
RAMON LIMA SOARES JUNIOR

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE GALHAS FOLIARES EM *Cnidoscolus*
***pubescens* POHL (EUPHORBIACEAE)**

Cruz das Almas

2021

RAMON LIMA SOARES JUNIOR

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE GALHAS FOLIARES EM *Cnidoscolus pubescens* POHL (EUPHORBIACEAE)

Trabalho de conclusão de curso II
apresentado à Universidade Federal do
Recôncavo da Bahia, como parte das
exigências do curso de Bacharelado em
Ciências Biológicas.

Orientador: Dr^o Fabiano Machado
Martins

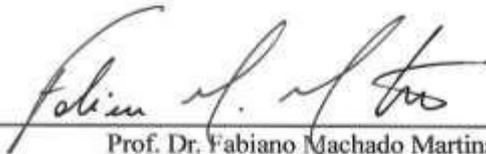
Cruz das Almas

2021

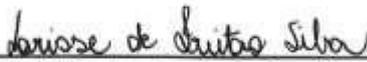
RAMON LIMA SOARES JUNIOR

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE GALHAS FOLIARES EM *Cnidocolus pubescens* POHL (EUPHORBIACEAE)

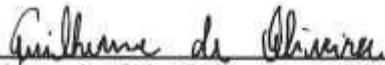
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Fabiano Machado Martins
orientador(a)
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof. Dra. Larisse de Freitas Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof. Dr. Guilherme de Oliveira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Cruz das Almas

2021

Agradecimentos

Por mais que pudesse utilizar todas as palavras do mundo, ainda assim seria impossível expressar minha gratidão a todos que fizeram parte dessa caminhada, tornando-a uma jornada extraordinariamente enriquecedora. Contudo, tentarei transcrever meus agradecimentos aos envolvidos nesta prazerosa experiência que me foi possibilitada.

Começo agradecendo à Deus, por toda força, ânimo e coragem, e por ter me conduzido pelos caminhos certos neste extenso processo até aqui.

Ao meu orientador e professor Dr. Fabiano Machado Martins, pela oportunidade, pela inspiração, pelas conversas, pelas contribuições, pelo exemplo de profissionalismo e puxões de orelha.

À minha mãe Simone, pelo incentivo e amparo ao longo de toda minha formação acadêmica, pelos ensinamentos e pelo exemplo de pessoa que és para mim.

Em especial à minha avó Railda, “*in memoriam*” por todo amor, carinho e afeto concedido. Embora não esteja presente na conclusão deste ciclo, sem seu auxílio eu não poderia chegar até aqui. Sou grato pela criação e por me apresentar com clareza os valores e princípios de um ser humano.

À meu avô Roque, por todo suporte e momentos compartilhados.

À minha irmã Sabrina, por toda amizade e companheirismo.

À minha companheira Layla, pelo amor e apoio em momentos de dificuldade, pelas palavras de incentivo e fortalecimento.

À todos os entes familiares, tios e tias, primos e primas, que sempre me ofereceram o aconchego e a união necessária para minha trajetória.

À todos meus amigos e amigas que me proporcionaram as melhores companhias possíveis durante a jornada acadêmica, por me auxiliarem nas dificuldades e pelos inúmeros momentos de felicidade.

Aos colegas de laboratório, pela ótima convivência e por toda ajuda prestada.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e principalmente ao curso de Biologia Bacharelado pelo ótimo corpo docente, com exemplos de profissionais a serem seguidos.

Índice

1. Introdução.....	8
2. Revisão bibliográfica.....	10
3. Objetivos.....	14
3.1. Gera.....	14
3.2. Específicos.....	14
4. Material e métodos	15
4.1. Coleta e desenvolvimento.....	15
4.2. Histoquímica e caracterização anatômica.....	17
5. Resultados e discussão.....	18
6. Considerações finais	33
7. Referências Bibliográficas.....	34

Soares-Junior, Ramon Lima. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. 05-2021. Anatomia e Histoquímica de galhas foliares em *Cnidoscolus pubescens* Pohl. (Euphorbiaceae). Fabiano Machado Martins.

Resumo

As galhas são estruturas que exemplificam a complexa interação entre vegetais e insetos, tanto pelos métodos de defesa da planta contra herbivoria, quanto pelos atributos desenvolvidos pelos insetos para tomar o controle do vegetal e formar as câmaras de nutrição e maturação. O presente trabalho objetiva a descrição anatômica e histoquímica de galhas foliares em *Cnidoscolus pubescens* Pohl (EUPHORBIACEAE), a qual não possui registros de galhas na literatura. Desta forma, os resultados contribuem pela primeira vez com informações acerca da presença de galhas e dos processos de sua formação nesta espécie. As amostras foram coletadas no Município de Santa Teresinha-Ba, estocadas em fixadores para posterior formação das lâminas histológicas, as quais foram analisadas quanto a anatomia, enquanto a histoquímica foi realizada a partir da submissão das amostras à diferentes testes histoquímicos. Os resultados da anatomia demonstraram uma certa preferência do organismo galhador por áreas próximas ou sobre a nervura central, com certo grau de reorganização de vasos condutores e deformações em demais tecidos vegetais. Também foram registradas estruturas relacionadas à linha de defesa direta do vegetal, com maiores concentrações próximas as zonas de formação das galhas. Os resultados histoquímicos apontaram a presença de compostos fenólicos e sinalizaram substâncias nutricionais na forma livre e contidas em outras estruturas, como lipídios livres e encontrados no interior de laticíferos e idioblastos e proteínas apenas observadas no interior de laticíferos. O gradiente de amido encontrado, está relacionado com o tecido de armazenamento vegetal, fornecendo energia para o desenvolvimento da galha.

Palavras-chave: Interação, inseto-planta, nutrição, reorganização;

Soares-Junior, Ramon Lima. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. 05-2021. Anatomia e Histoquímica de galhas foliares em *Cnidoscolus pubescens* Pohl. (Euphorbiaceae). Fabiano Machado Martins.

Abstract

Galls are structures that exemplify the complex interaction between plants and insects, both by the methods of defense of the plant against herbivory, and by the attributes developed by insects to take control of the plant and form the chambers of nutrition and maturation. The present work aims at the anatomical and histochemical description of leaf galls in *Cnidoscolus pubescens* Pohl (EUPHORBIACEAE), which does not have gall records in the literature. In this way, the results contribute for the first time with information about the presence of galls and the processes of their formation in this species. The samples were collected in the city of Santa Teresinha-Ba, stored in fixers for later formation of histological slides, which were analyzed for anatomy, while histochemistry was performed from the submission of samples to different histochemical tests. The anatomy results showed a preference for the galling organism for areas close to or on the central rib, with a certain degree of reorganization of conductive vessels and deformations in other plant tissues. Structures related to the plant's direct defense line were also recorded, with higher concentrations close to gall formation areas. The histochemical results indicated the presence of phenolic compounds and signaled nutritional substances in the free form and contained in other structures, such as free lipids and found within the laticiferous and idioblast and proteins only observed inside the laticiferous. The starch gradient found is related to the plant storage tissue, providing energy for the development of the gall.

Key-words: Interaction, insect-plant, nutrition, reorganization.

1. Introdução

A família Euphorbiaceae é uma das maiores representantes de angiospermas, com enorme diversidade morfológica, compreendendo cerca de 8.000 espécies agrupadas em 317 gêneros, distribuídos por regiões tropicais, subtropicais e temperadas de todo o mundo (Malvaceae in Flora do Brasil, 2020). Seus exemplares geralmente são latescentes, monóicos ou dióicos, com flores diclinas, gineceu sincárpico, ovário súpero e frequentemente tricarpelar e fruto tricoca (Sátiro & Roque, 2008).

A família ocupa a posição de sexta maior do mundo em diversidade, atrás apenas de Orchidaceae, Asteraceae, Fabaceae, Poaceae e Rubiaceae (STEINMANN, 2002; LUCENA & SALES, 2006). Euphorbiaceae reúne inúmeras espécies de relevância para economia nas mais diversas áreas, como *Hevea brasiliensis* Müll. Arg. (seringueira), de onde se extrai o látex para fabricação da borracha, *Manihot esculenta* Crantz, uma cianogênica, conhecida popularmente como mandioca ou cassava, *Jatropha curcas* L. (pinhão-manso) utilizada na produção de biocombustíveis, (SECCO et al., 2005; AMORIM et al., 2005b; LOUREIRO et al., 2013).

O gênero *Cnidoscolus* Pohl. concentra sua distribuição na América tropical, principalmente no México e no Nordeste do Brasil, compreendendo cerca de 50-75 espécies atualmente conhecidas, popularmente chamadas de urtiga (WEBSTER 1994; SOBRINHO et al., 2012). Pohl propôs este gênero para agrupar espécies que apresentavam tricomas urticantes e apenas um verticilo no perianto (MELO & SALES, 2008). O gênero compreende vegetais com enorme valor ecossistêmico, sendo bastante empregados nas lavouras xerófitas como recuperação de áreas degradadas e na pecuária como estratégia de sustentação do rebanho (MELO & SALES, 2008; MEDEIROS & ALOUFA, 2015).

Popularmente conhecida como arre-diabo, cansação, pinha-queimada ou urtiga-de-mamão, a espécie alvo deste trabalho: *Cnidoscolus pubescens*, apresenta tricomas urticantes, folhas alternas, simples, sendo uma planta decídua, xerófita e pioneira, com características exclusivas de caatinga arbórea, ocorrendo nos estados de Goiás, Bahia, Piauí, Pernambuco, Minas Gerais e Espírito Santo. Por ser uma planta de rápido crescimento, *C. pubescens* é frequentemente relacionado a programas de reflorestamento de áreas degradadas (LORENZI, 1998).

A relação interespecífica entre espécies de organismos parasitas, incluindo insetos galhadores e seus hospedeiros, causa a rediferenciação dos tecidos vegetais, levando a formação de uma estrutura patologicamente desenvolvida denominada de galha (MANI 1964; VECCHI et al., 2013), a qual tem sua regulação mediada pelo indutor (CARNEIRO et al., 2013). No entanto, evidências sugerem que os galhadores são parasitas que controlam a maioria dos aspectos do seu desenvolvimento (STONE & SCHOÑNROGGE, 2003).

A complexidade estrutural das galhas pode variar desde simples dobras relativamente abertas à estruturas completamente fechadas (FERNANDES et al., 1988). A morfologia das galhas também varia, podendo receber diferentes classificações (STONE & SCHOÑNROGGE, 2003; ASCENDINO & MAIA, 2017). Considerando o morfotipo, as galhas podem ser uniloculares ou até mesmo conterem mais de dez câmaras internas (BREGONCI et al., 2010), com possibilidades de abrirem-se para o exterior permitindo a saída do inseto já na fase adulta, esta denominada de galha aberta, enquanto no caso de galhas fechadas, o inseto já desenvolvido perfura os tecidos vegetais para alcançar o exterior (FERNANDES et al., 1988).

Estudos filogenéticos sobre galhas e seus hábitos, sugerem uma evolução a partir de lamelas e dobras das folhas (FERREIRA et al., 2019). Do ponto evolutivo, as galhas entomógenas são adaptações bem desenvolvidas que permitiram que os insetos se alimentassem de tecidos de alta qualidade ao mesmo tempo em que é oferecida proteção contra fatores bióticos e abióticos (GONÇALVES-ALVIM & FERNANDES, 2001).

