

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal

Maria Alice Rocha Cagnoni

IMPACTO ESTRUTURAL E HISTOQUÍMICO DA INDUÇÃO DE GALHAS POR
***LEPTOCYBE INVASA* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM FOLHAS DO**
HÍBRIDO *EUCALYPTUS CAMALDULENSIS* X *EUCALYPTUS TERETICORNIS*
(MYRTACEAE)

Belo Horizonte
2025

Maria Alice Rocha Cagnoni

**IMPACTO ESTRUTURAL E HISTOQUÍMICO DA INDUÇÃO DE GALHAS POR
LEPTOCYBE INVASA (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM FOIHAS DO
HÍBRIDO EUCALYPTUS CAMALDULENSIS x EUCALYPTUS TERETICORNIS
(MYRTACEAE).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Rosy Mary dos Santos Isaias

Belo Horizonte

2025

043

Cagnoni, Maria Alice Rocha.

Impacto estrutural e histoquímico da indução de galhas por *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em folhas do híbrido *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus tereticornis* (Myrtaceae) [manuscrito] / Maria Alice Rocha Cagnoni. – 2025.

39 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Dra. Rosy Mary dos Santos Isaias.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

1. Desenvolvimento Vegetal. 2. Galha de planta. 3. Anatomia vegetal. 4. Interação ecológica. I. Isaias, Rosy Mary dos Santos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 581



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

MARIA ALICE ROCHA CAGNONI

MATRÍCULA: 2023702946

DATA DA DEFESA: 18 DE JULHO DE 2025

"Impacto estrutural e histoquímico da indução de galhas por *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em folhas do híbrido *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus tereticornis* (Myrtaceae)"

Comissão Examinadora

Dra. Rosy Mary dos Santos Isaias (UFMG)

Dra. Reisila Simone Migliorini Mendes (Universidade do Estado de Minas Gerais)

Dr. Edgard Augusto de Toledo Picoli (Universidade Federal de Viçosa)

Belo Horizonte, 18 de julho de 2025.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Reisila Simone Migliorini Mendes, Usuário Externo**, em 18/07/2025, às 20:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rosy Mary dos Santos Isaias, Professora do Magistério Superior**, em 21/07/2025, às 16:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Edgard Augusto de Toledo Picoli, Usuário Externo**, em 21/07/2025, às 18:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4378710** e o código CRC **88362672**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pelo apoio financeiro essencial para a realização desta pesquisa, à Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV), pela formação científica e suporte institucional. Agradeço também à professora Maíra Ignácio (UFT – Campus de Gurupi) pela parceria e colaboração científica, e a todos do Laboratório de Ecologia Funcional e Aplicada da Universidade Federal do Tocantins, pela acolhida calorosa e pelas contribuições generosas durante o meu período de estadia.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Rosy Isaías, obrigada por confiar em mim, pela escuta generosa, pelas conversas que me ensinaram mais do que ciência. Por acreditar no meu sonho quando eu mesma duvidava. Como diria o Chapeleiro: “O segredo, querida Alice, é rodear-se de pessoas que te façam sorrir o coração. É então, e só então, que você estará no País das Maravilhas.” Aos colegas do laboratório, obrigada pela parceria e pelas trocas, cada uma delas me levou adiante. Um agradecimento especial à Mariana, que esteve comigo nos momentos mais difíceis, com carinho, generosidade e presença. Agradeço também aos amigos e à minha companheira, Tobo Eduarda, por nunca deixarem faltar afeto, acolhimento e cuidado, mesmo nos dias mais escuros.

Aos meus pais, Shirley e Giovane, e ao meu irmão Higor, meu amor e eterna gratidão por nunca medirem esforços para me apoiar. Mesmo de longe, sempre me deram o suporte necessário para que eu continuasse estudando e acreditando nos meus sonhos. Hoje, com muito orgulho, a filha do mecânico e da “dona de casa” se tornou mestre.

Agradeço, antes de tudo, aos meus guias e orixás, por cuidarem dos meus caminhos, por me protegerem e me conduzirem com sabedoria até aqui.

Agradeço também a mim mesma, pela coragem, pela força e pela persistência. Por seguir mesmo quando tudo parecia impossível, mesmo quando duvidar era mais fácil do que acreditar.

Finalizo com as palavras de Raul Seixas, que me acompanharam por toda essa travessia:

“Sonho que se sonha só

É só um sonho que se sonha só

Mas, sonho que se sonha junto é realidade.”

RESUMO

Insetos mastigadores induzem galhas marcadas por intensa reorganização tecidual e pela formação de tecidos nutritivos fundamentais para a sustentação do desenvolvimento do hospedeiro. O presente trabalho avaliou essa premissa por meio da análise comparativa da anatomia, histometria e citometria de folhas não galhadas e de galhas induzidas por *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) em plantas do híbrido *Eucalyptus camaldulensis* × *Eucalyptus tereticornis* (Myrtaceae). Foram estabelecidos quatro objetivos principais: (1) descrever os padrões anatômicos da nervura central em diferentes estágios ontogenéticos da galha; (2) quantificar alterações morfométricas em células do colênquima e do xilema; (3) avaliar a distribuição de ligninas, suberina e auxinas nos tecidos foliares por meio de testes histoquímicos; e (4) caracterizar a distribuição de epítomos da parede celular por imunolocalização de glicoproteínas, pectinas e hemiceluloses. Os resultados revelaram que a indução das galhas promoveu alterações marcantes nos sistemas dérmico, fundamental e vascular. O colênquima sofreu intensa reorganização, tornando-se homogêneo e expandido, enquanto o sistema vascular foi deslocado da região mediana para uma posição periférica, adjacente à epiderme na face adaxial. A análise histométrica e citométrica demonstrou que o desenvolvimento das galhas envolveu processos de hiperplasia e hipertrofia, com predominância de hiperplasia das células colenquimáticas e equilíbrio entre esses processos nos demais tecidos. A remodelagem anatômica observada evidencia a reprogramação dos destinos celulares e dos padrões de desenvolvimento foliar, corroborando a premissa de que galhas induzidas por insetos mastigadores produzem notáveis alterações estruturais. Esses resultados ampliam a compreensão sobre a dinâmica de reprogramação celular e a especialização funcional dos tecidos induzidas por *L. invasa* durante a formação das galhas, evidenciando mecanismos estruturais e morfogenéticos que sustentam a criação de compartimentos especializados em suporte, condução e nutrição.

Palavras-chave: anatomia de galhas, desenvolvimento foliar, destinos celulares, histometria, interação inseto-planta.

ABSTRACT

Gall-inducing chewing insects promote intense tissue reorganization and the formation of specialized nutritive tissues, which are fundamental to supporting the development of the host plant. This study evaluated this premise through a comparative analysis of the anatomy, histometry, and cytometry of non-galled leaves and galls induced by *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) on hybrid plants of *Eucalyptus camaldulensis* × *Eucalyptus tereticornis* (Myrtaceae). Four main objectives were established: (1) to describe the anatomical patterns of the midrib at different ontogenetic stages of the gall; (2) to quantify morphometric changes in collenchyma and xylem cells; (3) to evaluate the distribution of lignins, suberin, and auxins in leaf tissues using histochemical tests; and (4) to characterize the distribution of cell wall epitopes through immunolocalization of glycoproteins, pectins, and hemicelluloses. The results revealed that gall induction promoted marked alterations in the dermal, ground, and vascular systems. The collenchyma underwent intense reorganization, becoming homogeneous and expanded, while the vascular system was displaced from the central region to a peripheral position adjacent to the adaxial epidermis. Histometric and cytometric analyses demonstrated that gall development involved processes of hyperplasia and hypertrophy, with a predominance of hyperplasia in collenchyma cells and a balance between these processes in other tissues. The observed anatomical remodeling highlights the reprogramming of cell fate and leaf developmental patterns, supporting the premise that galls induced by chewing insects lead to significant structural changes. These results expand the understanding of the dynamics of cellular reprogramming and functional tissue specialization induced by *L. invasa* during gall formation, evidencing structural and morphogenetic mechanisms that sustain the creation of specialized compartments for support, conduction, and nutrition.

Keywords: cell fate, foliar development, gall anatomy, histometry, insect–plant interaction.

FIGURAS

Figura 1 – Folhas não galhadas e galhas do híbrido de <i>E. camaldulensis</i> x <i>E. tereticornis</i> em diferentes estágios ontogenéticos.....	27
Figura 2 – Ontogênese das galhas de nervura central induzidas por <i>L. invasa</i> em híbridos de <i>E. camaldulensis</i> x <i>E. tereticornis</i>	28
Figura 3 – Esquemas de ramo foliar e da anatomia da nervura central de folha não galhada de <i>E. camaldulensis</i> x <i>E. tereticornis</i>	29
Figura 4 – Anatomia da nervura central de folhas galhadas em diferentes estágios ontogenéticos.....	30
Figura 5 – Variação na área do lúmen e espessura da parede do xilema em folhas não galhadas e galhas.....	32
Figura 6 – Número de camadas e área celular do colênquima em folhas não galhadas e galhas.....	33
Figura 7 – Variação dimensional das células do colênquima em folhas não galhadas e galhas.....	34
Figura 8 – Esquema representativo da histolocalização dos metabólitos acumulados na nervura central da folha no estágio de maturação.....	35
Figura 9 – Imunolocalização de glicoproteínas associadas à parede celular, detectadas pelos anticorpos LM1 (extensinas) e LM2 (arabinogalactanas-proteínas) na nervura central de folhas não galhadas e galhas induzidas por <i>L. invasa</i> em diferentes estágios ontogenéticos.....	35
Figura 10 – Imunolocalização de pectinas associadas à parede celular, detectadas pelos anticorpos LM5 (galactanos), LM6 (arabinanos), LM8 (xilogalacturonanos), LM19 (homogalacturonanos com baixo grau de metilesterificação) e LM20 (homogalacturonanos altamente esterificados) na nervura central de folhas não galhadas e galhas induzidas por <i>L. invasa</i>	36
Figura 11 – Imunolocalização de hemiceluloses associadas à parede celular, detectadas pelos anticorpos LM10 (xilanos), LM15 (xiloglucanos) e LM21 (heteromananos) na nervura central de folhas não galhadas e galhas induzidas por <i>L. invasa</i>	37

TABELAS

Tabela 1 – Padrões de imunolocalização dos epítomos de parede celular em folhas não galhadas e galhas induzidas por <i>L. invasa</i> em híbridos de <i>E. camaldulensis</i> x <i>E. tereticornis</i>	38
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
2.1. Amostragem.....	14
2.2. Alterações Anatômicas Associadas ao Desenvolvimento das Galhas.....	14
2.3. Quantificação de Parâmetros Cito-Histológicos.....	15
2.4. Caracterização Histoquímica dos Componentes da Parede Celular.....	15
2.5. Distribuição Imunocitoquímica de Epitopos de Parede Celular.....	16
3. RESULTADOS.....	17
3.1. Alterações Anatômicas Associadas ao Desenvolvimento das Galhas.....	17
3.2. Quantificação de Parâmetros Cito-Histológicos.....	18
3.3. Caracterização Histoquímica dos Componentes da Parede Celular.....	18
3.4. Distribuição Imunocitoquímica de Epitopos de Parede Celular.....	18
4. DISCUSSÃO.....	20
4.1. Alterações Anatômicas Associadas ao Desenvolvimento das Galhas.....	20
4.2. Quantificação de Parâmetros Cito-Histológicos.....	20
4.3. Caracterização Histoquímica dos Componentes da Parede Celular.....	21
4.4. Implicações funcionais dos Epitopos de Parede Celular.....	21
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	22
6. REFERÊNCIAS.....	22
7. FIGURAS.....	27
8. TABELAS.....	38

1. INTRODUÇÃO

A formação de galhas é um fenômeno resultante da interação espécie-específica entre insetos e suas plantas hospedeiras, caracterizada pela indução de estruturas que oferecem abrigo e recursos alimentares para o organismo indutor (Raman, 2011; Stone & Schönrogge, 2003). Insetos galhadores tendem a desencadear padrões morfoanatômicos semelhantes nas plantas hospedeiras, refletindo a conservação dos mecanismos bioquímicos e fisiológicos associados ao hábito alimentar (Rohfritsch, 1992).

