

ANA CAROLINA RIBEIRO DE CASTRO

**REAÇÕES ESTRUTURAIS E QUÍMICAS DE *Caryocar brasiliense* Camb.
(CARYOCARACEAE) A HERBÍVOROS GALHADORES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Dra. Rosy Mary dos Santos Isaias
Co-orientador: Dr. Germano Leão Demolin Leite

Belo Horizonte - Minas Gerais

2007

Castro, Ana Carolina Ribeiro de
Reações estruturais e químicas de *Caryocar brasiliense* Camb.
(Caryocaraceae) a herbívoros galhadores. [manuscrito] / Ana Carolina
Ribeiro de Castro. – 2007.
83 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Rosy Mary dos Santos Isaias. Co-orientador: Germano
Leão Demolin Leite.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais.
Departamento de Botânica.

1. Pequi – Teses. 2. Galhas (Botânica) - Teses. 3. Plantas - Histoquímica
– Teses. 4. Himenóptero – Teses. 5. Botânica- Teses. 6. Anatomia vegetal –
Teses. I. Isaias, Rosy Mary dos Santos. II. Leite, Germano Leão Demolin. III.
Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Botânica. IV. Título.

CDU:581.15

À minha pequena Alice...

*“Para ser grande, sê inteiro: nada teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és no mínimo que fazes.
Assim como em cada lago a lua toda brilha, porque alta vive.”*

Fernando Pessoa

Agradecimentos

À Universidade Federal de Minas Gerais e ao Departamento de Botânica pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

À minha orientadora, Prof. Dra. Rosy Mary dos Santos Isaias, pela oportunidade de trabalho, orientação, colaboração, amizade, confiança, compreensão e paciência, especialmente na etapa final de trabalho.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Germano Leão Demolin Leite, pela sugestão de trabalho, auxílio nas coletas do material e análises estatísticas e pela orientação.

Aos Prof. Dr. Élder Antônio Sousa e Paiva e Fernando Henrique Aguiar Vale, pelos ensinamentos, pela atenção, carinho e pela agradabilíssima convivência.

Ao Prof. Dr. Ernane Martins, grande e eterno amigo e orientador, responsável pelo meu interesse pela Anatomia Vegetal. Obrigada pelo constante incentivo e pelas fotos dos pequizeiros.

À Jaciara, pelo estágio no laboratório de Anatomia Vegetal e por me apresentar ao “universo das galhas”.

Ao grande amigo Fabrício Leonardo Alves Ribeiro, o hilário, pelas coletas do material vegetal.

À estagiária Roane, pela dedicação no processamento do material e pelas lindas fotos das galhas.

A todos os colegas e amigos do Laboratório de Anatomia Vegetal pelas conversas divertidíssimas, discussões de toda ordem, pelas dicas e ajuda no trabalho e por aturarem minha cantoria desafinada dia após dia.

A super-mega-hiper-ultra-plus amiga Dani, por sua generosidade, pelo sem-fim de favores prestados, pela inestimável amizade e pelas numerosas risadas que dividiu comigo.

Ao Dênis, pela ajuda nos testes histoquímicos e parceria nas músicas caipiras.

À equipe de apoio emergencial Ana, Dênis e Anete, pelas sugestões e auxílio na análise dos dados. Agradeço especialmente à Anete, pela leitura crítica das mil versões da dissertação e pela fundamental colaboração nos pormenores....

À amiga Veruska, pela lealdade, solidariedade, companheirismo e pelo colo, que me confortou tantas vezes...

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia Vegetal, pela amizade que venceu as barreiras do corredor!

Aos professores e alunos do Departamento de Botânica, especialmente àqueles das disciplinas que cursei, pelo coleguismo e pelo “intercâmbio científico”.

A todos os funcionários do Departamento, pelo bom convívio e serviços prestados. Agradeço especialmente aos técnicos Socorro e Wagner, que contribuíram diretamente para realização deste trabalho.

A todos os amigos, do meio acadêmico ou não, pelo companheirismo, pela grande torcida e incentivo. O carinho, a amizade, o apoio e as fraldas (*risos*) que recebemos de vocês foram fundamentais para a conclusão deste trabalho! Obrigada!!!

Às primas Dóris e Isadora, pelo abrigo, carinho e cuidados durante meu angustiante repouso (absoluto!), especialmente à Dóris, que cuidou de *nós* como uma mãezona!

À minha grande família, meu alicerce. Seu apoio e amor foram especialmente essenciais nesta fase profissional e pessoal da minha vida. Sou grata pelo amor incondicional, fidelidade e ajudas emocional, moral, financeira, logística... O que recebo de vocês é “irretribuível”!

E por fim, mas de maneira alguma menos importante, à minha linda e amadíssima filha, Alice, que nasceu pouco antes da conclusão deste trabalho, tornou realidade meu sonho de ser mãe e transformou tudo, dando um sabor indescritível à minha vida!

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	02
Referências.....	06
CAPÍTULO 1 – MORFOLOGIA E ANATOMIA DA GALHA FOLIAR EM <i>CARYOCAR BRASILIENSE</i>	
CAMB.....	09
Resumo.....	10
Abstract.....	11
Introdução.....	12
Material e Métodos.....	15
Resultados.....	20
Discussão.....	25
Referências	32
Figuras.....	37
CAPÍTULO 2 – IMPACTO DA INDUÇÃO DE GALHAS NA PRODUÇÃO E RESERVA DE SUBSTÂNCIAS EM FOLHAS DE <i>CARYOCAR BRASILIENSE</i> CAMB.....	
Resumo.....	45
Abstract.....	46
Introdução.....	47
Material e Métodos.....	48
Resultados e Discussão.....	52
Referências	55
Figuras.....	65
CONSIDERAÇÕES FINAIS	71
	75

Resumo

Caryocar brasiliense Camb. (Caryocaraceae) apresenta folhas pilosas, barreira física que *Eurytoma* sp., inseto galhador, consegue sobrepujar, obtendo sucesso na oviposição. Estudos anatômicos nessas galhas visam responder como a oviposição e a alimentação alteram os padrões morfogênicos da planta hospedeira. A galha de *C. brasiliense* possui superfície pilosa, é globóide e projetada para a face abaxial. Formada preferencialmente na região do limbo próxima ao bordo, possui uma câmara larval contendo um único indivíduo galhador. Em decorrência da formação das galhas, foram observadas alterações nos três sistemas de tecidos, sendo que as galhas apresentam algumas das características citadas como padrão por Dreger-Jauffret e Shorthouse (1992) para galhas de Hymenoptera. A formação da galha pode provocar alterações no desenvolvimento do vegetal, como observado em diversos sistemas galhador-planta. Acredita-se que essas alterações sejam resultado da realocação de recursos para o sítio de formação das galhas. Para estudo do impacto da indução de galhas nas folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. foram analisados o nível de infestação, a área foliar afetada, o teor de pigmentos fotossintetizantes e a detecção histoquímica de substâncias dos metabolismos primário e secundário. O nível de infestação foi considerado médio, em comparação com outros sistemas. A área foliar significativamente maior nas porções galhadas pode indicar favorecimento da expansão foliar pelo dreno formado na galha ou retomada da potencialidade do meristema marginal, dependendo da idade das folhas no momento da indução. Embora as galhas tenham apresentado teores reduzidos de pigmentos fotossintetizantes em relação ao tecido sadio, o aumento na área foliar pode indicar mecanismos compensatórios ou o estabelecimento de um dreno das porções fotossinteticamente ativas para a galha. O acúmulo de substâncias fenólicas nos tecidos periféricos das galhas de *C. brasiliense* pode representar uma defesa contra inimigos naturais do galhador, ao passo que a ausência ou teor reduzido desses compostos no sítio de alimentação das larvas pode favorecer o estabelecimento das mesmas. A detecção de açúcares redutores no tecido nutritivo destas galhas revela um tipo de reserva não descrito anteriormente para galhas de Hymenoptera.

Abstract

Caryocar brasiliense Camb. (Caryocaraceae) has hairy leaves, which constitute a physical barrier that the galling insect, *Eurytoma* sp. can surpass and get success in oviposition. Anatomical studies aimed to answer how the oviposition and feeding patterns of the galling insect alter the morphogenesis of the host plant. The gall of *C. brasiliense* is hairy, globular and prominent to leaf abaxial surface. It develops preferentially next to leaf margin, and the larval chamber contains a single larvae. Due to the formation of the galls, alterations are observed in the three plant tissue systems, following a pattern referred in literature for Hymenopteran galls. Gall development may cause changes in plant development, as observed in several galling insect-host plant systems. It is believed that these changes are the result of the reallocation of resources to the site of formation of galls. To study the impact of gall induction on the leaves of *Caryocar brasiliense* Camb., the level of infestation, the effects on leaf area, the content of photosynthetic pigments, and the histochemical detection of primary and secondary metabolites were analyzed. The level of infestation was considered medium, in comparison to other systems. Leaf area was significantly larger on galled leaves which may indicate that leaf expanded due to a sink formed towards gall site or the potentially resumption of the marginal meristem, depending on the age of the leaves at the time of induction. Although the galls have presented reduced photosynthetic pigments contents in relation to healthy tissue, the increase in leaf area may indicate compensatory mechanisms or the establishment of a sink from the photosynthetically active plant parts towards the gall. The accumulation of phenolic substances in peripheral tissues of the galls of *C. brasiliense* may represent a defense against natural enemies of the galling insect, while the absence or reduced content of these compounds in the feeding site of the larvae may favor its establishment. The detection of reducing sugars in the nutritive tissue of these galls reveals a kind of nutritious reserve not previously reported for Hymenoptera induced galls.

INTRODUÇÃO GERAL

O cerrado é o segundo maior bioma do Brasil (Ribeiro & Walter, 1998), ocupando cerca de 21% do território do país (Aguiar & Camargo, 2004). Segundo Aguiar & Camargo (2004), 80% do cerrado brasileiro já foi convertido em áreas antrópicas e somente 4,4% da área de cerrado original são protegidos por lei. A degradação desse bioma está ocorrendo em velocidade maior do que a produção científica a seu respeito, o que compromete sua conservação e proteção (Aguiar & Camargo, 2004).

Dentre as espécies vegetais do cerrado, encontra-se *Caryocar brasiliense* Camb., sendo esta a principal representante da família Caryocaraceae neste bioma (Araújo, 1995). A família, representada pelos gêneros *Caryocar* e *Anthodiscus* (Prance & Silva, 1973), encontra-se distribuída nas Américas do Sul e Central. De acordo com Prance & Silva (1973) e Prance (1990) o gênero *Caryocar* compreende dezesseis espécies, sendo que doze destas ocorrem no Brasil. Conhecida popularmente como pequi, *C. brasiliense* é uma espécie muito importante para a região onde ocorre, destacando-se o norte de Minas Gerais, onde existem comunidades que sobrevivem basicamente da coleta de seus frutos (Chávez Pozo, 1997; Almeida *et al.*, 1998; Ribeiro, 2000). A espécie é utilizada para extração de óleo, preparo de pratos típicos (Almeida, 1998) e também na indústria cosmética para produção de sabonetes e cremes (Araújo, 1995; Silva *et al.*, 2001). O óleo da polpa de seus frutos possui propriedades medicinais (Salles *et al.*, 1997; Rodrigues & Carvalho, 2001) e sua madeira é utilizada para xilografia, construção civil e naval (Lorenzi, 2002).

Leite *et al.* (2006a) afirmam que a coleta de frutos de *C. brasiliense* tem afetado a composição das populações nativas da espécie, sendo encontrados em maioria, indivíduos em fase reprodutiva, o que indica que a regeneração natural da espécie está sendo comprometida

pelo extrativismo predatório e a espécie pode, conseqüentemente, desaparecer dos cerrados brasileiros.

Além do impacto gerado pelo extrativismo, o desequilíbrio ocasionado pelo desmatamento do cerrado tem favorecido o ataque de insetos herbívoros, provocando quedas de produtividade em *C. brasiliense*, segundo catadores de pequi da região de Montes Claros e Japonvar, ambos os municípios localizados no estado de Minas Gerais. Dentre esses insetos, Veloso *et al.* (2004) citam o galhador *Eurytoma* sp., que tem sido observado em grande número em plantas de *C. brasiliense* estudadas em três áreas distintas do cerrado norte-mineiro, chegando a colonizar 36% das folhas de uma árvore. Oliveira (1997) e Oliveira & Freitas (2004) citam como um dos principais insetos associados a *C. brasiliense*, uma vespa galhadora de folhas (Hymenoptera: Chalcidoidea), cujo ataque pode provocar a queda foliar prematura.

A ocorrência de galhas induzidas por insetos em *C. brasiliense* tem sido amplamente reportada na literatura (Oliveira, 1997; Macedo & Veloso, 2002; Urso-Guimarães *et al.*, 2003; Oliveira & Freitas, 2004), sendo citados diferentes morfotipos de galhas. Sabe-se que galhas induzidas por uma espécie de indutor são idênticas entre si e diferem notavelmente daquelas induzidas por outra espécie, ainda que estas sejam intimamente relacionadas (Mani, 1964; Rohfritsch, 1992). A maioria dos insetos galhadores é altamente específica para órgãos ou plantas hospedeiras, induzindo galhas em uma única espécie hospedeira ou em um grupo de hospedeiros próximos (Dreger-Jauffret & Shorthouse, 1992). Assim, entende-se que as galhas de diferentes morfotipos observadas em *C. brasiliense* são formadas por diferentes espécies de indutores, como já afirmado pelos autores supracitados.

Galhas entomógenas são formadas pela alteração dos padrões morfogenéticos da planta hospedeira em resposta a estímulos do inseto indutor (Rohfritsch, 1992; Hartley, 1998). O desenvolvimento da galha envolve processos de hipertrofia, hiperplasia e desdiferenciação,

que levam ao desenvolvimento anormal de células, tecidos ou órgãos vegetais (Mani, 1964; Rey, 1992) originando tecidos especializados (Isaias, 1998). Essas galhas variam enormemente em complexidade (grau de diferenciação da galha) e diversidade (variedade de estruturas induzidas por membros de um dado táxon) (Stone & Schönrogge, 2003). Nessa interação, a planta fornece alimento e abrigo ao inseto galhador (Mani, 1964; Dreger-Jauffret & Shorthouse, 1992; Bronner, 1992), facilitando até mesmo sua dispersão (Mani, 1964). O desenvolvimento da galha ocorre, contudo, em detrimento do desenvolvimento da planta hospedeira, podendo até levá-la à morte se houver alta infestação (Mani, 1964; Fernandes & Martins, 1985).

A formação de galhas pode ocorrer em todos os órgãos vegetais, sendo a folha o órgão mais comumente atacado (Birch *et al.*, 1992; Oliveira & Maia, 2005), como ocorre em *C. brasiliense*.

O êxito do herbívoro galhador na formação da galha parece depender dos aspectos anatômicos e da composição química da planta. Algumas características podem garantir a defesa do vegetal ao ataque do indutor, tal como a presença de substâncias fenólicas (Isaias *et al.*, 2000). Além disso, o ataque do herbívoro pode induzir uma reação de hipersensitividade, na qual o vegetal sofre mudanças morfológicas e fisiológicas que levam à morte do tecido atacado (Fernandes *et al.*, 2000), sendo este um dos mecanismos de defesa mais comuns em guildas de insetos que têm uma relação estreita com a planta hospedeira, como os galhadores (Abrahamson *et al.*, 1991; Fernandes *et al.*, 2000).

Os insetos galhadores conseguem, entretanto, utilizar as características de defesa da planta hospedeira em benefício próprio, direcionando-as contra seus inimigos naturais. Contudo, apesar da existência de mecanismos de defesa em muitas galhas, estas e seus respectivos indutores são, freqüentemente, alvos de muitas espécies de predadores, parasitos,

parasitóides e inquilinos (Kraus, 1997), o que aumenta a complexidade do sistema galhador-planta hospedeira.

As galhas constituem, portanto, um tema complexo e de implicações ecológicas e econômicas importantes, cujo estudo é relativamente recente nas regiões neotropicais (Kraus *et al.*, 1996).

Dentre os morfotipos de galhas formados em *C. brasiliense*, o induzido por Hymenoptera: Chalcidoidea é mais freqüentemente citado na literatura (Oliveira, 1997; Oliveira & Freitas, 2004; Veloso *et al.*, 2004; Leite *et al.*, 2006b). Porém, seus aspectos morfológicos e químicos permanecem desconhecidos. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar as alterações morfoanatômicas advindas do processo cecidogênico e verificar o impacto da indução de galhas causadas por galhadores Hymenoptera na área fotossintetizante das folhas de *C. brasiliense*.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAMSON, W.G.; McCREA, K.D.; WHITWELL, A.J.; VERNIERI, L.A. The role of phenolics in goldenrod ball gall resistance and formation. *Biochemical Systematics and Ecology*. v. 19, n. 8, p. 615-622. 1991.
- AGUIAR, L.M.S.; CAMARGO, A.J.A. Cerrado: Ecologia e Caracterização. EMBRAPA – CPAC, Planaltina, 2004.
- ALMEIDA, S.P. Cerrado: aproveitamento alimentar. Planaltina: EMBRAPA/CPAC, 1998. 188 p.
- ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA/CPAC, 1998. 464 p.
- ARAÚJO, F.D. A review of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) - an economically valuable species of the central Brazilian cerrados. *Economy Botany*. v. 49, n. 1, p. 40-48. 1995.
- BIRCH, M.L.; BREWER, J.W.; ROHFRIETSCH, O. Biology of *Dasineura affinis* (Cecidomyiidae) and influence of its gall on *Viola odorata*. In: *Biology of insect induced galls* (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. 285p.
- BRONNER, R. The role of nutritive cells in the nutrition of cynipids and cecidomyiids. In *Biology of insect induced galls* (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 118-140.
- CHÉVEZ POZO, O.V. O pequi (*Caryocar brasiliense*): uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no Norte de Minas Gerais. 100f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.
- DREGER-JAUFFRET, F.; SHORTHOUSE, J.D. Diversity of gall-inducing insects and their galls. In *Biology of insect induced galls* (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 8-33.
- FERNANDES, G.W.; CORNELISSEN, T.G.; ISAIAS, R.M.S.; LARA, T.A.F. Plants fight gall formation: Hypersensitivity. *Ciência e Cultura*. v. 52, n. 1, p. 49-54. 2000.
- FERNANDES, G.W.A.; MARTINS, R.P. As galhas: tumores de plantas. *Ciência Hoje*. v. 4, p. 58-64. 1985.
- HARTLEY, S.E. The chemical composition of plant galls: are levels of nutrients and secondary compounds controlled by the gall-former? *Oecologia*. v.113, p. 492-501. 1998.