As galhas podem levar a alterações em metabólitos primários e secundários e também na expressão gênica da planta (HARTLEY 1999), de modo a desviar substâncias, bloquear vasos condutores, levar ao crescimento de partes não essenciais para o vegetal ou atrofiar determinados órgãos. Estas estruturas desenvolvem-se desde a extremidade da raiz às gemas apicais do caule, com maior frequência em folhas e ramos (MANI, 1992; FERNANDES & MARTINS, 1985; SANTOS et al., 2010; SILVA et al., 2011).

Em galhas entomógenas, o contato físico e contínuo com os tecidos do hospedeiro é necessário por parte da larva galhadora para que a estrutura se desenvolva como esperado e sejam induzidas modificações do metabolismo vegetal (ESPÍRITO-SANTO

& FERNANDES 2007), ocasionando hiperplasia, hipertrofia, rediferenciação e/ou metaplasia no tecido infectado (MANI 1964; ISAIAS E OLIVEIRA 2012; FERREIRA et al., 2017).

Insetos galhadores são organismos capazes de induzir a modificação de padrões de crescimento no vegetal hospedeiro. São promovidas alterações de natureza tecidual fornecendo alimentação e abrigo a estes indutores (FERNANDES E CARNEIRO, 2009). Dentre os insetos, a ordem Díptera é apontada como os maiores galhadores, geralmente relacionados à família Cecidomyiidae (COSTA et al., 2014; BERGAMINI et al., 2017; BREGONCI et al., 2010; FERNANDES et al., 2012). O vegetal encara a presença do Cecidomyiidae como uma infecção parasitária, tomando medidas iniciais para não instalação do mesmo em seus tecidos (ROHFRITSCH, 1980).

Tendo em vista a existência de insetos galhadores nessa espécie e no gênero, esse estudo teve o objetivo de descrever a anatomia e histoquímica envolvidas na formação das galhas foliares de *Cnidoscolus pubescens*, nossa hipótese é que: defesas físicas e/ou histoquímicas foram impostas pelo vegetal, em função do organismo galhador em seus tecidos, o qual utilizaria certas substâncias tanto para sua nutrição quanto manutenção da galha.

2. Revisão bibliográfica

Caatinga

O bioma Caatinga tem sua denominação de origem indígena e significa “Mata Branca”, sendo a única região natural que pertence exclusivamente aos limites brasileiros, abrangendo a maior parte do nordeste do Brasil com território de aproximadamente 800.000 km² (LEAL et al., 2003 e RODAL et al., 2013). Típica do semi-árido brasileiro, é uma floresta xerófila decídua tropical, com predomínio de arbustos e árvores de pequeno porte no denominado agreste e de mata baixa espinhosa e suculenta no sertão (COLE, 1960).

Esta região destaca-se por seu grande número de vegetais endêmicos ao bioma, sendo uma vegetação xerófila com fisionomia e florística diversificada (AMORIM et al., 2005a e RODAL et al., 2013), com abundância no número de espécies lenhosas, a Caatinga é principalmente gerida por bromeliáceas e herbáceas delimitando seus estratos

arbóreos e arbustivos (ARAÚJO FILHO, 1992). Embora com grande diversidade e endemismo, a Caatinga apresenta um certo grau de desvalorização quando comparada a outros biomas naturais, sendo a região menos explorada botanicamente e protegida por UCs de todo território brasileiro (LEAL et al., 2003; GIULIETTI et al., 2004).

Interações organismo-planta

Ao longo da evolução, as plantas desenvolveram interações com outros organismos, capazes de beneficiar ou não ambas as linhagens (DEL-CLARO et al., 2009). A diversificação e radiação adaptativa das linhagens, tanto no âmbito ecológico quanto evolutivo, levaram os vegetais a desenvolverem estratégias de crescimento, defesas físicas, químicas e fenológicas (COLEY et al., 1985), permitindo-lhes melhor utilização dos recursos presentes em seu hábitat, enquanto os animais aperfeiçoaram seus métodos de obtenção de recursos (DEL-CLARO et al., 2009).

A herbivoria é uma interação que exemplifica interações entre animais e plantas, exercendo certa pressão evolutiva sobre organismos específicos e por sua vez acarretando efeitos negativos no padrão dos vegetais, de modo a diminuir seu crescimento, reprodução e competitividade, visto que, sua rede de nutrição e diversidade da comunidade são afetadas, com danos diretos na composição e produtividade de todo um ecossistema (HUNTLY, 1991; COLEY & BARONE, 1996).

Dentre as interações ecológicas, têm-se as galhas, originadas a partir de uma associação interespecífica, onde o organismo indutor interage com o tecido de plantas hospedeiras. Essa associação é considerada uma das mais complexas da relação inseto-planta, ocasionando a diferenciação de células no tecido infectado do vegetal (SHORTHOUSE et al., 2005).

Galhas

As galhas ou cecídias, também conhecidas como tumores de plantas, são estruturas que representam a reação do vegetal em função da presença outros organismos, sendo insetos na maioria dos casos (FERNANDES et al., 2012), mas também bactérias, vírus, fungos, líquens nematoides e ácaros. Estas estruturas são formadas em tecidos ou órgãos de plantas, desenvolvendo hiperplasia ou hipertrofia, criando micro-hábitats

fechados para habitantes especializados e que estão relacionados com atividades de nutrição do indutor (MANI, 1964; FERNANDES & MARTINS, 1985; STONE & SCHONROGGE, 2003).

Alterações de alta complexidade são evidenciadas em estudos anatômicos e ontogenéticos de galhas (MOURA et al., 2009), confirmando que essa interação interespecífica galhador-hospedeiro é, na verdade o fenótipo estendido do organismo indutor, onde cada parasita induz alterações morfogenéticas semelhantes em diversos hospedeiros (SHORTHOUSE et al., 2005; GIRON et al., 2016). As galhas apresentam características peculiares de cada espécie, distintas tanto fisiológica quanto morfológicamente (FERNANDES et al., 2012; ISAIAS & OLIVEIRA, 2012).

O desenvolvimento completo da galha depende da sincronização perfeita entre o inseto galhador e sua planta hospedeira, podendo ser dividido em estágios ontogênicos de: indução, crescimento e desenvolvimento, maturação e senescência, de modo que simples variações no ciclo de vida vegetal podem acarretar problemas nutricionais para as espécies indutoras (CARNEIRO et al., 2013).

Price et al., (1987) reuniram argumentos de diversos autores sobre o valor adaptativo das galhas e sua finalidade, com discussões que giram entorno destas estruturas serem formadas a favor dos indutores, atuando como fonte de alimentação para as larvas, ou auxiliando o vegetal na defesa, o qual possivelmente produz a galha para neutralizar o organismo invasor. Contudo, o autor relata que as galhas possuem alto valor adaptativo, dado que, além de fornecer alimento à larva indutora, essa estrutura cria um microambiente propício ao desenvolvimento larval, enquanto protege a mesma de fatores externos.

Inseto galhador

Galhas de insetos são causadas principalmente por quatro grupos: Díptera, Heteroptera, Hymenoptera e Cynipidae (Hymenoptera), estes grupos induzem formação de estruturas galígenas geralmente com um grau de complexidade superior às galhas induzidas por outros organismos (HOUGH, 1953). A herbivoria por insetos, também denominada de fitofagia, não ocorre por acaso, um dos fatores desta e de muitas outras interações entre vegetais e insetos, pode ser elucidado por ambos serem os maiores grupos em questão de diversidade, não se tratando de uma relação accidental. Cada linhagem

desenvolve atributos que garantem sua sobrevivência ao longo da sua coevolução, interagindo harmonicamente ou não entre si (AOYAMA & LABINAS, 2012).

Os cecidógenos como são chamados os insetos indutores, apresentam grande especialização na obtenção de recursos, uma vez que, possuem uma interação direta com os tecidos internos do vegetal. Ao alterar o genoma da planta, o inseto induz a formação de recursos nutricionais e protetores, garantindo o sucesso da reprodução e desenvolvimento da larva (SHORTHOUSE et al., 2005)

No ato do estabelecimento do inseto indutor, um morfotipo específico desta espécie iniciará seu desenvolvimento após respostas ativas dos tecidos vegetais, gerados pelo hospedeiro. O grau de diferenciação celular varia conforme o tempo de ciclo da estrutura galígena, aumentando também sua complexidade estrutural, visto que, o envelhecimento da folha, dita o tempo entre a maturação e a senescências da galha (MAGALHÃES et al., 2015).

Os Dípteros em sua maioria, utilizam a espátula protorácica para fazer uma ruptura no tecido vegetal, seu fluido salivar induz o desenvolvimento de uma bolsa, enquanto o líquido celular é digerido de forma extracorpórea e sugados pela larva (FERREIRA et al., 2019). A família Cecidomyiidae pertencente a ordem Díptera, possui enorme facilidade em ocasionar galhas na grande maioria dos vegetais e em todos seus órgãos, tendo a folha como órgão principal e uma gama de morfologias estruturais galígenas, variando entre esferoides, fusiformes, clíndricas, ovóides, coniformes, glabras e pilosas de acordo com seu hospedeiro (FERNANDES & PRICE, 1988).

Segundo Rohfritsch (1980), a partir da eclosão, a larva de Cecidomyiidae ataca os tecidos com seu aparelho bucal, causando inúmeras lesões ao vegetal, numa fase denominada de pré-implantação, onde a mesma é bastante móvel e ágil. Após instalar-se completamente no tecido hospedeiro, a larva passa a ser imóvel e torna-se menos violenta para o vegetal.

Espécies com poder de penetração mais profunda nos tecidos vegetais, como insetos com longos estiletos, são capazes de induzir a hipertrofia de tecidos mais internos como o floema, enquanto os insetos sugadores mais superficiais e mastigadores, promovem a formação de tecidos nutritivos ao redor da câmara larval (FERREIRA et al., 2019).

Hábitat dos galhadores

LUZ et al., (2012) relataram maior riqueza de estruturas galígenas em hábitats de vegetação esclerófila e sujeita a estresse hídrico (hábitats xéricos), quando comparado à ambientes méxicos. Resultado também encontrado por LARA et al., (2002) ao analisarem a riqueza de galhas em altitudes constantes para hábitats xéricos e méxicos, com maiores números em sítios xéricos. Porém, a autora observou que entre 1200m e 1400m, houve-se uma diminuição na riqueza de galhas em ambientes xéricos, sendo o ambiente méxico detentor da maior média, tendo como explicação o aumento na umidade em altitudes elevadas.

A sobrevivência de larvas galhadoras pode ser ameaçada pela simples presença de outro organismo parasita, o fungo endofítico, o qual produz substâncias químicas nos vegetais hospedeiros, levando a mortalidade do galhador. Estes patógenos são menos ativos em hábitats mais secos, entretanto, aumentam consideravelmente a mortalidade de galhadores em ambientes méxicos (LARA et al., 2002).

Tanto o estresse hídrico quanto o ataque por outros patógenos sofrido pelos vegetais, corroboram com a hipótese de estresse higrotérmico sugerida por Fernandes & Price (1988), a qual propõe que em ambientes mais secos (hábitats xéricos) as plantas oferecem maiores condições nutricionais para os insetos galhadores e uma frequência menor na infestação por outros parasitas, possivelmente inimigos naturais dos insetos.

3. Objetivos

3.1. Geral

- Descrever a anatomia e histoquímica envolvida na formação da estrutura galígena em *Cnidoscolus pubescens* (Euphorbiaceae)

3.2. Específicos

- Identificar as alterações histológicas no tecido vegetal galhado.

