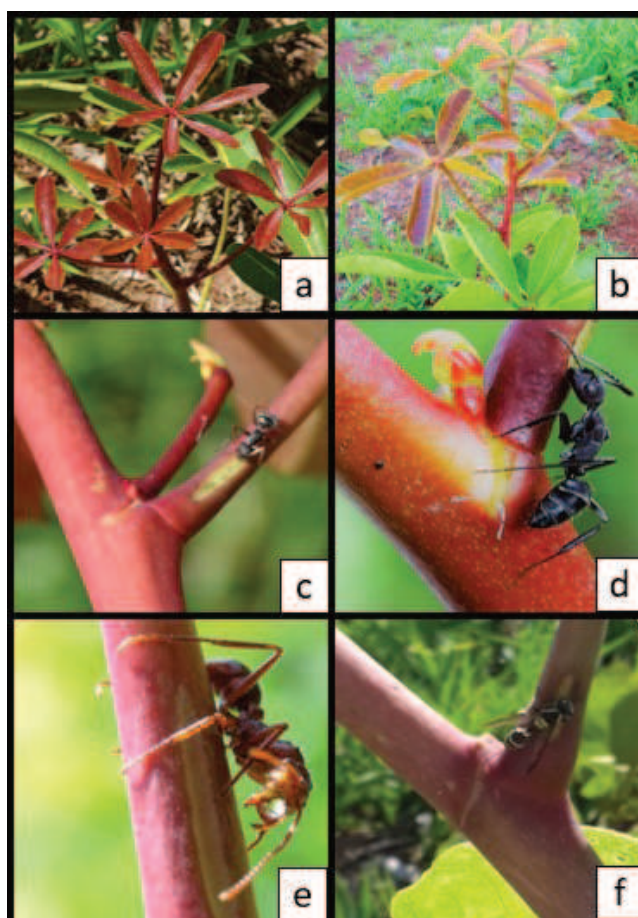


Figura 1 – *Eriotheca gracilipes* em estágios iniciais de desenvolvimento (a, b) e alguns visitantes dos NEFs: *Camponotus crassus* (c), *Camponotus leydigi* (d), *Ectatomma tuberculatum* (e) e *Polybia occidentalis* (f).

2.3 Efetividade da Defesa

O estudo utilizou 30 plantas para realização dos experimentos, os quais foram divididos em dois grupos de 15 indivíduos cada. O grupo tratamento (sem formigas) teve todas as formigas e outros artrópodes retirados manualmente e a aplicação da resina atóxica *Tanglefoot*, específica para exclusão de artrópodes ápteros (*e.g.* NASCIMENTO & DEL-CLARO, 2010). Para isso, foi feita uma faixa com esse produto ao redor da base do caule, semelhante a um anel, e todos os galhos de plantas próximas foram removidos para evitar pontes de contato. O grupo controle recebeu a resina apenas em metade da circunferência do ramo, permitindo o livre acesso de artrópodes até a folhagem.

Nos dois grupos, três folhas de cada indivíduo foram selecionadas e marcadas no momento de brotação, para análise de herbivoria ao longo do tempo. Através de fotos tiradas por uma câmera (Cyber-Shot DSC-HX400V Sony) o nível de dano foliar foi mensurado através do programa ImageJ 1.47. Além disso, foram observadas todas as formigas (nesse caso apenas no grupo controle) e herbívoros em ambos os grupos duas vezes por semana. Desde à marcação até o momento de coleta das folhas para análise de danos foliares.

2.4 Dureza foliar

Para avaliação da dureza foliar, 23 folhas representantes de cada idade: jovem, intermediária e adulta (n=69), foram coletadas e levadas para o Laboratório de Ecologia Comportamental e de Interações (LECI) em sacos herméticos enumerados, dentro de uma caixa de isopor com gelo para análise. A delimitação entre jovem, intermediária e adulta foi feita pela cor, sendo jovem com tons avermelhados, intermediária com tons de marrom e adulta na cor verde. Cada folha teve um de seus folíolos perfurado duas vezes no meio do limbo foliar, um furo de cada um dos lados da nervura principal, evitando a veia principal e as

secundárias, com o auxílio de um penetrômetro (Testador de Dureza de Frutas MOD. PTR-300).