Por outro lado, variações nos modos de alimentação estão diretamente associadas às diferenças na morfologia interna das galhas, especialmente nos compartimentos teciduais responsáveis pela nutrição e proteção do indutor (Crespi & Worobey, 1998; Stone & Schönrogge, 2003; Bragança et al., 2017). As galhas resultam de desequilíbrios hormonais e metabólicos induzidos por fatores bioativos presentes na saliva ou outros exsudatos dos insetos, frequentemente associados à oviposição e à alimentação (Rohfritsch, 1992; Hori, 1992). A resposta da planta envolve intensa atividade meristemática, hiperplasia e hipertrofia celular (Mani, 1964; Oliveira et al., 2006), além de uma profunda reorganização dos tecidos, cuja arquitetura é redirecionada para atender às necessidades do organismo indutor. Esse processo demanda não apenas alterações estruturais, mas também bioquímicas (Lev-Yadun, 2003; Raman, 2011), especialmente na composição e na remodelagem da parede celular, que é fundamental na manutenção da integridade, flexibilidade e funcionalidade dos tecidos galhados (Carneiro et al., 2015; Teixeira et al., 2018; Viol et al., 2025).

No contexto das interações entre *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) e espécies de *Eucalyptus* (Myrtaceae), o impacto ecológico e econômico é significativo. Essa espécie, conhecida como "vespa-da-galha", induz galhas globóides coalescentes nas nervuras, pecíolos e ramos jovens, comprometendo a capacidade fotossintética, o crescimento e o desenvolvimento das plantas hospedeiras (Mendel et al., 2004; Rocha et al., 2013). Desde sua introdução no Brasil em 2007 (Wilcken et al., 2008), *L. invasa* tem se consolidado como uma praga de grande relevância para os plantios de *Eucalyptus*, cuja área cultivada no país ultrapassa 7,6 milhões de hectares, representando 76,3% das florestas plantadas (Boletim SNIF, 2020).

O gênero *Eucalyptus* L'Hér. (Myrtaceae) possui alta importância econômica mundial, com uso extensivo nas indústrias de papel, celulose, biomassa e madeira (Cubbage et al., 2010). Entre as espécies mais cultivadas, destacam-se *Eucalyptus camaldulensis* e *E. tereticornis*, frequentemente utilizadas na formação de híbridos que associam resistência biótica e adaptação edafoclimática (Harwood, 2011).

As galhas induzidas por *L. invasa* apresentam organização histológica típica, com dois compartimentos bem definidos: um córtex interno, constituído por tecido nutritivo típico, formado por células parenquimáticas em divisão ativa, ricas em proteínas e lipídeos; e um córtex, colênquima e parênquima com feixes vasculares entremeados, frequentemente associado à síntese e ao acúmulo de compostos fenólicos, amido e antocianinas (Isaias et al., 2018; Ferreira et al 2017). Embora a morfologia externa e os impactos agrônômicos de galhas induzidas por *L. invasa* sejam relativamente bem documentados, os processos celulares e subcelulares envolvidos na formação e desenvolvimento dessas galhas, especialmente no que se refere às alterações na composição da parede celular, permanecem pouco elucidados. A parede celular desempenha papel central na dinâmica de crescimento, na reorganização tecidual e na adaptação dos tecidos galhados, sendo modulada por mecanismos que envolvem tanto a deposição de componentes estruturais (celulose, hemicelulose, pectinas e ligninas) quanto sua modificação enzimática, permitindo variações na plasticidade e nas funcionalidades da parede celular (Cosgrove, 2005; Guerriero et al., 2014).

Diante desse contexto, torna-se relevante investigar as alterações anatômicas, histoquímicas e imunocitoquímicas associadas à ontogenia das galhas induzidas por *L. invasa* em folhas do híbrido *E. camaldulensis* x *E. tereticornis*, buscando compreender como o inseto manipula os tecidos vegetais, especialmente no que tange a remodelagem da parede celular, às adaptações dos tecidos de sustentação e condução e à formação de compartimentos especializados em nutrição e proteção. O presente trabalho tem como objetivo geral analisar os impactos estruturais e histoquímicos decorrentes da indução de galhas por *L. invasa* em folhas do híbrido *E. camaldulensis* × *E. tereticornis*, com ênfase nas alterações da parede celular durante os diferentes estágios ontogenéticos das galhas. De forma específica, busca-se:

- 1- Descrever os padrões anatômicos da nervura central e sítio de indução, em folhas não galhadas e nos estágios de indução, crescimento e desenvolvimento e maturação, destacando as principais alterações estruturais associadas ao processo ontogenético da galha.

2- Quantificar as alterações morfométricas nas células do colênquima e do xilema, considerando parâmetros como área celular, altura, largura, número de camadas e espessura da parede celular, comparando folhas não galhadas e os diferentes estágios ontogenéticos das galhas.

3- Avaliar, por meio de testes histoquímicos, a distribuição de ligninas, suberina e auxinas nos tecidos foliares, visando compreender seus papéis na modificação da parede celular e na ontogenia das galhas.

4- Caracterizar a distribuição de epitopos de componentes da parede celular, como glicoproteínas, pectinas e hemiceluloses, utilizando anticorpos monoclonais específicos, a fim de investigar os processos de remodelagem e reorganização da parede celular durante o desenvolvimento das galhas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostragem

A coleta de folhas não galhadas e de galhas foliares (n = 100) em três estágios de desenvolvimento: indução, crescimento e desenvolvimento e maturação foi realizada em mudas do híbrido *E. camaldulensis* x *E. tereticornis* (VS 058) (n = 25). As mudas foram produzidas por estaquia e colocadas em gaiola de criação de *L. invasa* do Laboratório de Ecologia Funcional e Aplicada da Universidade Federal do Tocantins - Campus de Gurupi (Gurupi, Tocantins) para a reprodução das vespas.

2.2. Alterações Anatômicas Associadas ao Desenvolvimento das Galhas

Para estudos anatômicos, amostras das seções da região mediana (1cm²), da nervura central de folhas não galhadas e galhas, foram desidratadas em uma série etanólica e incluídas em historesina Leica (Kraus & Arduin 1997), seccionadas (5-7µm) em micrótomo rotativo (Leica BIOCUT 2035), coradas com azul de toluidina a 0,05% em tampão fosfato 1 mol/L (PBS), pH 6,8 (O'Brien et al. 1964), montadas em verniz vitral (Paiva et al., 2006) e fotografadas com câmera digital (Leica DFC7000T®) acoplada ao microscópio óptico (Leica DM2500®).

2.3. *Quantificação de Parâmetros Cito-Histológicos*

A quantificação dos parâmetros cito-histológicos foi realizada a partir de fotomicrografias de seções da região mediana (1 cm²) da nervura central de folhas não galhadas e galhas foliares. Para cada estágio, foram analisadas seções de cinco folhas, em cada seção foram tiradas cinco fotos. Em cada imagem, foram realizadas cinco medições das seguintes variáveis morfométricas: área, altura e largura das células do colênquima; área do xilema e espessura das paredes celulares do xilema. As medições foram realizadas utilizando o software AxioVision Zeiss®. Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística por meio de análise de variância (ANOVA), seguida do teste de comparação de médias de Tukey, adotando-se nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

2.4. *Caracterização Histoquímica dos Componentes da Parede Celular*

Para as análises histoquímicas, foram feitos cortes à mão livre de seções da região mediana (1 cm²), da nervura central de folhas não galhadas e galhas foliares, utilizando material fresco. Foram realizados testes para detecção de ligninas, suberina e auxinas. O Reagente de Wiesner, composto por floroglucina acidificada, foi utilizado para detectar a presença de ligninas (Sass, 1951). Os cortes foram cobertos com ácido clorídrico 37% e floroglucinol composto por: floroglucina 1% - 2% em álcool etílico 95%, na proporção (1:1) por cinco minutos, as lâminas foram montadas no próprio reagente. A reação positiva se dá pela cor rosa intenso ou vermelho nas paredes secundárias. A detecção de suberina foi feita utilizando Fluorol Yellow 088 (Brundrett et al, 1991). Os cortes foram imersos no reagente por uma hora, lavados em água destilada, e as lâminas montadas em glicerina 75% para observação em microscópio de fluorescência (Leica DM2500®) com luz azul em comprimento de onda de excitação de 450-490nm e filtro de emissão de 515nm. A reação positiva se dá pela suberina emitindo luz fluorescente verde. A detecção de auxinas foi realizada utilizando o Reagente de Erlich (Leopold & Plummer, 1961). Os cortes foram submetidos ao reagente por cinco minutos, lavados e as lâminas montadas em água destilada. A cor rosa indica os sítios de acúmulo de auxinas nos tecidos vegetais. Cortes-branco foram utilizados para comparação dos resultados. Os resultados para ligninas e auxinas foram fotografados com câmera digital (Leica DFC7000T®) acoplada ao microscópio óptico (Leica DM2500®).

2.5. *Distribuição Imunocitoquímica de Epitopos de Parede Celular*

As secções da região mediana (1cm²) da nervura central de folhas não galhadas e galhas foliares, incluídas em historesina Leica (Kraus & Arduin 1997), seccionadas (5-7µm) em micrótomo rotativo (Leica BIOCUT 2035) foram usadas para detecção de epitopos de glicoproteínas, pectinas e hemiceluloses. As secções foram incubadas em solução de bloqueio de leite em pó Molico® 3% (p/v) em tampão fosfato de sódio (PBS) por 30 minutos.

Para a detecção de glicoproteínas e pectinas, as secções foram incubadas por 2 horas com anticorpos monoclonais primários (MAbs) específicos: LM1, direcionado a extensinas (domínios ricos em hidroxiprolina) (Sabba & Lulai, 2005; Leroux et al., 2011); LM2, específico para arabinogalactano-proteínas (AGPs) (Yates et al., 1996; Smallwood et al., 1996); LM5, que reconhece (1→4)-β-D-galactanos (Clausen et al., 2004); LM6, específico para (1→5)-α-L-arabinanos (Willats et al., 1998); LM8, direcionado a xilogalacturonanos (XGAs) (Willats et al., 2004); LM19, específico para homogalacturonanos (HGs) com baixo grau de metilesterificação (Verhertbruggen et al., 2009); e LM20, que reconhece homogalacturonanos (HGs) altamente metilesterificados (Verhertbruggen et al., 2009) (anticorpos adquiridos da Kerafast, Inc., Boston, MA, EUA). Para a detecção de hemiceluloses, as secções foram previamente incubadas com solução de pectoliase (10µg mL⁻¹) (Sigma-Aldrich), diluída em tampão 3-(ciclohexilamino)-1-propanossulfônico (CAPS), pH 10, por 2 horas à temperatura ambiente (Marcus et al., 2008). Em seguida, as secções foram incubadas com os anticorpos monoclonais LM15, específico para xiloglucanos (XGs) (Marcus et al., 2008), e LM21, direcionado a heteromananos (Marcus et al., 2010) (anticorpos adquiridos da Kerafast, Inc., Boston, MA, EUA). Para pectinas e hemiceluloses, as secções foram lavadas em PBS e, em seguida, incubadas com IgG-FITC anti-rato (Sigma®) diluído (1:1000) em 3% de leite/PBS (p/v) por 2 horas, no escuro. As amostras foram lavadas em PBS três vezes e montadas em glicerina a 50%, enquanto as lâminas do controle negativo não foram incubadas com os anticorpos monoclonais primários. Para detectar pectinas e hemiceluloses, as secções foram analisadas e fotografadas com câmera digital (Leica DFC7000T®) acoplada em microscópio de fluorescência (Leica DM2500®), com um comprimento de onda de excitação de 450-490 nm e filtro de emissão de 515nm. As intensidades de fluorescência dos epitopos foram avaliadas pela escala de cinza (Gy = Gray value) com análise em triplicata para cada tecido. Após as medições, foram estabelecidas as

seguintes categorias: (-) negativa; (+) fraca (valores $\leq 20,5\text{Gy}$); (++) moderada (valores = $20,5 - 41\text{Gy}$); (+++) intensa (valor $\geq 41\text{Gy}$), estabelecidas de acordo com os valores mais altos e mais baixos relatados por (Ferreira e Rasband, 2011; Teixeira et al., 2018).