- Descrever as estruturas de defesa (físicas e/ou histoquímicas) utilizadas pelo vegetal contra a herbivoria

- Histolocalizar as substâncias histoquímicas envolvidas na nutrição do indutor e manutenção da galha

4. Material e métodos

4.1. Coleta e desenvolvimento

Localizada no Centro Norte Baiano, o município de Santa Teresinha-Ba possui cerca de 719,257 Km², situada entre as coordenadas: latitude 12°46'19" Sul e longitude 39°31'24" Oeste, com altitude de 227 metros. O município tem a Caatinga como principal bioma, entretanto, fragmentos de Mata Atlântica também são encontrados (IBGE, 2010). A coleta foi realizada aos arredores da Rampa do Vôo Livre (12° 42' 49.9"S 39° 32' 47.519"W) uma área de Caatinga situada entre a Sede de Santa Terezinha e a localidade do Boqueirão.

O trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia no município de Cruz das Almas-Ba, durante o período de março a dezembro de 2019. Para tanto, as amostras coletadas no município de Santa Teresinha-Ba foram depositadas na coleção científica do Laboratório de Anatomia e Histoquímica Vegetal da UFRB.



Figura 1. Mapa do estado da Bahia evidenciando a localização do município de Santa Teresinha.

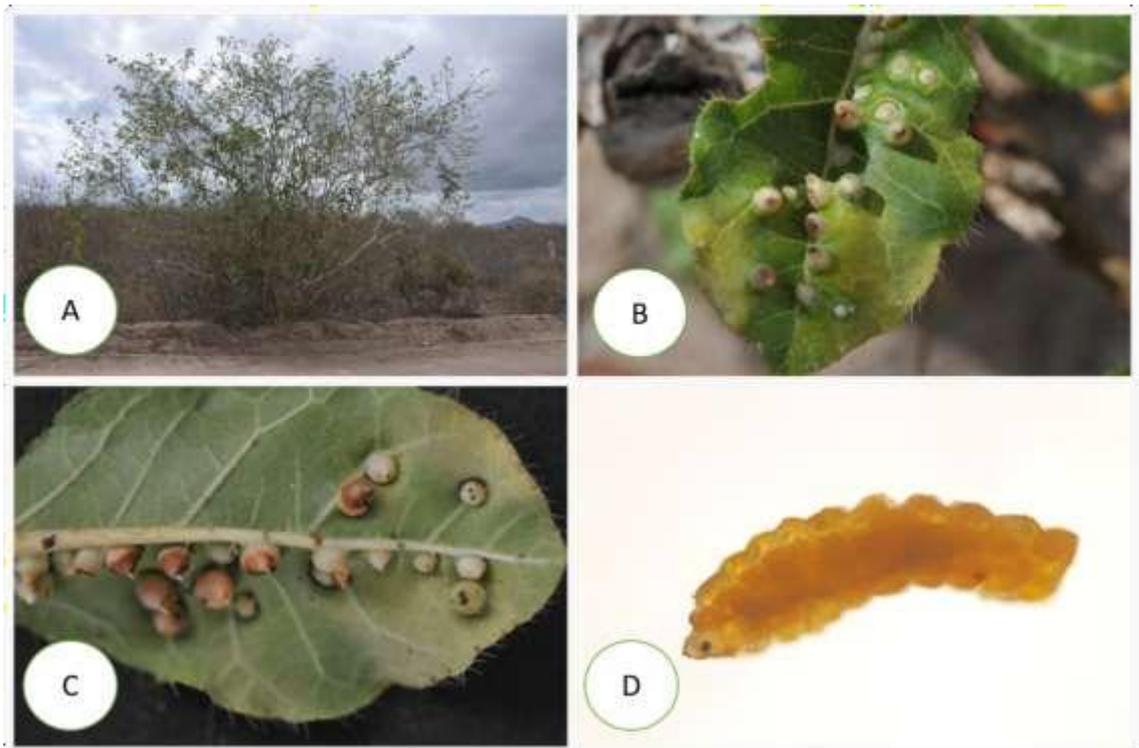


Figura 2. *Cnidoscolus pubescens* e seu galhador. A. *Cnidoscolus pubescens* in natura; B-C. Galhas foliares em *Cnidoscolus pubescens*; D. Galhador encontrado em estágio larval.

4.2. Histoquímica e caracterização anatômica

Amostras foliares (nervura central, margem da folha e pecíolo) provenientes de três indivíduos de *Cnidoscolus pubescens* foram fixadas em FAA (formaldeído, ácido acético glacial, etanol 70%; 5:5:90; v/v), por 24 horas e estocadas em etanol 70% (Johansen 1940), em FNT (formalina neutra tamponada; tampão fosfato, formalina, 9:1 v/v) por 48 horas e lavado a cada 1:30h por um período de 8 horas (Lillie, 1965), e SFF (solução de sulfato ferroso, formalina, 9:1 v/v) 48 horas e após lavadas cinco vezes em etanol a cada 15 minutos em um período de 1:30h. Para testes histoquímicos não foram utilizadas amostras fixadas em SFF.

Com o objetivo de identificar histoquimicamente as diferentes classes de compostos na estrutura galígena, amostras dos materiais fixados foram seccionadas em criomicrotomo (Leica 1800) e submetidas a diferentes testes histoquímicos (Tab. 1).

Tabela 1. Testes histoquímicos utilizados na detecção de metabólitos para galhas foliares de *Cnidoscolus pubescens*.

Grupos metabólitos	Reagentes	
Compostos fenólicos	Compostos fenólicos gerais	Dicromato de Potássio (Gabe, 1968)
	Taninos	Vanilina Clorídrica (Mace & Howell, 1974)
Lipídios	Lipídios totais	Sudan Black B (Pearse, 1980)
Polissacarídeos	Amidos	Lugol (Jensen 1962)
	Pectinas	Vermelho de Rutênio (Johansen, 1940)
Proteínas	Proteínas totais	Xilinide Ponceau (O'Brien & McCully, 1981)
Terpenóides	Borracha	Oil Red O (Jayabalan & Sha, 1986)

Para caracterização anatômica, as amostras sofreram desidratação em série butílica, sendo inclusas em parafina histológica com DMSO (Histosec/Merck), formando blocos que foram seccionados transversal e longitudinalmente com espessura de 16 µm em micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM 2245 - Leica), com utilização

de navalhas de aço descartáveis. Após desparafinação em série xilólica crescente, os cortes foram corados com safranina alcoólica e azul de astra e as lâminas montadas com resina sintética.

Observações e documentação fotográfica tanto para histoquímica quanto para caracterização anatômica foram realizadas em microscópio de luz (modelo BX51, Olympus Optical) equipado com sistema fotográfico E330, do Laboratório de anatomia e histoquímica da UFRB. Com auxílio dos programas Photoshop CS6 e Power Point montaram-se as pranchas com as imagens obtidas para análise dos resultados.

5. Resultados e discussão

Em vista frontal da folha de *C. pubescens*, observou-se a presença de galhas em ambas as faces, com maior registro na superfície abaxial em relação a face adaxial. Resultados semelhantes foram encontrados por Luz et al., (2012) para vegetais de ambientes xéricos e méxicos, apresentando superioridade de induções para a face abaxial da folha. Carneiro et al., (2009) relataram que tecidos jovens como as folhas, são mais propícios à reação de indução por apresentarem uma certa plasticidade não encontrada em outros órgãos.

As galhas apresentaram em sua maioria uma coloração esverdeada e encontravam-se distribuídas por todo o limbo foliar, com maior frequência próximas ou sobre à nervura central e nervuras secundárias (Fig 2B e C). Esse fenômeno ocorre devido à presença de elementos de condução xilema e floema, que promovem um fluxo de substâncias nutritivas maior em feixes vasculares de maior espessura, possibilitando o desenvolvimento do indutor (KRAUS et al., 1996). A coloração da estrutura galígena é consequência de mudanças no acúmulo de pigmentos vegetais, com possibilidade de alterações de coloração ao longo do desenvolvimento da galha, tendo sua evolução relacionada a adaptação do vegetal a pressões fisiológicas e sinalização defensiva (INBAR et al., 2010).

Apenas um morfotipo de galha foi encontrado, o que indica que *C. pubescens* sofreu ataque de apenas uma espécie de galhador, visto que, as características das galhas são exclusivas de cada espécie. Gonçalves-Alvim & Fernandes (2001), relataram uma

certa preferência por parte dos insetos galhadores, para plantas que sobrevivem em condições mais adversas, como de habitats áridos e quentes e de vegetação esclerófila. Segundo Carneiro et al., (2013), os insetos galhadores tendem a ser univoltinos ao parasitar plantas decíduas, como no caso da espécie alvo e multivoltinos no caso de vegetais perenes, o que pode influenciar para riqueza de galhas em espécies de determinadas regiões.

As galhas de *C. pubescens* foram classificadas como globóides de padrão isolado, raramente sobrepondo umas às outras (Fig. 2A, 2B), semelhante aos trabalhos de Magalhães et al., (2008) e Coelho et al., (2012) para *Cnidoscolus quercifolius*, este último evidenciando galhas cônicas também na face abaxial da folha. A morfologia globóide descrita para as galhas deste estudo, inclui formas redondas que variam de elipsóides à esferóides, com possibilidade de formação em todos os órgãos vegetativos e reprodutivos do vegetal hospedeiro. Este é o morfotipo mais comumente encontrado na natureza, muitas vezes referidos com outros termos, sendo eles: esférico, globoso, globular, ovóide, entre outros sinônimos da morfologia globóide (ISAIAS et al., 2013).

A presença de galhas em *C. pubescens*, corrobora com a hipótese de estresse higrótico fundamentada por Fernandes & Price (1998), onde o estresse ambiental ao qual plantas de regiões xéricas estão sujeitas, ou seja: altas temperaturas, radiação e escassez de água em determinados períodos do ano, aumentam sua susceptibilidade à herbivoria. Segundo Aerts (1995), espécies decíduas apresentam altas taxas de herbivoria por possuírem baixas concentrações de defesas mecânicas e químicas.

A maioria das galhas de *C. pubescens* encontravam-se fechadas (sem eclosão), demonstrando que as larvas galhadoras ainda não haviam atingido sua fase adulta (FERNANDES et al., 1988). Embora o galhador não tenha sido identificado, registros encontrados na literatura sobre relações inseto-planta, relacionam a maioria das galhas à insetos da família Cecidomyiidae, a qual é apontada em inúmeros trabalhos (FERNANDES et al., 2001; SANTOS et al., 2011b; FERNANDES et al., 2012) como principais indutoras de galhas na família Euphorbiaceae. Santos et al., (2011a) relataram galhas induzidas pela família Cecidomyiidae em três espécies do gênero *Cnidoscolus*: *Cnidoscolus loefgrenii*, *Cnidoscolus phyllacanthus* e *Cnidoscolus urens*, para regiões de Caatinga no estado de Pernambuco.

Em seção transversal, regiões sadias da folha apresentaram epiderme unisseriada, coberta por cutícula em ambas as faces, adaxial e abaxial, um mesofilo dorsiventral (Fig. 3A). A nervura central (Fig. 3B-C) e nervuras secundárias apresentam feixes vasculares colaterais como relatado por Metcalf & Chalk (1950) para família Euphorbiaceae.

