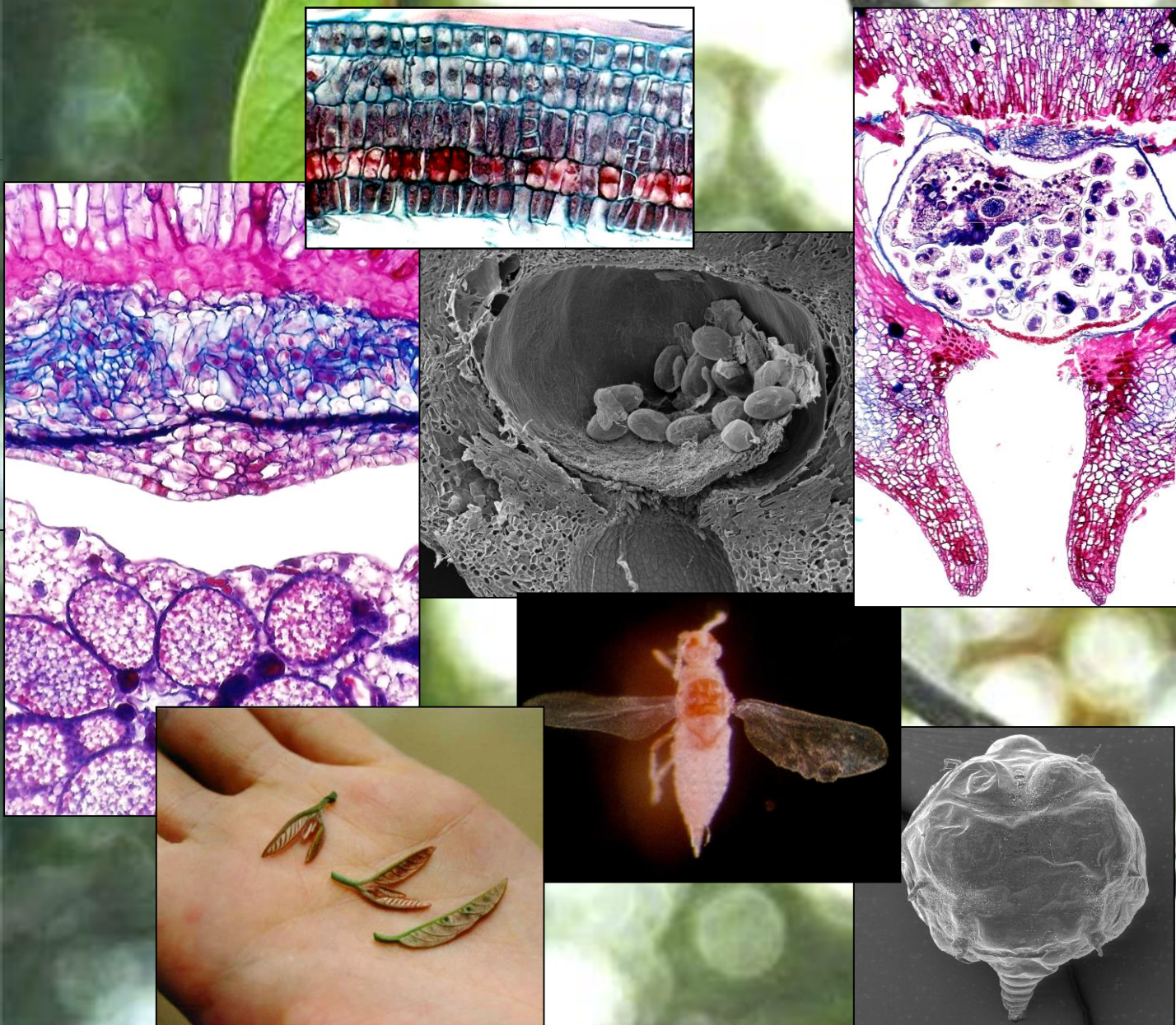


UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PÓS GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

TESE DE DOUTORADO

Sincronia fenológica, dimorfismo sexual e ontogênese em galhas de *Pseudotectococcus rolliniae* Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) em *Rollinia laurifolia* Schlttdl. (Annonaceae)



ALUNO: SAMUEL JOSÉ DE MELO REIS GONÇALVES
ORIENTADORA: PROFA. DRA. ROSY MARY DOS SANTOS ISAIAS

JUNHO / 2008

Samuel José de Melo Reis Gonçalves

Sincronia fenológica, dimorfismo sexual e ontogênese
em galhas de *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves
(Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) em
Rollinia laurifolia Schlttdl. (Annonaceae)

Tese apresentada ao Instituto de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Minas Gerais como requisito
parcial para obtenção do título de
Doutor em Biologia Vegetal.

Orientadora: Dra Rosy Mary dos Santos Isaias

Belo Horizonte – Minas Gerais

2008

FICHA CATALOGRÁFICA

GONÇALVES, Samuel José de Melo Reis

120 + XV p.

Tese de Doutorado – Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Botânica.

1. Galha. 2. Ontogênese. 3. Anatomia. 4. Dormência.

I. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Botânica.

COMISSÃO JULGADORA

Profa. Dra. Neuza Maria de Castro

Prof. Dr. Gilson Rudinei Pires Moreira

Prof. Dr. Élder Antônio Souza e Paiva

Prof. Dr. Fernando Henrique Aguiar Vale

Profa. Dra. Rosy Mary dos Santos Isaias

Orientadora

ÍNDICE

Dedicatória	V
Epígrafe	VI
Agradecimentos	VII
Resumo geral	X
Abstract geral	XI
Introdução geral	XII

CAPÍTULO 1: Sincronia fenológica entre *Pseudotectococcus rolliniae* Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) e *Rollinia laurifolia* Schldl. (Annonaceae)

Resumo	01
Abstract	02
Introdução	03
Material e Métodos	04
Resultados	07
Figuras	08
Discussão	09
Conclusões	18
Referências Bibliográficas	23
Referências Bibliográficas	24

CAPÍTULO 2: Ontogênese das folhas de *Rollinia laurifolia* Schldl. (Annonaceae).....

Resumo	30
Abstract	31
Introdução	32
Material e Métodos	33
Resultados	35
Figuras	37
Discussão	40
Referências Bibliográficas	42
Referências Bibliográficas	46

CAPÍTULO 3: Ontogênese das galhas foliares induzidas pelos machos e fêmeas de *Pseudotectococcus rolliniae* Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) em *Rollinia laurifolia* Schldl. (Annonaceae)

Resumo	50
Abstract	51
Introdução	52
Material e Métodos	53
Resultados	56
Figuras	58
Discussão	65
Conclusões	82
Conclusões	89

Referências Bibliográficas.....	90
---------------------------------	----

CAPÍTULO 4: A unique seasonal cycle in a leaf gall-inducing insect: the formation of stem galls for dormancy	98
---	----

Abstract	101
Introduction	102
Material and methods	103
Results	105
Discussion	107
Acknowledgements	111
References	112
Table	117
Figures	118

Conclusões gerais	123
-------------------------	-----

ANEXO: Hodgson C.J.; Gonçalves S.J.M.R.; Miller D. & Isaias R.M.S. 2004. A key to genera of Eriococcidae (Hemiptera: Coccoidea) from the Neotropical region and a revision of <i>Pseudotectococcus</i> Hempel (Eriococcidae), a gall inducing scale insect genus from Brazil, with a description of a new species. <i>Lundiana</i> 5 (1): 51-72.	125
--	-----

Dedico esta tese à Zoé.

Tocando em Frente

Almir Sater

Ando devagar porque já tive pressa
E levo esse sorriso porque já chorei demais
Hoje me sinto mais forte, mais feliz quem sabe
Só levo a certeza de que muito pouco eu sei
Eu nada sei

Conhecer as manhas e as manhãs,
O sabor das massas e das maçãs,
É preciso amor pra poder pulsar,
É preciso paz pra poder sorrir,
É preciso a chuva para florir

Penso que cumprir a vida seja simplesmente
Compreender a marcha e ir tocando em frente
Como um velho boiadeiro levando a boiada
Eu vou tocando dias pela longa estrada eu vou
Estrada eu sou

Conhecer as manhas e as manhãs,
O sabor das massas e das maçãs,
É preciso amor pra poder pulsar,
É preciso paz pra poder sorrir,
É preciso a chuva para florir

Todo mundo ama um dia todo mundo chora,
Um dia a gente chega, no outro vai embora
Cada um de nós compõe a sua história
Cada ser em si carrega o dom de ser capaz
E ser feliz

Conhecer as manhas e as manhãs
O sabor das massas e das maçãs
É preciso amor pra poder pulsar,
É preciso paz pra poder sorrir,
É preciso a chuva para florir

Ando devagar porque já tive pressa
E levo esse sorriso porque já chorei demais
Cada um de nós compõe a sua história,
Cada ser em si carrega o dom de ser capaz
E ser feliz

Conhecer as manhas e as manhãs,
O sabor das massas e das maçãs,
É preciso amor pra poder pulsar,
É preciso paz pra poder sorrir,
É preciso a chuva para florir

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em todas as suas formas e nomes e aos meus guias espirituais que me permitem seguir em frente me ajudando a ser a cada dia uma pessoa melhor.

À minha orientadora, Rosy Mary dos Santos Isaias, por ter despertado em mim o gosto pela anatomia vegetal e pelo estudo das galhas, por me mostrar que vale a pena buscar sabedoria, pela transparência, pela disposição, pela sinceridade, pelos conselhos, pela compreensão e pelos excelentes momentos de convivência festiva, cantante, agradável e saudosa.

Ao colegiado de Pós Graduação em Biologia Vegetal da UFMG, que, aprovando meu pedido de mudança de nível do mestrado para o doutorado, me deu a oportunidade de me empenhar ainda mais neste projeto.

À CAPES e à FAPEMIG (CRA 2387/98), pelo auxílio financeiro para o início desta pesquisa.

Ao Professor Elder Antônio Souza e Paiva pela competência em Anatomia Vegetal, por acreditar em minha capacidade, pelo incentivo ao meu trabalho e pela disposição.

Ao Professor Gilson Moreira da UFRGS pela sabedoria entomológica, pela imensa ajuda na caracterização dos galhadores deste trabalho e pela ajuda na microscopia eletrônica de varredura.

Ao Professor Geraldo Wilson Fernandes pelo trabalho em conjunto, pela grande quantidade de trabalhos com galhas que nos permitem discutir e fundamentar nossa pesquisa e pela competência neste assunto que garante seu reconhecimento em nível nacional e internacional.

À Professora Alice Fumi Kumagai pela grande sabedoria transmitida quando fui seu aluno. Afinal, muito do que sei de estratégias pedagógicas de ensino aprendi em suas aulas de Laboratório de Ensino de Zoologia.

Ao Professor Fernando Henrique Aguiar Vale, pela prontidão em me ajudar em qualquer coisa. Por acreditar no meu trabalho e saber que eu amo o que faço. Pelo café forte (e sem açúcar) e pelas discussões anatômicas.

Aos colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal, pela convivência e trocas de experiências, mas especialmente ao grupo que estuda galhas. À Jaciara e à Maísa, por terem descoberto

acidentalmente as galhas deste estudo e à Zabelê, por ter me incentivado a fazer a mudança de nível para o doutorado, desde o momento em que soube dessa possibilidade.

À Professora Jane Elizabeth Kraus pela ajuda na microscopia eletrônica de varredura.

Ao Doutor Christopher Hodgson do País de Gales e ao Doutor Douglas Miller da Califórnia pela identificação do “nosso bicho”.

Aos *Pseudotectococcus rollinae* (“Dona-gorda” e seu “marido”) e à *Rollinia laurifolia* por se associarem de forma tão perfeita e bela, fazendo deste sistema fascinante um dos grandes motivos de minha realização profissional.

Ao Papai e à Mamãe, Pérola, Ailmar, Velhinho, Taty, John, Biel, Lulu e Júlia; Minha Amada Grande Família, por tudo... tudo mesmo que fizeram e fazem por mim, para que eu sempre tente ser melhor, para que eu nunca desista e sempre corra atrás... ou corra na frente... Eu me orgulho muito de tê-los ao meu lado sempre.

À minha querida segunda família Paulo César, Iracy e Paulinho, pelas horas de conversa e carinho constante, pelo apoio incondicional, pelos almoços e jantares pra ganhar tempo. Obrigado mesmo!

À Karin, querida amiga, pelos sábios conselhos e por ter me ensinado que sempre podemos melhorar as coisas... nem que seja só com um abraço ou apenas dançando!

À Diná, que, “com seus olhos fundos guarda tanto amor”. Obrigado pelo carinho e empolgação imutáveis. Pela presença mesmo que ausente.

À querida amiga Ana Paula, que, com seus olhos cheios de lágrimas, demonstra sempre que fica muito feliz com qualquer uma de minhas conquistas.

Aos meus inúmeros alunos de todos os tempos, dos quais raramente eu recordo o nome. Afinal, desde que eu me entendo por doutorando, eu fui professor e me lembrar de tantos rostos e nomes é impossível. Portanto, agradeço a todos os meus queridos alunos da Escola Estadual Doutor Aurino Morais, Escola Estadual Ursulina de Andrade Melo, Escola Estadual Guimarães Rosa, Universidade Federal de Ouro Preto (no curso de Ciências da Natureza e Matemática em Santa

Bárbara), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras do Alto São Francisco (FASF-Luz), Universidade Federal de Minas Gerais (como professor substituto por um ano), Colégio Santo Agostinho Contagem e Faculdade Pitágoras Timbiras.

Aos meus colegas professores, coordenadores, diretores e funcionários do Colégio Santo Agostinho de Contagem e da Faculdade Pitágoras por estarem juntos comigo nesta arrancada final rumo ao título de doutor. Pelos ouvidos sempre atentos e compreensivos acerca de meus desabafos e lamentações e partilhas de minhas conquistas e realizações.

À minha querida esposa Pollyana, que sabe o lugar que ocupa em minha vida e sabe o que sinto, o que penso e o que desejo. Pelo ombro amante, pelas descobertas espirituais, pelas inúmeras conquistas de nossa vida, pelo desejo incontrolável de sermos a cada dia mais felizes. Por conseguirmos superar todas as nossas dificuldades. Pela reciprocidade e por nossos segredos...

Às pessoas das quais eu me esqueci de citar o nome! Desculpem!

Resumo geral – *Rollinia laurifolia* Schltdl. (Annonaceae) apresenta galhas foliares induzidas por *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae), inseto cujo marcante dimorfismo sexual é refletido nas galhas. Neste sistema galhador-planta hospedeira, há sincronia fenológica entre a planta e os insetos. *R. laurifolia* perde suas folhas durante a estação seca e a rebrota ocorre no início da estação chuvosa. Nas folhas jovens, várias ninfas de *P. rollinae* induzem galhas a princípio similares. O dimorfismo destas é percebido a partir do 8º dia, quando as galhas induzidas pelas fêmeas são esféricas, de dimensões relativamente grandes e com duas câmaras. Há maior desenvolvimento de floema, parênquima e tecidos mecânicos relacionadas à permanência e alimentação mais prolongadas das fêmeas em suas galhas. Por sua vez, as galhas induzidas pelos machos são cônicas, menores, com uma única câmara e apresentam maturação precoce. Por volta do 16º dia, os machos adultos alados abandonam suas galhas e procuram fêmeas sexualmente maduras. Após a inseminação, as fêmeas produzem cera que sela o ostíolo da câmara superior, onde ocorre a oviposição e a eclosão dos ovos. O ciclo de vida de *P. rollinae* dentro das galhas foliares dura de 44 a 50 dias para fêmeas e de 14 a 20 dias para os machos. As ninfas de primeiro ínstar constituem a fase de dispersão, saem das galhas onde foram geradas e com a caducifolia de *R. laurifolia* devem localizar abrigo até que novas folhas sejam produzidas. Este abrigo consiste em galhas de dormência induzidas por estas ninfas nos caules jovens da mesma planta. Nestas, os insetos ficam em estágio latente caracterizado por redução da atividade metabólica. No início da próxima estação chuvosa, ocorre a primeira ecdise e as ninfas de segundo instar induzem galhas nas folhas recém-lançadas na mesma planta, contrariando o padrão descrito para os Eriococcidae.

Palavras-chave: Galhas, sincronia, ontogênese, *Rollinia*, *Pseudotectococcus*, dimorfismo sexual.

Abstract – *Rollinia laurifolia* Schltdl. (Annonaceae) has leaf galls induced by *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae), which presents sexual dimorphism also observed on the galls. In this system, there is a phenological synchrony between host and gall-inducing insects. *R. laurifolia* loses its leaves during the dry season and budburst begins at the rainy season start. Several *P. rollinae* nymphs induce similar leaf galls at young leaves. Their sexual dimorphism occurs at 8th gall development day. At this moment, galls induced by females are spherical, bigger than that induced by males and have two chambers. There is more phloem parenchyma and mechanical tissue inside these galls because females stay inside their galls where they feed and will be inseminated. Galls induced by males are conical-shaped, smaller, and have just one chamber. Also they present a shorter life cycle. At sixteen days adult winged males leave their galls to find females. After insemination, females produce wax that protects inside the ostiole separating the abaxial and adaxial chamber, where oviposition and egg hatching take place. *Pseudotectococcus rollinae* life cycles inside leaf galls last up to 44 to 50 days from females and up to 14 to 20 days from males. First instar nymphs (crawlers) are very active. They leave maternal galls and they may find shelter before *R. laurifolia* leaf falling. So, they walk to stems where they induce another gall type considered as dormancy galls, because of a reduction in metabolic activity. As the rainy season begins, an ecdysis will occur and second instar nymphs will induce leaf galls at young near-hatched leaves. This is new on Eriococcidae studies.

Keywords: Galls, synchrony, ontogenesis, *Rollinia*, *Pseudotectococcus*, sexual dimorphism.

INTRODUÇÃO GERAL

As Annonaceae compreendem aproximadamente 122 gêneros que englobam, em média, 1100 espécies. Desses gêneros, 36 são americanos, ocorrendo dois deles também na África (*Annona* e *Xylopia*) e um na Ásia (*Anaxagorea*). No Brasil, estão registrados 29 gêneros, compreendendo cerca de 260 espécies. A família, uma das mais uniformes, do ponto de vista estrutural e do habitat, é muito distinta por apresentar uma combinação de caracteres marcantes. Na América tropical, são arbustivas ou arbóreas e crescem nos campos ou em lugares abertos. Em geral, apresentam lenho e folhas aromáticos (Barroso 1978; Kubitzki *et al.* 1993).

Das mais de 40 espécies de *Rollinia*, apenas nove têm sido quimicamente investigadas. A primeira vez que o nome *Rollinia* foi citado em uma literatura não botânica foi em 1967, quando Hartwell descreveu que *R. mucosa* era usada na medicina primitiva no tratamento de tumores no oeste da Índia e na Indonésia. Depois de 10 anos de silêncio, *Rollinia* foi mencionada novamente em alguns trabalhos de revisão como o que se referiu à composição de albumina e globulina das sementes de diferentes espécies de *Rollinia* (Blagoveshchenskii & Aleksandrova 1976). Taninos foram descritos em uma espécie não identificada de *Rollinia* (Gibbs 1974).

Rollinia laurifolia distribui-se pelo sudeste do Brasil desde o sul da Bahia até o leste do Paraná, ocorrendo, também no interior de Minas Gerais. Ocupa florestas primárias e secundárias, a altitudes de 750 metros. Floresce de agosto a maio e frutifica de novembro a abril. É uma árvore ou arbusto de até 25 metros de altura e 40 centímetros de diâmetro (Maas & Westra 1992).

Salatino e Salatino (1983) estudaram a cera foliar epicuticular de vinte e quatro anonáceas brasileiras pertencentes ao gênero *Annona*, *Guatteria*, *Rollinia* e *Xylopia*.

Desde 1983 uma tentativa tem sido feita para estudar a fitoquímica deste gênero, que levou ao isolamento e identificação dos compostos, como ácidos graxos e derivados, esteróis, acetogeninas, lignina e alcalóides. Dentre estes, maior atenção tem sido dada à química das

acetogeninas devido à sua atividade biológica. Acetogeninas de folhas de *R. laurifolia* foram estudadas por Nascimento e colaboradores (2003).

O isolamento de acetogeninas citotóxicas de espécies de *Rollinia* foi descrito pela primeira vez em 1984 por Dabrah e Sneden (1984a, 1984b). Estas acetogeninas, que parecem ser específicas de Annonaceae, têm longas cadeias alifáticas interrompidas por anéis de tetrahydrofurano e carregam um grupo γ -lactona em uma ponta; elas são mais ou menos hidroxiladas.

Ao mesmo tempo, apenas um tipo de composto de lignina parece ter sido descrito de uma Annonaceae e foi isolada de *Duguetia surinamensis* (Aiba *et al.* 1975). Além disso, muitos alcalóides têm sido isolados de seis espécies de *Rollinia*; todos eram isoquinolinas (Dabrah & Sneden 1983).

Complementarmente, estudos envolvendo Annonaceae se relacionam às galhas. Observa-se a presença de uma galha foliar cônica em *R. sylvatica* causada por um homoptero, Pseudococcidae, *Pseudotectococcus annonae*. (Maas & Westra 1992).

Sob o ponto de vista ecológico, galhas são adaptações que permitiram aos organismos galhadores colonizar e radiar em ambientes áridos (Fernandes & Price 1988).

A complexidade das galhas está relacionada não somente às interações entre a planta hospedeira e o indutor, pois a alta concentração de substâncias nutritivas nos tecidos galígenos, a vulnerabilidade dos cecidozoas e a presença de células com condições praticamente meristemáticas, favorecem o desenvolvimento de microcomunidades (Mani 1992). O estudo destas microcomunidades pode envolver princípios ecológicos básicos, de modo que, os vários ramos da cecidologia se integram com o intuito de elucidar o real significado das formações galígenas. A formação das galhas induzidas por insetos revela-se ainda, numa oportunidade ideal de se estudar a plasticidade dos tecidos vegetais em desenvolvimento (Lalonde & Shorthouse 1984).

As galhas representam modelos úteis para a elucidação das complexas reações genéticas, bioquímicas e estruturais que o tecido vegetal apresenta em decorrência de um estímulo e controle externos. Segundo Rey (1992), os processos-chave durante a fase de organização da maioria das

galhas são hiperplasia, hipertrofia e desdiferenciação, além da destruição celular devido a lise ou pela alimentação do inseto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aiba, C.J.; Gottlieb, O.R. & Maia, J.G.S. 1975. *Comunicación present at the XXVII Annual Meeting of Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*
- Barroso, G.M. 1978. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. São Paulo. EDUSP
- Blagoveshchenskii, A. V. & Aleksandrova, E. G. 1976. The Phylogeny of dicotyledons and the protein complexes of their seeds. *Byull. Moskovsk. Obshch. Isp. Prir., Otd. Biol.* 81: 91
- Dabrah, T.T. & Sneden, A.T. 1983. Oxaporphine alkaloids from *Rollinia papilionella*. *Journal of Natural Products* 46: 436
- Dabrah, T.T. & Sneden, A.T. 1984a. Rollinicine and isorollinicine, cytotoxic acetogenins from *Rollinia papilionella*. *Phytochemistry* 23: 2013-2016
- Dabrah, T.T. & Sneden, A.T. 1984b. Rollinone, a new cytotoxic acetogenin from *Rollinia papilionella*. *Journal of Natural Products* 47: 652-657
- Fernandes, G.W. & Price, P.W. 1988. Biogeographical gradients in galling species richness: Tests of hypotheses. *Oecologia* 76: 161-167
- Gibbs, R.D. 1974. *Chemotaxonomy of flowering plants*. Montreal and London: Queen's University Press
- Kubitzki, K.; Rohwer, J.G. & Bittrich, V. Edits. 1993. *The Families and Genera of Vascular Plants. Volume II. Flowering Plants. Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families*, Springer-Verlag, Berlin
- Lalonde, R.G. & Shorthouse, J.D. 1984. Growth and development of larvae and galls of *Urophora cardui* (Diptera, Tephritidae) on *Cirsium arvense* (Compositae). *Oecologia* 161-165
- Maas, P.J.M. & Westra, L.Y.Th. 1992. *Rollinia*. *Flora Neotropica* 57: 1-189

- Mani, M.S. 1992. *Introduction to cecidology*. 3-7. In: Shorthouse J.D. & Rohfritsch O. Edits. *Biology of Insect-Induced Galls*. Oxford: Oxford University Press
- Nascimento, F.C.; Boaventura, M.A.D.; Assunção, A.C.S. & Pimenta, L.P.S. 2003. Acetogeninas de anonáceas isoladas de folhas de *Rollinia laurifolia*. *Química Nova* 26: 3 319-323
- Rey, L.A. 1992. Developmental morphology of two types of hymenopterous galls. In: Shorthouse J.D. & Rohfritsch O. Edits. *Biology of Insect-Induced Galls*. Oxford: Oxford University Press
- Salatino, M.L.F. & Salatino, A. 1983. Constituents of the unsaponifiable fraction of the foliar epicuticular wax and the systematics of the Annonaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 6: 23-

CAPÍTULO 1

Sincronia fenológica entre *Pseudotectococcus rollinae*

Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) e

Rollinia laurifolia Schltdl. (Annonaceae)

Resumo – Relações espécie-específicas que resultam na formação de galhas são envolvidas muitas vezes com a sincronia fenológica entre os organismos envolvidos como observado no sistema *Rollinia laurifolia* Schltdl. (Annonaceae) - *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae). Neste sistema, a planta hospedeira é caducifólia e os insetos apresentam marcante dimorfismo sexual, o qual é refletido nas galhas. A queda das folhas de *R. laurifolia* ocorre durante a estação seca e novas folhas são formadas com o início da estação chuvosa, quando várias ninfas de *P. rollinae* são encontradas presas aos tricomas destas. A distinção entre as galhas induzidas pelas fêmeas daquelas induzidas pelos machos é possível a partir do 8º dia de desenvolvimento. Galhas induzidas pelas fêmeas são esféricas, de dimensões maiores e com duas câmaras enquanto aquelas induzidas pelos machos são cônicas, menores e com uma única câmara. Os machos em fase de prepupa produzem cera que envolve seu corpo e empupam. Por volta do 16º dia, os machos adultos abandonam suas galhas, e procuram fêmeas sexualmente maduras, as quais são sésseis e permanecem dentro de suas galhas, com o abdome numa posição favorável à inseminação. Depois de inseminadas, as fêmeas produzem cera que protege os ovos e os “crawlers” contra queda e dessecação. O ciclo de indução de galhas de *P. rollinae* dura de 44 a 50 dias para fêmeas e de 14 a 20 dias para os machos. A fase de dispersão destes insetos são as ninfas de primeiro ínstar que saem das galhas onde foram geradas e com a caducifolia de *R. laurifolia* devem localizar abrigo até que novas folhas sejam produzidas.

Palavras-chave: Galhas, sincronia, fenologia, *Rollinia*, *Pseudotectococcus*, dimorfismo sexual.

Abstract - Galls are species-specific relationships between plants and parasites which generally depends on phenological synchrony between both organisms as observed in *Rollinia laurifolia* Schltdl. (Annonaceae) - *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae). In this system, the host plant is deciduous and the insects are sexually dimorphic, which reflects in leaf galls. Leaf falling occurs during the dry season, and at the beginning of the rainy season, several *P. rollinae* are stuck on young leaves trichomes. After 8 days since gall initiation, galls induced by females are clearly distinguishable from those induced by males. The first are spherical, bigger, with two larval chambers while the former are conical, smaller, with just one chamber. Males in prepupa stage produce wax around their body, and then pupate. After sixteen days, they abandon their own galls and look for sexually mature sessile females located inside their galls, with their abdomen positioned in a way that allows insemination. After insemination, a covering wax produced by females protects eggs and crawlers against falling and desiccation. Female life cycles inside leaf galls last from 44 to 50 days while males' last from 14 to 20. Dispersive nymphs, the crawlers, leave maternal galls, and, after leaf falling, may locate a site for shelter until the next budburst.

Key words: Galls, synchrony, phenology, *Rollinia*, *Pseudotectococcus*, sexual dimorphism.

INTRODUÇÃO

Insetos galhadores são altamente específicos em relação ao hospedeiro e ao órgão no qual induzem as galhas, ou seja, induzem galhas apenas em uma espécie ou em um grupo estritamente relacionado à espécie hospedeira (Dreger-Jauffret & Shorthouse 1992). De modo a garantir esta especificidade, uma das adaptações necessárias apresentadas pelos galhadores é a grande sincronia estabelecida entre sua fenologia e aquela de seu hospedeiro (Weis *et al.* 1988). A dependência em relação ao hospedeiro demarca a habilidade da maioria dos insetos indutores de galhas de escolher o espécime, o local e o tempo corretos para o início da oviposição e subsequente alimentação (Raman 2007). O modo de alimentação dos insetos galhadores é fator crucial para o desenvolvimento da estrutura da galha. Destacam-se os mastigadores, como os Hymenoptera e Lepidoptera, os dotados de aparelho bucal altamente modificado, como os Diptera: Cecidomyiidae que rompem as células mecanicamente para depois ingerir o suco celular, e os sugadores, como os Hemiptera: Psyllidae ou Coccoidea.

Os indivíduos da superfamília Coccoidea ocorrem em todo o mundo e constituem pragas na agricultura e horticultura (Linsenmaier 1972). São aproximadamente 7000 espécies de diminutos fitófagos sugadores de floema (Ben-Dov *et al.* 2006). Apresentam dimorfismo sexual, notadamente nos adultos (Gullan *et al.* 2005). As fêmeas são maiores, ápteras e sésseis enquanto os machos são menores, mais ativos, alados e com ciclo de vida mais curto (Linsenmaier 1972, Gullan & Kosztarab 1997, Cook *et al.* 2000, Gullan *et al.* 2005). Alguns coccídeos induzem galhas morfológicamente distintas de acordo com o sexo do inseto (Linsenmaier 1972, Meyer 1987, Dreger-Jauffret & Shorthouse 1992, Gullan & Martin 2003). Dentre estes, os integrantes da família Eriococcidae são os mais estudados e o dimorfismo sexual das galhas foi relatado para *Apiomorpha* Rübsaamen 1894,

Cylindrococcus Maskell 1892, *Opisthoscelis* Shrader 1863, *Neotectococcus* Hempel 1937, *Tectococcus* Hempel 1900 e *Pseudotectococcus* Hempel 1935 (Gullan *et al.* 2005). Estudos mais específicos sobre a família abordam o dimorfismo sexual dos primeiros ínstaes ninfais (Cook *et al.* 2000), a ocorrência de grande variação cromossômica intraespecífica associada ao hospedeiro (Cook 2001), a descrição de novas espécies (Cook 2003), estudos filogenéticos que revelaram o caráter polifilético do grupo (Cook *et al.* 2002) e a revisão de dois gêneros de galhadores (Gullan 1984a, 1984b).

Os eriococcídeos possuem dois ínstaes ninfais nas fêmeas e quatro nos machos. O primeiro ínstar é conhecido como “crawler” (= aquele que se arrasta; rastejante). Os “crawlers” se transformam em ninfas de segundo ínstar. As fêmeas se transformam posteriormente em adultas enquanto os machos se transformam em prepupas e posteriormente em pupas, para então se tornarem adultos. As ninfas de todos os ínstaes se alimentam ativamente, exceto a prepupa e a pupa dos machos (Gullan e Kosztarab 1997). Para várias espécies galhadoras e gêneros de Eriococcidae, o comportamento dos machos não é conhecido (Gullan *et al.* 2005). Além disso, pouco se sabe sobre anatomia, biologia e caracterização ontogenética e fenológica de galhas induzidas por insetos desta família.

Estudos completos sobre o ciclo de vida de insetos indutores de galhas em geral, são raros, podendo ser citados aqueles realizados sobre as galhas de *Phylloxera* (Granett *et al.* 2001), galhas de *Euphaleurus ostreoides* em *Lonchocarpus guilleminianus* (Ferreira *et al.* 1990) e galhas de *Eurosta solidaginis* em *Solidago altissima* (Abrahamson 2002).

Revisões sobre coccídeos galhadores (Gullan *et al.* 2005) mostram que galhas de Eriococcidae são pouco estudadas na América do Sul e no Brasil, podendo ser citadas a descrição de novas espécies (Hempel 1935, 1937), a presença de galhas foliares de *Pseudotectococcus anonae* em *Rollinia sylvatica* (Maas & Westra 1992), a caracterização do ciclo de vida de *Tectococcus ovatus* em *Psidium cattleianum* (Vitorino *et al.* 2000) e o

estudo das alterações químicas em folhas de *Rollinia laurifolia* causadas por indutores de uma espécie até então não descrita de Brachyscelidae (atualmente Eriococcidae) (Soares *et al.* 2000). Posteriormente, foi feita a descrição desta espécie, denominada *Pseudotectococcus rollinae*, e a elaboração de uma chave para identificação de gêneros de eriococcídeos neotropicais (Hodgson *et al.* 2004), além da caracterização do dimorfismo sexual e do impacto da indução das galhas sobre as folhas de *R. laurifolia* (Gonçalves *et al.* 2005).

Tendo em vista a caducifolia de *Rollinia laurifolia* e a baixa mobilidade de *Pseudotectococcus rollinae*, deve haver uma sincronia perfeita entre os ciclos de vida dos organismos associados de modo a permitir a manutenção deste sistema galhador-planta hospedeira.

Uma vez que as galhas são fenótipos estendidos dos insetos galhadores, espera-se que a mesma espécie (*P. rollinae*) induza galhas semelhantes em sua planta hospedeira (*R. laurifolia*). Deste modo, o dimorfismo sexual refletido na morfologia da galha deve ser produto de particularidades do metabolismo e do ciclo de vida dos insetos machos e fêmeas.

Os objetivos deste trabalho foram: (1) analisar o ciclo de vida de *P. rollinae* relacionando-o à fenologia de sua planta hospedeira *R. laurifolia*; (2) determinar o momento no qual o dimorfismo sexual dos insetos passa a ser observado nas galhas; e (3) determinar o ciclo de vida dos insetos numa escala temporal.

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta aleatória de folhas em diferentes estágios de desenvolvimento teve início em setembro de 2002 (fase de brotamento) e se estendeu até dezembro de 2002 (Dados meteorológicos expressos nas figuras 1 a 8), a intervalos de 48 horas, em um espécime adulto de *Rollinia laurifolia* localizado na Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, devido ao seu alto índice de infestação por galhas foliares de *Pseudotectococcus rollinae* (Gonçalves *et al.* 2005).

Fragmentos foliares contendo galhas em diferentes estágios de desenvolvimento foram fixados imediatamente após a coleta, em glutaraldeído 5% em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,2) e mantidos por 48h a 4°C (Bronner 1975, modificado). O material foi posteriormente lavado 3 vezes em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,2), desidratado em série etílica (Johansen 1940), seco em aparelho de ponto crítico com gás carbônico e recoberto com ouro (O'Brien & McCully, 1981).

Fragmentos recém-coletados foram analisados ao estereomicroscópio para coleta de insetos indutores adultos, ovos e ninfas, os quais foram fixados em FAA (formaldeído 37%, ácido acético e etanol 50%, 1:1:18 v/v) (Johansen 1940).

Para a coleta de machos adultos, algumas folhas escolhidas aleatoriamente foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em geladeira por 24 horas. Após este período, foram transferidas para uma placa de Petri com papel filtro umedecido e deixadas sob luz natural por mais 24 horas. A parte interna da placa foi lavada com FAA e o líquido foi coletado com pipeta Pasteur. As folhas, o papel filtro e o líquido coletado foram observados ao estereomicroscópio para triagem dos insetos.

Espécimes voucher encontram-se depositadas no Herbário do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG (BHCB) e no Museu de Zoologia de São Paulo (MZSP).

RESULTADOS

O espécime de *Rollinia laurifolia* analisado apresenta caducifolia no final da estação seca (junho a agosto/setembro, Figuras 1 a 4). Com o início das chuvas da primavera (setembro/outubro, Figuras 5 e 6) ocorre o brotamento simultâneo de todas as gemas dormentes (Figura 9).

As folhas recém-lançadas medem cerca de um centímetro, apresentam prefoliação conduplicada e possuem coloração avermelhada (Figura 10) devido à presença de inúmeros tricomas pluricelulares com antocianinas (ver capítulo 2), em meio aos quais várias ninfas de *Pseudotectococcus rollinae* foram encontradas (Figuras 11 e 12).

Nenhuma alteração significativa foi observada na superfície foliar desde o brotamento até o quarto dia em que já havia ninfas sobre as folhas. Após o sexto dia, ainda havia ninfas ancoradas aos tricomas na superfície foliar e observou-se o crescimento dos tecidos ao redor de algumas ninfas, cujo corpo apresentava-se quase completamente envolvido pelas células vegetais, estando a porção terminal de seu abdome exposta (Figura 13). Passa a ser nítida a região modificada da folha que constitui a galha e a região que o inseto ocupa dentro desta estrutura, a qual constitui a câmara ninfal, em cujo interior notaram-se os estiletos do inseto indutor (Figura 14).

As galhas de *P. rollinae* apresentam apenas um indutor por câmara ninfal, mas em raros casos dois ou três indutores podem ser observados.

A partir do oitavo dia de desenvolvimento o dimorfismo sexual passa a ser notado externamente pelo formato das galhas. As galhas induzidas pelos machos apresentam-se cônicas na face adaxial da lâmina foliar, enquanto as induzidas pelas fêmeas são relativamente esféricas (Figuras 15 e 16). Este dimorfismo confirma-se pela presença de uma única câmara ninfal oblíqua e anticlinalmente alongada, chegando a atingir até duas

vezes o tamanho do indutor nas galhas induzidas pelos machos (Figura 17). Os machos realizam uma ecdise a partir do décimo dia após a indução e se transformam em prepupas caracterizadas pelas patas ainda pouco desenvolvidas e pela presença de filamentos de cera ao redor do corpo (Figuras 18 e 19), especialmente na região da cabeça e tórax. As prepupas se desenvolvem em pupas e estas, após a última ecdise, observada a partir do 14º dia de indução, se desenvolvem em machos adultos alados (Figura 20) que abandonam suas galhas por volta do 16º dia, os quais foram coletados das folhas deixadas dentro de placas de Petri com papel filtro umedecido. Algumas destas galhas sem indutores machos foram encontradas ocupadas por ovos de ácaros (Figura 21).

As galhas induzidas pelas fêmeas iniciam, a partir do oitavo dia de desenvolvimento, a formação de uma segunda câmara, localizada adaxialmente, a qual constitui a câmara superior (Figura 22) e aquela localizada abaxialmente constitui a câmara inferior. As duas câmaras são separadas por um ostíolo, o ostíolo interno (Figura 23), e a câmara inferior se abre para o meio externo por outro ostíolo. Desta forma, a principal característica utilizada para distinguir as galhas induzidas pelas fêmeas é o formato esférico destas na face adaxial da lâmina foliar e a presença de duas câmaras.

Exúvias foram encontradas no interior das galhas ao lado das fêmeas (Figura 24) a partir do 16º dia de desenvolvimento, indicando que estas compreendem o estágio adulto. A partir de então, os machos inseminam as mesmas, introduzindo seu abdome através do ostíolo externo até atingir a porção terminal do abdome das fêmeas, que se encontra projetado através do ostíolo interno, voltado para a câmara inferior. Foram observados em laboratório, machos caminhando na face abaxial da lâmina foliar, ao redor dos ostíolos externos das galhas induzidas pelas fêmeas. Quando se aproximavam do ostíolo, ocorreram comportamentos de inseminação com movimentos repetidos de exposição e retração do

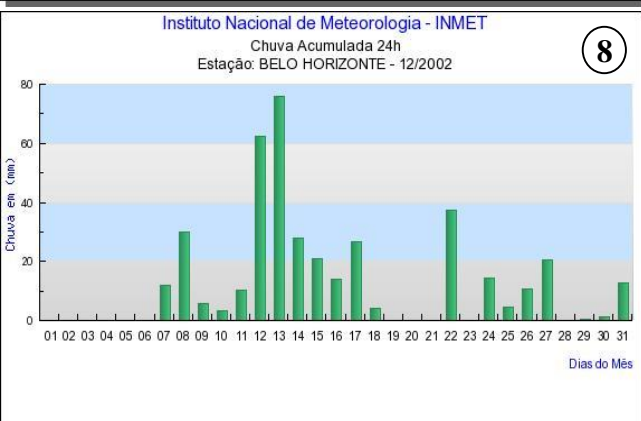
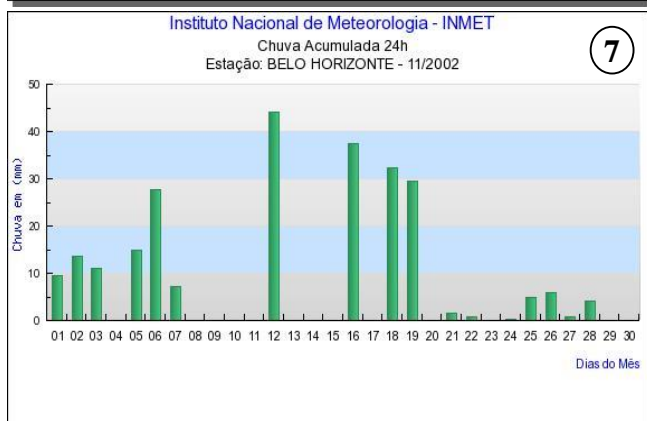
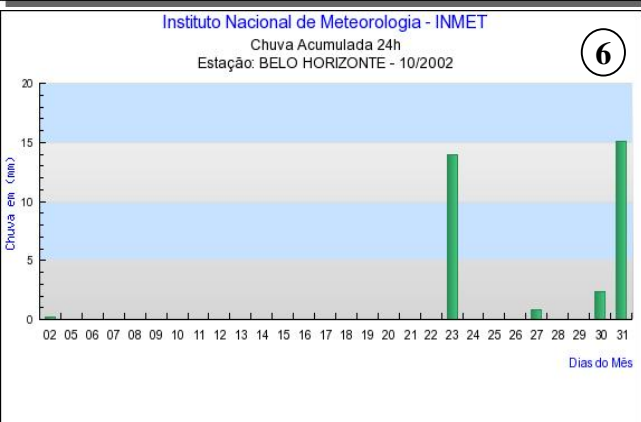
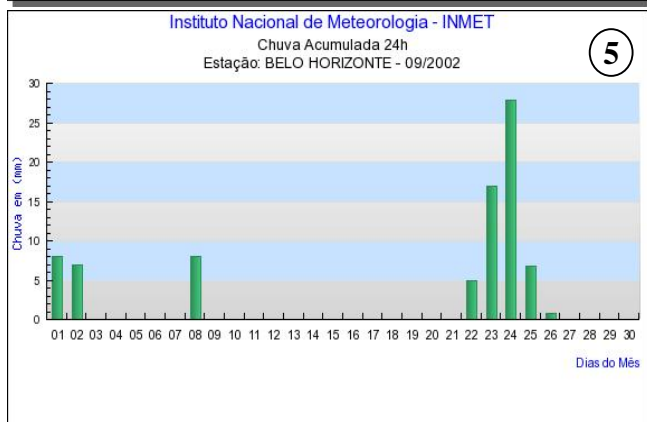
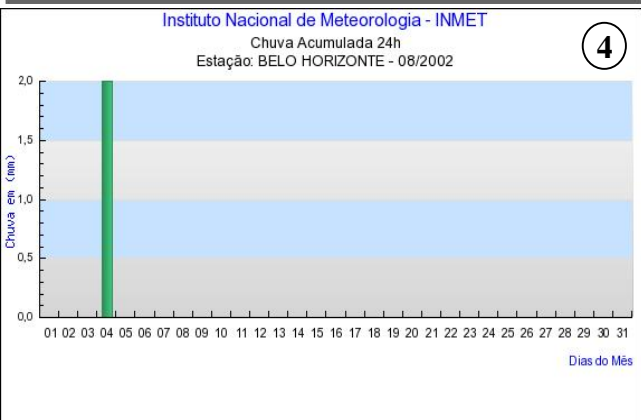
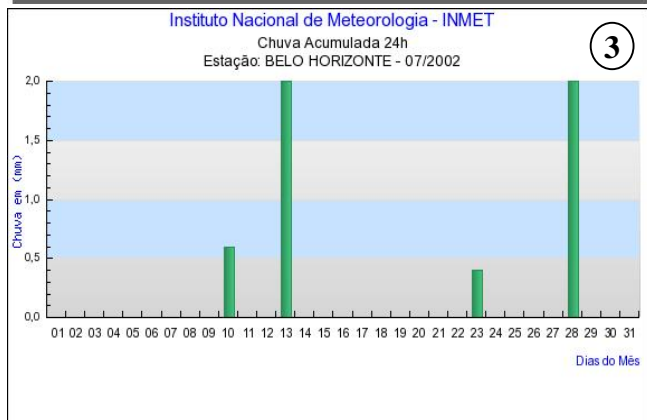
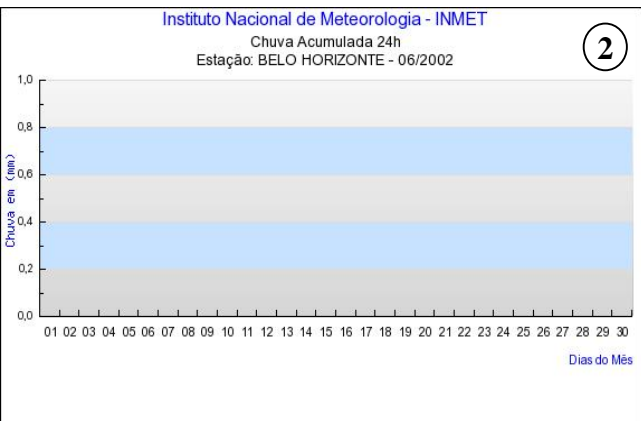
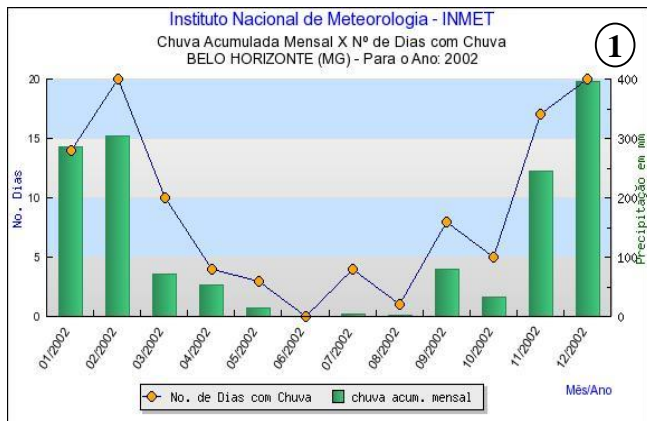
pênis de coloração preta, cada vez mais intensos, quanto mais próximos os machos estavam dos ostíolos.

A partir do 20º dia, fêmeas inseminadas apresentam o tórax distendido, patas relativamente pequenas (Figura 25) e aparelho bucal visível (Figura 26). Recolhem seu abdome para a câmara superior e iniciam a produção de cera que bloqueia a abertura do ostíolo interno (Figura 27). Este fenômeno foi observado.

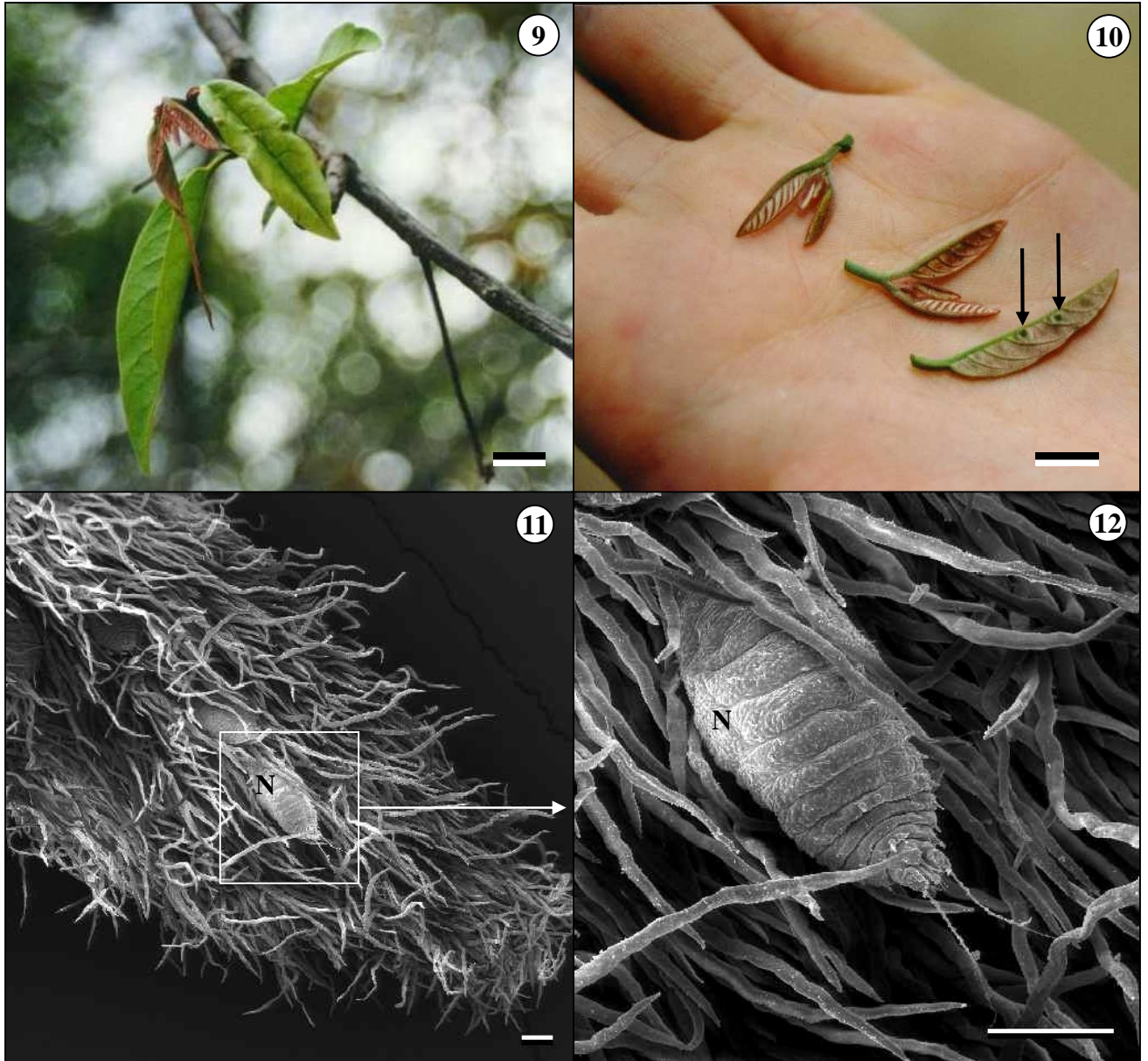
A partir do 28º dia, foi observada a oviposição dentro da câmara superior, sobre a cera. Devido ao grande número de ovos por galha e à permanência da fêmea em seu interior, os ovos ficam junto ao seu corpo, comprimido-o (Figura 28). Os ovos apresentam revestimento de cera em formato de anel (Figuras 29).

A eclosão dos ovos ocorre dentro da câmara superior onde “crawlers” e ovos não eclodidos podem ser observados (Figura 30), a partir do 44º dia. As ninfas recém-eclodidas são móveis e, assim como as fêmeas, apresentam coloração rósea. Ao saírem da câmara superior, caminham por debaixo da cera que bloqueia o ostíolo interno, em direção à câmara inferior e desta em direção ao exterior através do ostíolo externo.

O início do ciclo de desenvolvimento das galhas de *P. rollinae* é concomitante ao brotamento das folhas de *R. laurifolia*. Da indução até a eclosão de novas ninfas de primeiro instar passam-se cerca de 44 a 50 dias para fêmeas e de 14 a 20 dias para os machos (Figura 31).



FIGURAS 1 – 8. Pluviosidade no ano de 2002 em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. 1 - Pluviosidade mensal acumulada e dias de chuva por mês. Chuva acumulada diária em junho (2), julho (3), agosto (4), setembro (5), outubro (6), novembro (7) e dezembro (8).
Fonte: INMET: <http://www.inmet.gov.br/html/observacoes.php?lnk=Gr%E1ficos> - acesso em 29/02/2008.



