

NAS FRESTAS DO CAMPUS: RELAÇÃO ENTRE DANO FOLIAR E NÚMERO DE TRICOMAS EM INDIVÍDUOS DE *Emilia fosbergii* DE POPULAÇÕES NATURAIS NO CAMPUS DA UNICAMP

Palavras-Chave: HERBIVORIA, TRICOMAS, ATRIBUTOS, DEFESAS INDUZIDAS

Autores:

ANDRÉ LUIZ DA SILVA BARBOSA, IB – UNICAMP

Prof. Dr. MARTIN FRANCISCO PAREJA PIAGGIO (orientador), IB - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

As plantas são seres autotróficos que têm como recursos, essencialmente: radiação solar, íons e outras moléculas simples. Por serem autotróficos, são capazes de converter a energia solar em energia química na forma de carboidratos complexos a partir de CO₂ e água (Walters 2011). Os recursos por elas consumidos também são utilizados na síntese de carboidratos, proteínas e lipídios, os quais são armazenados em diferentes células, tecidos e órgãos do organismo. As moléculas sintetizadas são utilizadas como fonte energética e nutricional por organismos heterotróficos — microrganismos, nematoides, insetos, vertebrados e até mesmo outras plantas — os quais, para consumir a energia das plantas, causam danos que podem reduzir a reprodução e a aptidão das plantas consumidas (Marquis, 1992; Walters, 2011; Townsend, et al. 2013). Desse modo, temos que as plantas são a base energética de grande parte das redes tróficas em sistemas terrestres (Agrawal, 2011; Carmona et al., 2011; Walters, 2011).

Os danos aos tecidos vegetais causados por esse consumo podem ter efeitos diretos sobre a fisiologia e morfologia das plantas como a perda de tecido foliar fotossintético, tecido radicular e tecido floral (Kessler, 2020). Estes danos quase sempre levam a alterações na síntese de hormônios vegetais, como o ácido jasmônico, o ácido salicílico e o etileno, que regulam vias metabólicas compartilhadas por inúmeros outros metabólitos envolvidos no desenvolvimento de todo o corpo vegetal. Dada a interferência existente entre as vias metabólicas, alterações na produção de determinados hormônios culminam em mudanças no crescimento vegetal, fenologia e produção de compostos voláteis, podendo também alterar a maneira com que essas plantas são percebidas por organismos que interagem com ela (Kessler, 2020).

Sob um olhar mais apurado, nota-se que estes mesmos danos também podem percolar pela comunidade a través de efeitos indiretos em outros organismos que interagem com a planta (Kessler, 2020; Rezende, 2018). Por exemplo, o dano por herbívoros pode alterar frequência com que polinizadores interagem com as plantas, e assim influenciar o sucesso reprodutivo delas (Kessler, 2020). Portanto, entender como as plantas respondem a danos por herbívoros é fundamental para compreender como comunidades ecológicas se estruturam.

À vista da influência que os danos causados pelos inimigos naturais das plantas têm sobre elas, é hipotetizado que elas evoluíram mecanismos de defesa plásticos, que podem ser ativados somente quando necessário. Estas defesas plásticas são chamadas de defesas induzidas, que podem aumentar a aptidão da planta

em ambientes ou momento de presença de herbívoros (Agrawal, 2000). Essas defesas diminuem as chances de que a planta seja acessada por seus consumidores, também reduzindo as chances de ser danificada e, como resultado, atenuam os efeitos negativos da herbivoria sobre seu crescimento, sobrevivência e reprodução (Marquis, 1992; Townsend, et al. 2013). Esses mecanismos de defesa incluem alterações bioquímicas capazes de reduzir o progresso de infecções por patógenos, aumento da síntese de compostos secundários e, foco de estudo do projeto proposto, aumento na densidade de estruturas de defesa em tecidos novos, como o de tricomas em folhas (Traw & Bergelson, 2003; Walters, 2011). Tais recursos estruturais de defesa são mais ou menos desenvolvidos em função das pressões ambientais exercidas pelos inimigos naturais das plantas (Traw & Bergelson, 2003).