Em regiões galhadas foram observadas um certo grau de reorganização tecidual do mesofilo. Tanto o parênquima paliádico quanto parênquima lacunoso apresentaram deformações em seus padrões estruturais, como a homogeneização de ambos os parênquimas e o aumento do número de células, bem como de seu tamanho, caracterizando a hiperplasia e hipertrofia celular comumente encontrada em galhas. (Fig. 5A). Segundo Yamaguchi et al., (2012) e Bedetti et al., (2018) os fitormônios auxina (IAA) e citocinina (CKs), possuem papel importante na formação e manutenção de galhas entomógenas, uma vez que, seus genes responsivos são positivamente regulados pela presença do indutor, levando aos processos observados de hiperplasia e a hipertrofia do tecido afetado.

Análises do laminário evidenciaram câmara larval com lóculo único, hospedando o galhador, este ainda estágio de desenvolvimento (fig. 5A). De acordo com Felt (1936), o estímulo para a formação das galhas ocorre em tecidos meristemáticos ou tecidos com plasticidade suficiente para o desenvolvimento de funções semelhantes, nos quais o crescimento anormal da epiderme se dá provavelmente enquanto suas células ainda estão em condições plásticas.

Tricomas tectores foram evidenciados em ambas as faces da folha (Fig. 3B) idioblastos distribuídos em maior número na região galhada (fig. 4A), assim como a presença de cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (Fig. 4A) e laticíferos dispostos no mesofilo e na região cortical (Fig. 4B).

O conjunto destas estruturas, funciona como uma linha de defesa direta da planta em resposta à herbivoria, seja por meio de proteções mecânicas superficialmente localizadas ou pela produção de substâncias químicas tóxicas. São formadas barreiras repelentes e anti-nutricionais que evitam a acessibilidade de herbívoros ao recurso alimentar vegetal (BECERRA et al., 2001; ARRUDA et al., 2009; BARBOSA et al., 2010; WAR, 2012; RAYMUNDO et al., 2017). O grau de aceitabilidade ou resistência

das plantas hospedeiras tem influência direta das características físicas e químicas do vegetal (ABRAHAMSON et al., 1991; RAMALHO & SILVA, 2010).

Elementos de protoxilema foram encontrados na região gahlada, evidenciando o início para formação de novos vasos condutores, da mesma forma que tecidos vasculares bem formados encontram-se orientados em função da irrigação dos tecidos no local do ataque (Fig. 5B-C). Elementos de protoxilema surgem na formação do xilema primário, em órgãos ou partes do vegetal que não completaram seu alongamento e diferenciação (Apezzato-da-Glória e Carmello-Guerreiro, 2006).

A produção de tricomas em órgãos foliares, está associado à pressão sofrida pelo vegetal em função dos herbívoros (BARBOSA et al., 2010). Rodrigues et al., (2013) em testes com cultivares de soja, observaram que o cultivar com a maior densidade de tricomas, foi o menos suscetível ao ataque do herbívoro *Cerotoma arcuata*, em função da menor média de área danificada em discos foliares. Segundo War (2012), a densidade dessas estruturas afeta a ovoposição e nutrição do organismo indutor no estágio larval e mecanicamente interferem na locomoção de insetos adultos e outros organismos na superfície vegetal.

Dentro da herbivoria, os idioblastos além de possuírem função direta na formação de cristais de oxalato de cálcio, auxiliam também nas regulações de cálcio, desintoxicação de metais e defesas químicas da planta, impedindo-a de sucumbir a diferentes estresses ambientais (NAKATA, 2003; FRANCESCHI & NAKATA, 2005).

Os laticíferos são estruturas produtoras de látex que desempenham papéis de alta relevância, fisiológico, ecológico e evolutivamente, nas defesas anti-herbívoros dos vegetais, diminuindo a palatabilidade do órgão, dificultando a predação e atuando de forma única nas interações inseto-planta (KONNO, 2011; AOYAMA & LABINAS, 2012). A presença de laticíferos não é exclusivo de vegetais gahlados, sendo relacionados também com o transporte e fornecimento de produtos químicos de defesa ao local de injúria por um herbívoro, de forma imediata (KONNO, 2011).

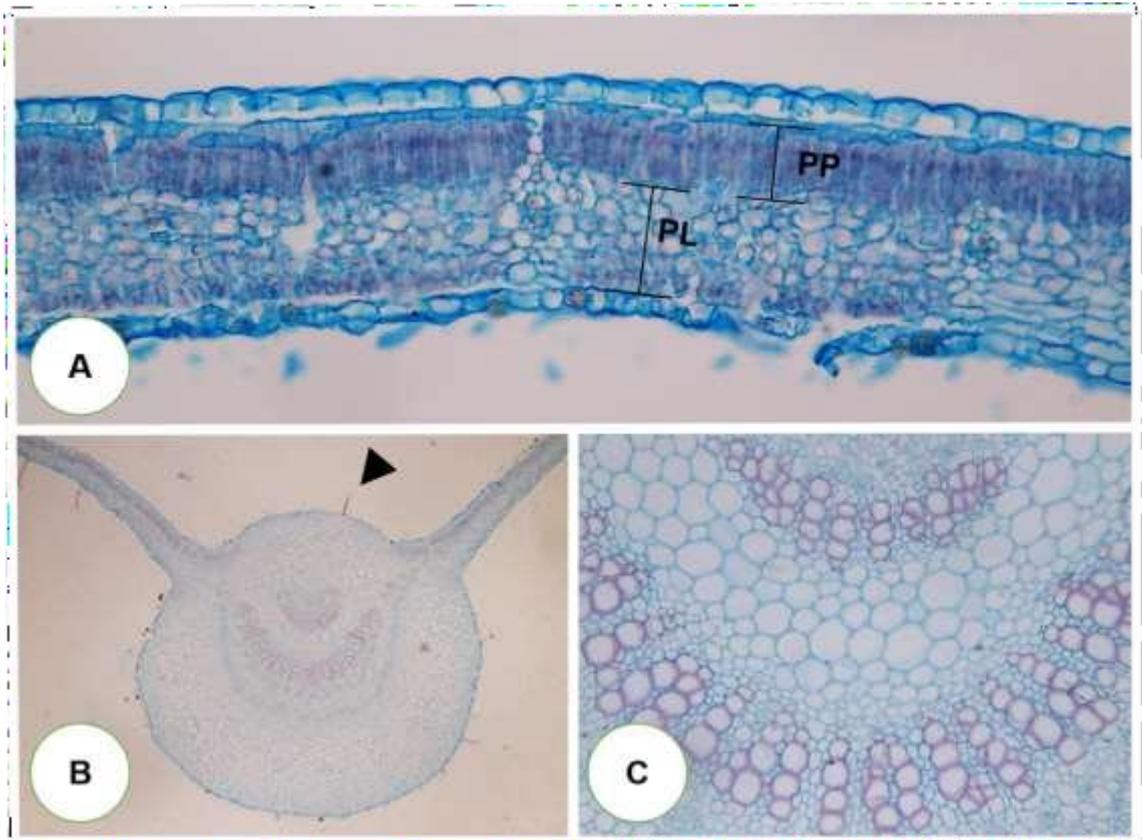


Figura 3. Seção transversal de regiões saudáveis da folha. A. Mesofilo foliar 20x; B. Vista geral da nervura central 4x; C. Nervura central 20x; Cabeça de seta = Tricoma tector; PP = Parênquima Paliçádico; PL = Parênquima Lacunoso.

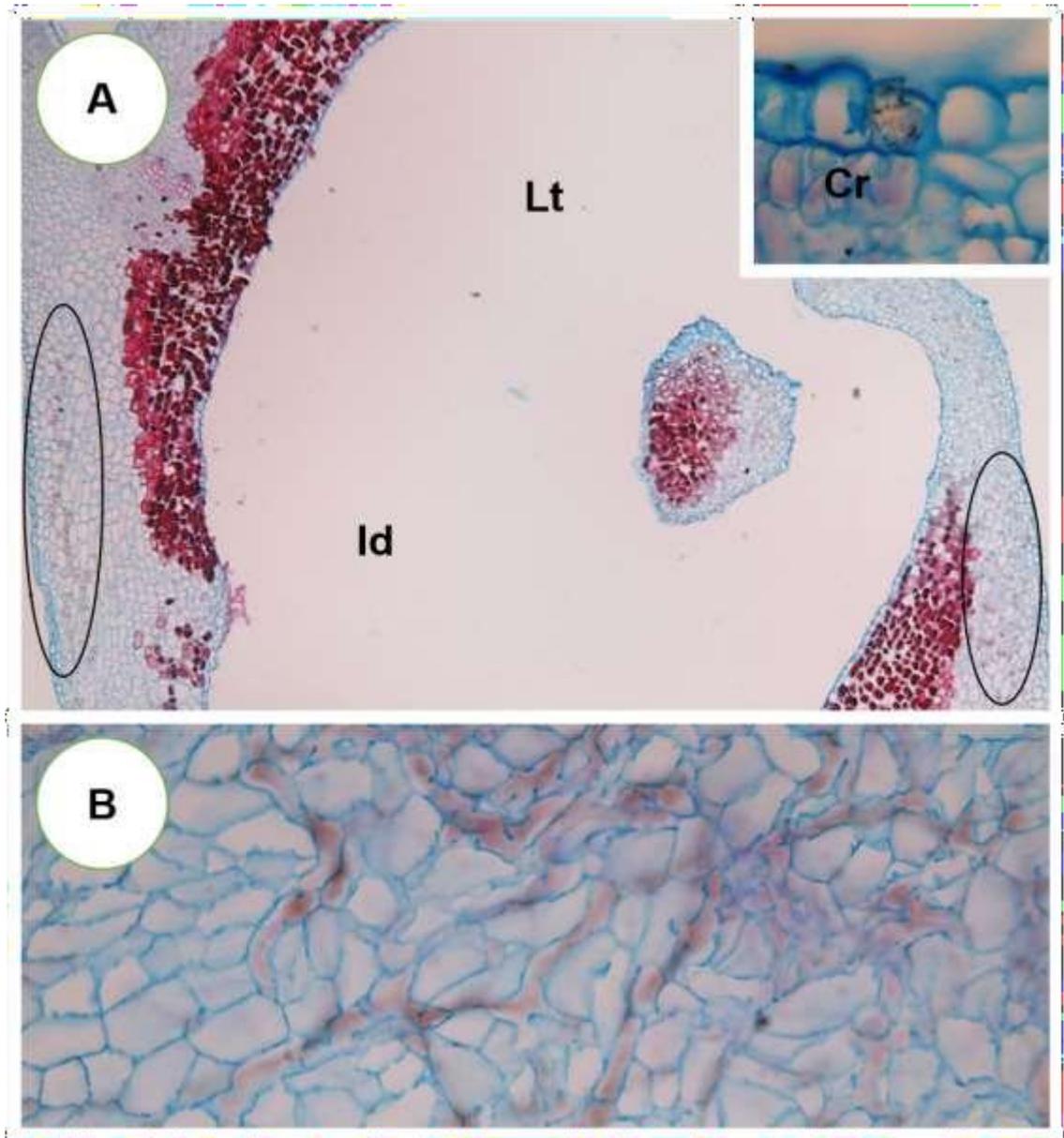


Figura 4. Seção transversal da galha e seu entorno, evidenciando presença de laticíferos e grande quantidade de cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa. A. Laticíferos presentes no córtex 20x; B. Visão geral da galha 20x. Elipse = presença de Cristais de oxalato de cálcio; Cr = Cristais de oxalato de cálcio; Id = Idioblastos; Lt = laticíferos.