3. RESULTADOS

3.1. Alterações Anatômicas Associadas ao Desenvolvimento das Galhas

As galhas induzidas por *L. invasa* na nervura central de folhas de *E. camaldulensis* \times *E. tereticornis* resultam de alterações anatômicas nos tecidos vegetais ao longo do seu desenvolvimento ontogenético (Fig. 1, 2, 4). No estágio inicial, caracterizado morfologicamente pela formação de pequenas saliências na nervura central da folha (Fig. 1b; 4a), observa-se a presença de sítios de oviposição, indicados por pequeno orifício na superfície (Fig. 4b). Nesse estágio, a secção transversal da nervura central revela os primeiros sinais de hiperplasia no parênquima cortical, acompanhado do início da diferenciação de células do CST. Paralelamente, nota-se uma reorganização incipiente do sistema vascular, que começa a ser deslocado da região central para posições periféricas na face adaxial da nervura. A nervura central da folha não galhada (Fig. 3) apresenta epiderme unisseriada, com colênquima adjacente ocupando a região cortical e sistema vascular centralizado com organização bicolateral e fibras esclerenquimáticas. Durante os estágios de indução e de crescimento e desenvolvimento (Fig. 1c; 4c–d), a galha sofre expansão acentuada, principalmente na face abaxial da nervura. A formação do CST torna-se evidente, com aumento do volume das células colenquimáticas, cujas paredes celulares apresentam espessamento desigual. O citoplasma é denso refletindo intensa atividade metabólica. A câmara larval é evidente, enquanto o sistema vascular ocupa posição lateral, especialmente na face adaxial. No estágio de maturação (Fig. 1d; 4e–g), a galha apresenta máxima expansão volumétrica, com câmara larval conspícua (GC), delimitada por 4 a 6 camadas de tecido nutritivo típico (TNT). As células do TNT são pequenas, isodiamétricas, com citoplasma denso e paredes delgadas. O CST permanece bem desenvolvido, especialmente na face abaxial, preenchendo grande parte do volume interno da galha, funcionando como tecido de reserva e suporte estrutural.

3.2. *Quantificação de Parâmetros Cito-Histológicos*

As análises quantitativas revelaram alterações significativas nas dimensões do sistema vascular e dos tecidos de sustentação ao longo do desenvolvimento da galha (Fig. 5, 6, 7). A área do lúmen do xilema é menor no estágio de crescimento e desenvolvimento e maturação (Fig. 5), enquanto as paredes do xilema se tornam mais espessas ao longo do desenvolvimento da galha. No colênquima, observou-se aumento tanto no número de camadas quanto na área celular (Fig. 6). Esse aumento foi mais expressivo durante o estágio de crescimento e desenvolvimento, mantendo-se elevado no estágio de maturação, o que reflete processos combinados de hiperplasia e hipertrofia. Esses padrões foram confirmados pela análise das dimensões celulares, que indicaram aumentos significativos na altura e na largura das células do colênquima ao longo da ontogênese da galha (Fig. 7).

3.3. *Caracterização Histoquímica dos Componentes da Parede Celular*

Os testes histoquímicos realizados na galha foram mais evidentes no estágio de maturação, revelando padrões específicos de deposição de ligninas, suberina e auxinas. As ligninas foram detectadas nas paredes do sistema vascular central, na zona mecânica que circunda câmara larval e nas fibras pericíclicas. A deposição de suberina foi observada principalmente na cutícula e nas áreas de cicatrização. As auxinas foram detectadas nos tecidos metabolicamente ativos, especialmente no TNT e no CST (Fig. 8).

3.4. *Distribuição Imunocitoquímica de Epitopos de Parede Celular*

As análises de imunolocalização dos epitopos de parede celular revelaram padrões altamente específicos e dinâmicos entre os tecidos da nervura central de folhas não galhadas e das galhas foliares induzidas por *L. invasa* em *E. camaldulensis* × *E. tereticornis*. As respostas variaram de acordo com a natureza dos polissacarídeos da parede celular, o estágio ontogenético da galha e os tipos celulares envolvidos, refletindo uma intensa reprogramação da arquitetura e funcionalidade das paredes celulares (Tabela 1).

- Glicoproteínas (extensinas e arabinogalactano-proteínas - AGPs):

A imunolocalização com o LM1, que reconhece epitopos de extensinas, não foi evidenciada nas folhas não galhadas. Nas galhas, a partir do estágio de indução, observa-se

marcação fraca no tecido comum de armazenamento CST e no colênquima. Nos estágios de crescimento e desenvolvimento e maturação, ocorre marcação moderada a intensa no TNT e nas camadas periféricas da galha (Fig. 9a–d). O anticorpo LM2, que reconhece epitopos de AGPs, apresentou marcação fraca no sistema vascular de folhas não galhadas. Nos estágios de indução e maturação, a marcação foi intensa no CST, colênquima e TNT (Fig. 9e–h).

- Pectinas:

Os galactanos (epítomos reconhecidos por LM5) (Jones et al., 1997) e os arabinanos (LM6) não foram marcados na FNG. No estágio de indução, ocorreu marcação fraca no CST. No estágio de crescimento e desenvolvimento, houve marcação moderada no TNT e no CST (Fig. 10a–h). Os XGAs não foram detectados pelo LM8 nas folhas não galhadas. No estágio de indução, houve detecção fraca no CST e no colênquima, detecção moderada a intensa nas paredes periféricas do TNT e CST nos estágios de crescimento e desenvolvimento e maturação (Fig. 10i–l). Os homogalacturonanos (HGs) com baixo grau de metil esterificação foram reconhecidos pelo anticorpo LM19 de forma intensa no sistema vascular e colênquima da folha não galhada. Nos estágios de indução, crescimento e desenvolvimento e maturação os locais e intensidade de detecção foram mantidos (Fig. 10m–p). Em contraste, os HGs altamente metil esterificados, reconhecidos pelo LM20, mostraram marcação fraca na folha não galhada e marcação intensa nas paredes celulares do TNT que delimitam a câmara larval e do CST no estágio de maturação da galha (Fig. 10q–t).

- Hemiceluloses

Os xilanos, reconhecidos pelo LM10, apresentaram marcação moderada nas folhas não galhadas, restrita ao sistema vascular e colênquima. No estágio de crescimento e desenvolvimento e maturação da galha a marcação foi intensa no CST e no TNT (Fig. 11a–d). Os xiloglucanos, detectados pelo LM15, mostraram marcação fraca no CST e no colênquima no estágio de indução. No estágio de maturação da galha, especialmente nas paredes do TNT e do CST, a marcação é intensa (Fig. 11e–h). De forma semelhante, os heteromananos, reconhecidos pelo LM21, exibiram marcação intensa no estágio de maturação no CST, no TNT e no colênquima (Fig. 11i–l).

4. DISCUSSÃO

A formação de galhas foliares de *L. invasa* em *E. camaldulensis* × *E. tereticornis* induz alterações na morfologia, nos perfis anatômico e histoquímico, e na composição da parede celular dos tecidos da nervura central, evidenciando a reprogramação ontogenética. A análise conjunta dos dados estruturais, morfométricos, histoquímicos e imunocitoquímicos obtidos revela a existência de um processo coordenado de redirecionamento funcional dos tecidos foliares, com vistas à proteção mecânica e ao suporte metabólico do inseto galhador.

4.1. Alterações Anatômicas Associadas ao Desenvolvimento das Galhas

Durante o estágio de indução foram observados os primeiros sinais de hiperplasia no colênquima, início da reorganização do sistema vascular e diferenciação do CST. Esse rearranjo estrutural precoce reflete a atuação do agente indutor na manipulação de rotas de diferenciação celular (Carneiro et al., 2017).

Conforme as galhas se desenvolvem, nota-se a compartimentalização funcional dos tecidos especializados. O TNT, com caracteres que denotam o alto metabolismo de suas células, é responsável pela nutrição da larva, enquanto o CST desempenha duas funções: o acúmulo de reservas e a sustentação da estrutura da galha. Essa compartimentalização é compatível com modelos anatômicos que destacam o papel das galhas como estruturas complexas, com micro ambientes internos adaptados às necessidades do inseto (Ferreira et al., 2017). Na maturação, a presença da câmara larval delimitada por 4 a 6 camadas de TNT, associada ao deslocamento lateral e adaxial do sistema vascular, confirma a formação de compartimentos funcionais especializados.

4.2. Quantificação de Parâmetros Cito-Histológicos

A análise citométrica e histométrica revelou um aumento significativo na área celular, altura, largura e número de camadas do colênquima ao longo dos estágios de indução, crescimento e desenvolvimento e maturação (Fig. 6, 7), caracterizando os processos comuns ao desenvolvimento de galhas, hiperplasia e hipertrofia celular (Ferreira et al., 2017). O colênquima, tradicionalmente envolvido na sustentação, assume papel multifuncional nas

galhas, assumindo também papel na composição do CST. Simultaneamente, a menor área do lúmen do xilema e maior espessamento de suas paredes indicam reforço estrutural, possivelmente em resposta à pressão mecânica e ao reposicionamento dos tecidos de condução, numa relação já proposta para outros sistemas (Bragança et al. 2021).

4.3. *Caracterização Histoquímica dos Componentes da Parede Celular*

Os testes histoquímicos para detecção de ligninas mostraram reforço em tecidos condutores e de suporte, como o xilema, sugerindo aumento da rigidez da parede celular em regiões sujeitas a maior tensão estrutural (Cosgrove, 2005). A reação positiva ao Fluorol Yellow, indicando deposição de suberina nas camadas epidérmicas e regiões de cicatrização ao redor da câmara larval, denota a formação de barreiras físicas, associadas à defesa contra patógenos e à manutenção da integridade do microambiente interno da galha (Rosseti & Bonatti, 2001).

A marcação intensa para auxinas no TNT e CST corrobora o papel desse fitohormônio na reprogramação ontogenética. As auxinas participam da manutenção da atividade meristemática, da diferenciação celular, e da plasticidade tecidual, elementos centrais no desenvolvimento de galhas (Bedetti et al., 2017)

4.4. *Implicações funcionais dos Epitopos de Parede Celular*

A distribuição de epitopos de parede celular revelou que o TNT e o CST são os compartimentos que concentram os maiores níveis de modificação em termos de composição e organização da parede celular. A intensa marcação dos epitopos de extensinas pelo anticorpo LM1 e dos epitopos de AGPs pelo LM2 no estágio de maturação indica reforço das paredes celulares em tecidos altamente proliferativos, contribuindo para a estabilidade mecânica.

Entre as pectinas, os epitopos de galactanos reconhecidos pelo anticorpo LM5 e os de arabinanos pelo LM6 apresentaram maior intensidade de marcação, especialmente no TNT, elevada plasticidade das paredes celulares e uma intensa atividade de expansão e divisão celular nesses tecidos metabolicamente ativos ao longo do desenvolvimento das galhas (Jones et al., 1997; Willats et al., 1998). A ausência de marcação dos epitopos de xilogalacturonanos pelo LM8 em folhas não galhadas, contrastando com a marcação

intensa nas galhas maduras, reflete a remodelagem tardia da matriz da parede celular. Já os epitopos de homogalacturonanos marcados pelos anticorpos LM19 e LM20 revelaram uma dualidade funcional: LM19 esteve associado ao endurecimento das paredes celulares, enquanto LM20 relacionou-se à manutenção da extensibilidade.

As hemiceluloses, por sua vez, foram identificadas por meio dos epitopos marcados pelos anticorpos LM10, LM15 e LM21 nos tecidos de sustentação e armazenamento, com destaque para o colênquima na região periférica do órgão, onde a marcação foi mais intensa. Esses padrões sugerem reforço estrutural e modulação da plasticidade, corroborando o papel crucial da parede celular como interface de controle estrutural e funcional na formação de galhas (Marcus et al., 2008; Ferreira & Isaias, 2022).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A indução de galhas foliares por *L. invasa* em híbridos de *E. camaldulensis* × *E. tereticornis* desencadeia um conjunto articulado de respostas morfológicas, histológicas e moleculares que resultam em estruturas altamente especializadas. Os dados obtidos revelam que a ontogênese das galhas envolve um redirecionamento do desenvolvimento foliar, com formação de novos compartimentos teciduais, reorganização do sistema vascular, hiperplasia e hipertrofia celular, deposição diferencial de lignina, suberina e auxinas, além de remodelagem da parede celular. A parede celular se mostrou o principal alvo da reprogramação induzida, sendo modificada em sua composição de glicoproteínas, pectinas e hemiceluloses. A combinação de rigidez e plasticidade, evidenciada pela distribuição de extensinas, AGPs, XGs, XGAs e HGs, revela uma arquitetura dinâmica, ajustada às pressões biomecânicas e às exigências fisiológicas da larva de *L. invasa*. Este estudo reforça a compreensão das galhas como estruturas adaptativas resultantes de mecanismos precisos de reorganização tecidual, destacando a plasticidade morfogenética da planta hospedeira frente à ação do inseto indutor.