Danos causados por herbívoros, assim como danos causados artificialmente levam a um aumento na liberação de ácido jasmônico, uma importante molécula sinalizadora de vias de indução de resposta a danos, a qual, por sua vez, ativa genes relacionados com a defesa e integridade da planta (Traw & Bergelson, 2003; Walters, 2011). A indução de respostas defensivas estruturais é, como evidenciado em estudos experimentais, extremamente dependente das vias de sinalização por ácido jasmônico. Nestes mesmos estudos, a liberação de ácido jasmônico se mostrou intimamente relacionada com o aumento da densidade de tricomas na superfície das folhas (Barton, 2016).

Neste projeto nos propomos estudar como os tricomas em folhas de *Emilia fosbergii* (Asteraceae) se relacionam com o dano sofrido pela planta. Investigamos a relação entre tricomas e dano foliar em indivíduos de populações naturais no campus da UNICAMP e determinamos correlações entre número de tricomas, tamanho da planta, área foliar e dano por herbívoros dos mesmos. Consideramos *Emilia fosbergii* um bom modelo para este estudo, uma vez que produz tricomas de forma plástica, existindo plantas com folhas que variam de glabras a pubescentes (Teles, 2023). Além disso, *E. fosbergii*, sendo uma planta ruderal, possui crescimento rápido e espontâneo, e é amplamente distribuída em território brasileiro, apesar de ser exótica (Souza, 2007; Teles, 2023).

METODOLOGIA:

AMOSTRAGEM: Foram realizadas amostragens contínuas em campo entre os meses de novembro de 2023 e janeiro de 2024. Foram coletados 60 indivíduos de *E. fosbergii*, os quais foram levados ao Laboratório de Ecologia de Interações e Agroecossistemas (LEIA) do Departamento de Biologia Animal da Unicamp. As plantas foram coletadas cortando na base rente ao solo. Em cada planta medimos:

1) Número de folhas da planta;

2) Área foliar observada. Para calcular a área foliar, todas as folhas de uma planta foram coladas em uma folha de papel sulfite. Seguidamente, foram escaneadas colocando uma medida de referência de tamanho (régua) no papel sulfite. O arquivo foi analisado com o *software ImageJ*, que permitiu que calculássemos a área foliar total da planta, assim como a área foliar de cada folha. Este cálculo de área foliar corresponde à área que observamos na planta, levando em consideração a perda de área para herbívoros;

3) Área foliar total. Para estimar a área total, ou seja, antes de sofrer herbivoria, reconstruímos a folha e estimamos a área foliar original da planta. Para isso, foram usadas as imagens descritas acima para reconstruirmos as folhas usando padrões de folhas intactas do mesmo tamanho das folhas danificadas;

4) Proporção da área foliar perdida para herbivoria. Usando as medidas obtidas acima, calculamos a área perdida para herbívoros subtraindo a área foliar observada da área foliar total. Dividindo este valor pela área foliar total obtivemos

a proporção perdida para herbivoria. A proporção perdida para herbivoria foi posteriormente dividida em duas categorias: proporção de área perdida por herbívoros mastigadores e proporção de área perdida por patógenos;

5) Biomassa da parte aérea. Após estimar as áreas foliares das plantas, as folhas foram secas em estufa a 60°C durante 72 horas. Após esse período, cada planta foi pesada para que obtivéssemos a biomassa seca;

6) Área foliar específica. A área foliar específica é uma medida de quanta biomassa é alocada por centímetro quadrado de folha. É uma medida que é importante para entender a alocação de recursos vegetais, mas também pode ser fundamental em determinar o consumo de folhas por herbívoros. Para calcular a área foliar específica dividimos a área foliar observada pela biomassa seca da planta;