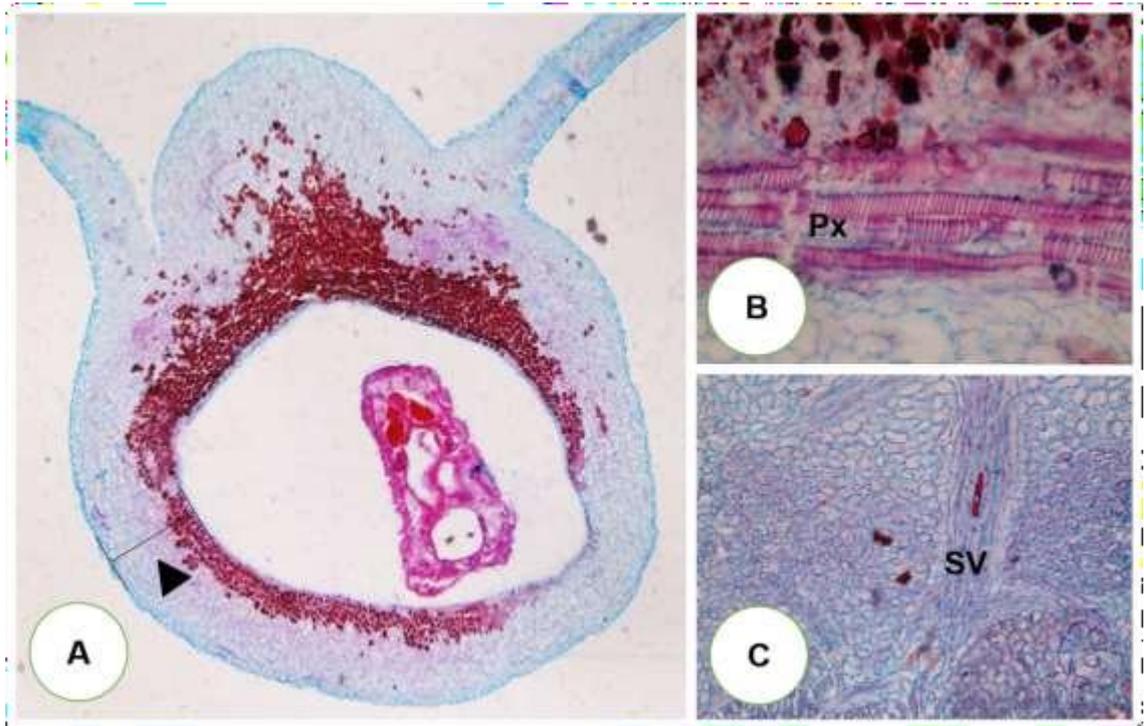


Figura 5. Seção transversal da galha e seu entorno. A. Córtex homogeneizado da galha e organismo galhador 20x; B. Elementos de protoxilema 40x; C. Sistema vascular formado na região galhada 40x; Cabeça de seta = Mesofilo; Px = Protoxilema; SV = Sistema vascular.

Os testes histoquímicos foram positivos para presença de fenólicos gerais, grãos de amido, lipídios totais e proteínas no interior de laticíferos (Tab. 2). Enquanto, pectinas, taninos e borracha apresentaram negatividade nos testes (Tab. 2). Os metabólitos detectados são frequentemente citados em diversos trabalhos (OLIVEIRA et al., 2010; GUEDES et al., 2018; ISAIAS et al., 2018; SILVA & SANTOS, 2018) relacionados a galhas e outros tipos de interação entre outros organismos e vegetais.

Compostos fenólicos gerais foram detectados em grande quantidade nos tecidos mais internos da galha, os quais circundam a câmara larval e menor número em tecidos mais externos, próximos à epiderme (Fig. 7). O que de certa forma difere da localização espacial esperada para compostos fenólicos em tecidos galhados, a qual apresenta maiores concentrações em tecidos mais externos (BRAGANÇA et al., 2017), como evidenciados por Andrade et al., (1995), em *Vernonia polyanthes* (Spreng.) Less (Asteraceae), onde os compostos fenólicos apresentaram grande concentração principalmente na epiderme e tecidos parenquimáticos do órgão infectado. A diferença no padrão espacial para os compostos fenólicos pode ser explicada pela particularidade de cada galha, uma vez que, essa é uma interação espécie-específica.

Embora compostos fenólicos estejam frequentemente relacionados com defesas de vegetais, o mesmo não impediu a ovoposição ou desenvolvimento da larva galhadora, bem como foi relatado por Soares et al., (2000), ao realizarem experimentos com galhas em folhas de *Rollinia laurifolia* Schdtl. (Annonaceae). Segundo Formiga et al., (2009) e Bragança et al., (2017), os galhadores superam a presença dos compostos fenólicos, utilizando-os também, como barreiras químicas para a proteção dos possíveis ataques de seus inimigos naturais.

O alto nível de compostos fenólicos, é uma das reações do vegetal como método de defesa contra ataques de alguns organismos (KOSUGE, 1969; ABRAHAMSON, 1991; FORMIGA et al., 2009), no entanto, no caso específico dos formadores de galhas, esse metabólito é usado pelo indutor como mediador do crescimento do vegetal, seja pela interação com hormônios e/ou enzimas, ou pela indução da expressão dos genes na planta, influenciando na hipertrofia celular (HARTLEY, 1999; BRAGANÇA et al., 2017).

Segundo Carneiro et al., (2014), a disponibilidade destes metabólitos para os indutores ou manutenção do metabolismo celular, necessita da atividade de enzimas, que por sua vez, dependem do comportamento nutricional dos indutores e do perfil químico do vegetal hospedeiro. Os compostos fenólicos talvez sejam os metabólitos mais

estudados na relação inseto-planta, sendo relacionados com o desenvolvimento estrutural da galha (ABRAHAMSON, 1991).

Sharma et al., (1986) sugerem que os compostos fenólicos agem como reguladores de germinação e crescimento de plântulas, uma vez que, a presença destes inibem a atividade do ABA, permitindo então a atividade da amilase, aumentando a disponibilidade de carboidratos mobilizáveis, restaurando o crescimento e germinação de mudas. Resultados semelhantes encontrados por Ray et al., (1980), os quais relataram atividade inibitória de compostos fenólicos na atividade de ABA, também em mudas vegetais.

Grande quantidade de amido foram observadas na região da galha, formando um tecido de armazenamento de energia (Fig. 8) em forma de um gradiente centrípeto em direção à câmara larval, além de livres, presentes também em meio a idioblastos e laticíferos por todo córtex da galha. Segundo Mani (1964), a presença de amido está frequentemente atrelada à zona de reserva do vegetal. Enquanto Guedes et al., (2018), ao analisarem galhas foliares em *Schinus polygama* (Anacardiaceae), relataram a presença do amido em folhas saudáveis e ausência em folhas galhadas.

Oliveira et al., (2010) afirmaram que o gradiente de amido é somente encontrado nas galhas em fases iniciais de desenvolvimento da larva, destacando o amido como de suma importância para manutenção estrutural da galha e/ou translocação de substâncias para o tecido nutritivo. Esse amido não pode ser utilizado diretamente, necessitando então, da ação de invertases, enzimas que vão converter o produto do metabolismo desse amido em glicose e frutose (OLIVEIRA & ISAIAS, 2010; OLIVEIRA et al., 2010).

Inúmeros táxons podem induzir a formação de tecidos de armazenamento comuns, ricos em células contendo amidos localizados em vacúolos ou no citoplasma periférico, com uma certa semelhança citológica em relação ao tecido nutritivo, recebendo o nome de “tecido semelhante a nutrientes” (FERREIRA et al., 2019).

Os lipídios foram detectados na forma livre (Fig. 9A-B) e também no interior de laticíferos e idioblastos na região galhada e no mesofilo foliar (Fig. 9C-D), corroborando parcialmente com resultados de (MANI, 1964) para estruturas galígenas induzidas por *Rondaniella bursarius* e *Cistiphora sonchi*, espécies de galhadores da ordem Díptera, na qual foi evidenciada alta presença de lipídios livres em tecidos nutritivos. Segundo Isaias

et al., (2018), lipídios estão relacionados diretamente com a atividade de nutrição do indutor, sendo considerado um dos principais métodos de alimentação.

Os Cecidomídeos galhadores utilizam o acúmulo de lipídios como uma reserva energética tanto para sua nutrição, quanto para o desenvolvimento da galha (BRAGANÇA et al., 2017). Oliveira et al., (2010) encontraram lipídios apenas nas camadas celulares mais externas das galhas e os relacionaram com o tecido reserva da planta. Oliveira & Isaias (2010), afirmaram que a concentração de lipídios no tecido reserva, possuem função direta na manutenção da estrutura galígena.

Tecidos nutricionais observados no local de formação da galha, surgem a partir de um aumento no fluxo de recursos alimentares, promovidos pela neoformação de feixes vasculares e diferenciação de emergências, levando a divisões celulares em distintos ângulos, alterando o padrão laminar da folha relacionado à fotossíntese e garantindo fonte nutricional e um microambiente propício para os galhadores (ISAIAS & OLIVEIRA, 2012).

Proteínas apresentaram resultados negativos para sua presença de forma livre na galha (Fig. 10A), bem como no interior de idioblastos (Fig. 10B), sendo encontradas apenas no interior de laticíferos, estes presentes no córtex da galha (Fig. 10C). Resultados que diferem dos dados de Silva & Santos (2018), os quais detectaram proteínas no esclerênquima e tecido nutritivo das galhas foliares de *Ouratea spectabilis* (OCHNACEAE). OLIVEIRA et al., (2010) relacionaram a presença de proteínas em galhas de *Aspidosperma spruceanum* (Apocynaceae), como principal fonte nutricional do galhador.

Quando livre, as proteínas são consideradas recursos nutritivos de organismos galhadores e seus altos níveis são seguidos pelo aumento da concentração de hexoses, que são produtos da atividade de sacarose e invertases, relacionadas com a ativação de mecanismos de defesa vegetal, por meio de um aumento na síntese de metabolitos secundários. As proteínas podem ter seu acúmulo atrelado ao aumento do estresse oxidativo e respiratório estabelecido durante o processo cecidogênico (BRAGANÇA et al., 2017).

Tabela 2. Resultados encontrados para os testes histoquímicos.