2.5 Atividade dos nectários

Para avaliar se a atividade dos NEFs variou entre as idades das folhas (jovem, intermediária e adulta), foram selecionadas 30 folhas de cada uma das idades (n=90) de plantas diferentes. Esses NEFs foram classificados como “ativos” ou “não ativos” através da observação de necrose dos tecidos secretores.

2.6 Análise dos dados

Foi utilizado teste de Mann-Whitney (U) para comparar a taxa de herbivoria entre o grupo controle e tratamento. Teste de Kruskal-Wallis e post-hoc de Dunn foram utilizados para comparar a dureza foliar entre as idades foliares. Por fim, o teste de Chi-quadrado foi utilizado para comparar a atividades dos NEFs entre as idades foliares. As análises e os gráficos foram feitos utilizando o software R e o programa GraphPad Prism 6.0 ao nível de 5% de significância, respectivamente.

3. RESULTADOS

3.1 Defesa biótica

Os resultados mostraram que a herbivoria no grupo tratamento, onde houve a exclusão de formigas, foi maior do que no grupo controle ($U = 616,5$; $p < 0,001$; Figura 2). O grupo tratamento sofreu uma taxa de herbivoria quatro vezes maior do que o grupo controle (controle: $1,846 \pm 3,211$; tratamento: $7,671 \pm 11,50$).

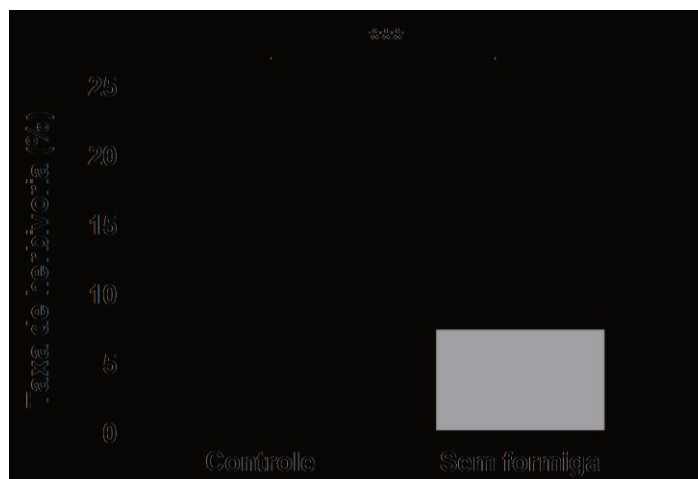


Figura 2 – Taxa de herbivoria foliar em *Eriotecha gracilipes* separada pelos grupos (controle e tratamento). Barras representam média e desvio padrão. ***Mann-Whitney ($U = 616,5$; $p < 0,001$).

3.2 Dureza foliar

Os resultados mostraram que existe diferença na dureza foliar entre as idades das folhas de *E. gracilipes* ($H_{[2,68]} = 49,74$, $p < 0,001$; Figura 3). Folhas adultas possuem uma maior dureza ($0,307 \pm 0,096$ Kg; média \pm desvio padrão), seguidas pelas folhas intermediárias ($0,079 \pm 0,039$ Kg) e jovens ($0,046 \pm 0,025$ Kg), respectivamente.

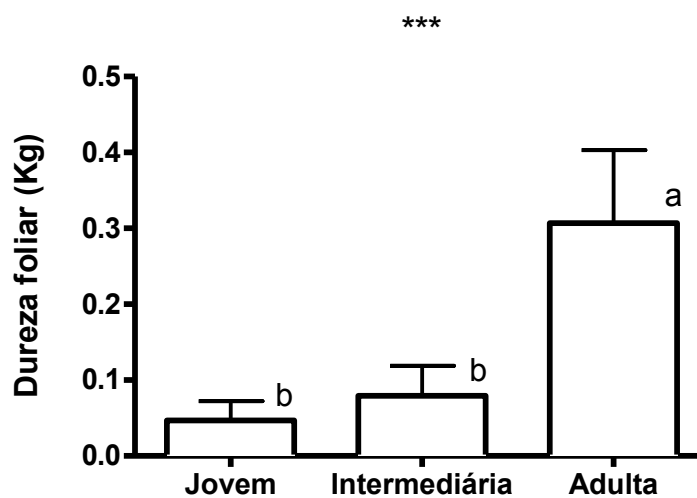


Figura 3 – Dureza foliar ao longo do desenvolvimento da folha em *Eriotheca gracilipes*. ***Kruskal-Wallis ($H_{[2,68]} = 49,74$, $p < 0,001$). Letras distintas diferem entre si pelo teste de Comparações Múltiplas de Dunn ao nível de 5% de significância. Barras representam média e desvio padrão.

