



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



Galhas lenhosas em caules de três espécies de Leguminosas do Chaco

DANIELLE BOIN BORGES

Orientação: Dr^a Edna Scremen Dias

Campo Grande - MS

Junho/2014



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



Galhas lenhosas em caules de três espécies de Leguminosas do Chaco

DANIELLE BOIN BORGES

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal junto ao colegiado de curso do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Orientação: Dr^a Edna Scremin Dias

Campo Grande - MS

Junho/2014

BANCA EXAMINADORA

Dr^a Edna Scremen Dias (Orientadora)
(Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS)

Dr. Paulo Robson de Souza (Titular)
(Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS)

Dr^a. Rosy Mary dos Santos Isaias (Titular)
(Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG)

Dr^a. Rosani do Carmo de Oliveira Arruda (Suplente)
(Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS)

Borges, Danielle Boin

Galhas lenhosas em caules de três espécies de Leguminosas do Chaco

Danielle Boin Borges - UFMS, Campo Grande-MS, 2014.

Orientadora: Edna Scremin Dias

Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Palavras-chave: interação inseto-planta, anatomia, morfologia.

*À Deus dedit e Zelda,
pelo apoio acima de tudo.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais, a quem dedico esse trabalho, por terem me possibilitado a oportunidade de sempre estudar mesmo quando o dinheiro estava apertado, e sempre incentivar isso em mim. Vocês são tudo de bom!

Ao meu marido Felipe por nos momentos de aperto financeiro, me sustentar, rss. Acho que acertei casando com você!

Ao meu irmão Danilo pelas caronas. Minha sogra Ricardina, minha vovó Glorinha, minhas tias e todos meus familiares.

Aos meus amigos, entre eles Jayana, presente mesmo distante. Me ajudando com as neurases quando eu estava surtando de vez com o mestrado, com as normas, rss. Jayana, você é o máximo!

À Ana, por também me ajudar com as neurases, rss.

Aos meus queridos amigos de Mestrado, os momentos vividos com vocês foram valiosos, momentos de festa, momentos tensos de coletas, momentos de aperto sem bolsa e mesmo assim os que tinham sempre nos ajudando, momentos que serão lembrados pro resto da minha vida, que será longa, afinal: “O que vai ser de mim se eu morrer”, hehehehhehehe.

Às minhas miguxas ninfa bebê, vulgo Camila, Jacque, Ivanda, Ana e Luciana... Meninas, “eu I love you vcs”.

À minha amicaaaaa... Andréa por viajar comigo pro Pants e tornar tudo mais divertido, por me ajudar no lab e pelas conversas sempre.

Quero agradecer meus queridos amigos que me ajudaram no laboratório no momento de aperto, que são eles João Pedro Bento, Dario.

À Aline (Nina) e Marianinha e prof Ângela Sartori pela adorável companhia.

À Tamires e maninho Alexandre Ferrado (hehehehheheh), Jane, Wand e Diogo pela grande ajuda, compreensão e companhia...

Aos técnicos de um modo geral.

Ao grupo de coletas Pantanal, dissertação (parte 1). Sendo eles João, Gisele Catian (inclusive agora nos momentos de correção – sempre disposta a ajudar), Bel (que sempre fez as viagens mais divertidas).

Ao meu querido primeiro coorientador Augusto Ribas.

Ao pessoal do Pantanal (BEP)

À TODOS meus professores da Biologia Vegetal, pelo aprendizado. Ao professor Geraldinho sempre bom de prosear, à professora Vali sempre doce e dedicada, à professora Ângela Sartori linda.

Ao professor Ramon pela identificação das larvas.

Ao professor Paulo Robson pela companhia e ensinamentos de coleta, pro ajudar em tudo nesse trabalho, graças a ele esse trabalho não teria saído.

À professora Edna pela orientação, ajuda nos momentos de aperto, ensinamentos de anatomia e por me levar pra anatomia, rss. Sem você esse trabalho também não teria saído.

À Ariana, aos coordenadores!

Ao pessoal do Cursinho UFMS do Colégio Status pela oportunidade.

Espero não estar esquecendo de ninguém.

Muito obrigada a todos por fazerem parte do meu trabalho e da minha vida! Sem vocês eu não sou ninguém!

“As cobranças devem ser proporcionais as nossas responsabilidades”

Milton Omar Cordova Neyra

SUMÁRIO

Normas para publicação.....	10
Galhas lenhosas em caules de três espécies de Leguminosas do Chaco.....	17
Resumo.....	17
Abstract.....	17
Introdução.....	18
Material e métodos.....	20
Resultados.....	21
Discussão.....	24
Referências.....	27
Figuras.....	30
Considerações Finais.....	35

NORMAS DA REVISTA PARA QUAL O ARTIGO SERÁ SUBMETIDO:
JOURNAL OF ARID ENVIRONMENTS

GUIDE FOR AUTHORS.

PREPARATION

Use of wordprocessing software It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>).

Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor. Article structure Subdivision - numbered sections Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering).

Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Introduction State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results. Material and methods Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described. Appendices If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix. Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc. Essential title page information:

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- Author names and affiliations. Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of

refereeing and publication, also post-publication. Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.

- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Plant names

Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature.

Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.
Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as 'graphics' or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:
<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF: Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is'. Please do not:

- Supply files that are optimised for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Non-electronic artwork

Provide all illustrations as high-quality printouts, suitable for reproduction (which may include reduction) without retouching. Number illustrations consecutively in the order in which they are referred to in the text. They should accompany the manuscript, but should not be included within the text. Clearly mark all illustrations on the back (or - in case of line drawings - on the lower front side) with the figure number and the author's name and, in cases of ambiguity, the correct orientation. Mark the appropriate position of a figure in the article.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication. Regular research papers have a reference limit of 50 cites and short communications should not exceed 20 cites.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list. References in a special issue Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference style Text: All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. Two authors: both authors' names and the year of publication;
3. Three or more authors: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically. Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown' List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication. Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book: Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith , R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304. Please note that Journal names and references should be provided in full.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include these within the body of the article.

This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high- resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including:

ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Linking to and depositing data at PANGAEA

Electronic archiving of supplementary data enables readers to replicate, verify and build upon the conclusions published in your paper. We recommend that data should be deposited in the data library PANGAEA (<http://www.pangaea.de>). Data are quality controlled and archived by an editor in standard machine-readable formats and are available via Open Access. After processing, the author receives an identifier (DOI) linking to the supplements for checking. As your data sets will be citable you might want to refer to them in your article. In any case, data supplements and the article will be automatically linked as in the following example: doi:10.1016/0016-7037(95)00105-9. Please use PANGAEA's web interface to submit your data (<http://www.pangaea.de/submit/>).

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item. Ensure that the following items are present: One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers All necessary files have been uploaded, and contain:
- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes) Further considerations
- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and- white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

Galhas lenhosas em caules de três espécies de Leguminosas do Chaco

RESUMO

Galhas são crescimentos especializados em tecidos vegetais provocados devido à hiperplasia tecidual e/ou hipertrofia celular induzidas por vários organismos, os quais uma vez estabelecidos obtêm alimento e abrigo. Consiste numa defesa da planta e um indicador de ambientes em que as espécies galhadas são encontradas. Visto que a riqueza de insetos indutores de galhas é alta em ambientes xerofíticos como o Chaco, e a relação entre as galhas lenhosas das espécies deste ambiente e os organismos que as utilizam como abrigo, descrevemos a estrutura morfoanatômica de galhas caulinares de três espécies de *Prosopis* sp. - *Prosopis nigra* (Griseb.) Hieron., *Prosopis rubriflora* Hassl. e *Prosopis ruscifolia* Griseb. -, avaliamos os recursos fornecidos aos seus indutores, e descrevemos o padrão desta estrutura para as espécies que as utilizam. Caules com galhas foram coletados em remanescente de Chaco e analisados a partir das técnicas usuais em anatomia vegetal. Larvas de Diptera foram encontradas em *P. nigra* e *P. ruscifolia*, e larvas de Lepidoptera encontradas em *P. rubriflora*. As três espécies de plantas tiveram o mesmo padrão de galhas, com surgimento ou aumento de compostos fenólicos, esclerênquima e vascularização na região injuriada. Assim como os compostos fenólicos e tecidos parenquimáticos constituem a nutrição das larvas de Diptera e Lepidoptera, a formação de tecidos lignificados e fibras gelatinosas permitem proteção às mesmas contra seus predadores, além de servirem como abrigo para esses indutores e/ou inquilinos de galhas, como formigas para a espécie de *Prosopis ruscifolia* Griseb.

Palavras-chave: interação inseto-planta, anatomia, morfologia.

