



INTERAÇÕES ENTRE UM MINADOR FOLIAR E *ERYTHROXYLUM TORTUOSUM* (ERYTHROXYLACEAE): PREFERÊNCIA DE OVIPOSIÇÃO, VARIAÇÃO HIERÁRQUICA DO TEOR DE ÁGUA E ESTIMATIVA DE SUCESSO NO ESTABELECIMENTO DAS MINAS

Sibio, P.R

Rossi, M.N

Isibio@ibb.unesp.br; Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (Unesp), Instituto de Biociências, Depto. de Botânica, Distrito de Rubião Junior, s/n, Cep: 18618 - 000 Botucatu - SP.
2Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo (Unifesp/Diadema), Diadema, SP

INTRODUÇÃO

As relações tróficas entre insetos e plantas são fundamentais para a evolução e desenvolvimento dos dois grupos, pois muitos aspectos na vida dos insetos, tais como comportamento, fisiologia e ecologia, dependem da qualidade do recurso (Pizzamiglio, 1991). Os insetos minadores geralmente não são capazes de trocar de sítio de alimentação (Stiling, 1999), portanto, a escolha inicial do recurso é essencial para o sucesso no seu desenvolvimento, e o inseto pode então exercer uma forte seleção por melhores plantas hospedeiras (Rice & Hostert, 1993).

Um aspecto muito importante no estudo da ecologia de insetos minadores é a distribuição dos indivíduos entre as plantas e entre as folhas da espécie hospedeira (Tuomi *et al.*, 1981; Stiling *et al.*, 1982; Bultman & Faeth 1986; Simberloff & Stiling, 1987; Faeth, 1990). Estudos dessa natureza são de grande importância, pois revelam mecanismos de escolha do local de oviposição, o que é fundamental para a sobrevivência da progênie desses insetos devido ao hábito sedentário das larvas (Ohgushi, 1992). Alguns estudos indicam que folhas com maior teor de água são geralmente preferidas pelos insetos herbívoros, sendo a água, portanto, um fator fundamental para sua performance (Scriber & Slansky, 1981; Holton *et al.*, 2003; Coley *et al.*, 2006).

Alguns estudos clássicos de interações inseto - planta consideram as plantas como unidades discretas homogêneas, como se fossem “ilhas” de recursos, capazes de causar variações nas densidades populacionais dos herbívoros, bem como em características comportamentais (Edmunds & Alstad, 1978; Schultz & Baldwin, 1982; Crawley, 1985). No entanto, sabe-se que variações de certos traços vegetais podem ocorrer em diversas escalas espaciais, ou seja, variações são esperadas em escalas maiores do que plantas e no interior das plantas, criando níveis hierárquicos de variabilidade, aos quais os insetos herbívoros devem responder diferentemente

(Denno & McClure, 1983; Neeman, 1993; Hwang & Lindroth, 1997; Fortin & Mauffette, 2002; Roslin *et al.*, 2006). Dependendo da variável de interesse, o entendimento do nível de variabilidade através de um gradiente hierárquico é muito importante para o estabelecimento de estratégias corretas de amostragem (Roslin *et al.*, 2006).

Erythroxylum tortuosum Mart. é uma planta arbustiva - arbórea típica dos cerrados (Amaral Jr., 1973), caracteriza-se por ser uma planta decídua, com as folhas aglomeradas no ápice do ramo. A abscisão de folhas inicia-se em meados de junho, e a queda total das folhas dá-se por volta de agosto até início de setembro. Nas folhas desta planta ocorre a formação de minas provocadas pela infestação das lagartas do microlepidóptero *Agnippe* sp. (Lepidoptera: Gelechiidae), sendo este minador específico para esta planta (Ishino, 2007).

OBJETIVOS

Uma característica das folhas de *E. tortuosum* é que estas formam aglomerados nas extremidades de pequenos ramos, formando claras unidades discretas dentro de um contexto espacial. Portanto, os principais objetivos propostos no presente estudo são: 1) determinar a variabilidade do teor de água através de diferentes níveis hierárquicos (escalas espaciais) em *E. tortuosum*; 2) verificar se as fêmeas de *Agnippe* sp. preferem ovipor em folhas com maior ou menor teor de água, dentro do nível de resolução espacial de maior variabilidade. Com a contagem de ovos e minas, também foi investigado se o número de ovos encontrados nas folhas estava correlacionado com o número de minas estabelecidas, determinando-se a mortalidade aproximada no momento do estabelecimento das minas.

MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo foram utilizados indivíduos de *E. tortuosum* ocorrentes em fragmento de Cerrado pertencente à Fazenda Palmeira - da - Serra (22°48'50" S; 48°44'35" W), localizada nas proximidades do município de Pratânia - SP. As plantas foram marcadas ao acaso através da delimitação de transectos (150m x 20m).

Para estudar a variação hierárquica do teor de água, cinco plantas foram marcadas ao acaso nos transectos. Em cada planta foram marcados dois ramos, de cada ramo foram marcadas duas bifurcações e de cada bifurcação foram marcados três aglomerados de folhas. Todas as folhas de cada aglomerado foram coletadas, individualizadas em sacos de papel e identificadas. As folhas foram coletadas quando estavam bem desenvolvidas, porém ainda jovens sem a presença de minas. Após a coleta as folhas foram levadas ao laboratório e pesadas individualmente (peso fresco - PF) e colocadas em estufa a 500C por 72 horas. Após a secagem, as folhas foram novamente pesadas, obtendo - se o peso seco (PS), calculando - se o teor de água para cada folha (Teor de água (%) = (PF - PS) *100/PF).

Para investigar a oviposição, foram selecionadas nove plantas. Foi observada a ocorrência de ovos do minador no período mais intenso de oviposição (novembro - dezembro), em dois momentos distintos. Quando ocorria o aparecimento de ovos em determinada folha, esta era coletada juntamente com uma folha sem ovos nas proximidades. Após a coleta, as folhas com e sem postura foram levadas ao laboratório, onde se determinou o teor de água, e as coletas foram feitas apenas registrando - se a planta de origem.

Para a quantificação do número de ovos e estimativa da mortalidade do minador na fase inicial de desenvolvimento, 149 folhas contendo ovos foram selecionadas ao acaso na população, registrando - se, no campo, o número de ovos por folha. Nas plantas selecionadas, acompanhou - se periodicamente no campo o número de minas estabelecidas.

Foi feita análise dos componentes da variância para efeitos randômicos (níveis hierárquicos de variação) (Gotelli & Ellison, 2004; Crawley, 2005), promovendo assim a repartição da variância. A variável aglomerado de folhas foi agrupada (*nested design*) na variável bifurcação, a qual foi agrupada na variável ramos, a qual, por sua vez, foi agrupada na variável planta. Todas as variáveis foram consideradas como randômicas. Através da repartição da variância, a proporção com que cada nível hierárquico contribui para a variância total é conhecida. A proporção da variância (PV) é calculada por $PV = S2E / (S2E + S2D)$, em que S2D representa a variância dentro de um grupo, e S2E representa a variância entre os grupos (Gotelli & Ellison, 2004). Um alto valor de PV, também conhecido como coeficiente de correlação intraclassa (Zar, 1999), representa o caso onde a maior parte da variância está entre os grupos e não dentro destes. Estas análises foram feitas usando o sistema R para Windows, versão 2.7.1 (R, 2008). Após a estimativa da proporção da variância para cada nível hierárquico considerando - se o teor de água, os respectivos intervalos de confiança (95%) foram obtidos por *Bootstrap* (1000 simulações) pelo programa BioEstat 5.0 (Ayres, 2007).

Após a determinação dos níveis de variabilidade do teor de água, as comparações entre os valores médios foram feitas

entre folhas com e sem ovos através de Análise de variância (Two - Way Anova) (Zar, 1999). Portanto, as comparações do teor de água foram feitas entre plantas, entre folhas e considerando a interações entre os fatores (planta x folha).

RESULTADOS

Pela análise de repartição da variância constatou - se que o nível de variabilidade dependeu da escala investigada. A maior variabilidade encontrada para o teor de água foi em nível de planta(47%), seguida pela variabilidade em nível de folha (26%), representada pelo resíduo.