FIGURAS 9-12. Folhas jovens de *Rollinia laurifolia* no início da indução das galhas. **9** – Folhas recém-lançadas que emergiram no início da estação chuvosa, logo após a caducifolia. **10** – Folhas recém-lançadas ainda dobradas ao longo da nervura de primeira ordem. **11** – Eletromicrografia de varredura de ninfa de *Pseudotectococcus rollinae* entre os tricomas tectores de uma folha recém-lançada. **12** – Detalhe de 11 evidenciando o tórax e o abdome do inseto indutor. Galhas no início do desenvolvimento (setas pretas) e ninfa indutora (N). Barras = 1 cm (9 e 10) e 100 μ m (11 e 12).

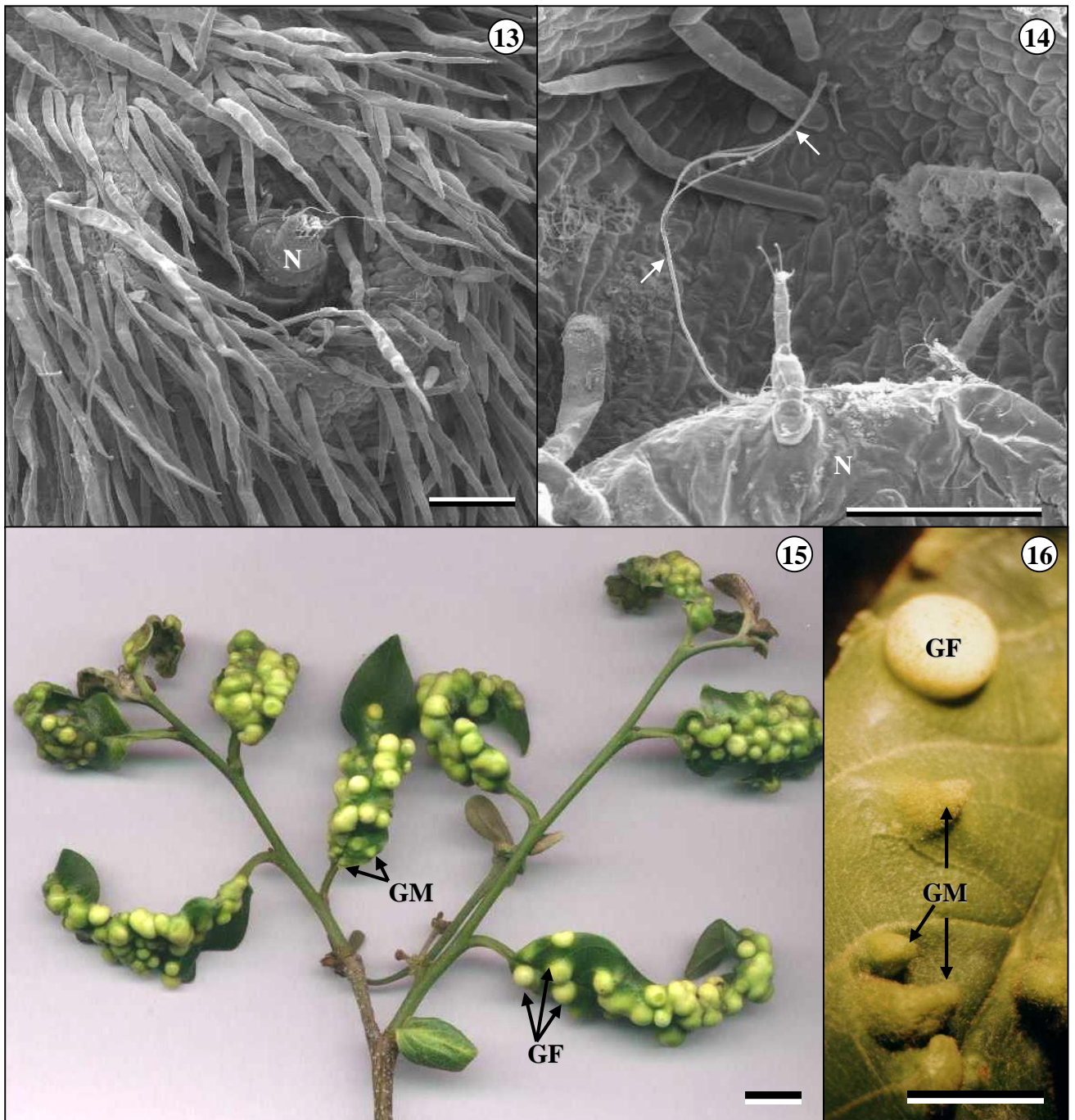
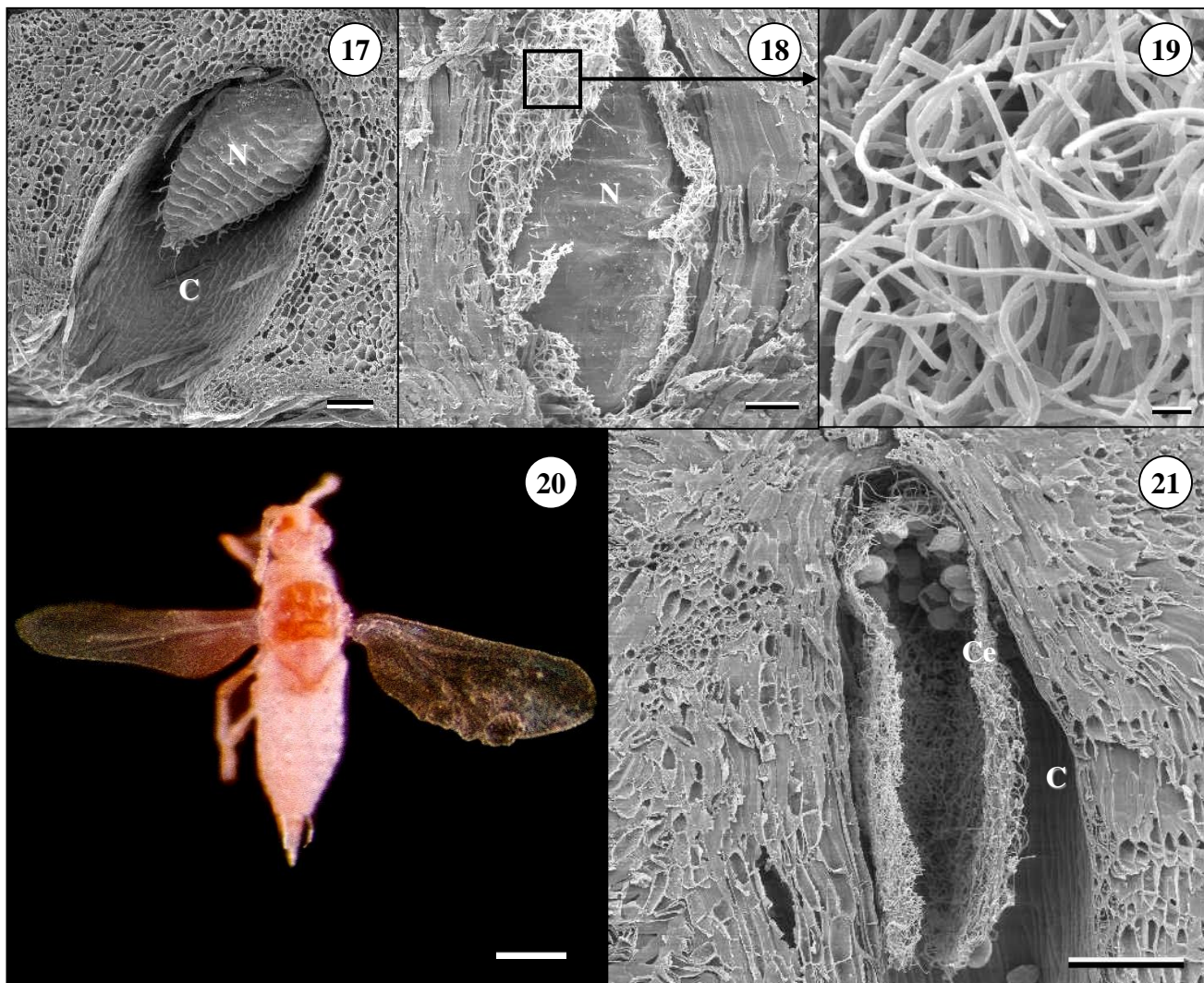
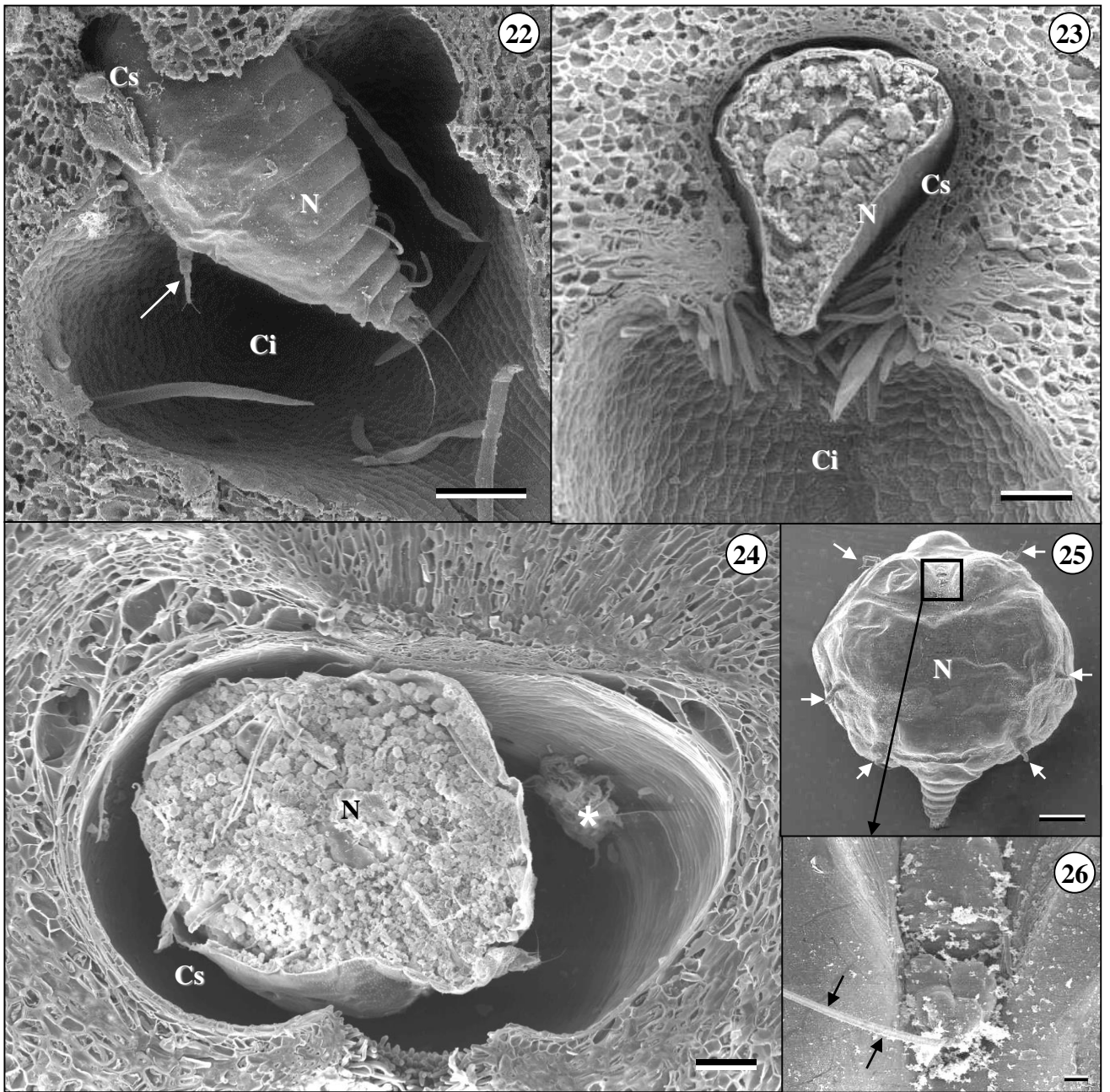


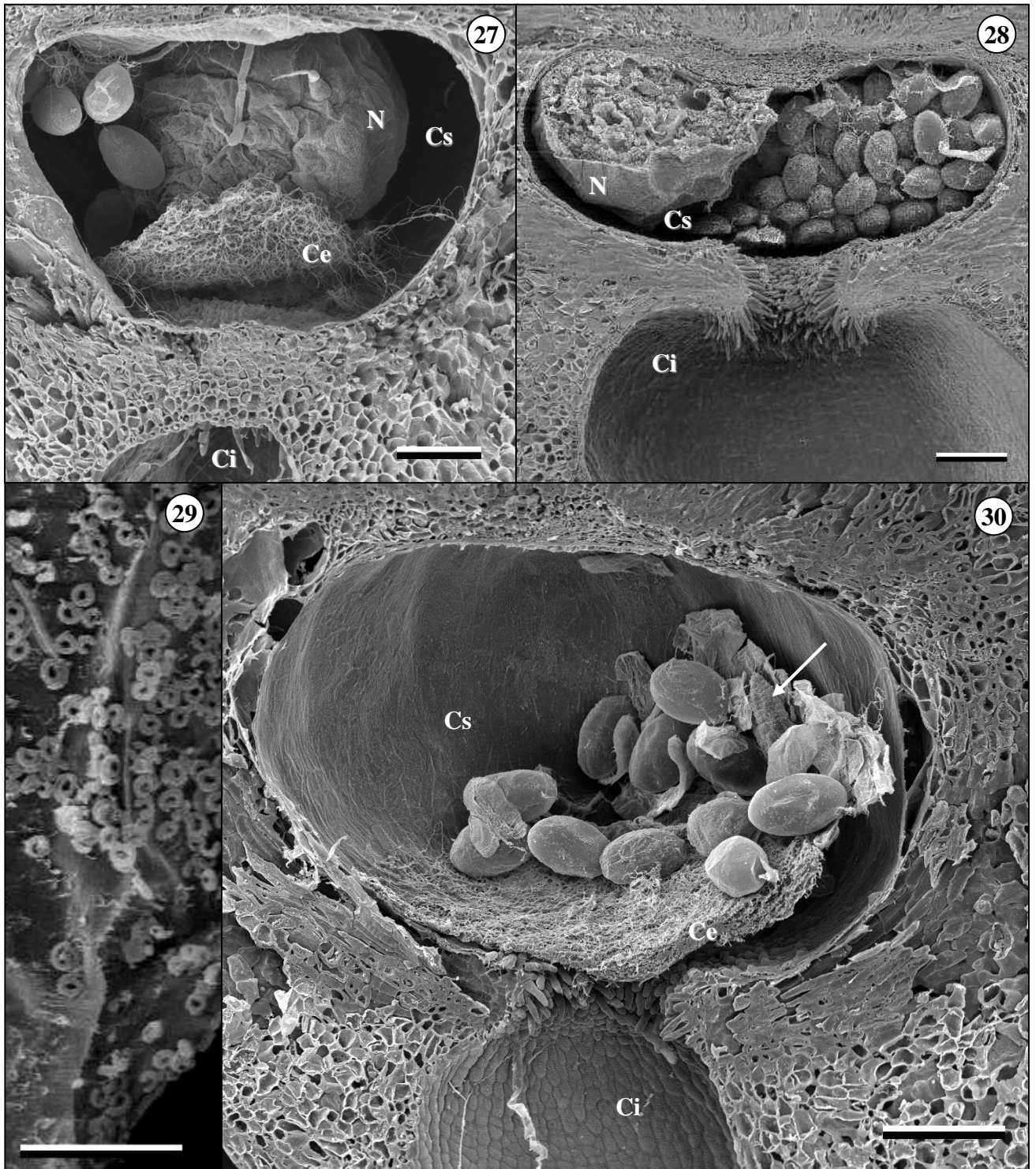
FIGURA 13. Eletromicrografias de varredura evidenciando o crescimento dos tecidos de uma folha de *Rollinia laurifolia*, ainda dobrada ao longo da nervura de primeira ordem, encobrendo parcialmente o corpo de uma ninfa de *Pseudotectococcus rolliniae* cujas porções posteriores do abdome são visíveis externamente. **FIGURA 14.** Vista interna de uma câmara ninfal em microscopia eletrônica de varredura evidenciando o inseto indutor deslocado de sua posição original com o estilete inserido nos tecidos vegetais. **FIGURAS 15 e 16.** Folhas de *R. laurifolia* com galhas induzidas pelos machos e pelas fêmeas de *P. rolliniae*. Ninfa indutora (N), estilete (setas brancas), galha induzida por uma fêmea (GF) e galha induzida por um macho (GM). Barras = 100 μ m (13 e 14), 1 cm (15) e 0,5 cm (16).



FIGURAS 17 – 19. Eletromicrografias de varredura de galhas foliares induzidas pelos machos de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia*. **17** – Indutor dentro da galha em desenvolvimento. **18 e 19** – Cera produzida pela prepupa. **20**. Macho adulto alado fora de sua galha. **21**. Eletromicrografia de varredura de galha vazia induzida por um macho com cera e ovos de ácaros. Câmara ninfal (C), cera (Ce), ninfa (N). Barras = 100 μ m (17, 18 e 20), 10 μ m (19) e 200 μ m (21).



FIGURAS 22 – 24. Eletromicrografias de varredura de galhas foliares induzidas pelas fêmeas de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia* e de indutor fêmea isolado. **22** – Início da formação da câmara superior ocupada apenas pela porção anterior do corpo da fêmea. **23** – Fêmea confinada à câmara superior com abdome voltado para a câmara inferior e rodeado por tricomas tectores. **24** – Fêmea após a ecdise dentro da câmara superior com exúvia evidente em segundo plano, ao lado do corpo do inseto. **25** – Fêmea possivelmente grávida retirada de sua galha. **26** – Detalhe de 25 evidenciando o aparelho bucal da fêmea. Exúvia (*), patas das fêmeas (setas brancas), estilete (setas pretas), câmara inferior (Ci), câmara superior (Cs), inseto indutor (N). Barras = 100 µm (22 e 23), 200 µm (24 e 25) e 10 µm (26).



FIGURAS 27 – 30. Eletromicrografias de varredura evidenciando a oviposição e eclosão de ovos dentro da câmara superior de galhas foliares induzidas pelas fêmeas de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia*. **27** – Cera produzida pela fêmea bloqueando o ostíolo interno e impedindo a queda dos ovos. **28** – Fêmea com inúmeros ovos na câmara superior. **29** – Detalhe da superfície externa de um ovo com cera em formato de anéis. **30** – Ovos e “crawlers” recém-eclodidos na câmara superior protegidos pela cera produzida pela fêmea. Câmara inferior (Ci), câmara superior (Cs), inseto indutor (N), cera (Ce), “crawler” recém-eclodido (seta branca). Barras = 10 µm (29) e 200 µm nas demais.

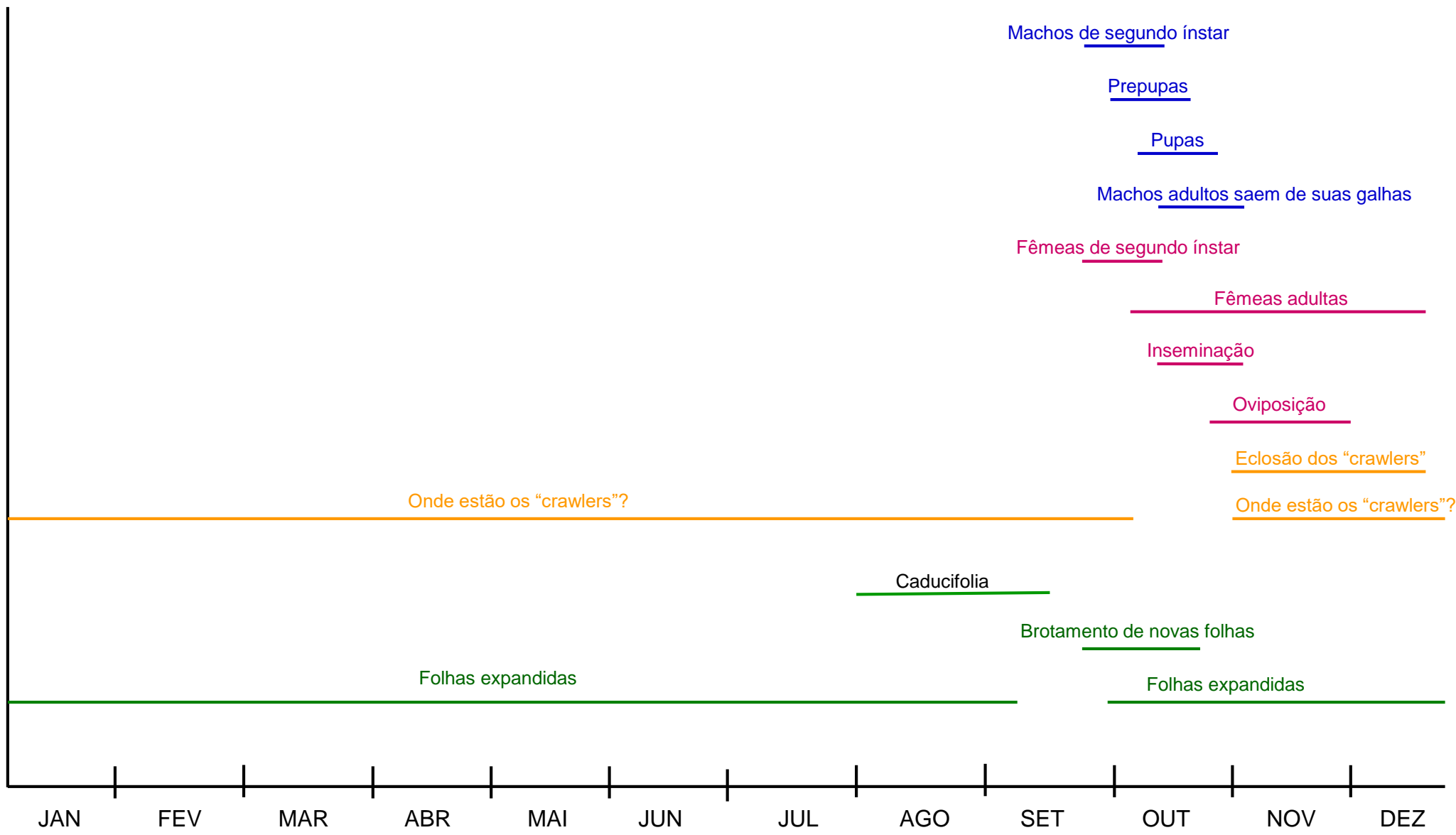


FIGURA 31. Diagrama do ciclo de vida de *Pseudotectococcus rollinae* fenologicamente sincronizado com *Rollinia laurifolia*. Fenômenos diretamente relacionados com os machos (Azul), fêmeas (rosa), "crawlers" e folhas de *R. laurifolia*.

DISCUSSÃO

A caducifolia observada no espécime de *R. laurifolia* analisado neste estudo não foi relatada por Maas & Westra (1992), no estudo do gênero *Rollinia* para a flora neotropical. Além disso, a floração e a frutificação ocorrem simultaneamente ao brotamento após o início da estação chuvosa e não de agosto a maio, e novembro a abril, respectivamente, como citado por estes autores.

A sincronia entre o nascimento dos primeiros ínstaes ninfais e o brotamento de novos sítios de indução de galhas é comum nos sistemas galhador-planta hospedeira. Nestes, os herbívoros galhadores são dependentes de estruturas vegetais ou de estágios específicos de desenvolvimento, com tecidos reativos à indução, e que ocorrem num período limitado do ciclo ou ano (Hodkinson 1984, Weis *et al.* 1988), como observado no sistema *Pseudotectococcus rollinae-Rollinia laurifolia*.

Os herbívoros percebem sinais para sincronizar-se com a fenologia de seus hospedeiros. O sinal mais direto é aquele associado quimicamente ao brotamento das gemas, depois de terem passado por um aumento de temperatura, que claramente afeta a fenologia das plantas. Para muitos insetos herbívoros, esta fenologia determina o período no qual as condições para crescimento e reprodução são ótimas (van Asch & Visser 2007). A sincronia entre a fenologia de insetos herbívoros e aquela das plantas já foi relatada em estudos sobre afídeos (Ozaki 1998, Akimoto 1998) e cecidomiídeos (Arduin *et al.* 1994). Por exemplo, as fêmeas inseminadas de *Trioza jambolanae* (Hemiptera: Triozidae) ovipositam ao longo de suturas laterais nas folhas de *Syzygium cumini* (Myrtaceae) na época de emergência de novas folhas, demonstrando um nível de precisão extraordinário (Raman 1991).

Em *R. laurifolia*, a oviposição ocorre dentro da câmara superior, o que se configura numa estratégia de cuidado parental, similar a estratégias reprodutivas de vários organismos. Alguns trabalhos com insetos indutores de galhas e herbívoros de vida livre consideram que o cuidado parental, ou seja, o número, o tamanho e o cuidado com a prole, a oviposição em épocas diferentes, a possibilidade de prever variações ambientais poderiam provocar adaptações na plasticidade fenotípica ao longo das gerações de herbívoros (Spitzer 2004, Mousseau & Dingle 1991, Mousseau & Fox 1998).

Tecidos jovens, em geral, são mais aptos a reagir à indução de galhas que os tecidos já diferenciados e daí o fato de que, frequentemente, a emergência, acasalamento e oviposição ocorrem nos períodos em que as plantas hospedeiras estão em crescimento e produzindo novos órgãos (Rohfritsch 1992). Os indutores consomem consideráveis quantidades de açúcares e proteínas obtidas da seiva, cujas concentrações mais elevadas são mobilizadas aos tecidos meristemáticos. *Pseudotectococcus rollinae* induz galhas nestes tecidos, no início do brotamento. Assim como outros insetos galhadores filogeneticamente relacionados, como os Psyllidae (Butignol & Pedrosa-Macedo 2003), *P. rollinae* é adaptado a variações temporais de recursos, pois apresenta ciclo de vida univoltino sincronizado com a fenologia da planta hospedeira. Segundo Rehill & Schultz (2002), este fato garantiria sucesso reprodutivo e pequenas taxas de mortalidade para os insetos. Mas, para as plantas, a existência de sincronia com galhadores leva a quedas severas no crescimento e na reprodução sexuada enquanto os insetos se reproduzem efetivamente nas galhas e se multiplicam rapidamente (Price *et al.* 1987).

As áreas significativamente maiores das folhas não galhadas em comparação às de folhas galhadas, descritas por Gonçalves e colaboradores (2005), indica a existência de um escape fenológico por parte de *R. laurifolia*, que pela contínua emissão de novas folhas ou

por um segundo ciclo de produção de folhas, garante folhas saudáveis no momento em que não há mais insetos capazes de induzir galhas.

Portanto, a associação inseto-planta da qual resulta a galha, é favorável ao inseto, pelo aumento da qualidade nutricional dos tecidos modificados pelo efeito do galhador, o abrigo às intempéries, notadamente a dessecação e outros efeitos adversos do ambiente, e a proteção aos inimigos naturais (Price *et al.* 1987). Em contrapartida, a complexidade estrutural das plantas deve influenciar a riqueza de espécies herbívoras de três maneiras: 1) permitindo a criação de microhabitats em uma planta, com temperatura e umidade diferentes (Gonçalves-Alvim & Fernandes 2001); 2) suportando populações maiores de herbívoros e, conseqüentemente, reduzindo a probabilidade de extinção, e 3) provendo mais locais de refúgio e permitindo a persistência de espécies mais susceptíveis à predação (Araújo *et al.* 2006). Nas galhas de *P. rolliniae* em *R. laurifolia*, os primeiros instares encontram abrigo contra dessecação na cera secretada pelas fêmeas. Além disso, o fato da oviposição e eclosão dos ovos ocorrerem dentro da câmara superior provêem abrigo contra intempéries e os predadores naturais.

As plantas resistem à herbivoria por meio de barreiras físicas e químicas. Ananthakrishnan (1990) verificou que características morfológicas e fisiológicas como pilosidade, dureza das folhas, ceras e células silicosas interferem na locomoção, alimentação e oviposição de insetos herbívoros. As galhas podem ser induzidas tanto em folhas jovens quanto em folhas maduras, como observado em *Ficus microcarpa* por Souza *et al.* (2000), ou em folhas totalmente expandidas, como ocorre em galhas de Psyllidae. Nestas, a oviposição ocorre sobre a epiderme foliar, e o primeiro ínstar introduz os estiletos em um estômato iniciando a formação da galha (Balakrishna & Raman 1992, Raman 1991, Madden & Stone 1984). *Pseudotectococcus rolliniae* induz galhas em folhas jovens não expandidas, com baixíssimo ou nenhum grau de lignificação, o que seria uma estratégia

contra pelo menos uma das barreiras físicas das plantas. Por outro lado, são observados tricomas tectores nas folhas jovens não expandidas de *R. laurifolia*, os quais embora comumente associados a defesa contra herbivoria, não impediram a indução de galhas pelas ninfas de *P. rollinae*, que neles se fixam ativamente. Em seguida, ocorre a inserção dos estiletes nos tecidos vegetais, quando estes ainda estão indiferenciados, ou seja, potencialmente responsivos aos estímulos para o desenvolvimento de galhas. Este fato, além de constituir uma grande economia de energia por parte do indutor, uma vez que não há necessidade de um maquinário químico capaz de promover a regressão da diferenciação tecidual, dá indícios da sincronia entre indutor e hospedeiro.

A forma das galhas resultantes da interação inseto-planta é espécie-específica, ou seja, galhas induzidas por indivíduos de uma mesma espécie são muito similares em forma, enquanto galhas induzidas por diferentes espécies em um mesmo órgão de uma mesma planta são diferentes (Mani 1964). Esta observação suporta a hipótese de que os insetos, e não a planta hospedeira, regulam o formato da galha (Cook & Gullan 2008, Cornell 1983) e que a forma das galhas representa o fenótipo estendido dos indutores, pois, embora compostas pelos mesmos tecidos vegetais, seu desenvolvimento é amplamente controlado pelos genes dos insetos indutores (Stone & Schönrogge 2003, Stern 1995).

No sistema *P. rollinae-R. laurifolia*, o conjunto de genes associado a espécie animal gera fenótipos distintos nas galhas, o que pode ser explicado pela escala temporal distinta entre os dois sexos. Enquanto as fêmeas de *P. rollinae* são volumosas, se alimentam por todo o período de desenvolvimento da galha foliar e induzem galhas esféricas, os machos, de corpo alongado, induzem galhas de formato cônico, semelhantes ao formato de seu organismo, especialmente o abdome, e se alimentam por um período de tempo menor. Além disso, é maior o crescimento observado nas galhas induzidas pelas fêmeas em relação àquelas induzidas pelos machos.

A inseminação dos Eriococcidae ocorre dentro da galha da fêmea, uma vez que estas são sésseis, comportamento já descrito para *Apiomorpha* (Gullan *et al.* 2005). Os machos de *P. rolliniae* introduzem seu abdome através do ostíolo externo dentro da câmara inferior das galhas induzidas pelas fêmeas, onde se localiza a porção terminal do abdome destas. Como observado em diversos modelos de insetos galhadores, logo após a inseminação, os machos morrem.

As galhas induzidas pelas fêmeas de *P. rolliniae* apresentam caracteres estruturais especializados, o que favorece uma maior duração de seu ciclo de vida. Os inúmeros tricomas encontrados na abertura do ostíolo interno nestas galhas provavelmente garantem a umidade necessária ao desenvolvimento dos ovos e eclosão das ninfas, sendo esta função semelhante à dos tricomas observados na abertura das galhas de *Phylloxera* induzidas em espécies de *Vitis* (Granett *et al.* 2001). Outro fator que favorece o controle da umidade nas galhas de *P. rolliniae* é a presença de cera produzida pelas fêmeas após a inseminação, a qual sela o ostíolo interno. Além disso, oviposição que ocorre sobre esta cera, também impede que os ovos caiam. A secreção de cera é comum em Coccoidea e demonstra mais uma vez o cuidado parental, pois mantêm os ovos e a prole protegidos de intempéries, tais como calor excessivo, predadores e parasitas (Gullan & Kosztarab 1997).

CONCLUSÕES

O ciclo de vida de *Pseudotectococcus rollinae* e a fenologia de *Rollinia laurifolia* são sincronizados, sendo a indução dependente da disponibilidade de folhas jovens para o início de um novo ciclo de formação de galhas.

O ciclo de vida de *P. rollinae* dura de 44 a 50 dias para fêmeas e de 14 a 20 dias para os machos

O dimorfismo sexual dos insetos é refletido nas galhas a partir do oitavo dia de desenvolvimento, sendo diagnosticado pela forma externa, tamanho e número de câmaras ninfais.

Comparativamente às galhas induzidas pelas fêmeas, as galhas induzidas pelos machos de *P. rollinae* são morfológicamente mais simples e menores. O maior crescimento das galhas induzidas pelas fêmeas denota que quanto maior o tempo de atividade alimentar do inseto nas galhas, maior a amplitude dos estímulos que desencadeiam as modificações dos tecidos constituintes das galhas.

Uma vez que *R. laurifolia* apresenta caducifolia na estação seca e que os “crawlers” de *P. rollinae* saem das galhas induzidas pelas fêmeas antes da queda das folhas, estes devem procurar refúgio até que haja disponibilidade de novos sítios de indução.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahamson, W.G. 2002. The *Solidago Eurosta* Gall Homepage. <http://www.facstaff.bucknell.edu/abrahmsn/solidago/main.html>. Acesso em 04 de maio de 2008.
- Akimoto, S.I. 1998. Heterogeneous selective pressures on egg-hatching time and the maintenance of its genetic variance in a *Tetraneura* gall-forming aphid. *Ecological Entomology*. 23: 229–37
- Ananthakrishnan, T.N. 1990. Facets of chemical ecology in insect–plant interactions: An overview. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences. Animal sciences*. 99: 177–183
- Araújo, A.P.A.; de Paula, J.D.; Carneiro, M.A.A. & Schoereder, J.H. 2006. Effects of host plant architecture on colonization by galling insects. *Austral Ecology* 31: 343-348
- Arduin, M.; Kraus, J.E. & Montenegro, G. 1994. Morfologia e fenologia de galhas foliares em *Piptadenia gonoacantha* (Fabales, Mimosaceae). *Revista Brasileira de Entomologia* 38: 79-89
- Balakrishna, P. & Raman, A.. 1992. Cecidogenesis of the leaf roll galls of *Strychnos nux-vomica* induced by the plant louse species *Diaphorina truncata* (Homoptera: Psylloidea). *Entomologia Generale* 17: 285-292
- Ben-Dov, Y.; Miller, D.R. & Gibson, G.A.P. 2006. *ScaleNet*. <http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm>.
- Bronner, R. 1975. Simultaneous demonstration of lipids and starch in plant tissues. *Stain Technology* 50: 1-4

- Butignol, C.A. & Pedrosa-Macedo, J.H. 2003. Biologia de *Neotrioza tavaresi* Crawford, 1925 (Hemiptera, Psyllidae), galhador da folha do araçazeiro (*Psidium cattleianum*). *Revista Brasileira de Entomologia* 47 (1) 1-7
- Cook, L.G. 2001. Extensive chromosomal variation associated with taxon divergence and host specificity in the gall-inducing scale insect *Apiomorpha munita* (Schrader) (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea: Eriococcidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 72 (2) 265–278
- Cook, L.G. 2003. *Apiomorpha gullanae* sp. n., an unusual new species of gall-inducing scale insect (Hemiptera: Eriococcidae). *Australian Journal of Entomology* 42 (4) 327-333
- Cook, L.G.; Gullan, P.J. & Trueman, H.E. 2002. A preliminary phylogeny of the scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea) based on nuclear small-subunit ribosomal DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 25: 43-52
- Cook, L.G.; Gullan, P.J. & Stewart, A.C. 2000. First-instar morphology and sexual dimorphism in the gall-inducing scale insect *Apiomorpha* Rübsaamen (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae). *Journal of Natural History* 34: 879–894
- Cook, L.G. & Gullan, P.J. 2008. Insect, not plant, determines gall morphology in the *Apiomorpha pharetrata* species-group (Hemiptera: Coccoidea). *Australian Journal of Entomology* 47: 51–57
- Cornell, H.V. 1983. The secondary chemistry and complex morphology of galls formed by the Cynipinae (Hymenoptera): why and how? *American Midland Naturalist* 110: 225–234
- Dregger-Jauffret, F. & Shorthouse, J.D. 1992. Diversity of gall-inducing insects and their galls, p. 8-33. In: Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O. Edits. *Biology of Insect-Induced Galls*. Oxford: Oxford University Press

- Ferreira, S.A.; Fernandes, G.W. & Carvalho, L.G. 1990 Biologia e história natural de *Euphaleurus ostreoides* (homoptera: Psyllidae) cecidógeno de *Lonchocarpus guillemianus* (Leguminosae). *Revista Brasileira de Biologia* 50 (2) 417-423
- Gonçalves, S.J.M.R; Isaias, R.M.S; Vale, F.H.A & Fernandes, G.W. 2005. Sexual dimorphism of *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) influences gall morphology on *Rollinia laurifolia* Schlttdl. (Annonaceae). *Tropical Zoology* 18: 161-169
- Gonçalves-Alvim, S.J. & Fernandes, G.W. 2001. Biodiversity of galling insects: historical, community and habitat effects in four neotropical savannas. *Biodiversity Conservation* 10: 70-98
- Granett, J.; Walker, M.A.; Kocsis, L. & Omer, A.D. 2001. Biology and management of grape Phylloxera. *Annual Review of Entomology* 46: 387-412
- Gullan, P.J. & Kosztarab, M. 1997. Adaptations in scale insects. *Annual Review of Entomology* 42: 23–50
- Gullan, P.J. & Martin, J.H. 2003. Sternorrhyncha (jumping plant-lice, whiteflies, aphids, and scale insects), pp. 1079-1089. In: Resh, V.H. & Cardé, R.T. Edits. *Encyclopedia of Insects*. Amsterdam: Academic Press
- Gullan, P.J.; Miller, D.R. & Cook, L.G. 2005. Gall-inducing scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea). pp. 159-229. In: Raman, A. *et al.*, Edits. *Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Arthropods*. New Delhi: Oxford & IBH Publishing Co. Pvt Ltd.
- Gullan, P.J. 1984a. A revision of the gall-forming coccoid genus *Apiomorpha* Rübsaamen (Homoptera: Eriococcidae: Apiomorphae). *Australian Journal of Zoology: Supplementary Series* 97: 1–203

- Gullan, P.J. 1984b. A revision of the gall-forming coccoid genus *Cylindrococcus* Maskell (Homoptera: Eriococcidae). *Australian Journal of Zoology* 32: 677-690
- Hempel, A. 1935. Three new species of Coccidae (Hemiptera-Homoptera) including three new genera and one new sub-family from Brazil. *Arbeiten über morphologische und taxonomische entomologie aus Berlin-Dahlem* 1: 56-62
- Hempel, A. 1937. Novas espécies de coccídeos (Homoptera) do Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*. 8: 5-36
- Hodgson, C.J.; Gonçalves, S.J.M.R.; Miller, D. & Isaias, R.M.S. 2004. A key to genera of Eriococcidae (Hemiptera: Coccoidea) from the Neotropical region and a revision of *Pseudotectococcus* Hempel (Eriococcidae), a gall inducing scale insect genus from Brazil, with a description of a new species. *Lundiana* 5 (1) 51-72
- Hodkinson, I.D. 1984. The biology and ecology of the gall-forming Psylloidea (Homoptera). pp. 59-77. In: Ananthakrishman, N. Edits. *Biology of Gall Insects*. Oxford & IBH, New Delhi
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Co.
- Linsenmaier, W. 1972. *Insects of the world*. New York: McGraw-Hill Book Co.
- Maas, P.J.M. & Westra, L.Y.Th. 1992. *Rollinia*. *Flora Neotropica* 57: 1-189
- Madden, J.L. & Stone, C. 1984. Induction and formation of pouch and emergence galls in *Eucalyptus pulchella* leaves. *Australian Journal of Botany* 32: 33-42
- Mani, M.S. 1964. *Ecology of Plant Galls*. Hague. Dr. W. Junk Publishers
- Meyer, J. 1987. *Plant Galls and Gall Inducers*. Berlin: Gebrüder Borntraeger
- Mousseau, T.A. & Dingle, H. 1991. Maternal effects in insect life histories. *Annual Review of Entomology* 36: 511-34
- Mousseau, T.A. & Fox, C.W. 1998. The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecological Evolution* 13: 403-7

- O'Brien, T.P. & McCully, M.E. 1981. *The Study of Plant Structure: Principles and Selected Methods*. Melbourne: Termarcarphi Pty Ltd. Australia
- Ozaki, K. 1998. Inter-specific difference in budburst time and its consequences on egg hatch time and survival of the gall-making adelgid *Adelges japonicus* (Monzen) (Homoptera, Adelgidae). *Journal of Applied Entomology* 122: 483–486
- Price, P.W.; Fernandes G.W. & Waring G.L. 1987. Adaptive nature of insect galls. *Environmental Entomology* 16: 15-24
- Raman, A. 1991. Cecidogenesis of leaf galls on *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) induced by *Trioza jambolanae* Crawford (Homoptera: Psylloidea). *Journal of Natural History* 25: 653-663
- Raman, A. 2007. Insect induced plant galls of India: unresolved questions. *Current Science* 92 (6) 748-757
- Rehill, B. & Schultz, J. 2002. Opposing survivorship and fecundity effects of host phenology on the gall-forming aphid *Hormaphis hamamelidis*. *Ecological Entomology* 27 (4) 475–483
- Rohfritsch, O. 1992. Patterns in gall development. pp. 60-86. In: Shorthouse J.D. & Rohfritsch O. Edits. *Biology of Insect-Induced Galls*. Oxford: Oxford University Press
- Soares, G.L.G.; Isaias, R.M.S.; Gonçalves, S.J.M.R. & Christiano, J.C.S. 2000. Alterações químicas induzidas por coccídeos galhadores (Coccoidea, Brachyscelidae) em folhas de *Rollinia laurifolia* Schtdl. (Annonaceae). *Revista Brasileira de Zoociências* 2: 103-116
- Souza, S.C.P.M.; Kraus, J.E.; Isaias, R.M.S. & Neves, L.J. 2000. Anatomical and ultrastructural aspects of leaf galls in *Ficus microcarpa* L.F. (Moraceae) induced by

Gynaikothrips ficorum Marchal (Thysanoptera). *Acta Botanica Brasilica* 14 (1) 57-69

Spitzer, B.W. 2004. Maternal effects in the soft scale insect *Saissetia coffeae* (Hemiptera: Coccidae). *Evolution* 58 (11) 2452-2461

Stern, D.L. 1995. Phylogenetic evidence that aphids, rather than plants, determine gall morphology. *Proceedings of Royal Society of London* 260: 85–89

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

van Asch, M. & Visser, M.E. 2007. Phenology of Forest Caterpillars and Their Host Trees: The Importance of Synchrony. *Annual Review of Entomology* 52: 37-55

Vitorino, M.D.; Pedrosa-Macedo, J.H. & Smith, C.W. 2000. The biology of *Tectococcus ovatus* Hempel (Heteroptera: Eriococcidae) and its potential as a biocontrol agent of *Psidium cattleianum* (Myrtaceae). pp. 651-657. In: Spencer, N.R. Edit. *Proceedings of the International Symposium on Biological Control of Weeds*. Bozeman: Montana State University

Weis, A.E.; Walton, R. & Crego, C.L. 1988. Reactive plant tissue sites and the population biology of gall makers. *Annual review of entomology*. 33: 467-486

CAPÍTULO 2

Ontogênese das folhas de

Rollinia laurifolia Schlttdl. (Annonaceae)

Resumo - As folhas de *Rollinia laurifolia* são formadas anualmente e apresentam abscisão no início da estação seca. Assim como o padrão geral estabelecido na natureza, em folhas desta espécie, as peculiaridades morfológicas das células foliares refletem suas relações com a fotossíntese e a respiração. Folhas jovens de *R. laurifolia* são pilosas e apresentam-se dobradas ao longo da nervura de primeira ordem. Nestas, há cinco camadas celulares nitidamente distintas em secção transversal, denominadas P1 e P2, para a protoderme nas superfícies adaxial e abaxial, respectivamente, e M1, M2 e M3 para as camadas do meristema fundamental. Os cordões procambiais se formam em M2. Após a formação dos espaços intercelulares, a folha apresenta-se aberta e a diferenciação dos três sistemas de tecidos está completa. Cavidades secretoras comuns em Annonaceae são formadas pela lise de células hipertrofiadas de M2. Nas folhas expandidas, a epiderme é unisseriada em ambas as faces, o parênquima paliádico, originado de M1 e M2, é bisseriado e o lacunoso, originado de M2 e M3, possui de cinco a sete camadas celulares. Os feixes vasculares são colaterais com bainha esclerificada. O desenvolvimento foliar de *R. laurifolia* é similar ao de outras espécies de *Rollinia* e outros gêneros de Annonaceae. Não foram detectados parâmetros anatômicos relacionados com resistência ao estabelecimento de herbívoros galhadores. Contudo, a presença de tricomas com antocianinas nas folhas jovens indica uma possível sinalização para que *P. rollinae* localize novos sítios de indução de galhas nas folhas jovens de *R. laurifolia*

Palavras-chave: *Rollinia*, Annonaceae, folhas, anatomia, ontogênese.

Abstract - *Rollinia laurifolia* leaves are annual and present abscission at the beginning of the dry season. Morphological peculiarities of its leaf cells reflect photosynthetic and respiratory adaptations, according to established patterns in nature. Young *R. laurifolia* leaves present numerous trichomes, they are folded along the major vein, and have five distinct cell layers in transverse section, named P1 and P2 for adaxial and abaxial protodermis, respectively, and M1, M2 and M3 for ground meristem layers. Procambial strands differentiate at M2. After intercellular spaces development, leaves are completely expanded and the three tissue systems differentiation is complete. Secretory cavities, common in Annonaceae, are formed by disintegration of hypertrophied cells from M2. On expanded leaves, epidermis is one layered in both sides of leaf lamina. Palisade parenchyma, developed from M1 and M2 cell layers, is two layered, and spongy parenchyma, developed from M2 and M3 cell layers, has 5 to 7 cell layers. Vascular bundles are collateral with lignified sheath. *R. laurifolia* leaf development is similar to another *Rollinia* species and Annonaceae genera. No anatomical features could be related to resistance against gall-inducing insects establishment. However, the anthocyanins in trichome cells could constitute a visual signal to *P. rollinae* nymphs locate new gall induction sites at young *R. laurifolia* leaves.

Key words: *Rollinia*, Annonaceae, leaves, anatomy, ontogeny.

INTRODUÇÃO

As folhas são estruturas vegetais morfológicamente diversificadas (Gifford & Foster 1989), que se originam de um grupo indiferenciado de células do meristema apical caulinar. Estes órgãos são intrigantes sob o ponto de vista do desenvolvimento e surgem continuamente (Sylvester *et al.* 1996) em espécies perenes. Em *Rollinia laurifolia*, as folhas são formadas anualmente e podem apresentar abscisão no início da estação seca, fato não relatado em Maas & Westra (1992). Deste modo, seu desenvolvimento é sazonal e a formação dos tecidos foliares pode influenciar positiva ou negativamente o ciclo de vida de *Pseudotectococcus rolliniae*, eriococcídeo que induz galhas foliares em *R. laurifolia*.

As células vegetais são plásticas em seus padrões de desenvolvimento (Fosket 1994), sugerindo que a diferenciação celular não é uma condição terminal e a facilidade de inversão da forma e função deve refletir a facilidade de sua aquisição. Por outro lado, existe nos vegetais a parede celular, que impõe certa restrição estrutural na atividade e na forma celulares. Uma vez que as células vegetais permanecem relativamente imóveis, a orientação da divisão celular é considerada importante por estabelecer a localização das células-filhas no órgão em desenvolvimento. Além disso, a aquisição da identidade celular não é um processo individual ou um evento pontual. Por isso, o impacto da divisão de cada célula isoladamente deve variar dependendo do estágio de desenvolvimento do órgão estudado (Sylvester *et al.* 1996).

Na morfogênese foliar, o controle da proliferação celular parece estar relacionado com o controle do tamanho das células (Tsukaya 2003). Esta característica segue o padrão de diferenciação do sistema de revestimento dos diferentes órgãos vegetais onde o maior eixo das células é função direta do sentido para o qual o órgão está crescendo. A forma das células está, portanto, altamente relacionada com propriedades da parede celular e com a

pressão de turgor dos vacúolos (Martin *et al.* 2001) e existem fortes evidências de que, no contexto de um genoma específico, o tamanho e a forma de uma célula estejam ligados ao seu conteúdo de DNA (Kondorosi *et al.* 2000). Além disso, as peculiaridades morfológicas das células foliares refletem suas funções relacionadas à fotossíntese e respiração, obedecendo a padrões bem estabelecidos. Padrões estes essenciais para o funcionamento e manutenção de uma estrutura (Croxdale 2000).

Tendo em vista o papel de *Rollinia laurifolia* como espécie hospedeira de herbívoros galhadores, este estudo tem por objetivo traçar o padrão de desenvolvimento foliar relacionado a possíveis defesas e/ou sinalização para herbívoros galhadores.

MATERIAL E MÉTODOS

A ontogênese foliar de *Rollinia laurifolia* Schldl. (Annonaceae) foi acompanhada em um espécime adulto localizado na Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte, Minas Gerais, com alto índice de infestação por galhas de *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves (Gonçalves *et al.* 2005). O voucher encontra-se depositado no Herbário do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG (BHCB).

O espécime, que apresenta caducifolia na estação seca, foi observado semanalmente a partir de julho de 2002. Após o primeiro dia de chuva, que ocorreu na primeira semana de setembro de 2002 (*cf.* Gonçalves 2008, capítulo 1), foi realizada a observação dos ramos sem folhas de *R. laurifolia*, a cada 48 horas, a fim de se verificar quando ocorreria a emissão de novos brotos. No dia 22 de setembro de 2002, foi detectado o primeiro indício de brotamento e os ramos (n = 60) foram marcados no entrenó proximal com placas metálicas maleáveis numeradas. Para efeito de acompanhamento do desenvolvimento dos tecidos vegetais, foram consideradas apenas as folhas do primeiro nó que emergiram em cada gema marcada. Desta forma, os tempos descritos neste trabalho são relativos à idade da amostra a partir do momento em que os ramos foram marcados até a data de cada coleta, que aconteceram de setembro a dezembro de 2002. O dia 22 de setembro foi considerado como dia 0 (zero), o dia 24 de setembro foi considerado o segundo dia de desenvolvimento e assim sucessivamente.

A cada período de 48 horas, um ramo marcado foi escolhido aleatoriamente e uma folha do primeiro nó (mais antigo) coletada e fixada em FAA (formaldeído 37%, ácido acético e etanol 50%, 1:1:18 v/v) (Johansen 1940) no momento imediato da coleta. Foram desconsideradas as brácteas que protegem as gemas, pois estas senescem precocemente.

Em laboratório, todas as amostras fixadas em FAA foram submetidas a baixo vácuo a fim de que espaços intercelulares fossem completamente preenchidos. Em seguida, todas as amostras foram desidratadas em série butílica e incluídas em Paraplast® ou Histosec® (Johansen 1940, modificado). Todas as etapas desde a fixação até a inclusão final foram feitas em intervalos de sete dias.

Secções transversais seriadas (12 µm) foram feitas em micrótomo rotativo (Reichert-Jung®). Os cortes foram afixados às lâminas com adesivo de Bissing, desparafinizados em acetato de butila, hidratados em série etílica, corados com a mistura de safranina e azul de astra (Bukatsch 1972, modificado para 0,5%), desidratados em série etílica e montados em Entellan®.

A documentação do material foi feita por fotomicrografias em fotomicroscópio Olympus (BH2-BHS).