Woody galls in stems of three species of legumesae Chaco

ABSTRACT

Galls are specialized growth on plant tissues caused due hyperplasia and/or cellular hypertrophy induced by several organisms, which once established, acquire food and shelter. Consists of a plant defense and an indicator of environments in which the galled species are found. Whereas gall-inducing insects richness are high in xerophytic environments as Chaco, and the relationship between woody galls of the species of this site and the organisms that use them as shelter, we described the morpho-anatomical structure of stem galls on three species of *Prosopis* sp. - *Prosopis nigra* (Griseb.) Hieron, *Prosopis rubriflora* Hassl. and *Prosopis ruscifolia* Griseb. -, evaluated the resources provided to its inducers and described the pattern of this structure for species that use them. Galled stems were collected in remaining of Chaco and analyzed by usual techniques on plant anatomy. Diptera larvae were found in *P. Nigra* and *P. ruscifolia*, and Lepidoptera larvae were found in *P. rubriflora*. All plants species had the same gall pattern, with phenolic compounds, sclerenchyma and vascularization emergence or increasing on the injured part. As well as phenolic compounds and parenchymatous tissue consists on Diptera and Lepidoptera larvae nourishment, lignified tissues and gelatinous fibers forming allow protection for the same against predators, besides serving as a shelter for gall inducers and/or tenants, such as ants for *Prosopis ruscifolia* Griseb. species.

Keywords: insect-plant interactions, anatomy, morphology.

Galhas lenhosas em caules de três espécies de Leguminosas do Chaco.

Danielle Boin Borges & Edna Scremen-Dias *

Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária s/n, Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

1. Introdução

As interações entre organismos estão presentes em todas as esferas ecológicas, desde o interior dos organismos, sejam eles invertebrados ou grandes vertebrados, plantas, fungos ou microorganismos, ou seja, variam no tipo de organismos que se relacionam, bem como nos seus resultados (Del-Claro, 2011), sendo a herbivoria uma das mais conhecidas, pois nesta relação inseto-planta, os animais se alimentam de óleos, resinas, e qualquer tecido vegetal (Trigo *et al.*, 2011) e, muitas vezes provocam grandes perdas econômicas quando em altas taxas de colonização.

Ao longo do curso evolutivo, as plantas desenvolveram diversos tipos de defesas, a exemplo da presença de espinhos e tricomas, rigidez dos tecidos, acúmulo de alcalóides e taninos, florescimento em épocas em que há menos inimigos naturais e associação com espécies protetoras (Del-Claro, 2004; Trigo *et al.*, 2011; Marquis, 2011). Os animais, por sua vez, desenvolveram contra-adaptações às defesas vegetais, utilizando as defesas em seu próprio benefício (Oliveira *et al.*, 2011), no caso das galhas.

A formação de galhas denominadas tumores de planta consiste numa das formas de defesa da planta, resultante da hipertrofia e/ou hiperplasia (Gullan e Cranston, 2007) e, para alguns autores, neoplasia celular que podem ser induzidas por grande diversidade de organismos, entre eles bactérias, fungos, nematóides, ácaros e, na sua maioria, insetos (Fernandes e Martins, 1985).

Acredita-se que a indução de galhas pode ter evoluído da minação ou perfuração de plantas ou da alimentação dos insetos na superfície, gerando benefícios aos insetos, pois as galhas acabaram servindo, além de alimento, para abrigo e proteção dos indutores. Ao servirem de abrigo para os insetos, as galhas possibilitam que eles se escondam de parasitas incapazes de penetrar as galhas, devido às suas paredes grossas e lenhosas formadas (Gullan e Cranston, 2007).

Os galhadores são considerados engenheiros de micro-habitats (Sanver e Hawkins, 2000), possibilitando com a formação da galha a chegada de diversos outros indivíduos como predadores, parasitóides, inquilinos e cecidófagos (Sugiura *et al.*, 2004; Sugiura e Yamazaki, 2009). São descritos na literatura, casos em que parasitas ou parasitóides de insetos se especializam em se alimentar de insetos que vivem em galhas, o que dificulta

* Autor para correspondência. Email: edna-scremin.dias@ufms.br

determinar quais indivíduos são os indutores iniciais da galha (Gullan e Cranston, 2007). Inquilinos e cecidófagos não conseguem formar galhas, apenas se alimentam dos tecidos das galhas, a diferença entre os inquilinos e cecidófagos é que os inquilinos estão relacionados com o galhador e os cecidófagos não (Sugiura e Yamazaki, 2009).

Os principais animais indutores de galhas, em número de espécies, estão representados por apenas quatro ordens de insetos – Hemiptera, Diptera, Hymenoptera e Lepidoptera (Gullan e Cranston, 2007). Galhas induzidas por insetos resultam de um tipo muito especializado de interação inseto-planta, onde a morfologia da galha é alterada de acordo com o inseto causador dela (Nyman *et al.*, 2000).

Dentre os insetos encontrados em galhas, formigas possuem poucos representantes associados, sendo somente sete espécies encontradas em galhas (Araújo *et al.*, 1995). Isso porque as formigas são animais com dieta muito diversificada, se alimentando de animais, fungos e de vegetais (Hölldobler e Wilson, 1990). Nesse caso, as galhas são um excelente recurso alimentar, pois as células nutritivas que recobrem a cavidade de galhas contêm altas concentrações de açúcares, proteínas e lipídeos quando comparados com as células vegetais fora das galhas. Dessa forma, uma vantagem de se alimentar do tecido de uma galha, em vez do tecido vegetal normal, é a disponibilidade de alimento de alta qualidade (Fernandes, 1987 *apud* Del-Claro, 2011).

A anatomia da galha indica aumento da vascularização (Bedetti *et al.*, 2013), e de tecidos esclerofílicos (Gullan e Cranston, 2007) que, muitas vezes, são importantes e podem indicar os ambientes em que as espécies galhadas são encontradas (Gullan & Cranston, 2007). Assim, ambientes em que a vegetação tem acentuada esclerofilia, em geral, são ambientes com variação sazonal da umidade (Gullan e Cranston, 2007) e, a riqueza de insetos indutores de galhas é alta em habitats xéricos (Fernandes e Martins, 1985). Estudos com galhas lenhosas não são comumente elaborados, sendo descritos na literatura poucos casos, como o de Best *et al.* (2004).

Algumas espécies do Chaco fornecem abrigo para formigas, sendo observadas galhas lenhosas habitadas por estes organismos, após serem abandonadas por seus indutores. A fitofisionomia do Chaco é conhecida pelo déficit hídrico e variação sazonal de umidade (Pennington *et al.*, 2000). Aparte deste bioma ocorrente em território brasileiro encontra-se nos domínios do Pantanal, com marcada sazonalidade hídrica com excesso e déficit de água ao longo do ciclo. A relação entre espécies arbóreas do Chaco e as formigas ainda são pouco conhecidas, especialmente quanto aos recursos, além do abrigo, que as formigas poderiam estar obtendo das galhas lenhosas habitadas. Esse estudo objetiva descrever a estrutura morfoanatômica de galhas caulinares de três espécies de *Prosopis* sp. do Chaco, avaliar os recursos fornecidos aos seus indutores, e descrever o padrão desta estrutura para as espécies que a utilizam.

2. Material e métodos

2.1 Área de estudo

Os caules com galhas foram coletados em remanescente de Chaco localizado nas Fazendas Santa Virgínia, Fazenda Retiro Conceição e em um dique construído ao redor do município de Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul ($21^{\circ}42'04''S$, $57^{\circ}53'06''W$). A formação chaquenha estudada é categorizada como Savana Estépica Arbórea (IBGE, 1992) e está situada no Pantanal, sub-região de Porto Murtinho (Silva e Abdon, 1998). O clima do Chaco é caracterizado por forte sazonalidade, com verão quente com máxima de até $49^{\circ}C$ e inverno seco e frio, com geadas (Nunes, 2006). A pluviosidade diminui de 1000 mm/ano a leste a menos de 550 mm/ano a oeste, com uma estação seca no inverno e primavera e uma estação chuvosa no verão. Os solos na região chaquenha são derivados do acúmulo maciço de fino sedimento eólico e aluvial no Quaternário, sendo que a ausência de rochas resulta em solo compacto que impede a drenagem e, desta forma a vegetação do Chaco está sujeita a solo com baixa umidade, a ocorrência de baixa temperatura na estação seca e extremamente elevada na chuvosa e com alagamento temporário (Pennington *et al.*, 2000).

2.2 Coleta de dados

As coletas foram feitas aleatoriamente em plantas das espécies *Prosopis nigra* (Griseb.) Hieron., *Prosopis rubriflora* Hassl. e *Prosopis ruscifolia* Griseb, obtendo-se um total de cinco indivíduos para cada uma das espécies. Dos indivíduos de *P. ruscifolia* coletados, cinco deles são morfologicamente diferenciados dos demais que, aparentemente, pode ser um híbrido da mesma espécie. Para todas as espécies, indivíduos floridos foram herborizados e exsicatas estão sendo preparadas para incorporação ao herbário CGMS/UFMS.