As comparações do teor de água demonstraram diferenças significativas entre plantas ($F = 38,85$; $P < 0,0001$) e entre folhas ($F = 5,78$; $P < 0,043$). Apesar de não ter havido diferença significativa para efeito de interação ($F = 1,22$; $P < 0,287$), comparações pareadas dos valores médios do teor de água das folhas com e sem ovos em cada planta foram feitas pelo teste LSD (*Least Significant Difference*). Na maioria das vezes as folhas com ovos apresentavam menores teores de água ($P = 0,001$). Portanto, as plantas de *E. tortuosum* podem ser consideradas como unidades discretas de recurso para o teor de água, o qual parece ser importante para o minador no momento da escolha do recurso. Alguns estudos mostram que folhas com maior teor de água são preferidas por muitos insetos herbívoros, sendo um fator fundamental para o desempenho (Scriber & Slansky, 1981; Holton *et al.*, 2003; Coley *et al.*, 2006). No entanto, os resultados do presente estudo corroboram os achados de Ishino (2007), que encontrou que no momento da oviposição as fêmeas de *Agnippe* sp. preferiram ovipor em folhas com menores teores de água. Este autor sugere que a alta umidade poderia favorecer a proliferação de microrganismos entomopatogênicos nas minas, aumentando a mortalidade dos minadores. Outro argumento apresentado por Ishino (2007) é que o alimento ideal para as larvas não seria o mesmo para as mariposas adultas, as quais não estariam selecionando um recurso ideal na oviposição para o desenvolvimento dos seus descendentes. Apesar de em geral as fêmeas preferirem ovipor em plantas onde a prole apresentará um bom desenvolvimento (Awmack & Leather, 2002), é possível que os recursos utilizados pelos adultos e pelas larvas não sejam fisicamente e quimicamente idênticos. Portanto, é possível que as fêmeas tenham preferência por folhas mais secas, das quais houve a emergência dos adultos.

Os resultados também mostram que o fator "planta" foi importante para demonstrar variação do teor de água entre as folhas, pois exatamente neste nível de resolução espacial é onde se espera uma maior variabilidade deste traço. E justamente a variabilidade entre folhas ocupou o segundo lugar nos níveis hierárquicos, o que sugere que estes insetos selecionam plantas de menor teor de água e, uma vez dentro da planta, uma nova seleção por folhas pode ocorrer para a oviposição.

A quantidade média de ovos por folha foi de 5,2 ($\pm 4,66$), com o mínimo de 1 e máximo de 22 ovos por folha. Apesar da variabilidade no número de ovos ter sido grande, constatou - se uma predominância de folhas com 1, 2, ou 3 ovos, representando, quando somados, 51,68% das observações. As observações de folhas minadas mostraram folhas com

uma, duas ou três minas apenas, e a proporção de folhas contendo uma mina foi muito maior do que as proporções de folhas com duas ou três minas, para todas as fases de desenvolvimento. Almeida - Cortez *et al.*, (2006) também observaram em *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy (Clusiaceae), uma maior predominância de folhas com uma mina, correspondendo a 67% das folhas coletadas. A grande maioria das folhas apresentou apenas uma mina, mostrando mortalidade relativamente baixa do estágio de ovos para o estágio larval, uma vez que a maioria das folhas continha de 1 a 3 ovos.

CONCLUSÃO

No presente estudo, concluiu-se que a maior variabilidade do teor de água ocorre entre as plantas da população, e as fêmeas de *Agnippe* sp. apresentam preferência de oviposição por folhas com menores teores de água. Houve uma mortalidade relativamente baixa do estágio de ovos para o estágio larval.