RESULTADOS

As folhas de *Rollinia laurifolia* com dois dias de desenvolvimento possuem tecidos com características meristemáticas e apresentam prefoliação conduplicada (Figura 1), ou seja, apenas a protoderme da face abaxial é visível externamente. Nestas folhas, são nítidas 5 regiões de células meristemáticas alongadas anticlinalmente em secção transversal. Estas regiões foram assim nomeadas: protoderme da face adaxial (P1), meristema fundamental adaxial (M1), meristema fundamental central ou intermediário entremeado por feixes procambiais (M2), meristema fundamental abaxial (M3) e protoderme da face abaxial (P2). Estas células meristemáticas são caracterizadas por núcleos centrais grandes em relação ao volume total celular e pequenos vacúolos. Não há espaços intercelulares evidentes. A protoderme apresenta células relativamente pequenas com tricomas pluricelulares já diferenciados contendo antocianinas, especialmente mais numerosos na face abaxial (P2). A região M1 apresenta células alongadas anticlinalmente, com núcleo central e vacúolo bastante desenvolvido. A região M2 possui células com maiores dimensões do que as da protoderme e entremeadas por grupos de cerca de 16 células menores, que constituem os cordões procambiais. Em alguns destes, o primeiro elemento de protoxilema já está diferenciado. A região M3 apresenta células cúbicas vacuoladas (Figuras 2 e 3).

Com quatro dias de desenvolvimento, as camadas P1 e P2 apresentam-se similares àquelas de folhas com dois dias de idade. Ocorre alongamento anticlinal das células de M1, mas nenhuma divisão celular foi observada. Grupos de células de M2 compreendem nitidamente os cordões procambiais formados por divisões tanto periclinais quanto anticlinais, entremeados por grupos de células precursoras do parênquima lacunoso. Em meio às camadas de células da região M2, ocorrem células hipertrofiadas, que se estendem

de M1 até M3, ou seja, por toda a espessura de M2 e que passam aparentemente por um processo de lise, formando uma cavidade (Figura 4).

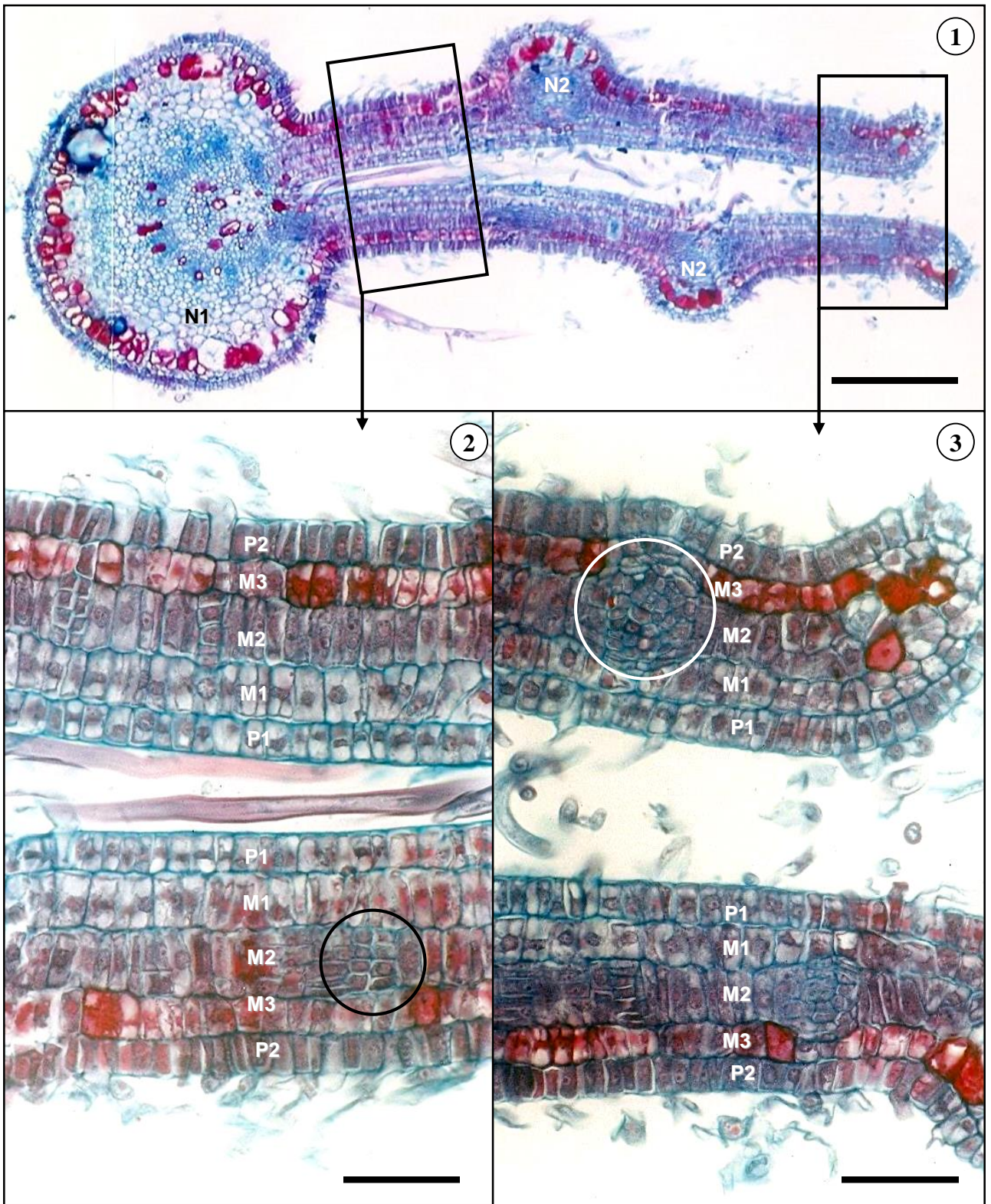
Com seis dias de desenvolvimento, a protoderme apresenta alongamento periclinal e parede periclinal externa sinuosa. Várias células de M1 e M2, aleatoriamente, apresentam coloração diferenciada, indicando alterações metabólicas (Figura 5). Ocorre alongamento periclinal discreto nestas duas camadas de células.

Com oito dias, começam a ser nítidos os espaços intercelulares, especialmente na região M2.

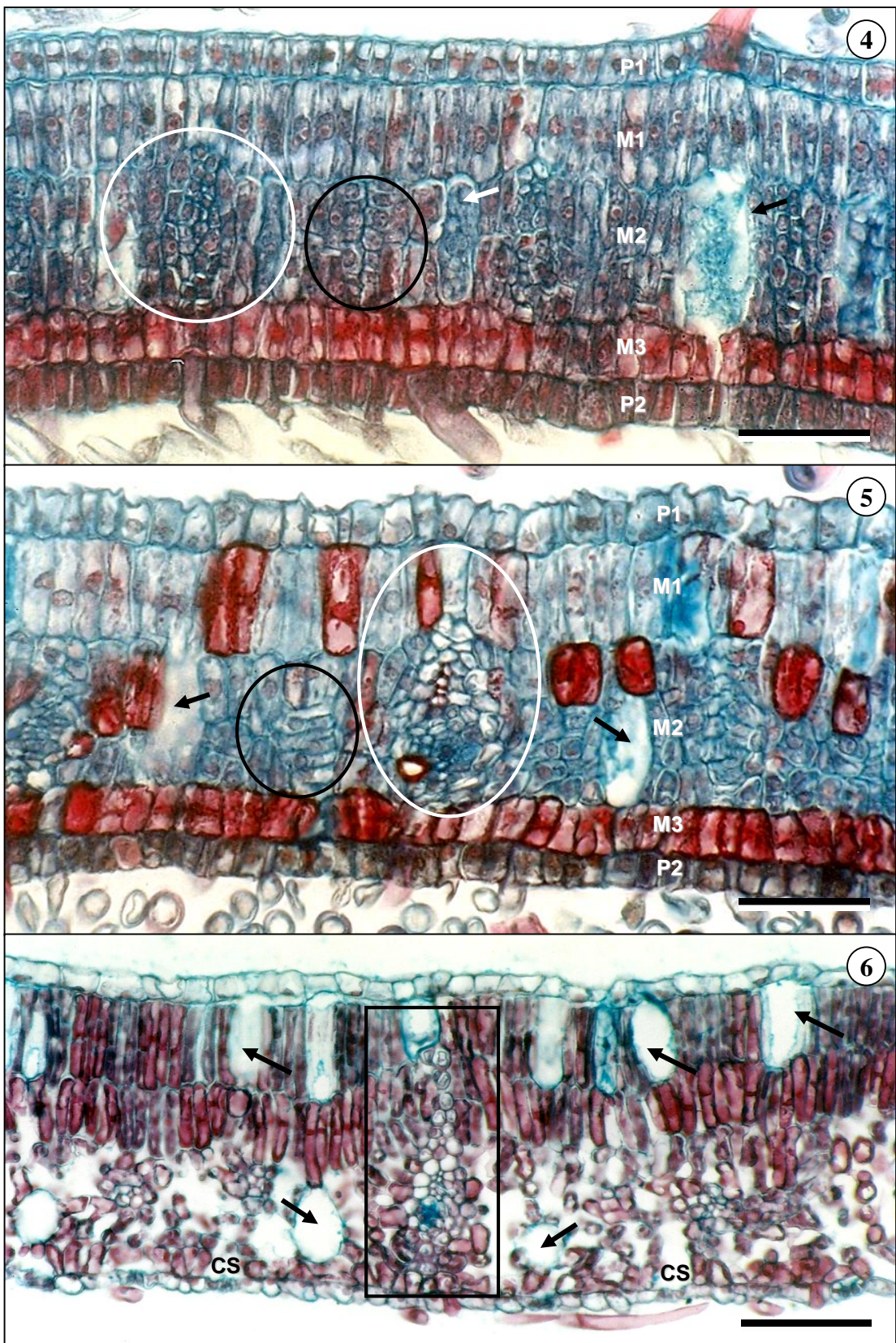
Com 10 dias de desenvolvimento, a lâmina foliar não está mais dobrada ao longo da nervura de primeira ordem. Percebem-se divisões anticlinais e hipertrofia das células de P1 sobre a nervura de primeira ordem, e os tecidos se apresentam maduros. Assim sendo, são distintas a epiderme da face adaxial da epiderme da face abaxial, originadas, respectivamente de P1 e de P2, o parênquima paliçádico bisseriado originado da camada única de células da região M1 e da camada adaxial de células de M2, o parênquima lacunoso e os feixes vasculares, ambos originados de M2. As células lisadas em M2 constituem as cavidades secretoras do parênquima lacunoso. A região M3 origina uma fina camada de células de parênquima lacunoso abaxial onde se formam as câmaras subestomáticas (Figura 6)

A lâmina foliar madura de *R. laurifolia* apresenta-se dorsiventral, hipostomática revestida por epiderme pilosa unisseriada com cutícula delgada, sendo mais densamente pilosa na face abaxial. Os tricomas são pluricelulares e unisseriados. O parênquima paliçádico apresenta duas camadas celulares, sendo que as células da camada adjacente à epiderme apresentam-se mais alongadas. O parênquima lacunoso possui de 4 a 5 camadas de células com braços relativamente curtos, delimitando pequenos espaços intercelulares os feixes vasculares são colaterais e apenas os maiores apresentam extensão de bainha

lignificada. Diversas cavidades secretoras podem ser observadas ao longo de todo o mesofilo.



FIGURAS 1 – 3. Secções transversais de folhas de *Rollinia laurifolia* Schtdl. **1** - Folha jovem dobrada ao longo da nervura de primeira ordem. **2** - Detalhe da região mediana das duas porções dobradas da folha com 5 regiões meristemáticas. **3** – Detalhe da região próxima aos bordos da folha dobrada com feixes procambiais bastante evidentes. Nervura de primeira ordem (N1), nervuras de segunda ordem (N2), protoderme da face adaxial (P1), protoderme da face abaxial (P2), meristema fundamental adaxial (M1), meristema fundamental central ou intermediário (M2), meristema fundamental abaxial (M3), feixes procambiais (círculo branco), grupos de células formadoras de parênquima lacunoso (círculo preto). Barras = 100 μ m (1) e 25 μ m (2 e 3)



FIGURAS 4 – 6. Secções transversais de folhas de *Rollinia laurifolia*. **4** – Folha jovem (4 dias) dobrada ao longo da nervura de primeira ordem. **5** – Folha jovem (6 dias) dobrada ao longo da nervura de primeira ordem. **6** – Folha jovem (10 dias) aberta e completamente formada. Protoderme da face adaxial (P1), protoderme da face abaxial (P2), meristema fundamental adaxial (M1), meristema fundamental central ou intermediário (M2), meristema fundamental abaxial (M3), feixes procambiais (círculos brancos), feixe vascular (retângulo), grupos de células formadoras de parênquima lacunoso (círculos pretos), células de grande volume (seta branca), cavidades formadas pelas células hipertrofiadas (setas pretas) e câmara subestomática (CS). Barras 25 μm (4 e 5) e 50 μm (6)

DISCUSSÃO

A ontogênese foliar pode ser separada em três estágios, segundo Sylvester e colaboradores (1996): organogênese, no qual ocorre a emergência dos primórdios foliares; morfogênese primária, no qual se verifica o crescimento inicial do primórdio foliar e o estabelecimento das regiões de desenvolvimento da folha; e diferenciação, no qual as células e tecidos adquirem sua identidade e funções específicas. Neste estudo, as folhas de *Rollinia laurifolia*, foram avaliadas a partir da morfogênese primária.

As folhas de *R. laurifolia* são simples, apresentando epiderme unisseriada originada de P1 e P2, com divisões anticlinais e alongamento periclinal. A epiderme é densamente pilosa quando as folhas são jovens, refletindo a precoce diferenciação dos tricomas, padrão recorrente na natureza (Fahn 1990, Glover 2000). Tricomas são definidos como quaisquer protrusões da epiderme, podendo ser uni- ou pluricelulares (Esau 1974). Das diversas funções desses apêndices epidérmicos, podemos citar a proteção dos tecidos vegetais contra a radiação ultravioleta e contra o ataque de herbívoros (Levin 1973, Johnson 1975, Woodman & Fernandes 1991, Schoonhoven *et al.* 1998, Southwood 1986; Mauseth 1988; Fahn 1990), a realização de trocas gasosas, manutenção da temperatura e umidade, e a absorção ou reflexão da luz (Fahn 1990; Woodman & Fernandes 1991, Gutschick 1999, Karabourniotis *et al.* 1995; 1999).

Além dos caracteres estruturais dos tricomas, pigmentos localizados nestes ou nas demais células epidérmicas também interferem nas relações do órgão com o meio biótico e abiótico. As antocianinas são derivados flavonoídicos que podem ser encontradas tanto em folhas jovens quanto senescentes, sendo localizadas nos vacúolos e freqüentemente nas células das camadas subepidérmicas (Tevini *et al.* 1991 apud Wilkinson *et al.* 2002). Sua

biossíntese depende da luz (Mol *et al.* 1996), o que explica a sua presença nos tricomas das folhas jovens ainda dobradas de *R. laurifolia* e não no mesofilo. As antocianinas são amplamente conhecidas como filtros contra radiação UV, podendo ainda atuar em estratégias de sinalização para diferentes herbívoros.

Em *R. laurifolia*, a pilosidade abundante associada à presença de antocianinas e o fato de as folhas estarem ainda dobradas ao longo da nervura de primeira ordem podem ser consideradas como estratégias adaptativas contra a dessecação (Esau 1974, Mauseth 1988, Fahn 1990, 1986, Fahn & Cutter 1992, Larcher 2000) ou de proteção contra herbivoria que contudo podem ser superadas pelos galhadores, como *P. rollinae*. Logo abaixo da densa cobertura formada pelos tricomas, o limite entre os tecidos do mesofilo e o ambiente externo é definido pelas células epidérmicas comuns.

A forma e a distribuição finais das células epidérmicas vegetais são supostamente definidas por um complexo grupo de sinais conflitantes diretamente relacionados com a fase de crescimento do tecido e a competência das células para divisões e diferenciação. Desta forma, as interações entre os complexos estomáticos e os tricomas são, geralmente, competitivas, ou seja, a ativação do programa de diferenciação de uma célula protodérmica em tricoma inibe a ativação deste mesmo programa nas células imediatamente adjacentes, o mesmo ocorrendo com os estômatos (Glover 2000). Tanto tricomas como estômatos têm papel relevante nas interações dos vegetais com a biota ao seu redor (Gutschick 1999). O fato de os tricomas estarem já diferenciados na etapa de morfogênese primária indica que, pelo menos até esta fase, há inibição da diferenciação das células comuns e dos estômatos.

Os estômatos são estruturas epidérmicas especializadas que controlam as trocas gasosas entre os órgãos vegetais e a atmosfera pela modulação da abertura do poro estomático (von Groll & Altmann 2001). Em *R. laurifolia*, os estômatos foram observados a partir da fase de diferenciação na epiderme da face abaxial, indicando uma estratégia de

economia hídrica. *Rollinia laurifolia* é uma planta típica do cerrado brasileiro (Maas & Westra 1992) e esta característica garantiria uma menor perda de água por transpiração. Redução esta que pode ser maximizada pelos tricomas, pelo menos nas folhas jovens.

Ao longo da ontogênese foliar, há nítida redução da pilosidade foliar em *R. laurifolia*. Tal observação é padrão para diversas espécies de dicotiledôneas (Fahn 1990, 1986) e pode ser decorrente de queda dos tricomas ou do espaçamento entre eles, devido à expansão da lâmina foliar.

Os feixes vasculares, diferenciados a partir do procâmbio, mantêm a estrutura primária nos feixes de menor calibre segundo o padrão para a maioria das eudicotiledôneas (Scarpella & Meijer 2004) e apresentam uma bainha esclerificada. As extensões lignificadas das bainhas dos feixes vasculares podem participar dos processos de condução, ampliando assim o contato entre as células do mesofilo e do sistema vascular (Morretes 1969, Esau 1974).

As estruturas secretoras observadas em todo o mesofilo são descritas por Solereder (1908) como células secretoras que apresentam conteúdo resinífero. Em *R. laurifolia*, o termo cavidade secretora foi escolhido devido a perda do conteúdo citoplasmático ao longo da ontogênese foliar, restando uma cavidade limitada por células parenquimáticas.

As folhas de *R. laurifolia* podem ser consideradas mesomórficas e apresentam poucos caracteres passíveis de serem relacionados com resistência ao ataque de herbívoros.

A ontogênese do mesofilo em *R. laurifolia* ocorre de modo semelhante ao descrito em *Nicotiana tabacum* (Foster 1936) e em *Lantana camara* (Moura 2007), na qual o parênquima paliçádico se origina da camada adaxial do meristema fundamental (M1), o procâmbio e as porções medianas do parênquima lacunoso se originam da camada mediana do meristema fundamental (M2) e a porção abaxial do parênquima lacunoso se origina da

camada abaxial do meristema fundamental (M3). Em adição aos parâmetros ontogenéticos, há uma grande similaridade anatômica entre as folhas de *R. laurifolia* e de outras espécies de *Rollinia* e entre este e outros gêneros de Annonaceae (Koek-Noorman 1992, Solereder 1908, Aldarello *et al.* 2001). As plantas desta família não são relatadas como freqüentes portadoras de galhas.

A presença de tricomas nas folhas jovens, assim como o conteúdo de antocianinas indica uma possível sinalização para que *P. rollinae* localize o sítio de indução das galhas. Pelos demais caracteres anatômicos, parece não haver um parâmetro que determine resistência ao estabelecimento dos herbívoros galhadores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldarello, N.; Figueiredo, S.F.L.; Viana, V. R. C. & Neves, L. J. 2001. Anatomia foliar de *Rollinia mucosa* Jacq. Baill. (Annonaceae) sob condições de cultivo in vivo e in vitro. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 4 (1) 35-46
- Bukatsch, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. *Mikrokosmos* 61: 255
- Croxdale, J.L. 2000. Stomatal patterning in angiosperms. *American Journal of Botany* 87 (8) 1069-1080
- Esau, K. 1974. *Anatomia das Plantas com Sementes*. Edgard Blücher Ltda.
- Fahn, A. 1986. Structural and functional properties of trichomes of xeromorphic leaves. *Annals of Botany* 57: 631- 637
- Fahn, A. 1990. *Plant Anatomy*. 4^a ed. Pergamon Press, Oxford
- Fahn, A. & Cutter, D. 1992. *Xerophytes*. Gebrüder. Borntraeger, Berlin. 48-70
- Fosket, D.E. 1994. *Plant Growth and Development: A Molecular Approach*. Academic Press, San Diego
- Foster, A.S. 1936. Leaf differentiation in angiosperms. *Botanical Review* 2: 349–372
- Gifford, E. & Foster, A. 1989. *Morphology and Evolution of Vascular Plants*. W.H. Freeman & Co. New York
- Glover, B.J. 2000. Differentiation in plant epidermal cells. *Journal of Experimental Botany* 51: 497-505
- Gonçalves, S.J.M.R.; Isaias, R.M.S.; Vale, F.H.A. & Fernandes, G.W. 2005. Sexual dimorphism of *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) influences gall morphology on *Rollinia laurifolia* Schltld. (Annonaceae). *Tropical Zoology* 18: 161-169

- Gutschick, V.P. 1999. Research reviews: biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. *New Phytology* 143: 3-18
- Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Co.
- Johnson, H.B. 1975. Plant pubescence: an ecological perspective. *Botanical Review* 41: 233-251
- Karabourniotis, G.; Bornman, J.F. & Liacoura, V. 1999. Different leaf surface characteristics of three grape cultivars affect leaf optical properties as measured with fibre optics: possible implications in stress tolerance. *Australian Journal of Plant Physiology* 26: 47-53
- Karabourniotis, G.; Kotsabassidis, D. & Manetas, Y. 1995. Trichome density and its protective potential against ultraviolet-B radiation damage during leaf development. *Canadian Journal of Botany* 73: 376-383
- Koek-Noorman, J. 1992. *Rollinia*: leaf anatomy. 15-21. In: Maas, P.J.M. & Westra, L.Y.Th. 1992. *Rollinia*. *Flora Neotropica* 57: 1-189
- Kondorosi, E.; Roudier, F. & Gendreau, E. 2000. Plant cell-size control: growing by ploidy? *Current Opinion in Plant Biology* 3: 488-492
- Larcher, W. 2000. *Ecofisiologia Vegetal*. Rima. São Carlos, São Paulo
- Levin, D.A. 1973. The role of trichomes in plant defense. *Quarterly Review Biology* 48: 3-15
- Maas, P.J.M. & Westra, L.Y.Th. 1992. *Rollinia*. *Flora Neotropica* 57: 1-189
- Martin, C.; Bhatt, K. & Baumann, K. 2001. Shaping in plant cells. *Current Opinion in Plant Biology*. 4: 540-549
- Mauseth, J.D. 1988. *Plant Anatomy*. The Benjamin Cummings company, Menlo Park

- Mol, J.; Jenkin, G.I.; Schäfer, E. & Weiss, D. 1996. Signal perception, transduction, and gene expression involved in anthocyanin biosynthesis. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 15: 525–557
- Morretes, B.L. 1969. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do Cerrado III. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP. 24 (331) 7-32
- Moura, M.Z.D. 2007. Padrões anatômicos relacionados à cecidogênese em *Lantana camara* (Verbenaceae). *Tese de Doutorado*. Universidade Federal de Minas Gerais.
- Scarpella, E. & Meijer, A.H. 2004. Pattern formation in the vascular system of monocot and dicot plant species. *New Phytologist* 164: 209–242
- Schoonhoven, L.M.; Jeremy, T. & Vam Loon, J.J. 1998. *Insect Physiology to Evolution*. Chapman & Hall, London
- Solereder, H. 1908. *Systematic anatomy of the Dicotyledons*. Vol. 1. The Clarendon Press, Oxford
- Southwood, R. 1986. Plant surfaces and insects – an overview. 1-22. In: Juniper, B. & Southwood, R. *Insects and Plant surfaces*. Edward Arnold, Baltimore
- Sylvester, A.W.; Smith, L. & Freeling, M. 1996. Acquisition of identity in the developing leaf. *Annual Review of Cell Development Biology* 12: 257-304
- Tevini, M.; Braun, J. & Fieser, G. 1991. The protective function of the epidermal layer of rye seedlings against ultraviolet-B radiation. *Photochemistry and Photobiology* 53 (3) 329–333
- Tsukaya, H. 2003. Organ shape and size: a lesson from studies of leaf morphogenesis. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 57-62
- von Groll, U. & Altmann, T. 2001. Stomatal cell biology. *Current Opinion in Plant Biology* 4: 555-560

Woodman, R.L. & Fernandes, G.W. 1991. Differential mechanical defense: herbivory, evapotranspiration, and leaf-hairs. *Oikos* 60: 11-19

CAPÍTULO 3

Ontogênese das galhas foliares induzidas pelos machos e
fêmeas de *Pseudotectococcus rolliniae* Hodgson & Gonçalves

(Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) em

Rollinia laurifolia Schlttdl. (Annonaceae)

Resumo – *Pseudotectococcus rollinae* (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) induz galhas foliares cujo dimorfismo sexual, fato comum entre coccídeos, é refletido nestas e pode ser explicado pelas peculiaridades do ciclo de vida dos machos e fêmeas. Até a fase de crescimento e desenvolvimento, as galhas são indistintas, sendo a distinção morfológica percebida na fase de maturação, quando hipertrofia e hiperplasia celulares nas camadas do meristema fundamental são maiores nas galhas induzidas pelas fêmeas. Nestas, a forma, o maior desenvolvimento de floema e o maior investimento em parênquima e tecidos mecânicos estão relacionados com a permanência e alimentação mais prolongadas das fêmeas, as quais são sésseis, nas galhas. As galhas induzidas pelos machos têm maturação precoce. Os machos adultos são alados e abandonam suas galhas, quando aquelas induzidas por fêmeas já desenvolveram duas câmaras ninfais. As fêmeas não-fecundadas posicionam a parte posterior de seu abdome voltada para a câmara inferior, numa posição favorável à inseminação, observação reforçada pela presença de machos nesta câmara em galhas com fêmeas inseminadas. A partir deste estágio, cessam as divisões e hipertrofias celulares nas galhas induzidas pelas fêmeas. A oviposição e eclosão dos ovos ocorre dentro da câmara superior a qual é fechada por cera produzida pela fêmea de *P. rollinae*. Ao final do ciclo, todas as ninfas de primeiro ínstar saem das galhas onde foram geradas e devem procurar abrigo até o próximo ciclo de brotamento de folhas por *Rollinia laurifolia*.

Palavras-chave: Galhas, ontogênese, *Rollinia*, *Pseudotectococcus*, dimorfismo sexual.

Abstract - *Pseudotectococcus rollinae* (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) induces leaf galls whose sexual dimorphism, a common fact in coccids, is also observed on galls, what could be explained by peculiarities of the life cycles of male and female insects. Until growth and development phase, galls are indistinct, but at their maturation, galls induced by females are distinguished by higher cell hypertrophy and hyperplasia of the ground meristem. Also in these galls, the shape, higher development of phloem, parenchyma and mechanical tissue are related to the non mobility of the females and their active feeding habit. On the other hand, galls induced by males have premature maturation. Adult winged males abandon their galls when the two chambers are already differentiated in galls induced by females. Abdomen of non pregnant females is positioned towards the inferior chamber, where coupling occur. This can be proved by the finding of several male insects inside inferior chamber in galls with pregnant females. Afterwards, cell division and hypertrophy stop, and oviposition and egg hatching occur inside superior chamber, which is closed by wax produced by *P. rollinae* females. Then, all first instar nymphs leave galls where they were born and should look for shelter until the next *Rollinia laurifolia* budburst.

Key words: Galls, ontogenesis, *Rollinia*, *Pseudotectococcus*, sexual dimorphism.

INTRODUÇÃO

Estudos ontogenéticos em galhas têm sido realizados no Brasil desde o final do século XX (Moura 2007, Oliveira 2007, Carrocini 1989, Arduin 1992, Arduin & Kraus 1995, Isaias 1998, Kraus *et al* 1993, 1996, 2002). Estes estudos descrevem as reações citohistológicas vegetais ocorrentes pela ação de um fator biótico, o inseto indutor. Nesta perspectiva, o entendimento das reações citohistológicas das plantas da flora Neotropical avança indubitavelmente, principalmente quando se comparam tais reações ao desenvolvimento normal da planta e as alterações decorrentes de fatores abióticos que têm sido melhor estudadas.

Galhas ou cecídeos são estruturas que representam uma expressão cumulativa de uma série de adaptações adquiridas pelas plantas hospedeiras que findam por acomodar o inseto indutor. A princípio, a galha fornece nutrição e abrigo ao inseto e, em alguns *taxa*, também para seus descendentes. Ao induzir as galhas, os insetos perturbam os mecanismos de crescimento e alteram o processo de diferenciação dos tecidos e órgãos vegetais, modificando a arquitetura das plantas a seu favor (Raman 2007).

A estrutura das galhas foi primeiramente interpretada como apresentando valor adaptativo para a planta que a produzia; a planta encapsularia seu inimigo na galha, restringindo o dano a uma estrutura não vital (Cockerell 1890; Mani 1964; Price *et al.* 1987). Estudos posteriores têm provado que o valor adaptativo das galhas está diretamente relacionado ao galhador e não à planta hospedeira (Price *et al.* 1986, 1987). Em adição, Dawkins (1982) e Stone & Schönrogge (2003) sugerem que as galhas podem ser vistas como um fenótipo estendido do inseto – uma alteração do ambiente causada por um gene, que garante a propagação deste gene. Adicionalmente, há evidências crescentes de que a indução de galhas se deve à secreção de substâncias químicas pelos galhadores

(Hartley 1999, Farmer 2000, Mapes & Davies 2001a, 2001b), as quais geram morfotipos distintos e específicos para cada sistema em particular. De fato, os insetos galhadores são altamente específicos em relação ao hospedeiro e ao órgão no qual induzem as galhas, ou seja, induzem galhas apenas em uma espécie ou em um grupo de espécies estritamente relacionadas (Dreger-Jauffret & Shorthouse 1992).

Além da especificidade à planta hospedeira, os galhadores podem apresentar-se restritos ao órgão hospedeiro, gerando galhas com graus de complexidade distintos. Os insetos da ordem Hemiptera, comumente, induzem galhas foliares estruturalmente complexas (Mani 1964, Rohfritsch & Anthony 1992). Em alguns Coccoidea, a estrutura das galhas pode variar de acordo com o sexo do inseto (Linsenmaier 1972, Meyer 1987, Dreger-Jauffret & Shorthouse 1992, Gullan & Martin 2003, Gonçalves *et al.* 2005). Nesta superfamília, os Eriococcidae são bastante estudados e vários gêneros apresentam dimorfismo sexual o qual é refletido no fenótipo das galhas (Gullan *et al.* 2005).

Eriococcídeos possuem como instar ninfal inicial os “crawlers”, formas móveis de dispersão que após uma ecdise se transformam em ninfas de segundo instar. Nas fêmeas, o terceiro instar representará o estágio adulto, enquanto os machos passam por mais duas mudas, transformando-se em prepupas e posteriormente em pupas, antes do estágio adulto. Apenas as prepupas e as pupas não se alimentam (Gullan e Kosztarab 1997). Na maioria dos estudos de galhas de Eriococcidae, os machos não são encontrados e seu comportamento e ciclo de vida não é descrito (Gullan *et al.* 2005).

Apesar de alguns estudos envolvendo Eriococcidae (Hempel 1935, 1937, Maas & Westra 1992, Vitorino *et al.* 2000, Soares *et al.* 2000, Hodgson *et al.* 2004, Gonçalves *et al.* 2005), não existem estudos relativos à anatomia e ontogênese de galhas induzidas por essa família de Coccoidea ou desta própria superfamília no Brasil.

Face a esta ausência de estudos, o sistema *Pseudotectococcus rollinae*-*Rollinia laurifolia* mostra-se interessante pela localização nas galhas tanto dos indutores fêmeas quanto dos machos. Além disso, em se tratando da mesma espécie, esperar-se-ia que o fenótipo das galhas fosse idêntico, independentemente do sexo dos indutores, pois representaria a ação e a manutenção de um grupo de genes do indutor, ou seja, seu fenótipo estendido. Contudo, este sistema possibilita caracterizar a biologia dos indutores de ambos os sexos e sua influência no desenvolvimento dos tecidos vegetais.

Os objetivos desse estudo são: (1) descrever a ontogênese dos tecidos foliares durante o desenvolvimento de galhas por *P. rollinae* em *R. laurifolia*, tendo por base a ontogênese da folha sadia; (2) caracterizar os estágios de desenvolvimento das galhas foliares induzidas pelos machos e pelas fêmeas de *P. rollinae* face aos diferentes ínstares dos sexos dos Eriococcidae; (3) determinar o momento da divergência ontogenética que determina os fenótipos distintos das galhas induzidas pelos machos e pelas fêmeas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os estágios ontogenéticos das galhas foliares de *Pseudotectococcus rollinae* foram acompanhados em um indivíduo adulto de *Rollinia laurifolia* localizado na Fundação Zoológica de Belo Horizonte, Minas Gerais.

As observações em campo foram realizadas semanalmente a partir de julho de 2002. Na primeira semana de setembro de 2002 (Figuras 1 a 8 - Capítulo 1), início da estação chuvosa, os ramos de *R. laurifolia* encontravam-se sem folhas. No início da segunda quinzena de setembro (exatamente no dia 22/09), foi detectado o primeiro indício de brotamento. Os ramos (n = 60) foram marcados com placas metálicas maleáveis numeradas afixadas ao entrenó proximal. Para efeito de acompanhamento do desenvolvimento dos tecidos foliares, foram consideradas apenas as folhas do primeiro nó que emergiram em cada gema marcada.

A cada período de 48 horas, uma folha do primeiro nó (mais antigo) de um dos ramos marcados, escolhido aleatoriamente, foi coletada e fixada em FAA (formaldeído 37%, ácido acético e etanol 50%, 1:1:18 v/v) (Johanson 1940) no momento imediato da coleta. Adicionalmente, cinco folhas jovens de ramos não marcados foram coletadas e fixadas da primeira até a quarta coleta, a fim de se desvendar os eventos iniciais da formação das galhas.

Em laboratório, todas as folhas jovens inteiras ainda dobradas ao longo da nervura de primeira ordem e as galhas isoladas de folhas maduras foram submetidas a baixo vácuo com FAA. Em seguida, as amostras foram desidratadas em série butílica e incluídas em Paraplast[®] ou Histosec[®], segundo os passos descritos em Johansen (1940) para inclusão em parafina. Todas as etapas desde a fixação até a inclusão final foram feitas em intervalos de sete dias.

Secções transversais seriadas (12 μm) foram feitas em micrótomo rotativo (Reichert-Jung[®]) em todas as folhas jovens e ainda dobradas ao longo da nervura de primeira ordem. De cada folha totalmente expandida coletada, foram seccionadas 5 galhas induzidas pelas fêmeas e 5 galhas induzidas pelos machos, exceto a partir da coleta 11, uma vez que os machos já haviam abandonado suas galhas e apenas 1 galha induzida pelos machos foi seccionada, totalizando 46 folhas e 480 galhas analisadas (Tabela 1).

TABELA 1: Número de folhas e galhas analisadas por coleta.

Número da coleta	Número de folhas analisadas por coleta X número de coletas	Número de galhas analisadas por folha (machos+fêmeas)	Total de galhas analisadas nestas coletas
1-4	5 x 4 = 20	Todas = 15	300
5-10	1 x 6 = 6	5 + 5 = 10	60
11-30	1 x 20 = 20	5 + 1 = 6	120
Total	46	---	480

Os cortes foram afixados às lâminas com adesivo de Bissing, desparafinizados em acetato de butila, hidratados em série etílica, corados com a mistura de safranina e azul de astra (2:8) (Bukatsch 1972, modificado para 0,5%), desidratados em série etílica e montados em Entellan[®].

Para a descrição anatômica das galhas, foram considerados cortes longitudinais medianos às galhas e, conseqüentemente, transversais às folhas, conforme as metodologias descritas por Arduin & Kraus (1995) e Kraus *et al.* (1996). As descrições anatômicas das galhas foram organizadas considerando-se quatro estágios de desenvolvimento: indução, crescimento, maturação e senescência (Rohfritsch 1992). As camadas celulares foram

consideradas de acordo com a descrição feita para a folha sadia (Gonçalves 2008, capítulo 2).

A documentação do material foi feita por fotomicrografias de luz em fotomicroscópio Olympus (BH2-BHS).

RESULTADOS

FASE DE INDUÇÃO

As ninfas de *Pseudotectococcus rollinae* são encontradas nas folhas jovens e ainda não expandidas de *Rollinia laurifolia* (Figura 1) as quais apresentam densa cobertura pilosa. Os tricomas tectores pluricelulares são ricos em antocianinas (Figura 2) e auxiliam na fixação das ninfas que a eles se ancoram com suas patas. Após esta fixação, introduzem seus estiletos nos tecidos vegetais (Figura 3) dando início ao processo de indução caracterizado por alterações celulares significativas. Dentre estas alterações, pode ser citada a hipertrofia da protoderme P1 e da região M1 (Figura 4) e o início das divisões celulares periclinais evidenciadas pela presença de várias figuras de mitose em M2 e M3 (Figuras 5-7).

FASE DE CRESCIMENTO

O estágio que se segue é o crescimento das galhas causado tanto por hiperplasia resultante de divisões periclinais, quanto pela hipertrofia dos tecidos da folha em diferentes níveis e regiões.

O início do crescimento da galha é marcado pela presença de um tecido relativamente homogêneo que apresenta hipertrofia em P1, M1 e M2. A protoderme é uniestratificada em ambas as faces e M1 possui duas camadas celulares ao longo de toda a região afetada. Assim como na folha sadia, entremeadas às camadas de células da região M2, ocorrem células hipertrofiadas de grande volume citoplasmático que se estendem de M1 até M3, ou seja, por toda a espessura de M2. Na galha jovem, na região M2, ocorrem pequenos aglomerados celulares cujo volume total equivale ao das células hipertrofiadas (Figura 8).

As células que se encontram em contato direto ou muito próximas aos estiletes apresentam menor taxa de crescimento e divisão (Figura 9). Por outro lado, células relativamente mais distantes do local de inserção dos estiletes passam por diversas divisões celulares. Como resultado, forma-se uma estrutura bicôncava, na qual a região adjacente aos estiletes constitui uma depressão em relação à protuberância circular ao redor desta. A protoderme, tanto P1 quanto P2, é uniestratificada, com células hipertrofiadas na região da protuberância. As regiões M1 e M2 possuem duas camadas celulares ao longo de toda a galha e feixes procambiais distribuem-se na região M2. A região M3 apresenta uma camada de células na região côncava e duas camadas na região protuberante (Figuras 9 e 10).

Com a continuidade do desenvolvimento da galha, a protoderme mantém-se uniestratificada em ambas as faces da folha, porém as células da região M1 se dividem originando quatro camadas de células ao longo de toda a região da galha, com hipertrofia nas regiões protuberantes. A região M2 possui feixes procambiais e oito camadas de células nas regiões de maior crescimento enquanto M3 passa a ser constituída por duas camadas de células próximas aos estiletes e até quatro camadas nas regiões de maior crescimento (Figura 11).

Passa a ser nítida a região que o inseto ocupa dentro da estrutura da galha, a qual constitui a câmara ninfal e os estiletos continuam fixados à epiderme chegando até os feixes procambiais. Os estiletos também podem alcançar cavidades formadas pela degeneração dos aglomerados celulares localizados em M2. O aumento em volume da galha ocorre fundamentalmente pela duplicação do número de camadas de células em P1, M1, M2 e M3 nas regiões de maior crescimento, sendo que cada região fica respectivamente com duas, oito, 16 e oito camadas de células, enquanto P2 apresenta quatro camadas celulares. A porção adaxial da galha apresenta-se levemente arredondada, mas ainda pouco proeminente em relação ao restante da lâmina foliar. A folha em expansão apresenta-se ainda dobrada sobre a nervura de primeira ordem (Figura 12).

Até este estágio de desenvolvimento, não foram observadas marcantes divisões anticlinais, o tecido da galha mostra-se compacto e não há diferenças significativas que apontem o dimorfismo sexual das galhas. As galhas de *P. rolliniae* são predominantemente monotálamas, ou seja, contêm apenas um indutor em cada galha, mas em raros casos dois ou três indutores também ocorrem.

EVIDÊNCIAS DO DIMORFISMO SEXUAL DAS GALHAS

O dimorfismo sexual começa a ser notado na fase de maturação tanto das galhas induzidas pelos machos quanto pelas fêmeas. Os eventos da ontogênese da galha são, em parte, separados temporalmente nas galhas induzidas pelos machos e naquelas induzidas pelas fêmeas. Deste modo, as fases de indução e crescimento são simultâneas ao passo que a maturação é mais precoce nas galhas induzidas pelos machos (Figura 13).

ESTÁGIO DE MATURAÇÃO

GALHAS INDUZIDAS PELOS MACHOS

O teto da galha induzida pelos machos é relativamente delgado e apresenta de oito a 16 camadas de células (Figura 14). A região de maior crescimento, lateralmente à câmara ninfal apresenta relativamente a mesma quantidade de células da fase anterior, ou seja, duas, oito, 16, oito e quatro camadas de células nas regiões P1, M1, M2, M3 e P2, respectivamente. Alguns feixes exclusivamente floemáticos se desenvolvem sobre a câmara ninfal (Figura 15), e lateralmente à esta, os feixes vasculares apresentam elementos traqueais (Figura 16). Algumas células das camadas adaxiais da região M2 e as camadas de M1 ao redor da câmara ninfal, em toda a sua extensão, iniciam processo de lignificação (Figura 17).

Após a esclerificação ao redor da câmara ninfal, observa-se a presença de cera e de exúvias de machos dentro de suas galhas (Figuras 18-21). A partir de então, as prepupas não mais apresentam estiletes conectados aos tecidos vegetais, mas pontas de estiletes ou cicatrizes destes ainda podem ser encontradas em meio aos tecidos da galha, da epiderme até o floema do teto da câmara ninfal.

As prepupas se desenvolvem em pupas (Figura 19) e assim que os machos adultos estão completamente formados dentro destas ocorre a última ecdise (Figuras 20 e 21). Neste estágio, as galhas apresentam-se no máximo de seu desenvolvimento caracterizado pelo teto da câmara com epiderme com duas camadas celulares e muitos tricomas tectores pluricelulares, M1 com duas camadas celulares lignificadas, M2 com um feixe floemático rodeado de células lignificadas (Figura 20) e M3 e P2 são uniestratificadas e lignificadas (Figura 22). Nas porções adaxiais periféricas da galha, a epiderme possui células cúbicas, mas revestindo internamente a câmara ninfal, as células são extremamente alongadas

anticlinalmente (Figura 20). A região M3 acompanha o crescimento da epiderme e também possui células alongadas e lignificadas. Tecidos lignificados formados por M2, M3 e P2 envolvem completamente a câmara ninfal desde o teto da câmara até as regiões ao redor do ostíolo. Neste estágio, os machos abandonam as galhas.

GALHAS INDUZIDAS PELAS FÊMEAS

Dentro das câmaras ninfais, as fêmeas introduzem as patas anteriores na protoderme, causando injúria em algumas destas células. Adjacentes a estas, células da região M3 apresentam alterações de coloração (Figuras 23 e 24). A região de contato entre a pata das fêmeas e a protoderme interna da câmara ninfal apresenta hiperplasia e hipertrofia das células de M3 na região adjacente, além de alteração na coloração destas células (Figura 25). A camada P2 torna-se papilosa. Este crescimento forma um anel de estrangulamento que reduz o diâmetro da câmara ninfal, dividindo-a em duas (Figura 26). A câmara superior, localizada adaxialmente passa a ser ocupada por quase todo o corpo da fêmea (Figura 27) e a câmara inferior, localizada abaxialmente, contém apenas parte do abdome das fêmeas, o qual obstrui o ostíolo interno. A região M2 possui várias camadas de células e, no teto da câmara ninfal, as camadas centrais de M2 constituem feixes exclusivamente floemáticos (Figura 27). Neste estágio, a principal característica utilizada para diferenciar as galhas induzidas pelas fêmeas é a presença de duas câmaras e o formato arredondado das galhas na face adaxial da lâmina foliar (Figura 28).

Em algumas galhas, foram observadas cavidades formadas pela lise das células hipertrofiadas, à semelhança das folhas sadias (Figura 29).

Vários grupos de células da região M1 e as células da região M2 em contato direto com a camada abaxial da região M1 apresentam coloração diferenciada e algumas células

da região M2 já apresentam lignificação (Figuras 30 e 31). Observa-se a lignificação das células de M3 que formaram o ostíolo interno, o qual é revestido por células papilosas e tricomas tectores pluricelulares (Figuras 30 e 32).

As fêmeas iniciam uma ecdise caracterizada pelo desprendimento do tegumento de seu corpo (Figuras 33 e 34) e pela presença de exúvias no interior das galhas ao lado do inseto (Figura 35). Logo após a ecdise, são nítidos os oócitos dentro das fêmeas (Figuras 36 – 39).

Durante a ecdise, a protoderme do teto da câmara superior (P2) inicia divisões e alongamento periclinal, gerando aumento significativo na área deste tecido e, conseqüentemente, aumento no volume da câmara. Este crescimento da protoderme é acompanhado pelas células de M2 e M3 que também se alongam periclinamente, envolvendo completamente a câmara ninfal. A partir de então, a câmara superior, dentro da qual se localiza o corpo do indutor-fêmea, fica envolvida pela protoderme P2, e cerca de 10 camadas de células originadas de M2 e M3. As células mais externas se lignificam gradualmente, envolvendo quase totalmente a câmara superior, sendo que as únicas regiões sem lignificação são aquelas nas laterais superiores da câmara, por onde penetram feixes exclusivamente floemáticos (Figura 40).

O crescimento das células adjacentes às laterais do corpo das fêmeas começa a comprimir as células de M2 em contato direto com o esclerênquima que envolve a câmara superior. Esta compressão gera colapso parenquimático por destruição de algumas células e espaços aeríferos são formados (Figuras 41 e 42).

Após a ecdise das fêmeas e o colapso parenquimático nas câmaras superiores de suas galhas, vários machos foram encontrados dentro das câmaras inferiores das galhas induzidas pelas fêmeas (Figuras 43 - 45). Fêmeas não inseminadas com exúvias,

apresentando o abdome ainda voltado para a luz da câmara inferior, foram encontradas nas galhas neste estágio (Figura 39).

As fêmeas inseminadas (Figuras 46 e 47) ainda apresentam os estiletes inseridos nos tecidos da galha alcançando o floema. Logo que engravidam, recolhem seu abdome à câmara superior e, com glândulas localizadas no abdome (Figura 48), iniciam a produção de cera que bloqueia a abertura do ostíolo interno.

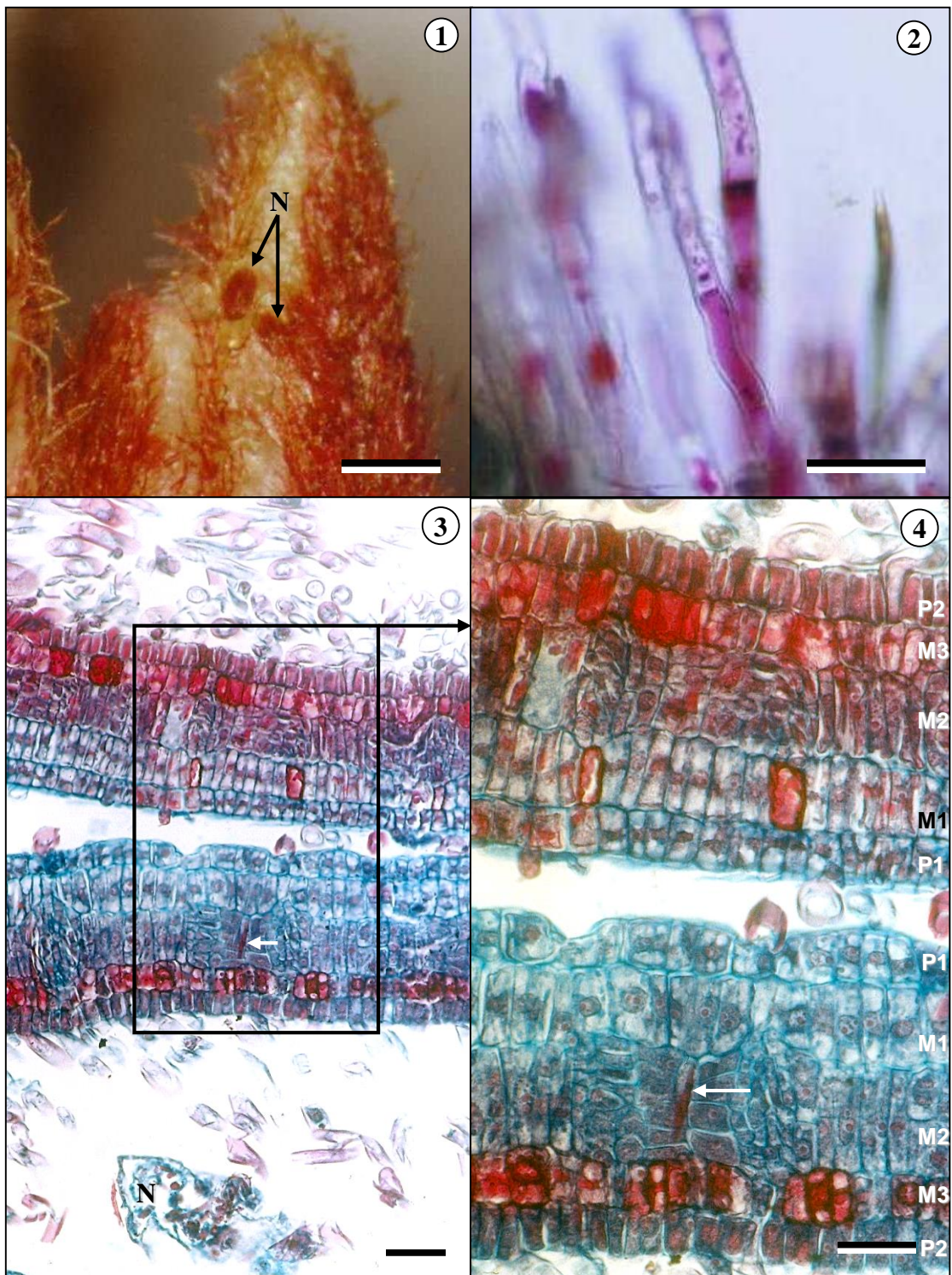
Até o início da oviposição, os estiletes das fêmeas encontra-se fixado no floema localizado no teto da câmara superior. A oviposição ocorre dentro da câmara superior, sobre a cera (Figuras 49) e os embriões só se desenvolvem quando os ovos estão fora do corpo das fêmeas (Figuras 50 e 51).

A eclosão dos “crawlers” e sua saída da câmara superior ocorre por debaixo da cera que bloqueava o ostíolo interno. “Crawlers” foram encontrados na câmara inferior depois de vencerem a barreira de cera produzida para sua proteção (Figura 53).

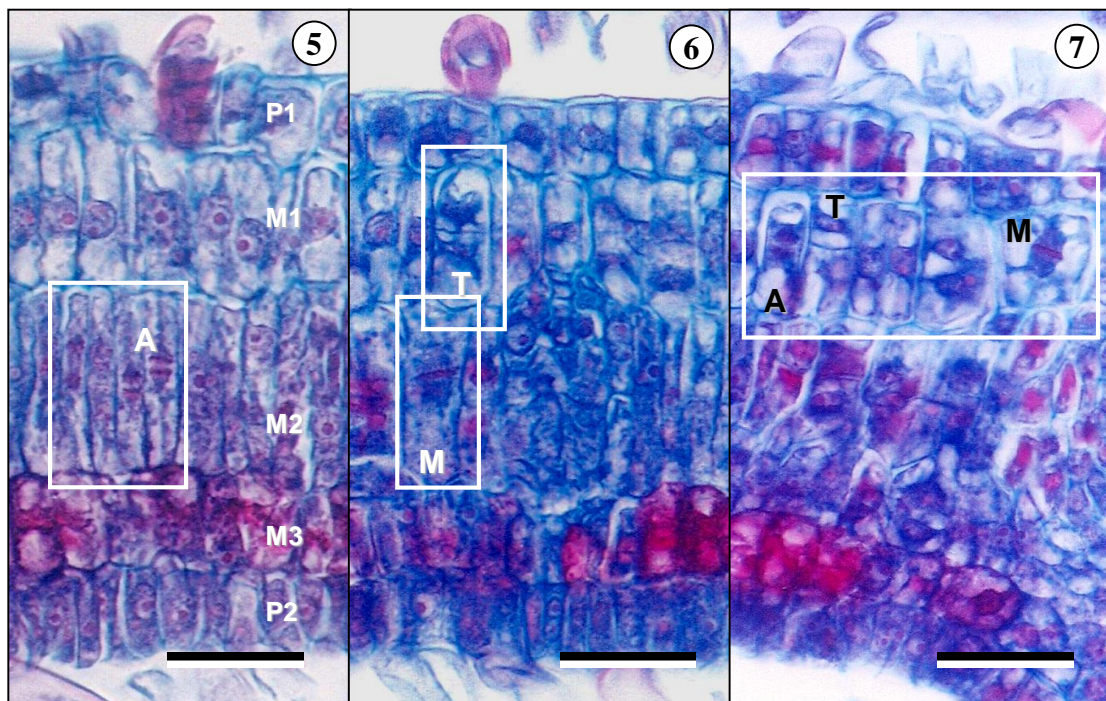
O resumo dos eventos ontogenéticos (Figura 54) demonstra a participação de todas as camadas meristemáticas na formação das galhas de *P. rolliniae* em *R. laurifolia* até a fase de maturação, com hipertrofia e hiperplasia atingido todas as camadas. Estes eventos cessam quando as galhas são abandonadas pelos galhadores machos ou quando as fêmeas morrem.