- ISAIAS, R.M.S.; SOARES, G.L.G.; CHRISTIANO, J.C.S.; GONÇALVES, S.J.M.R. Análise comparativa entre as defesas mecânicas e químicas de *Aspidosperma australe* Müell. Arg. e *Aspidosperma cylindrocarpon* Müell. Arg. (Apocynaceae) contra herbivoria. *Floresta e Ambiente*. v. 7, n. 1, p. 11-18. 2000.
- ISAIAS, R.M.S. Galhas entomógenas em *Machaerium* (Leguminosae-Papilionideae): Anatomia e Histoquímica. 220f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- KRAUS, J.E. Respostas morfogenéticas de plantas a indutores galhadores. In: ARAÚJO, M. C. P.; COELHO, G. C. e MEDEIROS, L. (Orgs.) Interações ecológicas e biodiversidade. Ijuí: Unijuí, 1997. p. 59-75.
- KRAUS, J.E.; SUGIURA, H.C.; CUTRUPI, S. Morfologia e ontogenia em galhas entomógenas de *Guarea macrophylla* subsp. *tuberculata* (Meliaceae). *Fitopatologia Brasileira*. v. 21. n. 3. p. 349-356. 1996.
- LEITE, G.L.D. VELOSO, R.V.S.; ZANUNCIO, J.C. FERNANDES, L.A.; ALMEIDA, C.I.M. Phenology of *Caryocar brasiliense* in the Brazilian cerrado region. *Forest Ecology and Management*, v. 236, p. 286-294, 2006a.
- LEITE, G.L.D.; VELOSO, R.V.S.; REDOAN, A.C.; LOPES, P.S.N.; MACHADO, M.M.L. Artrópodes (Arthropoda) associados a mudas de pequizeiro *Caryocar brasiliense* Cambess. (Caryocaraceae). *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, v. 73, n. 3, p. 365-370. 2006b.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 368 p. v. 1.
- MACEDO, J.F.; VELÔSO, J.M. Entomofauna associada ao pequizeiro *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae). *Entomologia y vectores*. v. 9, n. 2, p. 263-273. 2002.
- MANI, M.S. Ecology of plant galls. The Hague: Dr. Junk Publishers, 1964. 434p.
- OLIVEIRA, J.C.; MAIA, V.C. Ocorrência e caracterização de galhas de insetos na Restinga de Grumari (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*. v. 63, n. 4, p. 669-675. 2005.
- OLIVEIRA, P.S.; FREITAS, A.V.L. Ant-plant-herbivore interactions in the neotropical cerrado savanna. *Naturwissenschaften*. v. 91, p. 557-570. 2004.
- OLIVEIRA, P.S. The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). *Functional Ecology*. v. 11, p. 323-330. 1997.

- PRANCE, G.T. The genus *Caryocar* L. (Caryocaraceae): an underexploited tropical resource. *Advances in Economic Botany*. n.8, p. 177-188. 1990.
- PRANCE, G.T.; SILVA, M.F. Caryocaraceae. New York: Hafner, 1973. 75p. (Flora Neotrópica, Monograph n. 12).
- REY, L.A. Developmental morphology of two types of Hymenopterous galls. *In Biology of insect induced galls* (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 87-101.
- RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T. Fitofisionomias do bioma cerrado. *In Cerrado: ambiente e flora* (S.M., Sano; S.P. Almeida, eds.) EMBRAPA – CPAC, Planaltina, p.89-91. 1998.
- RIBEIRO, R.F. Pequi, o rei do cerrado: roendo o fruto sertanejo por todos os lados. Belo Horizonte: REDE CERRADO/REDE/CAANM/CAMPO VALE, 2000. 62 p.
- RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A. Plantas medicinais no domínio dos cerrados. Lavras: UFLA, 2001. 180 p.
- ROHFRITSCH, O. Patterns in gall development. *In Biology of insect induced galls* (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 60-86.
- SALLES, A.H.; REIS, G.M.C.L.; ZURLO, M.A. Horto Medicinal do Cerrado. 2. ed. rev. e ampl. Brasília: Jardim Botânico de Brasília, 1997. 33 p.
- SILVA, D.B.; SILVA, J.A.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M. 2001b. Frutas do cerrado. Brasília: EMBRAPA-Cerrado, 2001. 179p.
- STONE, G.N.; SCHÖNROGGE, K. The adaptative significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology and Evolution*. v. 18, n. 10, p. 512-522. 2003.
- URSO-GUIMARÃES, M.V.; SCARELI-SANTOS, C.; BONIFÁCIO-SILVA, A.C. Occurrence and characterization of entomogenous galls in plants from natural vegetation areas in Delfinópolis, MG, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*. v. 63, n.4, p. 705-715. 2003.
- VELOSO, R.V.S.; LEITE, G.L.D.; SÁ, V.G.M.; SANTOS, M.C. Distribuição espacial de insetos galhadores em pequizeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18., 2004, Florianópolis. *Resumo*. Florianópolis: CBF, 2004. 1 CD-ROM.

CAPÍTULO 1 - MORFOLOGIA E ANATOMIA DA GALHA FOLIAR

Resumo

Caryocar brasiliense, conhecida popularmente como pequi, apresenta folhas pilosas, barreira física que *Eurytoma* sp., inseto indutor de galhas, consegue sobrepujar, obtendo sucesso na oviposição. Estudos anatômicos nessas galhas visam responder como a oviposição e a alimentação alteram os padrões morfogênicos da planta hospedeira. A galha de *C. brasiliense* é globóide, mede $1,28 \pm 0,20$ mm X $0,90 \pm 0,25$ mm, possui superfície pilosa; é séssil e projetada para a face abaxial. É avermelhada quando jovem e verde na fase de maturidade. É formada preferencialmente na região do limbo próxima ao bordo e possui uma câmara larval contendo um único indivíduo galhador. Em decorrência da formação das galhas, a epiderme foliolar de *C. brasiliense* mantém-se unisseriada, com cutícula mais espessa e grande pilosidade. Em algumas regiões da galha ocorre a substituição da epiderme por periderme, o que indica a expressão de um caráter usualmente ausente em lâminas foliares. O sistema de revestimento da câmara larval é originado pelo dobramento da lâmina a partir da face abaxial da folha, seguida pelo completo fechamento da galha ao redor do corpo do inseto em desenvolvimento. Os caracteres morfológicos e anatômicos da galha foliar de *C. brasiliense*, tais como sua posição no bordo foliolar, o fato de ser uma galha verdadeiramente fechada, com tecido nutritivo típico envolto por esclerênquima, a aproxima do padrão proposto para alguns grupos de Hymenoptera. Além desses caracteres, o fato de que o gênero *Eurytoma* apresenta muitos representantes parasitóides sugere que esta galha apresenta posição evolutiva intermediária dentre os diversos tipos de galhas.

Abstract

Caryocar brasiliense, known as pequi, apresenta folhas pilosas, barreira física que *Eurytoma* sp., inseto indutor de galhas, consegue sobrepujar, obtendo sucesso na oviposição. Estudos anatômicos nessas galhas visam responder como a oviposição e a alimentação alteram os padrões morfogênicos da planta hospedeira. A galha de *C. brasiliense* é globóide, mede $1,28 \pm 0,20$ mm X $0,90 \pm 0,25$ mm, possui superfície pilosa; é séssil e projetada para a face abaxial. É avermelhada quando jovem e verde na fase de maturidade. É formada preferencialmente na região do limbo próxima ao bordo e possui uma câmara larval contendo um único indivíduo galhador. Em decorrência da formação das galhas, a epiderme foliolar de *C. brasiliense* mantém-se unisseriada, com cutícula mais espessa e grande pilosidade. Em algumas regiões da galha ocorre a substituição da epiderme por periderme, o que indica a expressão de um caráter usualmente ausente em lâminas foliares. O sistema de revestimento da câmara larval é originado pelo dobramento da lâmina a partir da face abaxial da folha, seguida pelo completo fechamento da galha ao redor do corpo do inseto em desenvolvimento. Os caracteres morfológicos e anatômicos da galha foliar de *C. brasiliense*, tais como sua posição no bordo foliolar, o fato de ser uma galha verdadeiramente fechada, com tecido nutritivo típico envolto por esclerênquima, a aproxima do padrão proposto para alguns grupos de Hymenoptera. Além desses caracteres, o fato de que o gênero *Eurytoma* apresenta muitos representantes parasitóides sugere que esta galha apresenta posição evolutiva intermediária dentre os diversos tipos de galhas.

INTRODUÇÃO

Galhas são estruturas resultantes do desenvolvimento anormal de células, tecidos ou órgãos vegetais por meio da hipertrofia e, ou hiperplasia sob influência de um organismo indutor (Mani, 1964). A formação da galha é produto da interação entre o campo cecidogênico originado pelo galhador e o campo morfogênico da planta hospedeira, que leva a uma alteração no padrão de desenvolvimento do vegetal (Mani, 1992).

Algumas galhas podem ser constituídas simplesmente por massas de células parenquimáticas, enquanto outras apresentam células e tecidos altamente especializados (Meyer & Maresquelle, 1983) que podem estar ausentes nas partes das plantas hospedeiras não galhadas (Stone & Schönrogge, 2003). Essa formação de tecidos especializados ocorre como resultado da hiperplasia, hipertrofia, desdiferenciação e destruição celular decorrente de lise ou alimentação do indutor, que são os processos principais da indução da maioria das galhas (Rey, 1992).

Na formação da galha, várias alterações ocorrem nos tecidos do vegetal, destacando-se entre estes a epiderme, o parênquima, o xilema e o floema (Mani, 1964). A formação de periderme (Kraus *et al.*, 1996; Drummond, 2005), o espessamento da cutícula, a formação de tricomas tectores, a neoformação de feixes vasculares (Drummond, 2005), o aparecimento de cristais e esclereídes, mudanças no formato das células dos parênquimas paliádico e lacunoso (Kraus *et al.*, 1996) e a formação de tecido nutritivo (Bronner, 1992; Kraus *et al.*, 1996; Kraus & Tanoue, 1999) são algumas das alterações observadas no desenvolvimento da estrutura galígena.

As galhas podem variar enormemente em complexidade (grau de diferenciação) e diversidade (variedade de estruturas induzidas por membros de um dado táxon) (Stone &

Schönrogge, 2003), sendo que um de seus aspectos mais impressionantes é a riqueza de formas, cores, tamanhos, projeções superficiais e estruturas internas (Rohfritsch, 1992).

De acordo com Isaias *et al.* (2000), o sucesso do herbívoro galhador na formação da galha parece depender da anatomia da planta, cujas características podem facilitar ou dificultar o ataque do indutor. Após sua instalação e com a manipulação do desenvolvimento do vegetal, o indutor passa a contar com defesas neoformadas na galha. Algumas das defesas mecânicas conferidas pela galha contra o ataque de inimigos naturais podem ser constituídas pela presença de tricomas, súber e camadas de células lignificadas (Vecchi, 1999).

As folhas de *Caryocar brasiliense*, conhecida popularmente como pequi, apresentam densa pilosidade, barreira física que o inseto indutor consegue sobrepujar, provavelmente devido às relações de tamanho, obtendo sucesso na oviposição. A ocorrência de galhas entomógenas em folhas dessa espécie tem sido reportada na literatura, sendo descritos diferentes morfotipos induzidos por insetos das ordens Hymenoptera (Oliveira, 1997; Oliveira & Freitas, 2004; Leite *et al.*, 2006), Hemiptera: Diaspididae (Urso-Guimarães *et al.*, 2003) e Diptera: Cecidomyiidae (Macedo & Veloso, 2002). Diversos estudos (Oliveira, 1997; Macedo & Veloso, 2002; Oliveira & Freitas, 2004; Leite *et al.*, 2006) citaram o mesmo morfotipo de galha em *C. brasiliense*, contudo, Macedo & Veloso (2002) atribuem a indução dessas galhas a cecidomiídeos, enquanto Oliveira (1997) afirma que a formação das mesmas foi induzida por uma vespa da família Eurytomidae, cujo gênero, *Eurytoma*, foi identificado por Leite *et al.* (2006). Não obstante, nenhum estudo morfoanatômico dessas galhas foi realizado até o presente momento. Esses estudos visam responder como as ações de oviposição e alimentação alteram os padrões morfogênicos da planta hospedeira.

De modo a responder essa questão o presente trabalho objetiva:

- 1- Caracterizar a anatomia foliar de *C. brasiliense* Camb., a fim de se obter um padrão para a análise das alterações tissulares ocorridas em decorrência da formação das galhas;
- 2- Caracterizar a morfologia externa e interna das galhas e verificar as mudanças estruturais decorrentes da formação destas;
- 3- Comparar as alterações observadas com as descritas na literatura para galhas de Hymenoptera;
- 4- Definir se há um sítio preferencial no folíolo para indução de galhas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados estudos anatômicos em folhas sadias, porção sadia de folhas galhadas e galhas de *C. brasiliense*, avaliando-se as alterações ocorridas em função da formação destas últimas. Nas avaliações, foram consideradas sadias as folhas sem galhas, desconsiderando quaisquer sintomas de doença, sinais de herbivoria ou outras deformidades.

Coleta do material

As coletas foram realizadas no período de março de 2005 a março de 2006, em três plantas de *C. brasiliense* presentes no Núcleo de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (NCA/UFMG), Montes Claros, Minas Gerais (43°50'26.8''W, 16°40'54.5''S). Folhas sadias e galhadas foram retiradas, com podão, acondicionadas em sacos plásticos transparentes vedados com fita adesiva, e enviadas ao *Campus*-Pampulha da UFMG, em Belo Horizonte, Minas Gerais, onde os estudos foram realizados.

Fixação das amostras

Amostras de folíolos sadios e galhados foram fixadas em formaldeído 37%, ácido acético glacial e etanol 50°GL, 1:1:18, v/v (FAA) (Johansen, 1940) e, posteriormente, estocadas em etanol 70°GL (Johansen, 1940).

Anatomia da folha sadia e da galha

Os estudos anatômicos de folhas sadias (FS), porção sadia de folhas galhadas (PSFG) e galhas (G) foram realizados, em materiais frescos e fixados em FAA (Johansen, 1940). Para obtenção de lâminas semi-permanentes, foram realizadas secções transversais do terço médio, nervura mediana, bordo de folíolos sadios e secções longitudinais de galhas. Os cortes foram clarificados com solução comercial de hipoclorito de sódio 10% (Rezende, 1998) e lavados em água destilada. A coloração foi feita com safranina e azul de astra (Kraus & Arduin, 1997) e os cortes foram então montados em gelatina glicerinada de Kaiser (Johansen, 1940). As lâminas foram lutadas com esmalte incolor.

Lâminas permanentes foram obtidas a partir de amostras incluídas em Paraplast[®] (Kraus & Arduin, 1997) após desidratação em série n-butanólica (Johansen, 1940). Foram feitas secções transversais do terço médio, nervura mediana, bordo de folíolos sadios e secções longitudinais de galhas. Os cortes foram feitos com espessura de 12µm em micrótomo rotativo Leica Jung Biocut[®] (mod. 2035), corados com safranina e azul de astra (Kraus & Arduin, 1997) e montados em verniz vitral (Acrilex[®]).

A presença de cristais foi averiguada com uso de luz polarizada.

Os resultados foram registrados por meio de fotomicrografias obtidas em fotomicroscópio Olympus (modelo BH-2).

Dissociação das epidermes

Para estudo das características epidérmicas, fragmentos de FS, PSFG e G, com cerca de 1cm², foram submetidos a tratamento com solução comercial de hipoclorito de sódio 50%, sobre placa aquecedora a 50°C. Após desprendimento da epiderme, os fragmentos foram varridos com auxílio de pincel, lavados em água destilada e submetidos à coloração simples

pela safranina hidroalcoólica 1% (Johansen, 1940). As lâminas foram montadas em gelatina glicerinada de Kaiser (Johansen, 1940).

Análise biométrica

Na análise biométrica, medidas internas (altura e largura da câmara) e externas (altura e largura) das galhas (n=20) foram tomadas em cortes histológicos, utilizando microscópio óptico Olympus (modelo CH30) equipado com ocular micrométrica.