3.3 Atividade dos nectários

Os NEFs de *E. gracilipes* se mostraram majoritariamente ativos nos estágios jovem e intermediário, havendo uma queda na atividade no estágio adulto ($\chi^2 = 48,81$, $gl = 2$; $p < 0,001$; Figura 4). Folhas jovens apresentaram 97% de NEFs ativos, enquanto que as folhas intermediárias e adultas apresentaram 83% e 17%, respectivamente.

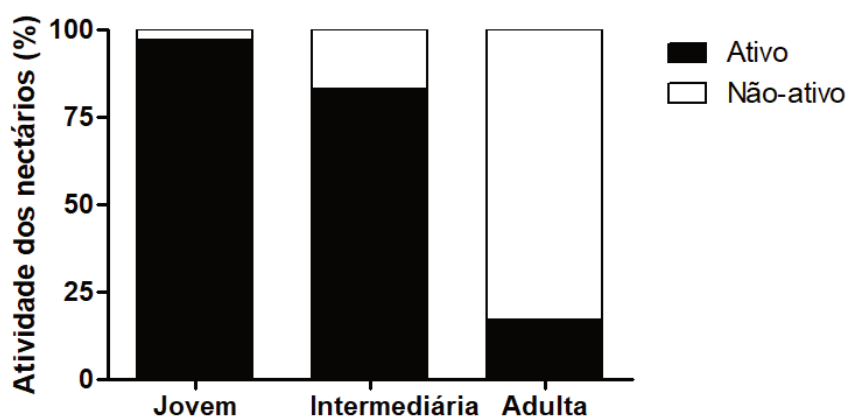


Figura 4 – Atividade dos nectários extraflorais nos diferentes estágios das folhas em *Eriotheca gracilipes*.

4. DISCUSSÃO

O presente trabalho mostrou que *E. gracilipes* apresenta diferentes defesas ao longo do desenvolvimento foliar, evidenciando um sincronismo de defesas, o que corrobora a hipótese levantada inicialmente. No estágio jovem da folha a defesa química (presença de antocianinas, ver Figura 1a e 1b) e a defesa biótica (presença de formigas) têm seu pico máximo de atividade; no estágio intermediário, ainda se encontra atividade da defesa biótica, porém com baixas concentrações de defesa química e física; e no estágio adulto, a defesa

física atinge seu pico máximo de atividade, com a queda das atividades da defesa biótica e química.

Essa variação de defesas ao longo do desenvolvimento foliar pode representar uma forma de evitar o ataque de herbívoros. Calixto *et al.* (2015) mostraram que em *Qualea multiflora* as defesas mudam com o desenvolvimento da folha, atingindo picos de atividade em diferentes momentos, criando dessa forma, um eficiente mecanismo anti-herbivoria em todos os estágios foliares. *Eriotheca gracilipes* possui dois tipos de defesas em folhas jovens, a química e a biótica. Essa sobreposição de defesas pode estar associada ao fato de que, 70% da herbivoria em plantas tropicais acontece em folhas ainda em expansão, criando dessa forma, uma seleção para que as defesas sejam mais intensas em folhas jovens (COLEY & BARONE, 1996). Esses mesmos autores ainda mostraram que a alta taxa de herbivoria em folhas jovens pode estar associada com seu conteúdo nutricional, pois estas possuem uma maior quantidade de água e nitrogênio comparada com folhas em estágios avançados de desenvolvimento. O menor conteúdo de fibras nos tecidos jovens e ainda em expansão dessas folhas também incentiva a herbivoria (VARANDA *et al.*, 2005). Além disso, as folhas têm maior valor para as plantas em estágios jovens (HARPER, 1989), contribuindo dessa forma para o *fitness* da planta, dado que ao longo do seu desenvolvimento, as folhas podem diminuir sua capacidade fotossintética (KITAJIMA, 2002). Ainda, podemos complementar e explicar tais resultados a partir da Teoria da Defesa Ótima (MCKEY, 1979; RHOADES, 1979), a qual prediz que a planta investe defesas em partes de maior valor e probabilidade de ataque. Sendo assim, folhas jovens apresentam um maior valor para a planta do que folhas adultas e, conseqüentemente, um maior número de defesas ou defesas mais efetivas devem ser empregadas nos estágios iniciais de desenvolvimento.