FASE DE SENESCÊNCIA

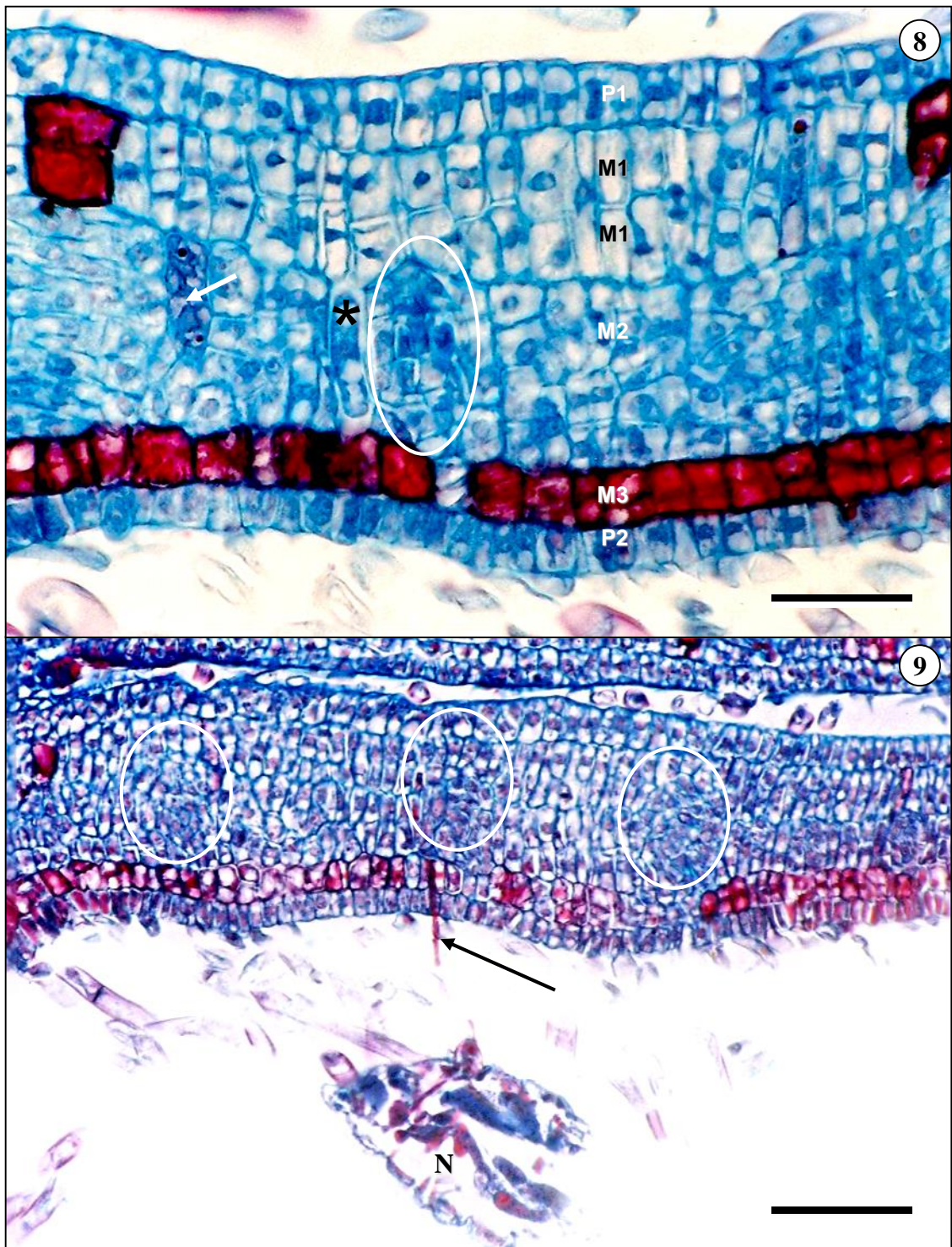
A senescência das galhas foliares masculinas e femininas de *P. rolliniae* em *R. laurifolia* ocorre pouco antes da caducifolia. A folha apresenta sinais de envelhecimento, mas as galhas continuam verdes, sem alterações anatômicas significativas após a saída dos “crawlers” e machos e morte das fêmeas no interior das galhas.



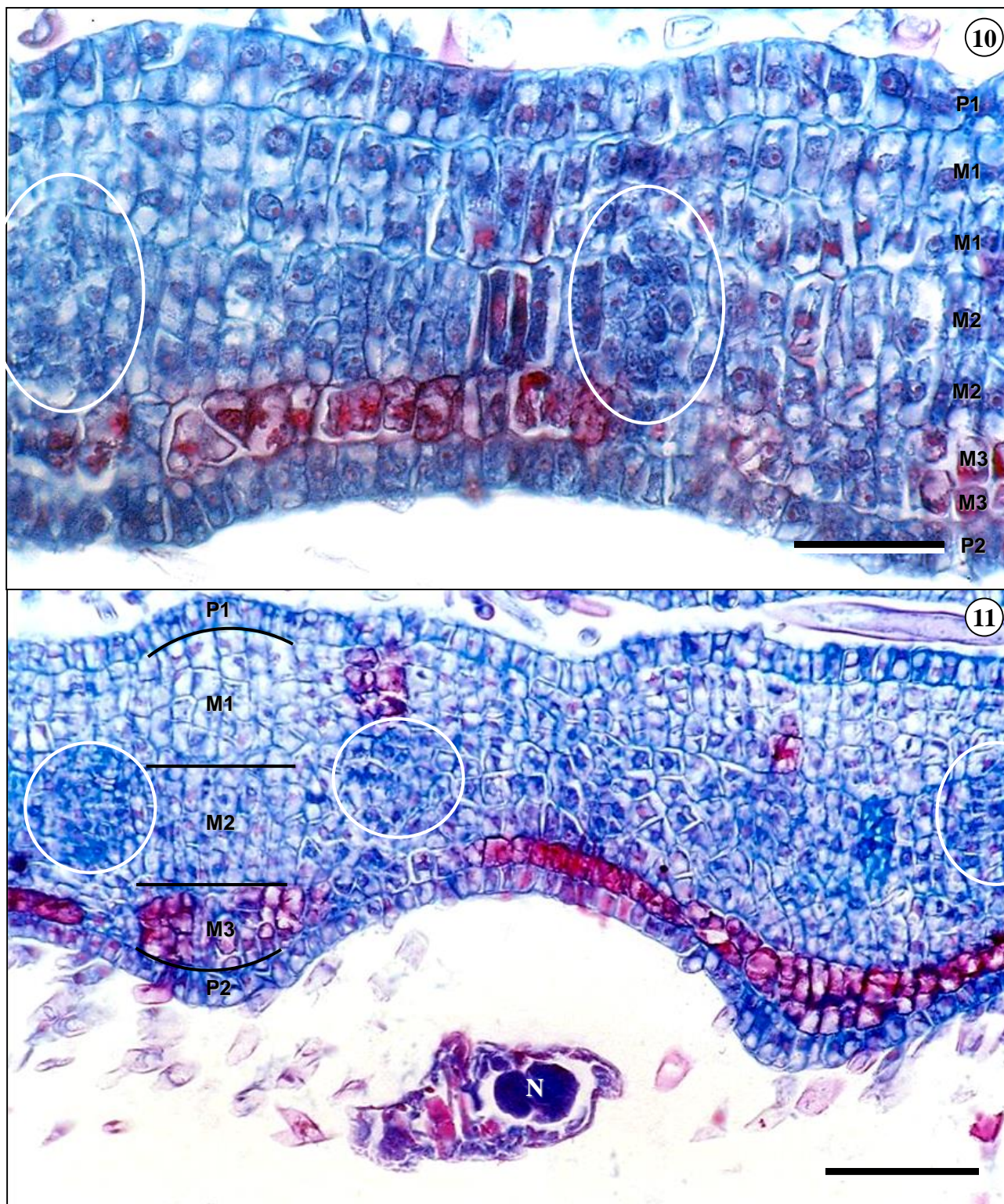
FIGURAS 1 – 4. Folhas jovens de *Rollinia laurifolia* ainda dobradas ao longo da nervura de primeira ordem no estágio de indução das galhas por *Pseudotectococcus rolliniae*. **1** – Ninfas ancoradas nos tricomas pluricelulares avermelhados. **2** – Fotomicrografia óptica de secção transversal de uma folha evidenciando os tricomas com antocianinas **3** – Ninfa com estilete introduzido nos tecidos meristemáticos da folha. **4** – Detalhe do estilete nos tecidos meristemáticos da folha evidenciando hipertrofia de P1 e M1. Ninfas indutoras de galhas (N), estilete (setas brancas), protoderme da face adaxial (P1), protoderme da face adaxial (P2), meristema fundamental adaxial (M1), meristema fundamental central ou intermediário (M2), meristema fundamental abaxial (M3). Barras = 500 μ m (1), 50 μ m (2), 100 (3) e 50 μ m (4)



FIGURAS 5-7. Secções transversais de folhas jovens de *Rollinia laurifolia* ainda dobradas ao longo da nervura de primeira ordem, no estágio de indução da galha induzida por *Pseudotectococcus rollinae* evidenciando típicas figuras de mitose. Protoderme da face adaxial (P1), protoderme da face abaxial (P2), meristema fundamental adaxial (M1), meristema fundamental central ou intermediário (M2), meristema fundamental abaxial (M3), célula em anáfase (A), célula em metáfase (M), célula em telófase (T). Barras = 25 μ m



FIGURAS 8 – 9. Secções transversais de folhas jovens de *Rollinia laurifolia* ainda dobradas ao longo da nervura de primeira ordem no estágio de crescimento das galhas induzidas por *Pseudotectococcus rolliniae*. **8** – Resultado das primeiras divisões mitóticas de M1 que geraram o crescimento do tecido vegetal evidenciando uma célula com grande volume e um aglomerado celular com volume equivalente a esta célula. **9** - Folha jovem dobrada ao longo da nervura de primeira ordem com 2 dias de desenvolvimento evidenciando o formato inicialmente bicôncavo da galha ao redor da ninfa indutora. Protoderme da face adaxial (P1), protoderme da face abaxial (P2), meristema fundamental adaxial (M1), meristema fundamental central ou intermediário (M2), meristema fundamental abaxial (M3), estilete nos tecidos meristemáticos (seta preta), ninfa indutora (N), feixes procambiais (círculos brancos), célula de grande volume (*) e aglomerado celular com volume equivalente ao da célula de grande volume (seta branca). Barras = 50 μ m (8) e 100 μ m (9)



FIGURAS 10 – 11. Secções longitudinais de galhas de *Pseudotectococcus rolliniae*, no estágio de crescimento, em folhas jovens de *Rollinia laurifolia* ainda dobradas ao longo da nervura de primeira ordem evidenciando o formato bicôncavo devido ao gradiente cecidogênico que inibe o desenvolvimento ao redor da região central, onde está o estilete e estimula o desenvolvimento ao redor do corpo do inseto. **10** – Galha em crescimento inicial com 2 dias de desenvolvimento com duas camadas celulares em M1, M2 e M3. **11** – Galha em crescimento com 4 dias de desenvolvimento evidenciando a duplicação de todas as camadas celulares. Protoderme da face adaxial (P1), protoderme da face abaxial (P2), meristema fundamental adaxial (M1), meristema fundamental central ou intermediário (M2), meristema fundamental abaxial (M3), ninfa indutora (N) e feixes procambiais (círculos brancos). Barras = 50 µm (10) e 100 µm (11)

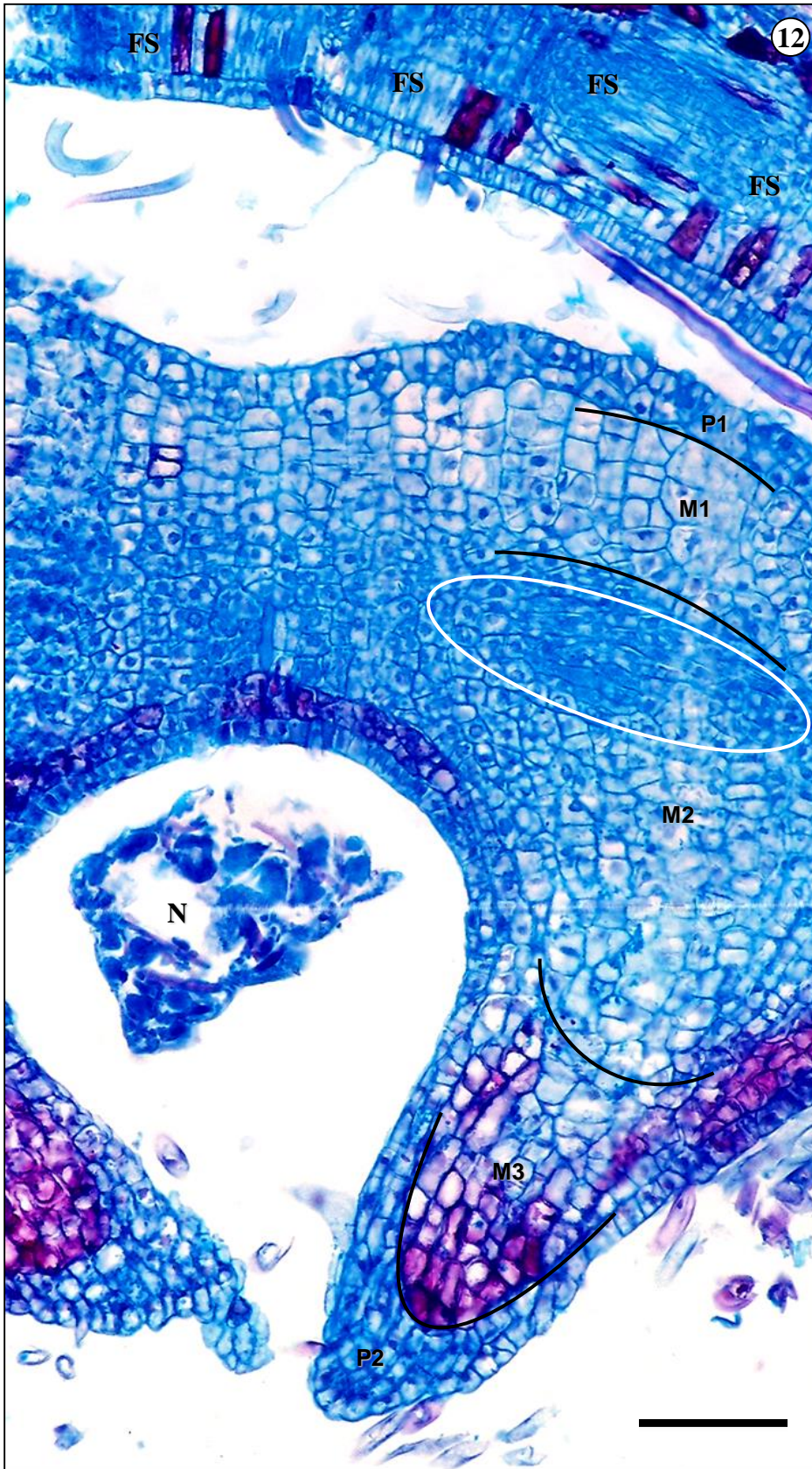


FIGURA 12. Secção longitudinal de galha foliar de *Pseudotectococcus rolliniae*, no estágio de crescimento, em folha jovem de *Rollinia laurifolia* ainda dobrada ao longo da nervura de primeira ordem evidenciando o resultado da duplicação das camadas celulares das regiões P2, M1, M2 e M3 que ficaram respectivamente com 4, 8, 16 e 8 camadas celulares. Além disso, nota-se que as divisões em M1 possuem planos aleatórios, mas preferencialmente periclinais. Protoderme da face adaxial (P1), protoderme da face abaxial (P2), meristema fundamental adaxial (M1), meristema fundamental central ou intermediário (M2), meristema fundamental abaxial (M3), ninfa indutora (N), porção sadia da folha galhada (FS) e feixes procambiais (círculos brancos). Barra = 100 µm

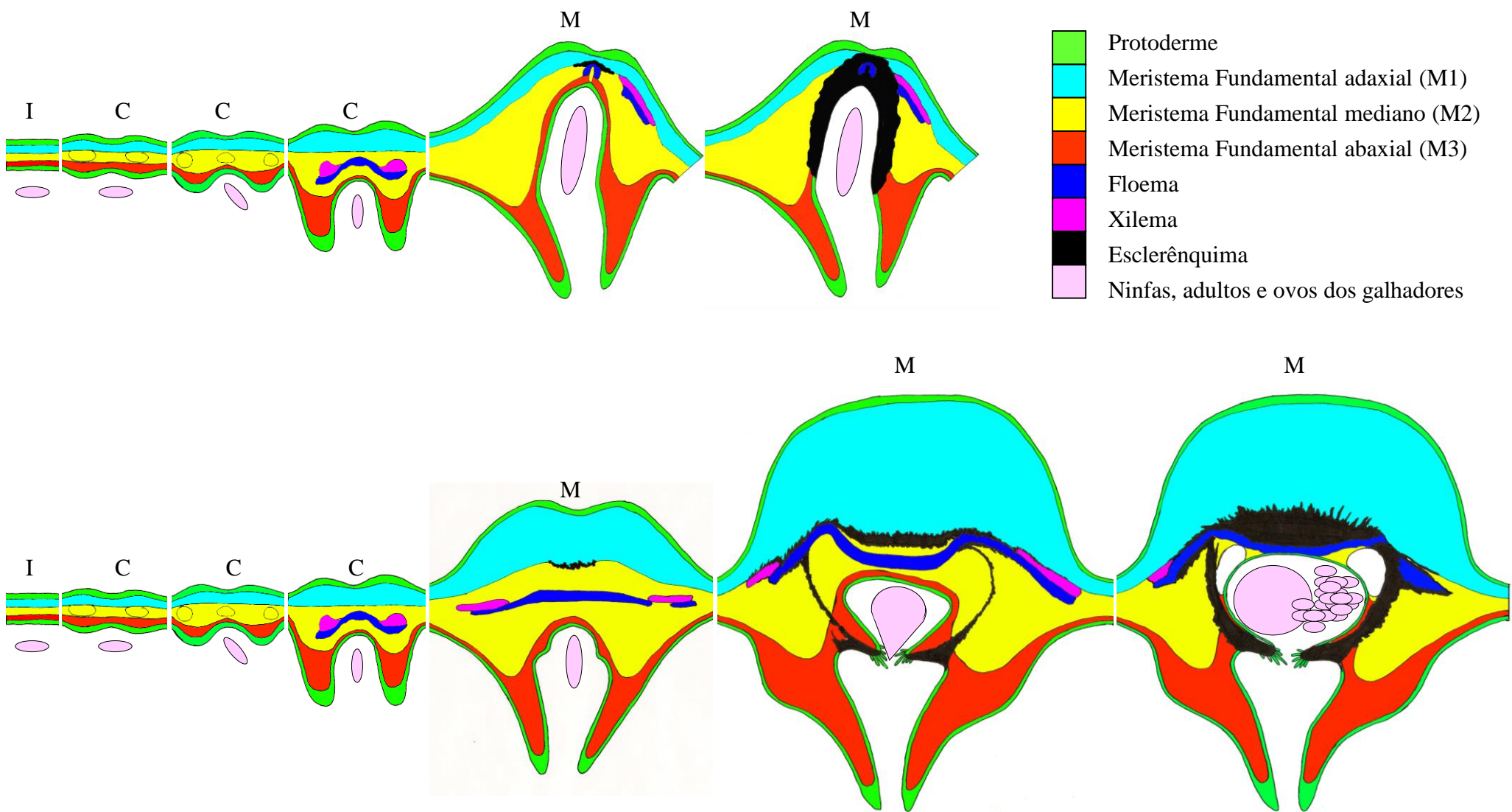
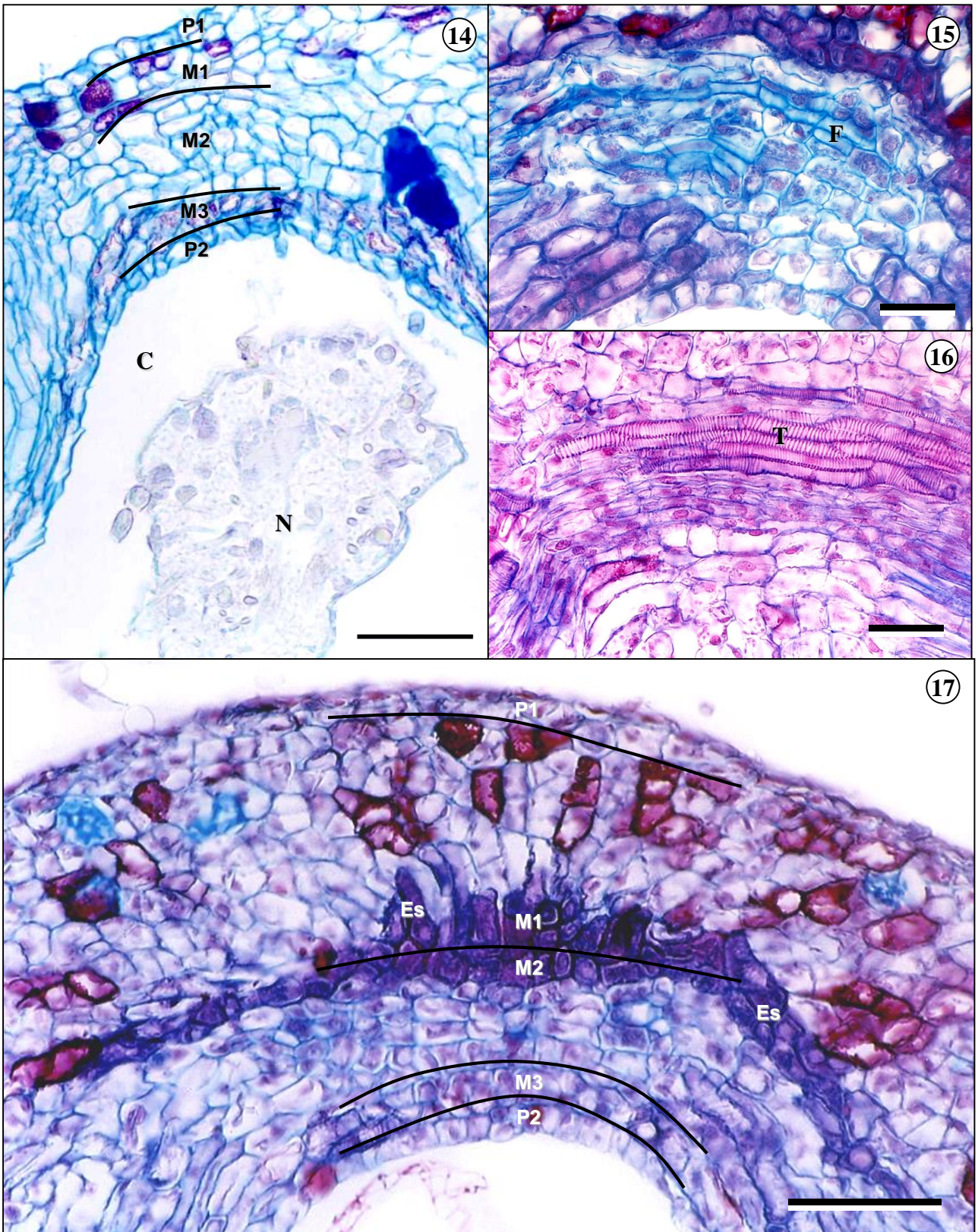
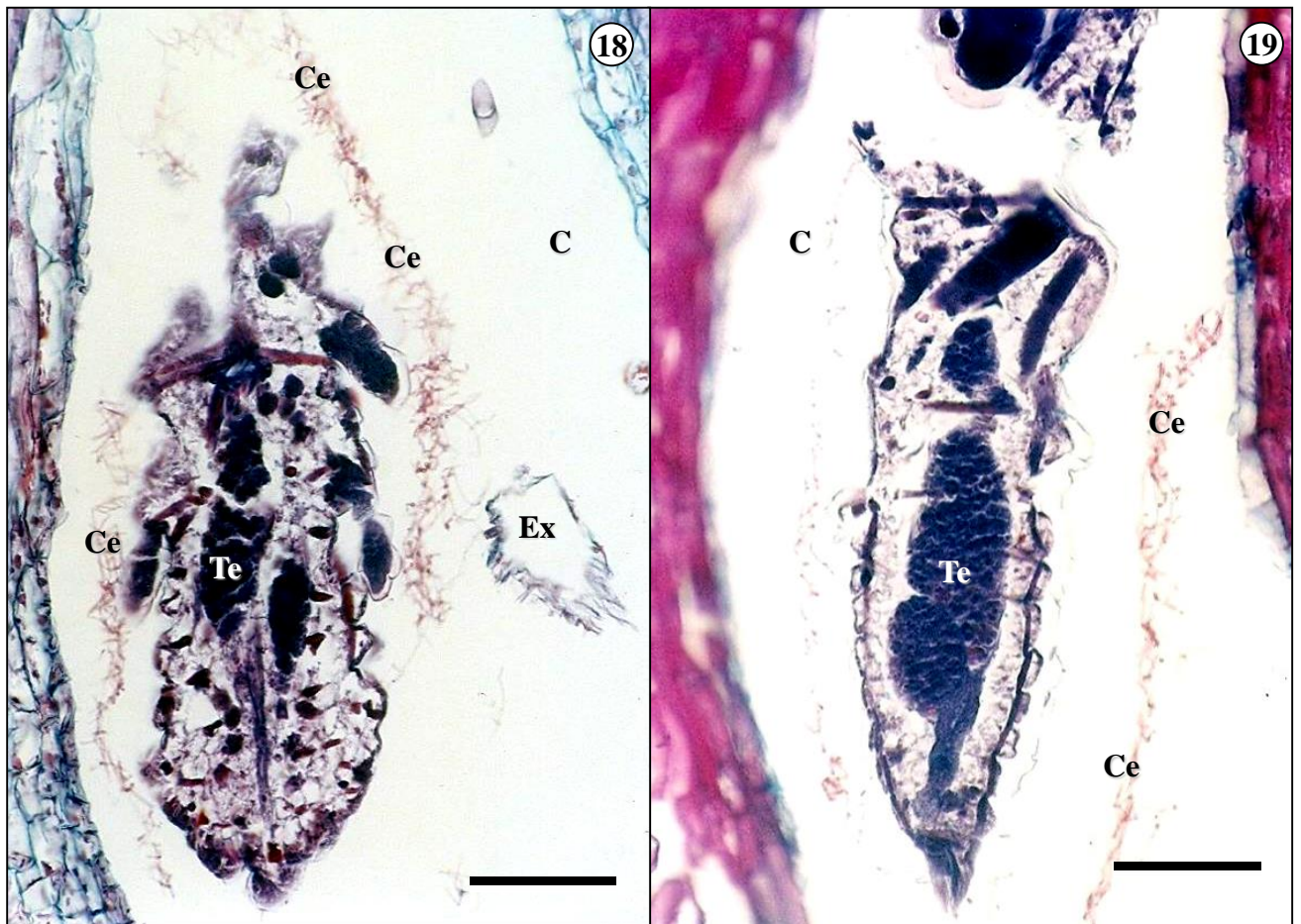


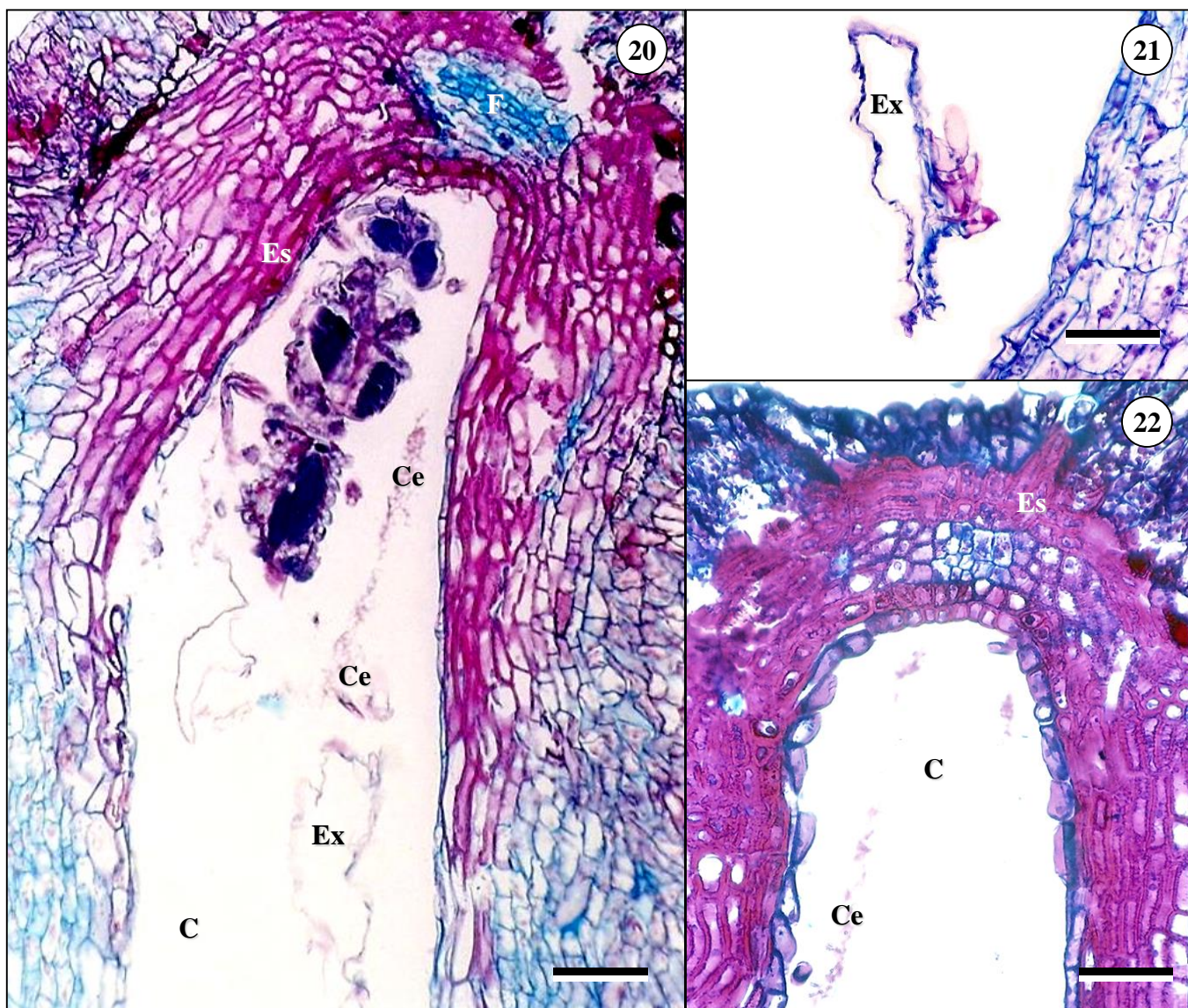
FIGURA 13. Diagramas dos diversos estágios ontogenéticos das galhas foliares de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia*. Galhas induzidas pelos machos (acima) e galhas induzidas pelas fêmeas (abaixo). I – Indução. C – Crescimento. M – Maturação.



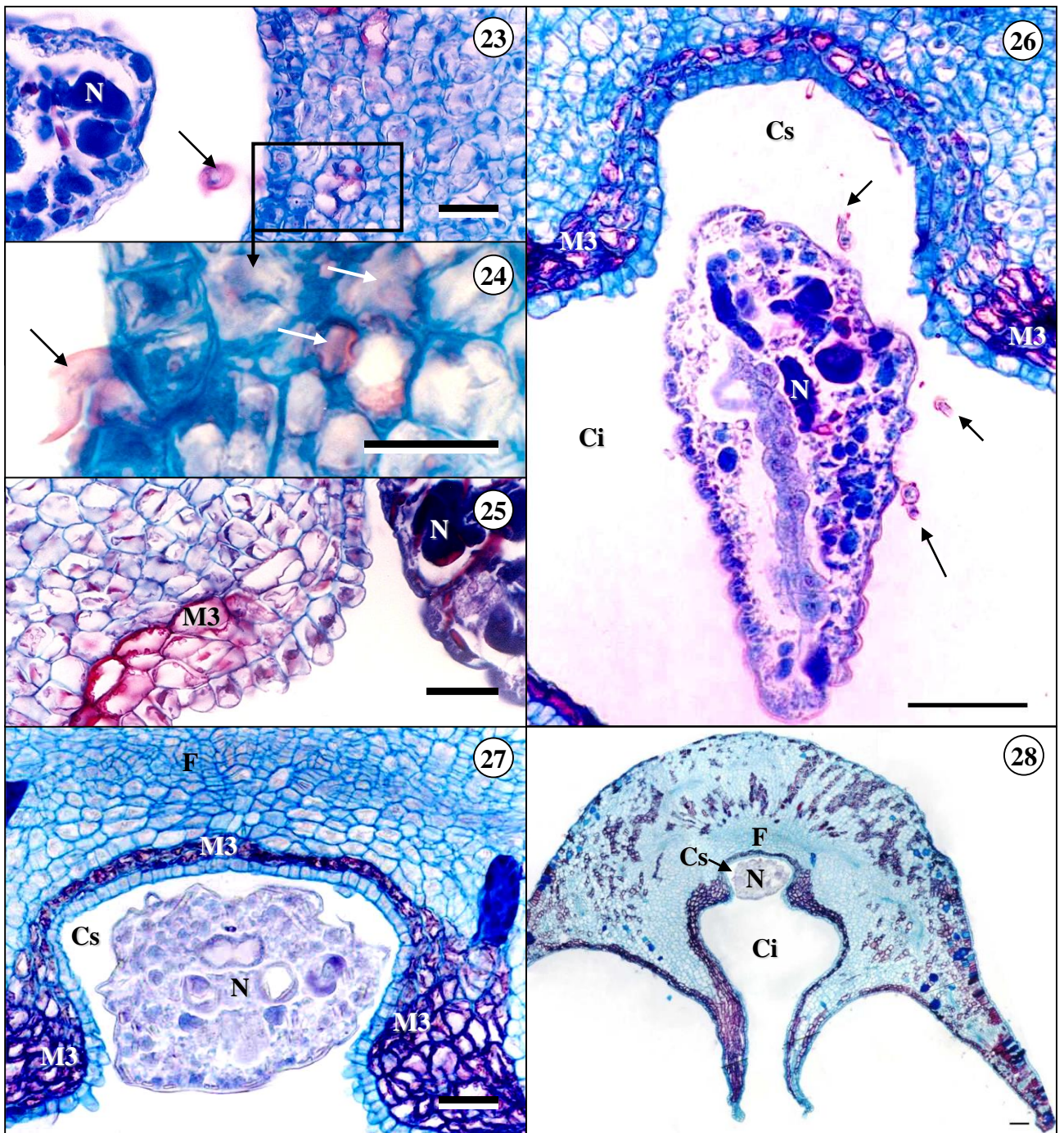
FIGURAS 14 – 17. Secções longitudinais de galhas foliares induzidas por machos de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia*, no estágio de maturação. **14** – Ninfa indutora dentro da câmara ninfal. **15** – Feixe exclusivamente floemático sobre a câmara ninfal. **16** – Feixe vascular lateral à câmara ninfal evidenciando elementos traqueais. **17** – Teto da câmara ninfal com regiões delimitadas evidenciando a formação do esclerênquima com células de M1 e M2. Protoderme da face adaxial (P1), protoderme da face abaxial (P2), meristema fundamental adaxial (M1), meristema fundamental central ou intermediário (M2), meristema fundamental abaxial (M3), câmara ninfal (C), feixe exclusivamente floemático (F), ninfa indutora (N), elementos traqueais (T) e esclereídes em diferenciação (Es). Barras = 100 µm (14 e 17), 50 µm (15 e 16)



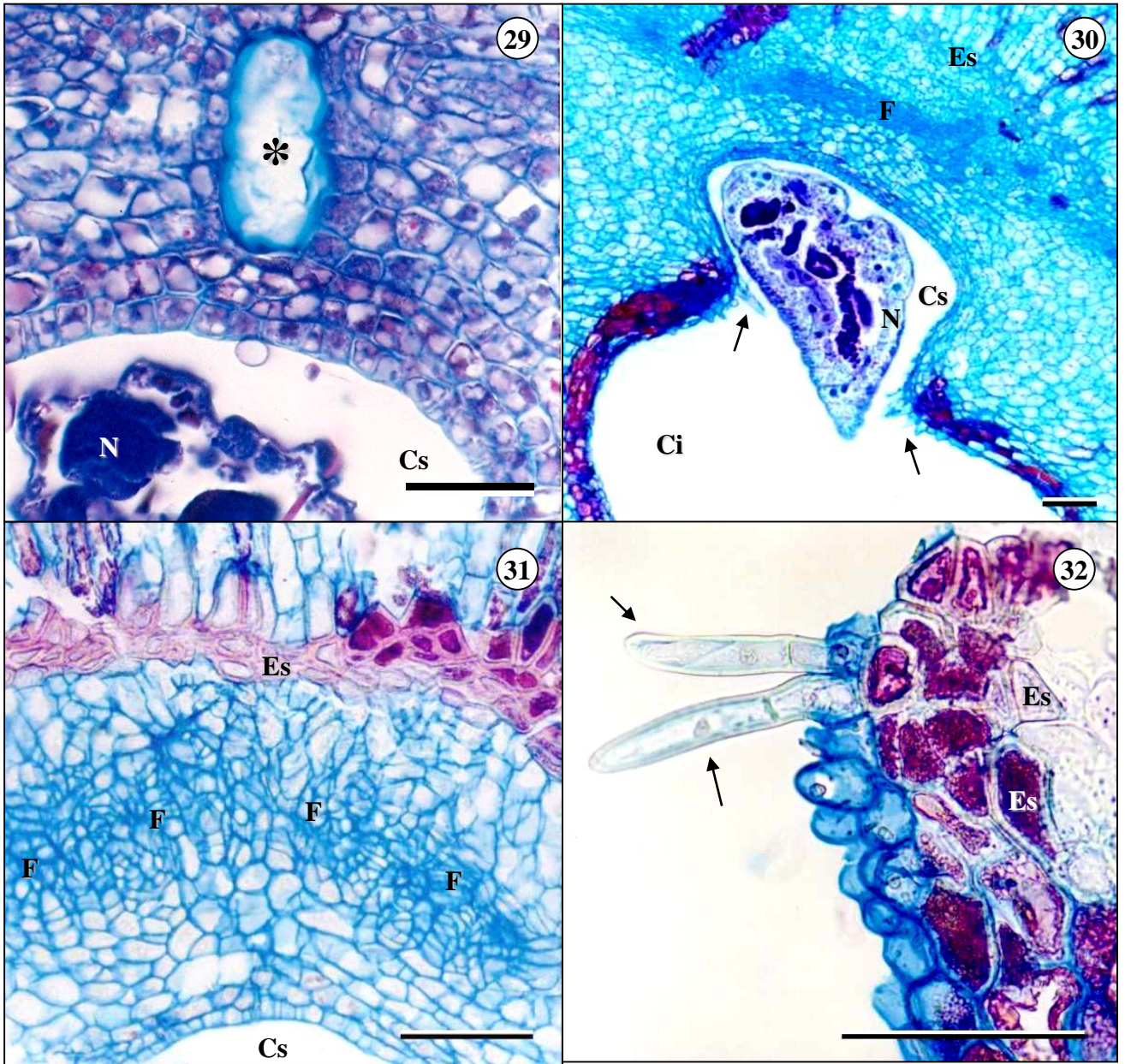
FIGURAS 18 – 19. Secções longitudinais de galhas foliares induzidas por machos de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia*, no estágio de maturação. **18** – Prepupa com cera e exúvia dentro da câmara ninfal. **19** – Pupa envolta em cera com testículo muito desenvolvido. Câmara ninfal (C), cera (Ce), testículo (Te), exúvia (Ex). Barras = 100 μ m



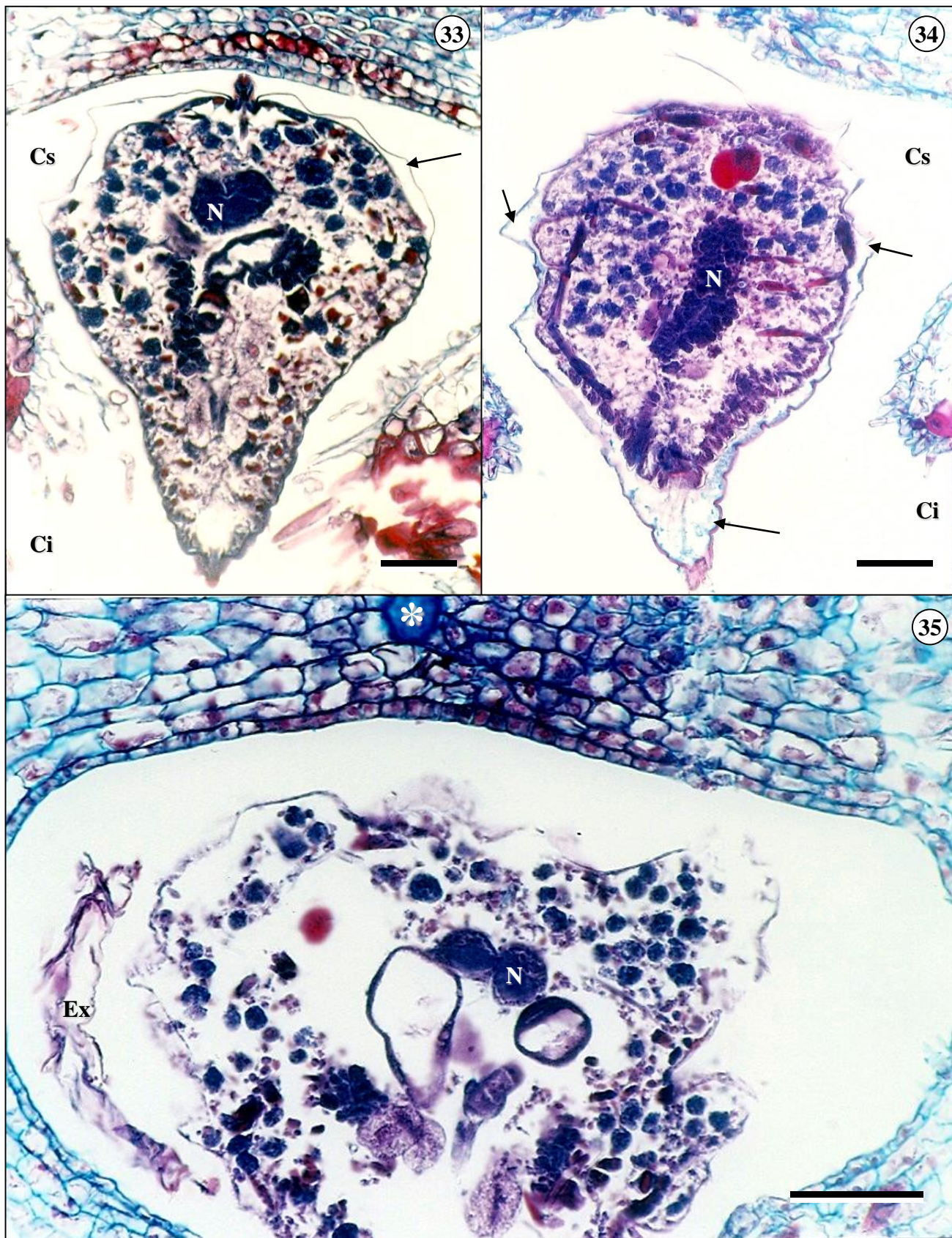
FIGURAS 20 – 22. Secções longitudinais de galhas foliares induzidas por machos de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia*, no estágio de maturação. **20** –Pupa com cera e exúvia dentro da câmara ninfal. Na estrutura da galha, o esclerênquima envolve quase totalmente a câmara ninfal e um feixe exclusivamente floemático localiza-se no teto desta câmara. **21** – Exúvia dentro de uma câmara ninfal. **22** – Galha vazia após saída do macho. Câmara ninfal (C), cera (Ce), exúvia (Ex), esclerênquima (Es) e Feixe exclusivamente floemático (F). Barras 100 µm



FIGURAS 23 – 28. Secções longitudinais de galha foliar induzida por fêmeas de *Pseudotectococcus rolliniae* em *Rollinia laurifolia*. **23** – Fêmea na câmara ninfal com pata inserida na protoderme, causando alterações na coloração dos tecidos adjacentes. **24** – Detalhe de 23 evidenciando a pata na protoderme. **25** – Início da formação do ostíolo interno com proliferação de células de M3 e alongamento anticlinal da protoderme P2. **26** – Crescimento do ostíolo interno separando as duas câmaras. **27** – Fêmea confinada à câmara secundária com ostíolo interno bastante desenvolvido. **28** – Visão geral da galha de formato relativamente esférico induzida por uma fêmea com câmaras inferior e superior bem definidas. Câmara inferior (Ci), câmara superior (Cs), inseto indutor (N), meristema fundamental abaxial (M3), feixes exclusivamente floemáticos (F), alterações de coloração (setas brancas) por ação das patas das fêmeas (setas pretas). Barras = 100 µm



FIGURAS 29 - 32. Galhas foliares induzidas pelas fêmeas de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia*. **29** – Caverna formada pela degeneração de célula hipertrofiada no teto da câmara superior. **30** – Início da esclerificação do ostíolo interno e de camadas de células acima dos feixes exclusivamente floemáticos. **31** – Detalhe do esclerênquima sobre os feixes floemáticos. **32** – Detalhe do ostíolo interno com tricomas tectores pluricelulares. Caverna formada pela degeneração de célula hipertrofiada (*), câmara inferior (Ci), câmara superior (Cs), ninfa indutora (N), feixes exclusivamente floemáticos (F), tricomas (setas pretas) e esclerênquima (Es). Barras = 50 µm (32) e 100 µm nas demais.