Foi avaliada também a posição das galhas no limbo foliar (n=390): transversalmente (bordo, centro e nervura mediana) e longitudinalmente (terço apical, médio e basal) (figura 1).

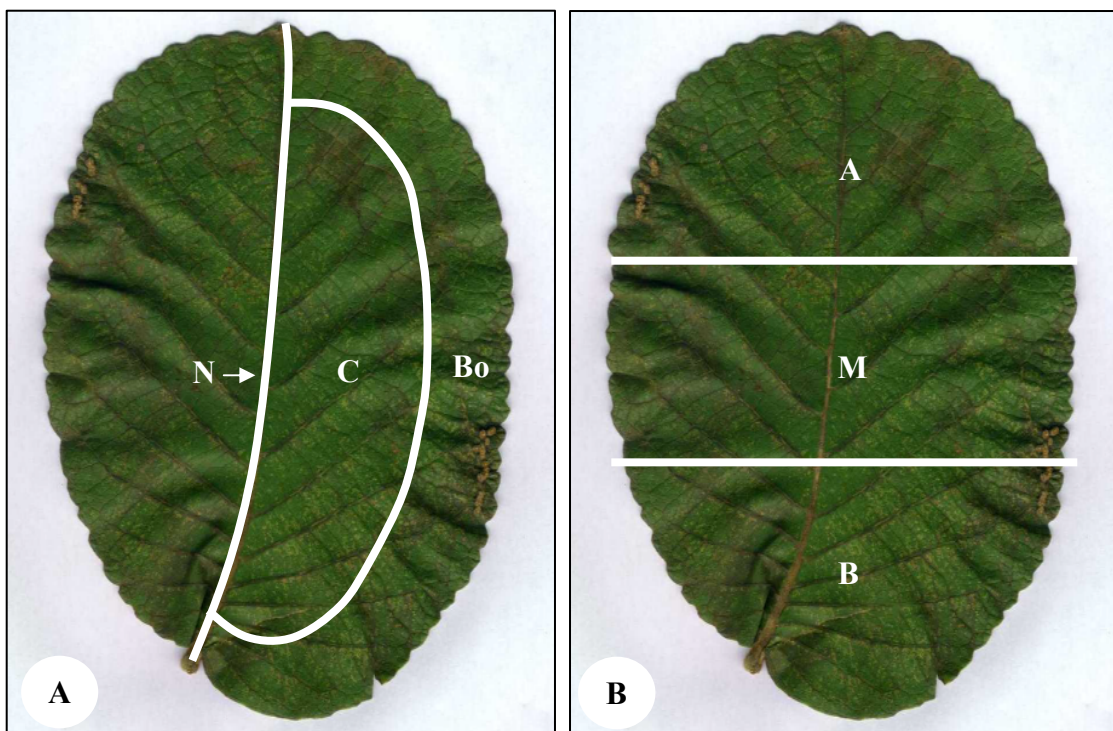


Figura 1- *Caryocar brasiliense*. Posições das galhas no folíolo. A – posição longitudinal (Bo = bordo; C = centro; N = nervura mediana); B – posição transversal (A = terço apical; B = terço basal; M = terço médio).

Diafanização

Após análise da posição das galhas no folíolo, as regiões que apresentaram galhas foram diafanizadas com o objetivo de averiguar diferenças quantitativas na vascularização do limbo foliar de *C. brasiliense*. Assim, a nervura mediana não foi diafanizada, já que não houve ocorrência de galhas nesta posição.

Para diafanização do material vegetal, os fragmentos foram clarificados com solução de hidróxido de sódio 5%, em estufa a 37 °C, lavados em água destilada, sendo, posteriormente, imersos em cloral hidratado 1,6: 1 (p/v) até que ficassem translúcidos. Os fragmentos foram novamente lavados e deixados de molho por uma noite em água destilada. Em seguida, foram imersos em etanol 70% e corados com safranina 1% em etanol 50% (Kraus & Arduin, 1997). Após a coloração, os fragmentos foram montados em gelatina glicerinada de Kaiser (Johansen, 1940). As imagens foram capturadas com auxílio do programa Motic[®], sendo tomadas as medidas de área internervural e área ocupada por nervuras em três campos por fragmento, utilizando-se o programa gráfico EasyQuantify[®].

Foram diafanizados dez fragmentos (2cm²) de folíolos sadios/posição (n=30), sendo estas (figura 2):

1. terço apical;
2. terço médio;
3. terço basal; e
4. bordo.

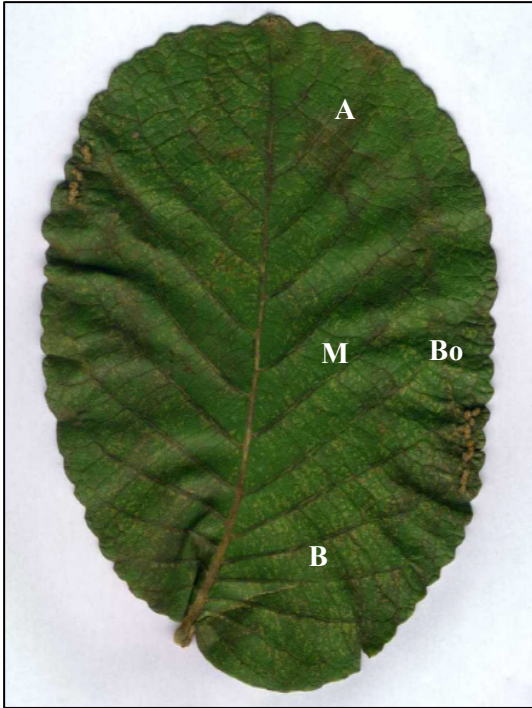


Figura 2 – *Caryocar brasiliense*. Regiões diafanizadas do folíolo. A – terço apical; B – terço basal; Bo – bordo; M – terço médio.

Tratamento estatístico

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Folíolo sadio

Características morfológicas

Os indivíduos estudados de *C. brasiliense* Camb. apresentam hábito arbóreo (figura 3A), com folhas compostas trifolioladas (figura 3B e 3C) de coloração verde-escura intensa na face adaxial e menos intensa na face abaxial (figura 3C). Os folíolos são densamente pilosos, com nervuras muito proeminentes para a face abaxial.

Características anatômicas

1. Sistema de revestimento

O folíolo sadio apresenta epiderme unisseriada, formada por células levemente quadradas na face adaxial e retangulares na abaxial, em secção transversal (figura 3D), sendo que estas apresentam tamanho acentuadamente menor na face abaxial e na região do bordo foliolar (figura 3E). Revestindo a epiderme, encontra-se uma espessa camada de cutícula provida de estrias epicuticulares, que são mais proeminentes na face abaxial (figuras 4A e 4F). Em vista frontal, as células epidérmicas, tanto na face adaxial (figura 4B) quanto na abaxial, são poligonais, com paredes anticliniais retas. Na face abaxial, porém, as células podem apresentar paredes levemente curvas. Os estômatos estão distribuídos na face abaxial da epiderme (figuras 4A, 4E), no mesmo nível das demais células, recobertos por cutícula menos espessa. Adjacentes aos estômatos, observam-se câmaras subestomáticas reduzidas (figura 4E). A epiderme é revestida por tricomas tectores (figuras 4C e 4D), sendo estes mais longos e numerosos na face abaxial (figura 4C).

2. Sistema fundamental

Secções transversais revelam mesofilo dorsiventral, com 2-3 camadas de parênquima paliádico, ocupando cerca de $\frac{2}{3}$ da lâmina foliolar (figuras 3D, 5A e 5B). O parênquima lacunoso, também com 2-3 camadas de células, apresenta espaços intercelulares pouco conspícuos e células algumas vezes com formato colunar similar àquelas do parênquima paliádico, porém mais curtas (figura 5A). Na região do bordo, as células do parênquima são arredondadas e maiores quando comparadas àquelas das demais regiões do mesofilo e são destituídas de cloroplastos (figura 3E).

Cristais encontram-se distribuídos por todo o mesofilo (figura 5D).

3. Sistema vascular

O sistema vascular na região da nervura mediana é organizado em três arcos, sendo dois menores e um maior voltado para a face abaxial. Xilema e floema apresentam arranjo colateral, entre os quais se encontra nítido câmbio vascular. O parênquima cortical é formado por células de formato arredondado, ricas em substâncias fenólicas. Nos feixes de menor porte, o sistema vascular é envolto por bainha formada de células parenquimáticas com conteúdo fenólico, correspondendo à endoderme, notando-se ainda uma extensão de bainha voltada para a face adaxial, constituída de células que podem ou não apresentar paredes lignificadas (figura 5B).

Em vista frontal, as terminações das nervuras podem ser simples ou ramificadas, possuindo uma ou mais traqueídes em suas extremidades (figura 5C).

Galha

Características morfológicas

A galha em estudo apresenta formato globóide (figura 6D), com altura de $1,28 \pm 0,20$ mm e largura de $0,90 \pm 0,25$ mm, sendo a altura aproximadamente 70% maior que a largura, em seu maior eixo (figura 6A e 6B). Possui superfície pilosa (figura 6A, 6B e 6D); é séssil e apresenta-se projetada para a face abaxial, sendo notado menor desenvolvimento na face adaxial do folíolo (figuras 6A, 6B e 6C). No início do desenvolvimento apresenta coloração avermelhada, ficando verde até a fase de maturidade (figura 6D). Na fase senescente, as galhas apresentam coloração marrom (figura 6F). Quanto à visibilidade, pode ser denominada como fanerocecídio, uma vez que é bem visível externamente. Na maioria das vezes, as galhas formam conglomerados (figuras 6D e 6F), aparecendo raramente isoladas (galhas simples) (figura 6E). São observadas principalmente na região do limbo próxima ao bordo (figuras 6C, 6D e 6F), não sendo observadas sobre nervuras de maior calibre. Todas as galhas

observadas possuem apenas uma câmara larval (figuras 6A e 6B) contendo um único indivíduo galhador, cujo corpo ocupa quase a totalidade da câmara (figura 6B).

Características anatômicas

1. Sistema de revestimento

A galha de *C. brasiliense* apresenta epiderme unisseriada (7A e 7B), coberta por espessa camada de cutícula (figura 7B). Assim como observado no folíolo sadio, em secção transversal, a face adaxial da epiderme mostra células de formato quadrangular (figura 7A), sendo estas mais achatadas (retangulares) na face abaxial (figura 7B). Em vista frontal, as células da face adaxial possuem tamanho reduzido em relação ao tecido sadio; apresentam paredes anticlinais retas (figura 7C), podendo, às vezes, apresentar formato ligeiramente irregular, com paredes mais curvas (figura 7D). O mesmo não acontece na face abaxial, que mantém características similares àsquelas do tecido epidérmico sadio (figura 7E). Estômatos podem ser observados na face abaxial da epiderme da galha (figura 7F). Tricomas tectores são muito abundantes em ambas as faces da epiderme, apresentando comprimento visivelmente maior em relação à epiderme do folíolo sadio (figura 7G).

Algumas regiões da epiderme da galha madura apresentam processo de suberização, formando periderme com 3-4 camadas de células (figura 7H). Foi observada, próximo a uma galha em estágio avançado de desenvolvimento, uma câmara contendo várias estruturas que se assemelham a ovos, provavelmente de parasitóides, envolvidas por uma camada de células retangulares de parede delgada (figura 8A), onde são visualizados estômatos. Além disso, foi detectada a presença de tecido animal, provavelmente de larva em estágio inicial de desenvolvimento no interior de mesófilo sadio (8H).

2. Sistema fundamental

O sistema fundamental da galha é formado por parênquima homogêneo, que, em secção longitudinal, apresenta células alongadas na região próxima à face adaxial (figura 8C), sendo estas mais curtas e arredondadas à medida que se aproximam da face abaxial (figura 8B). Na periferia da galha, foram observadas regiões em que o parênquima apresenta-se lignificado.

A câmara larval apresenta comprimento médio de $0,41 \pm 0,08$ mm e largura média de $0,23 \pm 0,05$ mm, na qual se pode observar a larva do indutor (figura 8F). Ao redor dessa câmara, tem-se um tecido nutritivo composto de células relativamente pequenas de formato poligonal e paredes anticlinais retas (figura 8D, 8E e 8F), ao redor do qual, muitas vezes, nota-se a formação de um tecido esclerenquimático composto de células de paredes muito espessas e lignificadas (figura 8D).

Acima da câmara larval, o tecido esclerenquimático está ausente, sendo esta região ocupada por células parenquimáticas que formam um “canal” direcionado à face adaxial da galha (figura 8E). Foram observados cristais distribuídos pelo córtex da galha (figura 5E).

3. Sistema vascular

O sistema vascular é formado por feixes distribuídos no parênquima cortical da galha (figura 8B e 8G), sendo mais abundantes na região próxima à face abaxial. Esses feixes geralmente localizam-se externamente à camada esclerenquimática.

Posição das galhas no folíolo

A posição das galhas de *C. brasiliense* apresentou diferenças significativas (figura 9). Pôde-se constatar que, transversalmente, as galhas ocorrem com maior frequência no bordo, seguido pelo centro da lâmina foliolar. Não foram observadas galhas sobre nervuras

medianas. As galhas concentram-se principalmente nos terços médio e basal, desenvolvendo-se com menor frequência nos ápices dos folíolos.

Área ocupada por nervuras

O terço médio apresentou menor percentagem de lâmina foliar ocupada por nervuras em relação às demais posições do folíolo, que não apresentaram diferenças significativas entre si (figura 10).

DISCUSSÃO

Nas análises realizadas em folíolos sadios de *C. brasiliense* foram confirmadas as características descritas por Rezende (1998). Cabe ressaltar que nesse trabalho, a autora não faz alusão à presença de galhas na espécie.

Dentre diversos levantamentos de galhas na região neotropical (Fernandes *et al.*, 1997, 2001; Gonçalves-Alvim & Fernandes, 2001; Maia & Fernandes, 2004; Oliveira & Maia, 2005), a família Caryocaraceae não aparece, o que pode ocorrer pela sua baixa diversidade, já que esta é representada apenas por dois gêneros (*Caryocar* e *Anthodiscus*) e 16 espécies (Prance & Silva, 1973; Prance, 1990).

As galhas foliares de *Caryocar brasiliense* são galhas de cobertura, fechadas, do tipo histióide-prosoplásmica de acordo com Küster (1911 *apud* Meyer & Maresquelle, 1983) e apresentam características citadas como padrão por Dreger-Jauffret e Shorthouse (1992) para galhas de Hymenoptera. São estruturas globóides, revestidas por epiderme simples ou periderme, com câmaras larvais únicas, nas quais se desenvolve um único inseto. Sua forma final e complexidade estrutural estão relacionadas, entre outros aspectos, ao sítio de oviposição.

De fato, o sítio de oviposição, a forma final da galha e sua complexidade estrutural são fatores relevantes para muitos grupos de insetos galhadores (Inbar *et al.*, 2004). Esses insetos parasitam potencialmente todos os órgãos das plantas hospedeiras (Shorthouse & Rohfritsch, 1992) e mesmo em um único órgão, como as folhas, as galhas podem se desenvolver em sítios diferentes como o bordo, a região internervural, a nervura ou o pecíolo (Inbar *et al.*, 2004).

Nas galhas de *C. brasiliense* avaliadas no presente estudo, o órgão hospedeiro é a folha, sendo que o sítio preferencial de oviposição é o bordo foliolar entre os terços médio e basal. Nessa região, o galhador tem acesso ao fluxo de fotoassimilados depois que este já fez

todo o percurso pela lâmina foliolar. De acordo com Whitham (1979) e Inbar *et al.* (1995), a eficiência da galha para drenar ou interceptar nutrientes pode ser sítio-dependente. Assim, além da influência na definição da forma, diferenças sutis na posição da galha podem ser críticas (Whitham, 1979) tanto para os galhadores quanto para a planta hospedeira.

Muito embora a indução de galhas nas nervuras facilite a alocação de recursos para o desenvolvimento das galhas ou do indutor (Mani, 1964; Rohfritsch, 1992), o galhador de *C. brasiliense* parece não se beneficiar deste sítio. Além disso, uma vez que a densidade de nervuras não mostrou diferenças significativas nas regiões amostradas do folíolo, excetuando-se a porção central do terço médio, onde a densidade de nervuras foi menor, a busca por sítios foliares com maior aporte de nutrientes parece não ser um comportamento fundamental para o estabelecimento da galha. Não obstante, convém ressaltar que a escolha dos bordos foliares como sítios preferenciais de oviposição indica a baixa especialização do taxa galhador (Nyman, 2000).

Essa baixa especialização, citada como a hipótese Price-Roininen (Nyman, 2000) encontra compensações na estrutura da galha de *C. brasiliense*. O fato de esta ser uma estrutura fechada indica alto valor adaptativo para proteção do indutor contra seus inimigos naturais (Stone & Schönrogge, 2003). Segundo Price (1992) e Nyman (2000), galhas verdadeiramente fechadas evoluíram a partir de enrolamentos marginais, sendo que o fechamento dos tecidos ao redor do corpo do indutor pode ser interpretado como uma alteração morfológica que favorece o escape de parasitóides e predadores (Cornell, 1983) nas galhas de *C. brasiliense*.