REFERÊNCIAS

- Almeida - Cortez, J.S & Melo - de-Pinna, G.F.A. 2006 Morphology and anatomy of a leaf miner in *Vismia guianensis* (AUBL.) Choisy (Clusiaceae) in fragment of Brazilian Atlantic Forest. *Brazilian Journal of Biology* **66**, 759 - 763.
- Amaral Jr., A. 1973 O gênero *Erythroxyllum* no município de Botucatu, São Paulo. Tese de doutorado em Ciências-Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, Botucatu, SP.
- Awmack, C.S. & Leather, S.R. 2002 Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* **47**, 817 - 844.
- Ayres, M., Ayres Jr., M., Ayres, D.L. & dos Santos, A.S. 2007 BioStat: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas; versão 5.0. Instituto de Desenvolvimento sustentável Mamirauá, IDS/MCT/CNPq, Belém - PA, Brasil.
- Bultman, T.L. & Faeth, S.H. 1986 Leaf size selection by leaf - mining insects on *Quercus emoryi*(Fagaceae). *Oikos* **46**, 311 - 316.
- Coley, P.D., Bateman, M.L. & Kursar, T.A. 2006 The effects of plant quality on caterpillar growth and defense against natural enemies. *Oikos* **115**, 219-228.
- Crawley, M.J. 1985 Reduction of oak fecundity by low - density herbivore populations. *Nature* **314**, 163 - 164.
- Crawley, M.J. 2005 Are grazing increaser species better tolerators than decreasers? An experimental assessment of defoliation tolerance in eight british grassland species. *Journal of Ecology* **93**, 1005 - 1016.
- Denno, R.F. & McClure, M.S. 1983 Variable plants and herbivores in natural and managed systems. Academic Press.
- Edmunds, G.F.Jr. & Alstad, D.N. 1978 Coevolution in insect herbivores and conifers. *Science* **199**, 941 - 945.
- Faeth, S.H. 1990 Aggregation of leafminer, *Cameraria* sp. nov. (Davis): Consequences and causes. *Journal Animal Ecology* **59**, 569 - 586.
- Fortin, M. & Mauffette, Y. 2002 The suitability of leaves from different canopy layers for a generalist herbivore (Lepidoptera: Lasiocampidae) foraging on sugar maple *Canadian Journal of Forest Research* **32**, 379 - 389.
- Gotelli, N.J. & Ellison, A.M. 2004 A Primer of Ecological Statistics. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Holton, M.K., Lindroth, R.L. & Nordheim, E.V. 2003 Foliar quality influences tree - herbivore - parasitoid interactions: effects of elevated CO₂, O₃, and plant genotype. *Oecologia* **137**, 233-244.
- Hwang, S.Y. & Lindroth, R.L. 1997 Clonal variation in foliar chemistry of aspen: effects on gypsy moths and forest tent caterpillars. *Oecologia* **111**, 99 - 108.
- Ishino, M.N. 2007 Efeito da assimetria flutuante nos padrões de herbivoria de um minador foliar em *Erythroxyllum totuosum* Mart. (Erythroxylaceae). Dissertação (mestrado). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.
- Neeman, G. 1993 Variation in leaf phenology and habit in *Quercus ithaburensis*, a Mediterranean deciduous tree. *Journal.Ecology* **81**, 627 - 634.
- Ohgushi, T. 1992 Resource limitation on insect herbivore populations. Effects of resource distribution on animal plant - insections (eds. M.D., Hunter, T., Ogushi & P.W., Price), pp. 200 - 243. Academic Press, New York.
- Pizzamiglio, M.A. 1991 Ecologia das interações inseto - planta. Ecologia Nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas. (eds. A. Panizzi & J.R. Parra), pp. 101 - 121. Manole Ltda., São Paulo.
- R 2008 The R Foundation for Statistical Computing, version 2.7.1.
- Rice, W.R. & Hostert, E.E. 1993 Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years? *Evolution* **47**, 1637-1653.
- Roslin, T., Gripenberg, S., Salminen, J.P., Karonen, M., O'Hara, R.B., Pihlaja, K. & Pulkkinen, P. 2006 Seeing the trees for the leaves - oaks as mosaics for a host - specific moth. *Oikos* **113**, 106 - 120.
- Schultz, J.C. & Baldwin, I.T. 1982 Oak leaf quality declines in response to defoliation by gypsy moth larvae. *Science* **217**, 149 - 151.
- Scriber, J. M. & Slansky, F. J. 1981 The nutritional ecology of immature arthropods. *Annual Review of Entomology*, **26**, 183-211.
- Simberloff, D. & Stiling, P. 1987 Larval dispersion and survivorship in a leaf - mining moth. *Ecology* **68**, 1647 - 1657.
- Stiling, P., Brodbeck, B.V. & Strong, D.R. 1982 Foliar nitrogen and larval parasitism as determinants of leafminer distribution patterns on *Spartina alterniflora*. *Ecological Entomology* **7**, 447 - 452.
- Stiling, P.D. 1999 Ecology: theories and applications. Prentice Hall, New Jersey, NJ.
- Tuomi, J., Niemelä, P. & Mannila, R. 1981 Leaves as islands: interactions of *Scolioneura betuleti* (Hymenoptera) miners in birch leaves. *Oikos* **37**, 146 - 152.
- Zar, J.H. 1999 Biostatistical analysis. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.