FIGURAS 33 – 35. Secções longitudinais de galha foliar induzida por fêmeas de *Pseudotectococcus rolliniae* em *Rollinia laurifolia*. **33** – Início do processo de ecdise da fêmea com tegumento se soltando do corpo do inseto. **34** – Finalização da ecdise com corpo do inseto retraído dentro do tegumento completamente solto. **35** – Exúvia ao lado do corpo de uma fêmea após a ecdise. Câmara superior (Cs), câmara inferior (Ci), ninfa ou fêmea adulta (N), revestimento corporal se desprendendo do corpo da ninfa (setas pretas), exúvia (Ex) e Cavidade formada pela degeneração de célula hipertrofiada (*). Barras = 100 μm

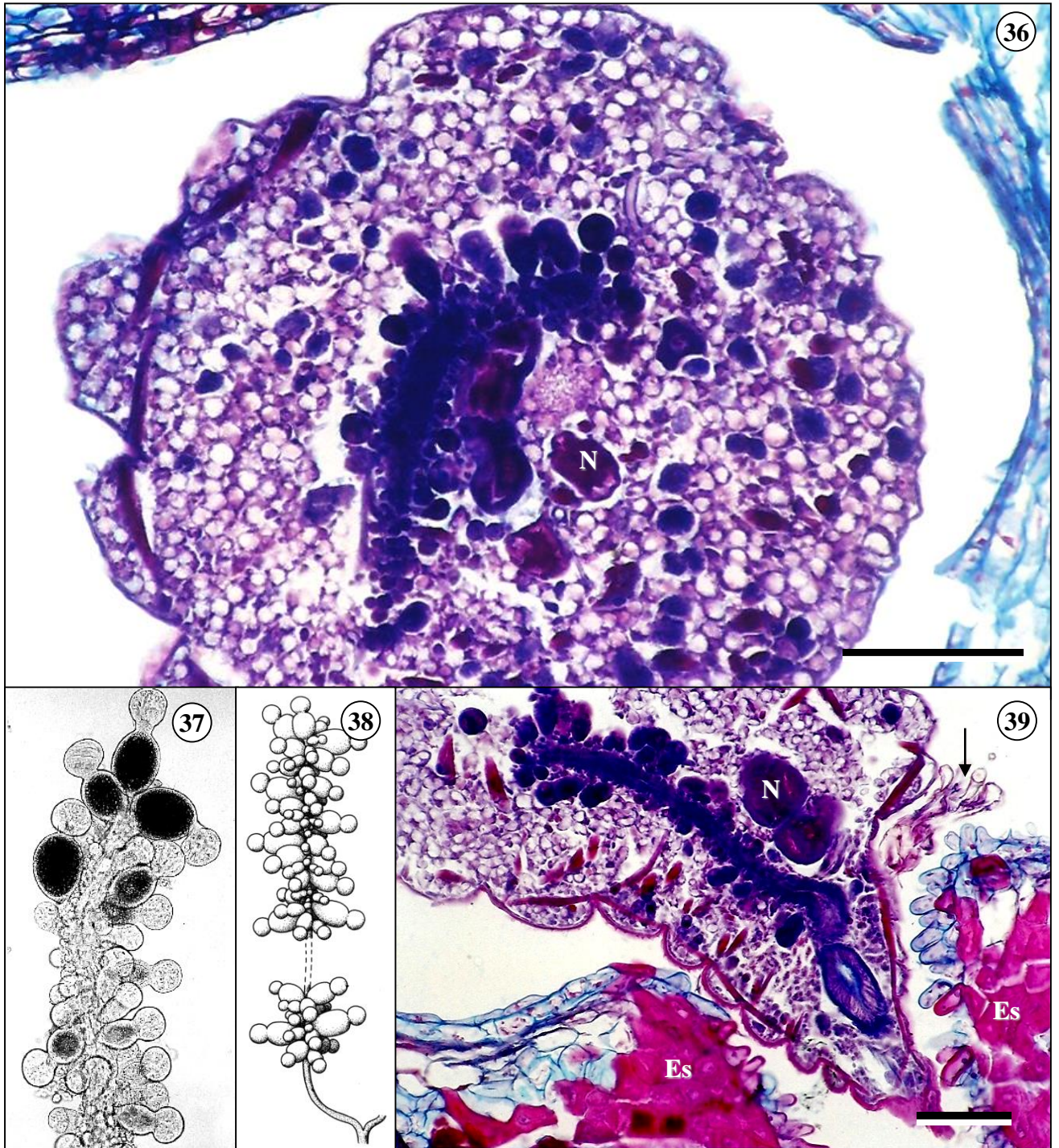
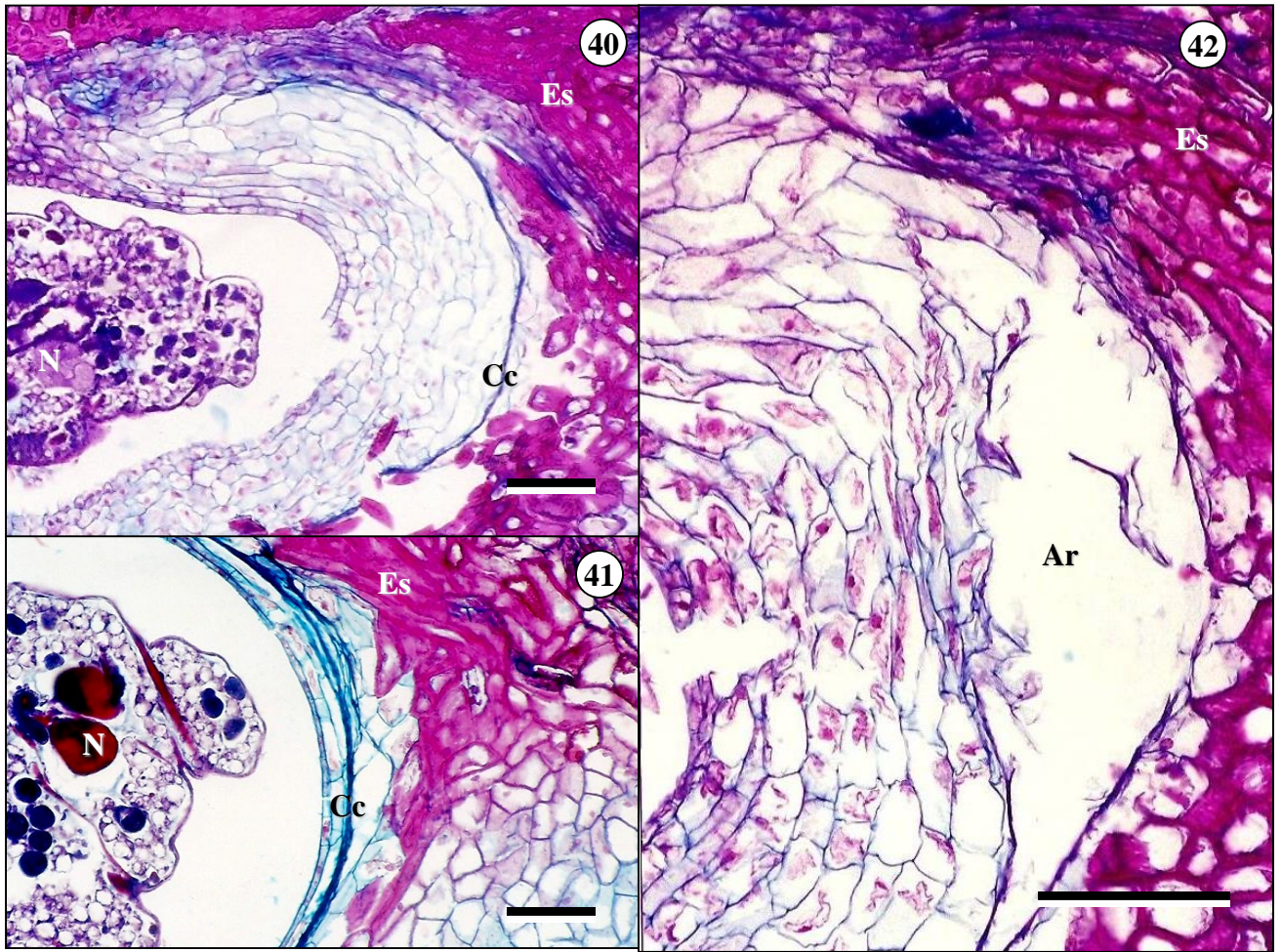
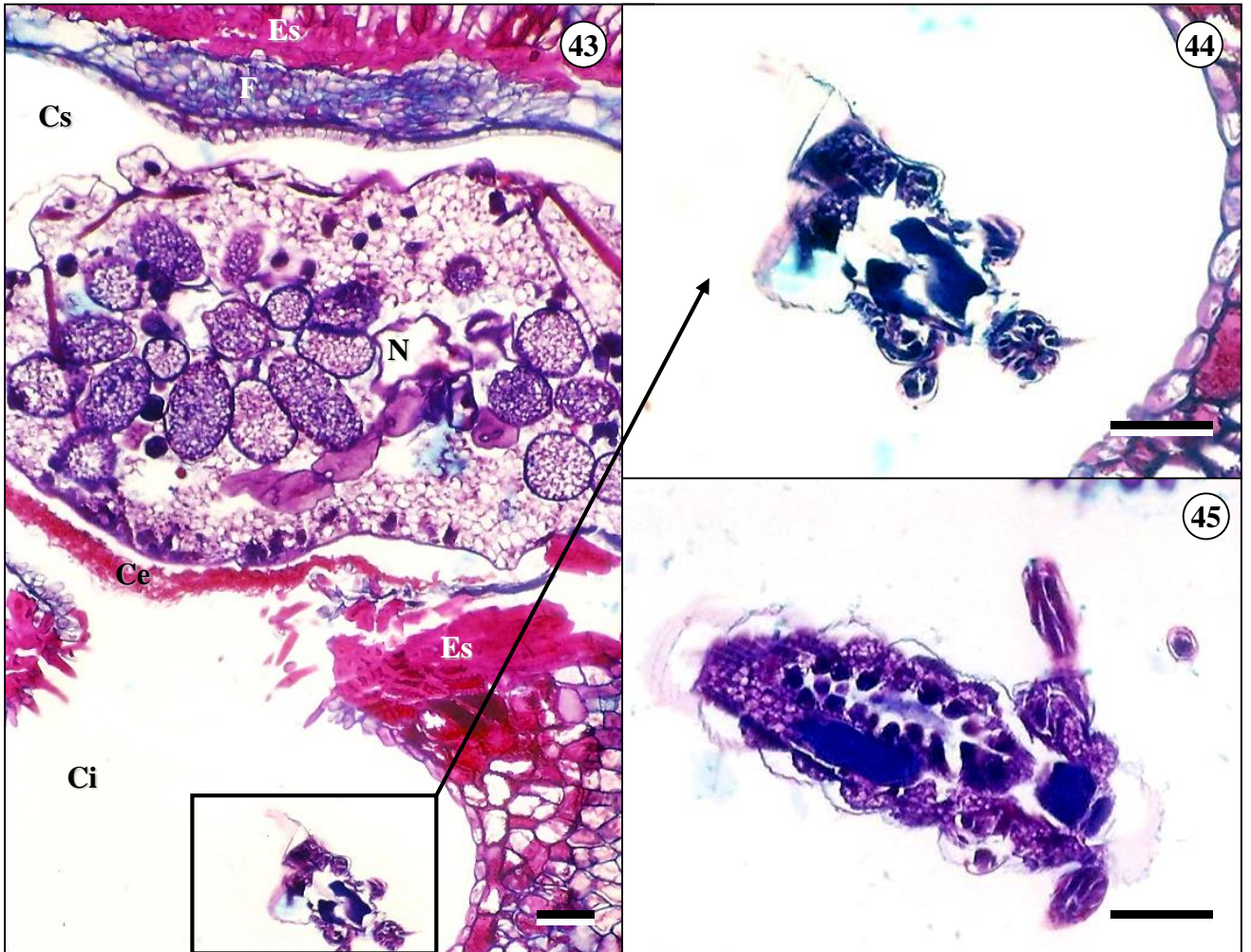


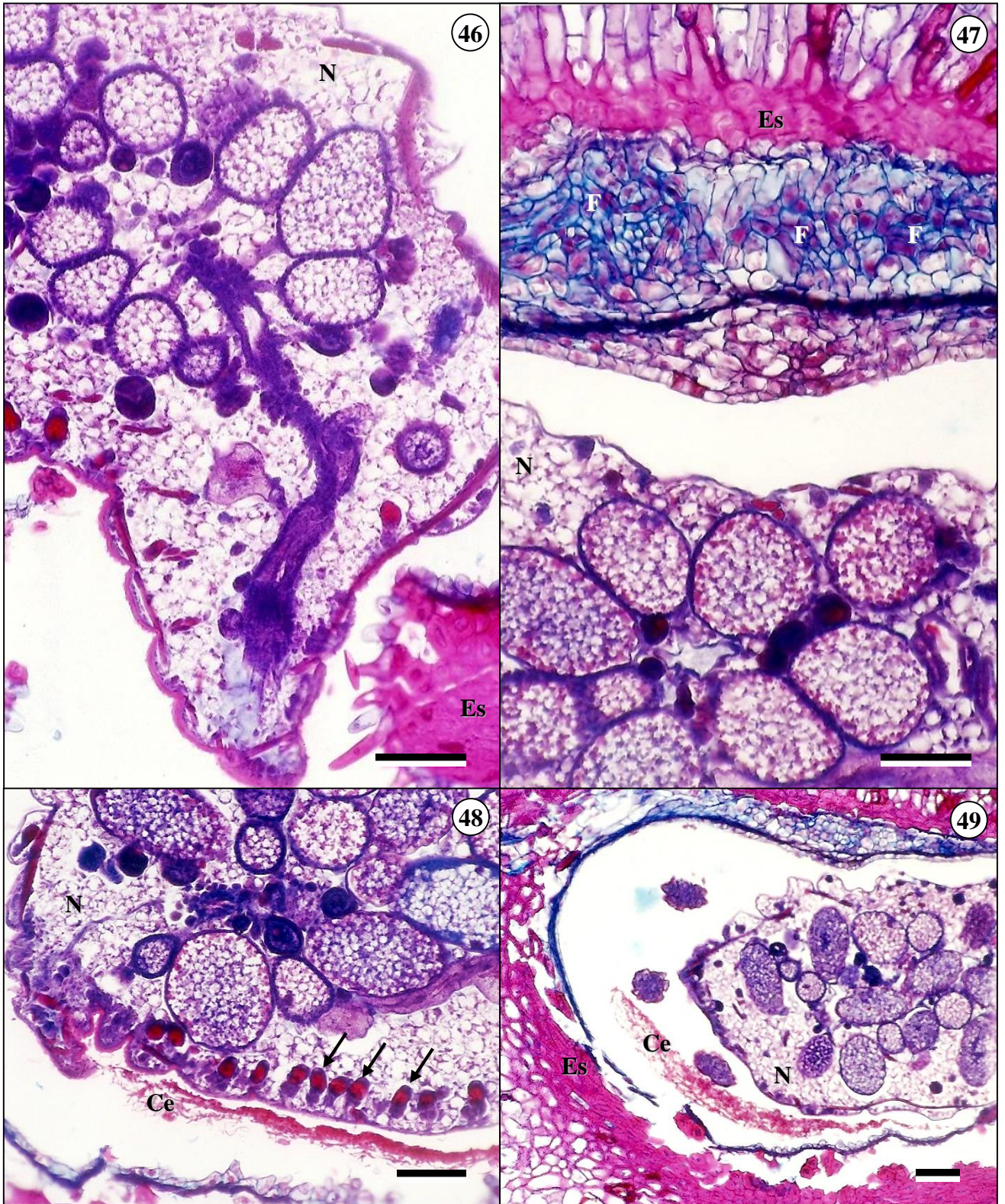
FIGURA 36. Secção longitudinal de galha foliar induzida por uma fêmea de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia* apresentando oócitos típicos de Eriococcidae, como os encontrados na **FIGURA 37** (Szklarzewicz 1998) e na **FIGURA 38** (Koteja et al. 2003). **FIGURA 39** – Secção longitudinal de galha foliar induzida por uma fêmea de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia* com idade avançada e com uma exúvia. Esclerênquima (Es), insetos indutores (N) e Exúvia (seta preta). Barras = 100 µm



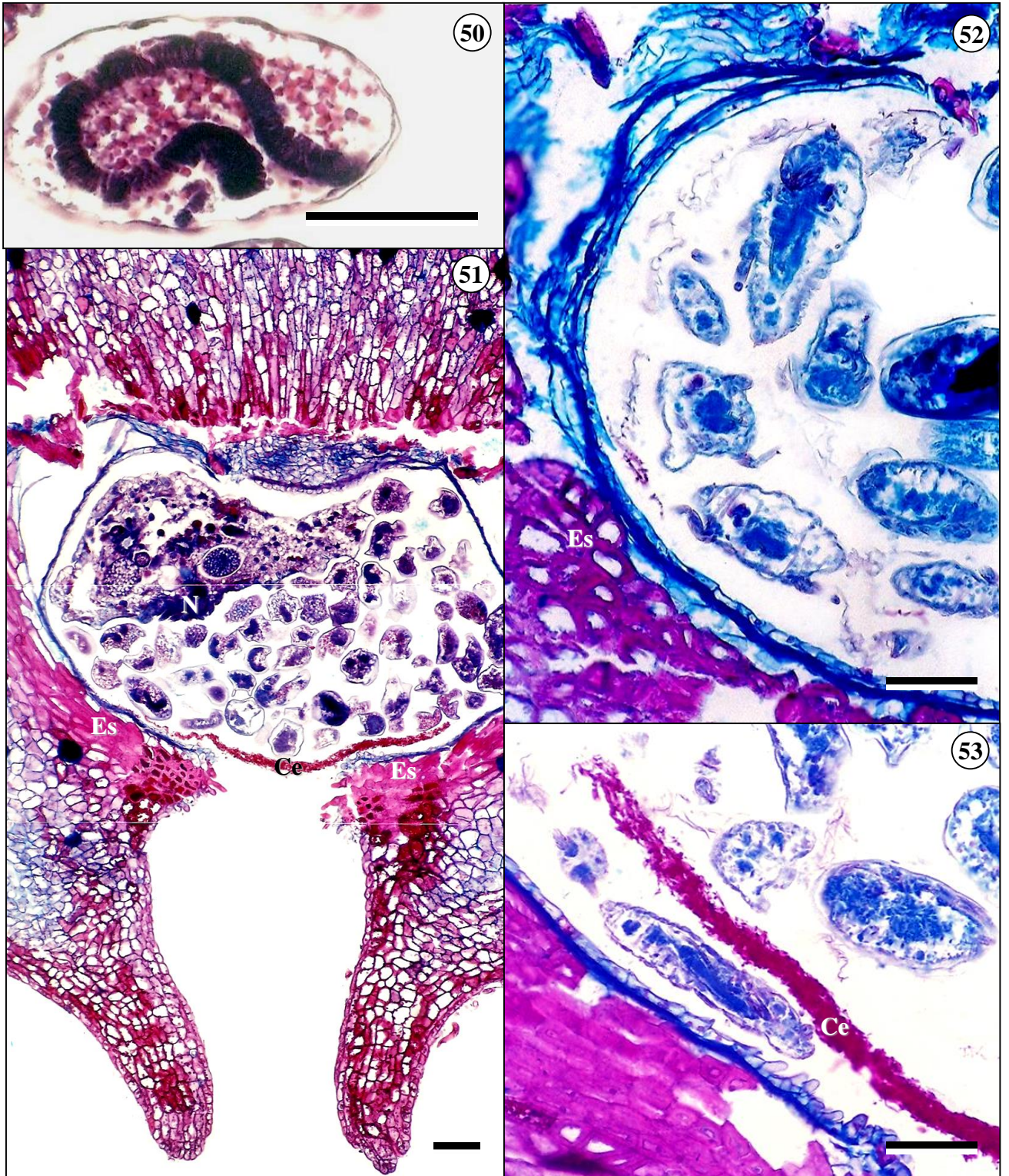
FIGURAS 40 – 42. Secções longitudinais de galha foliar induzida por uma fêmea de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia*. **40** – Início do rompimento de células da camada M2 e M3. **41** – Colapso de células dentro da câmara ninfal superior próximas ao esclerênquima ao redor desta câmara. **42** – Formação dos espaços aeríferos nas laterais das galhas. Esclerênquima (Es), Células colapsadas (Cc), espaços aeríferos (Ar) e insetos indutores (N). Barras = 100 µm



FIGURAS 43 – 45. Secções longitudinais de galha foliar induzida por uma fêmea de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia* evidenciando um macho dentro da câmara inferior. **43** – Fêmea grávida na câmara superior com diversos ovos em seu interior e porções anteriores de um macho dentro da câmara inferior. **44** – Detalhe do macho dentro da câmara inferior da galha induzida pela fêmea, evidenciando a cabeça com uma antena e o tórax. **45** – Secção seqüencial do macho adulto evidenciando duas patas e o abdome. Câmara inferior (Ci), câmara superior (Cs), cera (Ce), inseto indutor fêmea (N), feixes exclusivamente floemáticos (F). Barras = 100 μ m



FIGURAS 46 – 49. Secções longitudinais de galhas foliares induzidas pelas fêmeas de *Pseudotectococcus rolliniae* em *Rollinia laurifolia*. **46** – Ovócitos recém-fecundados em fêmea com abdome ainda não recolhido para a câmara secundária. **47** – Detalhe do teto da câmara ninfal evidenciando fêmea grávida, feixes exclusivamente floemáticos e esclerênquima. **48** – Fêmea produzindo cera através de glândulas localizadas no abdome. **49** – Fêmea depositando ovos sobre a cera produzida. Esclerênquima (Es), insetos indutores (N), glândulas de cera (setas pretas) e feixes exclusivamente floemáticos (F). Barras = 100 μm



FIGURAS 50 – 53. Secções longitudinais de galhas foliares induzidas pelas fêmeas de *Pseudotectococcus rollinae* em *Rollinia laurifolia*. **50** – Ovo embrionado dentro da câmara secundária. **51** – Fêmea com vários ovos em estágio final de desenvolvimento dos crawlers. **52** – Crawlers recém-eclodidos dentro da câmara secundária. **53** – Crawler saindo da câmara secundária por baixo da cera que bloqueia o ostíolo interno. Esclerênquima (Es), insetos indutores (N), glândulas de cera (setas pretas) e feixes exclusivamente floemáticos (F). Barras = 50 µm (50) e 100 µm nas demais.

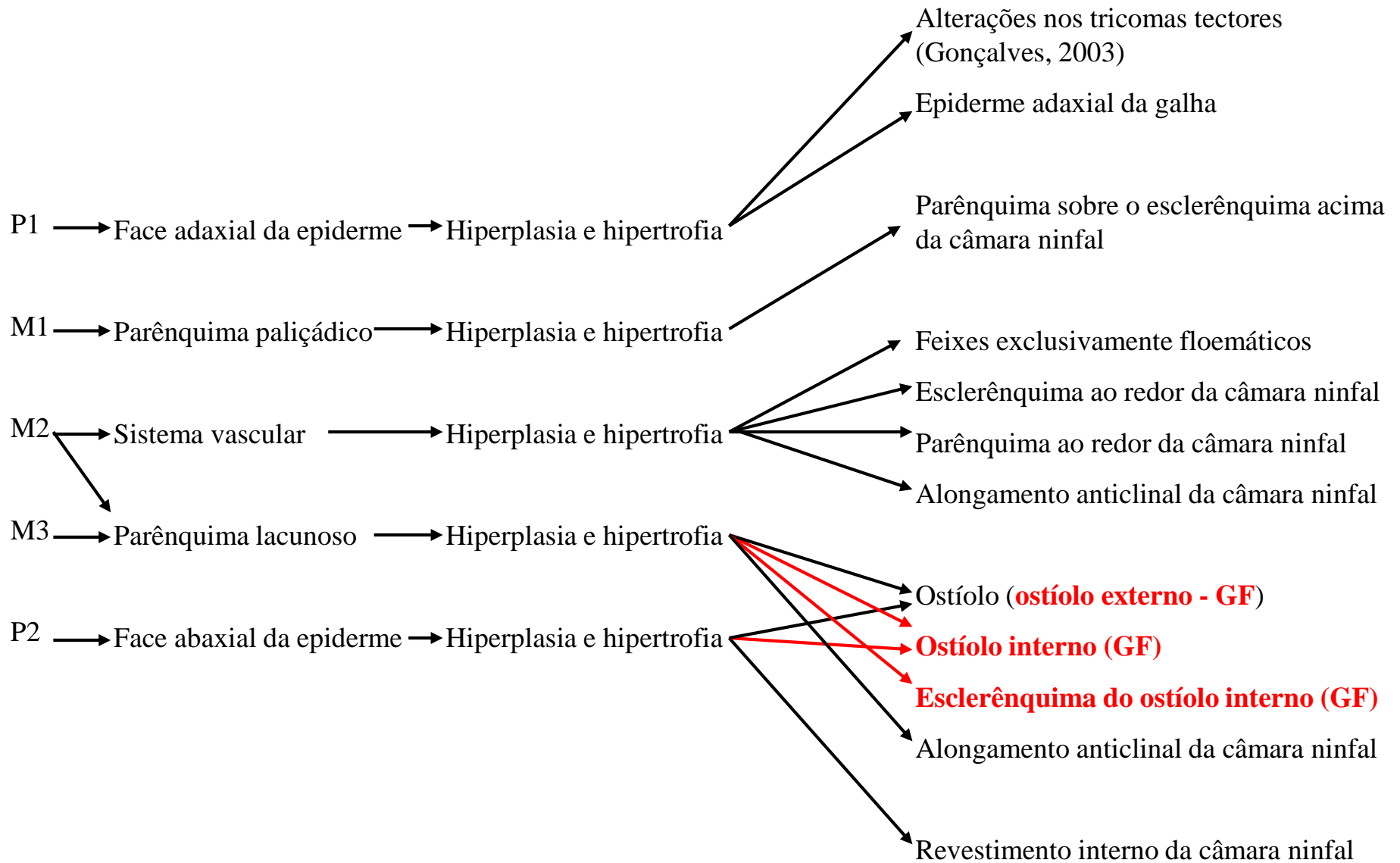


FIGURA 54. Diagrama dos eventos ontogenéticos desde os meristemas das folhas até a fase de maturação das galhas de *Pseudotectococcus rolliniae*, com destaque para estruturas exclusivas das galhas induzidas pelas fêmeas (GF) em *Rollinia laurifolia*.

DISCUSSÃO

Pseudotectococcus rollinae induz galhas nos tecidos meristemáticos no início do brotamento de novas folhas da planta hospedeira, *Rollinia laurifolia*. Segundo Rohfritsch (1992), tecidos jovens, em geral, são mais aptos a reagir à indução de galhas que os já diferenciados e daí o fato de que, freqüentemente, emergência, acasalamento e oviposição ocorrem nos períodos em que as plantas hospedeiras estão em crescimento e produzindo novos órgãos. Os indutores consomem consideráveis quantidades de açúcares e proteínas obtidas da seiva, cujas concentrações são maiores nos tecidos meristemáticos. Portanto, a formação das galhas é favorável às espécies galhadoras, pela qualidade nutricional dos tecidos modificados pela sua ação, além de propiciar-lhe o abrigo contra intempéries, notadamente à dessecação e outros efeitos adversos do ambiente, e a proteção contra os inimigos naturais (Price *et al.* 1987).

As plantas, por sua vez, resistem à herbivoria, de modo geral, por meio de barreiras físicas e químicas pré-existentes ou no caso das galhas, induzidas pela ação alimentar dos herbívoros. Ananthakrishnan (1990) verificou que características morfológicas e fisiológicas como pilosidade, dureza das folhas, ceras e células silicosas interferem na locomoção, alimentação e oviposição de insetos herbívoros em geral. Estas características tendem a ser ampliadas com a maturação das folhas. Deste modo, a oviposição em folhas jovens pode significar uma estratégia de escape.

Pseudotectococcus rollinae induz galhas em folhas jovens não expandidas, com baixíssimo ou nenhum grau de lignificação, o que seria uma estratégia de escape contra pelo menos algumas defesas estruturais das plantas hospedeiras. Por outro lado, os tricomas tectores encontrados nas folhas jovens não expandidas de *R. laurifolia* não impedem a indução de galhas pelas ninfas de *P. rollinae*, que ainda os utilizam como

pontos de fixação. A indução em folhas jovens permite a introdução dos estiletes nos tecidos não diferenciados que são mais propícios para o desenvolvimento de galhas. Este fato, além de constituir uma grande economia de energia por parte do indutor, uma vez que não requer um maquinário químico capaz de promover a regressão da diferenciação tecidual, dá indícios da sincronia fenológica entre indutor e hospedeiro.

Em *R. laurifolia*, verificou-se a presença de antocianinas nos tricomas presentes na protoderme da face abaxial das folhas jovens, as quais estão dobradas ao longo da nervura de primeira ordem. Na superfície adaxial, não há antocianinas nos tricomas. A distribuição destas substâncias é explicada pois sua biossíntese depende do estímulo luminoso (Mol *et al.* 1996). Há relatos de que as cores brilhantes atraem afídeos (Holopainen & Peltonen 2002) e seria possível supor que as antocianinas tenham papel na sinalização para as ninfas de *P. rolliniae* localizarem o sítio de indução de galhas nas folhas jovens de *R. laurifolia*.

Os eventos pós-indução, segundo Bronner (1992) e Rohfritsch (1992), parecem estar associados à fisiologia nutricional dos indutores. Deste modo, a compreensão das alterações morfológicas e anatômicas nos tecidos vegetais permite o entendimento da íntima associação biológica entre os agentes indutores de galhas e suas plantas hospedeiras (Souza *et al.* 2000, Kraus *et al.* 2002).

No caso dos Hemiptera, esta íntima associação se inicia com a inserção dos estiletes, exploração dos tecidos vegetais e injeção de substâncias viscosas juntamente com a saliva (Rohfritsch & Anthony 1992). Os estiletes de algumas espécies parecem seguir um curso intercelular através dos tecidos vegetais, provavelmente ajudados por enzimas salivares que dissolvem ou enfraquecem a lamela média (McAllan & Adams 1961 *apud* Miles 1968), formando uma bainha salivar. Em alguns Coccoidea e Aleyrodidae, ela pode ser facilmente analisada, apesar de ser bastante tênue (Parr 1940, Pollard 1955 *apud* Miles 1968). Aparentemente, os estiletes de *P. rolliniae* não apresentam um trajeto definido no

interior dos tecidos de *R. laurifolia*, podendo atravessar diferentes camadas celulares, passando aleatoriamente pelo interior das células até alcançarem os feixes floemáticos do teto da câmara ninfal.

O processo de inserção dos estiletes pode provocar injúrias nos tecidos adjacentes ao floema, provavelmente potencializando os sinais mecânicos e químicos produzidos durante a indução. Estes sinais geram um gradiente de crescimento das células localizadas ao redor do local de inserção dos estiletes. Este gradiente cecidogênico é dependente da distância, ou seja, quando muito intenso, este gradiente inibe as divisões celulares, mas a partir de certa distância dos estiletes, observa-se hipertrofia e hiperplasia.

Miles (1968) concluiu que insetos sugadores de seiva, incluindo espécies galhadoras, tendem a injetar substâncias dentro dos tecidos vegetais, aumentando sua qualidade nutricional. Sua saliva pode conter polifenoloxidasas que seriam capazes de neutralizar as substâncias fenólicas e que também poderiam estar envolvidas no balanço da produção de auxinas ou similares. Jacobs (1952) claramente demonstrou que a auxina produzida por folhas jovens em crescimento, era o principal fator que limitava e controlava a regeneração do xilema ao redor de ferimentos em *Coleus*. Por outro lado, Mapes & Davies (2001b) demonstraram que auxinas estimulam a formação de galhas de *Eurosta solidaginis* em *Solidago altissima*. A idéia de que substâncias cecidogênicas seriam injetadas na planta estimularam uma pesquisa detalhada na composição da saliva dos afídeos (Miles 1999), mas nenhum componente cecidogênico foi identificado. Porém, substâncias que causam hipertrofia celular foram isoladas de galhas do afídio *Colopha* (Ohta *et al.* 2000).

As auxinas também são relacionadas ao crescimento em galhas, sendo apontadas por Hartley (1999) e Miles (1999) como a principal explicação para este fenômeno. Outros trabalhos sugerem que também há contribuição de citocininas (Mapes & Davies 2001a),

porém, o elemento mais crítico que ainda não foi elucidado é o mecanismo iniciador preciso, envolvendo uma célula isolada da planta hospedeira, ou um pequeno grupo de células que recebem o estímulo inicial do inseto (Raman 2007). Apesar desta dúvida, Rohfritsch (1992) sugere que o inseto não injeta nenhuma substância específica dentro das células da planta. Ele atacaria as células vegetais com suas mandíbulas quitinosas e secreções salivares, gerando uma ferida. Através desta injúria, várias moléculas se tornariam ativas nas células atacadas, as quais induziriam as respostas nas células ao seu redor resultando na formação da galha. É possível supor, portanto, que tanto o desenvolvimento geral quanto o aumento da vascularização das galhas se deve à ação conjunta de auxinas sintetizadas por *R. laurifolia* como resposta à injúria causada pelo hábito alimentar de *P. rolliniae*.

De acordo com Rohfritsch e Shorthouse (1992), não há essencialmente nenhum processo fisiológico novo ou nenhuma via metabólica nova nos tecidos das galhas de insetos. No entanto, existem autores que afirmam que os insetos galhadores podem alterar a composição química e a distribuição de metabólitos secundários das plantas para seu próprio benefício (Abrahamson & Weis, 1987; Hartley, 1998; Nyman & Julkunen-Tiitto, 2000; Allison & Schultz, 2005). Além disso, Retuerto e colaboradores (2004) demonstraram que a eficiência fotossintética de plantas aumenta em resposta à infestação por coccídeos (fotossíntese compensatória).

Em adição ao aumento da produção de fotoassimilados, evidências experimentais mostram que os indutores de galhas manipulam o deslocamento de recursos das plantas para seu benefício. Estes herbívoros podem concentrar nutrientes e metabólitos das plantas nos tecidos das galhas, mobilizando recursos dos tecidos vegetais adjacentes (Stone *et al.* 2002, Whitham 1992, Fay *et al.* 1993 *apud* Stone & Schönrogge 2003).

A mobilização de recursos por parte das galhas desvia recursos que seriam alocados para o crescimento e reprodução da planta hospedeira (McCrea *et al.* 1985; Abrahamson & Weis 1987; Bronner 1992, Larson & Whitham 1991). A redução no tamanho das folhas de *R. laurifolia* em decorrência da infestação por *P. rolliniae* (Gonçalves *et al.* 2005) sugere alterações na expressão de genes envolvidos no formato e tamanho das folhas. Apesar de estes genes já terem sido mapeados, os mecanismos reguladores de sua expressão ainda são incertos (Tsukaya 2003). A redução da área foliar também atesta a presença, nas galhas de *P. rolliniae* em *R. laurifolia*, de potentes drenos de nutrientes que poderiam ser utilizados para o desenvolvimento do órgão hospedeiro. No sistema estudado, além de neoformações teciduais em decorrência da formação de galhas, próximo ao local de inserção dos estiletes dos indutores, foram notadas neoformações de tecidos procambiais e de cavidades secretoras formadas pela degeneração das células hipertrofiadas.

As folhas sadias de *R. laurifolia* seguem um padrão na distribuição de feixes vasculares, mas nas galhas foliares de *P. rolliniae* ocorrem modificações neste padrão, representadas pela formação dos feixes exclusivamente floemáticos, no teto das câmaras ninfais. Alteração semelhante foi observada anteriormente por Arduin e colaboradores (2005), que verificaram aumento no floema das galhas induzidas por *Psyllidea* em *Baccharopelma dracunculifoliae* e por Butignol e Pedrosa-Macedo (2003) que descrevem o desenvolvimento de uma grande quantidade de tecido parenquimático e vascular, com predominância de floema em outra galha de *Psyllidae*.

Todas as transformações teciduais resultam em galhas de formas distintas, formas estas espécie-específicas, ou seja, galhas induzidas por indivíduos de uma mesma espécie são muito similares em forma, enquanto as galhas induzidas por diferentes espécies de indutores em um mesmo órgão de uma planta são diferentes (Mani 1964). Esta observação suporta a hipótese de que os insetos, e não a planta hospedeira, regulam a forma das galhas

(Cornell 1983), as quais representam o fenótipo estendido dos indutores, pois, embora compostas pelos mesmos tecidos vegetais, seu desenvolvimento é amplamente controlado pelos genes dos insetos indutores (Stone & Schönrogge 2003, Stern 1995).

Um dos aspectos intrigantes do sistema *P. rollinae* – *R. laurifolia* é a contraposição do fenótipo estendido decorrente do reflexo do dimorfismo sexual no fenótipo das galhas já descrito para os Eriococcidae. As diferenças fenotípicas observadas entre as galhas induzidas pelas fêmeas e àquelas induzidas pelos machos pode ser explicada pelas peculiaridades do desenvolvimento de cada sexo. Enquanto as fêmeas de *P. rollinae* são volumosas, se alimentam por todo o período de desenvolvimento da galha foliar e induzem galhas esféricas, os machos, de corpo alongado, induzem galhas de formato cônico, semelhantes ao formato de seu organismo, especialmente o abdome. Outra evidência é o maior crescimento observado nas galhas induzidas pelas fêmeas em relação àquelas induzidas pelos machos. Isto está relacionado à maior quantidade de floema e ao grande desenvolvimento de parênquima e esclerênquima ao redor da câmara superior da galha induzida pelas fêmeas. As células parenquimáticas protegeriam as fêmeas contra dessecação (Meyer & Maresquelle 1983, Mendonça Jr. *et al.* 1997), enquanto o tecido mecânico provavelmente protegeria os insetos contra o ataque de predadores e parasitóides (Kraus *et al.* 1996, 1998). Além disso, a lignificação das projeções de M3 e da epiderme que formaram o ostíolo interno garantiria maior proteção e sustentação para o corpo robusto das fêmeas.

O maior crescimento das galhas induzidas pelas fêmeas de *P. rollinae* também permite concluir que quanto maior o tempo de permanência do inseto nas galhas, mais os estímulos que desencadeiam as modificações anatômicas e químicas dos tecidos constituintes das galhas são prolongados. A quantidade de estímulo necessária para induzir a formação de galhas é dose dependente (McKinnon *et al.* 1999), e portanto, a presença

contínua do indutor é o fator determinante para o desenvolvimento de galhas causadas por insetos. Durante a metamorfose dos machos de *P. rolliniae*, ou seja, no estágio de prepupa, a alimentação é interrompida, mas os estiletos continuam inseridos nos tecidos vegetais. Assim, mesmo após a saída dos machos, suas galhas não iniciam o processo de senescência, provavelmente devido ao estímulo mecânico contínuo dos estiletos nos tecidos da galha.

Os inúmeros tricomas encontrados nas galhas de *P. rolliniae* na abertura do ostíolo interno provavelmente garantem a umidade necessária ao desenvolvimento dos ovos e eclosão das ninfas, sendo esta função semelhante à dos tricomas da abertura das galhas de *Phylloxera* induzidas em espécies de *Vitis* (Granett *et al.* 2001). Outro fator responsável pelo controle da umidade em galhas de *R. laurifolia* é a presença de cera produzida pelas fêmeas após a inseminação, a qual sela o ostíolo interno e a posterior oviposição que ocorre sobre esta cera, que também impede que os ovos caiam. Esta secreção é típica de Coccoidea e demonstra certo cuidado parental, pois mantêm os ovos e ninfas protegidos de intempéries, tais como calor excessivo, predadores e parasitas (Gullan & Kosztarab 1997).

Após a eclosão dos ovos e a saída dos “crawlers”, não houve alterações significativas nos tecidos das galhas, indicando que a senescência das galhas está diretamente associada a senescência foliar. Mais uma vez, foi detectada uma etapa de sincronia fenológica entre os organismos desta interação.

Após a eclosão e saída dos “crawlers”, as galhas encontram-se todas no estágio de senescência e o primeiro instar ninfal deve procurar um abrigo até o próximo ciclo de brotamento de folhas por *R. laurifolia*.

CONCLUSÕES

As galhas desenvolvidas nas folhas de *Rollinia laurifolia* desde o início de seu desenvolvimento constituem o fenótipo estendido de seus indutores, *Pseudotectococcus rollinae*.

Nos estágios de indução e crescimento, o comportamento das células é similar independentemente do sexo do indutor. Nestes estágios, predominam as etapas comuns a morfogênese de galhas de insetos, ou seja, a hipertrofia celular e a hiperplasia dos tecidos.

O dimorfismo sexual dos insetos é refletido nas galhas foliares desde o início do estágio de maturação com a formação de duas câmaras nas galhas induzidas pelas fêmeas.

Fêmeas inseminadas, ovos e “crawlers” são protegidos dentro das galhas das fêmeas pelo esclerênquima bastante desenvolvido, abundância de parênquima, tricomas tectores no ostíolo interno e cera produzida pelas fêmeas.

Nas galhas induzidas pelos machos, em função da passagem pelos instares prepupa e pupa que não se alimentam, a maturação é precoce sendo caracterizada pela lignificação dos tecidos ao redor da câmara única.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahamson, W.G. & Weis, A.E. 1987. Nutritional ecology of arthropod gall makers. In Slansky, F. Rodriguez, G. ed. *Nutritional Ecology of Insects, Mites, Spiders and Related Invertebrates*. New York: Wiley. 235-258
- Allison, S.D. & Schultz, J.C. 2005. Biochemical responses of chestnut oak to a galling cynipid. *Journal of Chemical Ecology* 31:151-166
- Ananthakrishnan, T.N. 1990. Facets of chemical ecology in insect–plant interactions: An overview. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences. Animal sciences*. 99: 177–183
- Arduin, M. 1992. Estudo morfológico e ontogenético de galhas foliares em jacaré – *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) Macbr. (Fabales, Mimosaceae). *Dissertação de mestrado*, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo
- Arduin, M.; Fernandes, G.W & Kraus, J.E. 2005. Morphogenesis of galls induced by *Baccharopelma dracunculifoliae* (Hemiptera: Psyllidae) on *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) leaves. *Brazilian Journal of Biology* 65(4) 559-571
- Arduin, M. & Kraus, J.E. 1995. Anatomia e Ontogenia de galhas foliares de *Piptadenia gonoacantha* (Fabales, Mimosaceae). *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 14:109-130
- Bronner, R. 1992. The role of nutritive cells in the nutrition of cynipids and cecidomyiids. In: Shorthouse, J. D. & Rohfritsch, O. Edits. *Biology of Insect-induced Galls*, Oxford University Press, New York, 118–140
- Bukatsch, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. *Mikrokosmos* 61:255

- Butignol, C.A. & Pedrosa-Macedo, J.H. 2003. Biologia de *Neotrioza tavaresi* Crawford, 1925 (Hemiptera, Psyllidae), galhador da folha do araçazeiro (*Psidium cattleianum*). *Revista Brasileira de Entomologia* 47(1):1-7
- Carrocini, R. 1989. Aspectos ontogenéticos, morfológicos e estruturais da galha foliar de *Phoebe brasiliensis* Mez. (Lauraceae). Dissertação de Mestrado do Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo
- Cockerell, T.D.K. 1890. Galls. *Nature* (London) 42:344
- Cornell, H.V. 1983. The secondary chemistry and complex morphology of galls formed by the Cynipinae (Hymenoptera): why and how? *American Midl. Naturalist* 110:225–234
- Dawkins, R. 1982. *The extended phenotype: the gene as a unit of selection*. Freeman, San Francisco
- Dreger-Jauffret, F. & Shorthouse, J.D. 1992. Diversity of gall-inducing insects and their galls, p. 8-33. In: Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O. Edits. *Biology of Insect-Induced Galls*. Oxford: Oxford University Press
- Farmer, E.E. 2000. Potent mitogenic lipids from gall-inducing insects. *Trends in Plant Science*. 5 (9) 359-360
- Fay, P.A.; Hartnett, D.C. & Knapp, A.K. 1993. Increased photosynthesis and water potentials in *Silphium integrifolium* galled by cynipid wasps. *Oecologia* 93: 114- 120
- Gonçalves, S.J.M.R.; Isaias, R.M.S.; Vale, F.H.A. & Fernandes, G.W. 2005. Sexual dimorphism of *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) influences gall morphology on *Rollinia laurifolia* Schldl. (Annonaceae). *Tropical Zoology* 18:161-169
- Granett, J.; Walker, M.A.; Kocsis, L. & Omer, A.D. 2001. Biology and management of grape Phylloxera. *Annual Review of Entomology* 46:387-412

- Gullan, P.J. & Kosztarab, M. 1997. Adaptations in scale insects. *Annual Review of Entomology* 42: 23–50
- Gullan, P.J. & Martin, J.H. 2003. Sternorrhyncha (jumping plant-lice, whiteflies, aphids, and scale insects), pp. 1079-1089. In: Resh V.H. & Cardé R.T. Edits. *Encyclopedia of Insects*. Amsterdam: Academic Press
- Gullan, P.J.; Miller, D.R. & Cook, L.G. 2005. Gall-inducing scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea). pp. 159-229. In: Raman A. *et al.* Edits. *Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Arthropods*. New Delhi: Oxford & IBH Publishing Co. Pvt Ltd..
- Hartley, S.E. 1998. The Chemical composition of plant galls: are level of nutrients and secondary compounds controlled by gall-former? *Oecologia* 113: 492-501
- Hartley, S.E. 1999. Are gall insects large rhizobia? *Oikos* 84:333-342
- Hempel, A. 1935. Three new species of Coccidae (Hemiptera-Homoptera) including three new genera and one new sub-family from Brazil. *Arbeiten über morphologische und taxonomische entomologie aus Berlin-Dahlem* 1: 56-62
- Hempel, A. 1937. Novas espécies de coccídeos (Homoptera) do Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*. São Paulo, 8: 5-36
- Hodgson, C.J.; Gonçalves, S.J.M.R.; Miller, D. & Isaias, R.M.S. 2004. A key to genera of Eriococcidae (Hemiptera: Coccoidea) from the Neotropical region and a revision of *Pseudotectococcus* Hempel (Eriococcidae), a gall inducing scale insect genus from Brazil, with a description of a new species. *Lundiana* 5 (1): 51-72
- Holopainen, J.K. & Peltonen, P. 2002. Bright autumn colours of deciduous trees attract aphids: nutrient retranslocation hypothesis. *Oikos* 99: 184-188
- Isaias, R.M.S. 1998. Galhas entomógenas em *Machaerium* (Leguminosae-Papilionoidae): anatomia e histoquímica. *Tese de doutorado*. Universidade de São Paulo, São Paulo

- Jacobs, W.P. 1952. The role of auxin in differentiation of xylem around a wound. *American Journal of Botany* 39: 301-309. In: Aloni, R. 1987. Differentiation of Vascular Tissues. *Annual review of plant physiology* 38:179-204
- Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Co.
- Koteja, J.; Fosciak, G.P.; Vogelgesang, M. Szklarzewicz, T. 2003. Structure of the ovary in *Steingelia* (Sternorrhyncha - Coccinea), and its phylogenetic implications. *Arthropod Structure & Development* 32:247–256
- Kraus, J.E.; Arduin, M.; Solórzano Filho, J.A. & Isaias, R.M.S. 1998. Respostas morfogênicas de plantas brasileiras a insetos galhadores. pp. 345-354. In: Bacigalupo, N. & Fortunato, R. Edits. *Proceedings of the VI Congreso Latinoamericano de Botânica*. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press
- Kraus, J.E.; Arduin, M. & Venturelli, M. 2002. Anatomy and ontogenesis of hymenopteran leaf galls of *Struthanthus vulgaris* Mart. (Loranthaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 25(4) 449-458
- Kraus, J.E.; Montenegro, G. & Kim, A.J. 1993. Morphological studies on entomogenous stem galls of *Microgramma squamulosa* (Kauf.) Sota (Polypodiaceae). *American Fern Journal*. 83(4): 120-128
- Kraus, J.E.; Sugiura, H.C. & Cutrupi, S. 1996. Morfologia e ontogenia em galhas entomógenas de *Guarea macrophylla* subsp. *tuberculata*. *Fitopatologia Brasileira* 21(3):349-356
- Larson, K.C. & Whitham, T.G. 1991. Manipulation of food resources by a gall-forming aphid: the physiology of sink-source interactions. *Oecologia* 88: 15-21
- Linsenmaier, W. 1972. *Insects of the World*. New York: McGraw-Hill Book Co.
- Maas, P.J.M. & Westra, L.Y.Th. 1992. *Rollinia*. *Flora Neotropica* 57: 1-189
- Mani, M.S. 1964. *Ecology of Plant Galls*. Hague. Dr. W. Junk Publishers

- Mapes, C.C. & Davies, P.J. 2001a. Cytokinins in the ball gall of *Solidago altissima* and the gall-forming larvae of *Eurosta solidaginis*. *New Phytologist*. 151: 203–212
- Mapes, C.C. & Davies, P.J. 2001b. Indole-3-Acetic Acid and Ball Gall Development on *Solidago altissima*. *New Phytologist* 151(1): 195-202
- McAllan, J.W. & Adams, J.B. 1961. The significance of pectinase in plant penetration by aphids. *Canadian Zoology*. 39, 305-10 In: Miles, P.W. 1968. Insect Secretions in Plants. *Annual Review of Phytopathology* 6:137-164
- McCrea, K.D., Abrahamson, W.G. & Weis, A.E. 1985. Goldenrod ball gall effects of *Solidago altissima*: ¹⁴C translocation and growth. *Ecology* 66:1902-1907
- McKinnon, M.L.; Quiring, D.T. & Bauce, E. 1999. Influence of Tree Growth Rate, Shoot Size and Foliar Chemistry on the Abundance and Performance of a Galling Adelgid. *Functional Ecology* 13(6) 859-867
- Mendonça Jr., M.S.; Romanowski, H.P. & Kraus, J.E. 1997. Broad overview of a gall-system: from plant anatomy to ecological interactions. pp. 327-328. In: Csòka, G. *et al.* Edits. *The Biology of Gall-Inducing Arthropods*. St. Paul: Forest Service - U.S. Department of Agriculture
- Meyer, J. 1987. *Plant Galls and Gall Inducers*. Berlin: Gebrüder Borntraeger
- Meyer, J. & Maresquelle, H.J. 1983. *Anatomie des Galles*. Berlin: Gerbrüder Borntraeger
- Miles, P.W. 1968. Insect Secretions in Plants. *Annual Review of Phytopathology* 6:137-164
- Miles, P.W. 1999. Aphid saliva. *Biological Reviews* 74:41–85
- Mol, J.; Jenkin, G.I.; Schäfer, E. & Weiss, D. 1996. Signal perception, transduction, and gene expression involved in anthocyanin biosynthesis. *Critical Reviews in Plant Sciences* 15:525–557
- Moura, M.Z.D. 2007. Padrões anatômicos relacionados à cecidogênese em *Lantana camara* (Verbenaceae). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais.

- Nyman, T. & Julkunen-Tiitto, R. 2000. Manipulation of the phenolic chemistry of willows by gall-inducing sawflies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 13184-13187
- Ohta, S.; Kajino, N.; Hashimoto, H. & Hirata, T. 2000. Isolation and identification of cell hypertrophy-inducing substances in the gall forming aphid *Colopha moriokaensis*. *Insect Biochemistry Molecular Biology* 30:947-952
- Oliveira, D.C. 2007. Relações entre ontogenia foliolar e idade dos tecidos para o valor adaptativo de galhas em *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae). *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal de Minas Gerais
- Parr, T.J. 1940. *Asterolecanium variolosum* Ratzenburg: a gall-forming coccid and its effect upon the host trees. *Yale University. School Forestry Bull.* 46, 1-49. In: Miles, P.W. 1968. Insect Secretions in Plants. *Annual Review of Phytopathology* 6:137-164
- Pollard, D.G. 1955. Feeding habits of the cotton whitefly *Bernisia tabaci* Germ. (Homoptera: Aleyrodidae). *Annals of Applied Biology.* 43, 664-671. In: Miles, P.W. 1968. Insect Secretions in Plants. *Annual Review of Phytopathology* 6:137-164
- Price, P.W., Fernandes, G.W. & Waring, G.L. 1987. Adaptive nature of insect galls. *Environmental Entomology* 16:15-24
- Price, P.W., Waring, G.L. & Fernandes, G.W. 1986. Hypotheses on the adaptive nature of galls. *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 88(2):361-363
- Raman, A. 2007. Insect induced plant galls of India: unresolved questions. *Current Science* 92 (6): 748-757
- Retuerto, R.; Fernandez-Lema, B.; Rodriguez-Roiloa & Obeso, J.R. 2004. Increased photosynthetic performance in holly trees infested by scale insects. *Functional Ecology* 18:664-669
- Rohfritsch, O. 1992. Patterns in gall development. pp. 60-86. In: Shorthouse J.D. &

Rohfritsch O. Edits. *Biology of Insect-Induced Galls*. Oxford: Oxford University Press

Rohfritsch, O. & Anthony, M. 1992. Strategies in gall induction by two groups of homopterans. pp. 102-117. In: Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O. Edits. *Biology of Insect-Induced Galls*. Oxford: Oxford University Press

Soares, G.L.G.; Isaias, R.M.S.; Gonçalves, S.J.M.R. & Christiano, J.C.S. 2000. Alterações químicas induzidas por coccídeos galhadores (Coccoidea, Brachyscelidae) em folhas de *Rollinia laurifolia* Schtdl. (Annonaceae). *Revista Brasileira de Zoociências* 2: 103-116

Souza, S.C.P.M.; Kraus, J.E.; Isaias, R.M.S. & Neves, L.J. 2000. Anatomical and ultrastructural aspects of leaf galls in *Ficus microcarpa* L.F. (Moraceae) induced by *Gynaikothrips ficorum* Marchal (Thysanoptera). *Acta Botanica Brasilica* 14(1):57-69

Stern, D.L. 1995. Phylogenetic evidence that aphids, rather than plants, determine gall morphology. *Proceedings of Royal Society of London* 260:85–89

Stone, G.N.; Schönrogge, K.; Atkinson, R.J.; Bellido, D. & Pujade-Villar, J. 2002. The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae). *Annual Review of Entomology* 47: 633-668

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

Szklarzowicz, T. 1998. Structure of ovaries in scale insects. I. Pseutococcidae, Kermesida, Eriococcidae, and Cryptococcidae (Insecta, Hemiptera, Coccinea). *International Journal of Morphology and Embryology* 27(3):167-172

Tsukaya, H. 2003. Organ shape and size: a lesson from studies of leaf morphogenesis. *Current Opinion in Plant Biology*. 6:57-62

- Vitorino, M.D.; Pedrosa-Macedo, J.H. & Smith, C.W. 2000. The biology of *Tectococcus ovatus* Hempel (Heteroptera: Eriococcidae) and its potential as a biocontrol agent of *Psidium cattleianum* (Myrtaceae). pp. 651-657. In: Spencer, N.R. Edit. *Proceedings of the International Symposium on Biological Control of Weeds*. Bozeman: Montana State University
- Whitham, T.G. 1992. Ecology of *Pemphigus* gall aphids. 225–237. In: Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O. Edits. *Biology of Insect-Induced Galls*. Oxford: Oxford University Press

CAPÍTULO 4

A unique seasonal cycle in a leaf gall-inducing insect: the
formation of stem galls for dormancy

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/240238519>

A unique seasonal cycle in a leaf gall-inducing insect: the formation of stem galls for dormancy

Article in *Journal of Natural History* · April 2009

DOI: 10.1080/00222930802615690

CITATIONS

16

READS

74

3 authors, including:



Gilson Moreira

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

141 PUBLICATIONS 976 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Rosy Mary dos Santos Isaías

Federal University of Minas Gerais

132 PUBLICATIONS 1,697 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Prospection of markers associated with dieback tolerance in Eucalyptus [View project](#)



Levantamento da diversidade de galhas entomógenas da restinga do Parque Estadual do Acaraí (São Francisco do Sul, SC, Brasil) [View project](#)

This article was downloaded by: [Isaias, Rosy M. S.]

On: 14 March 2009

Access details: Access Details: [subscription number 909514385]

Publisher Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Journal of Natural History

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title-content=t713192031>

A unique seasonal cycle in a leaf gall-inducing insect: the formation of stem galls for dormancy

Samuel J. M. R. Gonçalves ^a; Gilson R. P. Moreira ^b; Rosy M. S. Isaias ^a

^a Departamento de Botânica, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil ^b Departamento de Zoologia, IB, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

Online Publication Date: 01 April 2009

To cite this Article Gonçalves, Samuel J. M. R., Moreira, Gilson R. P. and Isaias, Rosy M. S. (2009) 'A unique seasonal cycle in a leaf gall-inducing insect: the formation of stem galls for dormancy', *Journal of Natural History*, 43:13, 843 — 854

To link to this Article: DOI: 10.1080/00222930802615690

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/00222930802615690>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

A unique seasonal cycle in a leaf gall-inducing insect: the formation of stem galls for dormancy

Samuel J.M.R. Gonçalves^a, Gilson R.P. Moreira^b and Rosy M.S. Isaias^{a*}

^aDepartamento de Botânica, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil; ^bDepartamento de Zoologia, IB, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

(Received 14 November 2007; final version received 9 November 2008)

The mechanisms by which gall-inducing insects cope with variation in their host plant phenology are poorly known. *Pseudotectococcus rolliniae* Hodgson and Gonçalves (Hemiptera: Eriococcidae) induces leaf galls in *Rollinia laurifolia* Schltdl. (Annonaceae), which loses its leaves during the dry season. The fate of the gall-inducing stage during that season was determined by sampling a natural population of *P. rolliniae* during 3 years. Morphometric comparison among different larval instars and morphological descriptions of plant and gall features were performed. Crawlers leave the galls before leaf fall and move to the stems, where they induce a second gall morphotype and undergo dormancy throughout the dry season. They moult when the vernal rains begin, move to sprouting leaves and induce leaf galls, as second-instar nymphs, not as crawlers as is usual for Eriococcidae. This is the first report of an insect gall induced for dormancy, which is likely to be a true diapause phenomenon.