O material coletado foi fixado em FNT ou FAA 70% (Johansen, 1940) e, posteriormente, desidratado até álcool 70% para melhor conservação do material a ser processado. Para confecção de lâmina permanentes o material foi processado em PEG (Polietilenoglicol) e os cortes realizados em micrótomo de deslize, com auxílio de uma fita adesiva para mantê-los em série. As secções foram coradas com azul de alcian e safranina etanólicos (Bukatash, 1972 *apud* Kraus e Arduin, 1997) e desidratados até álcool 100%, infiltrados em acetato de n-butila, retirada a fita adesiva e montadas da lâmina permanente em entellan.

A análise do material foi conduzida em microscópio fotônico e a documentação elaborada em Microscópio Zeiss, acoplado ao sistema de captura de imagem.

3. Resultados

3.1 Morfologia das galhas

Prosopis nigra possui a superfície do caule galhado com fissuras longitudinais (Figura 1), evidentemente maiores que nos caules não galhados. Os espinhos e caules possuem orifícios (Figura 2), provavelmente o local de saída do galhador após completar seu ciclo no interior da planta. Estes orifícios servirão para colonização da galha. Mesmo para alguns espinhos que não possuem galhas evidentes externamente, grandes quantidades de orifícios são visíveis ao longo dos entrenós e espinhos. Larvas da ordem Diptera foram encontradas tanto nos entrenós caulinares quanto nos espinhos, evidenciando que indivíduos desta ordem serem os indutores das galhas.

Nos caules, aparentemente saudáveis de *Prosopis rubriflora*, ocorre grande quantidade de tricomas, lenticelas e alguns orifícios evidentes. As galhas distribuem-se em ramos e gemas laterais, sendo alguns ramos congestos no ápice da galha (Figuras 3 e 4). É visível nos caules com galhas fissuras longitudinais maiores e mais evidentes que nos caules sem galhas e, para essa espécie a indução da galha ocorreu por larvas da ordem Lepidoptera.

Prosopis ruscifolia possui espinhos e caules sadios com superfície glabra, os espinhos retilíneos e com superfície estriada . A superfície externa dos caules com galha ocorrem fissuras (Figura 5) e, em algumas galhas completamente desenvolvidas, há grande quantidade de orifícios. As galhas podem ocupar toda a extensão do entrenó e, nas galhas volumosas, com fissuras longitudinais e grande quantidade de orifícios, os ramos laterais emitem folhas maiores e ápice pontiagudas (Figura 6). O indutor destas galhas são larvas da ordem Diptera e, após sua eclosão, as galhas abandonadas são colonizadas por formigas da espécie *Nesomyrmex spininodis* (Mayr, 1887).

3.2 Anatomia

3.2.1 Galhas de *Prosopis nigra* (Griseb.) Hieron.

Os caules e espinhos sadios de *Prosopis nigra* de menor diâmetro e em crescimento secundário (Figura 7), possuem a epiderme persistente como sistema de revestimento (Figura 8), cujas células possuem parede periclinal externa e estratos cuticulares espessos, com flange cuticular evidente, similar ao revestimento dos espinhos (Figura 9). Nesta fase de desenvolvimento, tanto no caule quanto nos espinhos, o xilema secundário ocupa ampla extensão do órgão, com floema ocupando menor extensão nos órgãos (Figura 9). Nos caules, o parênquima medular, raios parenquimáticos e células parenquimáticas que limitam externamente o floema secundário, possuem compostos fenólicos em quantidade (Figuras 7-9). Limitando o floema do córtex parenquimático ocorrem agrupamentos de fibras gelatinosas entremeados por macroesclereídes formando uma faixa contínua (Figura 8). Nos caules secundários de maior diâmetro a periderme é constituída por 7 a 8 estratos celulares dispostas em sequência radiada, portando compostos fenólicos e, externamente, a epiderme persistente.

O início da formação da galha ocorre com a ovoposição e, nesta etapa pode-se observar que o adulto indutor insere vários ovos em sequencia, tanto no espinho quanto nos entrenós (Figura 10). Nesta etapa, no ponto onde o ovo do indutor foi depositado, ocorre diferenciação não usual das células do xilema secundário, diferindo dos caules e espinhos saudáveis (Figuras 10 e 11). As células que limitam o ovo em desenvolvimento são parenquimáticas, volumosas, com lume amplo, paredes bem delgadas, e conteúdo denso, mesmo fazendo parte do xilema secundário (Figura 11).

Tanto no caule quanto nos espinhos a formação da galha ocorre pela hiperplasia e hipertrofia das células do sistema axial e radial do xilema secundário, especialmente dos componentes parenquimáticos, definindo a estrutura da galha (Figura 12). Na etapa inicial de formação da galha, tanto na medula quanto no xilema secundário é visível grupo de células hipertrofiadas, ricas em compostos fenólicos, inclusive naquelas lignificadas (Figura 12).

Na porção caulinar onde a galha se estabelece, há desenvolvimento assimétrico do xilema secundário, com proliferação das células deste tecido em decorrência da hiperplasia e hipertrofia celular em vários pontos paralelos do órgão, resultantes da indução pela ovoposição, e que constituirão as futuras câmaras onde o indutor se desenvolverá (Figura 13-15).

Nas galhas completamente desenvolvidas, em secções transversais, são visíveis dois tipos de câmaras, uma limitada por células com paredes predominantemente celulósicas sem formato definido, onde ocorreu o desenvolvimento da larva (Figura 14). Esta câmara é ampla, sendo visível em seu interior partes do indutor e restos lisígenos de células limitando a câmara. Em toda a região que limita externamente esta câmara ocorrem células com lume amplo, muitos compostos fenólicos, inclusive dentro dos elementos de vaso (Figura 14). As células que limitam a câmara são parenquimáticas e de conteúdo denso (Figura 11). O volume lenhoso que constitui a galha é composto por elementos celulares não condutores tanto do sistema axial quanto radial, e raro elementos de vaso. Cristais estiloides também ocorrem nesta região.

O segundo tipo de câmara observado possui menor tamanho, é limitado por células hipertrofiadas, lignificadas e ricas em compostos fenólicos. No interior desta câmara ocorre material particulado podendo constituir a câmara de defecação (Figura 16).

Para alguns dos indivíduos avaliados percebe-se uma faixa não contínua de compostos fenólicos, da periderme até a medula com aumento da periderme nesta região, do floema e até a faixa de esclerênquima com células amorfas (Figura 14).

3.2.2 Galhas de *Prosopis rubriflora* Hassl.

Os caules sadios apresentam epiderme com cutícula espessa, flange cuticular evidente, e tricomas tectores lignificados (Figuras 17 e 18). O parênquima cortical regular é limitado da faixa de esclerênquima e de fibras gelatinosas (Figura 18), por idioblastos com cristais prismáticos. Estes caules possuem pequeno diâmetro, com xilema e floema secundários ocupando pouca extensão e tecido medular constituído por células de paredes espessas,

portando composto fenólico (Figuras 17 e 18). Em caules com crescimento secundário bem desenvolvido a periderme pode possuir aproximadamente 10 camadas celulares.

A câmara larval se forma no tecido medular por meio de hiperplasia e hipertrofia celular aumentando o diâmetro do caule que é acompanhado por todos os tecidos do sistema vascular (Figuras 19 e 22). As células que limitam a câmara larval são parenquimáticas e ricas em compostos fenólicos inclusive na periderme (Figuras 20 à 22). A câmara larval se forma por meio da lise das células da medula (Figuras 19 a 22) e, aparentemente, este tecido parenquimático que limita a câmara larval, serve de alimento para a larva. Neste estágio as células dos raios parenquimáticos também estão hipertrofiadas e ricas em compostos fenólicos (Figura 22).

Neste estádio de desenvolvimento, o arranjo de xilema e floema secundários se apresentam de maneira não usual (Figura 21), com células de lume amplo e menos significadas. Também é possível reconhecer áreas interrompidas no xilema secundário, onde o câmbio vascular acompanha estes pontos de interrupção, diferenciando-se em alguns elementos de floema nesta região (Figura 22). Em alguns dos caules analisados foi possível observar o canal de saída do indutor, com ruptura dos tecidos adjacentes da câmara e da periderme (Figura 22).