A defesa biótica se mostrou efetiva contra o ataque de herbívoros no grupo controle. Nesse grupo, as folhas sofreram quatro vezes menos herbivoria quando comparado com o

grupo tratamento, onde a defesa biótica estava ausente. Vários estudos têm mostrado a efetividade das formigas como defesa biótica (ver revisão em RICO-GRAY & OLIVEIRA, 2007; ROSUMEK *et al.*, 2009). Por exemplo, Nascimento & Del-Claro (2010) mostraram que formigas são agentes eficientes contra herbivoria, reduzindo não só a área danificada na folha, mas também aumentando a quantidade de frutos produzidos, permitindo à planta, maiores chances de perpetuação no ambiente. Rosumek *et al.* (2009), também mostraram que a exclusão de formigas diminui significativamente o *fitness* da planta, e que muitas destas plantas dependem das formigas (terceiro nível trófico) para sua proteção contra os herbívoros (segundo nível trófico). Portanto, *E. gracilipes* parece sobrepor suas defesas, pelo menos no estágio jovem, para aumentar suas chances contra os herbívoros, já que esse estágio parece ser mais valioso para planta do que outros.

No estágio intermediário, nenhuma defesa apresentou pico de atividade, entretanto um alto número de NEFs ainda estavam ativos, atraindo uma alta quantidade de formigas. Nesse estágio, a folha está passando por uma transição de defesas. Calixto *et al.* (2015) mostraram que em folhas jovens de *Qualea multiflora* a defesa física representada por tricomas é a mais efetiva. No estágio intermediário, os tricomas se tornam menos presentes e a defesa biótica se sobressai, atingindo assim seu pico de atividade e completando a transição da defesa física para a biótica. Outros estudos também obtiveram resultados similares, Godschalx *et al.* (2016) mostraram que em *Phaseolus lunatus* a defesa química tem pico de atividade em estágios foliares jovens, e com o desenvolvimento das folhas, as concentrações dos compostos de defesa (compostos cianogênicos) decaíam e a dureza foliar aumentava, evidenciando a transição entre os vários tipos de defesas no desenvolvimento das folhas. Em *E. gracilipes*, as concentrações químicas decaem no estágio intermediário, e a defesa biótica também sofre uma queda, mas ainda mantém uma alta atividade (83%) quando comparada com o estágio adulto (17%). Provavelmente, a planta mantém a defesa biótica em atividade no estágio

intermediário para não ficar totalmente desprotegida e susceptível ao ataque de herbívoros nesse momento.

No estágio adulto, as plantas apresentaram intensa defesa física, representada pela dureza foliar. Essa rigidez nas folhas adultas pode estar associada à lignificação, que é a deposição de lignina, uma macromolécula associada à celulose da parede celular que confere rigidez, impermeabilidade e resistência a ataques de herbívoros, além de diminuir a digestibilidade (COLEY E BARONE, 1996). Calixto *et al.* (2015) mostraram que as folhas de *Qualea multiflora* se tornam cada vez mais rígidas à medida que se desenvolvem, enquanto que as defesas físicas e bióticas diminuem sua atividade. Korndörfer e Del-Claro (2006), também chegaram em resultados parecidos. Os autores mostraram em uma planta do Cerrado, *Lafoensia pacari*, que a defesa biótica mantinha os herbívoros afastados durante a expansão foliar. Uma vez expandida, a defesa biótica deixava de atuar e a defesa física apresentava pico de efetividade, onde a folha se tornava rígida devido ao acúmulo de Silício (Si). De forma análoga, *E. gracilipes* mantém a defesa biótica durante a expansão foliar e na medida que a folha se aproxima do estágio adulto, ela se torna mais rígida. Percebe-se ainda que a defesa biótica não desaparece, apesar de ter baixa atividade nos estágios adultos das folhas (17%), havendo sobreposição de defesas. Ou seja, sobreposição da defesa biótica e física, o que pode estar associado ao fato de que, apesar da dureza foliar ser uma eficiente defesa contra a herbivoria, ela não é uma barreira absoluta contra herbívoros, necessitando dessa forma, de uma defesa complementar como a defesa biótica (COLEY & BARONE, 1996).