Keywords: Annonaceae; Eriococcidae; *Pseudotectococcus rolliniae*; *Rollinia laurifolia*; seasonal adaptation

Introduction

Gall-inducing adult male eriococcids are free-living, flying insects. Nevertheless, gall-inducing females are bigger, apterous and sessile, remaining inside their galls as adults, where they are located and inseminated by males. Oviposition and embryonic development also occur inside the galls. After hatching, first-instar nymphs (=crawlers) leave the gall, locate a new site and start a new gall cycle (Gullan and Kosztarab 1997; Gullan and Martin 2003; Gullan et al. 2005). Crawler dispersal is usually by wind (Hill 1980; Moran et al. 1982; Yardini 1987; Vitorino et al. 2000), and no specific data suggest how eriococcids spend dry or cold seasons, except by the exudations of wax, which might help to prevent desiccation (Gullan et al. 2005).

Rollinia laurifolia (Schltdl.) (Annonaceae) is endemic to Minas Gerais State, Brazil (Maas and Westra 1992), and is commonly parasitized by a leaf gall inducer, *Pseudotectococcus rolliniae* Hodgson and Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) (Hodgson et al. 2004), which causes severe harm to tree crowns. *Rollinia laurifolia* loses its leaves during the dry season (from June to September). As a result, *P. rolliniae* does not have oviposition sites available to induce the sexually dimorphic leaf galls (Hodgson et al. 2004; Gonçalves et al. 2005) during that season. Sexual dimorphism of gall-inducing eriococcids has been established (Linsenmaier

*Corresponding author. Email: rosy@icb.ufmg.br

1972; Gullan and Kosztarab 1997; Gullan and Martin 2003; Gullan et al. 2005), and was also recorded for the first instar of *Apiomorpha* (Cook et al. 2000). Gall-inducing insects are largely accepted as highly species-specific (Redfern and Askew 1992), and there is no indication that *P. rollinae* has a second host plant. Where the crawlers occur during the dry season, when leaves are absent from the host plant, therefore remained unknown.

In this study, we determined the fate of the gall-inducing stage of *P. rollinae* during the dry season by sampling a natural population, searching for the nymphs, and comparing the morphology of different instars. Morphological descriptions of both plant and gall features are also provided.

Material and methods

Field observation and material collection

A small population ($n=6$) of highly infested *R. laurifolia* trees (about 93.8% of the leaves) (Gonçalves et al. 2005) was observed monthly from January 2002 to May 2005 at Fundação Zoo-Botânica in Belo Horizonte City, Minas Gerais State, Brazil. Additional observations of several trees suggested that there was no variation in infestation among them. On these occasions, different plant parts were searched for the presence of nymphs of *P. rollinae*. Plant materials were collected in September and December 2004 because these were the periods when nymphs were concurrently located on leaves and stems. The samples from September 2004 (after the start of the rainy season) consisted of 10 shoots with young leaves (five nodes from the apex) per plant, and the samples from December 2004 were composed of 10 shoots with galled leaves. Both material types were fixed in 37% formaldehyde, acetic acid and 50% ethanol, 1 : 1 : 18 (volume/volume; FAA) (Johansen 1940).

Stems and young leaves, and 10 randomly selected leaf galls induced by *P. rollinae* were dissected in the laboratory under a stereomicroscope (Olympus SZH). All nymphs and exuviae that were found during the dissections were fixed in 70% ethanol. In the September sample, they accounted for 65 individuals on the young leaves and 63 on the stems, and in December, 246 individuals were located in the leaf galls and 42 on the stems.

It is known that heavily sclerotized structures do not increase in size within a given insect larval instar (reviewed by Daly 1985); this was the reason why linear measurements were used for instar identification, as already demonstrated for *P. rollinae* by Hodgson et al. (2004). To identify instars on the corresponding plant parts, 30 nymphs from each of the above groups were first cleared in 10% potassium hydroxide for 10 minutes in a double boiler. They were then washed in running water, embedded in 50% liquid glycerine, and mounted in glycerine jelly (Jensen 1962). Finally, we measured the metathoracic tarsal and tibial length along their median line using a compound microscope (Olympus BHT-BH2) equipped with an ocular micrometer. The length values reported herein are slightly smaller than those reported by Hodgson et al. (2004), but this may be because of differences in measurement procedure.

To test for the existence of differences in such measures among instars, the data were subjected to a one-way analysis of variance, followed by Tukey's multiple comparison test.

Fragments of stem branches that were fixed in FAA were dehydrated in a butylic series, embedded in Paraplast[®], and sectioned (12 μm) in a rotative micrometer (Reichert-Jung[®]). Sections were stained in safranin and astra blue (Bukatsch 1972), and in Sudan red B (Jensen 1962) for structural analysis and suberin detection. All slides were mounted in Entellan[®].

Additional samples of young leaves and stem branches of *R. laurifolia*, either with or without *P. rollinae* nymphs, were dehydrated in an ethanol series and rinsed in acetone followed by critical point drying (Bal-tec[®], CPD 030), and coated with gold in a sputter coater (Bal-tec[®], SCD 050) for scanning electron microscopic analysis (O'Brien and McCully 1981). Specimens were observed and photographed in a scanning electron microscope (JEOL[®], JSM-5800).

Results

Phenological observations

The observed *Rollinia laurifolia* trees were completely deciduous during the dry season (from June to September–October) (Figure 1). At the beginning of the rainy period, in spring (September–October), leaf sprouting occurred simultaneously all over the trees. In December, almost 93.8% of *R. laurifolia* leaves were galled. The beginning of leaf gall cycles is concomitant with leaf sprouting and lasts from 44 to

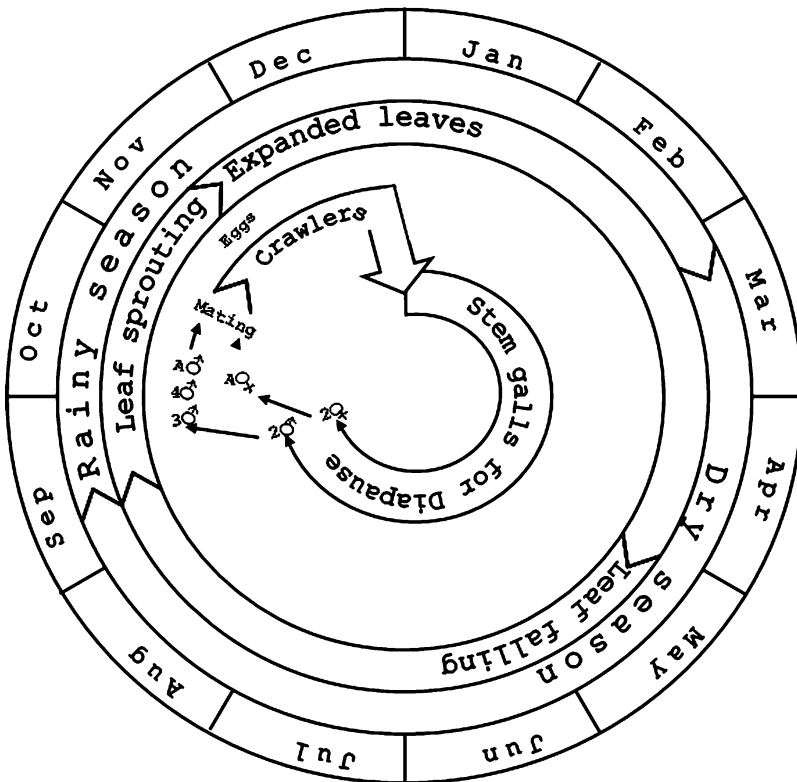


Figure 1. Schematic representation of *Pseudotectococcus rollinae* annual life cycle on *Rollinia laurifolia* plants. Numbers from two to four represent nymphal instars.

50 days for galls induced by females, and from 14 to 20 days for those induced by males. From November to December, therefore, crawlers moved to stem branches (Figure 1). Also, the non galled leaves (6.2%) recorded in Gonçalves et al. (2005) were the last leaves to be produced, at the end of the leaf-sprouting period (November), and escaped from gall induction. A search for crawlers that was carried out on the leaf floor resulted only in empty galls being found. It was therefore reasonable to assume that there are no more free-living crawlers to start a second generation of leaf galls in these late-produced leaves.

Pseudotectococcus rolliniae

Nymphs were grouped into three categories:

- (1) stem nymphs – those located near petiole insertions (Figure 2A,B)
- (2) leaf nymphs – those found on leaves, outside galls (Figure 2C,D)
- (3) crawlers – those hatched from the eggs, still located inside the leaf galls (=first-instar nymphs for certainty, used as the reference instar, Figure 2E).

In the September sample, several exuviae of *P. rolliniae* were found on the stems (Figure 2F). Conspicuous morphological differences regarding shape among these nymph categories were not detected. Crawlers, stem nymphs and the exuviae did not vary significantly in their average tibial and tarsal lengths. However, those from the leaf category were significantly (89.8%) longer (Figure 3; Table 1).

Rollinia laurifolia

Stem branches had numerous lenticels, which were formed from the redifferentiation of the cortical layer adjacent to the epidermis (Figure 4A). They developed into unidirectional phellogens (secondary meristem) whose first division originated the first suber layer (cork) (Figure 4B). Phellogen activity (Figure 4C) originated an ordinary lenticel (Figure 4D) with complementary cells and closing layers.

Rollinia laurifolia–*Pseudotectococcus rolliniae* features

Stem nymphs were found inside concavely shaped galls (Figure 5A), each one containing from one to three nymphs. These structures were formed by a bidirectional phellogen, whose activity resulted in a lenticel-like tissue characterized by complementary cells and closing layers outwards, and a phelloderm inwards (Figure 5B). Epidermis was present beneath the insects in the galls (confirmed by the positive reaction of the cuticle to Sudan red B) (Figure 5C). *Pseudotectococcus rolliniae* exuded wax inside these galls, and remained immobile throughout the dry season (Figure 2B). When the rains started, the nymphs moulted inside the stem galls, where the exuviae were found. These second-instar nymphs moved to the newly formed leaves and initiated new galls; this characterized the leaf nymphs. In December, several nymphs were found on the stem, near the petiole insertion, with stylets inserted into the plant tissue (Figure 5E,F), starting a new gall cycle.

Discussion

We interpret our findings with *P. rolliniae* as strong evidence for the existence of dormancy during the dry season, with the induction of a gall on the stem, and the

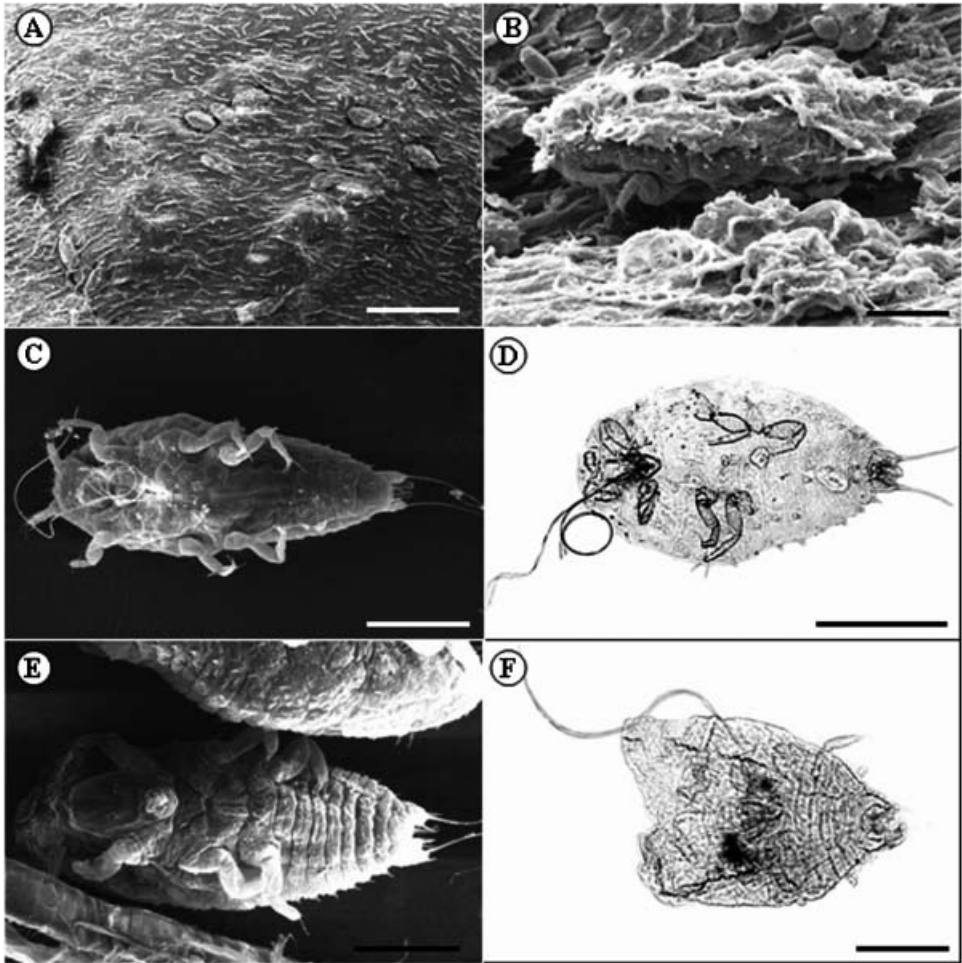


Figure 2. *Pseudotectococcus rolliniae* scanning electron micrographs (A–C, E) and photomicrographs (D, F). (A) Stem nymphs (=first instar="stationary crawlers") located into dormancy galls. (B) Detail of a stem nymph under dormancy, showing body wax exudation covering. (C, D) Leaf nymphs (=second-instar) collected from surfaces of young leaves. (E) Crawler, still inside leaf gall. (F) Exuviae, found in dormancy stem gall. Scale bars: 500 μm (A), 50 μm (B), 100 μm (C, D), 50 μm (E, F).

associated morphological and behavioural changes that nymphs undergo as part of the dormancy syndrome (*sensu* Tauber et al. 1986). We propose that the first instars of *P. rolliniae* perceive cues that precede the unfavourable conditions (dry season), and they respond by undergoing a stereotyped pattern of behavioural and physiological changes that once started is not reversed until the dry season has ended. These changes include movement to the stem, some sort of interaction with the host plant that induces the stem gall for dormancy, as well as suppressed development and presumably low metabolic rates.

Once *R. laurifolia* loses its leaves at the dry season, there are no feeding sites for the crawlers, and consequently leaf gall induction could not take place during that

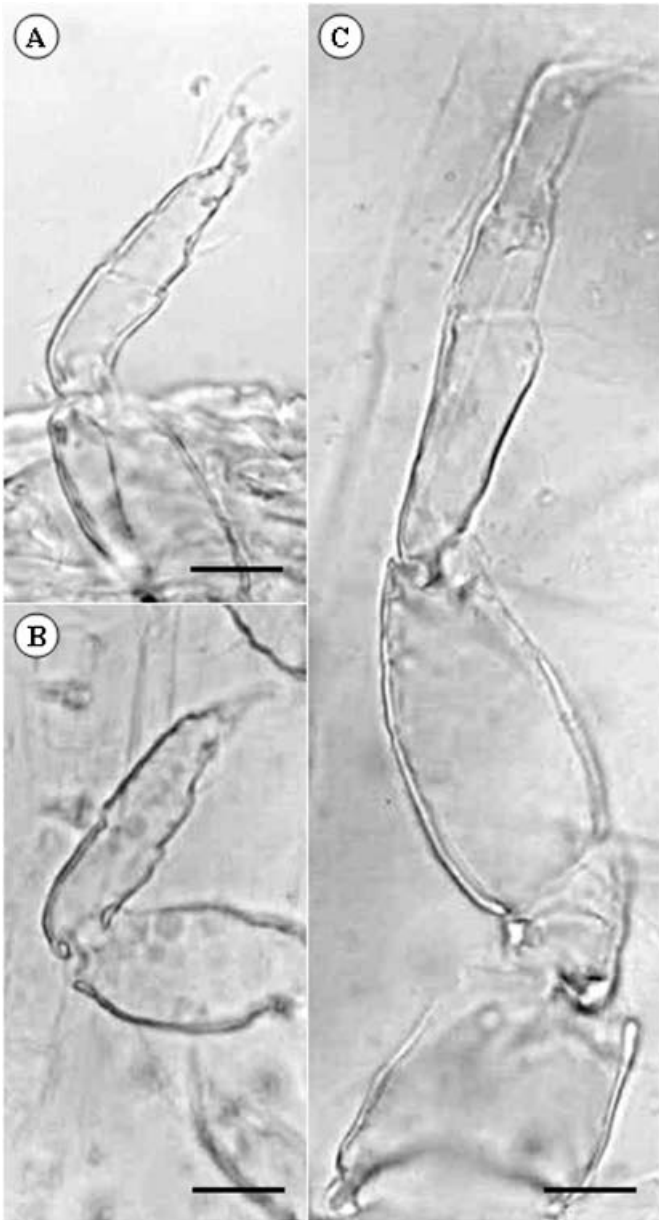


Figure 3. Light micrographs of the *Pseudotectococcus rollinae* metathoracic leg distal portion. (A) Exuviae from the first moult. (B) Crawler (=first instar). (C) Leaf nymph (=second-instar). Scale bars: 10 μ m.

time. There is no indication that they undergo dormancy into the maternal galls because additional observations showed that these were empty before leaf fall. The life cycle of *P. rollinae* is therefore adjusted to the host plant phenology, and so the insects must leave the maternal gall before this event. They move to the stem, and induce the formation of a concave gall, which in association with their own wax

Table 1. Average (\pm standard deviation) metathoracic tibial and tarsal length ($n=30$ in each category) for collected nymphs and exuviae of *Pseudotectococcus rolliniae*.

Category	Length (μm)
Leaf nymphs	$53.04 \pm 1.8a$
Stem nymphs	$27.01 \pm 1.3b$
Exuviae	$27.08 \pm 1.4b$
Crawlers	$27.23 \pm 1.3b$

Averages followed by the same letter do not differ statistically (one-way analysis of variance, followed by multiple comparison Tukey tests, $\alpha=0.05$).

secretion, that dorsally covers the gall concavity, gives them protection against desiccation during the dry season.

Inside the dormancy galls, the insects remain immobile, at a low metabolic rate, supposedly with a slight or no feeding activity. Such a theory arises from the fact that

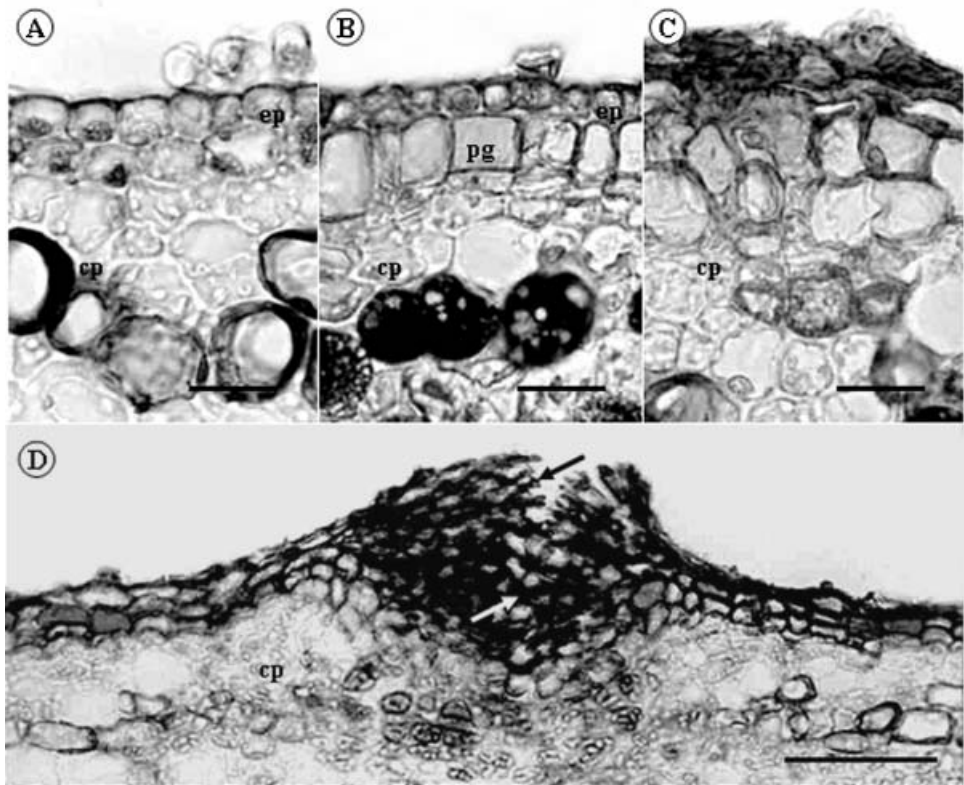


Figure 4. *Rollinia laurifolia* lenticel ontogenesis. (A) Young stem with epidermis covered by cuticle and adjacent cortical parenchyma. (B) Phellogen differentiation from the external cortical parenchyma layer. (C) Young lenticel with first divisions of phellogen and suber deposition. (D) Mature lenticel with complementary cells (white arrow) and closing layer (black arrow). Cortical parenchyma (cp), epidermis (ep), phellogen (pg). Scale bar: 25 μm (A–C), 100 μm (D).

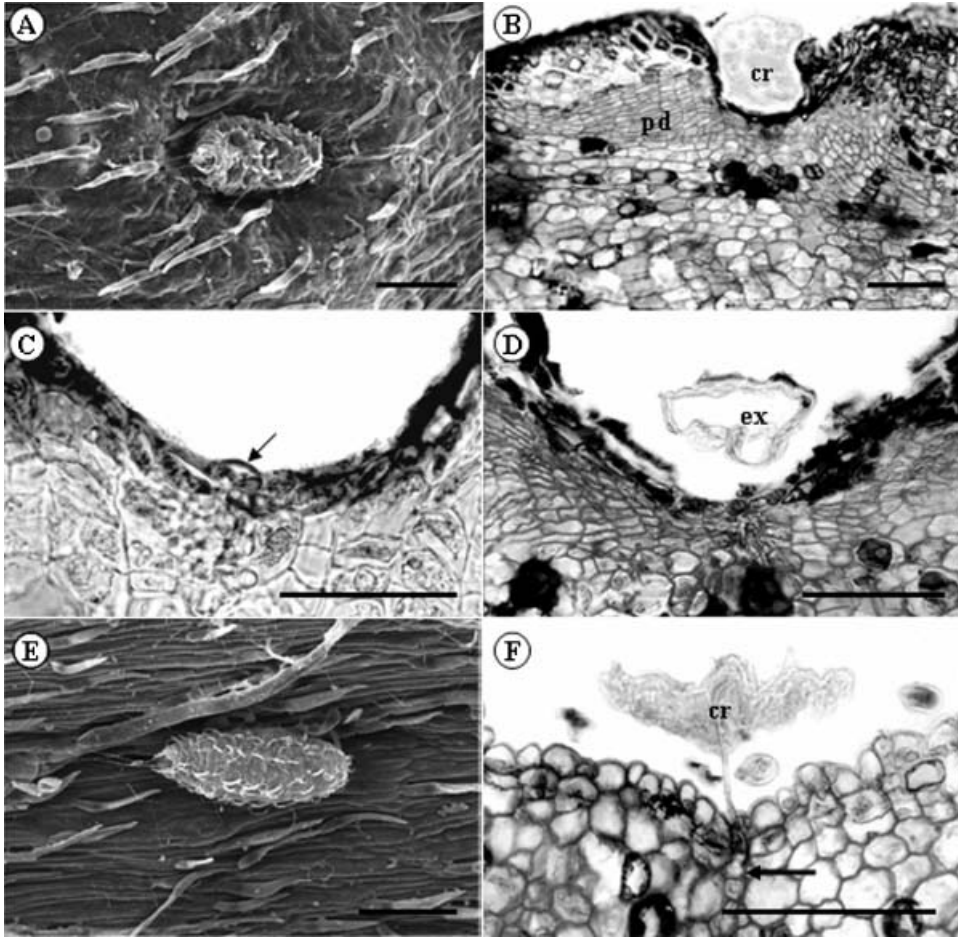


Figure 5. (A,E) *Rollinia laurifolia* stems: scanning electron micrographs showing *Pseudotectococcus rollinae* nymphs. (B–D, F) Photomicrographs of transverse sections of dormancy galls. (A,B) Crawler (=first-instar nymph) inside a dormancy gall. (C) Sudan Red B test showing plant cuticle (arrow) delimiting the dormancy gall concavity. (D) Exuviae from the first moult left inside a dormancy gall. (E) Crawler (=first-instar nymph) before dormancy starting. (F) Stem nymph (=stationary crawler) with its stylets (arrow) inserted into stem tissues inducing a dormancy gall. Crawler (cr), exuviae (ex), phelloderm (pd). Scale bars: 100 μm (A,B, D–F), 50 μm (C).

nymphs do not grow in size during the dry season. A reduction in metabolic rates is part of the insect diapause syndromes in general (Tauber et al. 1986). From the plant perspective, it is well known that the photoassimilation flux follows a concentration gradient between the sources and the sink (Larcher 2000). Consequently, it is reasonable to assume that because of leaf loss, food intake for a sucking feeding insect such as *P. rollinae* is reduced as a consequence of less intense transport inside phloem vessels. It is also important to point out that from a design perspective, a dormancy gall could not be built totally closed from above within the host plant

tissues, otherwise nymphs deprived of chewing mouth parts such as those of *P. rollinae* would be unable to free themselves from the gall after dormancy ended.

Many insects construct hibernacula or special cocoons as part of their dormancy syndrome (Tauber et al. 1986). In *P. rollinae*, stem-gall formation was herein described as a case of dormancy, but appears to be an integral part of a true diapause syndrome, which should be further elucidated. The dormancy gall formed in *R. laurifolia* stems is a mixture of modified plant tissues and wax produced by the insect, which together promote the maintenance of the microhabitat typical of insect galls.

The feeding action of the nymphs of *P. rollinae* on leaves of *R. laurifolia* induces chemical changes on host plant tissues (Soares et al. 2000) leading to hyperplasia and hypertrophy around the insect body (Mani 1964), and afterwards to complete gall formation. However, leaf galls of *P. rollinae* are completely different from these stem galls, which could indicate a morphological constraint of the host organ. Leaf tissues are generally very plastic (Mauseth 1988), changing their morphogenetic fate more promptly than stem tissues in response to abiotic and biotic factors (van Kleunen and Fischer 2005).

The external similarity between stem galls and stem lenticels was noticeable. From an internal standpoint, stem galls were demonstrated to be quite different from the lenticels for they differentiated a hyperplastic and hypertrophic parenchyma with no suberin, but covered by a uniseriated epidermis adjacent to the insect stylets. Moreover, stem galls are wider than lenticels, and have well-developed lenticel-like tissues that were disposed around the insect body and are responsible for the concave aspect of the structure. The ontogenetic differences between lenticels and stem galls were a consequence of distinct phellogen activity, i.e. unidirectional in healthy stems and bidirectional in stem galls.

The new phelloderm differentiation in *R. laurifolia* stems denoted a high mitotic activity, essential for stem gall formation. In fact, the activity of *P. rollinae* affects the secondary meristem potentiality, leading to bidirectional plant cell division.

The token stimulus by which dormancy syndrome is induced and then broken, in *P. rollinae*, remains unknown. Several abiotic factors have been associated with these phenomena, such as photoperiod (Butterfield et al. 2001; Mourão and Panizzi 2002; Chocorosqui and Panizzi 2003), temperature (Lees 1986; Pullin and Bale 1989; Fielding et al. 1999), moisture (Miles et al. 1998; Brodeur and McNeil 1989; Asano et al. 2004), and two or more of them in association (see Beck 1980; Tauber et al. 1986). Biotic factors, such as host plant quality, are also known to influence dormancy induction (Tauber et al. 1986).

Nevertheless, according to Danks (2000), many features of insects in the dormancy syndrome are linked to dehydration resistance, as reduction in body water content, increased epicuticular lipids, absorption of water vapour and cyclical respiration. Similar to the findings of Gullan et al. (2005) in other eriococcids, *P. rollinae* induced modifications such as exudation of wax, which probably help to prevent desiccation once this species enters dormancy during the dry season.

Newly hatched crawlers of *P. rollinae* left leaf galls before the dry season when the leaves started falling. Leaf senility and loss could be interpreted as a phenological trap from the insect perspective (Williams and Whitham 1986). According to Fernandes et al. (2008), leaf abscission may represent a major barrier to herbivory once gall-forming herbivores are sessile. Nevertheless, these authors indicate that some insects may have developed traits to overcome it, and this seems to be also true

for *P. rollinae*. In the *R. laurifolia*–*P. rollinae* system, the set of adaptations that led to the appropriate seasonal timing of a recurring biological event such as a dormancy gall herein described could be seen as a parasite adaptation to escape leaf senility and loss. Many insects actively modify local environments to their own advantage, rather than simply choosing advantageous places among existing alternatives. Induced plant responses such as galls cause the plant to supply resources, such as food and shelter (Redfern and Askew 1992; Rohfritsh 1992), to a specific site.

According to Mani (1964, 1992), Redfern and Askew (1992), Dreger-Jauffret and Shorthouse (1992), and Floate et al. (1996), galls induced by a species on a specific host plant result in a characteristic morphological structure. This does not hold fully true for the galls on *R. laurifolia* leaves, which are morphologically distinct according to the sex of the gall-inducing insect (Gonçalves et al. 2005). Also, this is not true for other eriococcids, such as for some *Opistocelis* and *Apiomorpha* species (Gullan et al. 2005). However, the sex of *P. rollinae* does not influence the morphology of the stem galls. Such a phenomenon may also be related to an ontogenetic variation in the degree of sexual dimorphism of the gall-inducing insects themselves. That is, dimorphism is pronounced between the sexes in the last *P. rollinae* instar that occurs inside the leaf galls, which differ in shape depending upon the sex of the gall-inducing nymph that is inside (Hodgson et al. 2004). However, sexual dimorphism is negligible in the first instar that induces the dormancy gall, where differences in shape were not detected.

To the best of our knowledge, this is the first record of a dormancy gall. It would be interesting to further investigate the existence of such a phenomenon in other systems, especially in eriococcid ones. Furthermore, the general statement that eriococcid crawlers are responsible for inducing galls in the leaves should be re-evaluated. Exuviae of *P. rollinae* were only found on stems, and their tibial and tarsal segments were similar in size to those of the crawlers. The greater length of tibial and tarsal segments observed for leaf nymphs indicates that moults occurred in the stem galls after vernal rains began. The nymphs that move from the stem to the newly formed leaves are, therefore, second-instar nymphs.

Acknowledgements

The authors thank Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG – CRA – 2387/98) for financial support. Thanks are also due to Denis C. Oliveira and Diogo Lima (UFMG) for helping with the statistical analysis. We are especially grateful to Maurice and Catherine Tauber (Cornell University) and to two anonymous reviewers, for the significant improvements in the final version of the manuscript made possible by their comments. All experiments comply with the current Brazilian laws.

References

- Asano W, Munyiri FN, Shintani Y, Ishikawa Y. 2004. Interactive effects of photoperiod and temperature on diapause induction and termination in the yellow-spotted longicorn beetle, *Psacotheta hilaris*. *Physiol Entomol.* 29:458–463.
- Beck S. 1980. *Insect photoperiodism*. 2nd ed. Sydney (Australia): Academic Press.
- Brodeur J, McNeil JN. 1989. Biotic and abiotic factors involved in diapause induction of the parasitoid, *Aphidius nigripes* (Hymenoptera: Aphidiidae). *J Insect Physiol.* 35:969–974.

- Bukatsch F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. *Mikrokosmos*. 61:255.
- Butterfield J, Whittaker JB, Fielding CA. 2001. Control of the flexible annual/biennial life cycle of the heather psyllid *Strophingia ericae*. *Physiol Entomol*. 26:266–274.
- Chocorosqui VR, Panizzi AR. 2003. Photoperiod influence on the biology and phenological characteristics of *Dichelops melacanthus* (Dallas 1851) (Heteroptera: Pentatomidae). *Brazil J Biol*. 63:655–664.
- Cook LG, Gullan PJ, Stewart AC. 2000. First-instar morphology and sexual dimorphism in the gall-inducing scale insect *Apiomorpha* Rübsaamen (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae). *J Nat Hist*. 34:879–894.
- Daly HV. 1985. Insect morphometrics. *Annu Rev Entomol*. 30:415–438.
- Danks HV. 2000. Dehydration in dormant insects. *J Insect Physiol*. 46:837–852.
- Dreger-Jauffret F, Shorthouse JD. 1992. Diversity of gall-inducing insects and their galls. In: Shorthouse JD, Rohfritsch O, editors. *Biology of insect-induced galls*. New York: Oxford University Press. p. 8–33.
- Fernandes GW, De Marco Jr P, Schönrogge K. 2008. Plant organ abscission and the green island effect caused by gallmidges (Cecidomyiidae) on tropical trees. *Arthropod-Plant Interactions*. 2:93–99.
- Fielding CA, Whittaker JB, Butterfield JEL, Coulson JC. 1999. Predicting responses to climate change: the effect of altitude and latitude on the phenology of the Spittlebug *Neophilaenus lineatus*. *Funct Ecol*. 13:65–73.
- Floate KD, Fernandes GW, Nilsson J. 1996. Distinguishing intrapopulational categories of plants by their insect faunas: galls on rabbitbrush. *Oecologia*. 105:221–229.
- Gonçalves SJMR, Isaias RMS, Vale FHA, Fernandes GW. 2005. Sexual dimorphism of *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves (Hemiptera: Coccoidea: Eriococcidae) influences gall morphology on *Rollinia laurifolia* Schltdl. (Annonaceae). *Trop Zool*. 18:161–169.
- Gullan PJ, Kosztarab M. 1997. Adaptations in scale insects. *Annu Rev Entomol*. 42:23–50.
- Gullan PJ, Martin JH. 2003. Sternorrhyncha (jumping plant-lice, whiteflies, aphids, and scale insects). In: Resh VH, Cardé RT, editors. *Encyclopedia of insects*. Amsterdam (The Netherlands): Academic Press. p. 1079–1089.
- Gullan PJ, Miller DR, Cook LG. 2005. Gall-inducing scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea). In: Raman A, Schaefer CW, Withers TM, editors. *Biology, ecology, and evolution of gall-inducing arthropods*. Enfield (UK): Science Publishers. p. 159–229.
- Hill MG. 1980. Wind dispersal of coccid *Icerya seychellarum* (Margarodidae: Homoptera) on Aldabra Atoll. *J Anim Ecol*. 49:939–957.
- Hodgson CJ, Gonçalves SJMR, Miller D, Isaias RMS. 2004. A key to genera of Eriococcidae (Hemiptera: Coccoidea) from the Neotropical region and a revision of *Pseudotectococcus* Hempel (Eriococcidae), a gall inducing scale insect genus from Brazil, with a description of a new species. *Lundiana* 5:51–72.
- Jensen WA. 1962. *Botanical histochemistry*. San Francisco (CA): W. H. Freeman.
- Johansen DA. 1940. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Co.
- Larcher W. 2000. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos (Brazil): RiMa.
- Lees AD. 1986. Some effects of temperature on the hour glass photoperiod timer in the aphid *Megoura viciae*. *J Insect Physiol*. 32:79–89.
- Linsenmaier W. 1972. *Insects of the world*. New York: McGraw-Hill Book Co.
- Maas PJM, Westra LYTh. 1992. *Rollinia*. *Flora Neotropica*. 57:1–189.
- Mani MS. 1964. *Ecology of plant galls*. The Hague (The Netherlands): Dr. W. Junk Publishers.
- Mani MS. 1992. Introduction to cecidology. In: Shorthouse JD, Rohfritsch O, editors. *Biology of insect-induced galls*. New York: Oxford University Press. p. 1–7.

- Mauseth JD. 1988. Plant anatomy. Menlo Park (CA): Benjamin/Cumming.
- Miles JE, Bale JS, Hodkinson ID. 1998. Life cycle regulation in the heather psyllid *Strophingia ericae*: responses to temperature and photoperiod. *Physiol Entomol.* 23:376–381.
- Moran VC, Gunn BH, Walter GH. 1982. Wind dispersal and settling of first-instar crawlers of the cochineal insect, *Dactylopius austrinus* (Homoptera: Coccoidea: Dactylopiidae). *Ecol Entomol.* 7:409–419.
- Mourão APM, Panizzi AR. 2002. Photophase influence on the reproductive diapause, seasonal morphs, and feeding activity of *Euschistus heros* (Fabr. 1978) (Hemiptera: Pentatomidae). *Braz J Biol.* 62:231–238.
- O'Brien TP, McCully ME. 1981. The study of plant structure: principles and selected methods. Melbourne (Australia): Termarcaphi Pty Ltd.
- Pullin AS, Bale JS. Effects of low temperature on diapausing *Aglais urticae* and *Inachisio* (Lepidoptera: Nymphalidae): cold hardiness and overwintering survival. *J Insect Physiol.* 33:277–281.
- Redfern M, Askew RR. 1992. Plant galls. Slough (UK): The Richmond Publishing Co.
- Rohfritsch O. 1992. Patterns in gall development. In: Shorthouse JD, Rohfritsch O, editors. *Biology of insect-induced galls*. New York: Oxford University Press. p. 60–86.
- Soares GLG, Isaias RMS, Gonçalves SJMR, Christiano JCS. 2000. Alterações químicas induzidas por coccídeos galhadores (Coccoidea, Brachyscelidae) em folhas de *Rollinia laurifolia* Schdtl. (Annonaceae). *Rev Brasil Zooci.* 2:103–116.
- Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S. 1986. Seasonal adaptations of insects. New York: Oxford University Press.
- van Kleunen M, Fischer M. 2005. Constraints on the evolution of phenotypic plasticity in plants. *New Phytol.* 166:49–60.
- Vitorino MD, Pedrosa-Macedo JH, Smith CW. 2000. The biology of *Tectococcus ovatus* Hempel (Heteroptera: Eriococcidae) and its potential as a biocontrol agent of *Psidium cattleianum* (Myrtaceae). In: Spencer NR, editor. *Proceedings of the X International Symposium on Biological Control of Weeds*. Bozeman (MT): Montana State University. p. 641–650.
- Williams AG, Whitham TG. 1986. Premature leaf abscission: an induced plant defense against gall aphids. *Ecology.* 67:1619–1627.
- Yardini A. 1987. Evaluation of wind dispersed soft scale crawlers (Homoptera: Coccidae) in the infestation of a citrus grove in Israel. *Isr J Entomol.* 21:25–31.

CONCLUSÕES GERAIS

O ciclo de vida de *Pseudotectococcus rollinae* e a fenologia de *Rollinia laurifolia* são sincronizados, sendo a indução dependente da disponibilidade de folhas jovens para o início de um novo ciclo de formação de galhas. Esta sincronia é fundamental na sobrevivência das ninfas de primeiro instar, que abandonam as galhas maternas antes que a planta hospedeira perca suas folhas na estação seca. Desta forma, os “crawlers” migram para o caule onde induzem um terceiro tipo de galhas.

O segundo instar ninfal, e não os “crawlers” induzem as galhas foliares em *Rollinia laurifolia*, as quais são morfológicamente distintas de acordo com o sexo do inseto indutor. O dimorfismo sexual dos insetos é refletido nas galhas foliares a partir do oitavo dia de desenvolvimento, sendo diagnosticado pela forma externa, tamanho e número de câmaras ninfais. Além da diferente localização, as galhas induzidas pelos “crawlers” também não apresentam variações morfológicas decorrentes do sexo destas ninfas.

O maior crescimento das galhas induzidas pelas fêmeas denota que quanto maior o tempo de atividade alimentar do inseto nas galhas, maior a amplitude dos estímulos que desencadeiam as modificações dos tecidos constituintes das galhas.

As ninfas de segundo instar de *P. rollinae* que acabaram de sair da dormência possivelmente localizam as folhas jovens pela presença de tricomas, os quais possuem antocianinas,

Nos estágios de indução e crescimento das galhas foliares, o comportamento das células é similar independentemente do sexo do indutor. Nestes estágios, predominam as etapas comuns à morfogênese de galhas de insetos, ou seja, a hipertrofia celular e a hiperplasia dos tecidos.

Fêmeas inseminadas, ovos e “crawlers” são protegidos dentro das galhas das fêmeas pelo esclerênquima bastante desenvolvido, abundância de parênquima, tricomas tectores no ostíolo interno e cera produzida pelas fêmeas.

Nas galhas induzidas pelos machos, em função da passagem pelos instares prepupa e pupa que não se alimentam, a maturação é precoce sendo caracterizada pela lignificação dos tecidos ao redor da câmara única.

A key to genera of Eriococcidae (Hemiptera: Coccoidea) from the Neotropical region and a revision of *Pseudotectococcus* Hempel (Eriococcidae), a gall inducing scale insect genus from Brazil, with a description of a new species

Christopher J. Hodgson¹, Samuel J. M. R. Gonçalves², Douglas R. Miller³ and Rosy M. S. Isaias².

¹ Department of Biodiversity and Biological Systematics, The National Museum of Wales, Cathay's Park, Cardiff, CF1 3NP;

² Departamento de Botânica, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antonio Carlos 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil;

³ Systematic Entomology Laboratory, Agric. Res. Services, USDA, Beltsville, Maryland, USA.

Abstract

A key is provided to the adult females of 16 of the 17 genera of Eriococcidae known from tropical South America. The adult female and 1st-instar nymph of the type species of *Pseudotectococcus*, *P. anonae* Hempel, is redescribed and a lectotype and paralectotypes designated; in addition, the adult female, adult male, 1st-instar nymph, 2nd-instar female and 2nd-instar male nymphs, prepupa and pupa of *Pseudotectococcus rollinae* sp. n., discovered inducing leaf-galls on *Rollinia laurifolia* Schldtl. (Annonaceae) in the Zoo-Botanic Foundation, Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil, are described. The differences between *Pseudotectococcus* and other South American genera are discussed.

Key words: Eriococcidae, Neotropics, key, new species, *Pseudotectococcus*, lectotype.

Introduction

Eriococcidae or felt scales are the fourth largest family of scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea) and are most abundant in the Southern Hemisphere, especially in New Zealand (Hoy, 1962) and Australia. It is likely that they are also abundant in much of South America, but this continent has been little explored and, at present, only 52 species in 17 genera have been recorded from the Neotropical region. Many are known only from the original description and one or two minor references and therefore are poorly understood.

We studied specimens of at least one species in each of the following genera (the number in parentheses is the number of species in the genus and the species names are the species that we have examined): *Aculeococcus* Lepage, 1941 (2, *morrisoni* Lepage), *Apiococcus* Hempel, 1900 (4, *gregarius* Hempel, *asperatus* Hempel, *singularis* Hempel), *Capulinia* Signoret 1875 (4, *crateriformis* Hempel, *jaboticabae* Von Ihering, *sallei* Signoret), *Carpochloroides* Cockerell, 1899 (2, *mexicanus* Ferris, *viridis* Cockerell), *Chilechiton* Hodgson & Miller, 2002 (1, *lynae* Hodgson & Miller), *Chilecoccus* Miller & González, 1975 (2, *browni* Miller & González, *spinus* Miller & González), *Eriococcus* Targioni Tozzetti, 1868 (345),

Exallococcus Miller & González, 1975 (1, *laureliae* Miller & González), *Icelococcus* Miller & González, 1975 (3, *charlini* Miller & González, *lithreae* Hodgson & Miller, *nothofagi* Miller & González), *Melzeria* Green, 1930 (1, *horni* Green), *Opisthoscelis* Schrader 1863 (only *O. prosopidis* Kieffer & Jorgensen has been recorded from South America and there is no real evidence that it belongs to this genus), *Ovaticoccus* Kloet, 1944 (only *O. lahillei* (Leonardi) has been recorded in *Ovaticoccus* from South America and, based on the shape of the setae as described in the original description, it appears to belong to *Eriococcus*), *Pseudocapulinia* Hempel, 1932 (1, *lanosa* Hempel), *Pseudotectococcus* Hempel, 1934 (2, *anonae* Hempel, *rollinae* Hodgson & Gonçalves (described as new below)), *Stibococcus* Miller & González, 1975 (1, *cerinus* Miller & González), and *Tectococcus* Hempel, 1900 (1, *ovatus* Hempel).

Although we did not examine specimens of *Macracanthopyga* Lizer y Trelles (Lizer y Trelles, 1955) (1, *verganiana* Lizer y Trelles) and *Neotectococcus* Hempel (Hempel, 1937) (1, *lenticularis* Hempel), adequate descriptions were available to make comparisons. The description of *Opisthoscelis prosopidis* (Kieffer & Jorgenson, 1910) is so poor that it is impossible to determine if the species is even an eriococcid let alone its specific characters. No specimens have been located for study.

Because *Pseudotectococcus* Hempel is very poorly known, the type species, *P. anonae* Hempel, is redescribed. *P. anonae* is also only known from Minas Gerais State in Brazil but, unlike the new species, occurs on *Annona* species.

Received 13.I.2004

Accepted 30.VI.2004

Distributed 31.VIII.2004

Key to the Genera of the Eriococcidae of the Neotropical Region

- 1 Legs present, sometimes located near anal opening 5
 Legs absent 2
- 2(1). Conspicuously enlarged setae present on dorsum 4
 Conspicuously enlarged setae absent from dorsum 3
- 3(2) Microtubular ducts present; quinquelocular pores restricted to ventral thorax mostly near spiracles,
 absent from dorsum *Pseudocapulinia* Hempel
 Microtubular ducts absent; quinquelocular pores on both body surfaces *Carpochloroides* Cockerell
- 4(3) Enlarged setae of 2 sizes, acorn shaped (on anterior abdomen, thorax, and head), and elongate
 (on posterior abdominal segments) *Macracanthopyga* Lizer y Trelles
 Enlarged setae of acorn shape only (scattered over dorsum) *Apiococcus* Hempel
- 5(1) Antennae 6-segmented 10
 Antennae with 5 or fewer segments 6
- 6(5) Without ring of tubular ducts surrounding apex of abdomen 7
 With ring of tubular ducts surrounding apex of abdomen *Capulinia* Signoret
- 7(6) Legs large, well developed; without dermal sclerotization at posterior apex of abdomen 8
 Legs small, abortive; with dermal sclerotization at posterior apex of abdomen *Aculeococcus* Lepage
- 8(7) Enlarged setae not grouped in circular area on thorax and head; thorax and head not sclerotized 9
 Enlarged setae grouped in circular area on thorax and head; thorax and head sclerotized *Neotectococcus* Hempel (in part)
- 9(8) Anal lobes protruding, heavily sclerotized *Pseudotectococcus* Hempel
 Anal lobes absent or very small, unsclerotized *Tectococcus* Hempel (in part)
- 10(5) Anal lobes not protruding from posterior apex of abdomen 14
 Anal lobes protruding from posterior apex of abdomen 11
- 11(10) Macrotubular ducts present on dorsum 12
 Macrotubular ducts absent from dorsum *Icelococcus* Miller & González
- 12(11) Macrotubular ducts on dorsum with conspicuous rim surrounding dermal orifice 13
 Macrotubular ducts on dorsum without conspicuous rim surrounding dermal orifice *Eriococcus* Targioni Tozzetti
- 13(12) Venter with large clusters of tubular ducts on abdomen; dorsum without simple pores; without
 cruciform pores *Stibococcus* Miller & González (in part)
 Venter without tubular ducts; dorsum with numerous simple pores; cruciform pores on venter near
 body margin *Exallococcus* Miller & González
- 14(10) Anal-lobe area without conspicuous sclerotization 16
 Anal-lobe area with conspicuous sclerotization 15
- 15(14) Enlarged setae forming conspicuous band around body margin *Chilechiton* Hodgson & Miller
 Enlarged setae not forming conspicuous band around body margin *Chilecoccus* Miller & González
- 16(14) Enlarged setae absent or not grouped in circular area on thorax and head; thoracic area unsclerotized 17
 Enlarged setae grouped in circular area on thorax and head; thorax and
 head sclerotized *Neotectococcus* Hempel (in part)
- 17(16) Venter without large clusters of tubular ducts on abdomen 18
 Venter with large clusters of tubular ducts on abdomen *Stibococcus* Miller & González (in part)
- 18(17) Largest dorsal macrotubular ducts with 1-3 associated setae; apex of abdomen broadly rounded *Melzeria* Green
 Largest dorsal macrotubular ducts without associated setae; apex of abdomen narrowly rounded *Tectococcus* Hempel (in part)

PSEUDOTECTOCOCCUS HEMPEL**Introduction**

A new species of *Pseudotectococcus* Hempel was discovered inducing leaf-galls on *Rollinia laurifolia* Schldtl. (Annonaceae) in the Zoo-Botanic Foundation, Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. Because this genus is very poorly known, it was decided to also redescribe the type species, *P. anonae* Hempel, which is also only known from Minas Gerais State in Brazil but of *Annona* species.

***Pseudotectococcus* Hempel**

Pseudotectococcus Hempel, 1934: 139. Type species: *Pseudotectococcus anonae* Hempel, by monotypy and original designation.

Pseudotectococcus Hempel; Hempel, 1935: 56 [description, taxonomy]; Lindinger, 1937: 194 [taxonomy]; Borchsenius, 1949: 44 [taxonomy]; Ferris, 1957: 88 [taxonomy]; Hoy, 1962: 13, 201 [taxonomy]; Hoy, 1963: 191 [catalogue, taxonomy]; Morrison & Morrison, 1966: 168 [taxonomy]; Beardsley, 1984: 86 [taxonomy]; Miller & Gimpel, 2002: 447 [catalogue, systematics].

Generic diagnosis. Appearance of galls: galls of both sexes on upper leaf surface, those of females slightly rounder and blunter than those of males; female galls with a small orifice about 0.5 mm wide on lower leaf surface, often without a distinct lip but a small lip sometimes present; male galls more sharply conical with a larger oval opening on ventral leaf surface, each usually about 1 mm wide, with a strong lip or ridge standing proud below leaf surface, probably more pronounced with galls of *P. rolliniae* (Fig. 1).