6. REFERÊNCIAS

BAKER, J. R. Note on the use of bromophenol blue for the histochemical recognition of protein. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, v. 99, p. 459-460, 1958.

BAYLY, M. J. Phylogenetic studies of eucalypts: fossils, morphology and genomes. *Proceedings of the Royal Society of Victoria*, v. 128, n. 1, p. 12-24, 2016. <https://doi.org/10.1071/RS16002>

BEDETTI, C. S.; BRAGANÇA, G. P.; ISAIAS, R. M. S. Influence of auxin and phenolic accumulation on the patterns of cell differentiation in distinct gall morphotypes on *Piptadenia gonoacantha* (Fabaceae). *Australian Journal of Botany*, v. 65, n. 5, p. 411-420, 2017. <http://dx.doi.org/10.1071/BT16257>

BISSING, D. R. Haupt's gelatin adhesive mixed with formalin for affixing paraffin sections to slides. *Stain Technology*, v. 49, p. 116-117, 1974.

BRAGANÇA, G. P. P.; FREITAS, M. C. S.; ISAIAS, R. M. S. The influence of gall position over xylem features in leaflets of *Inga ingoides* (Rich.) Willd. (Fabaceae: Caesalpinioideae). *Trees*, v. 35, p. 199-209, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00468-020-02027-1>

BRAGANÇA, G. P. P.; OLIVEIRA, D. C.; ISAIAS, R. M. S. Compartmentalization of metabolites and enzymatic mediation in nutritive cells of Cecidomyiidae galls on *Piper arboreum* Aubl. (Piperaceae). *Journal of Plant Studies*, v. 6, n. 1, p. 11, 2016. <https://doi.org/10.5539/jps.v6n1p11>

BRUNDRETT, M. C.; KENDRICK, B.; PETERSON, C. A. Efficient lipid staining in plant material with Sudan Red 7B or Fluorol Yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotechnic & Histochemistry*, v. 66, p. 111-116, 1991.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. *Mikrokosmos*, v. 61, p. 255, 1972.

CARNEIRO, R. G. S.; ISAIAS, R. M. S.; MOREIRA, A. S. F. P.; OLIVEIRA, D. C. Reacquisition of new meristematic sites determines the development of a new organ, the Cecidomyiidae gall on *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae). *Frontiers in Plant Science*, v. 8, p. 1622, 2017. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2017.01622>

CARNEIRO, R. G. S.; PACHECO, P.; ISAIAS, R. M. S. Could the Extended Phenotype Extend to the Cellular and Subcellular Levels in Insect-Induced Galls? *PLoS ONE*, v. 10, n. 6, p. e0129331, 2015. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0129331>

COSGROVE, D. J. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 6, p. 850-861, 2005.

CUBBAGE, F. et al. Global timber investments, wood costs, regulation, and risk. *Biomass and Bioenergy*, v. 34, p. 1667-1678, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.05.008>

ESPÍRITO SANTO, M. M.; FERNANDES, G. W. How many species of gall-inducing insects are there on earth, and where are there? *Annals of the Entomological Society of America*, v. 100, p. 95-99, 2007. [http://dx.doi.org/10.1603/0013-8746\(2007\)100\[95:HMSOGI\]2.0.CO](http://dx.doi.org/10.1603/0013-8746(2007)100[95:HMSOGI]2.0.CO)

EVERT, R. F. *Esau's Plant Anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. 3. ed. Hoboken: Wiley, 2006.

FERREIRA, B. G.; ALVAREZ, R.; BRAGANÇA, G. P.; ALVARENGA, D. R.; PEREZ-HIDALGO, N. Feeding and other gall facets: patterns and determinants in gall structure. *The Botanical Review*, v. 85, n. 1, p. 78-106, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12229-019-09207-w>

FERREIRA, B. G.; BRAGANÇA, G. P.; ISAIAS, R. M. S. Cytological attributes of storage tissues in nematode and eriophyid galls: pectin and hemicellulose functional insights. *Protoplasma*, v. 256, n. 4, p. 949-962, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01374-x>

FERREIRA, B. G.; ISAIAS, R. M. S. Plant cell wall remodelling in response to gall-inducing insects: a case study of pectin and hemicellulose dynamics. *Annals of Botany*, v. 129, n. 3, p. 329-340, 2022. <https://doi.org/10.1093/aob/mcac019>

FERREIRA, B. G.; SOUZA, L. A.; ISAIAS, R. M. S. Structural and histochemical gradients induced by a Cecidomyiidae gall on *Lonchocarpus cultratus* leaflets. *Protoplasma*, v. 254, p. 2075-2087, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1133-7>

GUERRIERO, G.; HAUSMAN, J. F.; CAI, G. No stress! Relax! Mechanisms governing growth and shape in plant cells. *Plant Science*, v. 215–216, p. 57-68, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.11.008>

HARWOOD, C. New introductions – doing it right. In: WALKER, J. (ed.). *Developing a Eucalypt Resource: Learning from Australia and Elsewhere*. Canterbury: University of Canterbury, 2011. p. 43-54.

ISAIAS, R. M. S. et al. Functional compartmentalisation of nutrients and phenolics in the tissues of galls induced by *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae). *Australian Entomologist*, v. 45, n. 2, p. 201-209, 2018. <http://dx.doi.org/10.1111/aen.12336>

ISAIAS, R. M. S. et al. The imbalance of redox homeostasis in arthropod-induced plant galls: Mechanisms of stress generation and dissipation. *Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects*, v. 1850, n. 8, p. 1509-1517, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2015.03.007>

JEFFREY, E. C. *The structure of wood*. 2. ed. London: Adam and Charles Black, 1919.

JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book, 1940.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Seropédica: Ed. UFRRJ, 1997.

LEOPOLD, A. C.; PLUMMER, T. H. Auxin-phenol complexes. *Plant Physiology*, v. 36, n. 5, p. 589-592, 1961.

LEV-YADUN, S. Defensive functions of latex in plant leaves. *Annals of Botany*, v. 91, n. 5, p. 555-560, 2003.

MANI, M. S. *Ecology of plant galls*. The Hague: Dr. W. Junk Publishers, 1964.

MENDEL, Z.; PROTASOV, A.; FISHER, N.; LA SALLE, J. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. *Australian Journal of Entomology*, v. 43, p. 101-113, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.2003.00393.x>

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, v. 59, p. 368-373, 1964.

PAINE, T. D.; STEINBAUER, M. J.; LAWSON, S. A. Native and Exotic Pests of Eucalyptus: A Worldwide Perspective. *Annual Review of Entomology*, v. 56, p. 181-201, 2011. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120709-144817>

PAIVA, J. G. A.; FANK-DE-CARVALHO, S. M.; MAGALHÃES, M. P.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Verniz vitral incolor 500®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. *Acta Botanica Brasílica*, v. 20, p. 257-264, 2006.

PRYOR, L. D. *The biology of eucalypts*. London: Edward Arnold, 1976.

ROHFRITSCH, J. Evaluation of gall-inducing guild. In: SHORTHOUSE, J. D.; ROHFRITSCH, O. (ed.). *Biology of insect induced galls*. Oxford: Oxford University Press, 1992.

ROSSETI, S.; BONNATTI, P. M. In situ histochemical monitoring of ozone- and TMV-induced reactive oxygen species in tobacco leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 39, p. 433-442, 2001.

SARMENTO, M. I. *Respostas fisiológicas e metabolômicas para a seleção precoce de Eucalyptus spp. tolerantes à seca e pragas*. 2019. Tese (Doutorado) – Universidade de Aveiro, Aveiro. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10773/29359>. Acesso em: 22 jan. 2024.

SASS, J. E. *Botanical Microtechnique*. Ames: Iowa State College Press, 1951.

SNIF – SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES FLORESTAIS. Boletim SNIF 2020. Ministério do Meio Ambiente, 2020. Disponível em: https://snif.florestal.gov.br/images/pdf/publicacoes/Boletim_SNIF_ed1_2020_vfinal.pdf. Acesso em: 22 jan. 2024.

STONE, G. N.; SCHÖNROGGE, K. The adaptive significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 18, p. 512-522, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00247-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00247-7)

TEIXEIRA, C. T.; OLIVEIRA, D. C.; KUSTER, V. C.; ISAIAS, R. M. S. Immunocytochemical demonstration of cell wall components related to tissue compartments in the globoid galls induced by *Clinodiplosis* sp. on *Croton floribundus* Spreng. *Botany*, v. 96, n. 1, p. 9-18, 2018. <http://dx.doi.org/10.1139/cjb-2017-0123>

VIOL, I. C. S. C. et al. Functional implications of cell wall composition in leaf-folding galls induced by *Gynaikothrips uzeli* on *Ficus benjamina* L. *Flora*, v. 323, 2025. <http://dx.doi.org/10.1016/j.flora.2024.152665>

WILCKEN, C. F. Novas pragas ameaçam a cultura do eucalipto. *Hipertexto*, 2008. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/eucalipto/index.htm. Acesso em: 22 jan. 2024.

ZHU, F.; REN, S.; QIU, B.; WU, J. Effect of temperature on life table parameters of *Leptocybe invasa*. *Austral Entomology*, v. 54, p. 71-78, 2015. <https://doi.org/10.1111/aen.12094>

7. FIGURAS

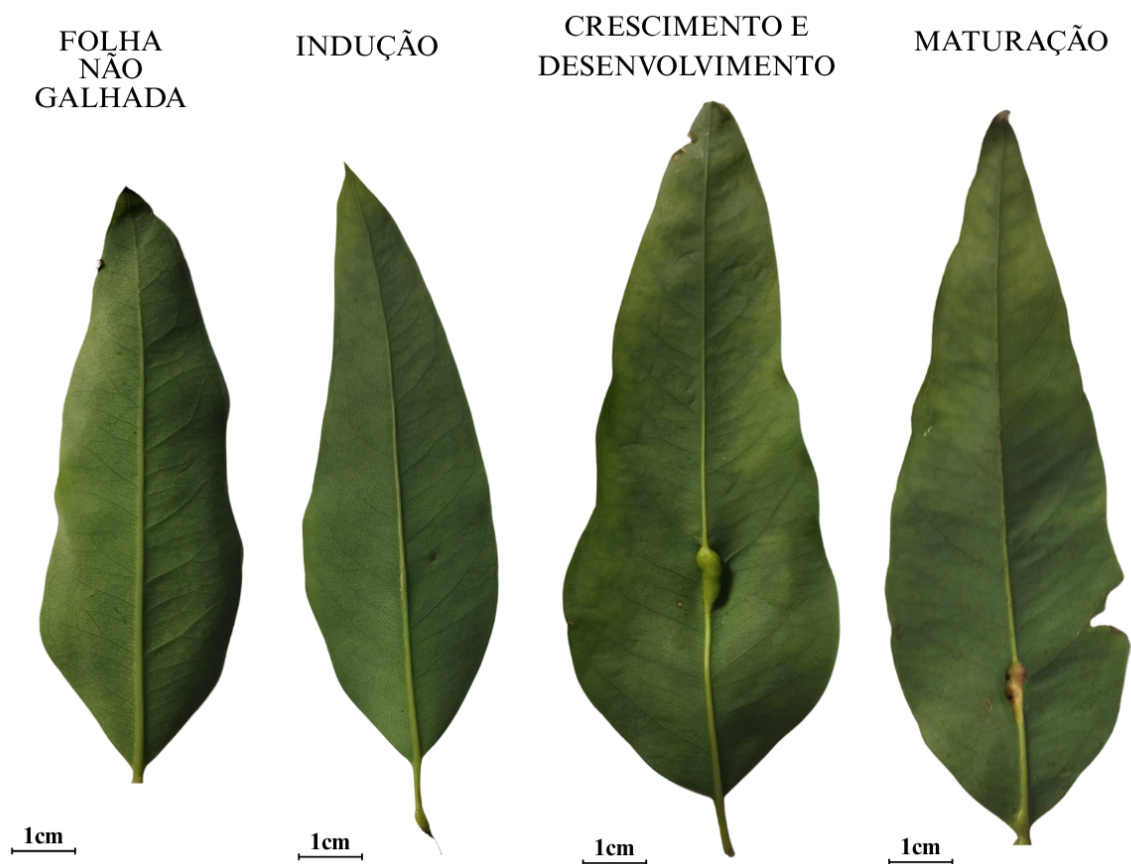


Figura 1 – Folhas não galhadas e galhas do híbrido de *E. camaldulensis* × *E. tereticornis* em diferentes estágios ontogenéticos. Vista da face abaxial de folha sem galhas (a) e com galhas nos estágios de indução (b), crescimento e desenvolvimento (c) e maturação (d). No estágio de indução (b), as galhas são pequenas, com leve saliência na nervura central, sinalizando o início da formação após a oviposição. No estágio de crescimento e desenvolvimento (c), observa-se expansão volumétrica significativa da galha. No estágio de maturação (d) adquire formato globóide, com incremento de volume e estabilização da morfologia externa.