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que *E. gracilipes* apresenta sincronismo de defesas ao longo do desenvolvimento foliar e que as defesas são mais efetivas quando sincronizadas. Essa situação contribui para uma maior eficiência contra os herbívoros e permite que a planta se adapte às

pressões exercidas pelo ambiente em que se encontra, principalmente, aquelas causadas pela alimentação dos insetos.

6. REFERÊNCIAS

ABRAHAMSON, W. G. Plant-animal interactions: an overview. *In: _____* (Org.). **Plant-animal interactions**. New York: Mc-Graw-Hill, 1989. p.1-22.

AGRAWAL, A. A.; FISHBEIN, M. Plant defense syndromes. **Ecology**, v. 87, p. 132-149, Jul 2006.

AOYAMA, E. M. & LABINAS, A. M. Características estruturais das plantas contra a herbivoria por insetos. **Enciclopédia biosfera**, v.8, n.15, p. 365-386, Nov. 2012.

ARRUDA, R.; CARVALHO, L. N.; DEL-CLARO, K. Host specificity of a brazilian mistletoe, *Struthanthus* aff. *polyanthus* (Loranthaceae), in a cerrado tropical savanna. **Flora**, v. 201, p. 127-134, Jul. 2006.

BACHTOLD, A.; LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Influence, or the lack thereof, of host phenology, architecture and climate on the occurrence of *Udranomia spitzi* (Hesperiidae: Lepidoptera). **Entomological Science**, v. 17, p. 66-74, Jun. 2013.

BYK, J; DEL-CLARO, K. Ant-plant interaction in the Neotropical savana: direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. **Population Ecology**, v. 53, p. 327-332, Sep. 2010.

CALIXTO, E. S.; LANGE, K.; DEL-CLARO, K. Foliar anti-herbivory defenses in *Qualea multiflora* Mart. (Vochysiaceae): Changing strategy according to leaf development. **Flora**, v. 212, p. 19-23, Fev. 2015.

COLEY, P. D. & BARONE, J. A. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 27, p. 305-335, Nov. 1996.

DAVIDSON, D. W.; SNELLING, R. R.; LONGINE, J. T. Competition among ants for myrmecophytes and the significance of plant trichomes. **Biotropica**, v. 21, n. 1, p. 64-73, Mar. 1989.

DEL CLARO, K.; RICO GRAY, V.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; ALVES-SIVAL, E.; FAGUNDES, R.; LANGES, D.; DÁTILLO, W.; VILELA, A. A; AGUIERRE, A.; RODRIGUEZ-MORALES, D. Loss and gains in ant-plant interactions mediated by extrafloral nectar: fidelity, cheats, and lies. **Insectes Sociaux**, p.1-15, Jan. 2016.

DEL-CLARO, K. & TOREZAN-SILINGARDI, H. M. Insect-plant interactions: new pathways to a better comprehension of ecological communities in Neotropical savannas. **Neotropical Entomology**, n. 38, p.159-164, Abr. 2009.

DEL-CLARO, K. Multitrophic relationships, conditional mutualisms, and the study of interaction biodiversity in tropical savannas. **Neotropical Entomology**, v. 33, n.6, p. 665-672, Dec. 2004.

DEL-CLARO, K. Origens e importância das relações plantas-animais para a ecologia e conservação. In: DEL-CLARO, K. & TOREZAN-SILINGARDI, H. M. **Ecologia de interações plantas-animais: uma abordagem ecológico-evolutiva**. Rio de Janeiro, Technical Books. 2012.

DEL-CLARO, K.; BERTO, V.; RÉU, W. Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). **Journal of Tropical Ecology**, v. 12, p. 887-892, 1996.

DEL-CLARO, K.; OLIVEIRA, P. S. Ant-homoptera interactions in a Neotropical savanna: the honeydew-producing treehopper *Guayaquila xiphias* (Membracidae) and its associated ant fauna on *Didymopanax vinosum* (Araliaceae). **Biotropica**, v. 31, n 1, p. 135-144. 1999.