Adult female: unmounted material: rather globose in appearance, with rounded head, broad across thorax and tapering posteriorly, but abdomen cone-shaped. **Mounted material** (Figs 2 & 4): body outline broadest across thorax, with rounded head and pointed abdomen; small, length 1.6-1.85 mm, width 0.93-1.3 mm. **Dorsum.** Derm membranous, with a nodulate surface, particularly on young specimens; anal lobes mildly to quite strongly sclerotised. Dorsal setae spinose and conical, some rather bluntly pointed, others with a sharper apex; rather variable in size but none minute; in fairly distinct bands across each abdominal segment but bands less clear across each thoracic segment and with a group anteriorly on head. Dorsal microtubular ducts with a lightly sclerotised rim on derm and an undivided main duct. Macrotubular ducts rather large, with a stout outer ductule and a slightly shorter inner ductule with a small glandular apex; each with a conspicuous rim around dermal orifice: mainly present on abdomen but extending anteriorly to mesothorax. Anal lobes strongly protruding, narrow, apically acute, distinctly sclerotised, each lobe with two stout setae along inner dorsolateral margin, a long, flagellate apical seta and a setose posterior suranal seta antero-ventrally; anterior suranal setae strong; lobes without sessile pores or microtubular ducts. With a generally distinct, sclerotised median lobe dorsad to anal ring. Anal ring located beneath dorsal sclerotised median lobe, without an anal tube but with 3 pairs of setae. **Margin** poorly defined but demarcated

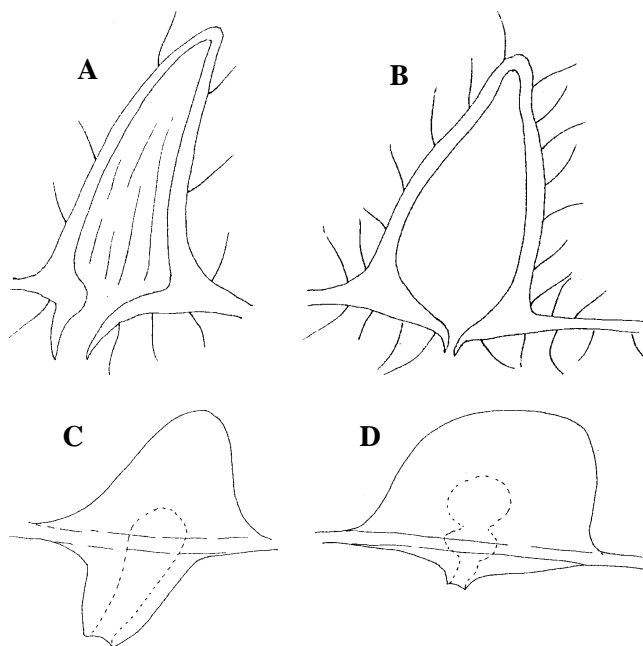


Figure 1 - Cross sections through: (A) male gall and (B) female gall of *P. anonae*; and side views of: (C) the male gall and (D) female gall of *P. rolliniae*. Dotted lines in C and D show approximate shape of inner chambers.

by an uneven band of spinose setae, similar to those on dorsum but generally shorter and thinner. Ventral bands of quinquelocular pores on abdomen extending laterally into pleural areas. **Venter.** Setae mainly rather flagellate, sparsely distributed, most abundant across abdominal segments; with pairs of longer setae present mesad to coxae and in a group between antennae; other setae much shorter; submarginal setae rather spinose, particularly posteriorly. Macrotubular ducts clearly different from those on dorsum, each outer ductule generally shorter but with a slightly longer, narrow inner ductule, most without a glandular end: generally restricted to abdominal segments. Ventral microtubular ducts perhaps slightly shorter and stouter than dorsal microtubular ducts, each with a more distinctly sclerotised dermal pore; distribution possibly variable but with a distinct group anteriorly between antennae and mouthparts. Multilocular disc-pores mainly 5-locular: present in broad bands across abdominal segments II-VI, those on segments II-IV often apparently in small groups on young specimens. Antennae probably 3-5 segmented but segmentation rather obscure; with 2 or 3 setae on scape, none on pedicel (but campaniform pore present), 1 hair-like seta on III (when present), setae on other segments depending on species. Clypeolabral shield normal; labium probably 2-segmented, with 3 or 4 pairs of setae. Eyespot large and oval, near margin dorsad to antennae. Legs moderately well-developed, sometimes distorted; hind coxae swollen, about as long as broad on *P. rolliniae*, with or without translucent pores; setae on metathoracic legs: coxae 4; trochanter with 2 long setae + 1 short seta on dorsal surface; femur with 1 or 2 setae; each tibia with 1 setae on ventral margin; tarsi marginally

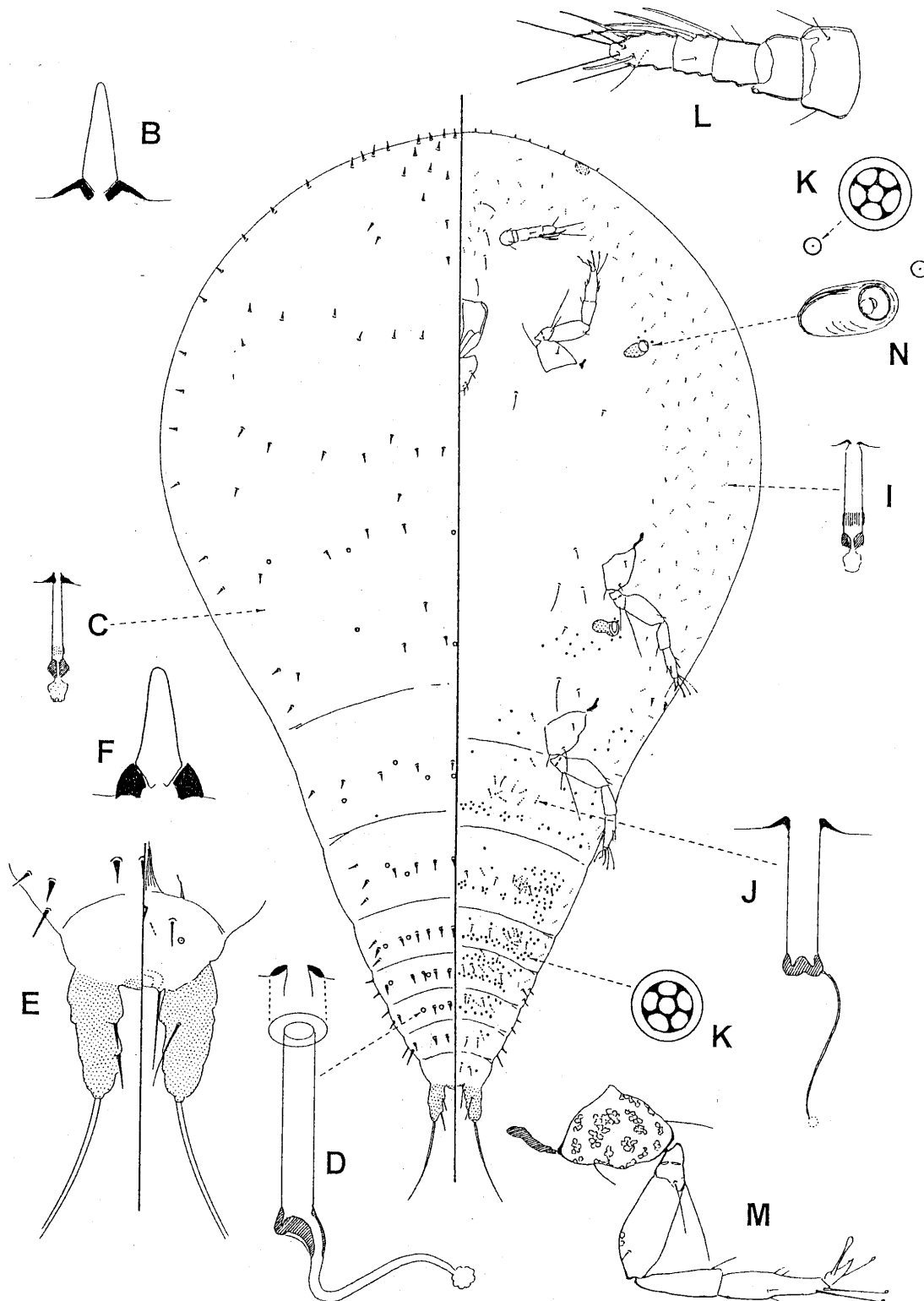


Figure 2 - Adult female *P. anonae* Hempel, dorsum on left and venter on right of central figure. Where B: dorsal setae; C: dorsal microtubular duct; D: dorsal macro-tubular duct; E: anal lobes (dorsal view on left, ventral view on right); F: posterior marginal setae; I: ventral microtubular duct; J: ventral macro-tubular duct; K: multilocular disc-pore; L: antenna; M: metathoracic leg, and N: spiracle.

longer than tibia and with 3 or 4 setae; tarsal campaniform pore present; tarsal digitules slightly longer than claw digitules; claw long and slender, each with one digitule significantly broader than other and both longer than claw; each claw generally with a small denticle near apex. Vulva placed between segments VII and VIII. With three further small orifices, one on either side of vulva and a third, more heavily sclerotised pore just posterior to vulva.

Comment: *Pseudotectococcus* currently contains two species, the type species *P. anonae* Hempel and a new species, *P. rolliniae* Hodgson & Gonçalves, described below. Based on current records, this genus appears to be restricted to Annonaceae in the Minas Gerais region of Brazil.

For a discussion of the terms anterior and posterior suranal setae, see Hodgson & Miller, 2002, p. 192.

Pseudotectococcus anonae Hempel

Pseudotectococcus anonae Hempel, 1934: 139. Type data: BRAZIL: Minas Gerais, Viçosa, on *Annona* sp. Type depository: São Paulo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, Brazil.

P. anonae Hempel: Hempel, 1935: 56 [description, distribution, host, taxonomy]; Costa Lima, 1936: 181 [distribution, host, taxonomy]; Lindinger, 1937: 194 [taxonomy]; Lepage, 1938: 388 [distribution, host, taxonomy]; Borchsenius, 1949: 44 [taxonomy]; Ferris, 1957: 88 [host, taxonomy]; Hoy, 1963: 191 [catalogue, distribution, host, taxonomy]; Silva d'Araujo et al., 1968: 199 [distribution, host]; Morrison & Morrison, 1966: 168 [taxonomy]; Gaedike, 1971: 335 [host]; Beardsley, 1984: 86 [distribution, host, taxonomy]; Miller & Gimpel, 2002: 447 [catalogue, host, distribution, structure, systematics].

Galls (described from dried material) (Fig. 1A, B): female gall about 3 mm tall, cone-shaped with a blunt apex; outer surface hairy; gall almost entirely on upper leaf surface; gall opening on lower leaf surface, usually about 0.5 mm wide, occasionally with a shallow lip. In cross section, apparently with only one chamber. Male gall of about the same height as female gall but narrower and often bent; hairy; gall opening on lower leaf surface about 1 mm wide, usually tubular, the tube extending up to about 1 mm below leaf surface. In cross section, with a single chamber. (*Comment:* the chambers in both the male and female galls were much larger than in the young galls of *P. rolliniae* described below. This difference could be due to the galls either being much more mature (unknown) or to the cells in the walls of the gall shrinking as the galls dried out.)

Adult female (Fig. 2)

Unmounted material. Dried material very shrunken but clearly membranous.

Mounted material. Length 1.6-1.85 mm, width 0.93-1.13 mm.

Dorsum. Dorsal setae frequent, each 8-10µm long on abdomen; number medially on each abdominal segment: I: 6-12; II: 8 or 9; III: 8-12; IV: 9-11; V: 7-10; VI: 5-7; VII: 2-4; VIII: 0, although each segment with a further spinose seta near each margin (plus 2 thinner "marginal" setae). Microtubular ducts about 7-9µm long: present mainly on either side of inter-segmental folds on abdominal segments and sparsely

distributed elsewhere. Macrotubular ducts: outer ductule 13-18µm long and inner ductule 11-13µm long: with a few (perhaps 4-10) on each abdominal segment, 0-4 on meso- and metathorax, otherwise absent. Anal lobes strongly sclerotised, each 50-70µm long; inner margin setae both stout and rather blunt, anterior setae 9-18µm long, posterior setae 20-25µm long; apical setae flagellate, each 125-150µm long; posterior suranal seta 38-48µm long; anterior suranal setae 35-42µm long. Median lobe about 20-25µm wide and rounded posteriorly (rather indistinct on type specimens). Anal ring setae each about 55-72µm long.

Margin. Marginal setae not always easily separable from dorsal setae, but with possibly 7-14 between eyespots, 4-7 between eyespots and point opposite anterior spiracle and 5-7 between points opposite anterior and posterior spiracles, and 2 (occasionally 1 or 3) per side on each abdominal segment; all subequal in size, except one seta on segment VII longest. Eyespots oval, greatest width of each about 18µm, on margin anterior to each scape.

Venter. Setae sparse; long setae associated with coxae about 25-55µm long; rows across abdominal segments: total number per abdominal segment: II: 0 or 1; III: 2; IV-VII: 4 and VIII: 2; with 6-8 (type specimens) or 9 or 10 longer flagellate setae in a group between antennae, longest 25-55µm long. Macrotubular ducts rather sparse: outer ductules about 10µm long, inner ductule 9-12µm long; all ducts similar; apparently restricted to abdominal segments (rarely 1 or 2 between metacoxae). Ventral microtubular ducts: present in a broad submarginal band on head and thorax and laterad on more anterior abdominal segments but perhaps absent from posterior segments; with a distinct group anteriorly between antennae and mouthparts. Multilocular disc-pores: present in broad bands across most abdominal segments, with (totals): metathorax: 2-5 laterad and 0-4 mesad to each coxa; segment II: 25-50; III: 59-80; IV: 60-100; V: 40-70; VI: 10-20; VII: 0-3 and VIII: 0-3.

Antennae probably 5-segmented but segmentation not clear; length 90-110µm; segment III perhaps with 1 or 2 hair-like setae (hs) and sometimes a fleshy seta (fs), segment IV with 2 fs and 1 hs; segment V with 3 fs, 0-2 hs and about 6 thicker stiff setae. Clypeolabral shield 83-92µm long. Legs rarely distorted; length of metathoracic leg: coxa somewhat swollen and significantly larger than coxae of other legs (particularly on non-type specimens): 90-105µm long and (types) 62-65µm wide; trochanter + femur 100-110µm; tibia 48-58 µm, tarsus 53-62µm, claw 14-19µm; hind coxae with numerous small translucent pores in groups over most of its surface; femur with a few pores dorsally at distal end; each tibia often with a pale pore-like area. Spiracles: width of peritremes: 15-19µm.

Discussion. The adult female of *P. anonae* shares the following attributes with *P. rolliniae*: (i) microtubular ducts with a sclerotised orifice; (ii) macrotubular ducts with a conspicuous dermal rim, present on both dorsum and venter; (iii) anal tube short or absent; (iv) anal lobes large and moderately sclerotised; (v) unequal claw digitules; (vi) labium probably 2-segmented; (vii) dorsal spinose setae small; (viii) legs large; (ix) hind coxae distinctly enlarged; (x) antennae short (3-5 segmented); (xi) median anal lobe present; (xii) quinquelocular disc-pores in broad groups across most abdominal segments on venter, and (xiii) a group of ventral microtubular ducts present

between antennae. It differs from *P. rollinae* in having (character-state on *P. rollinae* in brackets): (i) antennae 4- or 5-segmented (3-segmented antennae); (ii) presence of abundant translucent pores on coxae (absent or extremely few and possibly large); (iii) dorsal macrotubular ducts few, particularly on thorax (very abundant, extending to at least mesothorax); (iv) ventral microtubular ducts abundant in a broad submarginal band on thorax and head (extremely few or absent submarginally), and (v) many more spinose setae dorsally on thorax and abdomen (few and sparsely distributed). The adult female was described from 5 good and 2 fair specimens plus 6 others in poor condition.

First-instar nymph (Fig. 3)

Unmounted material. Very small, about 1/4 mm; elongate oval.

Mounted material. Body oval; oldest 1st-instar nymphs with dorsum strongly convex. Length about 230-280µm, width 120-125µm

Dorsum. Membranous, appearing to become sclerotised when dorsum swells in older specimens. Spinose setae (excluding marginal setae) basally conical but with apical half parallel sided, sometimes slightly curved, of fairly uniform size, distinctly smaller than marginal setae, each 2.5-4µm long, distributed in four lines as follows: mid-dorsal lines: with 2 pairs on head, 1 pair on each thoracic segment and 1 pair (or sometimes only a single spinose seta) on abdominal segments I, IV, V and VII; also in two mediolateral lines, with 1 pair on head, 1 pair on pro-, meso- and metathorax, plus pairs on abdominal segments I-III. Microtubular ducts rather large, with an oval, strongly sclerotised, apparently bilocular, cone-like dermal pore; each duct about 8µm long; distributed in four lines as follows: marginally: with a pair just anterolaterally to anal lobes; pairs approximately associated with abdominal segments V, IV and I; 1 pair on each thoracic segment, and with a pair anteriorly on head; also submedially: approximately between abdominal segments III and II, between abdominal segment I and metathorax, between meta- and mesothorax, meso- and prothorax, and posteriorly on head. Without other kinds of pores or ducts. Anal lobes elongate, each with a blunt apex; lobes clearly sclerotised; without microtubular ducts but each with 2 blunt spinose inner margin setae dorso-laterally, anterior setae about 6-7µm long, posterior setae about 21-24µm long; apical setae flagellate, each about 130-165µm long; posterior suranal setae each about 10-12µm long; anterior suranal setae each on a small protuberance and about 7-8µm long. With a narrowly rectangular, sclerotised median lobe dorsad to anal ring, about 15µm wide and 3µm long.

Margin. Marginal setae spinose, similar in size and shape to those on dorsum but larger, most 5-7µm long; with 7 or 8 between eyes, 4 on each side between eyes and point opposite anterior spiracles, 4 on each side laterally between anterior spiracles and abdomen and with 1 on each side of each abdominal segment. Anal ring located between anal lobes, with 6 setae, each about 23-25µm long; anal tube short or absent. Eyespots oval, greatest width 10µm, situated on margin near base of antennae.

Venter. Derm membranous. Spiracular disc-pores restricted to single pores near each spiracular peritreme, those near anterior

spiracles quite large (about 5µm wide) with 5 loculi, somewhat invaginated and touching peritreme; those associated with posterior spiracles smaller (about 3µm wide), probably with 3 loculi and positioned just anterior to each peritreme. With 1-3 pairs of microtubular ducts present near margin on thorax, when 3 present, 1 probably associated with each thoracic segment; ductule very short, much shorter than on dorsal microtubular ducts, but with an oval, strongly sclerotised, apparently bilocular, cone-like dermal pore. Also with a pair of round pores anteriorly on head. With 3 pairs of long setae between antennae, another pair mesad to mesocoxae (these long setae 25-27µm long), a shorter pair mesad to metacoxae, plus a pair of shorter and more spinose setae medially on abdominal segment VII, each about 8µm long. Submarginal setae rather spinose, in a line along either side of abdomen, and on meta- and mesothorax, but apparently absent from prothorax; very small, each setae 2-5µm long (longest posteriorly).

Antennae 3-segmented, 35-40µm long; setal distribution: scape 2; pedicel 0; segment III perhaps with 4 or 5 fleshy setae plus 4-6 other setae; apical seta 26-28µm long. Clypeolabral shield about 45-50µm long; labium perhaps 2-segmented; about 26µm wide, with possibly 2 pairs of minute setae. Spiracles small; anterior spiracle very closely associated with spiracular disc-pore; posterior spiracles appearing smaller and not as close to disc-pore. Legs well developed; lengths (metathoracic leg (µm)): coxa 20-23; trochanter + femur 33-35; tibia + tarsus 40-48; claw 8-9µm; tibia generally subequal to or slightly shorter than tarsus; setae: coxae 2, trochanter 2 or 3, femur 2, tibia 1, tarsus 3; long trochanter seta 20-23µm long; tarsal campaniform sensillum present; claw perhaps without a denticle; both tarsal digitules on all three pairs of legs capitate and equal in size; claw digitules dissimilar, 1 with a conspicuously larger apex, other apex about same size as on tarsal digitules.

Discussion. The 1st-instar nymphs of *P. anonae* and *P. rollinae* (described as new below) are very similar. For differences, see under the 1st instar of the latter species.

The 1st-instar nymph was described from 6 specimens in good condition plus 32 others of varying quality.

Material studied: LECTOTYPE: BRAZIL, Viçosa, Estado de Minas Gerais, on *Annona* sp., 30.ix.1933, E.J. Hambleton (MZSP): 1/1 adF. PARALECTOTYPES as for lectotype specimen: 8/12 adF + 12/76 1st instars (depositories: MZSP, USNM, BMNH, NMW); as above but mounted by E.E. Green from type material (BMNH): 1/adF.

Other material: BRAZIL: site unknown, host unknown, 20.x.1935, coll. BRL (USDA): 1/4adF (good); Viçosa, Minas Gerais, no host, 16.x.1935, H. Sauer (USDA): 1/3adF (poor).

Comment. As pointed out by Miller & Gimpel (2000), Hempel (1934) spelt the host plant genus *Annona* as *Anona* and therefore named the species *anonae*. As this misspelling is consistent throughout Hempel's paper, it is clear that the correct spelling for this species is *anonae*.

Mass & Westra (1992) refer to a gall on *Rollinia sylvatica* as being induced by the "pseudococcid" *Pseudotectococcus anonae*. Based on the host plant, these galls are more likely to have been caused by the next species, *P. rollinae*, described as new.

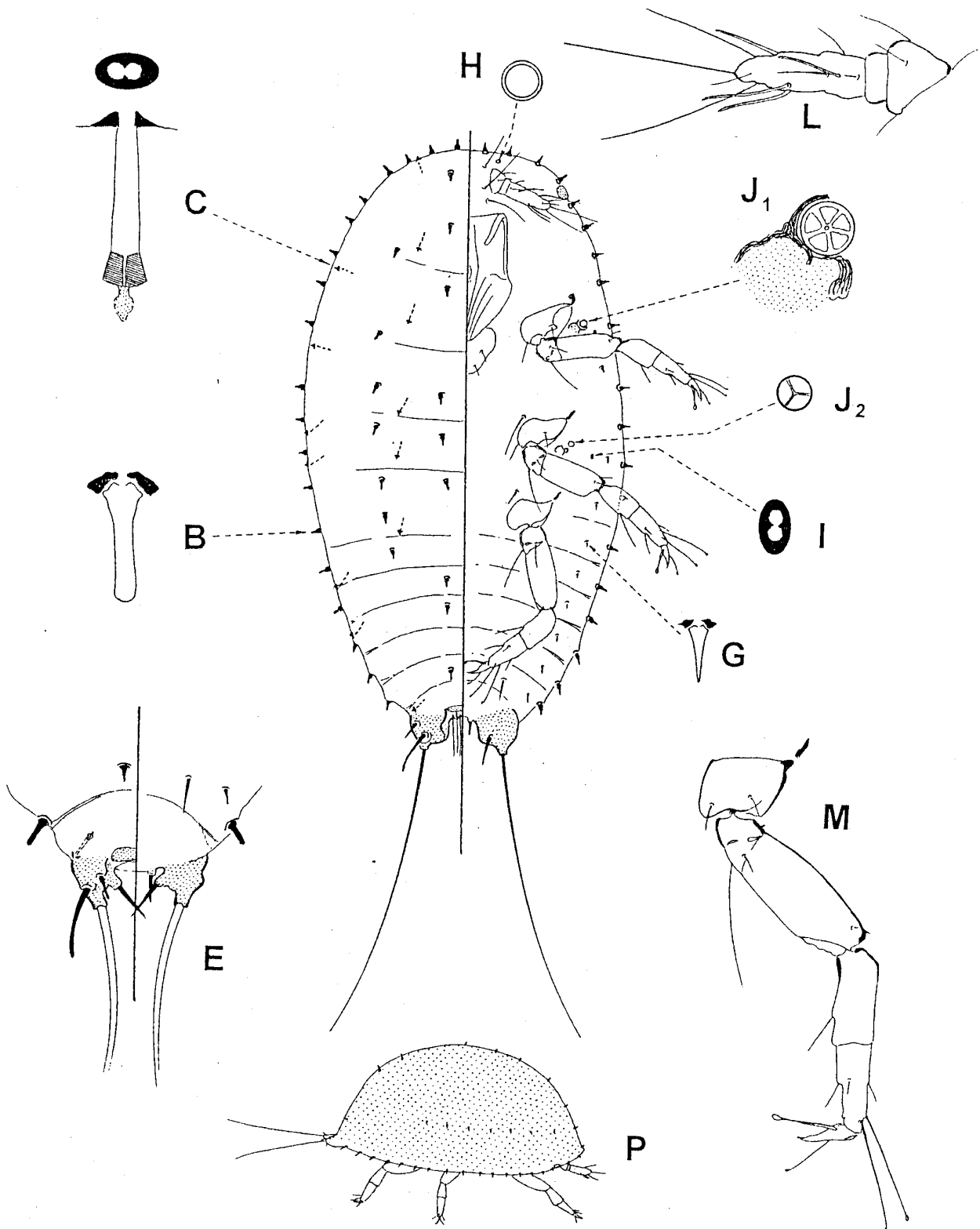


Figure 3 - First-instar nymph of *P. anonae* Hempel (sex not determined). Where B: dorsal setae; C: dorsal microtubular duct; E: anal lobes (dorsal view on left, ventral view on right); G: ventral submarginal seta; H: simple pore; I: ventral microtubular duct; J₁: anterior spiracular disc-pore; J₂: posterior spiracular disc-pore; L: antenna; M: metathoracic leg, and P: side view of mature 1st-instar nymph, showing convex dorsum.

***Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves, sp. n.**

Galls (Fig 1C, D): female gall convex and evenly rounded; outer surface with few or no hairs; gall mainly developed on upper leaf surface; gall opening on lower leaf surface, usually about 0.5 mm wide, with a shallow lip. In cross section, young female galls with two chambers, one above other (but connected vertically), with adult female in larger upper chamber. Male gall of about same height as female gall, also roundly convex but narrower; lower leaf surface with a broad, elongate tubular opening, longer than depth of gall on upper surface; opening on lower leaf surface about 1 mm wide. In cross section, with a single elongate chamber.

Adult female (Fig. 4)

Unmounted material. As for generic diagnosis. Galls probably slightly longer and narrower than those of *P. anonae*.

Mounted material. Length 0.8-1.5 mm, width 0.75-1.3 mm.

Dorsum. Dorsal setae rather few, mainly on abdomen and on head near eyespot, each 5-7µm long; number on each abdominal segment: I: 2; II: 4-6; III: 4-6; IV: 5-6; V: 4-5; VI: 2-4; VII: 2; VIII: 0. Microtubular ducts about 8µm long; with a few on most abdominal segments; apparently scarce on thorax and possibly absent on head. Macrotubular ducts rather large, outer ductule 15-20µm long, inner ductule 11-18µm long; common on segments I-IV, extending anteriorly onto thorax to at least anterior margin of mesothorax (possibly in 4-5 longitudinal groups). Anal lobes lightly sclerotised, each about 36-42µm long; anterior inner margin setae 5-6µm long, posterior inner margin seta 9-12µm long; long apical seta 73-105µm long; posterior suranal setae 16-33µm long; anterior suranal setae 30-39µm long. Median lobe approximately oval and about 18-20µm wide. Anal ring setae each 40-60µm long.

Margin. Marginal setae as follows: with perhaps 7-10 between eyes, 4 or 5 between eyes and point opposite anterior spiracle, 2-5 between points opposite anterior and posterior spiracles, and 2 (rarely 1) on each side of abdominal segments, with postero-dorsal seta of each pair often noticeably larger than more antero-ventral seta. Eyespots oval, each about 20 x 25µm wide, on margin anterior to each scape.

Venter. Setae: setose, sparse; long setae mesad to mesocoxae and between antennae each about 25µm; most setae short; with a submarginal band of minute spinose setae on abdomen and more setose setae on thorax, plus rows across each abdominal segment; total per segment: II: 0; III: 5; IV: 4; V: 4-6; VI: 4 or 5; VII: 4, and VIII: 2; with 5-12 flagellate setae in a group between antennae and eyespot, mostly setose, occasionally slightly spinose, longest 25µm long. Macrotubular ducts: outer ductule 11-14µm long, slightly broader than on dorsum; inner ductule generally 20-26µm long, much longer and narrower than outer ductule; some ducts on segment VI with inner ductules similar to dorsal macrotubular ducts: restricted to abdominal segments III-VI. Microtubular ducts not detected apart from a distinct group anteriorly between antennae and mouthparts. Multilocular disc-pores present in a broad submarginal band on thorax (extending sometimes onto head between front legs and mouthparts) but also in broad bands across abdominal segments II-VI; totals per segment:

metathorax: 2 between coxae; II: 9-45; III: 40-93; IV: 48-87; V: 42-60; VI: 11-30; VII: 0 or 1 and VIII: 0.

Antennae probably 3-segmented; length 63-67µm. Clypeolabral shield 75-82µm long. Eyespot large and oval, 20-28µm long and 16-20µm wide. Legs: coxa very swollen, tarsus often malformed and femur somewhat distorted; length of metathoracic leg: coxa 70-87µm long and greatest width 56-80µm; trochanter + femur 68-87µm; tibia 33-43µm, tarsus 36-51µm, claw 14-17µm; hind coxae and femur sometimes with 1 or 2 small translucent pores. Spiracles: width of peritremes: 13-17µm

Comment. The adult female of *P. rollinae* is very similar to those of *P. anonae* - see under the latter species for comparison. The adult female was described from 6 specimens in fair to good condition.

2nd-instar female (Fig. 5)

Unmounted material. Rather plump, with a rounded head and pointed anal region.

Mounted material. Body broadest across mesothorax, with a rounded head and more pointed posterior end. Anal lobes small. Body length 435-550µm; width 250-380µm

Dorsum. Derm membranous. Dorsal setae strongly spinose, distributed in 4 lines as follows: in a double mid-dorsal line, with 3 pairs on head, 1 pair on pro-, meso- and metathorax and on abdominal segments I, IV and VII; most posterior setae on abdomen largest (9-10µm long), those on head narrower; setae also present in a pair of submedian rows, with 2 on each side of head, 1 on each thoracic segment and 1 on each side of abdominal segments I-III. Dorsal pores: microtubular ducts probably present throughout, extremely small (5-6µm long) but with a shallow, lightly sclerotised outer pore; dorsal macrotubular ducts absent. Anal lobes about 17µm long, each lobe about 2x as long as wide, each lightly sclerotised; each lobe without pores or microtubular ducts; with two spinose inner margin setae dorsally on inner margin, anterior seta 3-5µm long, posterior seta 9-12µm long; long apical setae flagellate, each 120-125µm long; posterior suranal seta setose, each about 20-25µm long; anterior suranal setae on small protuberances and about 18-25µm long. Anal ring without an anal tube, with six setae, each about 28-30µm long. With a sclerotised, posteriorly rounded, medial lobe overlying anal ring, 13-20µm wide and 8-10µm long.

Margin. Margin fairly clearly defined, demarcated by an uneven band of distinctly spinose conical setae, each with well-developed, narrow basal sockets; those on posterior segments of abdomen broadest, becoming smaller anteriorly to thorax and then longer and narrower on head; with perhaps 8-10 anteriorly between eyespots, 8-10 on each side between eyespots and point opposite each posterior spiracle, and 7 on each side of abdomen; length of longest 7-9µm on head and posteriorly on abdomen, and about 3-5µm laterally on prothorax. Eyespots 10-12µm wide, on margin near base of antennae.

Venter. Membranous. Multilocular disc-pores, each mainly with 5 loculi, restricted to near spiracular peritremes, with 2 or 3 anterior to each anterior peritreme and 1 anterior to each posterior peritreme; about half of specimens also have an addition disc-pore just posterior to each posterior peritreme.

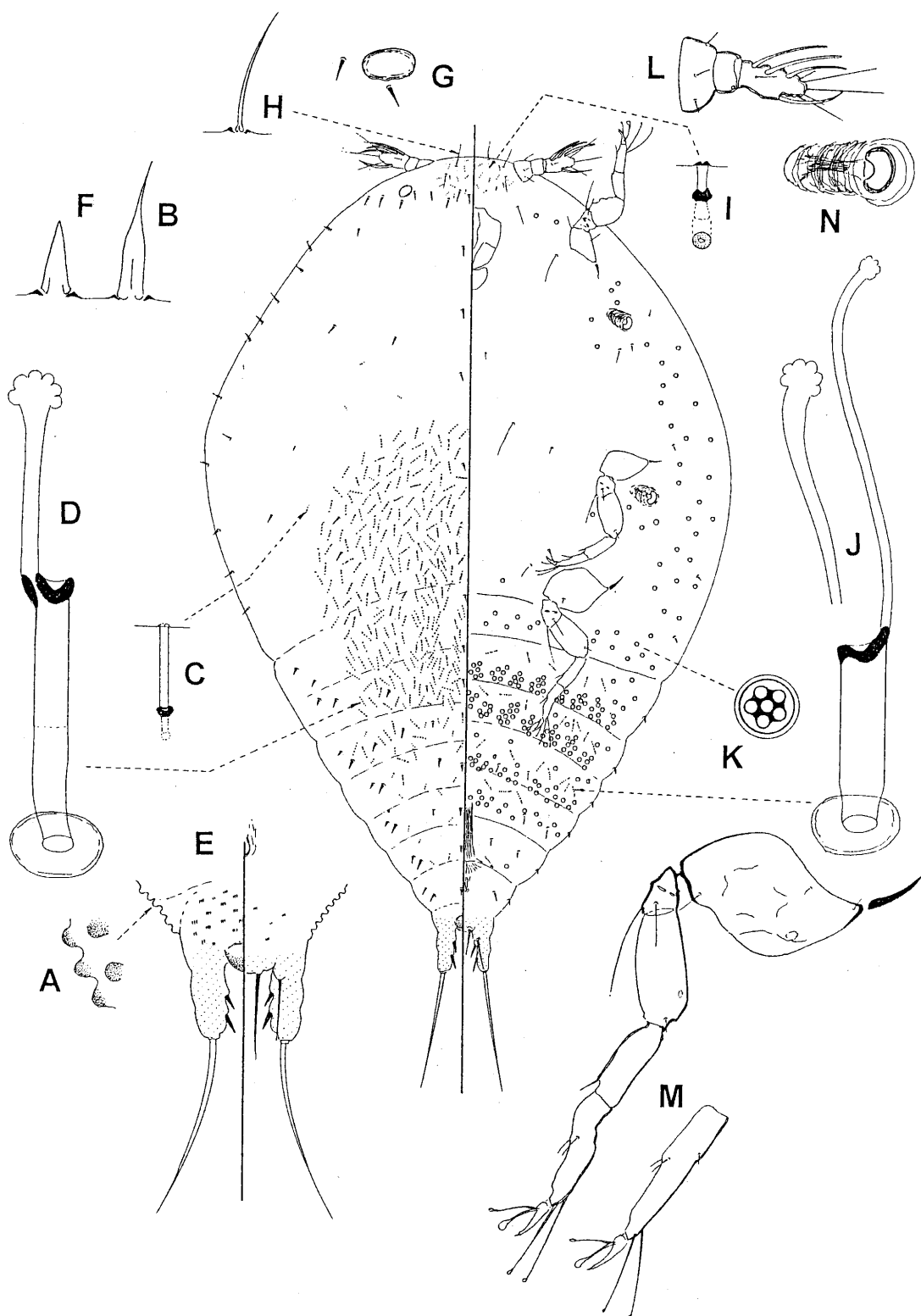


Figure 4 - Adult female *P. rollinae* Hodgson & Gonçalves. Where A: dorsal derm; B: dorsal setae; C: dorsal microtubular duct; D: dorsal macrotubular duct; E: anal lobes (dorsal view on left, ventral view on right); F: anterior marginal seta; G: eyespot; H: inter-antennal seta; I: ventral microtubular duct; J: ventral macrotubular duct with two variants of inner ductule; K: multilocular disc-pore; L: antenna; M: metathoracic leg with distorted and undistorted tarsus, and N: spiracle.

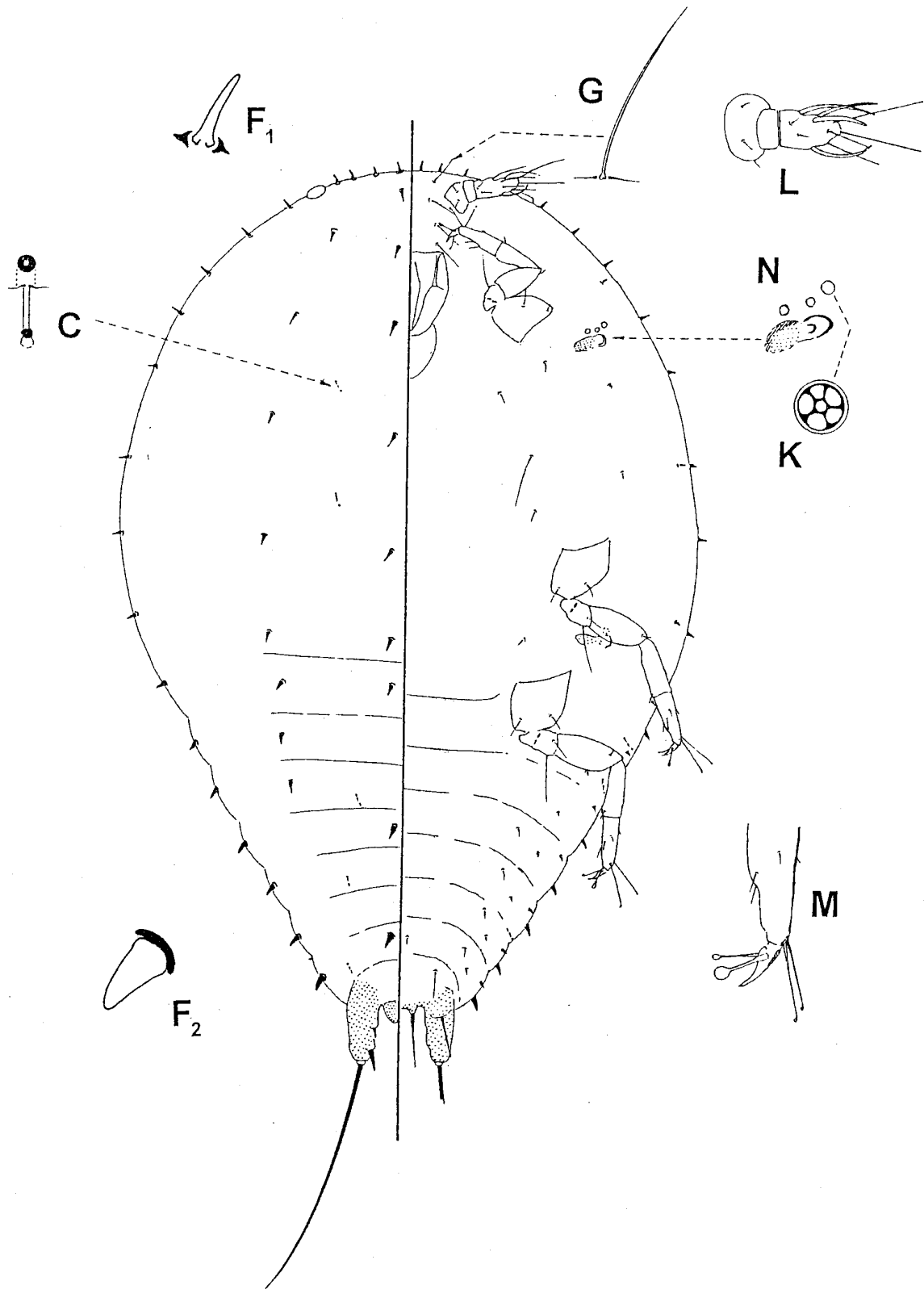


Figure 5 - Second-instar female of *P. rollinae* Hodgson & Gonçalves. Where C: dorsal microtubular duct; F₁: anterior marginal seta; F₂: posterior marginal seta; G: inter-antennal seta; K: multilocular disc-pore; L: antenna; M: part of metatarsus and claw and N: spiracle.

Ventral microtubular ducts not detected; ventral macrotubular ducts absent. Ventral setae: medial setae all rather setose: with four pairs of rather long and fine setae (longest about 20-24 μ m long) between antennae and another pair medially between pro- and mesocoxae; shorter setae: with 2 posterior to each procoxa, plus 1 anterior to each meso- and metacoxa; setae medially on abdomen short and slightly stouter, with 1 pair on segments III-V, 2 pairs on segment VI and 1 (slightly longer) pair on segment VII; each abdominal segment also with a pair of minute spinose setae (each about 1-2 μ m long) submedially on segments II-VII; also with a submarginal band of slightly larger spinose setae (each perhaps 2-4 μ m long), more or less associated with more posterior 8 marginal spines, plus two on each side of thorax and another pair laterally on head.

Antennae short and 3-segmented; length 34-43 μ m; setal distribution: scape with 2 or 3 hair-like setae, pedicel probably none, apical segment with 4 fleshy setae, and 3-5 stiff setae + 1 hair-like seta; length of apical seta 24-28 μ m. Length of clypeolabral shield 48-50 μ m long; labium probably 2 segmented, number of labial setae uncertain. Width of each spiracular peritreme 6-7 μ m. Legs well developed: posterior coxae not swollen and without pores; length of metathoracic legs (μ m): coxa 38-40, trochanter + femur 50-54; tibia 27-30; tarsus 28-30; claw 9-12; setal distribution: coxa 3 or 4, trochanter 3 (longest 28-30 μ m), femur 2, tibia 1, tarsus 4; tarsal campaniform pores present; tarsal digitules slightly longer than claw digitules; one claw digitule with a broad apex, other digitule with small apex; claw quite narrow, with a minute denticle.

Comment. The 2nd-instar female is very similar to the 2nd-instar male but lacks macrotubular ducts and quinquelocular pores on the abdominal venter.

The 2nd-instar female was described from 5 specimens in fair to good condition, plus 3 poorer specimens.

2nd-instar male (Fig. 6)

Unmounted material. Rather plump, with a rounded head and pointed anal region.

Mounted material. Body broadest across mesothorax, with a rounded head and more pointed posterior end. Anal lobes small. Length 419-622 μ m; width 355-375 μ m

Dorsum. Derm membranous. Dorsal setae strongly spinose, distributed as follows: in a double mid-dorsal line, with 3 pairs on head, 1 pair on pro-, meso- and metathorax and on abdominal segments I, IV and VII - possibly occasionally on others as well (1 present on segment VI on one specimen); posterior setae on abdomen largest (8-10 μ m long), those on head narrowest; pairs of setae also present in submedian rows, with 2 pairs on each side of head, 1 on each thoracic segment and 1 on each side of abdominal segments I-III. Dorsal pores: microtubular ducts present, probably throughout, extremely small (5 μ m long), each with a small, shallow, sclerotised outer pore; dorsal macrotubular ducts present, each with inner and outer ductules subequal in length, former with a small terminal gland; total length 23 μ m: distributed throughout but more or less in segmental rows. Anal lobes about 38-45 μ m long, each about 2x as long as wide and lightly sclerotised; each lobe without pores or microtubular ducts; with 2 spinose inner margin setae: anterior setae 4-6 μ m long, posterior setae 8-13 μ m

long; long apical setae each 125-150 μ m long; posterior suranal setae, each about 18-20 μ m long; anterior suranal setae on small protuberances and about 20-24 μ m long. Anal ring without an anal tube, with 6 setae, each about 30-35 μ m long. With a sclerotised, posteriorly rounded, medial lobe overlying anal ring, 18-20 μ m wide.

Margin. Margin fairly clearly defined, demarcated by an uneven band of distinctly spinose setae, each seta distinctly spinose, with a well-developed, narrow basal socket; those on abdomen broadest, becoming narrower towards head; with 8 anteriorly between eyespots; 8 or 9 on each side between eyespots and point opposite each posterior spiracle, and 7 on each side posterior to posterior spiracle; length of longest 8-10 μ m on head and posteriorly on abdomen but about 5 μ m laterally on prothorax. Eyespots 11-13 μ m wide, on margin near base of antennae.

Venter. Membranous. Quinquelocular disc-pores present in two submedial lines on abdomen but presence on any given segment rather variable; also sometimes with 1 present between labium and procoxa; also with 1-3 anterior to each anterior peritreme and 1 anterior to each posterior peritreme and frequently with another posterior to posterior peritreme. Ventral microtubular ducts hard to detect but either similar in structure to those on dorsum and restricted to near margin or absent; ventral macrotubular ducts also similar to those on dorsum but much less frequent and probably absent medially on thorax. Ventral setae: medial setae all rather setose: with four pairs of rather long and fine (longest about 28-30 μ m long) between antennae and another pair medially between pro- and mesocoxae; shorter setae: with 1 or 2 posterior to each procoxa, and 1 anterior to each meso- and metacoxa; setae medially on abdomen short and slightly stouter, with 1 pair on segments II-IV, 2 pairs on segments V and VI and 1 (slightly longer) pair on segment VII; each abdominal segment also with a pair of minute spinose setae (each about 1-2 μ m long) submedially on segments II-VI; also with a submarginal band of slightly larger spinose setae (each perhaps 2-3 μ m long), more or less associated with more posterior 8 marginal spines, plus one on each side of thorax and another pair on head.

Antennae short, 3-segmented; length 41-50 μ m; setal distribution uncertain, but scape with at least 2 setae, pedicel probably with none and apical segment with at least 3-4 fleshy setae, and 3-5 bristle-like setae; length of apical seta 26-30 μ m. Length of clypeolabral shield 50-60 μ m long; labium probably 2 segmented, number of labial setae uncertain. Width of each spiracular peritreme 6-9 μ m. Legs well developed; posterior coxae not swollen and without pores; length of metathoracic legs (μ m): coxa 40-44, trochanter + femur 50-61; tibia 27-33, tarsus 31-33, claw 10-14; setal distribution: coxa 3 or 4, trochanter 2 (longest 30-35 μ m), femur 2, tibia 1, tarsus 4; tarsal campaniform pore present; tarsal digitules subequal in length to claw digitules; one claw digitule with a broad apex, other digitule with small apex; claw quite narrow, with a denticle.

Comment. For differences from 2nd-instar female, see under that species.

The 2nd instar male was described from 2 specimens in fair to good condition but anal lobes twisted on one, plus 6 poorer specimens.

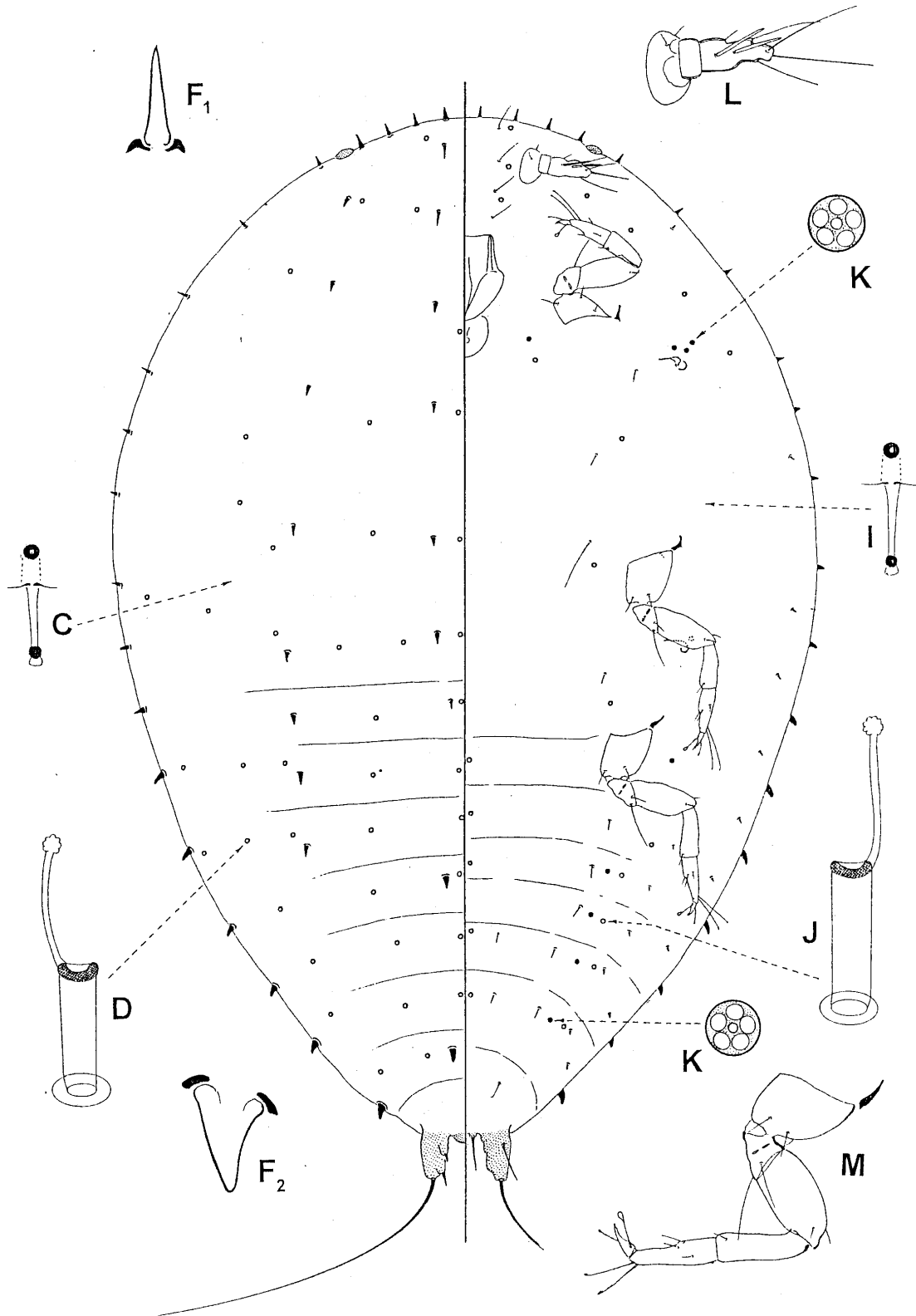


Figure 6 - Second-instar male of *P. rollinae* Hodgson & Gonçalves. Where C: dorsal microtubular duct; D: dorsal macrotubular duct; F₁: anterior marginal seta; F₂: posterior marginal seta; I: ventral microtubular duct; J: ventral macrotubular duct; K: multilocular disc-pore; L: antenna, and M: metathoracic leg.

First-instar nymph (Fig. 7)

Unmounted material. Very small, about 1/4 mm; elongate oval.

Mounted material. Body oval. Length about 240µm, width 124µm

Dorsum. Spinose setae (excluding marginal setae) conical, sometimes slightly curved, of 1 rather variable size, arranged in a double mid-dorsal line, as follows: with 2 pairs on head, 1 pair on pro-, meso- and metathorax and 1 pair on abdominal segments I, IV and VII; also in two mediolateral lines, with 1 pair on head, 1 pair on pro-, meso- and metathorax plus pairs on abdominal segments I-III; all about 5µm long and 3µm wide at base. Microtubular ducts rather large, with a distinct, sclerotised, apparently bilocular cone-like pore; each microtubular duct about 8µm long; with a pair just anterior to anal lobes and pairs submedially on abdominal segments I and II, metathorax and on head; also with pairs marginally as follows: between eyes, laterad to pro-, meso- and metacoxae and marginally on about abdominal segments V & IV. Without other kinds of pores or ducts. With 2 elongate anal lobes, each with rounded apices; lobes clearly sclerotised; without microtubular ducts but each with 2 spinose inner margin setae dorso-laterally, anterior setae each about 2µm long, posterior setae about 6-8µm long; apical setae flagellate, each about 75µm long; posterior suranal setae about 20µm long; anterior suranal setae each on a small protuberance and about 6-7µm long. With a sclerotised median lobe, rounded posteriorly, present dorsad to anal ring, 12µm wide and 8µm long.

Margin. Marginal setae spinose, similar in shape to those on dorsum but slightly larger; with 8 between eyes, 4 on each side between eyes and point opposite anterior spiracles, 4 on each side laterally between anterior spiracles and abdomen with 1 on each side of each abdominal segment. Anal ring located between anal lobes, with 6 setae. Eyespots each 10µm wide, situated on margin near base of antennae.

Venter. Derm membranous. Disc-pores restricted to single pores near each spiracular peritreme, those near anterior spiracles quite large (about 4µm wide) with 5 loculi and touching peritreme; those associated with posterior spiracles smaller (about 2µm wide), probably with 3 loculi and positioned just anterior to each peritreme. With 1 pair of microtubular ducts present near margin on thorax, just posterior to anterior spiracles. Head with a pair of small round pores anteriorly. With 3 pairs of long setae between antennae and another pair mesad to mesocoxae (length about µm), and with a shorter seta mesad to each metacoxa; also with a pair of shorter and more spinose setae medially on abdominal segment VII; submarginal setae very small, in a line of 9 from abdominal segment VII to just posterior to anterior spiracle.

Antennae 3-segmented, about 30µm long; setal distribution uncertain; apical seta 23µm long. Clypeolabral shield about 43µm long; labium perhaps 2-segmented; about 26µm wide, with possibly 2 pairs of minute setae. Spiracles small; anterior spiracle very closely associated with spiracular disc-pore; posterior spiracles appearing smaller and not as close to disc-pore. Legs well developed; length of metathoracic leg (µm): coxa 18-20; trochanter + femur 30-32; tibia + tarsus 33; claw 8-

9µm; tibia slightly shorter than tarsus; setae: coxa 2, trochanter 2, femur 2, tibia 1, tarsus 3; setal distribution on prothoracic legs similar; long trochanter setae 16-20µm; tarsus with a campaniform sensillum; claw perhaps without a denticle; tarsal digitules on all three pairs of legs capitate, about equal in size; claw digitules dissimilar, 1 with a conspicuously larger apex, other apex similar to those on tarsal digitules.

Discussion. The 1st-instar nymphs of *P. anonae* and *P. rolliniae* n. sp. are very similar, but differ as follows (character-states on *P. rolliniae* in brackets): (i) posterior inner margin seta on anal lobes with a blunt apex and quite long, >20µm (apex sharp, seta short, <10µm); (ii) median anal plate narrow lengthwise, about 3µm long (longer, about 8µm, and oval), and (iii) spinose setae all with rather parallel margins (spinose setae cone shaped).