A formação da galha é dependente da exata posição da oviposição. Contudo, embora o local de indução das galhas pareça ser constante, o mecanismo de formação dessas estruturas permanece desconhecido (Stone & Schönrogge, 2003). Os insetos possivelmente controlam tal formação, estando, entretanto, sujeitos à adaptabilidade e reatividade dos tecidos vegetais

(Weis *et al.*, 1988; Abrahamson & Weis, 1997). O bordo foliolar, local escolhido preferencialmente para oviposição em *C. brasiliense*, apresenta tecido-alvo adequado para o desenvolvimento da galha, ou seja, o parênquima. Esse tecido reage positivamente levando à formação do microambiente propício ao desenvolvimento das larvas do galhador, seja pela formação de tricomas, esclereídes, parênquima aquífero ou feixes vasculares, por vezes, exclusivamente floemáticos (*cf.* Isaias, 1998; Vecchi, 2004; Drummond 2005).

De fato, as galhas foliares globóides de *C. brasiliense* são caracterizadas pela superfície densamente pilosa, são agrupadas e projetadas para a face abaxial da folha. Essas características superficiais das galhas podem ter influência direta na formação e estabelecimento não somente do galhador, mas de toda a guilda de insetos associados. Segundo Abrahamson & Weis (1997) e Stone *et al.* (2002), a densa pilosidade, dentre outros aspectos, pode reduzir a predação e o parasitismo. A projeção das galhas para a face abaxial também pode influenciar na redução do parasitismo e da predação, pois, nesta posição, as galhas tornam-se menos visíveis. Além disso, na superfície abaxial, forma-se um microclima muito menos estressante do que aquele da superfície superior, onde há insolação mais direta (Edward & Wratten, 1980 *apud* Kraus *et al.*, 1996). Um fator contrário à tendência da redução da visibilidade seria o agrupamento das galhas. Esse fator, marcante em *C. brasiliense*, pode aumentar a visibilidade e conseqüente vulnerabilidade aos predadores e parasitóides.

Como ressaltam Crespi & Worobey (1998), a divergência evolutiva dos tipos de galhas pode ter sido direcionada por seleção em função da pressão imposta pelos parasitóides e predadores. Essa pressão tem papel fundamental na definição da forma das galhas (Cornell, 1983) e está diretamente relacionada às características anatômicas. Nas galhas de *C. brasiliense*, a epiderme mantém-se unisseriada, aparentemente variando apenas a espessura da cutícula. Tal fato denota a pouca plasticidade do sistema de revestimento frente às influências morfogênicas da indução dessas galhas. Mesmo com essa baixa plasticidade, a maior

pilosidade aliada à substituição da epiderme por periderme em alguns locais da galha indica a expressão de um caráter usualmente ausente em lâminas foliares. Essa formação de células suberificadas revestindo algumas regiões da galha já foi observada em outros sistemas como *Guarea macrophylla* subsp. *tuberculata* (Meliaceae) – Cecidomyiidae (Kraus *et al.*, 1996) e *Copaifera langsdorffii* (Leguminosae) – Cecidomyiidae (Drummond, 2005). A espessura da cutícula, a neoformação de tricomas e a eventual substituição da epiderme pela periderme são caracteres que reforçam a hipótese do microambiente (Price *et al.*, 1987) propício formado nas galhas e que favorecem o indutor.

Logo abaixo do sistema de revestimento, encontra-se o sistema fundamental amplamente modificado em função da diferenciação da galha. O mesofilo, antes diferenciado em paliádico e lacunoso, passa por um processo de homogeneização comum em galhas de insetos e registrado por Souza *et al.* (2000) para galhas em *Ficus microcarpa*, Drummond (2005) para galhas em *Copaifera langsdorffii* e Oliveira *et al.* (2006) para galhas em *Lonchocarpus muehlbergianus*. Esse tecido, nas galhas de *C. brasiliense*, deixa de atuar como produtor de fotoassimilados, uma vez que deixa de possuir cloroplastos, passando a assumir funções de preenchimento e armazenagem de nutrientes (*cf.* Castro 2006 - Cap. 2) e água.

Uma característica marcante nas galhas estudadas é a presença de cristais, tida como rara em galhas por Fernandes *et al.* (1990). No parênquima cortical da galha de *C. brasiliense*, entretanto, os cristais não constituem uma alteração causada pelo galhador, representando a manutenção de uma característica comum aos tecidos sadios desta planta, sendo que cristais de oxalato de cálcio já haviam sido registrados em folhas sadias desta espécie por Rezende (1998).

Internamente ao tecido de revestimento da galha, encontra-se um tecido nutritivo cujas características assemelham-se àquelas de tecidos secretores, ou seja, é formado por células com paredes delgadas, citoplasma denso, núcleo volumoso e vacuoma pouco desenvolvido

(Bronner, 1992; Fahn, 2000). As camadas internas ao tecido nutritivo tornam-se fortemente lignificadas à medida que a galha amadurece, formando um tecido mecânico que pode contribuir para a redução da predação e do parasitismo. Muito embora a formação de células lignificadas em galhas seja comumente associada à proteção (Meyer & Maresquelle, 1983), o processo de lignificação tem sido apontado como resultado da ação antioxidante das substâncias fenólicas (Soares *et al.*, 2000), sendo a proteção, pois, um ganho secundário nos sistemas galhador-planta.

Na região acima da câmara larval, a lignificação das células adjacentes ao tecido nutritivo não ocorre, o que pode indicar o local onde, mais tarde, se formará o canal de fuga do inseto indutor.

A vascularização das galhas é fator fundamental para a manutenção destas como drenos potentes (Larson & Whitham, 1991; Hartley, 1998). Em galhas de *C. brasiliense*, a vascularização é formada por feixes localizados nas porções intermediárias do parênquima de preenchimento. A presença desses feixes garante o suprimento de fotoassimilados vitais tanto para o desenvolvimento da estrutura quanto para o galhador (Oliveira *et al.*, 2006), sendo sua neoformação um fenômeno comum em galhas de insetos (Kraus *et al.*, 1994; Isaias, 1998; Vecchi, 2004; Drummond, 2005; Gonçalves *et al.*, 2005). Talvez por isso, a maioria dos galhadores tenha preferência pelas nervuras, onde há maior disponibilidade de nutrientes, facilitando a alocação de substâncias pelo inseto, o que não ocorre em *C. brasiliense*.

De acordo com Price (2005), os Hymenoptera galhadores concentram grupos muito diversos quanto aos graus de especialização à planta hospedeira e às estruturas formadas. Segundo esse autor, algumas espécies induzem um único tipo de galha em uma única planta hospedeira, o que parece ser o caso da galha de *Caryocar brasiliense*. Oliveira (1997) atribui a indução das galhas foliares globóides de *C. brasiliense* a insetos da família Eurytomidae

(Hymenoptera), sendo que Leite *et al.* (2006), identificaram os indutores como sendo do gênero *Eurytoma* (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eurytomidae).

As galhas de Hymenoptera apresentam graus variados de complexidade (Rohfritsch, 1992; Price, 2005). De acordo com Rohfritsch (1992), as galhas de Cynipidae, por exemplo, apresentam simetria axial, uma única câmara larval e tecidos dispostos em camadas concêntricas arranjadas ao redor desta câmara. Tal padrão assemelha-se ao observado na galha de *C. brasiliense* estudada. A mesma autora aponta as galhas de Chalcidoidea como portadoras de tecido nutritivo que é totalmente consumido pela larva, a qual fica em contato direto com o esclerênquima, o que foi observado em galhas maduras de *C. brasiliense*. Galhas de indutores Chalcidoidea sofrem uma influência do inseto-mãe na sua forma, sendo essa influência observada desde o início, quando a galha se desenvolve pelo alongamento das células no ponto oposto ao sítio de oviposição, assumindo a proeminência observada em relação ao órgão hospedeiro.

Algumas das características observadas na galha de *C. brasiliense* já foram descritas para outras galhas de Hymenoptera, como a ausência de tecido nutritivo na fase de maturidade da galha (Kraus *et al.*, 2002; Kraus & Tanoue, 1999), a presença de periderme (Krishnan & Franceschi, 1988; Kraus *et al.*, 1994), ou mesmo de tricomas em galhas de *Eurytoma* sp. (Krishnan & Franceschi, 1988).

Em comparação com os padrões descritos na literatura, caracteres morfológicos e anatômicos da galha foliar de *C. brasiliense*, tais como sua posição no bordo foliolar, o fato de ser uma galha verdadeiramente fechada, com tecido nutritivo típico envolto por esclerênquima, a aproxima do padrão proposto para alguns grupos de Hymenoptera. Somado a tais caracteres, o fato de que o gênero *Eurytoma* apresenta muitos representantes parasitóides (Wiebes-Rijks & Shorthouse, 1992; Maia & Fernandes, 2004) sugere que esta

galha apresenta posição evolutiva intermediária frente às proposições destacadas por Nyman (2000) e Price (2005).

Pelo exposto, pode-se inferir que esse galhador tenha participado de uma interação cecidomiídeo-planta hospedeira no nível trófico de parasitóide, passando posteriormente a ocupar o nível de galhador no sistema. Contudo, tal inferência necessita de análises das alterações químicas induzidas pelo galhador de modo a verificar os compostos de reserva relacionados à alimentação e a defesa, e o papel dos Hymenoptera na realocação e reserva de tais substâncias. É prudente, ainda, a análise da guilda associada ao sistema de modo a verificar a interação desse taxa galhador com o restante da fauna associada à galha de *Caryocar brasiliense*.

Por fim, o estudo ontogenético das galhas aliado ao reconhecimento da guilda associada pode constituir uma ferramenta para elucidação das questões aqui levantadas.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAMSON, W.G.; WEIS, A.E. Evolutionary ecology across three trophic levels: goldenrods, gallmakers and natural enemies. *Monographs in Population Biology*. 29. Princeton University Press. 1997.
- BRONNER, R. The role of nutritive cells in the nutrition of cynipids and cecidomyiids. *In* Biology of insect induced galls (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 118-140.
- CORNELL, H.V. The secondary chemistry and complex morphology of galls formed by the Cynipinae. Why and how? *American Midland Naturalist*. v. 110, p. 225-234. 1983.
- CRESPI, B.J.; WOROBEY, M. Comparative analysis of gall morphology in Australian gall thrips: the evolution of extended phenotypes. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*. v. 52, p. 1686-1696. 1998.
- DREGER-JAUFFRET, F.; SHORTHOUSE, J.D. Diversity of gall-inducing insects and their galls. *In* Biology of insect induced galls (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 8-33.
- DRUMMOND, M.M. Galhas entomógenas em *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinoideae): estrutura anatômica, histoquímica e sazonalidade. 94f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.
- FAHN, A. Structure and function of secretory cells. *Advances in Botanical Research*. v. 31. p. 37-75. 2000.
- FERNANDES, G.W., JULIÃO, G.R.; ARAÚJO, R.C.; LOMBARDI, J.A.; NEGREIROS, D. & CARNEIRO, M.A.A. Distribution and morphology of insect galls of the Rio Doce Valley, Brazil. *Naturalia* v. 26, p. 221-224. 2001.
- FERNANDES, G.W.; ARAÚJO, L.M.; CARNEIRO, M.A.; CORNELISSEN, T.G.; BARCELOS-GRECO, M.C.; LARA, A.C.F.; RIBEIRO, S. Padrões de riqueza de insetos em gradientes altitudinais na Serra do Cipó, Minas Gerais. *In* Contribuição ao Conhecimento Ecológico do Cerrado (Leite, L.L. & SAITO, C.H., eds). Universidade de Brasília, Brasília. 1997. p. 191-195.
- FERNANDES, G.W.; PRESZLER, R.W.; GRIM, J.N. The occurrence of crystals in a cynipid leaf gall on *Quercus turbinella*. *Beitraege zur Biologie der Pflanzen*. v. 65, p. 377-383. 1990.
- GONÇALVES, S.J.M.R.; ISAIAS, R.M.S.; VALE, F.H.A.; FERNANDES, G.W. Sexual dimorphism of *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves 2004 (Hemiptera

- Coccoidea Eriococcidae) influences gall morphology on *Rollinia laurifolia* Schltdl. (Annonaceae). *Tropical Zoology*, v. 18, p. 161-169. 2005.
- GONÇALVES-ALVIM, S.J.; FERNANDES, G.W. Biodiversity of galling insects: historical, community and habitat effects in four neotropical savannas. *Biodiversity and Conservation*. v. 10, p. 79-98. 2001.
- HARTLEY, S.E. The chemical composition of plant galls: are levels of nutrients and secondary compounds controlled by the gall-former? *Oecologia*. v.113, p. 492-501. 1998.
- INBAR, M.; ESHEL, A.; WOOL, D. Interspecific competition among phloem-feeding insects mediated by induced host-plant sinks. *Ecology*. v. 76, p. 1506–1515. 1995.
- INBAR, M.; WINK, M.; WOOL, D. The evolution of host plant manipulation by insects: molecular and ecological evidence from gall-forming aphids on *Pistacia*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. v. 32, p. 504-511. 2004.
- ISAIAS, R.M.S. Galhas entomógenas em *Machaerium* (Leguminosae-Papilionoidae): anatomia e histoquímica. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo. 1998.
- ISAIAS, R.M.S.; SOARES, G.L.G; CHRISTIANO, J.C.S.; GONÇALVES, S.J.M.R. Análise comparativa entre as defesas mecânicas e químicas de *Aspidosperma australe* Müell. Arg. e *Aspidosperma cylindrocarpon* Müell. Arg. (Apocynaceae) contra herbivoria. *Floresta e Ambiente*. v. 7, n. 1, p. 11-18. 2000.
- JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc, 1940. 523p.
- KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica: EDUR, 1997. 198p.
- KRAUS, J.E.; SOLÓRZANO FILHO, J.A.; ARDUIN, M.; ISAIAS, R.M.S. Respostas morfogênicas de plantas brasileiras a insetos galhadores. In Fortunato, R.; Bacigalupo, N. PROCEEDINGS OF THE VI CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BOTÂNICA. Mar del Plata, Argentina, 2-8 October, 1994.
- KRAUS, J.E.; SUGIURA, H.C.; CUTRUPI, S. Morfologia e ontogenia em galhas entomógenas de *Guarea macrophylla* subsp. *tuberculata* (Meliaceae). *Fitopatologia Brasileira*. v. 21. n. 3. p. 349-356. 1996.
- KRAUS, J.E.; TANOUE, M. Morpho-ontogenetic aspects of entomogenous galls in roots of *Cattleya guttata* (Orchidaceae). *Lindleyana*. v. 14. n. 4. p. 204-213. 1999.

- KRISHNAN, H.B.; FRANCESCHI, V.R. Anatomy of some leaf galls of *Rosa woodsii* (Rosaceae). *American Journal of Botany*. v. 75, p. 369-376. 1988.
- LARSON, K.C.; WHITHAM, T.G. Manipulation of food resources by a gall-forming aphid: the physiology of sink-source interactions. *Oecologia*. v. 88, p. 15-21. 1991.
- LEITE, G.L.D.; VELOSO, R.V.S.; REDOAN, A.C.; LOPES, P.S.N.; MACHADO, M.M.L. Artrópodes (Arthropoda) associados a mudas de pequiheiro *Caryocar brasiliense* Cambess. (Caryocaraceae). *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, v. 73, n. 3, p. 365-370. 2006.
- MACEDO, J.F.; VELÔSO, J.M. Entomofauna associada ao pequiheiro *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae). *Entomologia y vectores*. v. 9, n. 2, p. 263-273. 2002.
- MAIA, V. C.; FERNANDES, G. W. Insect galls from Serra de São José (Tiradentes, MG, Brazil). *Brazilian Journal of Biology*. v. 64, n. 3A, p. 423-445. 2004.
- MANI, M.S. Ecology of plant galls. The Hague: Dr. Junk Publishers, 1964. 434p.
- MANI, M.S. Introduction to cecidology. *In* Biology of insect induced galls (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 3-7.
- MEYER, J.; MARESQUELLE, H.J. Anatomie des galles. Berlin, Gebrüder Borntraeger, 1983. 662p.
- NYMAN, T. Phylogeny and ecological evolution of gall-inducing sawflies (Hymenoptera: Tenthredinidae). – University of Joensuu, 92 pp. University of Joensuu, PhD Dissertations in Biology, n:o 6. ISSN 1457-2486. 2000.
- OLIVEIRA, D.C.; CHRISTIANO, J.C.S.; SOARES, G.L.G.; ISAIAS, R.M.S. Reações de defesas químicas e estruturais de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. (Fabaceae) à ação do galhador *Euphalerus ostreoides* Crawf. (Hemiptera: Psyllidae). *Revista Brasileira de Botucatu*. v. 29, n. 4, p.657-667. 2006.
- OLIVEIRA, J.C.; MAIA, V.C. Ocorrência e caracterização de galhas de insetos na Restinga de Grumari (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*. v. 63, n. 4, p. 669-675. 2005.
- OLIVEIRA, P.S. The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). *Functional Ecology*. v. 11, p. 323-330. 1997.
- OLIVEIRA, P.S.; FREITAS, A.V.L. Ant-plant-herbivore interactions in the neotropical cerrado savanna. *Naturwissenschaften*. v. 91, p. 557-570. 2004.
- PRANCE, G. T.; SILVA, M. F. Caryocaraceae. New York: Hafner, 1973. 75p. (Flora Neotrópica, Monograph n. 12).