Classe química	Reagente	Galha	Parênquima	Idioblasto	Laticífero
Compostos fenólicos gerais	Dicromato de Potássio	+	-	+	-
Taninos	Vanilina Clorídrica	-	-	-	-
Lipídios	Sudan Black B	+	+	+	+
Amido	Lugol	+	-	+	+
Pectinas	Vermelho de Rutênio	-	-	-	-
Proteínas totais	Xilinide Ponceau	-	-	-	+
Borracha	Oil Red O	-	-	-	-

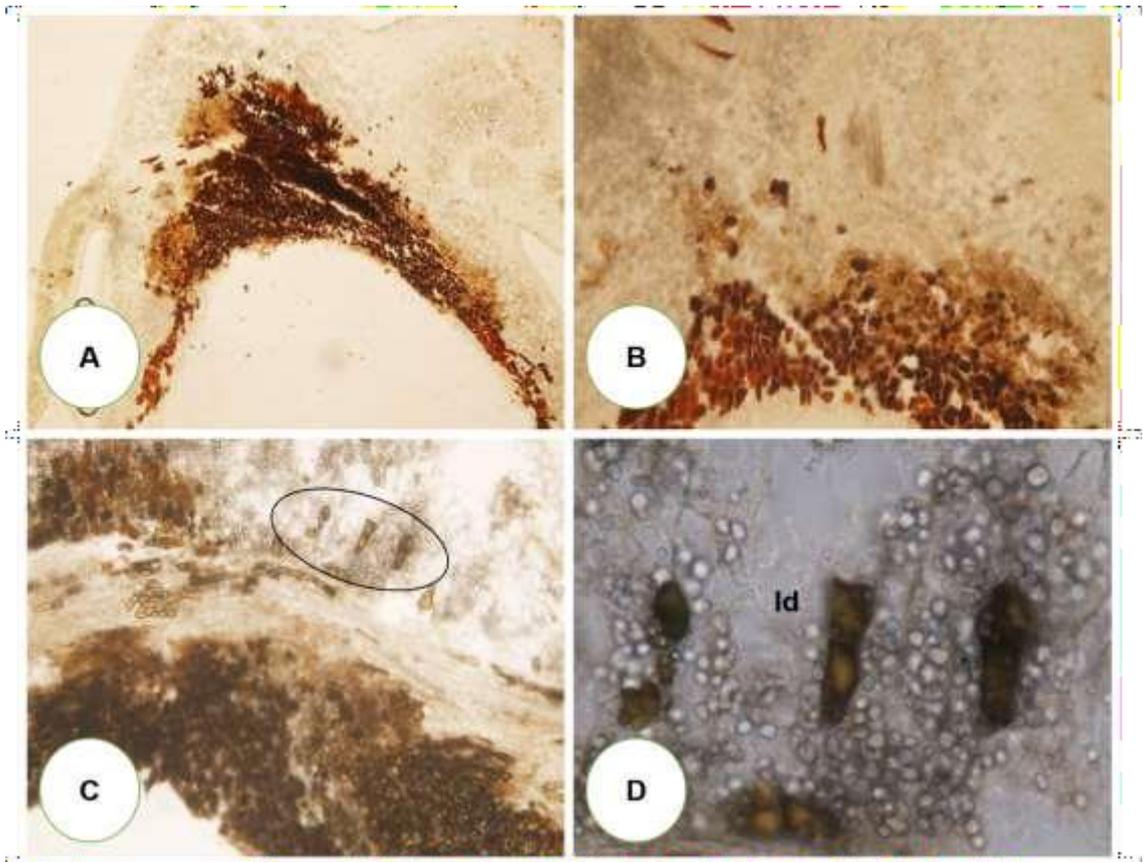


Figura 7. Seção transversal da galha. A. Vista geral da galha, apontando resultado positivo para compostos fenólicos 4x; B. Visão ampliada dos compostos fenólicos 40x. C-D Compostos fenólicos detectados no interior de idioblastos 40x. Elipse/Id = Idioblastos.

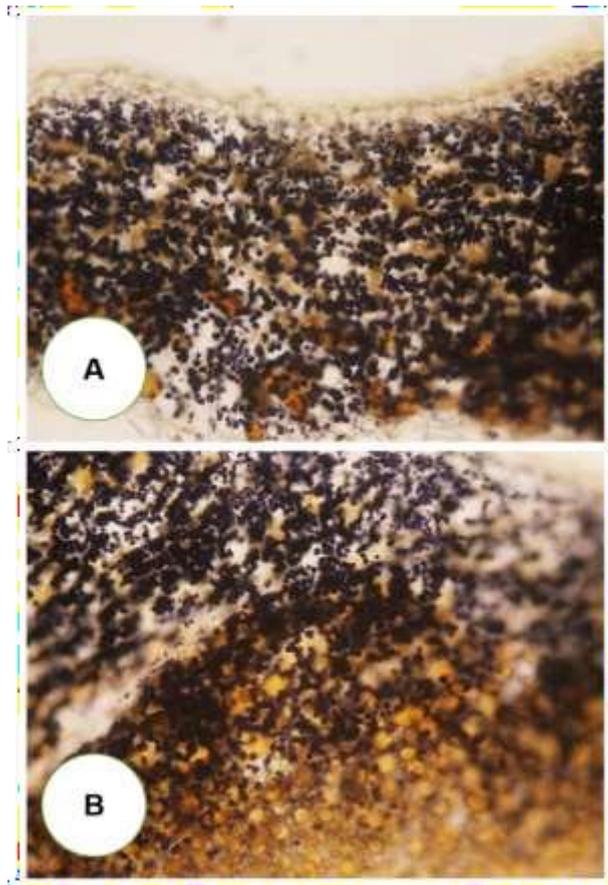


Figura 8. Seção transversal da galha. A-B Presença de grãos de amido por todo córtex da galha 20-40x.

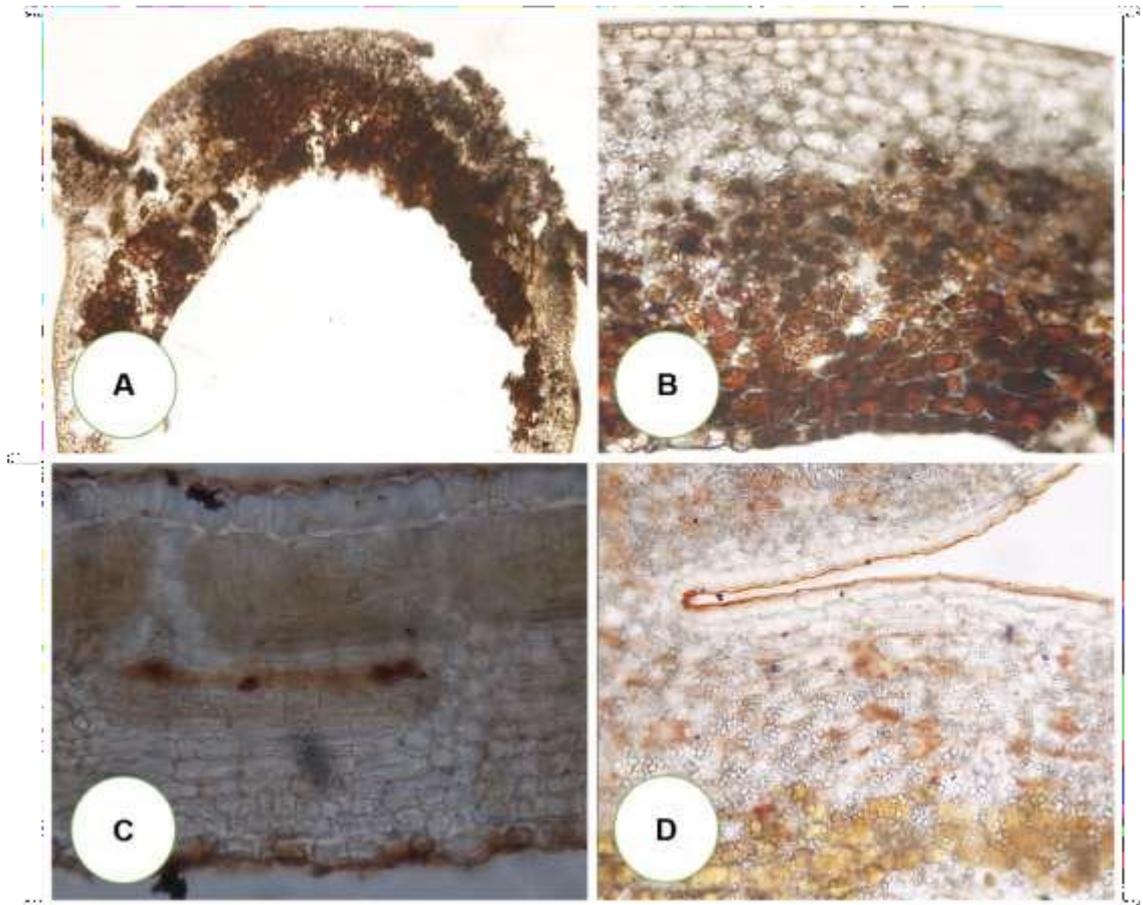


Figura 9. Seção transversal da galha e mesofilo foliar. A. Visão geral da galha, evidenciando resultado positivo para a presença de lipídios livres no córtex 4x; B. Visão ampliada da região galhada destacando resultado positivo também para lipídios no interior de idioblastos 20x; C. Lipídios detectados no interior de laticíferos, no mesofilo 40x; D. Lipídios detectados no interior de laticíferos na região da galha 40x.

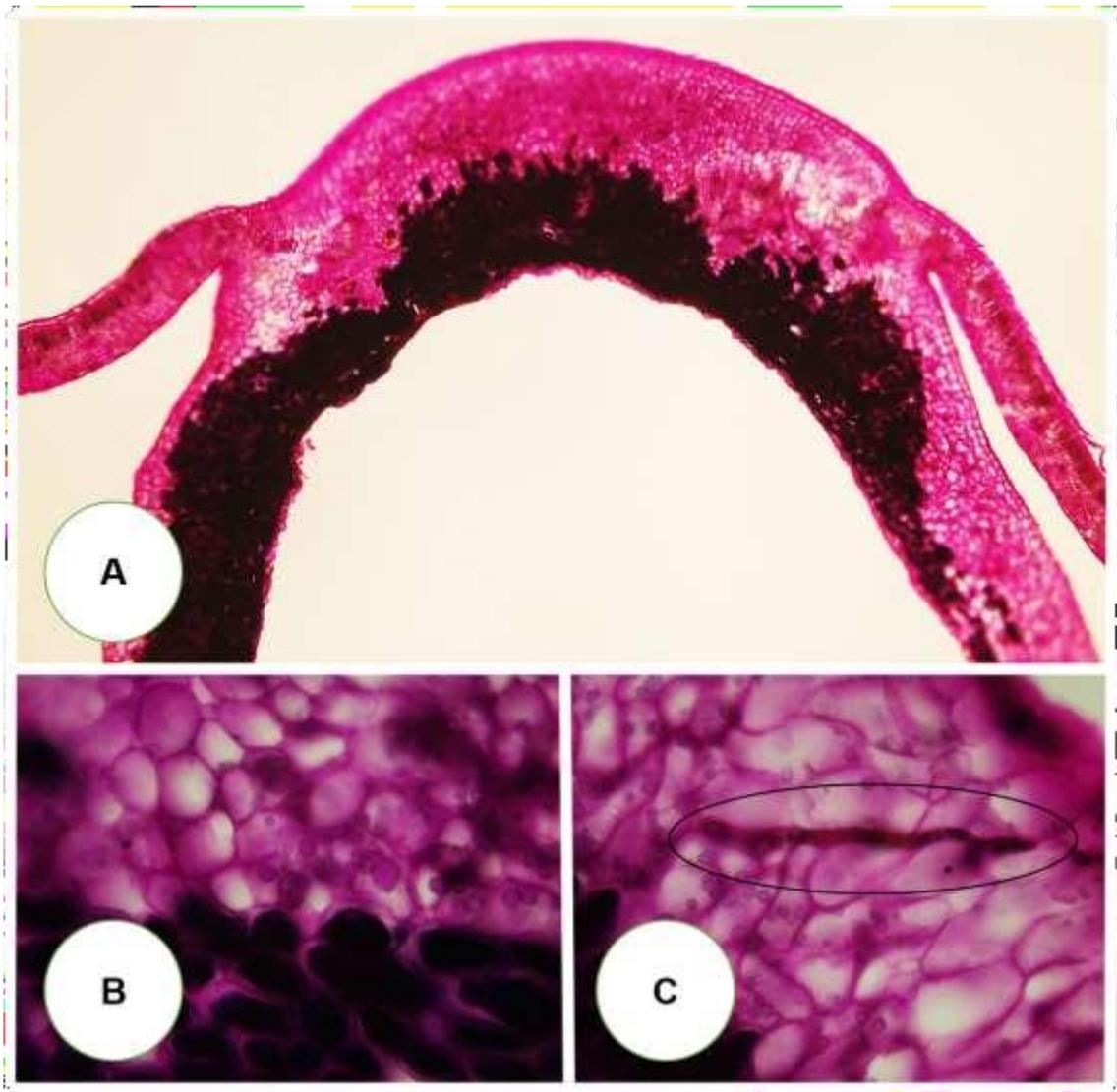


Figura 10. Seção transversal da região galhada. A. Vista geral da galha, evidenciando resultado negativo para proteínas dispostas livremente na região da galha 4x; B. Proteínas não encontradas em idioblastos 40x; C. Resultado positivo para proteínas no interior de laticíferos 40x. Elipse = Laticífero.