3.2.3 Galhas de *Prosopis ruscifolia* Griseb:

No caule e espinhos sadios de *Prosopis ruscifolia* ocorre periderme em inicio de formação e epiderme persistente com cutícula espessa. As lenticelas estão distribuídas por quase toda a extensão da periderme (Figura 23). No parênquima cortical do caule e do espinho há uma faixa de macroesclereídes com cristais prismáticos, que também ocorrem no meio das células deste parênquima. Entremeando esta faixa de macroesclereídes, ocorrem agrupamentos de fibras gelatinosas (Figura 23), que ocorrem também no também floema e no xilema. Os raios parenquimáticos possuem 2 a 3 células de largura de lume mais amplo no floema e, no xilema, estas células possuem paredes significadas. O parênquima medular é regular e sem compostos fenólicos, com paredes levemente significadas (Figura 24).

No inicio de formação da galha, tanto no caule quanto no espinho, ocorre hipertrofia e hiperplasia das células do sistema axial e radial do xilema, floema secundário e da medula, ocorrendo acúmulo de compostos fenólicos em toda a extensão da galha (Figura 25-27). A câmara larval se forma nos locais onde houve produção do tecido nutritivo, constituído por células de paredes finas, lume amplo e denso. Estas células portam amiloplastos, e se rompem e afastam com o aumento da câmara, sendo visível a hipertrofia das células para a formação da extensão da câmara. Em alguns dos indivíduos avaliados, pode-se observar que estas câmaras se estendem até a região da medula (Figura 26 e 27).

Em alguns dos indivíduos analisados a câmara é formada também na região medular (Figura 27). Nos pontos de indução há diferenciação de maior número de elementos de vaso ao redor das câmara larval, onde xilema secundário tem diferenciação não usual, produzindo mais parênquima axial e fibras (Figura 27). Estas células diferem do xilema secundário dos caules não colonizados por terem paredes mais delgadas e lume mais amplo e conterem grande quantidade de grãos de amido (Figura 28).

4. Discussão

A anatomia dos caules sadios das espécies *Prosopis nigra*, *Prosopis rubriflora* e *Prosopis ruscifolia* segue o padrão celular descrito para o caule em crescimento secundário deste gênero (Metcalf e Chalk, 1950). Em todos os caules e espinhos avaliados a presença de fibras gelatinosas foi uma importante característica tanto no xilema quanto na camada limitando o córtex do cilindro central. A presença destas fibras em diversos órgãos para várias espécies de plantas é sugerida por alguns autores como possível relação com o lenho de tensão ou de reação (Metcalfe e Chalk, 1950; Beiguelman, 1962, Scurfield e Wardrop, 1962; Paviani, 1978; Marcati et al., 2001). Esau (1977) relacionou a presença destas fibras com a tortuosidade de caules e Paviani (1978) descreveu estas estruturas para sistemas subterrâneos de espécies do cerradão, ressaltando que, devido a grande quantidade de celulose e por serem hidrófilas, as fibras gelatinosas podem ser consideradas importantes para a reserva de água (Paviani, 1978). Considerando que as espécies avaliadas são indicadoras do bioma Chaco, cujo ambiente possui marcada sazonalidade com déficit hídrico em alguns meses do ano, estas estruturas consistem em vantagem adaptativa para estas espécies e, consequentemente para os indutores das galhas, que permanecem protegidos, inclusive, dos fatores bióticos.

As plantas de regiões com déficit hídrico são conhecidas por terem maior quantidade de esclerênquima, fibras gelatinosas e parênquima aquífero entre outras características (Fahn, 1979), o que lhes confere maior rigidez. Assim, esse aparato estrutural poderia favorecer a presença de insetos causadores de galhas (Gullan e Cranston, 2007), que evoluíram nesse ambiente. Para todos os caules avaliados houve aumento desses tecidos – esclerênquima e fibras gelatinosas - na região da galha, tornando-a ainda mais rígida que o caule sadio. Além disso, a presença das fibras gelatinosas nas adjacências da câmara larval favoreceria a manutenção da hidratação dos tecidos nutritivos, especialmente nos períodos de déficit hídrico no ambiente. Também o aumento dos elementos celulares do xilema, especialmente os elementos de vasos, favorece a irrigação desta estrutura.

Outro fator muito importante a ser considerado em ambientes com marcado déficit hídrico sazonal, a exemplo do Chaco, é a possibilidade da ocorrência de fogo. O fogo é um importante fator seletivo que atua tanto sobre as plantas quanto sobre os animais (Carroll, 1974 apud Araujo et al., 1995). A característica das galhas serem lenhosas oferece um micro-habitat importante para o indutor se desenvolver e completar seu ciclo, protegendo-o, tanto do déficit hídrico quanto do fogo, somado às funções de nutrição provida pelo hospedeiro. Além disso, a colonização por formigas das galhas abandonadas pelo indutor, aparentemente não teve nenhuma relação com a formação inicial da estrutura da galha. Já é conhecido que alguns grupos de formigas que habitam árvores têm amplas distribuições geográficas na região neotropical (Kempf, 1972), e que alguns gêneros fazem ninho em troncos e galhos de árvores de grandes diâmetros, e outros se utilizam de caules de pequenos diâmetros para colonização (Carroll, 1974 apud Araujo et al., 1995). As galhas nas espécies de *Prosopis* avaliadas se formam em ramos laterais de pequeno diâmetro e ocupam estas estruturas pelos orifícios deixados pela saída do

indutor. Para *P. ruscifolia* as formigas da espécie *Nesomyrmex spininodis* estão presentes (Souza, P. R. de, observação em campo) mas não se sabe ao certo o papel dessas formigas em tais galhas, já que essas espécies de formigas não são conhecidas por causarem galhas.

A maioria das espécies de formiga que ocupam galhas abandonadas por insetos, não é responsável pela indução da formação inicial da galha (Wheeler, 1910 *apud* Araujo *et al.*, 1995; Fernandes *et al.*, 1989 , Craig *et al.*, 1991). Contudo, a modificação da arquitetura interna de galhas por formigas já foi relatada por Fernandes *et al.* (1989) e Craig *et al.* (1991), sendo algumas espécies de formigas conhecidas por escavarem madeira (Luedewaldt, 1926; Kempf, 1961), característica não observada no presente estudo, bem como, aparentemente, não houve nenhuma estrutura e/ou tecido produzido após a colonização pelas formigas.

O aumento na produção de compostos fenólicos nos tecidos da planta com galha, assim como alteração nos tecidos vasculares obtida para as espécies de *Prosopis nigra*, *Prosopis rubriflora* e *Prosopis ruscifolia* corroboram com o descrito para outras espécies quanto ao aumento de compostos fenólicos resultante desta interação (Bedetti *et al.*, 2013; Hartley, 1998; Hartley, 1999; Soares, 2000, entre outros). Estes compostos possuem grande potencial antioxidante que é intensificado, paralelamente, à produção de substâncias reativas de oxigênio (Rao *et al.*, 1996; Queiroz *et al.*, 1998). Contudo, as concentrações dos diversos compostos fenólicos que fornecem defesa para as plantas são substancialmente mais baixas em tecidos de galhas mais internas que em tecidos de galhas mais externas, sugerindo que galhadores podem controlar as defesas químicas das plantas hospedeiras (Nyman e Julkunen-Tiitto, 2000). Assim, essas substâncias são produzidas pelas plantas como defesa ao indutor e, em consequência disto, elas protegem e alimentam os indutores.

Estudos demonstram que galhadores ou até mesmo os inquilinos coevoluíram e utilizam esses recursos para sua própria manutenção (Oliveira *et al.*, 2011). As larvas tanto da ordem Diptera encontradas em *P. nigra* e *P. ruscifolia*, quanto às da ordem Lepidoptera encontradas em *P. rubriflora* podem estar usando como recurso esses compostos fenólicos, assim como o amido presente em algumas células da planta, como recurso para sua alimentação. Outra característica marcante nas três espécies de *Prosopis* avaliadas é a hipertrofia e hiperplasia dos tecidos formadores das galhas, situação já descrita para outras espécies (Rohfrisch, 1992; Best *et al.*, 2004; Dias *et. al.*, 2013, entre outros). Assim, essa característica somada ao aumento da concentração de compostos fenólicos foi observada em todas as galhas avaliadas.

Principalmente em *P. rubriflora* e *P. ruscifolia* a região da planta em que essa hipertrofia ou hiperplasia foi acompanhada do aumento da produção de compostos fenólicos, houve a ruptura das células que limitam a câmara ou loja larval. Essa lise pode ser atribuída ao fato da parede das células tornar-se mais frágil ou até mesmo ao fato do galhador ou inquilino alimentar-se do tecido em questão (Oliveira *et al.*, 2011). Nas espécies de *P. rubriflora* as galhas se formaram na região do parênquima medular, o que talvez possa ser explicado pelo tipo de galhador encontrado, nas larvas de Lepidoptera, que possuem

aparelho bucal do tipo mastigador e, quando adultas, sugador (Gullan e Cranston, 2007; Krenn, 2010), o que pode levar a preferência de instalação do indutor em tecidos mais internos e de paredes mais delgadas.