- PRANCE, G.T. The genus *Caryocar* L. (Caryocaraceae): an underexploited tropical resource. *Advances in Economic Botany*. n.8, p. 177-188. 1990.
- PRICE, P.W. Adaptive radiation of gall-inducing insects. *Basic and Applied Ecology*. v. 6, p. 413-421. 2005.
- PRICE, P.W. Evolution and ecology of gall-inducing sawflies. *In Biology of insect induced galls* (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 208-224.
- PRICE, P.W.; FERNANDES, G.W.; WARING, G.L. Adaptative nature of insect galls. *Environmental Entomology*. v. 16, p. 15-24. 1987.
- REY, L. A. Developmental morphology of two types of Hymenopterous galls. *In Biology of insect induced galls* (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 87-101.
- REZENDE, M.H. Anatomia dos órgãos vegetativos, da flor e estruturas secretoras de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae). 91f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, São Paulo, 1998.
- ROHFRTSCH, O. Patterns in gall development. *In Biology of insect induced galls* (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 60-86.
- SHORTHOUSE, J.D.; ROHFRTSCH, O. eds. *Biology of insect induced galls*. Oxford University, Oxford, 1992. 285p.
- SOARES, G.L.G.; ISAIAS, R.M.S.; GONÇALVES, S.J.M.R.; CHRISTIANO, J.C.S. Alterações químicas induzidas por coccídeos (Coccoidea, Brachyscelidae) em folhas de *Rollinia laurifolia* Schdtl. (Annonaceae). *Revista brasileira de Zoociências*, v. 2, n.1, p. 103-133. 2000.
- SOUZA, S.C.; KRAUS, J.E.; ISAIAS, R.M.S.; NEVES, L.J. Anatomical and ultrastructural aspects in *Ficus microcarpa* L. f. (Moraceae) induced by *Gynaikothrips ficorum* Marchal (Thysanoptera). *Acta Botanica Brasilica*. v. 14, p. 57-69. 2000.
- STONE, G.N.; SCHÖNRÖGGE, K.; ATKINSON, R.J.; BELLIDO, D. & PUJADE-VILLAR, J. The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae). *Annual Review of Entomology*. v. 47, p. 633-668. 2002.
- STONE, G.N.; SCHÖNRÖGGE, K. The adaptative significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology and Evolution*. v. 18, n. 10, p. 512-522. 2003.
- URSO-GUIMARÃES, M.V.; SCARELI-SANTOS, C.; BONIFÁCIO-SILVA, A.C. Occurrence and characterization of entomogenous galls in plants from natural vegetation

- areas in Delfinópolis, MG, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*. v. 63, n.4, p. 705-715. 2003.
- VECCHI, C. Galha foliar em *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. (Melastomataceae): morfo-anatomia e ontogenia. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo. 1999.
- VECCHI, C. Reações diferenciais a herbívoros galhadores em espécies de Melastomataceae. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.
- WEIS, A.E., WALTON, R., CREGO, C.L. Reactive plant tissue sites and the population biology of gall makers. *Annual Review of Entomology*. v. 33, p. 467-486. 1988.
- WHITHAM, T.G. Territorial behaviour of *Pemphigus* gall aphids. *Nature*. v. 279, p. 324-325. 1979.
- WIEBES-RIJKS, A.A.; SHORTHOUSE, J.D. Ecological relationships of insects inhabiting cynipid galls. *In* *Biology of insect induced galls* (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 238-257.

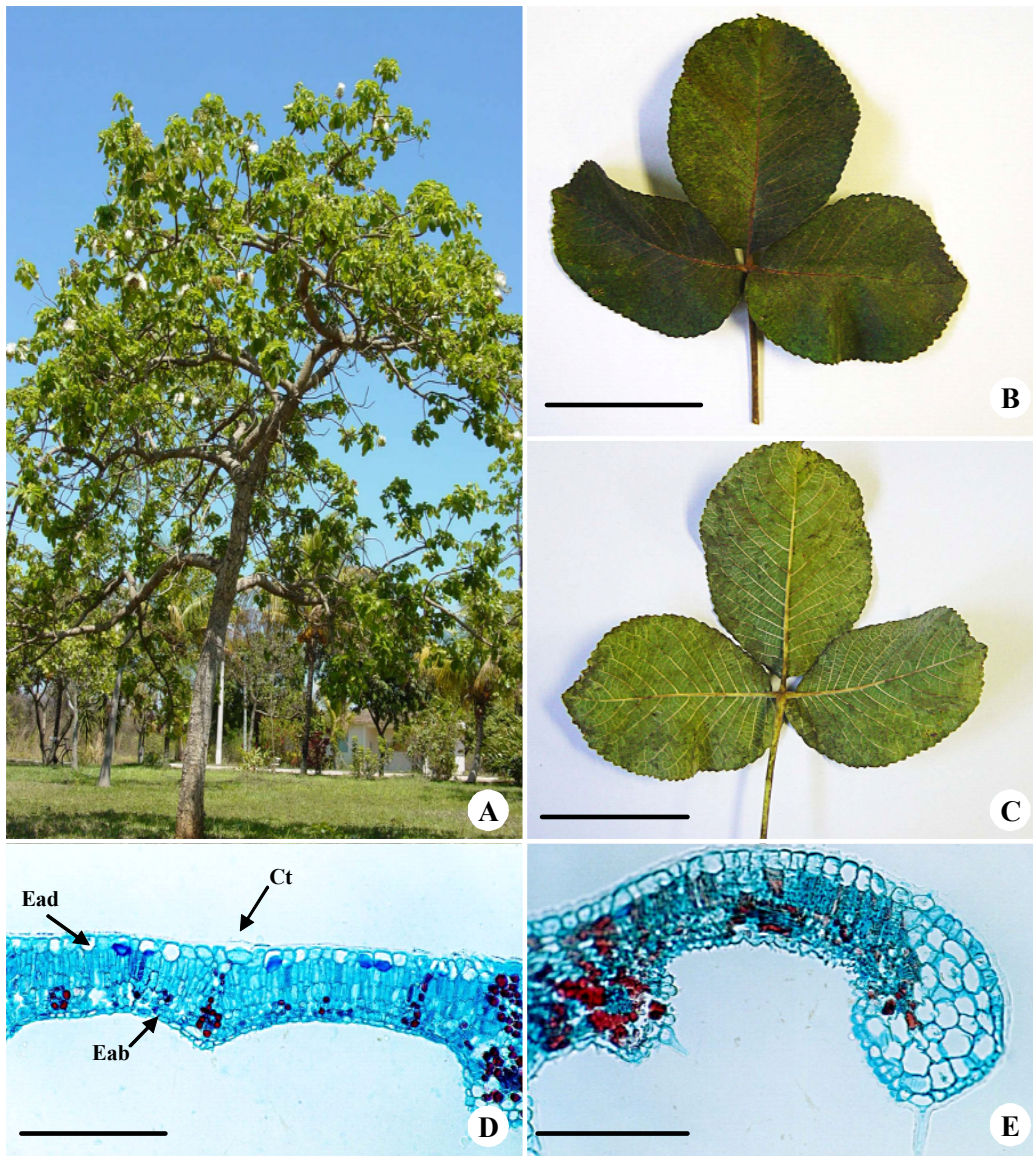


Figura 3 – *Caryocar brasiliense* Camb. **A)** Aspecto geral do indivíduo 3, destacando o hábito arbóreo. **B-C)** Vista geral de folha sadia trifoliolada. **B)** Face adaxial. **C)** Face abaxial. Notar as nervuras salientes e a coloração menos intensa em relação à face adaxial. **D-E)** Secções transversais da lâmina foliolar. **D)** Região mediana. **E)** Bordo foliolar. Ct = cutícula; Ead = epiderme adaxial; Eab = epiderme abaxial. [Barras = 10 cm em B e C; 100 μ m em D e E]

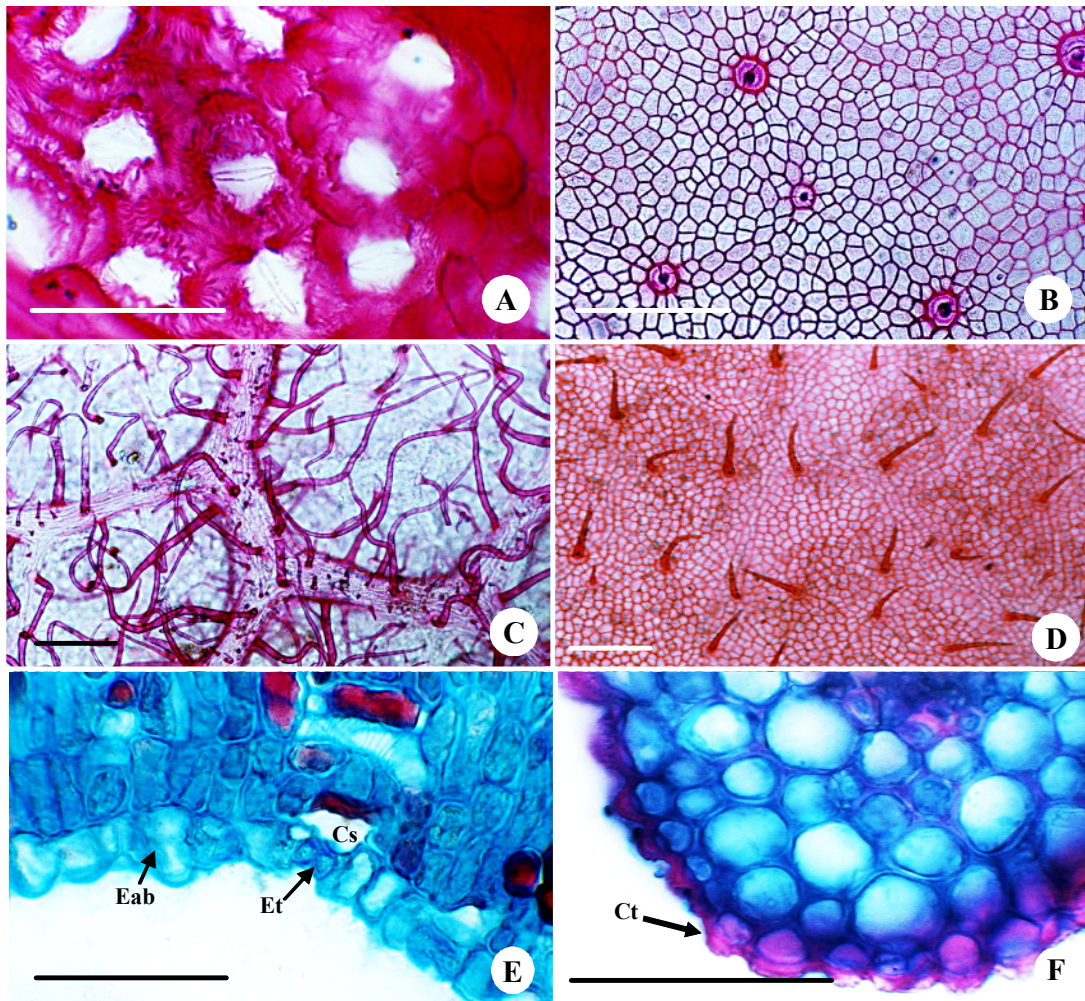


Figura 4 – Folíolo sadio de *Caryocar brasiliense* Camb. **A-D)** Vista frontal da epiderme foliolar. **A)** Face abaxial evidenciando estrias epicuticulares proeminentes e estômatos. **B)** Face adaxial com bases de tricomas e estrias epicuticulares. **C)** Face abaxial com tricomas tectores abundantes. **D)** Face adaxial com tricomas tectores. **E)** Lâmina foliolar em secção transversal, mostrando estômato e câmara subestomática. **F)** Detalhe da epiderme na face abaxial da folha, evidenciando cutícula espessa. Cs = câmara subestomática; Ct = cutícula; Eab = epiderme abaxial; Et = estômato. [Barras = 100 μm em **A**, **B** e **D**; 25 μm em **C**, **E** e **F**].

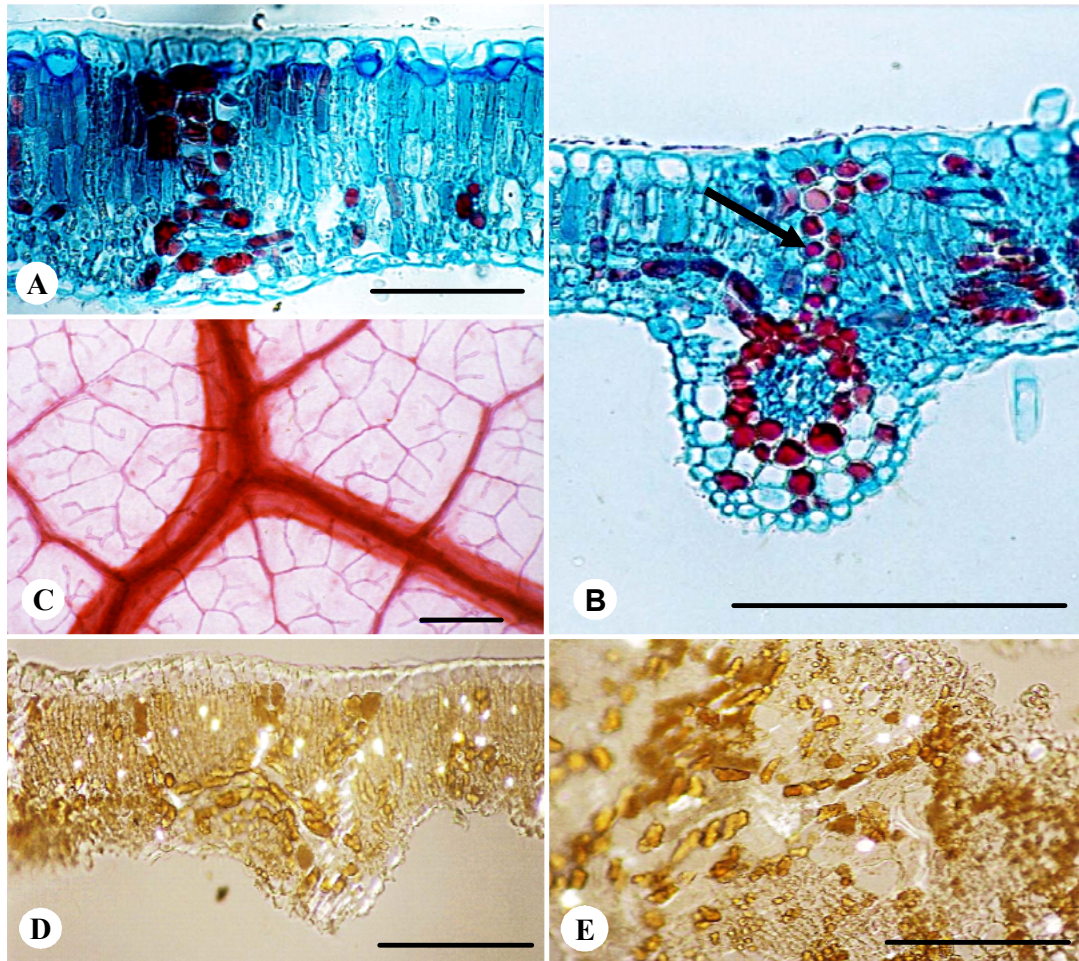


Figura 5 – *Caryocar brasiliense* Camb. **A-D)** Foliolo sadio. **E)** Galha. **A, B e D)** Secções transversais. **A)** Lâmina foliolar apresentando epiderme unisseriada em ambas as faces e mesofilo dorsiventral. **B)** Nervura de segunda ordem mostrando extensão da bainha vascular (seta). **C)** Foliolo diafanizado mostrando padrão de nervação. **D)** Foliolo sadio com cristais distribuídos pelo mesofilo. **E)** Secção longitudinal da galha mostrando cristais distribuídos pelo córtex. [Barras = 50 μm em **A e D**; 100 μm em **B, C, D e E**].