7) Média do número de tricomas das folhas. Para contabilizar o número de tricomas na planta, foram cortados discos de 5mm de raio das folhas com o auxílio de um perfurador de papel. Uma vez cortados, todos os tricomas presentes nas faces adaxial e abaxial dos discos eram contabilizados. Como o número de tricomas pode variar entre estágios de desenvolvimento da folha (mais densos em folhas novas, porque ainda não se expandiram) e em diferentes lugares dentro da folha, foi empregada uma abordagem estratificada sistemática para contabilizar os tricomas de cada planta. Em cada planta foi usada uma folha nova, uma folha madura e uma folha de idade intermediária. Para determinar a posição em que os discos seriam posicionados, o comprimento de cada folha foi dividido em quatro segmentos, sendo cortado um disco no meio do segmento mais próximo e mais distante do pecíolo da folha, resultando em um total de dois discos por folha. A média de tricomas das folhas de cada planta foi estimada multiplicando a densidade de tricomas de cada folha por sua área foliar total e calculando a média de número de tricomas de toda a planta para as faces adaxial e abaxial.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS: Para entender as relações entre os atributos das plantas, no ambiente do *software R* (versão 4.3.1 2023.12.1+402) foram feitas correlações simples entre os atributos, e entre os atributos e dano por herbivoria. Ao mesmo passo, para entender a contribuição dos diferentes atributos para as variações observadas em variáveis preditoras, foram construídas diferentes modelos de regressão linear múltipla com proporção de área perdida, proporção de dano por patógeno, proporção de dano por mastigador, média do número de tricomas adaxiais, média do número de tricomas abaxiais, média do número de tricomas adaxiais de folhas jovens e média de número de tricomas abaxiais de folhas jovens como sendo variáveis resposta e os demais atributos quantificados como variáveis preditoras. Para cada modelo, foram realizados ajustes conforme eram verificadas as premissas de independência, homogeneidade e multicolinearidade das variâncias com testes de Fator de Inflação da Variância (VIF) e exames das variações e resíduos dos modelos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

No presente estudo, investigamos como a quantidade de tricomas de indivíduos de *Emilia fosbergii* se relaciona com a proporção de dano sofrido pelos mesmos, bem como diferentes atributos das plantas se relacionam com os tricomas e com o dano sofrido.

Realizamos uma análise de variância (ANOVA) para entender a relação entre número de tricomas abaxiais de folhas jovens e a proporção de área perdida pela planta. Os resultados da análise indicam a existência de uma relação estatisticamente significativa entre as variáveis, com uma estimativa de efeito da proporção de área perdida da planta sobre o número de tricomas abaxiais das folhas jovens de 518,5027 ($p = 0,0111$). Isto é, para cada uma unidade de aumento na proporção de área perdida pela planta, o número de tricomas abaxiais das folhas jovens sofre, em média, um aumento de 518,5027 unidades. Esse achado é um forte indicativo de que tricomas abaxiais são um atributo induzível em *E. fosbergii* em resposta a dano por herbívoros. Ademais, nossos resultados estão em consonância com trabalhos anteriores que sugerem um efeito positivo do dano sobre o número de tricomas (Traw & Dawson, 2002; Traw & Bergelson, 2003).