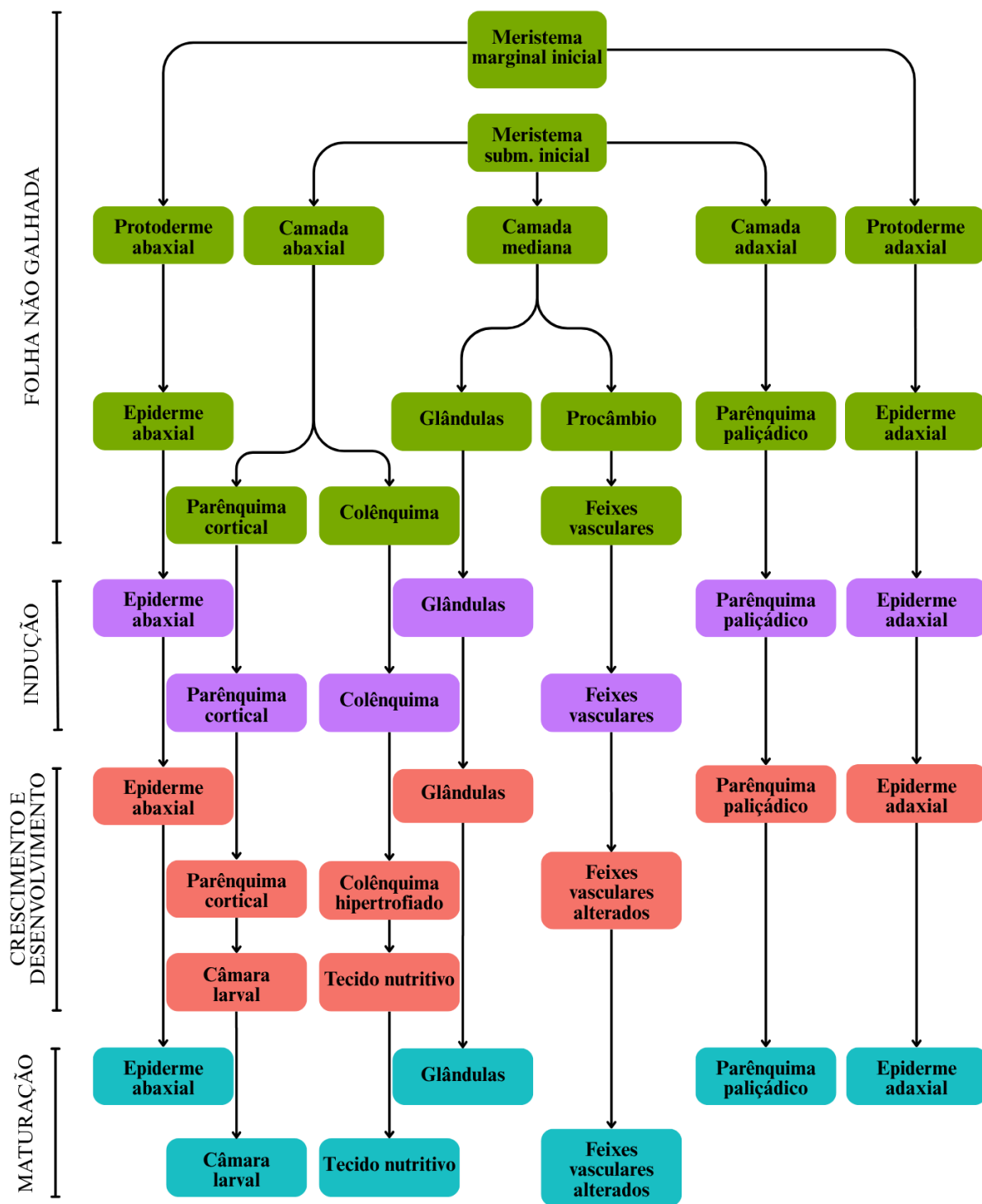


Figura 2 – Representação esquemática dos destinos dos tecidos desde a folha não galhada de *E. camaldulensis* x *E. tereticornis* até o estágio de maturação da galha induzida pelo *L. invasa*.

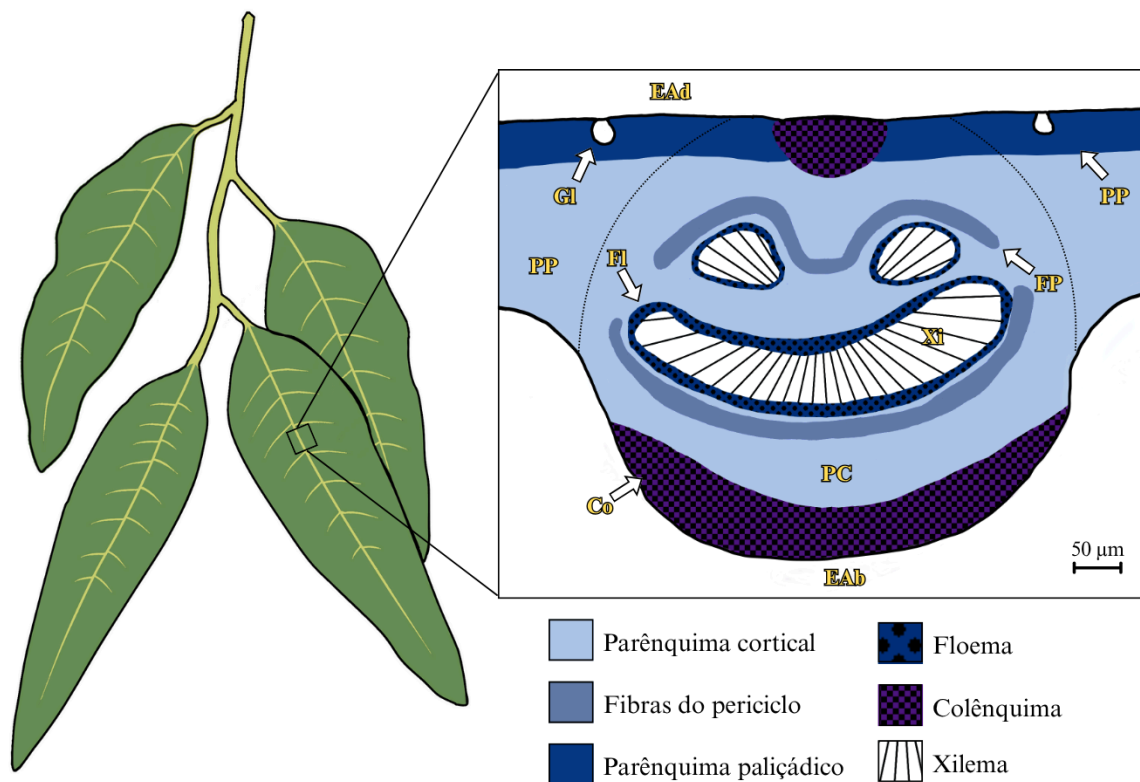


Figura 3 – Esquemas de ramo foliar e da anatomia da nervura central de folha não galhada de *E. camaldulensis* x *E. tereticornis*. A nervura central é recoberta por epiderme adaxial (EAd) e abaxial (EAb) unisseriadas, colênquima (Co) bem desenvolvido na face abaxial, parênquima paliçádico (PP) e parênquima cortical (PC), além de glândulas (GI) dispersas no mesofilo. O sistema vascular é centralizado, formado por sistema vascular com organização colateral com floema (FI) posicionado externamente e xilema (XI) associado à fibras pericíclicas (FP).

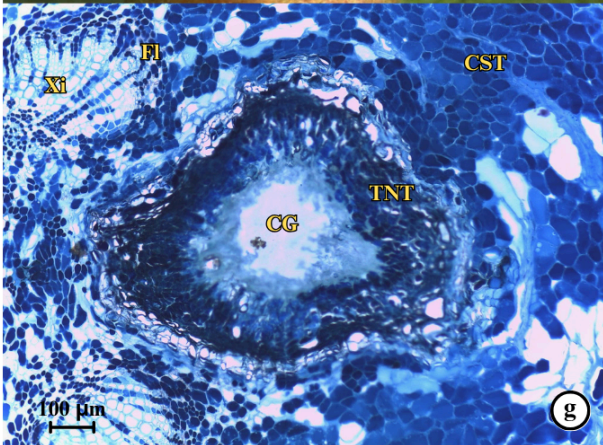
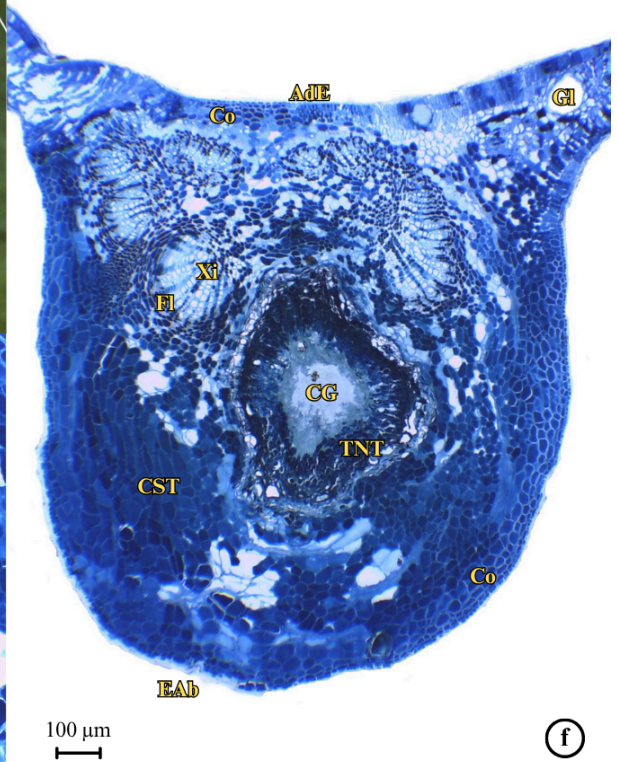
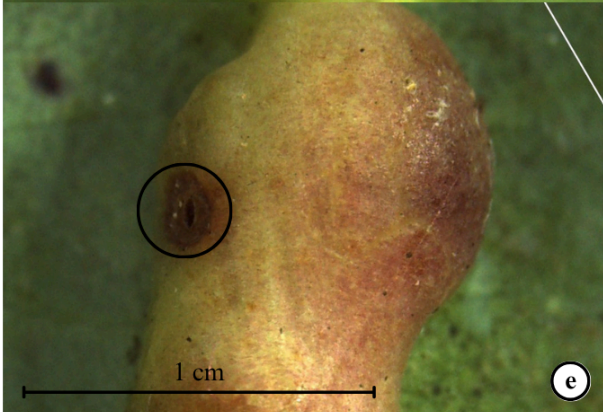
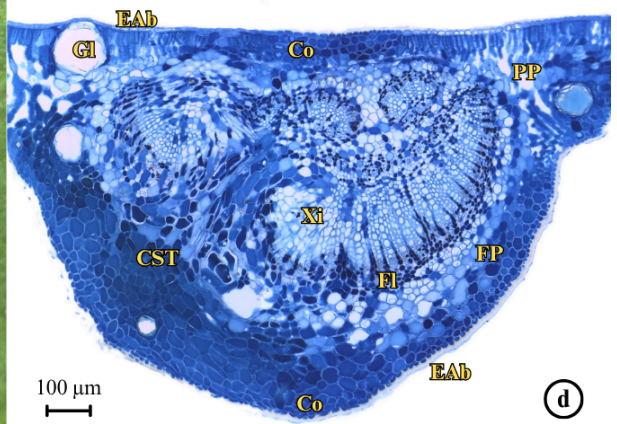
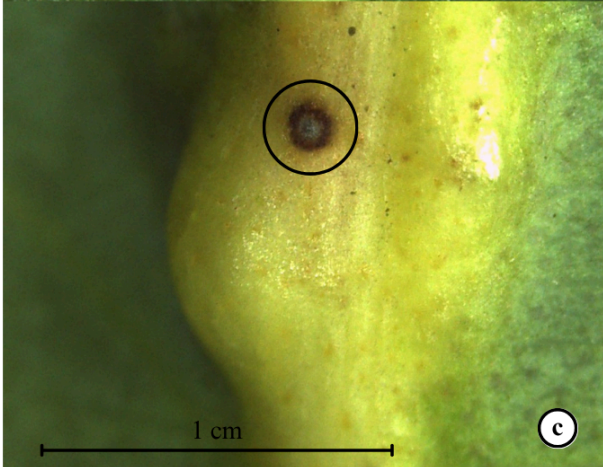
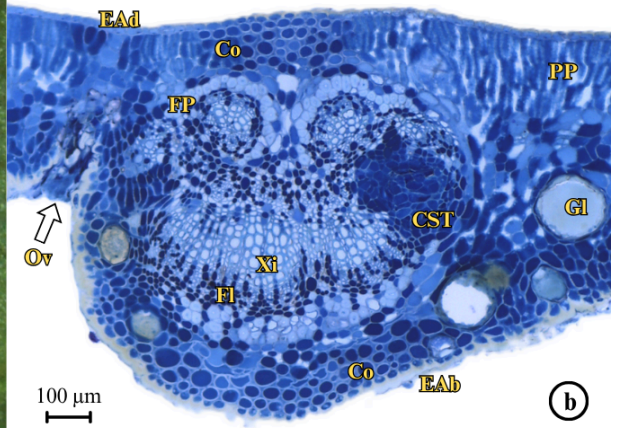
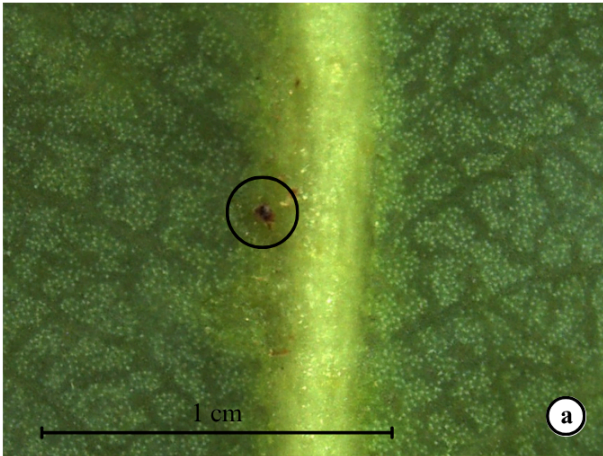