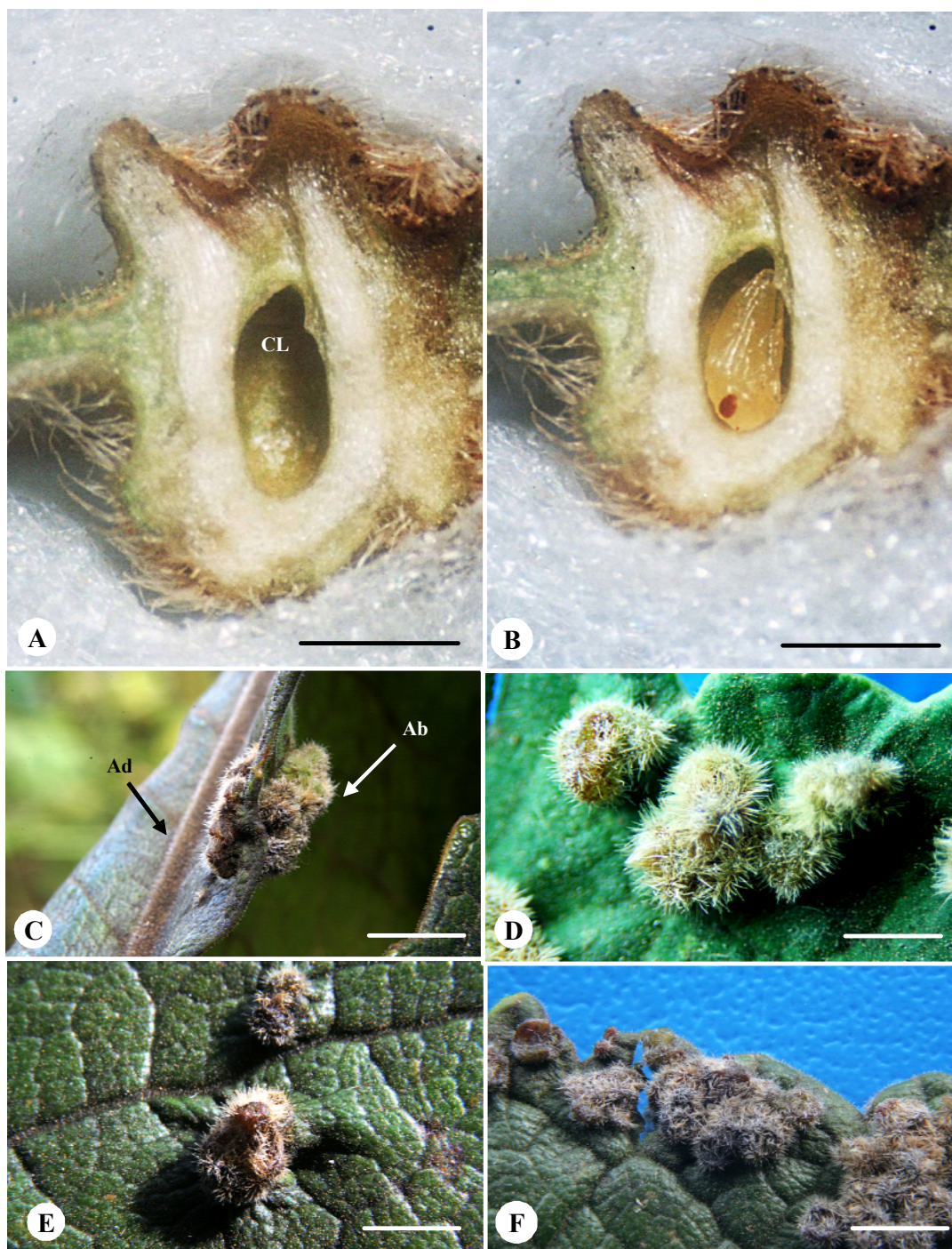


Figura 6 – Galha de *Caryocar brasiliense* Camb. **A e B)** Secções longitudinais da galha. **A)** Secção longitudinal da galha mostrando câmara larval. **B)** Galha evidenciando indutor na câmara. **C-F)** Aspectos gerais da galha. **C)** Galhas desenvolvidas na margem do folíolo. Note o maior desenvolvimento da galha na face abaxial. **D)** Galhas em estágio de maturação densamente cobertas por tricomas. **E)** Galhas isoladas. **F)** Galhas senescentes com coloração marrom. Ab = abaxial; Ad = adaxial; CL = câmara larval. [Barras = 1 mm em **A e B**; 5 mm em **C, D, E e F**].

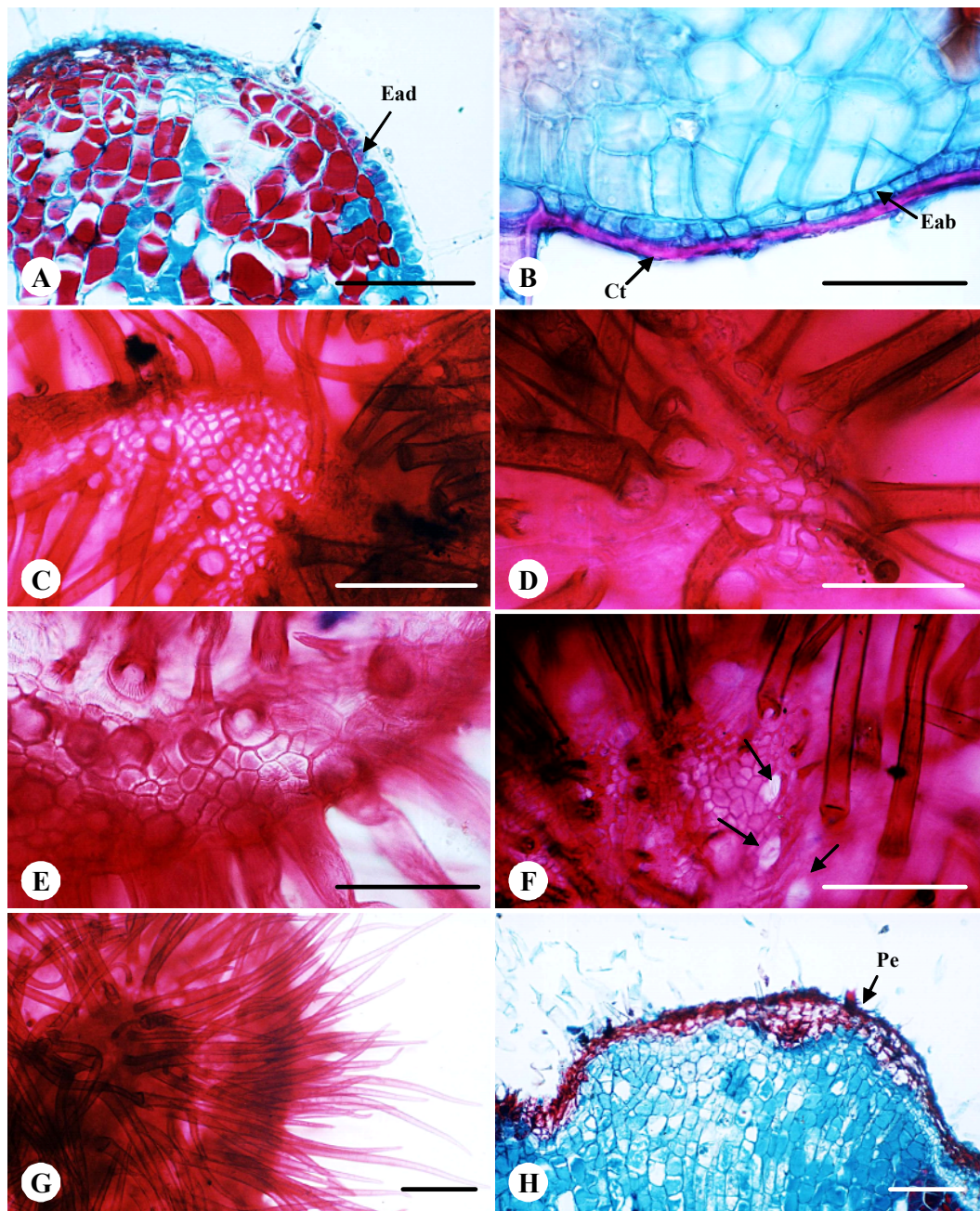


Figura 7 – Sistema de revestimento da galha de *Caryocar brasiliense* Camb. **A, B e H)** Secções longitudinais. **C-G)** Vista frontal da epiderme. **A)** Epiderme unisseriada da porção adaxial revestindo o córtex parenquimático. **B)** Epiderme unisseriada da porção abaxial, evidenciando cutícula espessa. **C-D)** Epiderme da face adaxial. **C)** Células epidérmicas dispostas linearmente. **D)** Células dispostas aleatoriamente, denotando maior grau de deformidade. Notar paredes celulares levemente curvas. **E-F)** Epiderme da face abaxial. **E)** Células epidérmicas com paredes anticlinais levemente curvas. **F)** Estômatos (setas). **G)** Aspecto geral da epiderme da face abaxial com tricomas longos e abundantes. **H)** Periderme revestindo córtex parenquimático. Ct = cutícula; Ead = epiderme adaxial; Eab = epiderme abaxial; Pe = periderme. [Barras = 100 μ m em A, C, F, G e H; 50 μ m em B, D e E].

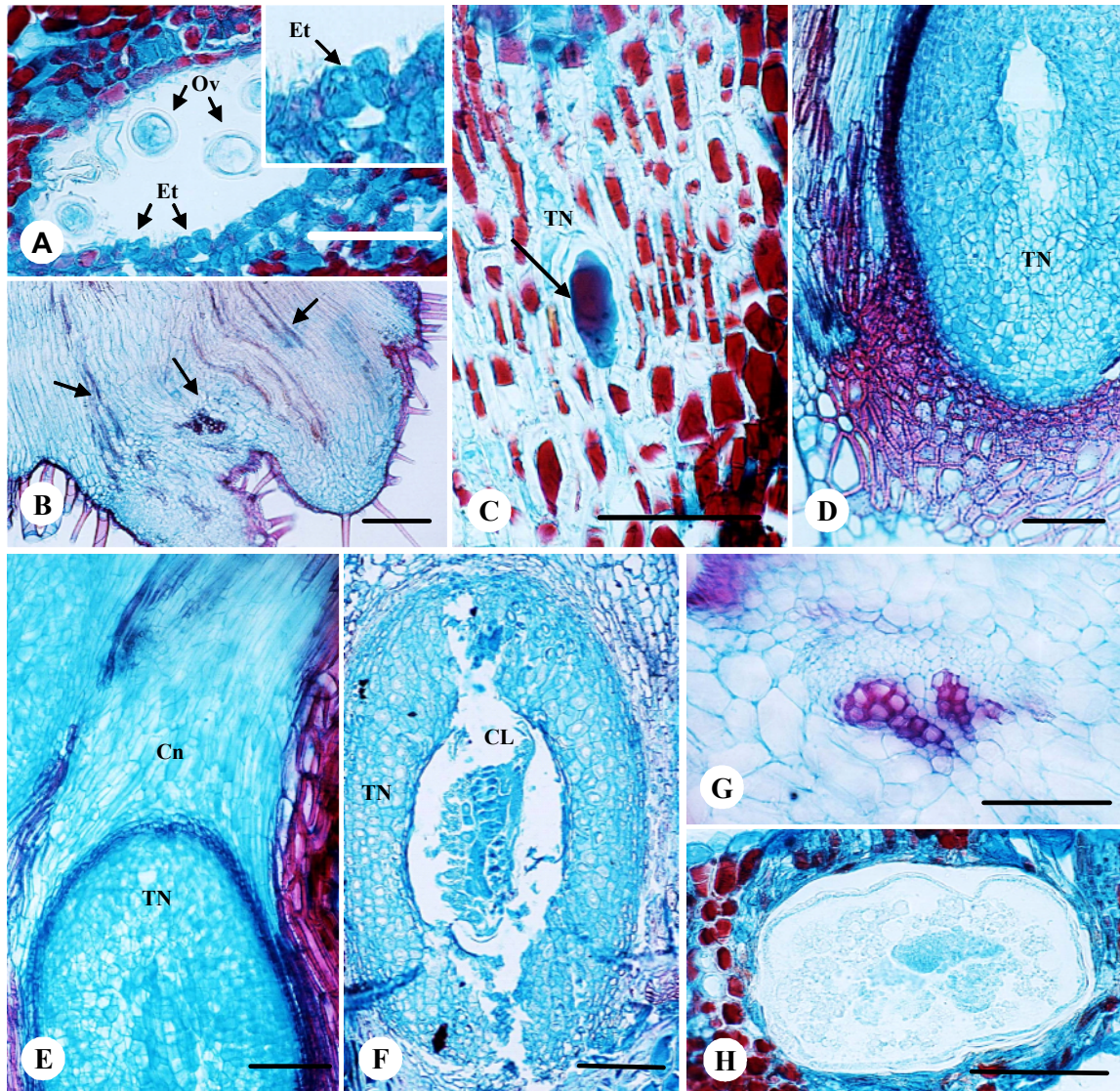


Figura 8 – Galha de *Caryocar brasiliense* Camb. **A-G)** Secções longitudinais. **H)** Secção transversal do folíolo. **A)** Câmara com ovos, revestida internamente por epiderme unisseriada apresentando estômatos (detalhe). **B)** Parênquima cortical da porção abaxial da galha, apresentando feixes vasculares (setas). **C)** Parênquima cortical com células alongadas. Notar larva do indutor em estágio inicial de desenvolvimento (seta). **D)** Tecido nutritivo circundado por células parenquimáticas com paredes lignificadas. **E)** “Canal” de células parenquimáticas não lignificadas, acima da câmara larval. **F)** Câmara larval contendo um indivíduo indutor cercado pelo tecido nutritivo. **G)** Detalhe de feixes vasculares distribuídos no parênquima cortical, próximo à face abaxial. **H)** Tecido animal, provavelmente do inseto indutor, localizado no interior do mesofilo sadio. CL = câmara larval; Cn = canal; Et = estômato; Ov = ovo; TN = tecido nutritivo. [Barras = 50 µm em A, F e H; 100 µm em B, C, D, E e G].

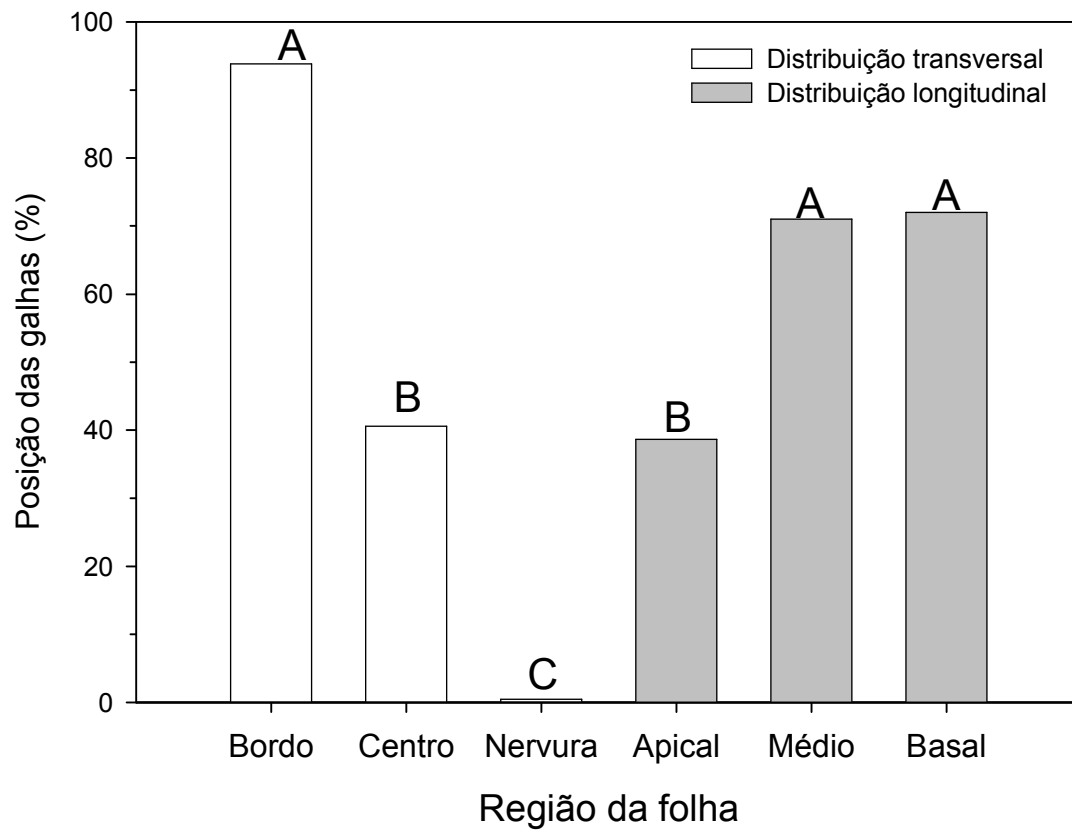


Figura 9. Posição das galhas (%) nas folhas de *Caryocar brasiliense*. Médias seguidas pela mesma letra, dentro de um grupo, não diferem entre si, pelo teste de média de Tukey a $P < 0,01$.

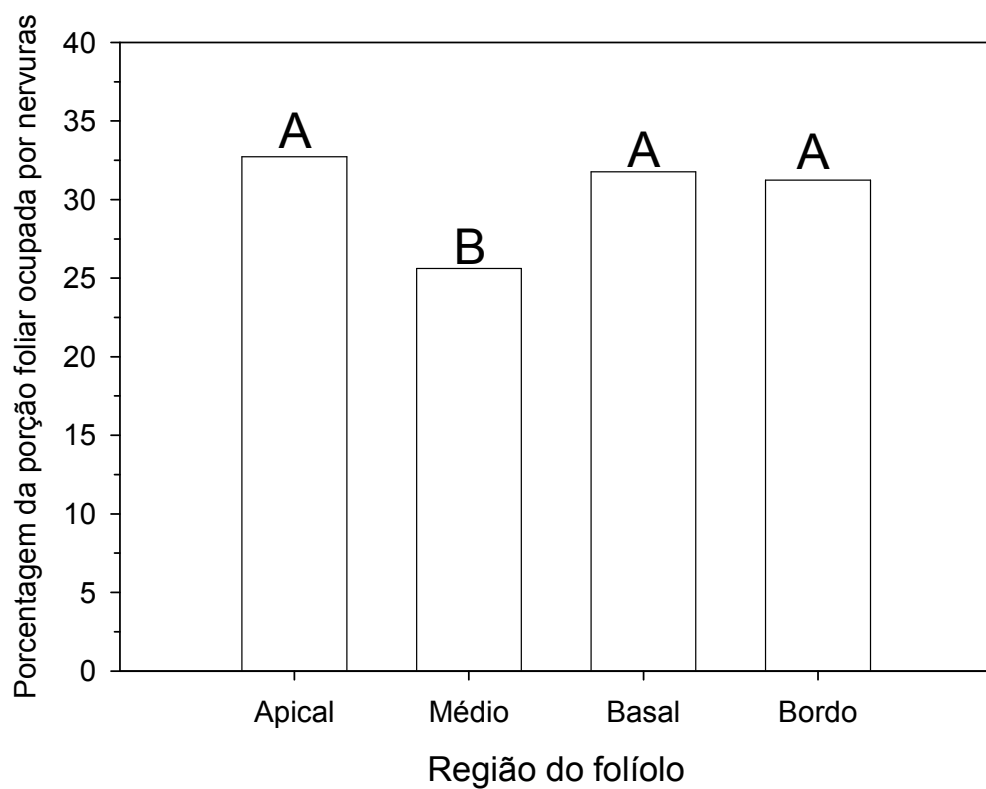


Figura 10. Percentagem da porção foliar ocupada por nervuras nos terços apical, médio, basal e no bordo de fólio de *Caryocar brasiliense*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de média de Tukey, a $P < 0,01\%$.