6. Considerações finais

A descrição anatômica e histoquímica das galhas presentes em folhas de *Cnidoscolus pubescens*, reforçam o entendimento sobre a relação inseto-planta e sua coevolução, principalmente dentro do bioma Caatinga, o qual permanece quase que inexplorado quanto a essas relações. O estudo demonstra uma reorganização tecidual como efeito dos galhadores sobre o vegetal, e como o mesmo utiliza mecanismos físicos e químicos para fugir da herbivoria, fornecendo também informações complementares ao banco de dados da espécie, a qual não possui registo de galhas na literatura.

Em comparação com a folha sadia, as folhas galhadas de *C. pubescens* apresentaram certo grau de deformação parenquimática, homogeneizando os parênquimas paliçádico e lacunoso nos locais de formação das galhas, com neoformação de vasos condutores em direção as regiões atacadas, irrigando os lóculos para o desenvolvimento da estrutura.

Tricomas tectores, idioblastos, cristais tipo drusa e laticíferos foram encontrados principalmente em regiões galhadas, representando por sua vez, um conjunto de estruturas com funcionalidade de defesa vegetal, diminuindo a possível área de nutrição do galhador ou dificultando seu tráfego, e até mesmo tornando tecidos verdadeiras barreiras anti-nutricionais, como a impalatabilidade causada pela presença de látex.

Metabólitos primários e secundários encontrados nas galhas foliares de *C. pubescens* apresentam pequenas diferenças espaciais no que diz respeito aos padrões esperados para ataques de insetos galhadores, o que demonstra a peculiaridade das características apresentadas por cada espécie galhadora e seu hospedeiro na formação das galhas.

A presença de lipídios na forma livre e de proteínas apenas no interior de laticíferos indica uma dieta exclusivamente formada pelo primeiro metabolito primário citado, cuja concentração se deu por toda região galhada, formando um tecido nutritivo muito rico e capaz de suprir as necessidades alimentícias do indutor. Enquanto as proteínas encontradas no interior de laticíferos certificam apenas que a substância é uma das componentes do látex da espécie em estudo. O gradiente de amido encontrado não está diretamente relacionado a nutrição do indutor, mas sim, a manutenção estrutural da galha.

7. Referências Bibliográficas

Abrahamson, W. G., McCrea, K. D., Whitwell, A. J., & Vernieri, L. A. (1991). The role of phenolics in goldenrod ball gall resistance and formation. *Biochemical Systematics and Ecology*, 19(8), 615-622.

Aerts, R. (1995). The advantages of being evergreen. *Trends in Ecology & Evolution* 10: 402-407.

Amorim, I. L. D., Sampaio, E. V., & Araújo, E. D. L. (2005a). Flora e estrutura da vegetação arbustivo-arbórea de uma área de caatinga do Seridó, RN, Brasil. *Acta botânica brasílica*, 19(3), 615-623.

Amorim, S. L., Medeiros, R. M., & Riet-Correa, F. (2005b). Intoxicação experimental por *Manihot glaziovii* (Euphorbiaceae) em caprinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 25(3), 179-187.

Andrade, G. I., Silva, I. M., Wilsonfernandes, O., & Scatena, V. L. (1995). Aspectos Biológicos Das Galhas De Tomopia (; Ia Rudolphi (Diptera: Tephritidae) Em *Vernonia Polyanthes* (Asteraceae). *Rev. Brasil. Biol.*, Minas Gerais, n, 819-829.

Aoyama, E. M., & Labinas, A. M. (2012). Características estruturais das plantas contra a herbivoria por insetos. *Enciclopédia Biosfera*, 8(15), 365-386.

Appezato-da-Glória. B., & Carmello-Guerreiro. S. M. (2006). Anatomia Vegetal. Viçosa-MG. UFV. (2) 139-154.

Araujo Filho, J. A. (1992). Manipulação da vegetação lenhosa da caatinga para fins pastoris. Embrapa Caprinos e Ovinos-Circular *Técnica (INFOTECA-E)*.

Arruda, R. C. O., Viglio, N. S. F. & Barros, A. A. M. (2009). Anatomia foliar de halófitas e psamófilas reptantes ocorrentes na restinga de Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 60 (2): 333-352.

Ascendino S; Maia V. C. (2017). Anais... Insects galls of Pantanal areas in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil: characterization and occurrence, Mato Grosso do Sul, Museu Nacional, p. 1543-1564.

Barbosa, J. M., Goedert, D., Santos, M. B., Loiola, M., & Martins, T. K. (2010). Tricomas glandulares conferem defesa contra herbivoria em *Clidemia* sp.(Melastomataceae). Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica”. Universidade de São Paulo, São Paulo.

Becerra, J. X., Venable, D. L., Evans, P. H., & Bowers, W. S. (2001). Interactions between chemical and mechanical defenses in the plant genus *Bursera* and their implications for herbivores. *American Zoologist*, 41(4), 865-876.

Bedetti, C. S., Jorge, N. C., Trigueiro, F. C. G., Bragança, G. P., Modolo, L. V., & Isaias, R. M. S. (2018). Detection of cytokinins and auxin in plant tissues using histochemistry and immunocytochemistry. *Biotechnic & Histochemistry*, 93(2), 149-154

Bergamini, B. A. R., Bergamini, L. L., Santos, B. B. D., & Araújo, W. S. D. (2017). Distribution of insect galls in xeric and mesic habitats of Floresta Nacional de Silvânia, Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, 107.

Bregonci, J. D. M., Polycarpo, P. V., & Maia, V. C. (2010). Galhas de insetos do Parque Estadual Paulo César Vinha (Guarapari, ES, Brasil). *Biota Neotropica*, 10(1), 265-274.

Bragança, G. P., Oliveira, D. C., & Isaias, R. M. (2017). Compartmentalization of metabolites and enzymatic mediation in nutritive cells of Cecidomyiidae galls on *Piper arboreum* Aubl.(Piperaceae). *Journal of Plant Studies*, 6.

Carneiro, M. A. A., Borges, R. A., Araújo, A., & Fernandes, G. W. (2009). Insetos indutores de galhas da porção sul da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 53(4), 570-592.

Carneiro, R. G., Burckhardt, D., & Isaias, R. M. (2013). Biology and systematics of gall-inducing triozids (Hemiptera: Psylloidea) associated with *Psidium spp.*(Myrtaceae). *Zootaxa*, 3620(1), 129-146.

Carneiro, R. G., Oliveira, D. C., & Isaias, R. M. (2014). Developmental anatomy and immunocytochemistry reveal the neo-ontogenesis of the leaf tissues of *Psidium myrtoides* (Myrtaceae) towards the globoid galls of *Nothotrioza myrtoidis* (Triozidae). *Plant Cell Reports*, 33(12), 2093-2106.

Carvalho de L. L. G; Santos R. N. S; Barbosa . J F. (2015). Ocorrência de galhas entomógenas em plantas do parque florestal dos pioneiros, em Maringá, Paraná, Brasil. *Maringá-PR, Revista Uningá Review*, 23: 21-23.

Coelho, M. S., Belmiro, M. S., Santos, J. C., & Fernandes, G. W. (2012). Herbivory among habitats on the Neotropical tree *Cnidoscolus quercifolius* Pohl. in a seasonally deciduous forest. *Brazilian Journal of Biology*, 72(3), 453-457.

Cole, M. M. (1960). Cerrado, caatinga and pantanal: the distribution and origin of the savanna vegetation of Brazil. *The Geographical Journal*, 126(2), 168-179.

Coley, P. D., Bryant, J. P., & Chapin, F. S. (1985). Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*, 230(4728), 895-899.

Coley, P. D. & J. A. Barone. (1996). Herbivory and plant defenses in tropical forests. *An. Rev. Ecol. System*.27: 305-35.

Costa, E. C., Carvalho-Fernandes, S. P., & Santos-Silva, J. (2014). Galhas de insetos em uma área de transição caatinga-cerrado no Nordeste do Brasil. *Sitentibus, Série Ciências Biológicas*, 14(1), 1-9.

Del-Claro, K., Torezan-Silingardi, H. M., Belchior, C., & Silva, E. A. (2009). *Ecologia Comportamental: uma ferramenta para a compreensão das relações animais-plantas*. *Oecologia Brasiliensis*, 13(1), 16-26.

Espírito-Santo, M. M., & Fernandes, G. W. (2007). How many species of gall-inducing insects are there on earth, and where are they?. *Annals of the Entomological Society of America*, 100(2), 95-99.

Felt, E. P. (1936). The relations of insects and plants in gall production. *Annals of the Entomological Society of America*, 29(4), 694-700.

Fernandes, C. S. P., Almeida-Cortez, J. S. D., & Ferreira, A. L. N. (2012). Riqueza de galhas entomógenas em áreas antropizadas e preservadas de Caatinga. *Revista Árvore*, 36(2), 269-277.

Fernandes, G. W. A., Julião, G. R., Araújo, R. C., Araújo, S. C., Lombardi, J. A., Negreiros, D., & Carneiro, M. A. A. (2001). Distribution and morphology of insect galls of the Rio Doce Valley, Brazil.

Fernandes, G. W., & Carneiro, M. A. (2009). Insetos galhadores. *Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas*, 597-639.

Fernandes, G. W., & Martins, R. P. (1985). As galhas: tumores de plantas. *Ciência Hoje*, 4(19), 58-64.

Fernandes, G. W., & Price, P. W. (1988). Biogeographical gradients in galling species richness. *Oecologia*, 76(2), 161-167.

Ferreira, B. G., Álvarez, R., Avritzer, S. C., & Isaias, R. M. (2017). Revisiting the histological patterns of storage tissues: beyond the limits of gall-inducing taxa. *Botany*, 95(2), 173-184.

Ferreira, B. G., Álvarez, R., Bragança, G. P., Alvarenga, D. R., Pérez-Hidalgo, N., & Isaias, R. M. (2019). Feeding and other gall facets: patterns and determinants in gall structure. *The Botanical Review*, 85(1), 78-106.

Franceschi, V. R., & Nakata, P. A. (2005). Calcium oxalate in plants: formation and function. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 56: 41-71.

Gabe, M. (1968). *Techniques histologiques*. Masson & Cie, Paris.

Guedes, L. M., Aguilera, N., Ferreira, B. G., Becerra, J., Sáez, K., Pérez, C., ... & Isaias, R. M. (2018). Factors influencing the morphogenesis of galls induced by *Calophya mammifex* (Calophyidae) on *Schinus polygama* (Anacardiaceae) leaves. *Botany*, 96(9), 589-599.

Giron, D., Huguet, E., Stone, G. N., & Body, M. (2016). Insect-induced effects on plants and possible effectors used by galling and leaf-mining insects to manipulate their host-plant. *Journal of Insect Physiology*, 84, 70-89.