The 1st-instar nymph was described from 1 specimen in good condition plus 11 much poorer specimens.

Prepupa (Fig. 8)

Unmounted: cylindrical in shape, rounded anteriorly, slightly pointed posteriorly.

Mounted specimens elongate oval; length 735-760µm, head width 200-210µm. Division into head, thorax and abdomen unclear, although segmentation reasonably distinct on abdomen. Derm membranous, with small dermal spinules. All ducts absent; multiloculate disc-pores, mostly with 6 or 7 loculi in outer ring, present on head, thorax and abdomen; setae few.

Head: lacking mouthparts but with a mouth opening possibly present medially just anterior to front legs. Simple eyes or ocelli perhaps indicated by a pair of sclerotised oval areas dorsolaterally, each 7-9µm wide. Antennae short; segmentation obscure but apparently with 8 segments; length 120-130µm; all segments lightly sclerotised; scape each with 1 minute setal socket. Setae: dorsally with two lines of 6 or 7 setae medially and 1 or 2 laterally plus 0 or 1 minute pores; loculate disc-pores absent dorsally; ventrally with 4 or 5 pairs of setae plus 3 or 4 pairs of loculate disc-pores medially more or less in two lines between scapes.

Thorax: unsclerotised, segmentation unclear. With three pairs of short legs, segmentation mostly indistinct; length of metathoracic legs about 100-110µm; all segments showing light sclerotisation; prothoracic legs directed anteriorly; metathoracic legs extending posteriorly only to about IInd abdominal segment; coxae each with 0 or 1 minute setae; tarsal campaniform pores absent. With a pair of short wing-buds on either side, barely extending to mesocoxae posteriorly; mildly sclerotised; ratio of length to width 1:0.6-1:0.65 (length 135-140µm; width 80-90µm). With 2 pairs of small spiracles, width of anterior peritremes about 10-12µm; with 2 or 3 disc-pores just anterior to each mesothoracic peritreme, and with 1 or 2 disc-pores just posterior to each metathoracic peritreme. Setae and other disc-pores: dorsally with a group of 9-15 disc-pores on prothorax, plus 2 pairs of setae + 2-4 disc-pores across both meso- and metathorax; ventrally with a group of about 8 disc-pores medially between procoxae + 0-2 disc-pores laterad to leg; and with 0 or 1 disc-pore mesad to each mesocoxa and 0 or 1 setae just mesad to each coxa.

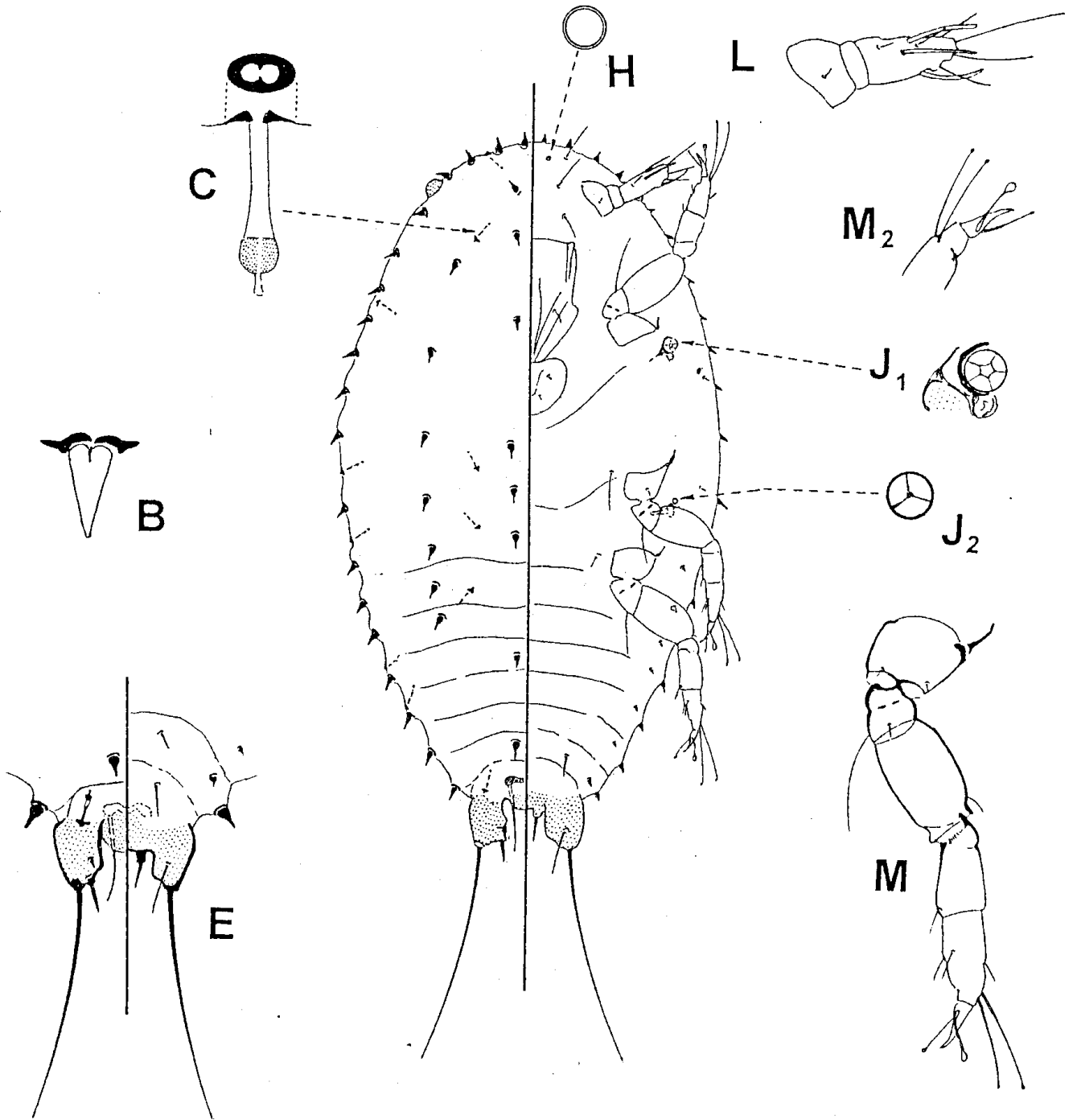


Figure 7 - First-instar of *P. rollinae* Hodgson & Gonçalves (sex not determined). Where B: dorsal setae; C: dorsal microtubular duct; E: anal lobes (dorsal view on left, ventral view on right); H: simple pore; J₁: anterior spiracular disc-pore; J₂: posterior spiracular disc-pore; L: antenna; M: complete metathoracic leg, and M₂: claw and part of tarsus of prothoracic leg.

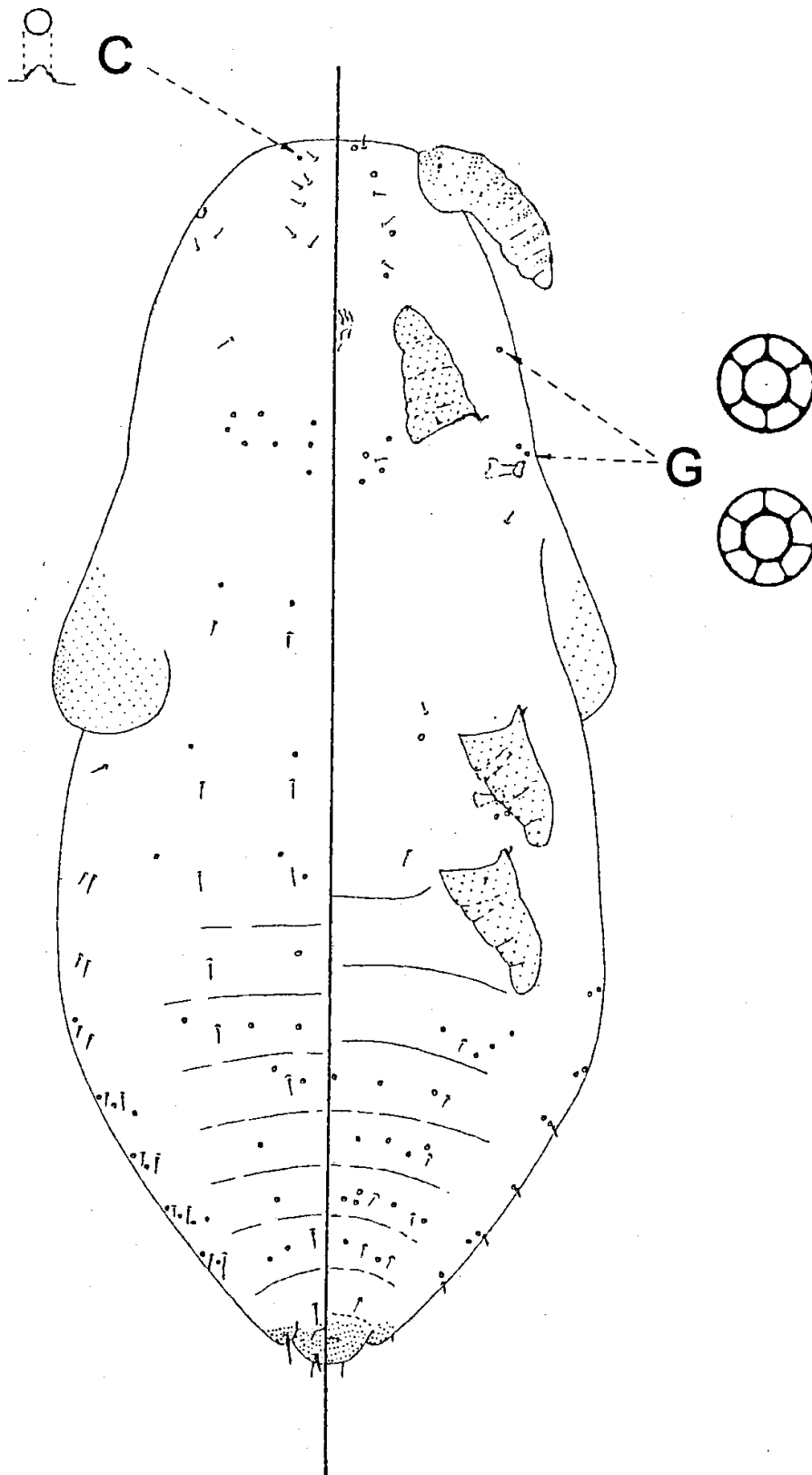


Figure 8 - Prepupa of *P. rollinae* Hodgson & Gonçalves. Where C: convex pore, and G: multilocular disc-pore.

Abdomen: segmentation fairly distinct; as there are only seven visible segments ventrally anterior to penial sheath, anteriormost segment on venter considered to represent segment II; eight segments present dorsally. Setae (s) and disc-pores (lp) as follows: dorsally: (totals) I: 4 s (dorsal abdominal setae (ads)) + 3-5 lp; II: 2-4 s + 1-4 lp; III: 2 s + 2-4 lp; IV: 2 s + 4 lp; V & VI: 0 s + 2-4 lp; VII: 2 s + 3-5 lp; VIII: 2 ante-anal setae (aas); ventrally: II: 0 ventral abdominal setae (avs) + 0 lp; II-VI: 2 or 3 s + 3-8 lp; VII: 4 s + 4-6 lp; VIII: 2 s only. Dorsopleural setae (dps): I-VII: 2 s (one generally slightly longer than other), VIII: 1 longer seta (each 16-19µm long); and segments I and II with 0 or 1 lp; III-VII: 2-4 lp, VIII: 0 lp; ventropleural setae (vps) and pores: I-III: 0 setae + 0 or 1 lp; IV-VII: 1 seta + 1-3 lp; VIII: 1 seta (each 5-6µm long); setae at posterior end rather stronger than those more anteriorly. Segment VII apparently without membranous lobes but segment VIII with a pair of distinct, slightly sclerotised lobes (ce_{viii}). Penial sheath short and broad (length 20-25µm; width at base 50-55µm; ratio of length to basal width 1:2.25) but distinctly longer than lobes of segment VIII; sclerotised; with a distinct anal opening dorsally and genital opening ventrally; without setae or pores.

Comment. The only other description of an eriococcid prepupa known to the authors is that of *Eriochiton armatus* Brittin (Hodgson & Henderson, 1996), to which it appears reasonably similar. Both share the following character-states: (i) multilocular disc-pores on dorsum, venter and pleural areas; (ii) no lateral lobes on abdominal segment VII; (iii) lobes on abdominal segment VIII quite large, and (iv) penial sheath rather short, much shorter than wide. This is significantly different from the prepupae of Coccidae, which have (i) very few or no multilocular disc-pores, (ii) large lobes on abdominal segment VII, (iii) lobes on abdominal segment VIII usually small or absent, and (iv) penial sheath often longer than broad.

The prepupa of *E. armatus* differs (character-states on *P. rolliniae* in brackets) in having: (i) multilocular disc-pores with 10 loculi (rarely more than 7); (ii) multilocular disc-pores present most frequently laterally (least common laterally).

The prepupa was described from 3 specimens, 1 in excellent condition, 1 fair and 1 poor.

Pupa (Fig. 9)

Unmounted material: cylindrical, rounded anteriorly, slightly pointed posteriorly.

Mounted specimens elongate oval; length 860µm, head width 120-195µm. Division into head, thorax and abdomen reasonably clear, although segmentation obscure apart from on abdomen. Derm membranous, with small dermal spinules. All setae hair-like (hs). All ducts absent; multilocular disc-pores present on thorax and abdomen; setae few.

Head: lacking mouthparts but with a mouth opening possibly present between pro-coxae. Simple eyes or ocelli perhaps indicated by a pair of sclerotised oval areas dorsolaterally, width 9-12µm. Antennae rather short, just reaching pre-coxae posteriorly; segmentation obscure but apparently with 8 segments; length 245-260µm; basal segments slightly to moderately sclerotised, scape and pedicel each with 1 or 2 minute setal sockets. Setae: with 3-5 pairs of small hs medially on dorsal surface, 4 pairs medially just posterior to each scape

plus 0 or 1 laterally. With a pair of lightly sclerotised plate-like structures posterolaterally on ventral surface (ventral eyes?).

Thorax: unsclerotised, segmentation not clear. With three pairs of moderately well-developed legs, segmentation clear; length of metathoracic legs about 285-305µm; coxa and trochanter generally showing some sclerotisation; prothoracic legs directed anteriorly; metathoracic legs extending posteriorly to about VIIth abdominal segment; coxae with 1 or 2 minute setae; meso- and metatibiae with small ventral setae; tarsal campaniform pores absent. With a pair of long wing-buds on either side, extending to about abdominal segment II, mildly sclerotised; length 285-305µm, width 87-100µm; ratio of length to width about 1:0.32. With 2 pairs of small spiracles, width of anterior peritremes about 13-15µm; mesothoracic pair just posterior and laterad to procoxae and metathoracic pair just posterior and laterad to mesocoxae; mesothoracic pair without spiracular disc-pores; each posterior spiracle with 3 disc-pores (mainly 5 locular) just posterior to each muscle plate. Setae: dorsal: 3 or 4 hs across both meso- and metathorax; ventral: with a pair of hs submedially between pro- and mesocoxae and another just anterior to metacoxae.

Abdomen: segmentation fairly distinct; as seven segments present ventrally anterior to penial sheath, anteriormost segment on venter considered to represent segment II. Setae: with pairs of dorsal abdominal setae (ads) medially on segments I, VII and VIII (preanal setae); with 1 or 2 pairs of small ventral abdominal setae (avs) on segments III-VIII, those on segment VIII distinctly larger (ante-anal setae (aas)), each 15-17µm long; dorsopleural setae (dps): with 1 or 2 hs on either side of metathorax plus 1 or 2 hs on each side of segments I-VIII, those on segment VIII rather larger; and with single minute ventropleural seta (vps) present on each side of segments V-VII. Quinquelocular disc pores as follows: dorsal: VI 2-4, VII 9-12; pleural: IV 2-6, V 3-5, VI 3-8, VII 6-8, VIII 0; ventral IV 0-2, V 2-4, VI 4-8, VII 8. Segment VII without membranous lobes; segment VIII with rounded lobes (ce_{viii}); sternite VIII lightly sclerotised. Penial sheath (ps) sclerotised, generally with some constriction about 2/3rds along length; longer than broad (length 75-80µm; width 65-73µm; ratio of length to basal width 1:0.89). Anal (a) opening obvious near anterior margin dorsally, width 17µm; genital opening (go) present on dorsal surface as an oval opening between constriction, width 14µm; with 2 pairs of long setae just posterior to genital opening, each 8-15µm long; without penial sheath pores.

Comment. The only other eriococcid pupae which has been described are those of *Sibococcus cerinus* Miller & González (Miller & González, 1975) and some *Eriochiton* species (Hodgson & Henderson, 1985). Like the prepupae, these share (i) multilocular disc-pores ventrally and in pleural areas (and dorsally on *Eriochiton* species and *P. rolliniae*); (ii) absence of membranous lobes on abdominal segment VII; (iii) lobes on abdominal segment VIII quite distinct but rounded; (iv) penial sheath quite long, length probably at least equal to width, and (v) mouth opening present just posterior to head. This is significantly different from the prepupae of Coccidae, which have (i) very few or no multilocular disc-pores, (ii) large lobes

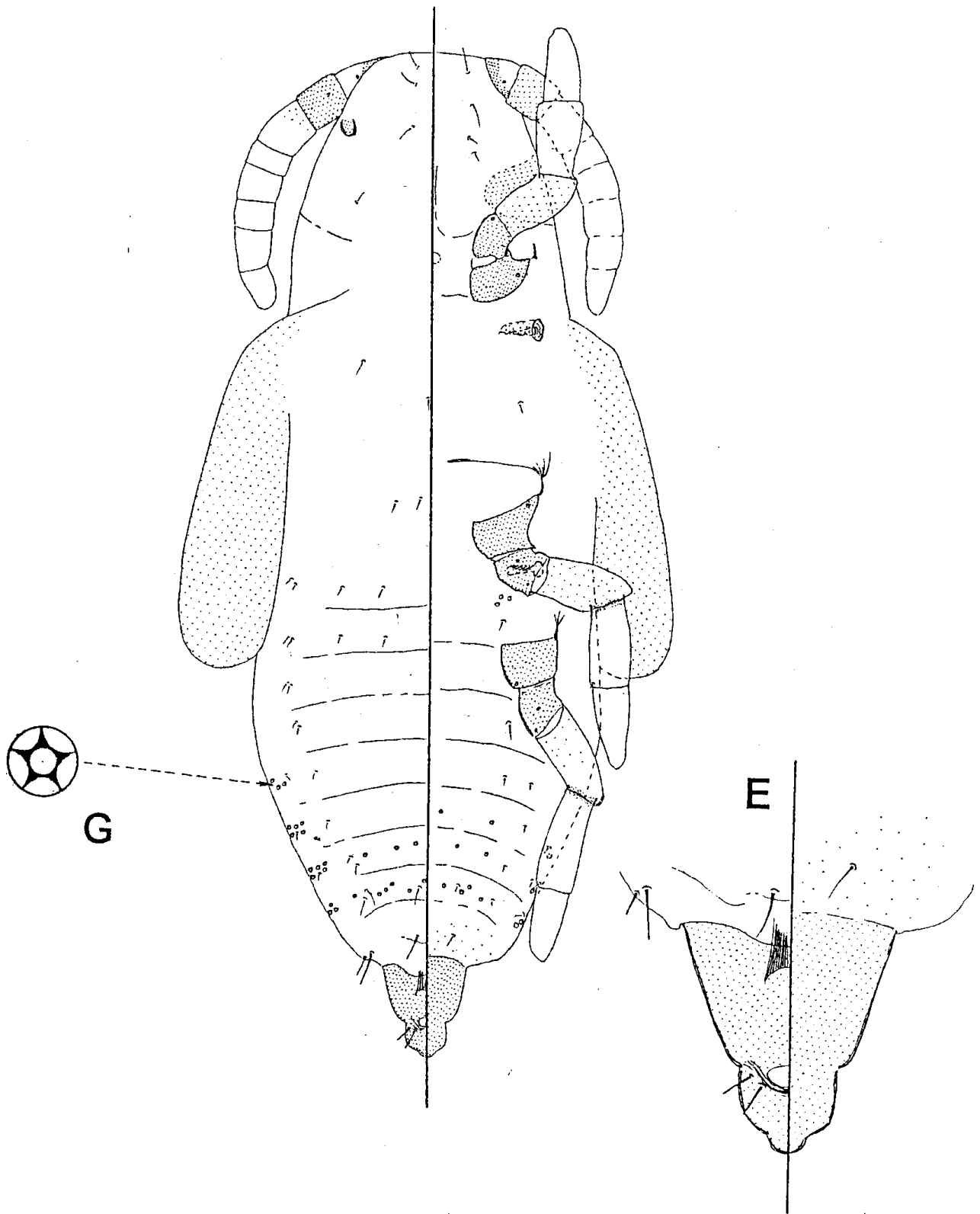


Figure 9 - Pupa of *P. rollinae* Hodgson & Gonçalves. Where E: penial sheath, dorsal view left and ventral view right, and G: multilocular disc-pore.

on abdominal segment VII, (iii) lobes on abdominal segment VIII usually small or absent and (iv) mouth opening rarely, if ever, visible. The penial sheaths of the two families are fairly similar.

The pupa of *P. rolliniae* differs from that of *S. cerinus* as follows (character-states for *S. cerinus* in brackets): (i) loculate disc-pores absent medially on pro- and mesothorax (present); (ii) quinquelocular disc-pores absent from near anterior spiracle but present near posterior spiracle (present near anterior spiracle, possibly absent from near posterior spiracle); (iii) quinquelocular disc-pores present dorsally on abdominal segments VI and VII (absent dorsally); (iv) antennae eight-segmented (9 or 10 segmented); (v) pleural sclerotisations absent (present on segments (IV) V-VIII); (vi) genital opening on dorsal surface of penial sheath (on ventral surface, indicated by a small projection), and (vii) with two pairs of subapical setae on penial sheath (one pair of apical setae).

The pupa of *Eriochiton* species differ from those of *P. rolliniae* (character-state on *P. rolliniae* in brackets): (i) 10-segmented antennae (8-segmented); (ii) a line of multilocular disc-pores present along posterior margin of head dorsally (multilocular disc-pores absent from this position); (iii) disc-pores with mainly 10-loculi (rarely more than 7 loculi), and (iv) abdominal segment VIII with lobulate lateral lobes (lobes on segment VIII very rounded).

The position of the genital opening on the dorsal surface of the penial sheath on *P. rolliniae* seems rather unlikely but it was quite clear on both specimens.

The pupa was described from 2 specimens, both in excellent condition but one with a damaged wing.

Adult male (Fig. 10)

Live material: pink.

Mounted material: small, total body length 0.7-0.92 mm; antennae short, 8-segmented, only about one-third total body length; body with few setae, fleshy setae (fs) clearly differentiated from hair-like setae (hs) and present throughout; length of fs on antennae shorter than width of antennal segments. Wings about 0.8 total body length and about 0.4 as wide as long. Hamulohalteres absent.

Head: approximately six-sided in dorsal view; length 120-125 μ m; width across genae about 150-155 μ m. Median crest (mc) poorly demarcated and not reticulated; preoccipital ridge (por) distinct, with strong posterior ridges and weaker anterior ridges; with (on each side) about 8-10 hs + 1-7 fs dorsal head setae (dhs); pores absent. Mid-cranial ridge: dorsal ridge (dmcr) well developed but short; ventral ridge (vmcr) rather longer, extending from lateral arms (lmcr) posteriorly almost to ocular sclerite; without any reticulation laterally but with 2-4 hs ventral mid-cranial ridge setae (vmcrs) on either side of ridge. Genae (g) not reticulated but with 3-6 hs + 9-12 fs genal setae (gs) on each side. Simple eyes (se): two pairs, each round and subequal in size, 25-30 μ m wide; ventral eyes clearly posterior to dorsal eyes. Ocelli (o) quite large, very convex and placed laterally, 11-14 μ m wide, situated where preocular ridge (procr) and postocular ridge (pocr) fuse. Ocular sclerite (ocs) sclerotised between ocelli and dorsal simple eyes and around ventral simple eyes but not reticulated. Preocular ridge (procr)

short dorsally but extending posteriorly and fusing with postocular ridge (pocr) ventral to each ocellus. Postocular ridge (pocr) strongly developed, extending dorsally past posterior margin of each dorsal eye and almost reaching preoccipital ridge (por) medially. Dorsal ocular setae absent. Ventral head setae (vhs): with 2 or 3 hs + 2 fs between vse and 10-14 hs + 14-17 fs above and laterad to each ventral simple eyes. Tentorial bridge and preocular ridge absent. Cranial apophysis parallel-sided and extending to vse, probably rounded apically; length about 33 μ m. With a pair of convex pores on either side of mouth area.

Antennae: 8-segmented and filiform; 230-256 μ m long (ratio of total body length to antennal length 1:0.30). Scape (scp): 25-28 μ m long and 30-32 μ m wide, with 2 hs ventrally and 2 dorsally. Pedicel (pdc): length 33-40 μ m, width 24-27 μ m; with distinct reticulations distally; with 0-2 fs, 9-16 hs + (probably) 1 campaniform pore. Segments III-VII becoming gradually broader towards apex, about 13 μ m at base and 23 μ m at widest point; fs about 6-9 μ m long; lengths of segments (μ m): III: 53-60; IV: 30-42; V: 20-33; VI: 16-30, and VII: 16-22; approximate number of setae per segment: III: 5-8 fs, 1-3 hs + 1 basiconic placodeum; IV: 3-4 fs + 4-6 hs; V: 3 or 4 fs + 1 hs; VI: 0-2 fs, 4-6 hs + 0 or 1 bristle (ab), and VII: 0 fs, 2-4 hs, 1 or 2 ab + 1 capitate seta (caps) (some hs on segments IV-VI are long but do not appear to be capitate). Segment VIII constricted towards apex; length 25-37 μ m; with 6-8 caps, 0 fs + 3 large ab and 2 small ab; 1 sensilla basiconica present on apex.

Thorax. Prothorax: pronotal ridge (prnr) well-developed and perhaps fused dorsally; with a small, slightly striated, triangular, lateral pronotal sclerite (prn), without lateral pronotal (lps) setae. Medial pronotal and post-tergital setae apparently absent. Post-tergites possibly present. Sternum (stn₁) not sclerotised but with slight radial striations; with a strong transverse ridge; median ridge short and fairly weak; with a total of 9-13 hs + 0 or 1 fs prosternal setae (stn₁s). Anteprosternal setae and antemesospiracular setae absent.

Mesothorax: prescutum (prsc) transversely oval, 66-78 μ m long and 85-100 μ m wide; sclerotised but not reticulated; with 1-3 pairs hs prescutal setae anteriorly plus 0-3 fs + 0-3 hs laterally; prescutal ridges (pscr) and prescutal suture (pscs) well developed. Scutum (sct): median area sclerotised but not reticulated, about 15-21 μ m long, with 0 or 1 fs + 0 or 1 hs setae; lateral scutal setae (scts): 0-2 hs + 0-2 fs on each side laterad to median area; lateral margins sclerotised but not reticulated; prealare ridge (pra) weak. Scutellum (scl) 78-100 μ m wide and 34-43 μ m long; with an inverted U-shaped scutellar ridge (sclr); probably not tubular and lacking a foramen; scutellar setae (scls): 1 pair hs; posterior notal wing process (pnp) quite long and sclerotised. Basisternum (stn₂) 130-150 μ m wide and 70-91 μ m long; median ridge (mdr) absent, but bounded anteriorly by a moderately strong marginal ridge (mr) and posteriorly by strong precoxal ridges (pcr₂); with a total of about 13-21 hs basisternal setae (stn₂s); lateropleurite (lpl) narrow, without an extension from marginal ridge; furca (f) well developed, narrow-waisted, arms very divergent and extending almost to anterior marginal ridge. Mesopostnotum (pn₂) well developed; postnotal apophysis (pna) well developed

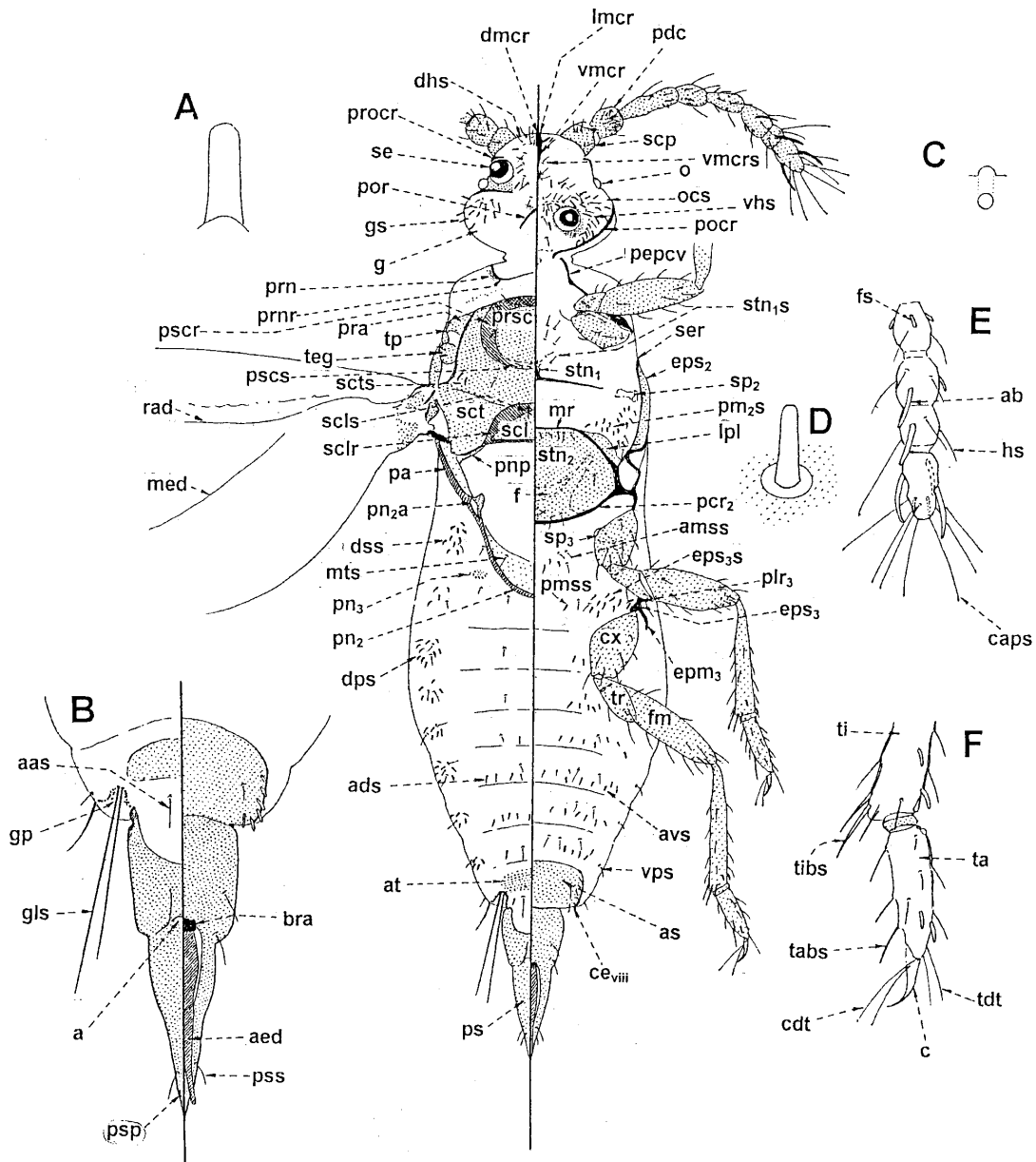


Figure 10 -Adult male of *P. rollinae* Hodgson & Gonçalves, dorsum on left and venter on right of central figure. Where A: cranial apophysis; B: penial sheath, dorsal view left and ventral view right; C: convex pore laterad to area of mouth; D: fleshy seta on antennae; E: apical four segments of antenna, and F: apical part of metathoracic leg. And where: a: anal opening; aas: ante-anal setae; ab: antennal bristle; ads: dorsal abdominal setae; aed: aedeagus; amss: anterior metasternal setae; at: abdominal tergites; as: abdominal sternites; avs: ventral abdominal setae; bra: basal rod; caps: capitae setae; c: claw; cdt: claw digitule; ce VIII: caudal extension on abdominal segment VIII; cx: coxa; dhs: dorsal head setae; dms: dorsal part of midcranial ridge; dps: dorsopleural setae; dss: dorsospiracular setae; epm₃: metepimeron; eps₂: mesepisternum; eps₃: metepisternum; eps_{3s}: postmetaspiracular setae; f: furca; fm: femur; fs: fleshy seta; g: gena; gls: glandular pouch; gp: glandular pouch; gs: genal setae; hs: hair-like seta; lmc: lateral branch of midcranial ridge; ipl: lateropleurite; med: media; mr: marginal ridge; mts: metatergal setae; o: ocelli; ocs: ocular sclerite; pa: postalare; pcr₂: precoxal ridge of mesothorax; pdc: pedicel; pepcv: proepisternum + cervical sclerite; plr₃: metapleural ridge; pms: posterior metasternal setae; pm_{2s}: postmesospiracular setae; pn₂: mesopostnotum; pn₃: metapostnotum; pn_{3a}: mesopostnotal apophysis; pnp: posterior notal wing process; pocr: postocular ridge; pra: prealar ridge; procr: proocular ridge; prsc: prescutum with prescutal setae; ps: penial sheath; pscr: prescutal ridge; pscs: prescutal suture; psp: penial sheath pores; pss: penial sheath setae; rad: radius; sb: sensilla basiconica; scl: scutellum; sclr: scutellar ridge; scls: scutellar setae; scp: scape; sct: scutum; scts: scutal setae; se: simple eyes; ser: subepisternal setae; sp₂: mesothoracic spiracle; sp₃: metathoracic spiracle; stn₁: prosternum; stn_{1s}: basisternum; stn₂: basisternum; tabs: tarsal spur; ta: tarsus; tdt: tarsal digitule; teg: tegula with tegular setae; ti: tibia; tibs: tibial spur; tp: triangular plate; tr: trochanter; vhs: ventral head setae; vmcr: ventral midcranial ridge; vmcrs: ventral midcranial ridge setae; vps: ventral pleural setae.

and opening quite elongate. Area bounded anteriorly by scutellum and laterally and posteriorly by mesopostnotum not sclerotised. Mesepisternum (eps_2) not reticulated; subepisternal ridge (ser) well developed. Postalare (pa) well developed; without postalare setae (pas). Mesothoracic spiracle (sp_2) small: width of peritreme 16-18 μ m. Postmesospiracular setae (pm_{2s}) present in a group of 1-5 hs + 8-16 fs posterior to each spiracle and with 0-2 hs medially. Tegula (teg) present, each with 2 or 3 hs + 1 or 2 fs tegular setae on each side.

Metathorax: with 1-3 pairs hs + 0 or 1 fs metatergal setae (mts). Metapostnotum (pn_3) present as a pair of small sclerites. Dorsal part of metapleural ridge (plr_3) absent, ventral part well developed; episternum (eps_3) unsclerotised, with 9 or 10 fs + 0-2 hs postmetaspiracular setae (eps_{3s}) on each side; precoxal ridge (pcr_3) short, just anterior to metacoxae. Metepimeron (epm_3) short, without setae. Antemetaspiracular setae absent. Metathoracic spiracle (sp_3): width of peritreme 16-18 μ m. Dorsospiracular setae (dss): 10 or 11 fs + 0-2 hs on each side. Metasternum membranous, with 1-3 pairs hs + 1-4 pairs fs anterior metasternal setae ($amss$) and 1-4 pairs hs + 4 or 5 pairs of fs posterior metasternal setae ($pmss$).

Wings: hyaline, about 698-730 μ m long and 273-385 μ m wide (ratio of length to width 1:0.46; ratio of total body length to wing length 1:0.88); alar lobe and alar setae absent. Hamulohalteres absent.

Legs: metathoracic leg marginally longest. Coxae (cx): I: 60-72; II: 58-68; III: 58-75 μ m long; setae of coxa III: about 2-5 fs + 7-10 hs; long apical setae not differentiated, length 18-22 μ m. Trochanter (tr) + femur (fm): I: 124-145; II: 115-137; III: 135-152 μ m long; trochanter III with 4 hs; long trochanter seta not differentiated but about 18-27 μ m long; femur III with about 13-18 hs + 0 or 1 fs. Tibia (ti): I: 94-107; II: 100-117; III: 108-124 μ m; tibia III with a total of about 18-22 setae, mainly hs, a few becoming spur-like on distal third of leg, plus 1 or 2 fs on dorsal surface distally; with 2 or 3 apical spurs ($tibs$), length 16-20 μ m. Tarsi (ta) 2 segmented, proximal segment very short: both segments combined I: 55-60; II: 53-65; III: 55-62 μ m long (ratio of length of tibia III to length of tarsus III 1:0.51); tarsus III with 10-17 setae, mainly spur-like, plus 1 or 2 fs on proximal end dorsally; tarsal spurs ($tabs$) barely differentiated, each 20 μ m long; tarsal campaniform pore present; tarsal digitules (tdt) distinctly shorter than claws, possibly without apical knobs. Claws (c) quite long and strongly curved, distinctly longer than width of tarsi, without a denticle (or with just a hint of a denticle); length: III: 16-25 μ m; claw digitules (cdt) longer than claw, probably with minute apical knobs.

Abdomen: segments I-VII: tergites (at) and sternites (as) unsclerotised; without obvious oval membranous areas in intersegmental membranes. Caudal extension of segment VII absent. Dorsal setae (ads) (totals): segment I: 4 hs; II: 0-2 hs + 0-2 fs; III: 2 hs + 11 fs; IV: 2 hs + 10-12 fs; V: 0-2 hs + 12-14 fs; VI: 0-2 hs + 8 or 9 fs; VII: 2 + 5-8 fs. Pleural setae: dorsopleural setae (dps): segments I-III: 2 or 3 hs + 4-8 fs; IV & V: 2 hs + 5-12 fs; VI & VII: 2 hs + 2-10 fs; ventropleural setae (vps) (on each side): I-III: absent; IV: 0 or 1 hs + 0 fs; V-VII: 0 or 1 hs + 0-4 fs. Ventral setae (avs) (totals): II: 0 hs + 0 or 1 fs; III-V: 2

hs + 13-19 fs; VI: 2-4 hs + 13 or 14 fs; VII: 4 hs + 10-19 fs. Segment VIII: with a small tergite (at) and a large sternite (as); with about 2 (rarely 4) hs (each 20-25 μ m long) + 0-(rarely)4 fs ante-anal setae (aas) dorsally; sternite with about 1 or 2 hs + 5-8 fs ventral abdominal setae (avs) on each side; caudal extension (ce) rounded, with 1 long hs pleural setae (length 28-37 μ m) + 1 short seta (13-20 μ m long). Glandular pouches (gp) present, fairly shallow; each with a few loculate pores outside around margin of pouch; glandular pouch setae (gls) each about 80-102 μ m long.

Genital segment: penial sheath (ps) divided into two parts: anterior section (segment IX?) sclerotised, broad (50-60 μ m wide, 40-60 μ m long); anal opening (a) present medially on dorsal surface; with two longish setae latero-ventrally on posterior margin, each 16-20 μ m long. Posterior part (penial sheath proper?) 33-35 μ m wide at base, gradually tapering to a sharp point; sclerotised; length from anterior margin of anterior section 85-92 μ m (ratio of total body length to length of penial sheath + segment IX 1:0.19); with 2 pairs of long setae (pss) near apex, each 18-20 μ m long. Aedeagus (aed) narrowing slightly towards apex, 12-14 μ m wide at base; length about 85-97 μ m. Basal rod (bra) short, perhaps 8-10 μ m long. Penial sheath with a few small sensilla (psp) near apex.

Comment. Rather few fully-winged males of Eriococcidae have been described (*Eriococcus araucariae* Maskell, *E. orariensis* Hoy, *E. buxi* (Fonscolombe), *Ovaticoccus agavium* (Douglas), *Gossyparia spuria* (Modeer) and *G. salicicola* Borchsenius (Afifi, 1968); *Apiomorpha* (?) *pharetrata* (Schrader) and *Opisthoscelis* species (Theron, 1968); *Stibococcus cerinus* Miller & González (Miller & González, 1975); *Acanthococcus droserae* Miller, Liu & Howell (Miller et al., 1992); *Eriochiton hoheriae* Hodgson (Hodgson & Henderson, 1996). The senior author has also illustrated and described (unpublished) the following eriococcid males: *Eriochiton armatus* Brittin, *Calycicoccus merwei* Brain, *Lachnodioides eucalyptus* (Maskell), *Callococcus leptospermi* Maskell, *Apiomorpha spinifer* Froggatt and *Opisthoscelis verrucula* Froggatt. Of these, the male of *P. rollinae* is very similar to that of *C. merwei* in possessing fleshy setae on the body (unknown on the other male eriococcids) and in having only 8 antennal segments (rare). *C. merwei* also has fleshy setae on the tibia and tarsus. *C. merwei* is the only known indigenous eriococcid from South Africa and also induces galls.

Afifi (1968) also described the apterous males of *Pseudokermes fraxini* (Kaltenbach), whose antennae is also 8-segmented and structurally very similar to that of *P. rollinae*. It is otherwise difficult to compare, being apterous and female-like.

The adult male was described from 4 specimens, 2 in excellent condition, 1 quite good but head distorted and 1 poor.

General biology of *P. rollinae*: preliminary observation suggest that the galls start developing shortly after bud-burst in September-October in Minas Gerais State, once the rains have arrived. The galls grow at a very fast rate and have reached their full size in about 12 days. The galls are light green and sexually dimorphic, with those induced by the female spherical and usually prominent on the adaxial leaf surface, while the

galls containing the males are more conical, with an equally well-developed ventral extension which is almost as large as the gall on the upper leaf surface; it has a large opening ventrally. Galls induced by the female are larger than those of the male and each of the former has one chamber when young but two when the insects are adult, whilst those induced by the male always have just one nymphal chamber. Eggs are laid within the lower of the two chambers within the female gall around mid-November. The first-instar nymphs or crawlers hatch inside the galls and disperse by exiting from the gall through the hole on the abaxial leaf surface, and disperse to the bases of leaf petioles where they appear to go into diapause until the first rains of the following season. The crawlers then emerge from diapause, locate the young expanding leaves and commence gall induction. No moults have been found within female galls but, once they have secreted a woolly wax test and moulted to become a prepupa, one cast skin is always present under the males' body. The males emerge from the larger hole in the base of the male gall about 12 days after gall induction and then copulate with the females inside the female galls, and so development of both the males and females would appear to be very fast, even though egg-laying is much later.

Material studied: HOLOTYPE female: BRAZIL, Minas Gerais, Belo Horizonte, Zoo-botanic Foundation near the gorilla's place, on leaves and stems (nymphs in diapause) of *Rollinia laurifolia* Schldtl. (Annonaceae), ix-xii. 2001, Samuel José de Melo Reis Gonçalves (MZSP): 1/1 adF. PARATYPE material: BRAZIL, Minas Gerais, Belo Horizonte, Zoo-botanic Foundation near the gorilla's place, on leaves and stems (nymphs in diapause) of *Rollinia laurifolia* Schldtl. (Annonaceae), ix-xii. 2001 and ix-x. 2002, Samuel José de Melo Reis Gonçalves: 4/5 adF, 7/8 2ndF, 9/10 2ndM, 7/12 1st instar, 2/3 prepupae, 2/2 pupae, 4/4 adM (Depositories: MZSP; USNM; BMNH, NMW).

Etymology: the species name *rollinae* is taken from the host plant genus *Rollinia*.

Discussion

Of the 17 genera of eriococcids that occur in Central and South America, none are obviously similar to species of *Pseudotectococcus*. The presence of protruding and heavily sclerotized anal lobes and antennae with less than 6 segments is unlike any other Neotropical genus. However, there are several shared similarities with 2 other genera, namely *Exallococcus* and *Tectococcus*.

Adult females of *Exallococcus* and *Pseudotectococcus* have: (i) large sclerotized anal lobes each with 2 enlarged setae medially; (ii) slightly invaginated anal opening; (iii) macro tubular ducts with a conspicuous rim around dermal orifice; (iv) posterior suranal setae on a small tubercle; (v) legs large and conspicuous; (vi) enlarged setae present on dorsum, and (vii) sclerotized dorsal area anterior to anal ring. *Exallococcus* differs from *Pseudotectococcus* (character-state on *Pseudotectococcus* in brackets) in having: (i) 6-segmented antennae (3- or 4-segmented); (ii) body margin with row of large macro tubular ducts and enlarged setae (without marginal row of macro tubular ducts and enlarged setae); (iii) conspicuous

discoidal pores (discoidal pores absent), and (iv) anal lobes divided longitudinally (anal lobes undivided).

Adult females of *Tectococcus* and *Pseudotectococcus* share the following attributes: (i) both induce leaf galls (males induce smaller galls than females); (ii) posterior apex of body narrowly rounded; (iii) legs well developed, and (iv) antennae usually with less than 6 segments. *Tectococcus* differs from *Pseudotectococcus* (character-state on *Pseudotectococcus* in brackets) in having: (i) anal lobes absent or small, unsclerotized (anal lobes large and sclerotized); (ii) macro tubular ducts without a dermal rim (macro tubular ducts with a dermal rim), and (iii) dorsal setae slightly enlarged (dorsal setae conspicuously enlarged).

Abbreviations for depositories: BMNH: The Natural History Museum, London, UK; NMW: National Museum of Wales, Cardiff, Wales; São Paulo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, Brazil, and USDA: National Museum of Natural History, Beltsville, MD, USA. Also note that 4/4adF means 4 slides, each with 1 adult female specimen.

Acknowledgements

We would particularly like to thank Dr. Sergio Ide, Museu de Zoologia, Brazil, for the loan of the dried material of *P. anonae*. Also Dr. Ketli Zanol (Universidade Federal of Panamá) for her useful comments and suggestions on the manuscript.

References

- Afifi, S.A. 1968. Morphology and taxonomy of the adult males of the families Pseudococcidae and Eriococcidae (Homoptera: Coccoidea). **Bulletin of the British Museum (Natural History), Entomology (Supplement)**, 13. 210 pp.
- Beardsley, J.W. 1984. Gall-forming Coccoidea. Pp 79-106 in **Biology of Gall Insects**, ed. Ananthakrishnan, T.N. Oxford & IBH Publ. Co. New Delhi. 400pp.
- Borchsenius, 1949. Sucking Insects, Vol. 7. Suborder mealybugs and scale insects (Coccoidea). Family mealybugs (Pseudococcidae). **Fauna of the USSR, Zoologicheskii Institut Akademii Nauk SSSR (N.S.)**, 38: 1-383 (in Russian).
- Cockerell, T.D.A. 1899. Two new genera of lecaniine Coccidae. **The Entomologist**, 32: 12-13.
- Costa Lima, A. 1936. **Terceiro catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil**. Rio de Janeiro, Diretoria de Estatística da Produção. 460pp.
- Ferris, G.F. 1957. A review of the family Eriococcidae (Insecta: Coccoidea). **Microentomology**, 22: 81-89.
- Gaedike, H. 1971. Katalog der in den Sammlungen des ehemaligen Deutschen Entomologischen Institutes aufbewahrten Typen. VI. (Homoptera, exklusive Aphidina). **Beiträge für Entomologie**, 21: 315-339.
- Green, E.E. 1930. Notes on some Coccidae collected by Dr. Julius Melzer, at São Paulo, Brazil. **Stettiner Entomologische Zeitung**, 91: 214-219.

- Hempel, A. 1900. As coccidas Brasileiras. **Revista do Museu Paulista, São Paulo**, 4: 365-537.
- Hempel, A. 1934. Descrição des três espécies novas, três gêneros novos e uma subfamília nova de Coccídeos (Homoptera: Homoptera). **Revista de Entomologia**, 4: 139-147.
- Hempel, A. 1935. Three new species of Coccidae including three new genera and one new subfamily from Brazil. **Arbeiten über physiologische und angewandte Entomologie**, 2: 56-62.
- Hempel, A. 1937. Novas espécies de coccídeos (Homoptera) do Brasil. **Archivos do Instituto Biológico. São Paulo**, 8: 5-36.
- Hodgson, C.J. & Henderson, R.C. 1996. A revision of the *Eriochiton spinosus* (Maskell) species-complex, including a phylogenetic analysis of its relationships. **Journal of the Royal Society of New Zealand**, 26: 143-204.
- Hodgson, C.J. & Miller, D.R. 2002. A new genus and two new species of felt scales (Homiptera: Coccoidea: Eriococcidae) from Chile, with comments on zoogeographical affinities between eriococcid faunas of South America and New Zealand. **Systematic Entomology**, 27: 191-209.
- Hoy, J.M. 1962. Eriococcidae of New Zealand. **Bulletin of the New Zealand Department of Scientific and Industrial Research**, 146. 219pp.
- Hoy, J.M. 1963. A catalogue of the Eriococcidae (Homoptera: Coccoidea) of the World. **Bulletin of the New Zealand Department of Scientific and Industrial Research**, 150. 206pp.
- Kieffer, J.J. & Jorgensen, P. 1910. Gallen und Gallentiere aus Argentinien. **Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infectiouskrankheiten (und Hygiene). Jena**, 27: 362-444.
- Kloet, G.S. 1944. A new generic name in the Coccidae (Homiptera). **Entomologist's Monthly Magazine**, 80: 86.
- Lepage, H.S. 1938. Catalágo dos Coccídeos do Brasil. **Revista do Museu Paulista, São Paulo**, 23: 327-491.
- Lepage, H.S. 1941. Descrição de um novo gênero e nova espécie de coccídeo proctor de galhas (Homopter-Coccoidea). **Archivos do Instituto Biológico. São Paulo**, 12: 141-145
- Lizer y Trelles, C.A. 1955. Description d'une nouvelle et bizarre cochenille de la Region Neotropical (Hom. Eriococcidae). **Bulletin de la Société Entomologique de France**, 60: 37-38.
- Lindinger, L. 1937. Verzeichins der schildlaus-gattungen (Homoptera-Coccoidea Handlirsch 1903). **Entomologisches Jahrbuch**, 46: 178-198.
- Mass, P.J.M. & Westra, L.Y.Th. 1992. **Flora Neotrópica. Rollinia. Monograph**. 57. 188pp.
- Miller, D.R. & Gimpel, M.E. 2000. **A Systematic catalogue of the Eriococcidae (Felt Scales) (Homiptera: Coccoidea) of the World**. Intercept Ltd. Andover. 589pp.
- Miller, D.R. & Gonzáles, R.H. 1975. A taxonomic analysis of the Eriococcidae of Chile. **Revista Chilena de Entomologia**, 9: 131-163.
- Miller, R.R., Liu, Tong-Xian & Howell, J.O. 1992. A new species of *Acanthococcus* (Homoptera: Coccoidea: Eriococcidae) from sundew (*Drosera*) with a key to the instars of *Acanthococcus*. **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, 94: 512-523.
- Morrison, H. & Morrison, E.R. 1966. **An Annotated List of Generic Names of the Scale Insects**. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Miscellaneous Publication No. 1015, 206pp.
- Schrader, H.L. 1863. Observations on certain gall-forming Coccidae of Australia. **Transactions of the Entomological Society of New South Wales**, 1: 1-6.
- Signoret, V. 1875. Essai sur les cochenilles ou gallinsectes (Homoptères - Coccides), 14e partie. **Annales de la Société Entomologique de France (ser 5)**, 5: 15-40.
- Silva, A.G. d'A., Goncalves, C.R., Galvao, D.M., Concalves, A.J.L., Gomez, J., Silva, M. N. & Simoni, L. de. 1968. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil. Part II. Seus parasitas e predadores. **Índice de insetos e índice de plantas. Rio de Janeiro, V. 2**. 265pp.
- Targioni Tozzetti, A. 1868. Introduzione alla seconda memoria per gli studi sulle cocciniglie, e catalogo dei generi e delle specie della famiglia dei coccidi. **Atti della Società Italiana di Scienze Naturali**, 11: 721-738.
- Theron, J.G. 1968. Studies on the morphology and relationships of male *Apiomorpha* and *Opisthoscelis* (Homiptera: Coccoidea). **Australian Journal of Zoology**, 16: 87-99.