**CAPÍTULO 2 - IMPACTO DA INDUÇÃO DE GALHAS NA PRODUÇÃO E
RESERVA DE SUBSTÂNCIAS**

Resumo

Alterações na produção de flores, frutos e sementes, número e tamanho de ramos e redução em área foliar podem ser consequência da realocação de recursos para o sítio de formação da galha e beneficiar exclusivamente o galhador. O impacto da indução de galhas nas folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. foi analisado tendo como parâmetros: a área foliar afetada, o nível de infestação, o teor de pigmentos fotossintetizantes e a detecção histoquímica de substâncias dos metabolismos primário e secundário. O nível de infestação observado ($40,6\% \pm 16,44$) foi considerado médio, sendo que grande parte das folhas ($42,4\%$) apresentou apenas um folíolo galhado. As folhas sadias apresentaram área média de $225,04 \pm 6,43\text{cm}^2$ e as folhas galhadas $249,94 \pm 6,48\text{cm}^2$, o que representa aumento de 11% na área foliar total e pode indicar favorecimento da expansão foliar ou retomada da potencialidade do meristema marginal, dependendo da idade das folhas no momento da indução. As alterações nas áreas foliares comparadas aos teores de pigmentos podem indicar mecanismos compensatórios ou o estabelecimento de um dreno das porções fotossinteticamente ativas para a galha. O acúmulo de substâncias fenólicas nos tecidos periféricos das galhas de *C. brasiliense* pode representar uma defesa contra inimigos naturais do galhador, ao passo que a ausência ou teor reduzido desses compostos no sítio de alimentação das larvas pode favorecer o estabelecimento das mesmas. A detecção de açúcares redutores no tecido nutritivo destas galhas revela um tipo de reserva não descrito anteriormente para galhas de Hymenoptera.

Abstract

Changes in the production of flowers, fruits and seeds, number and size of branches and reduction in leaf area may result from the reallocation of resources to the site of formation of gall and benefit only the gall. The impact of gall induction in leaves of *Caryocar brasiliense* Camb. was analyzed by using as parameters: the affected leaf area, the level of infestation, the content of photosynthetic pigments, and histochemical detection of primary and secondary metabolites. The level of infestation ($40.6\% \pm 16.44$) may be considered medium, and large part of the leaves (42.4%) presented only one galled leaflet. The non galled leaves showed an average area of $225.04 \pm 6.43 \text{ cm}^2$ and galled leaves $249.94 \pm 6.48 \text{ cm}^2$, which represents an increase of 11% in total leaf area. This may be indicative of the resumption of leaf expansion or a potential reactivity of the marginal meristem, depending on the age of leaves at the time of induction. Changes in leaf area compared with pigments content may indicate compensatory mechanisms or the establishing of sinks from photosynthetically active leaflet portion to the gall site. The accumulation of phenolic substances in peripheral tissues of the galls of *C. brasiliense* may represent a defense against natural enemies of the galling insect, while the absence or reduced contents of these compounds in the larvae feeding site may favor its establishment. The detection of reducing sugars in nutritive tissue reveals a kind of reserve not previously reported for galls of Hymenoptera.

INTRODUÇÃO

Galhas são provavelmente um dos exemplos mais familiares de parasitismo em plantas (Vrcibradic *et al.*, 2000), parasitismo este que causa variados graus de impacto nos órgãos e plantas hospedeiras. A escolha pela espécie vegetal, órgão hospedeiro e sítio de oviposição pelos galhadores têm papel fundamental na sobrevivência e desenvolvimento de sua prole (Whitham, 1980; Fernandes & Price, 1991; Araújo, 1997). Qualquer que seja essa escolha, a formação da galha leva a uma redução no vigor da planta hospedeira que perde recursos anteriormente alocados para garantir a sobrevivência de sua própria espécie (Price *et al.*, 1991).

A análise do desenvolvimento de órgãos e plantas galhadas permite verificar alterações em diversos caracteres tais como produção de flores, frutos e sementes, número e tamanho de ramos (Dreger-Jauffret & Shorthouse, 1992; Gonçalves-Alvim *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 1996; Andrade *et al.*, 1995) e comumente redução em área foliar (Gonçalves *et al.*, 2005). Pressupõe-se que tais alterações sejam consequência da realocação de recursos para o sítio de formação da galha, beneficiando exclusivamente o galhador.

Com a redução da área foliar é plausível supor que haja também redução da capacidade fotossintética. Tal redução poderia ser compensada com a divisão da atividade fotossintética entre folha e galha. O que daria à galha a condição de produtora de fotoassimilados que re-equilibrariam a relação fonte-dreno. Essa premissa pode ser testada pela medida da concentração de pigmentos fotossintetizantes na área da galha comparativamente à área de folhas saudas e a porção sadia da própria folha galhada.

Em uma análise de folhas saudas e galhas de *Rollinia laurifolia*, Takahashi (2003) observou uma redução do conteúdo de pigmentos fotossintetizantes em folhas galhadas, o que certamente leva à diminuição do rendimento fotossintético das mesmas. Os estudos de Larson

(1998) com folhas galhadas de duas espécies vegetais também mostraram redução de até 52% nas taxas fotossintéticas em decorrência da formação de galhas.

Em função da redução na capacidade fotossintetizante e independentemente da redistribuição de recursos entre o órgão hospedeiro e a galha, a produção de metabólitos primários e secundários pode passar por alterações em decorrência das necessidades estruturais da neoformação, a galha, e das necessidades nutricionais do galhador, o parasita (Motta *et al.*, 2005). Novas estruturas, novas sínteses e novos armazenamentos podem ocorrer. Em galhas de *Struthanthus vulgaris* (Kraus *et al.*, 2002), há formação de periderme na folha; em outros modelos estudados, há neoformação de tricomas, emergências, esclereídes, tecido nutritivo e feixes vasculares (Bronner, 1992; Kraus *et al.*, 1996; Kraus & Tanoue, 1999; Drummond, 2005; Gonçalves *et al.*, 2005). A síntese e armazenamento de substâncias não somente no tecido nutritivo, mas no parênquima de reserva da galha indicam novos balanços entre o acúmulo de substâncias de nutrição e defesa (Bronner, 1992).

Nas galhas, têm sido observadas modificações nos conteúdos de carboidratos (Bronner, 1992; Hartley, 1998), compostos fenólicos solúveis, ligninas e flavonóides (Motta *et al.*, 2005). O aumento de substâncias do metabolismo primário, tais como proteínas, lipídios e carboidratos, é extremamente importante para o desenvolvimento do galhador, especialmente quando estes compostos ocorrem próximos à câmara larval (Motta *et al.*, 2005), já que estão nitidamente relacionados à sua nutrição (Soares *et al.*, 2000).

As mudanças no acúmulo de substâncias ocorrem em resposta ao estímulo do indutor. Além de mudanças no padrão de translocação de fotoassimilados (Larson & Whitham, 1991) e acúmulo de nutrientes que facilitam a nutrição do parasita (Baggato & Shorthouse, 1994), as reações da planta à presença do organismo estranho podem levar ao aumento na concentração de fenólicos decorrentes da produção de espécies reativas de oxigênio, como observado por Takahashi (2003) em *Rollinia laurifolia*. De fato, Nürnberger & Scheel (2001) apontam a

produção de espécies reativas de oxigênio como uma das respostas mais importantes ao parasitismo.

Apesar disso, alguns autores (ver Price *et al.*, 1987) afirmam que a redução de compostos do metabolismo secundário, como fenólicos e flavonóides, pode ocorrer durante o desenvolvimento da galha, não só no tecido nutritivo mas também nos demais tecidos galígenos.

Assim como observado para os derivados fenólicos, compostos antioxidantes, como os carotenóides (Krause, 1988; Thiele *et al.*, 1998) e flavonóides (Harborne & Williams, 2000) podem ser também produzidos em resposta ao estresse oxidativo originado no processo cecidogênico, a fim de minimizar os danos causados pelo mesmo.

Caryocar brasiliense (pequi) é uma espécie hospedeira de diferentes morfotipos de galhas foliares, sendo que o morfotipo estudado no presente trabalho é induzido por uma vespa (Hymenoptera: Chalcidoidea) (Oliveira, 1997; Oliveira & Freitas, 2004; Leite *et al.*, 2006) do gênero *Eurytoma* (Leite *et al.*, 2006).

C. brasiliense apresenta açúcares redutores, taninos, flavonóides, esteróides, triterpenóides e saponinas como seus principais metabólitos secundários em folhas sadias (Marques, 2001). Ferreira *et al.* (2005) observaram a presença de lipídios, óleos essenciais, esteróides, lactonas sesquiterpênicas, terpenóides, compostos fenólicos gerais e taninos em folhas fisiologicamente maduras por meio de testes histoquímicos.

Face ao registro de metabólitos primários e secundários descritos na literatura para a espécie e a potencialidade dos galhadores em gerar drenos de substâncias nos órgãos galhados, este estudo objetivou verificar o impacto da indução de galhas na área fotossintetizante das folhas de *C. brasiliense*. Mudanças histoquímicas e químicas (teor de pigmentos fotossintetizantes) foram investigadas e relacionadas aos diferentes níveis de infestação nas folhas e à realocação de recursos para o sistema galhador-planta.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material

O material de estudo foi coletado em três plantas de *C. brasiliense* localizadas no Núcleo de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (NCA/UFMG), Montes Claros, Minas Gerais (43°50'26.8''W, 16°40'54.5''S). Folhas saudas e galhadas foram destacadas dos ramos com auxílio de podão, acondicionadas em sacos plásticos transparentes vedados com fita adesiva e enviadas ao *Campus*-Pampulha da UFMG, em Belo Horizonte, onde foram procedidas as análises.

Nível de infestação

Para a determinação do nível de infestação foi calculada a porcentagem de folhas galhadas nas três árvores em estudo, entre março de 2005 e março de 2006. Foram coletadas 20 folhas/árvore, entre os dias 25 e 30 de cada mês, discriminando folhas galhadas e folhas saudas. Foi avaliado também o número de folíolos galhados/folha.

Área foliar

Foram estimadas as áreas das folhas saudas e galhadas e o percentual de área galhada/folha. Para tanto, foram avaliadas, mensalmente, 10 folhas saudas e 10 folhas galhadas de cada planta, coletadas aleatoriamente. As medidas de área foliar foram tomadas com auxílio do programa gráfico EasyQuantify[®], sendo medidos os folíolos e seus respectivos peciólulos, descartando-se o pecíolo.

Análise de pigmentos fotossintetizantes

Foram determinados os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenóides, com nove repetições para cada pigmento.

As análises foram realizadas nos meses de março, junho, setembro e dezembro de 2005. Foram coletadas três folhas saudáveis e três folhas galhadas em cada árvore, sendo selecionadas apenas folhas maduras. Três discos da região mediana do limbo foliar foram recortados, pesados e acondicionados em frascos de vidro âmbar, com 5 mL de acetona 80% (v/v) e mantidos sob refrigeração por um período mínimo de 72 horas. Foi realizada então, maceração das amostras em ambiente com baixa luminosidade, com auxílio de almofariz e pistilo. O volume da suspensão foi completado para 10 mL com acetona 80%, sendo as amostras então centrifugadas a 10.000g por cinco minutos em centrífuga (Fanen Excelsa Baby II Mod. 206R). O sobrenadante foi coletado e a absorvância medida em espectrofotômetro (Thermo Spectronic, modelo Genesys 10 UV), nos comprimentos de onda 470, 646 e 663nm. Os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenóides foram estimados segundo equações propostas por Lichtenthaler & Wellburn (1983), sendo os valores corrigidos para unidade de peso fresco. A partir dos dados obtidos foram calculadas as razões clorofila *a/b* e clorofilas/carotenóides.

Testes histoquímicos

Para detectar substâncias do metabolismo primário, lipídios e amido, seções de material recém-coletado foram submetidas diretamente às reações com vermelho B de Sudan (C.I. 26050) em etanol 70°GL (Brundett *et al.*, 1991) e reagente de Lugol (Johansen, 1940), respectivamente. Os mesmos testes foram realizados com material fixado em Formalina Neutra Tamponada (Johansen, 1940), desidratado em série butílica e infiltrado em Paraplast® (Kraus & Arduin, 1997). Os cortes foram feitos em micrótomo rotativo (8-12 µm de

espessura) e corados com os mesmos reagentes utilizados em material fresco. Para detecção de açúcares redutores foi realizado o teste de Fehling (Sass, 1951).

Para detecção de derivados fenólicos, as amostras foram fixadas em sulfato ferroso 2% em formalina (Johansen, 1940). A presença de flavonóides mono ou poliméricos (proantocianidinas) foi testada em cortes histológicos de material recém-coletado, fixados em cafeína-benzoato de sódio 1% em butanol 90%, e posteriormente transferidos para solução etanólica de *p*-dimetilaminocinamaldeído (DMACA) por 2h (Feucht *et al.*, 1986).

As ligninas foram testadas com floroglucinol 1% (Jensen, 1962), em cortes histológicos de material fresco.

Testes-controle e cortes-branco foram realizados em material recém-coletado, seccionado em micrótomo de mesa. Para realização de testes-controle, derivados fenólicos e flavonoídicos foram extraídos com reagente de Stockwell (Johansen, 1940) por 24 horas; lipídios com clorofórmio:metanol (2:1) v/v (Moore et al., 1991) e amido pela digestão com amilase salivar (Culling, 1974).

As fotomicrografias foram obtidas em fotomicroscópio de luz (Olympus, modelo BH-2), a partir de lâminas montadas em gelatina glicerizada de Kaiser ou glicerina 50% (Kraus & Arduin, 1997), com exceção daquelas para teste de ligninas, que foram montadas em água destilada.

Tratamento estatístico

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, correlação de Pearson e teste de médias de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nível de infestação

A percentagem média de folhas galhadas por planta de *C. brasiliense* amostrada foi de 40,6% ($\pm 16,44$), indicando um nível de infestação médio pelo inseto galhador. A maioria das folhas (42,4%) apresentou apenas um folíolo galhado, enquanto 26,4 e 31,2% apresentaram 2 e 3 folíolos galhados, respectivamente. Esse nível de infestação foi considerado médio frente a outros estudos como, por exemplo, Gonçalves *et al.* (2005) que encontraram 93,8% de folhas de *Rollinia laurifolia* com galhas induzidas por *Pseudotetococcus rollinae*, Barbosa *et al.* (2004) no qual *Tuthillia cognata* infestou 94% dos ramos analisados de *Myrciaria dubia* e Botton *et al.* (2004) que consideraram como alto um nível de infestação de 82,5% para os ápices caulinares de *Vitis vinifera* infestados por *Daktulosphairia vinitifoliae*. Possivelmente, o nível de infestação encontrado em *C. brasiliense* deve ocasionar um impacto reduzido nas folhas hospedeiras quando comparado a outros sistemas.

Área foliar

As folhas sadias apresentaram área média de $225,04 \pm 6,43\text{cm}^2$. Nas folhas galhadas, a área foliar ocupada pelas galhas foi de 1,32%, indicando que, apesar do nível médio de infestação, uma porção mínima da folha foi afetada. Além disso, as folhas galhadas apresentaram aumento significativo em área, com média de $249,94 \pm 6,48\text{cm}^2$ (figura 1), o que representa um aumento de 11% na área foliar total em função da ação do herbívoro galhador. Muito embora a idade da folha no momento da indução não tenha sido avaliada no presente estudo, esse aumento em área pode indicar que se a indução ocorreu em folhas jovens, houve um favorecimento da expansão foliar de *C. brasiliense*, ao passo que se a

mesma ocorreu em folhas maduras, houve uma retomada da potencialidade do meristema marginal.

Além disso, a área da porção sadia das folhas galhadas ($245,67 \pm 6,45 \text{ cm}^2$) também foi significativamente maior do que aquela das folhas sadias. Essa análise indica que a indução das galhas pode estar promovendo o fluxo de fotoassimilados para as folhas galhadas e este maior aporte de nutrientes não está sendo utilizado somente em prol do desenvolvimento das galhas. É provável que haja um mecanismo compensatório dos próprios tecidos não impactados pela ação do galhador.

A avaliação de folhas com diferentes percentagens de infestação, embora não tenha revelado diferenças significativas, permite perceber que em folhas com até 8% da área ocupada por galhas houve uma tendência de aumento da área total, sendo que a partir de 16%, ocorreu uma redução dessa área (figura 2). Resultado semelhante foi observado por Gonçalves *et al.* (2005) para o sistema *Rollinia laurifolia*- *Pseudotectococcus rollinae*, no qual a redução da área foliar ocorreu apenas em infestações acima de 5 galhas/folha.