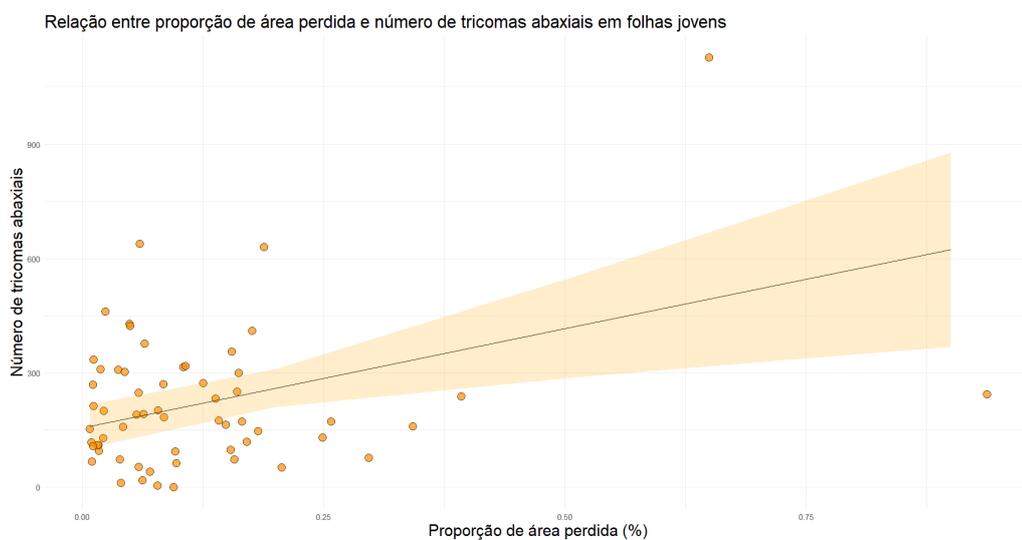


Figura 1 Gráfico mostrando a relação entre a proporção de área perdida e o número médio de tricomas abaxiais das folhas da planta. Pontos representam dados reais, a linha preta é a linha de ajuste, e a área sombreada é o intervalo de confiança.

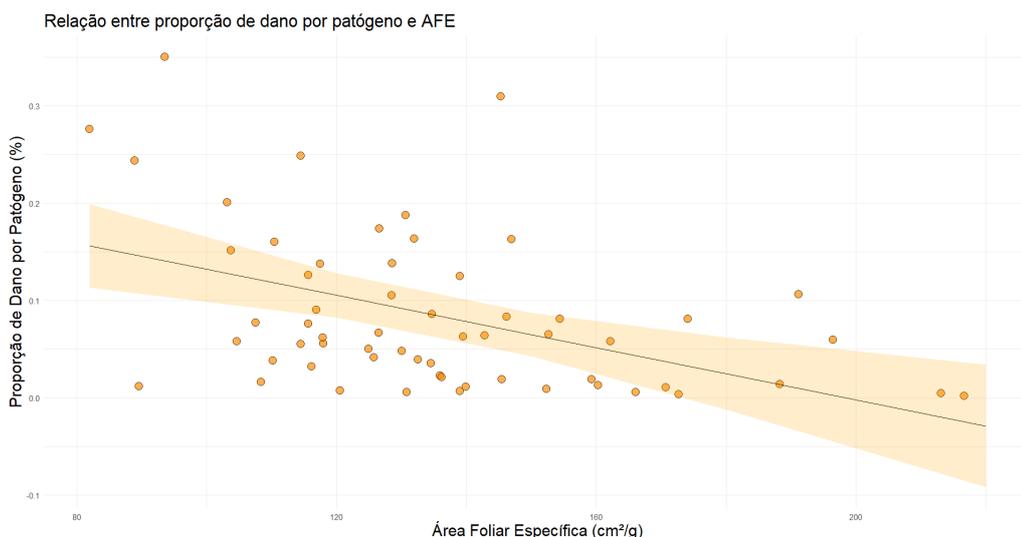


Figura 2 Gráfico mostrando a relação entre a proporção de dano por patógeno e área foliar específica da planta. Pontos representam dados reais, a linha preta é a linha de ajuste, e a área sombreada é o intervalo de confiança.

Também realizamos uma análise de variância (ANOVA) para entender a relação entre a proporção de dano por patógeno e a área foliar específica (AFE) da planta. Os resultados da análise indicam a existência de uma relação estatisticamente significativa entre as variáveis, com uma estimativa de efeito da área foliar específica sobre a proporção de dano por patógeno da planta de $-0,001175$ ($p = 0,000589$). Ou seja, para cada uma unidade de aumento na área foliar específica, a proporção de dano por patógeno da planta decresce em 0,001175 unidades. Curiosamente, esse achado vai contra a ideia de que plantas com alta AFE, por tenderem a possuir menos carboidratos estruturais na parede de suas células e mais carboidratos não-estruturais nas mesmas, têm seus

açúcares não-estruturais mais disponíveis a patógenos e, portanto, apresentam infecções por patógenos mais severas (Mediavilla, 2008; Toome, 2010). Contudo, considerando a perspectiva de que plantas mais longevas, expostas a dano por períodos mais longos, usualmente alocam mais carboidratos estruturais em suas folhas, tornando-as mais resistentes, faz sentido que plantas com menor AFE apresentem maior proporção de dano por patógenos (Mediavilla, 2008). Assim, nossos resultados indicam a existência de uma complexa relação entre AFE e proporção de dano por patógenos, de modo que fatores como a longevidade da planta possam interferir no comportamento das duas variáveis.