Já em galhas de *P. nigra* e na maior parte dos indivíduos de *P. ruscifolia* analisados, notou-se a presença da loja entre a região do floema e xilema, ou mesmo fazendo parte do xilema secundário, tanto no caule quanto no espinho. Talvez pelo inseto galhador ser da ordem Diptera e possuir aparelho bucal sugador (Gullan e Cranston, 2007), é provável que se alimenta de fotoassimilados o que poderia interferir em seu posicionamento nos tecidos da planta. O modo de alimentação dos indutores varia em diferentes táxons como consequência de diferenças fundamentais na estrutura das peças bucais (Gullan e Cranston, 2007; Labandeira, 1997).

Esta capacidade dos insetos induzirem o crescimento atípico dos tecidos da planta hospedeira, resultando em galhas (Oliveira, 2006 appud Mani, 1964; Redfern e Shirley, 2002) é extraordinária e, insetos galhadores geralmente herbívoros, representam um dos extremos do gradiente especialista-generalista, sendo específicos quando a escolha do hospedeiro (Fernandes e Price, 1992; Price et al., 1998).

Os aspectos ecológicos e evolutivos das interações planta-herbívoro são temas interessantes (Raman, 2007), sendo que a diferenciação dos tecidos das plantas envolvidos na formação da galha resultam de estímulos mecânicos e químicos induzidos pelo inseto por meio da mastigação do tecido, pelos fluidos injetados durante a oviposição, secreções salivares, excretas e hormônios (Hori, 1992). A indução da formação da galha em *P. nigra* que ocorre pela ovoposição foi a única possível de ser claramente descrita, haja vista terem sido obtidos caules e espinhos em início de formação da galha. Conduto o processo envolvido na organogênese dos tecidos que limitam a ovoposição, com a alteração completa no processo de diferenciação das células do sistema axial e radial do floema e xilema secundários, não foi obtido em nenhuma das literaturas consultadas. As espécies avaliadas consistem em importantes organismos a serem avaliados, considerando os diversos enfoques que a linha de pesquisa de espécies galhadoras e galhadas oferecem.

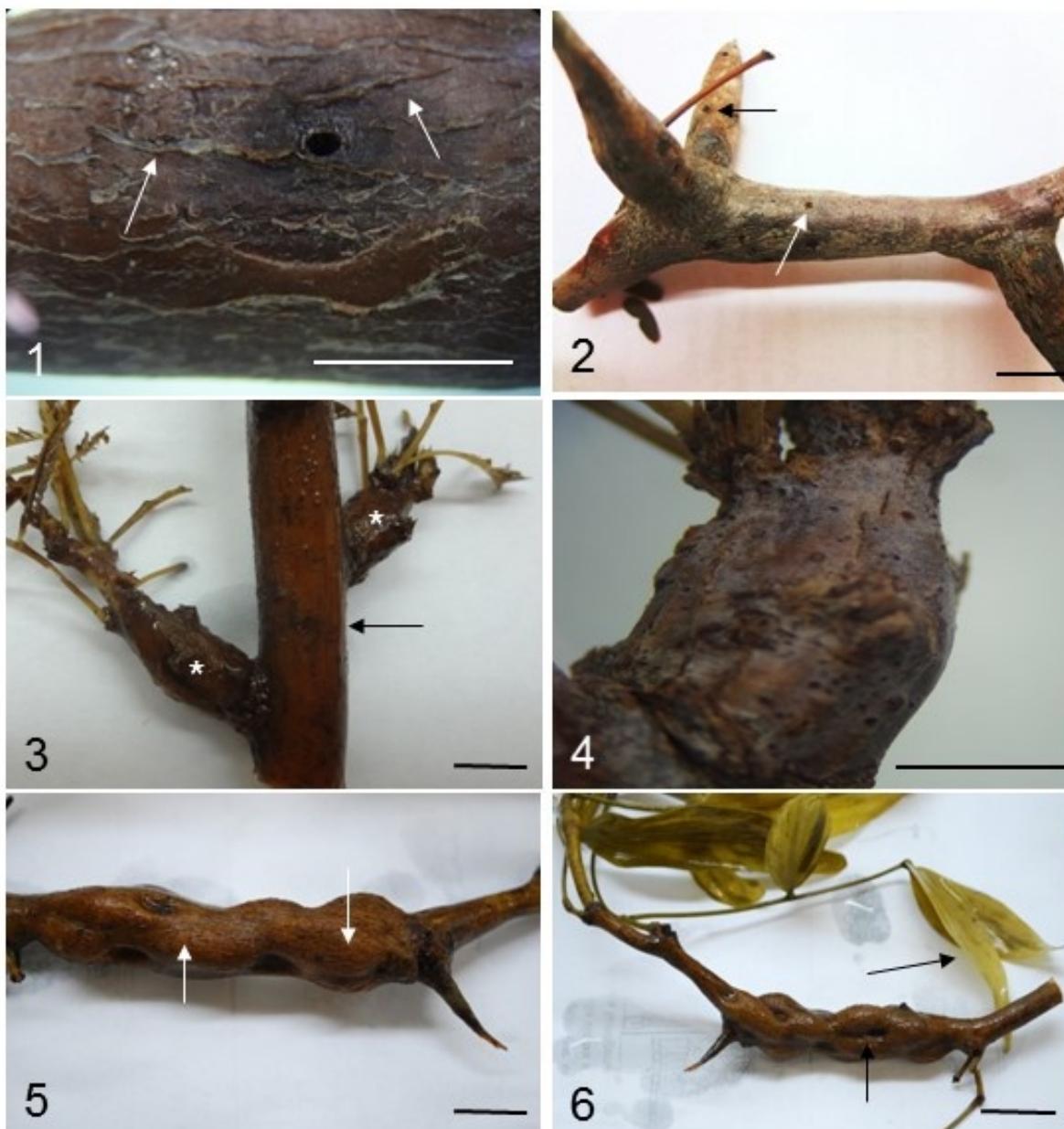
A dificuldade em determinar o inseto galhador é corroborada por vários autores (Gullan e Cranston, 2004; Fernandes e Martins, 1985; Del-Claro, 2011). A estrutura da galha além de oferecer recurso nutritivo, oferece também abrigo propiciando seu completo desenvolvimento. A utilização da estrutura da galha, após ser abandonada pelo indutor é um fato interessante a ser avaliado com cuidado para entender em detalhe a dinâmica das comunidades de formigas que ocupam as galhas, com o papel do indutor da galha neste processo.