Figura 4 – Anatomia da nervura central de folhas do híbrido *E. camaldulensis* x *E. tereticornis* e de galhas em diferentes estágios ontogenéticos. Estágio de indução (a) evidenciando os sítios de oviposição (círculo) e (b) secção transversal, mostrando ponto de oviposição (seta), início da hiperplasia no colênquima, diferenciação do CST e reorganização inicial do sistema vascular. (c-d) Estágio de indução e crescimento e desenvolvimento (c), evidenciando cicatrização do local da oviposição e (d) secção transversal destacando a expansão do CST, composto por células colenquimáticas volumosas com paredes celulares espessas de forma desigual e citoplasma denso, além do deslocamento lateral do sistema vascular para a periferia e posição adaxial. (e-f) Estágio de maturação evidenciando suberização do sistema de revestimento, (f) secção transversal evidenciando a câmara larval delimitada por 4 a 6 camadas de TNT, além do CST bem desenvolvido na face abaxial e o sistema vascular completamente lateralizado na face adaxial. (g) Detalhe da câmara larval, rodeada pelo TNT com células pequenas, isodiamétricas, com citoplasma denso e paredes delgadas, características associadas à elevada atividade metabólica. Abreviações: (EAd) epiderme adaxial, (EAb) epiderme abaxial, (Co) colênquima, (PP) parênquima paliçádico, (Gl) glândula, (Fl) floema, (Xi) xilema, (FP) fibras pericíclicas, (Ov) sítio de oviposição, (CST = common storage tissue) , (CG) câmara larval, (TNT = tecido nutritivo típico).

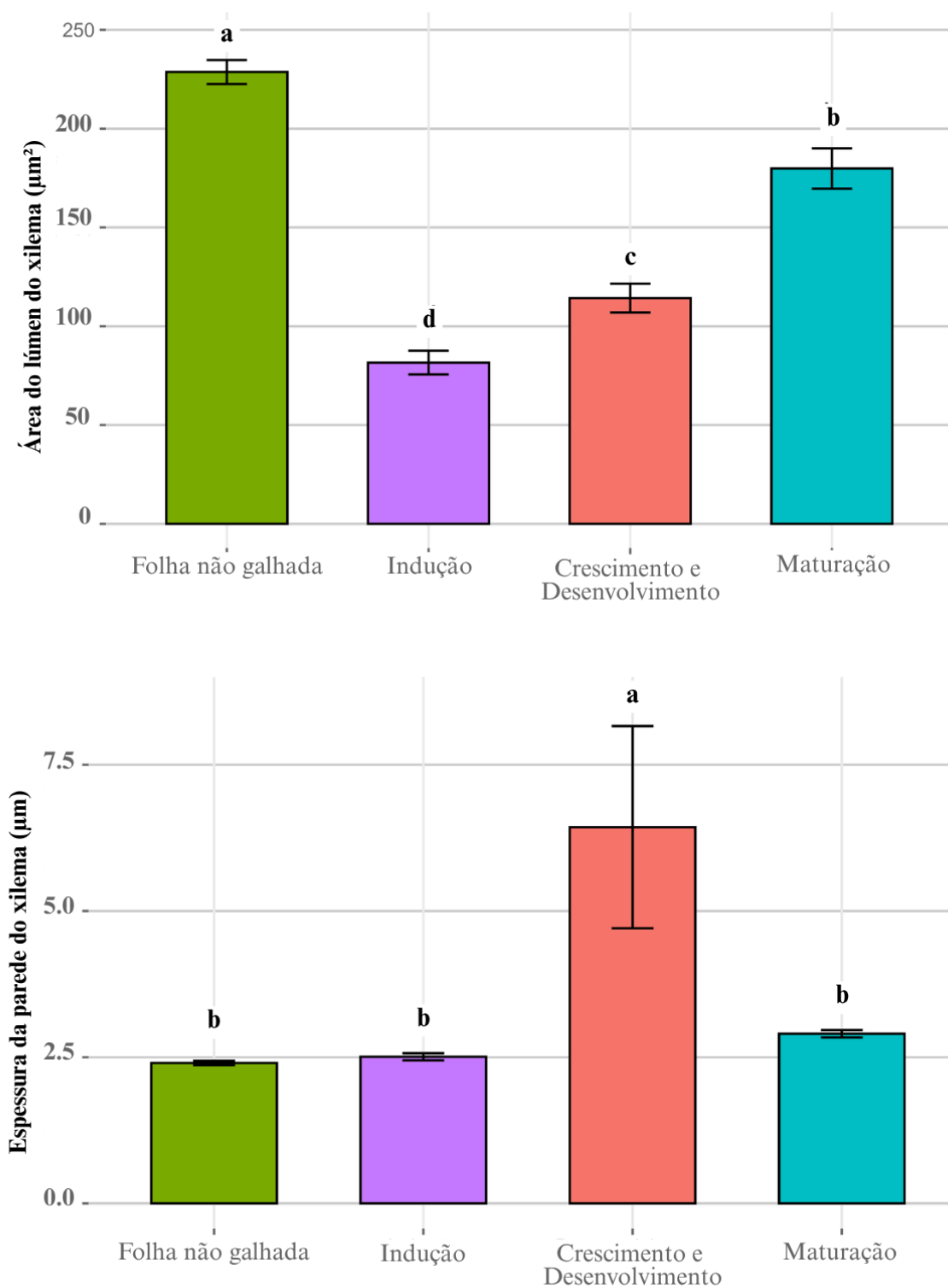


Figura 5 – Variação do lúmen e espessura da parede do xilema em folhas não galhadas e galhas.

As barras representam média \pm desvio-padrão. Letras distintas indicam diferenças estatísticas significativas entre os grupos, segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

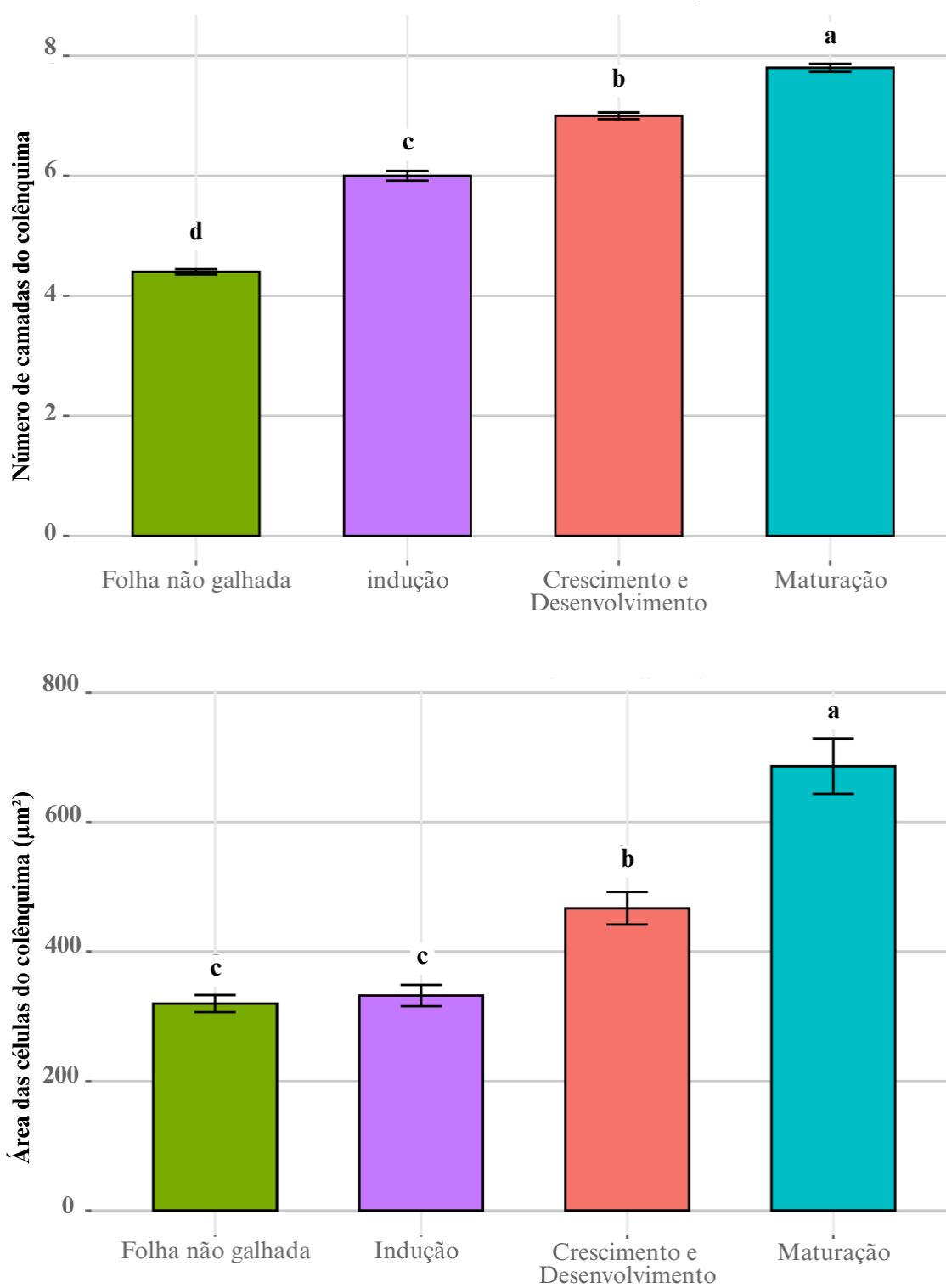


Figura 6 – Número de camadas e área celular do colênquima em folhas não galhadas e galhas.