Giulietti, A. M., Bocage Neta, A. L., Castro, A. A. J. F., Gamarra-Rojas, C. F. L., Sampaio, E. V. S. B., Virgínio, J. F., & Harley, R. M. (2004). Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*.

Gonçalves-Alvim, S. J., & Fernandes, G. W. (2001). Comunidades de insetos galhadores (Insecta) em diferentes fisionomias do cerrado em Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18, 289-305.

Hartley, S.E. (1999). Are gall insects large rhizobia? *Oikos* 84:333-342.

Hough, J. S. (1953). Studies on the common spangle gall of oak. II. A general consideration of past work on gall induction. *The New Phytologist*, 52(3), 218-228.

Huntly, N. (1991). Herbivores and the dynamics of communities and ecosystems. *Annual review of ecology and systematics*, 22(1), 477-503. Isolates. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(21), 3742-3748.

Inbar, M., Izhaki, I., Koplovich, A., Lupo, I., Silanikove, N., Glasser, T., ... & Lev-Yadun, S. (2010). Why do many galls have conspicuous colors? A new hypothesis. *Arthropod-Plant Interactions*, 4(1), 1-6.

Isaias, R. M. D. S., Carneiro, R. G. S., Oliveira, D. C., & Santos, J. C. (2013). Illustrated and annotated checklist of Brazilian gall morphotypes. *Neotropical Entomology*, 42(3), 230-239.

Isaias, R. M. D. S., Ferreira, B. G., Alvarenga, D. R. D., Barbosa, L. R., Salminen, J. P., & Steinbauer, M. J. (2018). Functional compartmentalisation of nutrients and phenolics in the tissues of galls induced by *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae). *Austral Entomology*, 57(2), 238-246.

Isaias, R. M. D. S., & de Oliveira, D. C. (2012). Gall phenotypes—product of plant cells defensive responses to the inducers attack. In *Plant defence: biological control*. 273-290.

Jayabalan, M. & Shah, J. J. (1986). Histochemical techniques to localize rubber in guayulle (*Parthenium argentatum* Gray). *Stain Technol.* 61: 303-308.

Jesen, W. A. (1962). *Botanical Histochemistry*. WH Freeman and Co, San Francisco.

Johansen, D. A. (1940). Plant Microtechnique. McGraw-Hill, New York.

Konno, K. (2011). Plant latex and other exudates as plant defense systems: roles of various defense chemicals and proteins contained therein. *Phytochemistry*, 72(13), 1510-1530.

Kosuge, T. (1969). The role of phenolics in host response to infection. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 7, 195-222.

Kraus, J. E., Sugiura, H. C., & Cutrupi, S. (1996). Morfologia e ontogenia em galhas entomógenas de *Guarea macrophylla* subsp. *tuberculata* (Meliaceae). *Fitopatologia Brasileira*, 21(3), 349-356.

Lara, A. C. F., Fernandes, G. W., & Gonçalves-Alvim, S. J. (2002). Tests of hypotheses on patterns of gall distribution along an altitudinal gradient. *Tropical Zoology*, 15(2), 219-232.

Leal, I. R., Tabarelli, M., & Da Silva, J. M. C. (2003). *Ecologia e conservação da Caatinga*. Editora Universitária UFPE.

Lorenzi, H. (1998). *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, (2), 1-352.

Loureiro, M. B., Teles, C. A. S., Colares, C. C. A., Araújo, B. R. N. D., Fernandez, L. G., & Castro, R. D. D. (2013). Caracterização morfoanatômica e fisiológica de sementes e plântulas de *Jatropha curcas* L.(Euphorbiaceae). *Revista árvore*, 37(6), 1093-1101.

Lucena, M. D. F. D. A., & Sales, M. F. D. (2006). Tricomas foliares em espécies de *Croton* L.(Crotonoideae-Euphorbiaceae). *Rodriguésia*, 57(1), 11-25.

Mace, M. E. & Howell, C. R. (1974). Histochemistry and indentification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. *Can J. Bot.* 52: 2423-2426.

Magalhães, C. H. P., de Menezes, M. O. T., Andres, U., da Costa, S., Almeida, W. R., & Falcão, P. F. BRASILEIRO. (2008). PARNAMIRIM, PE. *Ecologia da Caatinga*, 11.

Magalhães, T. A., Oliveira, D. C., & Isaias, R. M. (2015). Population dynamics of the gall inducer *Eriogallococcus isaias* (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) on *Pseudobombax grandiflorum* (Malvaceae). *Journal of Natural History*, 49(13-14), 789-801.

Mani, M. (1964). Ecology of plant galls. *Ecology of plant galls*. Junk, The Hague, 12(1), 94-241.

Mani, M. S. (1992). Introduction to cecidology. In *Biology of insect-induced galls*. (J.D. Shorthouse & O. Rohfritsch, eds.). Oxford University Press, New York, p. 1-7.

Medeiros, J. A., & Aloufa, M. A. I. (2015). Valorização e preservação da faveleira (*Cnidocolus quercifolius*) para o desenvolvimento sustentável do semiárido brasileiro. *Revista do ceres*, 1(2), 122-128.

Melo, A. L., & de Sales, M. F. (2008). O Gênero *Cnidoscolus* Pohl (Crotonoideae-Euphorbiaceae) no Estado de Pernambuco, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 22, 806.

Metcalf, C.R., Chalk, L., (1950). *Anatomy of the Dicotyledons*, Clarendon Press. Oxford. (1), 1-724.

Moura, M. Z. D., Soares, G. L. G., & Isaias, R. M. D. S. (2009). Ontogênese da folha e das galhas induzidas por *Aceria lantanae* Cook (Acarina: Eriophyidae) em *Lantanacamara* L. (Verbenaceae). *Brazilian Journal of Botany*, 32(2), 271-282.

Nakata, P. A. (2003). Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science*, 164(6), 901-909.

O'Brien, T. P., McCully, M. E., (1981). *The study of plant structure Principles and Select Methods*. Termacarphi Pty, Melbourne.

Oliveira, D. C., & dos Santos Isaias, R. M. (2010). Cytological and histochemical gradients induced by a sucking insect in galls of *Aspidosperma australe* Arg. Muell (Apocynaceae). *Plant Science*, 178(4), 350-358.

Pearse A. G. E. (1980). *Histochemistry theoretical and applied*. Vol. II, 4th ed. Longman Group Limited.

Price, P. W., Fernandes, G. W., & Waring, G. L. (1987). Adaptive nature of insect galls. *Environmental entomology*, 16(1), 15-24.

Ramalho, V. F., & Silva, A. G. (2010). Modificações bioquímicas e estruturais induzidas nos tecidos vegetais por insetos galhadores. *Natureza on line*, 8(3), 117-122.

Raymundo, C. E. V., Ribeiro, J. C., Silva, L. N. N dos S. (2017). São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, VII Botânica no Inverno. p. 332.

Ray, S. D., Guruprasad, K. N., & Laloraya, M. M. (1980). Antagonistic action of phenolic compounds on abscisic acid-induced inhibition of hypocotyl growth. *Journal of Experimental Botany*, 31(6), 1651-1656.

Rodal M. J. N., Sampaio E. V. S. B., Figueiredo M. A. (2013). Manual sobre métodos de estudo florístico e fitossociológico: ecossistema caatinga. Brasília: Sociedade Botânica do Brasil – SBB

Rodrigues, D. M, Souza, C. R., de Souza Aguiar, R. W., de Melo, A. V., da Silva, J. C., Ootani, M. A., & da Cruz, W. P. (2013). Tricomas conferem resistência contra herbivoria de *Cerotoma arcuata* em cultivares de soja. *Revista Agroecossistemas*, 4(2), 33-39.

Rohfritsch, O. (1980). Relations hôte-parasite au début de la cécidogenèse du *Hartigiola annulipes* Hartig sur le Hêtre. *Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques*, 127(1), 199-207.

Santos B. B; Ferreira H. D; Araújo W. S. (2010). Ocorrência e caracterização de galhas entomógenas em uma área de floresta estacional semidecídua em Goiânia, Goiás, Brasil. *Goiânia-GO, Acta Botanica Brasilica.*, 24(1) 243-249.

Santos, J. C., Almeida-Cortez, J. S. D., & Fernandes, G. W. (2011a). Richness of gall-inducing insects in the tropical dry forest (caatinga) of Pernambuco. *Revista Brasileira de Entomologia*, 55(1), 45-54.

Santos, J. C., Almeida-Cortez, J. S., & Fernandes, G. W. (2011b). Diversity of gall-inducing insects in the high altitude wetland forests in Pernambuco, Northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 71(1), 47-56.

Sátiro, L. N., & Roque, N. (2008). A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 22(1), 99-118.

Secco, R. D. S. (2005). Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Euphorbiaceae-Parte I. *Rodriguésia*, 56(86), 143-168.

Sharma, S., Sharma, S. S., & Rai, V. K. (1986). Reversal By Phenolic Compounds Of Abscisic Acid-Induced Inhibition Of In Vitro Activity Of Amylase From Seeds Of *Triticum aestivum* L. *New phytologist*, 103(2), 293-297.

Shorthouse, J. D., Wool, D., & Raman, A. (2005). Gall-inducing insects—Nature's most sophisticated herbivores. *Basic and Applied Ecology*, 6(5), 407-411.

Silva, M. D., & Scareli-Santos, C. (2018). Descrição morfoanatômica das galhas e sua distribuição nas folhas de *Ouratea spectabilis* (OCHNACEAE). *Revista Interdisciplinar Da Universidade Federal Do Tocantins*, 5(Especial), 178-188.

Silva, M. H., da Costa Filho, L. O., Oliveira, A. F. M., & Almeida-Cortez, J. S. (2011). Ocorrência de Galhas em Espécies de Croton do Parque Nacional Vale do

Catimbau (PE). Revista Brasileira de Geografia Física, 4(3), 510-519.

Soares, G. L., Isaias, R. M., Gonçalves, S. J., & Christiano, J. C. (2000). Alterações químicas induzidas por coccídeos galhadores (Coccoidea, Brachyscelidae) em folhas de *Rollinia laurifolia* Schdtl.(Annonaceae). Revista Brasileira de Zoociências, 2(1, 2).

Sobrinho, T. J. D. S. P., Saraiva, A. M., Almeida, D. M., Tavares, E. A., Pisciotano, M. N. C., & de Amorim, E. L. C. (2012). Phytochemical screening and antibacterial activity of four *Cnidoscolus* species (Euphorbiaceae) against standard strains and clinical isolates. Journal of Medicinal Plants Research, 6(21), 3742-3748.

Steinmann, V. W. (2002). Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae em México. Acta Botánica Mexicana, (61), 61-93.

Stone, G. N., & Schönrogge, K. (2003). The adaptive significance of insect gall morphology. Trends in Ecology & Evolution, 18(10), 512-522.

Vecchi, C., Menezes, N. L., Oliveira, D. C., Ferreira, B. G., & Isaias, R. M. S. (2013). The redifferentiation of nutritive cells in galls induced by Lepidoptera on *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. reveals predefined patterns of plant development. Protoplasma, 250(6), 1363-1368.

War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., & Sharma, H. C. (2012). Mechanisms of plant defense against insect herbivores. Plant signaling & behavior, 7(10), 1306-1320.

Webster, G. L. (1994). Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 81: 33-144.

Yamaguchi H., Tanaka H., Hasegawa M., Tokuda M., Asami T., Suzuki Y. (2012) Phytohormones and willow gall induction by a gall-inducing sawfly. *New Phytologist*, 196, 586–595.