Referências

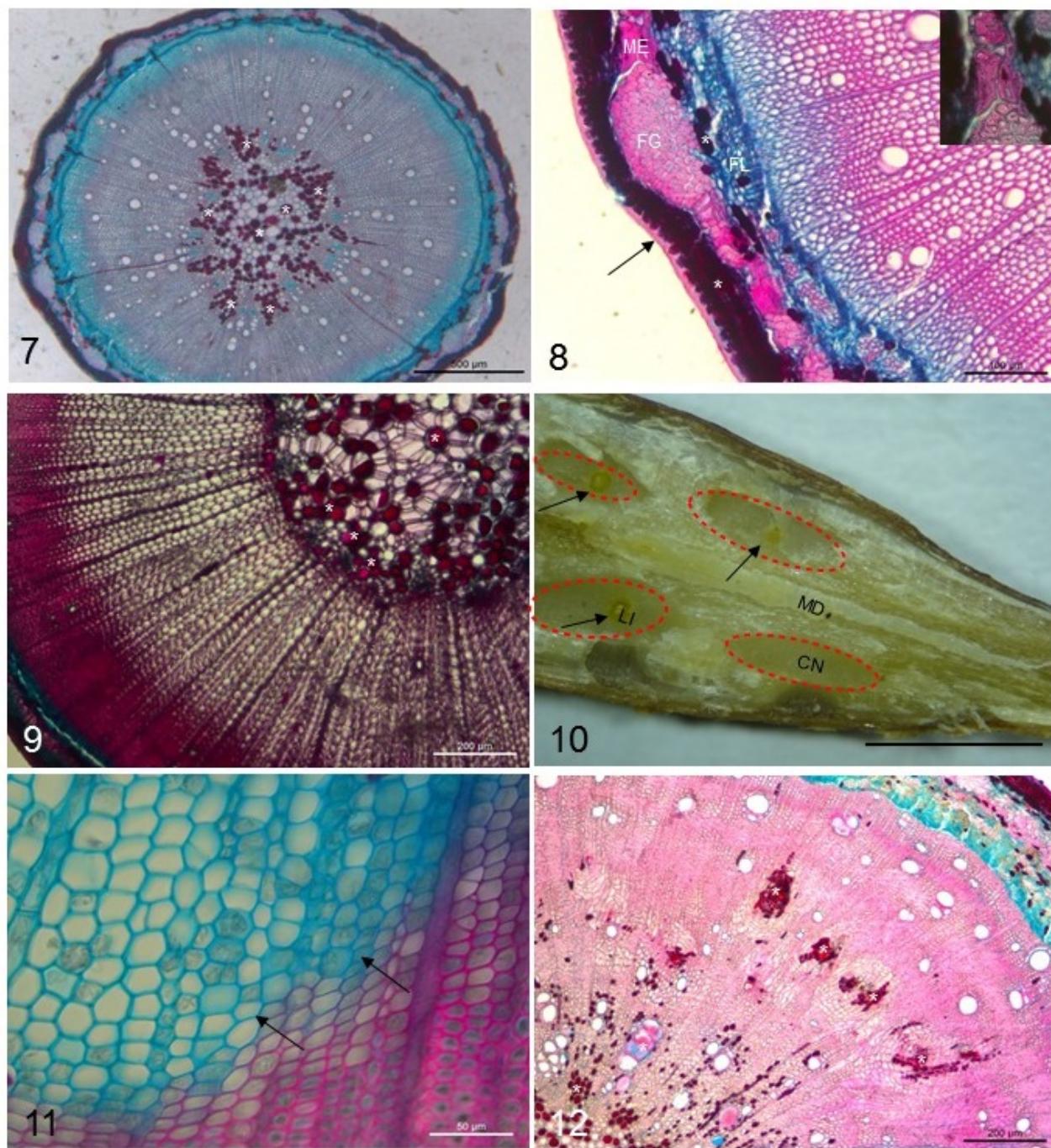
- Araújo, L.M.; Lara, A.C.F.; Fernandes, G.W. Utilization of *Apion* sp. (Coleoptera Apionidae) galls by an ant community in Southeastern Brazil. *Tropical Zoology* 8, 319-24. 1995.
- Bedetti, C.B.; Ferreira, B.G.; Castro, N.M.; Isaias, R.M.S. 2013. The influence of parasitoidism on the anatomical and histochemical profiles of the host leaves in a galling Lepidoptera - *Bauhinia ungulata* system. *R. bras. Bioci.*, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 242-249.
- Beiguelman, B. 1962. Lenho de tensão (tension wood) em duas espécies vegetais frequentes nos cerrados brasileiros. *Ann. da Acad. Brasil. de Ciênc.* 34:295-305.
- Best VM, Vasanthakumar A, McManus PS. Anatomy of cranberry stem gall and localization of bacteria in galls. *Phytopathology*. 2004 Nov; 94(11):1172-7.
- Craig T.P., Araújo L.M., Itami J.K. & Fernandes G.W. 1991. Development of the insect community centered on a leaf bud gall formed by a weevil (Coleoptera: Curculionidae) on *Xylopia* - (Annonaceae). *Revista Brasileira de Entomologia* 35: 311-317.
- Dias, G.G., Ferreira, B.G., Moreira, G.R.P., Isaias, R.M.S. Developmental pathway from leaves to galls induced by a sap-feeding insect on *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera (Anacardiaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* (2013) 85(1): 187-200. 2013.
- Del-Claro, K. 2004. Multitrophic relationships, conditional mutualisms, and the study of interaction biodiversity in tropical savannas. *Neotrop. Entomol.* 33: 665-672
- Del-Claro, K. Origens e importância das relações plantas-animais para a ecologia e conservação. In: DEL-CLARO, K. & TOREZAN-SILINGARDI, H.M. *Ecologia das Interações Plantas-Insetos: Uma abordagem ecológico-evolutiva*. Editora Technical Books. 1° Edição. 2011.
- Esau, K. 1974. *Anatomy of Seed Plants*, 2nd Edition. John Wiley & Sons, New York.
- Fernandes, G. W. A. & Martins, R. P. 1985. Tumores de plantas: as galhas. *Ciência Hoje*, Belo Horizonte, v.4, n.19, p.58-64.
- Fernandes G.W.. Bobcklen W.J., Mar'i1ns R.P. & Castro A.G. 1989. Ants associated with a coleopter Jeaf-bud gall on *Xylopia aromatica* (Annonaceae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 91: 81-87
- Gullan, P.J. & Craston, P.S. *Insects: An Outline of Entomology*, 3° Edição. Blackwell Science, 502 pp. 2004.
- Hartley, S.E. 1998. The chemical composition of plant galls: are levels of nutrients and secondary compounds controlled by the gall former? *Oecologia* 113:492-501.
- _____, 1999. Are gall insects large rhizobia? *Oikos*. 84:333-342.
- Hölldobler, B. & Wilson, E.O. *The ants*. Cambridge, Belknap/Harvard University Press, 732p. 1990.
- IBGE. 1992. Manual técnico da vegetação brasileira. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro, 89pp.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Kraus, J. E. e Arduin, M. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Editora Universidade Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Kempf W.W. 1961. Estudo sobre *Pseudomyrmex*. III. *Estudia Entomologica* 4: 369-408.
- _____. 1972. Catálogo abreviado das formigas da Região Neotropical. *Estudia Entomologica*. 15: 2-2.414
- Krenn, H.W. 2010. Feeding Mechanisms of Adult Lepidoptera: Structure, Function, and Evolution of the Mouthparts. *Annu. Rev. Entomol.* 55:307-27.
- Labandeira, C.C. 1997. Insect Mouthparts: Ascertaining the Paleobiology of Insect Feeding Strategies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28:153-93.

- Luederwaldt H. 1926. Observações biológicas sobre formigas brasileiras especialmente no Estado de São Paulo. Revista do Museu Paulista 14: 186-302.
- Mani, M.S. 1964. Ecology of plant galls. Dr. W. Junk Publishers, The Hague.
- Marcati, C.R.; Angyalossy-Alfonso, V. & Benetati, L. 2001. Anatomia comparada do lenho de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinoideae) de floresta e cerradão. Revista Brasileira de Botânica 24: 311-320.
- Marquis, R.J. 2011. Uma abordagem geral das defesas das plantas contra a ação dos herbívoros. In: DEL-CLARO, K. & TOREZAN-SILINGARDI, H.M. Ecologia das Interações Plantas-Insetos: Uma abordagem ecológico-evolutiva. Editora Technical Books. 1° Edição.
- Metcalfe, C. R. & Chalk, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Volume I. Oxford at the Clarendon Press.
- Nunes, G. P. 2006. Estudos florísticos de formações chaquenhas brasileiras e caracterização estrutural de um remanescente de Chaco de Porto Murtinho, MS, Brasil. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande.
- Nyman, T.; Widmer, A. & Roininen, H. 2000. Evolution of gall morphology and host-plant relationships in willow-feeding sawflies (Hymenoptera: Tenthredinidae). **Evolution** 54: 526–533.
- Nyman, T. & Julkunen-Tiitto J. 2000. Manipulation of the phenolic chemistry of willows by gall-induced sawflies. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97: 13184-13187
- Oliveira,D.C.; Christiano, J.C.S.; Soares, G. L. G.; Isaias, R.M.S.2006. Revista Brasil. Bot., V.29, n.4, p.657-667.
- Oliveira, P.S.; Sendoya, S.F., Del-Claro, K. 2011. Defesas bióticas contra herbívoros em plantas de cerrado: interações entre formigas, nectários extraflorais e insetos trofobiontes. In: DEL-CLARO, K. & TOREZAN-SILINGARDI, H.M. Ecologia das Interações Plantas-Insetos: Uma abordagem ecológico-evolutiva. Editora Technical Books. 1° Edição. 2011.
- Paviani, T.I. 1978. Anatomia vegetal e cerrado. Ciência e Cultura, v.30, n.9, p.1076-1086.
- Pennington, R.T., Prado, D.E. & Pendry, C.A. 2000. Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *J. Biog.*, vol. 27, no. 2, p. 261-273.
- Queiroz, C.G.S., Alonso, A., Mares-Guia, M. & Magalhães, A.C. 1998. Chilling-induced changes in membrane fluidity antioxidant enzyme actives in *Coffea arabica* L. roots. Biological Plantarum 41:403-413.
- Raman, A. 2007. Insect-induced plant galls of India: unresolved questions. Current Science 92: 748–757.
- Rao, M.V., Paliyath, G. & Ormrod, D.P. 1996. Ultraviolet-B and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell 8:1809-1819.
- Rohfritsch, O. & J. D. Shorthouse. 1982. Insect galls, p. 131-152. In: G. Kahl & J. S. Schell (eds.). Molecular biology of plant tumors. New York, Academic Press, xxiv+615 p
- Sanver, D. & Hawkins, B.A. 2000. Galls as habitats: the inquiline communities on insect galls. Basic and Applied Ecology 1:3-11.
- Scurfield, G. & Wardrop, A. B. 1962. The nature of reaction wood. VI. The reaction anatomy of seedlings of woody perennials. Aust. J. Bot. 10:93-105.
- Silva, J.S.V., Abdon, M.M., 1998. Delimitação do Pantanal Brasileiro e suas sub-regiões. Pesqui. Agropecu. Bras. 33,1703-1711.
- Soares, G.L.G., Isaias, R.M.S., Gonçalves, S.J.M.R. & Christiano, J.C.S. 2000. Alterações químicas induzidas por coccoideos galhadores (Coccoidea: Brachyscelidae) em folhas de *Rollinia laurifolia* Schidl. (Annonaceae). Revista Brasileira de Zoociências 2:103-116.