As barras representam média \pm desvio-padrão. Letras distintas indicam diferenças estatísticas significativas entre os grupos, segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

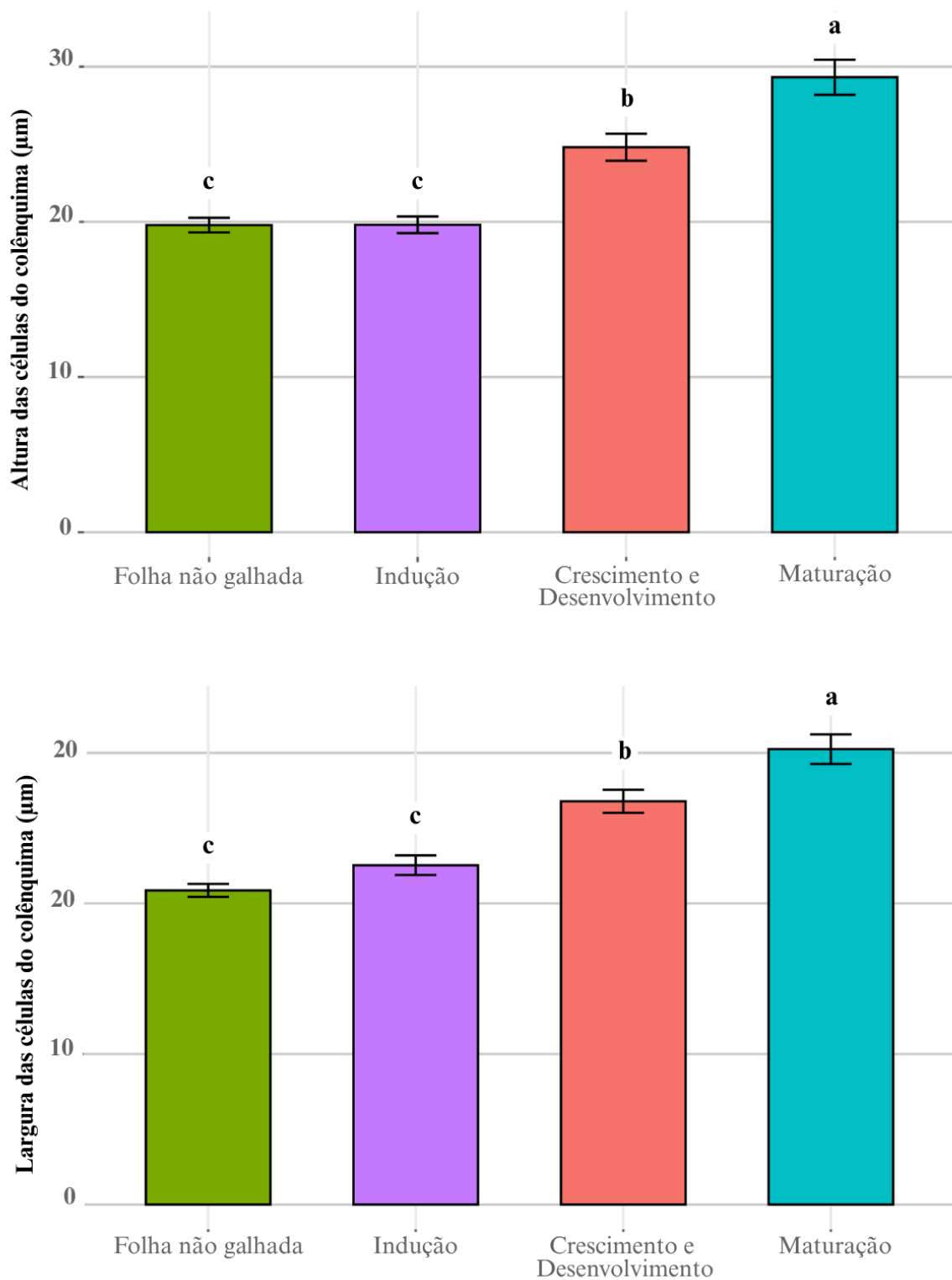


Figura 7 – Variação dimensional das células do colênquima em folhas não galhadas e galhas. As barras representam média \pm desvio-padrão. Letras distintas indicam diferenças estatísticas significativas entre os grupos, segundo o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

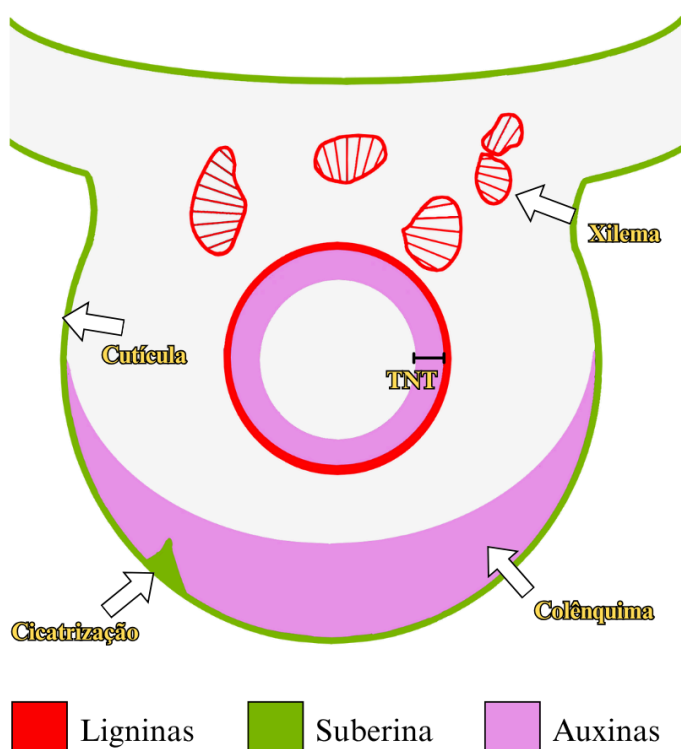


Figura 8 – Esquema representativo da histolocalização de metabólitos acumulados no estágio de maturação. TNT = Tecido nutritivo típico.

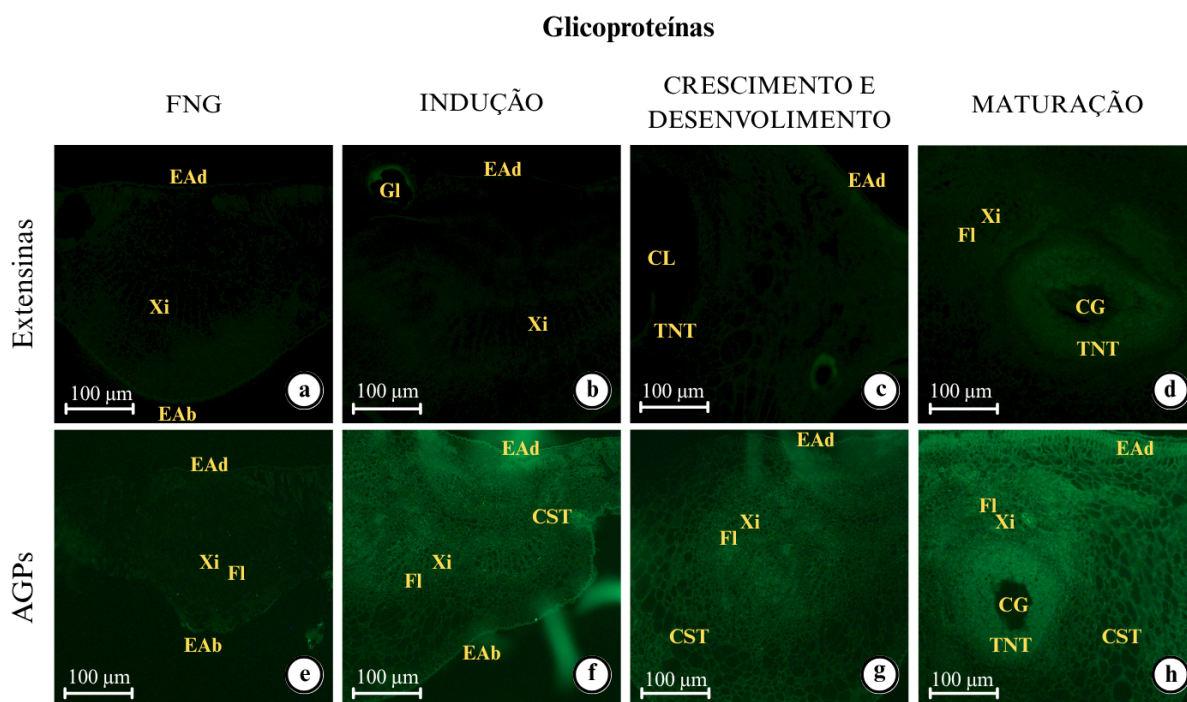


Figura 9 – Imunolocalização de glicoproteínas associadas à parede celular pelos anticorpos LM1 (extensinas) e LM2 (arabinogalactanas-proteínas) na nervura central de folhas não

galhadas de *E. camaldulensis* x *E. tereticornis* e galhas induzidas por *L. invasa* em diferentes estágios ontogenéticos. (a–d) Marcações para LM1 em folha não galhada (a), galha em estágio de indução (b), crescimento e desenvolvimento (c) e maturação (d). (e–h) Marcações para LM2 nos mesmos estágios. Abreviações: (EAd) epiderme adaxial, (EAb) epiderme abaxial, (Co) colênquima, (Fl) floema, (Gl) glândula, (Xi) xilema, (FP) fibras pericíclicas, (CST = common storage tissue), (CG) câmara da galha, (TNT = tecido nutritivo típico).