DIXON, A. F. G. Aphids and translocation. In: ZIMMERMANN, M. H.; MILBURN, J. A. (Org.). **Transport in plants I: Phloem transport**. Berlin: Springer-Verlag, p. 154-170. 1975.

EDWARDS, D.; SEIDEN, P. A.; RICHARDSON, J. B.; AXE, L. Coprolites as evidence for plant-animal interaction in Siluro-Devonian terrestrial ecosystems. **Nature**, n.329, p. 331, Set. 1995.

EHRlich, P. R.; RAVEN, P. H. Butterflies and plants: a study in coevolution. **Evolution**, v. 18, p. 586-608, Dec. 1964.

ELIAS, T. S. Extrafloral Nectaries: their structure and distribution. In: _____ (Org.). **The Biology of Nectaries**. New York: Columbia University Press, 1983. p.174-203.

FÜRSTENBERG, H. J.; ZAGROBELNY M.; BAK S. Plant defense against insect herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, n. 14, v.5, p.10242-97, Mai. 2013.

GERHENZON, J. & ENGELBERTH, J. E. Metabólitos Secundários e Defesa Vegetal. Im: TAIZ, L.; ZEIGER, E. (Org.). **Fisiologia Vegetal**, Porto Alegre: Artmed. 2013. p. 369-400.

GODSCHALX, A. L.; STADY, L.; WATZIG, B.; BALHORN, D. J. Is protection against florivory consistent with the optimal defense hypothesis? **BioMed Central Plant Biology**, v.16, n. 32, p. 3-9, Jan. 2016.

GONZÁLEZ-TEUBER, M.; HEIL, M. Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, p. 809-813, Set. 2009.

HAIRSTON, N. G.; SMITH F. E.; SLOBODKIN L. B. Community structure, population control, and competition. **The American Naturalist**, v. 94, n. 879, p. 421-425, Dec. 1960.

HARPER, J. L. The value of a leaf. **Oecologia**, v. 80, n.1, p. 53–58, Mar. 1989.

KARAGEORGOU, P.; MANETAS, Y. The importance of being red when young: anthocyanins and the protection of young leaves of *Quercus coccifera* from insect herbivory and excess light. **Tree Physiol**, v. 26, p. 613-621, Fev. 2006.

KITAJIMA, K.; MULKEY, S. S.; SAMANIEGO, M.; WRIGHT, S. P. Decline of photosynthetic capacity with leaf age and position in two tropical pioneer tree species. **American Journal of Botany**, v.89, n.12, p.1925-1932, Jun. 2002.

KOPTUR, S. Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. In: BERNAYS, E. A. (Org.). **Insect-Plant Interactions**. Florida: CRC Press, 1992. p. 81-129.

KORNDÖRFER, A. P.; DEL-CLARO, K. Ant defense versus induced defense in *Lafoensia pacari* (Lythraceae), a myrmecophilous tree of the Brazilian cerrado. **Biotropica**, n. 38, p. 786-788, Jul. 2006.

LABANDEIRA, C. C. The history of associations between plants and animals. In: HERRERA, C. M.; PELLMYR, O. (Org.). **Plant Animal Interaction, an Evolutionary Approach**. Oxford: Ed. Blackwell, 2002. p. 26-76.

MARAZZI, B.; BRONSTEIN, J. L.; KOPTUR, S. The diversity: ecology and evolution of extrafloral nectaries current perspectives and future challenges. **Annals of Botany**, v. 111, p. 1243-1250, Jun. 2013.

MARQUIS, R. J.; RICKLEFS, R. E.; ABDALA-ROBERTS, L. Testing the low latitude/highdefense hypothesis for broad-leaved tree species. **Oecologia**, v. 169, n. 3, p. 811-820, Jan. 2012.

MCKEY, D. The distribution of plant secondary compounds within plants. In: ROSENTHAL, G. A.; JANZEN, D. H. (Org.). **Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites**. New York: Academic press, 1979. p. 55-133.

MISOF, B.; LIU, S.; MEUSEMANN, K.; PETERS, R. S.; DONATH, A.; MAYER, C.; *et al.* **Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution**, v. 346, n. 763, Nov. 2014.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, Fev. 2000.