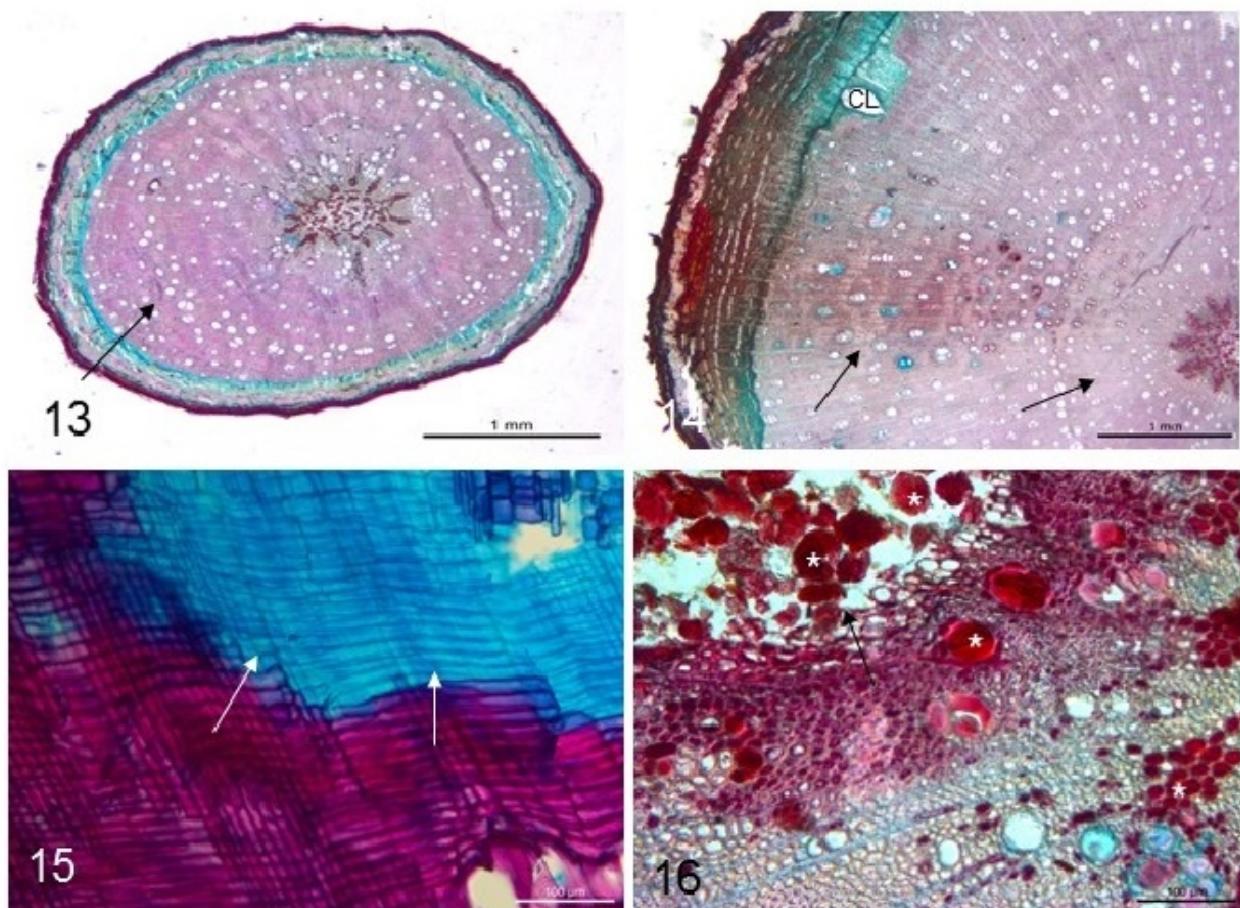
- Sugiura, S., Yamazaki, K. & Fukasawa, Y. Weevil parasitism of ambrosia galls. Annals of the Entomological Society of America, 97(1): 184–193. 2004.
- Sugiura, S. & Yamazaki, K. Gall-attacking behavior in phytophagous insects, with emphasis on Coleoptera and Lepidoptera. Terrestrial Arthropod Reviews, 2: 41-61. (Invited review). 2009.
- Trigo, J.R.; Pareja, M. & Massuda, K.F. O papel das substâncias químicas nas interações entre plantas e insetos herbívoros. In: DEL-CLARO, K. & TOREZAN-SILINGARDI, H.M. Ecologia das Interações Plantas-Insetos: Uma abordagem ecológico-evolutiva. Editora Techinical Books. 1º Edição. 2011.



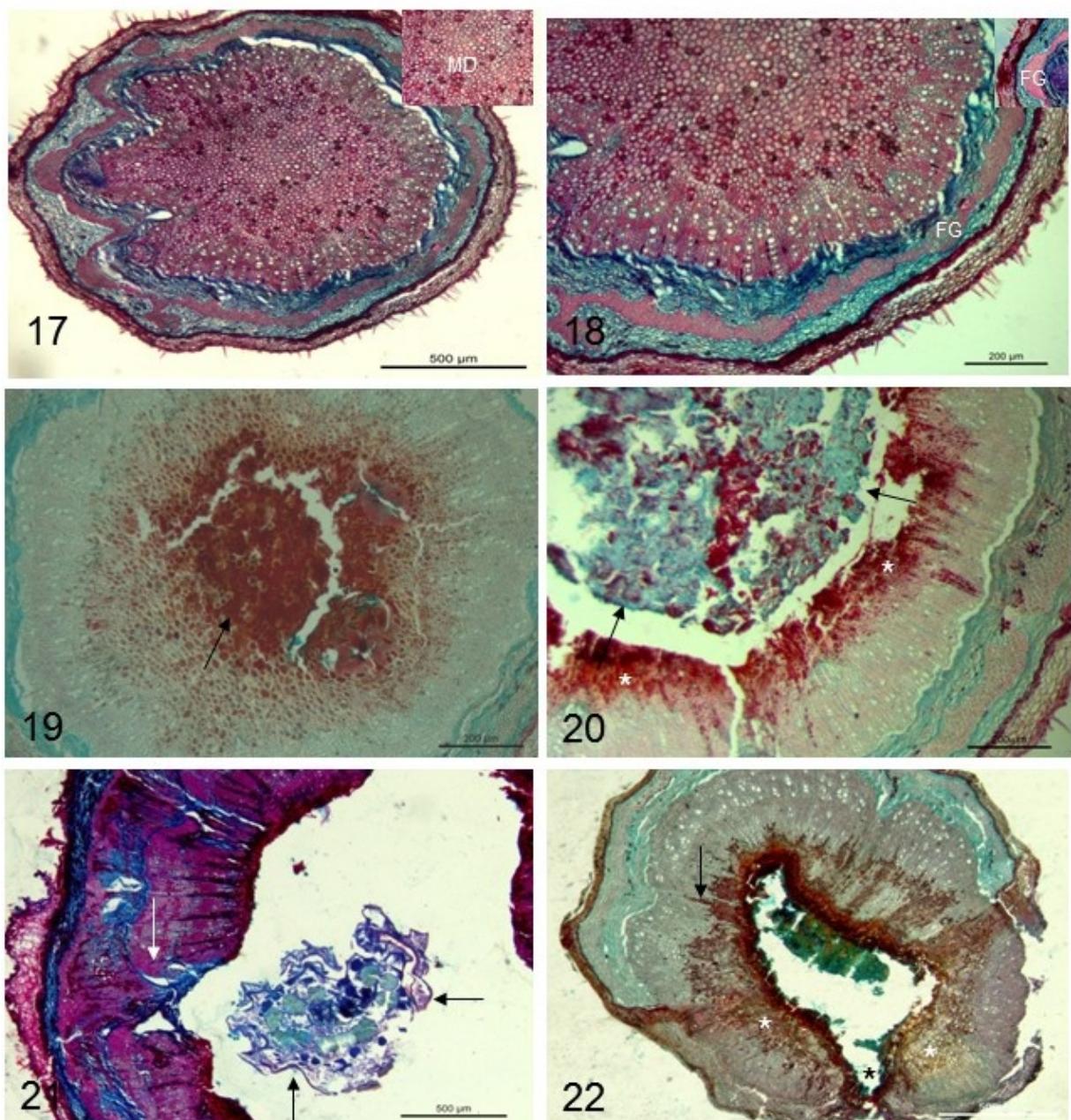
Figuras 1-6: Morfologia da galha. Entrenó de *Prosopis nigra* (Griseb.) Hieron. (Figura 1), evidenciando fissuras longitudinais (setas) e os orifícios de saída do indutor em espinho e entrenó (Figura 2); Caule sadio (Figura 3) de *Prosopis rubriflora* Hassl. (seta) com ápice congesto em ramificação lateral com galha (asteriscos) e detalhe de galha (Figura 4); Fragmento de caule com galha de *Prosopis ruscifolia* Griseb. (Figura 5) com fissuras longitudinais (setas), evidenciando ápice foliar pontiagudo emitidas em ramos galhados (seta) (Figura 6). Barra = 1 cm.