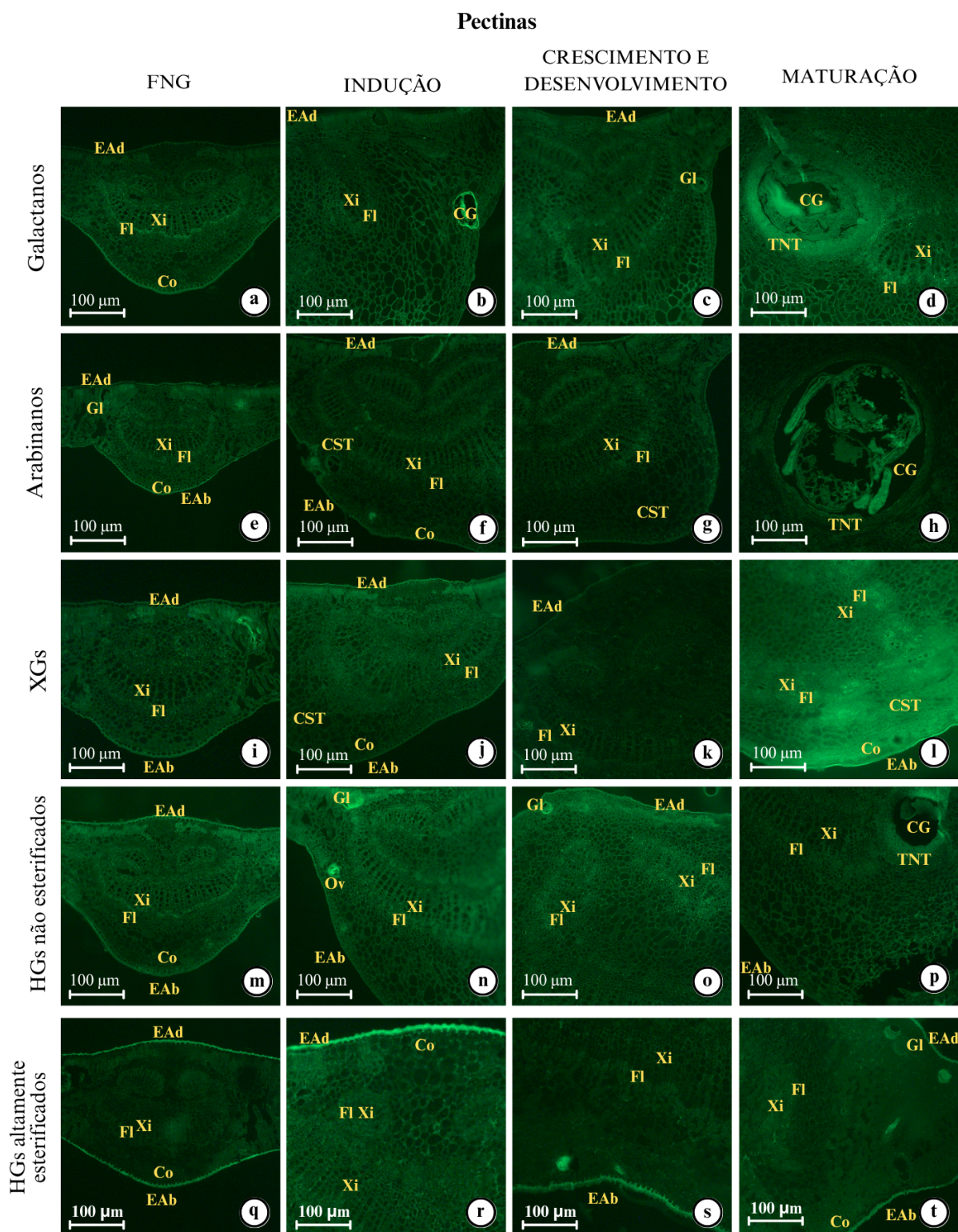


Figura 10 – Imunolocalização de pectinas associadas à parede celular, detectadas pelos anticorpos LM5 (galactanos), LM6 (arabinanos), LM8 (xilogalacturonanos), LM19 (homogalacturonanos com baixo grau de metil esterificação) e LM20 (homogalacturonanos altamente esterificados) nervura central de folhas não galhadas de *E. camaldulensis* x *E. tereticornis* e galhas induzidas por *L. invasa* em diferentes estágios ontogenéticos.

(a–d) Marcações para LM5. (e–h) LM6. (i–l) LM8. (m–p) LM19. (q–t) LM20. Abreviações: (EAd) epiderme adaxial, (EAb) epiderme abaxial, (Co) colênquima, (Fl) floema, (Gl) glândula, (Xi) xilema, (FP) fibras pericíclicas, (CST = common storage tissue), (CG) câmara da galha, (TNT) tecido nutritivo típico.

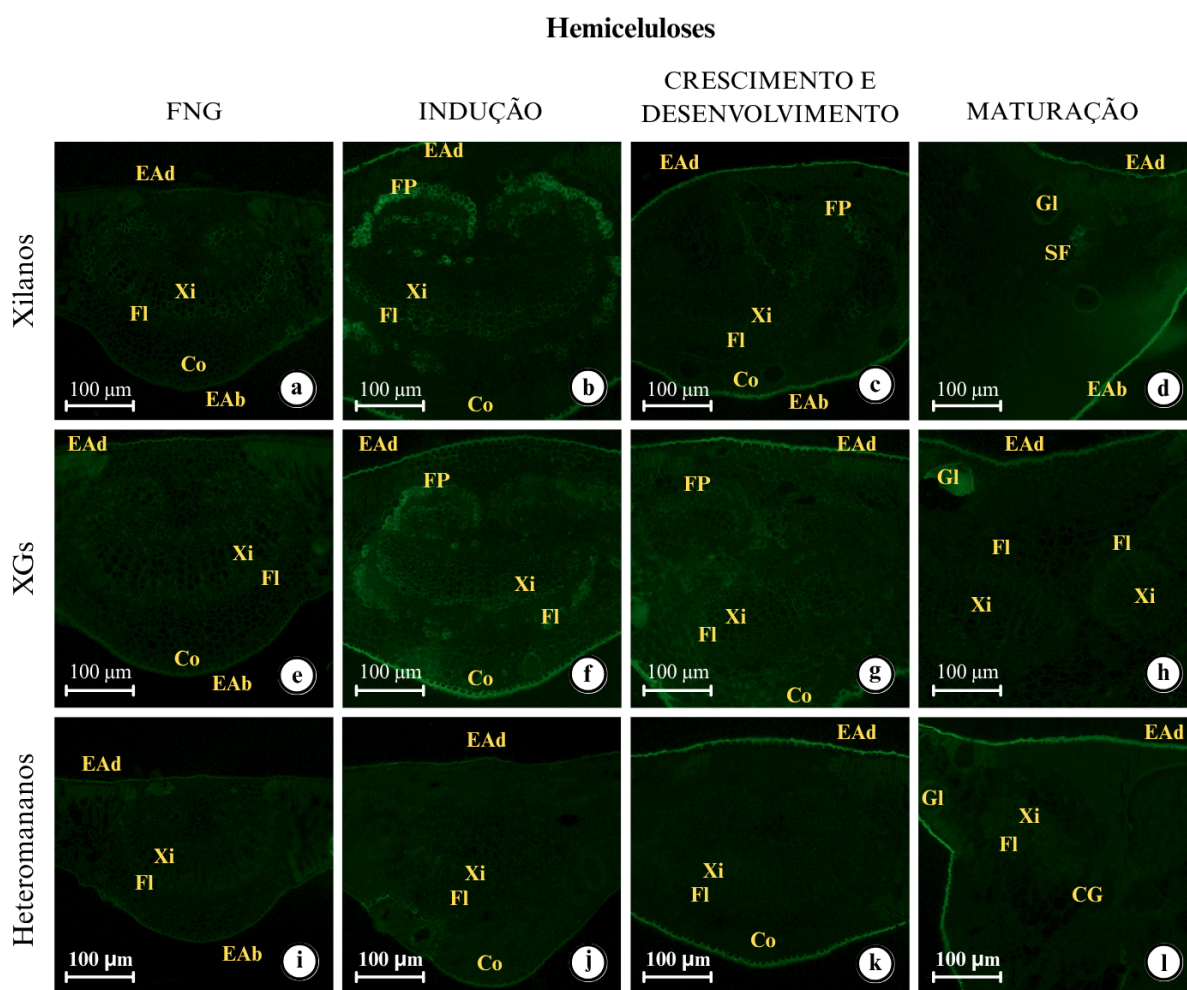


Figura 11 – Imunolocalização de hemiceluloses associadas à parede celular, detectadas pelos anticorpos LM10 (xilanos), LM15 (xiloglucanos) e LM21 (heteromananos) na nervura central de folhas não galhadas de *E. camaldulensis* x *E. tereticornis* e galhas induzidas por *L. invasa* em diferentes estágios ontogenéticos. (a–d) Marcações para LM10 nos estágios de folha não galhada (a), galha em indução (b), crescimento e desenvolvimento (c) e maturação (d). (e–h) Marcações para LM15 nos mesmos estágios. (i–l) Marcações para LM21. Abreviações: (EAd) epiderme adaxial, (EAb) epiderme abaxial, (Co) colênquima, (Fl) floema, (Gl) glândula, (Xi) xilema, (FP) fibras pericíclicas, (CST = common storage tissue), (CG) câmara da galha, (TNT = tecido nutritivo típico).

8. TABELAS

Tabela 1 – Padrões de imunolocalização dos epitopos de parede celular em folhas não galhadas e galhas induzidas por *L. invasa* em híbridos de *E. camaldulensis* × *E. tereticornis*.

Anticorpo	Estágio	Tecido nutritivo	Tecido de armazenamento comum	Colênquima	Xilema	Floema
LM1 (Ext)	FNG	-	-	3.0 (+)	0.9 (+)	1.53 (+)
	Indução	-	2.7 (+)	0.13 (+)	0.95 (+)	1.73 (+)
	Crescimento e desenvolvimento	1.99 (+)	1.14 (+)	2.81 (+)	1.93 (+)	2.61 (+)
	Maturação	6.14 (++)	1.32 (+)	3.70 (+)	4.22 (+)	4.22 (+)
LM2 (AGP)	FNG	-	-	5.83 (+)	5.17 (+)	5.49 (+)
	Indução	-	12.91 (++)	9.46 (+)	11.57 (+)	10.80 (+)
	Crescimento e desenvolvimento	-	10.67 (+)	11.24 (+)	12.49 (+)	14.05 (+)
	Maturação	22.78 (+++)	9.93 (+)	11.43 (+)	15.80 (++)	18.64 (++)
LM5 (Gal)	FNG	-	-	9.10 (+)	11.91 (+)	13.71 (+)
	Indução	-	9.42 (+)	9.91 (+)	10.06 (+)	8.67 (+)
	Crescimento e desenvolvimento	25.89 (+++)	13.41 (++)	10.31 (+)	11.38 (+)	13.14 (+)
	Maturação	27.27 (+++)	13.52 (++)	9.93 (+)	14.53 (+)	17.53 (++)
LM6 (Ara)	FNG	-	-	10.59 (+)	9.45 (+)	10.84 (+)
	Indução	-	7.10 (+)	8.14 (+)	7.49 (+)	8.64 (+)
	Crescimento e desenvolvimento	-	5.27 (+)	7.08 (+)	7.46 (+)	10.41 (+)
	Maturação	7.53 (+)	7.17 (+)	7.02 (+)	8.39 (+)	9.22 (+)
LM8 (XGA)	FNG	-	-	10.48 (+)	9.07 (+)	10.24 (+)
	Indução	-	7.02 (+)	12.76 (++)	12.63 (++)	13.14 (++)
	Crescimento e desenvolvimento	10.74 (+)	19.19 (++)	34.61 (+++)	7.39 (+)	9.51 (+)
	Maturação	28.28 (+++)	17.87 (++)	33.16 (+++)	7.71 (+)	8.49 (+)
LM19 (HG-Low)	FNG	-	-	10.95 (+)	11.35 (+)	11.81 (+)
	Indução	-	18.24 (++)	7.31 (+)	13.75 (+)	14.66 (++)
	Crescimento e desenvolvimento	14.25 (++)	9.67 (+)	7.27 (+)	16.75 (++)	14.24 (++)
	Maturação	17.16 (++)	9.65 (+)	7.59 (+)	7.68 (+)	8.50 (+)
LM20	FNG	-	-	6.67 (+)	6.55 (+)	7.14 (+)

(HG-High)	Indução	-	7.74 (+)	10.43 (+)	10.99 (+)	12.24 (++)
	Crescimento e desenvolvimento	9.84 (+)	9.69 (+)	10.69 (+)	7.85 (+)	8.74 (+)
	Maturação	12.08 (++)	8.92 (+)	11.25 (+)	7.80 (+)	8.97 (+)
LM10 (Xyl)	FNG	-	-	2.46 (+)	3.33 (+)	3.64 (+)
	Indução	-	2.87 (+)	4.62 (+)	5.08 (+)	4.65 (+)
	Crescimento e desenvolvimento	-	8.54 (+)	6.32 (+)	4.67 (+)	4.40 (+)
	Maturação	4.39 (+)	4.12 (+)	5.51 (+)	2.57 (+)	3.04 (+)
LM15 (XG)	FNG	-	-	2.69 (+)	3.14 (+)	2.87 (+)
	Indução	-	4.81 (+)	5.86 (+)	5.11 (+)	5.56 (+)
	Crescimento e desenvolvimento	-	4.41 (+)	6.28 (+)	5.03 (+)	4.19 (+)
	Maturação	3.96 (+)	2.42 (+)	3.15 (+)	3.14 (+)	3.15 (+)
LM21 (HMN)	FNG	-	-	2.58 (+)	3.33 (+)	4.07 (+)
	Indução	-	4.33 (+)	4.48 (+)	4.25 (+)	3.58 (+)
	Crescimento e desenvolvimento	-	2.77 (+)	2.99 (+)	3.50 (+)	3.32 (+)
	Maturação	4.53 (+)	3.03 (+)	3.47 (+)	3.05 (+)	3.07 (+)

Valores de escala de cinza (GV = gray value) seguidos pela classificação da intensidade: (-) negativa, (+) fraca, (++) moderada, (+++) forte. Abreviações dos anticorpos: Ext = extensinas; AGP = arabinogalactanas-proteínas; Gal = galactanos; Ara = arabinanos; XGA = xilogalacturonanos; HG-Low = homogalacturonanos com baixo grau de metil esterificação; HG-High = homogalacturonanos altamente metil esterificados; Xyl = xilanos; XG = xiloglucanos; HMN = heteromananos.