NAHAS, L.; GONZAGA, M. O.; DEL-CLARO, K. Intraguild interactions between ants and spiders reduce herbivory In: An extrafloral nectaried tree of tropical savanna. **Biotropica**, v. 44, 2012. p. 498-505.

NASCIMENTO, E. A; DEL-CLARO, K. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. **FLORA**, v. 205, p. 754-756, Dec. 2010.

OLIVEIRA, F. F. & BATALHA, M. A. Lognormal abundance distribution of woody species in a cerrado fragment (São Carlos, southeastern Brazil). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n.1, p. 39-45, Mar. 2005.

OLIVEIRA, P. E.; GIBBS, P. E.; BARBOSA, A. A.; TALAVERA, S. Constrasting breeding systems in two *Eriotheca* (*Bombacaceae*) species of the Brazilian cerrados. **Plant Systematics and Evolution**, v. 179, p. 207-219, Out. 1992.

OLIVEIRA, P. S. & LEITÃO-FILHO, H. F. Extrafloral nectaries: their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of Cerrado vegetation in southeast Brazil. **Biotropica**, v. 19, n.2, p. 140-148, Jun. 1987.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. & RATTER, J. A. Vegetation Physiognomies and Woody Flora of the Cerrado Biome. In: OLIVEIRA, P. S. & MARQUIS, R. J. (Org.). **The Cerrados of Brazil: Ecology and natural history of neotropical savanna**. New York: Columbia University Press. 2002. p. 91-120.

POLIS, G. A.; SEARS, A. L. W.; HUXEL, G. R.; STRONG D. R.; MARON, J. When is a trophic cascade a trophic cascade? **Trends in Ecology Evolution**, v.15, n. 11, p. 473-475, Mar. 2000.

PRICE P. W.; DENNO R. F.; EUBANKS M. D.; FINKE D. L.; KAPLAN, I. Lateral interactions: competitions, amensalism and facilitation. In:_____. (Org.). **Insect Ecology: Behavior, Populations and Communities**. Cambridge: Ed. Cambridge University Press, 2011. p. 184-219.

RHOADES, D. F. Evolution of plant defense against herbivores. In: ROSENTHAL, G. A.; JANZEN, D. H. (Org.). **Herbivores: their interaction with secondary metabolites**. New York: Academic Press, 1979. p. 1-55.

RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P. S. The ecology and evolution of ant-plant interactions. Chicago: The University of Chicago Press, 2007. p. 331.

ROMERO, G. Q. & VASCONCELOS-NETO J. Beneficial effects of flower-dwelling predators on their host plant. **Ecology**, n. 85, p. 446-457, Fev. 2004.

ROSUMEK, F. B.; SILVEIRA, F. A. O.; NEVES, F. S.; BARBOSA, N. P.; DINIZ, L.; OKI, Y.; PEZZINI, F.; FERNANDES, G. W.; CORNELISSEN, T. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. **Oecologia**, v. 160, p. 537-549, Mar. 2009.

SANDERS, D.; NICKEL, H.; GHUTZNER, T.; PLATNER, C. Habitat structure mediates top-down effects of spiders and ants on herbivore. **Basic Appl Ecol.**, v. 9, p. 152-160, Mar. 2008.

SHCMITZ, O. J. Indirect effects in communities and ecosystems: The role trophic and nontrophic interactions. In: LEVIN, S. A. (Org.). **Ecology**. New Jersey: Ed. Princeton University Press, 2009. p.288-295.

SOUZA, J. P.; PRADO, C. H. B. A.; ALBINO, A. L. S.; DAMASCOS, M. A. Shoot-foilage relationships in deciduous, semideciduous, and evergreen cerrado tree species. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 21, n.1, p. 75-86, Jun. 2009.

STEFANI, V.; PIRES, T. L.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Beneficial effects of ants and spiders on the reproductive value of *Eriotheca gracilipes* (Malvaceae) in a tropical savanna. **PLoS ONE**, Jul. 2015.

THOMPSON, J. N. The coevolving web of life. **The American Naturalist**, v.173, p. 125-140, Fev. 2009.

VILELA, A. A.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Conditional outcomes in ant–plant–herbivore interactions influenced by sequential flowering. **Flora**, v. 209, n.7, p. 359-366, Jul. 2014.