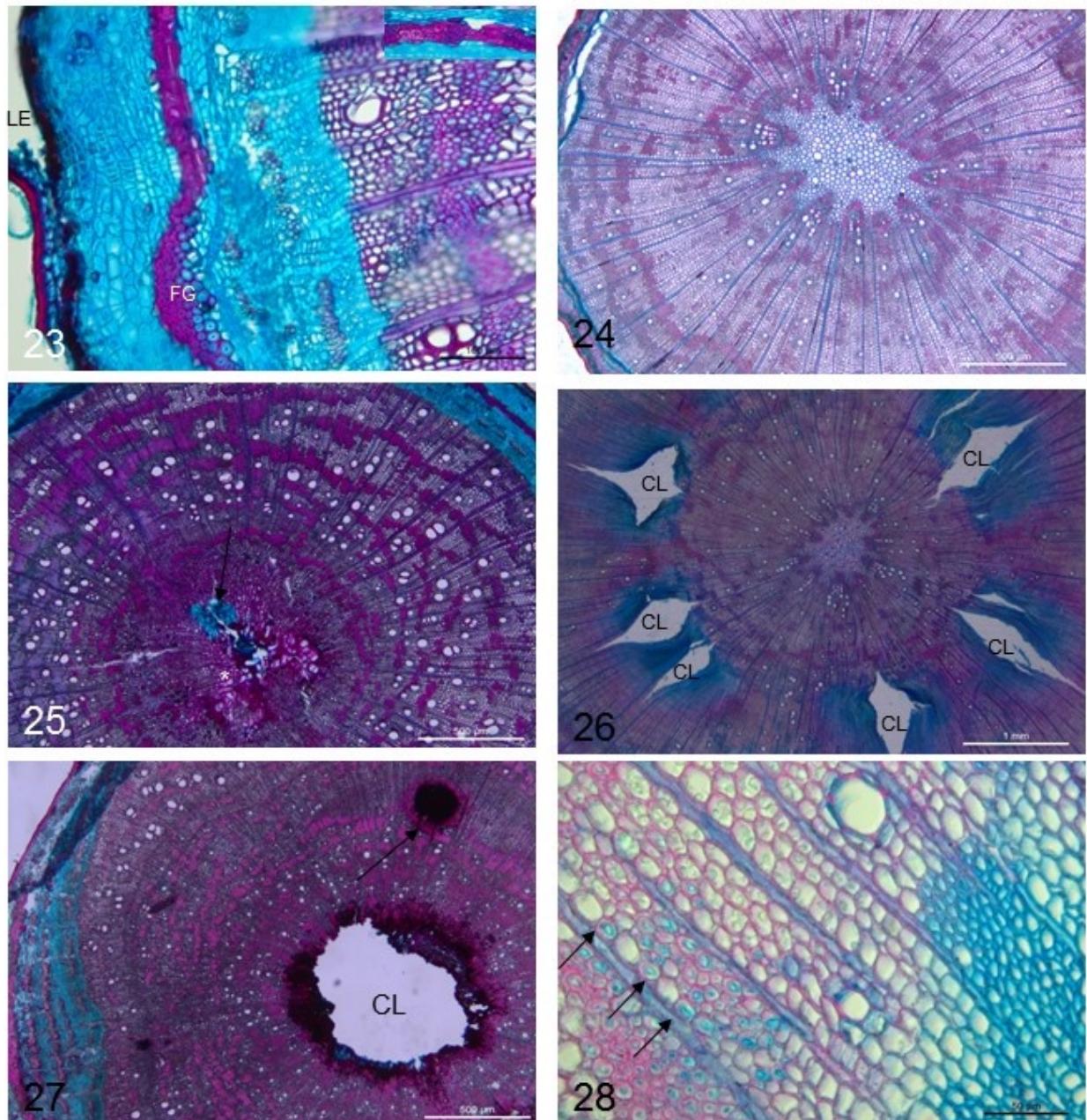
Figuras 7-12: Caule e espinho de *Prosopis nigra* (Griseb.) Hieron. Secção transversal do caule sadio (7); Evidenciando cutícula e estratos cuticulares espessa e faixa com macroesclereídes (8). Detalhe de macroesclereídes; Corte transversal do espinho sadio, evidenciando compostos fenólicos na medula e xilema secundário (9); Morfologia do espinho em início de formação da galha com ovos de larvas em desenvolvimento (setas) e área do xilema secundário com células parenquimáticas ao redor do ovo (10). Barra = 1 cm; Detalhe do xilema secundário do espinho evidenciando células de lume amplo e paredes finas que limitam à loja (11). Acúmulo de compostos fenólicos cercados por células hipertrofiadas (12). (*) Compostos fenólicos; ME – macroesclereide; FL – floema; FG – fibras gelatinosas; MD – medula; CN – células nutritivas; LI – estágio inicial da larva.



Figuras 13-16: Secções transversal e longitudinal de *Prosopis nigra* (Griseb.) Hieron., evidenciando desenvolvimento assimétrico (seta) em uma das regiões da galha (13). Figura (14) Loja onde a larva se estabelece e diferença entre elementos de vaso e compostos fenólicos em faixa contínua (setas). Figura (15) Corte Longitudinal de espinho galhado, região da câmara larval (seta). Figura 16: Corte transversal evidenciando a câmara larval (seta). (*) Compostos fenólicos; CL – Câmara larval.



Secções de *Prosopis rubriflora* Hassl. em caule sadio (17) com detalhe da medula; com faixa de esclerênquima, fibras gelatinosas e compostos fenólicos (18). Figura (19) Evidentes compostos fenólicos na medula com início de lise destas células. Figura (20) Tecido parenquimático (setas) nutritivo para larvas, células com hipertrofia e hiperplasia (asteriscos). Figura (21) Evidentes interrupções no xilema secundário (seta), onde o câmbio vascular acompanha estes pontos de interrupção; notem-se que na região da medula partes da larva. Figura (22) canal de saída do indutor, com ruptura dos tecidos adjacentes da câmara e da periderme. (*) branco) Células com hipertrofia e hiperplasia; (*) Canal de saída da larva; MD – Medula; FG – Fibras gelatinosas.



Secções transversais de *Prosopis ruscifolia* Griseb, evidenciando extensão do floema, faixa de esclerênquima e lenticelas (23), detalhe de macroesclereídes. Caule sadio (24). Figura (25) Hipertrofia e hiperplasia das células do inicio de formação da galha e presença de compostos fenólicos (asterisco). Figura (26) Corte transversal com diversas câmaras larvais, ao redor cercadas por células hipertrofiadas e de parede delgada. Figura (27) Formação da galha na medula. Figura (28) Evidente espessura das paredes celulares e as fibras gelatinosas presentes na galha (setas). (*) Compostos fenólicos; FG – Fibras gelatinosas; LE – lenticelas; CL – Câmara larval.

Considerações Finais

O presente estudo mostrou que os compostos fenólicos e tecidos parenquimáticos com células amplas, presentes em todas as galhas, consistem nos tecidos nutritivos das larvas encontradas, sendo elas da ordem Diptera em *Prosopis nigra* e *Prosopis ruscifolia*, e Lepidoptera em *Prosopis rubriflora*. Outra característica anatômica que também bem evidente, é a formação de tecidos lignificados e fibras gelatinosas, que são excelentes protetores para os indutores, pois conferem maior rigidez para a planta, o que permite que estes fiquem protegidos contra seus predadores e até mesmo serve como abrigo para esses animais indutores e/ou os inquilinos de galhas, como as formigas para a espécie de *Prosopis ruscifolia*.