CONCLUSÕES:

Nossos resultados demonstraram a existência de uma relação positiva entre a proporção de área perdida em indivíduos de *Emilia fosbergii* e o número de tricomas da face abaxial de suas folhas jovens, indicando a possibilidade de tricomas serem um atributo induzível frente a dano mecânico na espécie. Paralelamente, demonstramos a existência de uma relação negativa entre área foliar específica e a proporção de dano por patógeno, resultado que difere do que temos estabelecido na literatura, mas que atribuímos a diferenças nos tempos de vida dos indivíduos amostrados. Os resultados encontrados fornecem uma base para compreender o comportamento dos tricomas em *E. fosbergii*, assim como o de outros atributos físicos que predizem resistência ou predisposição a danos na espécie. Também estabelecem um alicerce para, no futuro, fazer estudos focados nos herbívoros, permitindo investigar se tricomas reduzem o consumo de tecido vegetal consumido por estes. Além disso, ressaltam a importância da longevidade das plantas, um fator importante para a interpretação dos dados e para o planejamento de pesquisas futuras.

BIBLIOGRAFIA

- Agrawal, A. A. Benefits and costs of induced plant defense for *Lepidium virginicum*. **Ecology**, v. 81, p. 1804-1813, 2000.
- Agrawal, Anurag. Current trends in the evolutionary ecology of plant defence. **Functional Ecology**, v. 25, p. 420-432, 2011.
- Barton, K. E. Tougher and thornier: general patterns in the induction of physical defence traits. **Functional Ecology**, vol. 30, no. 2, pp. 181-187, 2016.
- Carmona, D.; Lajeunesse, M. J.; Johnson, M. T. J. Plant traits that predict resistance to herbivores. **Functional Ecology**, vol. 22, no. 4, pp. 358-367, 2008.
- Kessler, A.; Chautá, A. The ecological consequences of herbivore-induced plant responses on plant-pollinator interactions. **Emerging Topics in Life Sciences**, vol. 4, no. 1, pp. 33-43, 2020.
- Marquis, R. J. **Selective impact of herbivores. Plant Resistance to Herbivores and Pathogens: Ecology, Evolution, and Genetics**. The University of Chicago Press, Chicago, 1992.
- Mediavilla, Sonia et al. Testing the correlations between leaf life span and leaf structural reinforcement in 13 species of European Mediterranean woody plants. **Functional Ecology**, vol. 22, no. 5, pp. 787-793, 2008.
- Souza, F. O. **Asteraceae no Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia, SP**. 2007. Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo. 159 pp.
- Teles, A.M.; Freitas, F.S. *Emilia* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available at: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB16104>. Acessado em: 07 de maio de 2023.
- Toome, Merje; Heinsoo, Katrin; Luik, Anne. Relation between leaf rust (*Melampsora epitea*) severity and the specific leaf area in short rotation coppice willows. **European Journal of Plant Pathology**, vol. 126, pp. 583-588, 2010.
- Townsend, C. R.; Begon, M.; Harper, J. L. **Fundamentos em Ecologia**. 3rd ed., Porto Alegre: Artmed, 2013, 576 pp.
- Traw, M. B.; Bergelson, J. Interactive effects of jasmonic acid, salicylic acid, and gibberellin on induction of trichomes in *Arabidopsis*. **Plant physiology**, vol. 133, no. 3, pp. 1367-1375, 2003.
- Walters, Dale. **Plant Defense: Warding off attack by pathogens, herbivores, and parasitic plants**. Wiley-Blackwell, Chichester, 2011.