Tanto a área de folhas sadias quanto aquela de folhas galhadas aumentaram em função da percentagem de folhas galhadas na árvore ($r = 0,41$; $P = 0,0058$ e $r = 0,61$; $P = 0,0000$, respectivamente), o que reforça a hipótese de um mecanismo compensatório em plantas atacadas por galhadores, a fim de amenizar os efeitos deletérios advindos da formação de galhas. Welter (1989 *apud* Larson, 1998) cita diversos estudos nos quais foi observado aumento das taxas fotossintéticas em tecidos intactos como efeito indireto de ataque de herbívoros, revelando a existência de mecanismos compensatórios por parte do vegetal atacado. Contudo, um olhar mais crítico deve ser feito a respeito dessa suposição, pois Larson (1998) observou que os impactos negativos ocasionados por herbívoros podem ocorrer não só nas folhas afetadas, mas também naquelas adjacentes.

A comparação entre as medidas de alterações nas áreas foliares e os teores de pigmentos pode reforçar a teoria dos mecanismos compensatórios (Larson, 1998) ou a teoria do estabelecimento de um dreno das porções fotossinteticamente ativas para a galha (Larson & Whitham, 1991).

Pigmentos fotossintetizantes

Sabe-se que as galhas entomógenas influenciam fortemente as relações fonte-dreno em seu hospedeiro, contudo, estudos sobre as relações entre fotossíntese e a atividade das galhas são escassos (Dorchin *et al.*, 2006). Segundo essa mesma autora, em um estudo com o sistema *Trichilogaster signiventris-Acacia pycnantha*, a fotossíntese em galhas pode contribuir substancialmente para o incremento de carbono na própria galha, já que as taxas de respiração específicas foram baixas.

As médias dos teores de clorofilas totais, clorofila *a*, clorofila *b*, xantofilas + carotenóides, assim como a relação clorofila *a*/clorofila *b* e a relação clorofilas totais/carotenóides medidas no sistema *C. brasiliense-Eurytoma* sp. foram significativamente menores nas galhas em relação à folha sadia e porção sadia de folha galhada, sendo que não houve diferenças significativas entre estas últimas (tabela 1).

Yang *et al.* (2003) observaram redução do teor de pigmentos fotossintetizantes em folhas de *Machilus thunbergii* (Lauraceae) em função da formação de galhas por uma espécie não identificada de Diptera: Cecidomyiidae. Esses autores verificaram que as vias de síntese e degradação de clorofilas no sistema foram comparativamente diferentes entre tecidos sadios e tecidos da galha. Contudo, a forma como o galhador causa a deficiência dos complexos de pigmentos permanece desconhecida.

Uma vez que a área sadia das folhas afetadas foi maior do que aquela das folhas sadias, podemos inferir que não há prejuízo da fotossíntese nas folhas, mesmo naquelas

infestadas por galhas. Muito embora estudos envolvendo o impacto dos galhadores sobre as taxas de fotossíntese nas galhas e nos tecidos circundantes sejam raros (Larson, 1998), é sabido que estas estruturas alteram o padrão normal de transporte das plantas, levando folhas maduras a importar fotoassimilados das folhas vizinhas (Larson & Whitham 1991). No sistema *C. brasiliense-Eurytoma* sp. o aumento da área potencialmente fotossintetizante pode estar compensando as perdas no valor adaptativo da própria planta hospedeira ao impacto da ação do galhador.

No modelo *Trichilogaster signiventris-Acacia pycnantha*, Dorchin *et al.* (2006) encontraram galhas solitárias atuando como drenos mais potentes do que galhas agrupadas. No caso de *C. brasiliense*, as galhas estão, na maioria das vezes, agrupadas e localizadas preferencialmente no bordo foliolar (*cf.* Castro 2006 - Cap. 1), deste modo é plausível supor a formação de um dreno pouco potente. Talvez por isso as folhas com menores aglomerados de galhas tenham apresentado maior área, exibindo comportamento similar ao de folhas com galhas solitárias.

A análise da variação dos pigmentos foliares nas folhas sadias, em relação à época do ano, demonstrou uma tendência de acúmulo de pigmentos fotoprotetores (xantofilas e carotenóides) nos meses de setembro e dezembro (tabela 2). Essa possibilidade de fotoproteção pode influenciar no sucesso do estabelecimento do inseto galhador nas folhas de *C. brasiliense*, uma vez que no seu interior o inseto estaria protegido dos efeitos da radiação solar excessiva. Além disso, a presença de organismos galhadores dentro dos tecidos vegetais parece promover um aumento na quantidade de espécies reativas de oxigênio (Soares *et al.*, 2000). Partindo dessa premissa, o acúmulo de carotenóides e xantofilas pode ser uma reação da planta à atividade alimentar do inseto, o que gera para este um ganho secundário em termos de valor adaptativo da galha como microambiente favorável ao seu desenvolvimento (Stone & Schönrogge, 2003).

Embora os teores de clorofila nas folhas sadias não tenham variado significativamente entre os períodos avaliados, foi verificada uma tendência de aumento nos meses de março e dezembro, o que ocorreu provavelmente em resposta à insolação relativamente baixa observada nestes dois períodos, especialmente em dezembro (figura 3), a fim de garantir a eficiência fotossintética. Essas mesmas variações sazonais nos teores de clorofilas em folhas de *C. brasiliense* foram observadas por Soave & Silva (1993), que as atribuíram ao estágio fenológico das plantas estudadas.

Comparativamente às galhas, os teores de carotenóides foram maiores em folhas sadias e porção sadia de folhas galhadas (tabela 1). Embora a porção sadia de folhas galhadas não tenha apresentado teores significativamente maiores do que folhas sadias, a produção desses pigmentos aumentou em função do nível de infestação das árvores tanto em folhas sadias ($r = 0,74$; $P = 0,0038$) quanto em porção sadia de folhas galhadas ($r = 0,63$; $P = 0,0077$), denotando sua importância como agente antioxidante.

Uma vez que os galhadores manipulam a fisiologia da planta hospedeira, seu impacto na fotossíntese pode se estender além do tecido galhado propriamente dito (Larson 1998). Apesar de ter demonstrado essa preocupação, a análise feita por Larson (1998) em plantas de *Prunus serotina* e *Rhus glabra* não leva em consideração a porção sadia de folhas galhadas. A análise dessa porção foliar (PSFG) parece ser um bom caminho para corroborar tal proposta.

A análise do comportamento dos pigmentos foliares nas porções sadias de folhas galhadas, em relação à época do ano, não mostrou nenhuma alteração em nenhum dos pigmentos analisados (tabela 3), o que pode representar uma estabilidade em termos de taxas fotossintéticas e reações fotoprotetoras.

Mesmo tendo avaliado folhas vizinhas a folhas galhadas, Larson (1998) afirma não ter encontrado evidências de que os galhadores sejam capazes de induzir drenos nos tecidos

vizinhos às galhas. Pelo contrário, o autor afirma que os galhadores, no caso eriofídeos, reduziram as taxas fotossintetizantes das folhas não galhadas.

Em *C. brasiliense*, entretanto, a não variação no teor de pigmentos nas porções sadias das folhas galhadas e sua similaridade com as folhas sadias, permite supor que não houve redução na taxa de fotossíntese em função do impacto da indução das galhas.

A análise do comportamento dos pigmentos foliares das galhas, em relação à época do ano, também demonstra uma variação nos teores dos pigmentos fotossintetizantes assim como dos pigmentos fotoprotetores, nos meses de maiores níveis de insolação (tabela 4, figura 3). Tais observações poderiam indicar a presença de fotoinibição, uma vez que, embora os teores de pigmentos fotoprotetores nas galhas sejam maiores nos meses de maior insolação e temperatura (tabela 4, figura 3), seus valores absolutos foram sensivelmente menores em relação aos tecidos sadios. Assim, a fotoproteção, conferida pelos carotenóides (Taiz & Zeiger, 2004) pode ser reduzida nas galhas.

Apesar de conter um teor de clorofilas mais baixo do que os tecidos sadios, as galhas tiveram sua produção de pigmentos fotossintetizantes aumentada nos meses em que as folhas sadias e a porção sadia de folhas galhadas tiveram teor de clorofilas relativamente reduzido, o que indica que, nestes períodos, a fisiologia da galha é alterada de forma a manter o suprimento de energia (tabelas 2-4). A redução nos teores de clorofilas nos meses de março e dezembro pode ser compensada por um dreno mais potente de fotoassimilados ou por fase de dormência da galha nestes períodos. Contudo, esses fatores não foram analisados no modelo *C. brasiliense*-*Eurytoma* sp.

Impactos negativos ou ausência de impacto na fotossíntese das plantas hospedeiras podem ter duas implicações significativas para a relação galhador-planta hospedeira (Larson, 1998). A primeira seria a maior importação de fotoassimilados dos tecidos circundantes e a segunda, a competição com outros galhadores e sugadores de floema. Uma vez que, pelo

menos aparentemente, a indução de galhas nas folhas de *C. brasiliense* não afeta potencialmente a fotossíntese, nem tampouco a galha estudada apresenta altos teores relativos de pigmentos, conclui-se que a primeira implicação seja a mais provável de ocorrer no sistema. Este estudo corrobora a proposta de Larson & Whitham (1991), ou seja, é formada uma relação fonte-dreno no sistema *C. brasiliense-Eurytoma* sp. Além disso, as informações sobre a guilda de insetos associados ao *C. brasiliense* (Leite *et al.*, 2006) não permitem estabelecer conclusões a cerca das relações de competição existentes.

Histoquímica

Folíolo sadio e porção sadia de folíolo galhado

Lipídios, açúcares redutores, ligninas, flavonóides e derivados fenólicos foram evidenciados nos folíolos sadios e na porção sadia de folíolos galhados. A reação para lipídios foi positiva apenas na cutícula (figura 4C). Açúcares redutores foram detectados no parênquima paliçádico, nas nervuras secundárias (figura 5A) e em algumas células do córtex da nervura de primeira ordem. As ligninas foram detectadas apenas nas paredes das células do xilema e da extensão da bainha vascular (figura 4A). Os flavonóides encontram-se distribuídos pelo sistema fundamental, concentrando-se principalmente no parênquima paliçádico (figura 4D) e estão ausentes na epiderme. Os derivados fenólicos estão presentes no córtex dos feixes vasculares, na extensão da bainha vascular e no sistema fundamental, principalmente no parênquima paliçádico, estando distribuídos esparsamente no parênquima lacunoso (figura 5D).

Não foi verificada presença de amido nos folíolos sadios ou em porções sadias de folíolos galhados.

Galha

A reação para lipídios foi positiva apenas na cutícula sobre a epiderme da galha (figura 4C). Foram detectados açúcares redutores no córtex da galha (figura 5B e 5C), estando estes ausentes no tecido nutritivo (figura 5B). As ligninas foram reveladas nas paredes das células do córtex adjacente à câmara larval (figura 4B). Flavonóides foram detectados no córtex da galha (figura 4E), sendo observada reação positiva menos intensa no tecido nutritivo (figura 4F). Derivados fenólicos foram detectados no córtex (figura 5E e 5F) e na epiderme da galha. No tecido nutritivo a reação para esses compostos foi menos intensa.

Não foi detectada presença de amido nos tecidos galígenos.

Aos derivados fenólicos e flavonoídicos, são comumente atribuídas funções de proteção contra herbivoria (Mani, 1964; Abrahamson *et al.*, 1991). A presença desses compostos, contudo, não impede a instalação do sistema galhador-planta em *C. brasiliense*. De acordo com Leite *et al.* (2006), os indutores de galhas nesta espécie são observados principalmente na face adaxial das folhas, o que sugere que a indução da galha ocorre neste sítio, mesmo sendo este o local onde os derivados fenólicos parecem estar mais concentrados. Esse fato pode ser explicado se a oviposição ocorrer em folhas jovens, sendo este um sítio sabidamente adequado para formação de galhas (Yukawa, 2000), e se a concentração dessas substâncias for menor nos estádios iniciais do desenvolvimento das folhas. Segundo Yukawa (2000), a sincronia entre a fenologia da planta hospedeira e o ciclo de vida de insetos herbívoros tem significativa importância, especialmente para insetos de hábito galhador. Entretanto, parâmetros ontogenéticos não foram avaliados no presente estudo.

Outro fator relevante à instalação do herbívoro galhador é a baixa lignificação das folhas sadias de *C. brasiliense*, uma vez que foram detectadas ligninas apenas nas células do xilema e naquelas adjacentes a este tecido.

A formação das galhas parece não alterar a produção de metabólitos em *C. brasiliense*, contudo, percebe-se sua localização em tecidos diversos daqueles da folha sadia e porção sadia de folhas galhadas. A presença de ligninas no tecido cortical que circunda a câmara larval é uma potencialidade da planta hospedeira não expressa nos tecidos do sistema fundamental em folhas sadias e porção sadia de folhas galhadas e agora induzida na galha, caracterizando uma neoformação. A lignificação de células parenquimáticas em decorrência da formação de galhas foi observada em diversos sistemas galhador-planta hospedeira (Raman, 1991; Kraus *et al.*, 1994, 1996, 2002; Drummond, 2005). A neoformação de esclereídes contribui grandemente para o valor adaptativo das galhas em termos de proteção contra os inimigos naturais (Stone & Schönrogge, 2003). Em termos de fisiologia da planta hospedeira, a lignificação envolvida na diferenciação de esclereídes é um processo de morte celular programada, que pode estar diretamente relacionada à concentração de H₂O₂. Tal suposição encontra respaldo nos experimentos realizados por Potikha *et al.* (1999) com fibras de algodão, nos quais a morte celular seria decorrente de níveis elevados de H₂O₂ que resultam no acúmulo de reações destrutivas para diversos componentes vitais tais como membranas, proteínas e ácidos nucleicos.

O acúmulo de substâncias fenólicas, comum em galhas (Mani, 1964; Fernandes & Martins, 1985), pode representar uma defesa contra inimigos naturais do galhador, quando presentes nos tecidos mais periféricos da galha (Mani, 1964) como ocorre em *C. brasiliense*. Ao mesmo tempo, a ausência ou teor reduzido desses compostos no sítio de alimentação das larvas pode favorecer o estabelecimento das mesmas.

A ausência de lipídios e amido nos tecidos nutritivos das galhas de *C. brasiliense* as diferencia do padrão proposto para galhas de Hymenoptera (Bronner, 1992). A detecção de açúcares redutores no tecido nutritivo destas galhas as aproxima das galhas de cecidomiídeos, as quais acumulam carboidratos. Este acúmulo diferencial de reservas entre galhas de

Hymenoptera e de Diptera é resultado do metabolismo glicídico dos Diptera (Bronner, 1992). Contudo, o uso de técnicas histoquímicas para detecção de açúcares permitiu a identificação de um tipo de reserva não descrito anteriormente para galhas de Hymenoptera.

Além do acúmulo de reservas em virtude do estresse alimentar causado pelos galhadores, há nos vegetais, a produção de derivados fenólicos sob diferentes condições de estresse. No caso das galhas, os insetos são beneficiados pela proteção indireta contra seus inimigos naturais conferida por esses compostos (Isaias, 1998). Uma vez que a concentração de fenólicos na galha de *C. brasiliense* parece diminuir centripetamente, essa estrutura pode representar um ambiente ideal para desenvolvimento do galhador, já que permite sua nutrição ao mesmo tempo em que o protege de seus inimigos naturais. Segundo Abrahamson *et al.* (2003), a química das plantas hospedeiras é crucial para a escolha do local de oviposição, performance da larva e formação de raças de hospedeiros. Embora tradicionalmente relacionados ao fator defesa, os fenólicos podem ser usados pelos organismos invasores como indicadores de susceptibilidade, uma vez que são capazes de afetar a expressão gênica e alterar a atividade hormonal da planta (Hartley, 1999).

REFERÊNCIAS

- ABRAHAMSON W.G.; HUNTER, M.D.; MELIKA, G.; PRICE, P.W. Cynipid gall-wasp communities correlate with oak chemistry. *Journal of Chemical Ecology*. v. 29, p. 209-223. 2003.
- ABRAHAMSON, W.G.; McCREA, K.D.; WHITWELL, A.J.; VERNIERI, L.A. The role of phenolics in goldenrod ball gall resistance and formation. *Biochemical Systematics and Ecology*. v. 19, n. 8, p. 615-622. 1991.
- ANDRADE, G.I.; SILVA, I.M.; FERNANDES, G.W.; SCATENA, V.L. Aspectos biológicos das galhas de *Tomoplagia rudolphi* (Diptera: Tephritidae) em *Vernonia polyanthes* (Asteraceae). *Revista Brasileira de Biologia*. v. 55, p. 819-829. 1995.
- ARAÚJO, M.C.P. *Aspectos ecológicos e evolutivos da interação entre animais e plantas*. In: *Interações Ecológicas e Biodiversidade*. Araújo, M.C.P., Coelho, G.C. & Medeiros, S.I. (eds.). Ed. UNIJUÍ, Ijuí. 1997.
- BAGGATO, G.; SHORTHOUSE, J.D. Mineral concentration within cells of galls induced by *Hemadas nubilipennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) on lowbush blueberry: evidence from cryoanalytical scanning electron microscopy. *Canadian Journal of Botany*. v. 72, p. 1387-1390. 1994.
- BARBOSA, M.L.L.; ACIOLI, A.N.S.; OLIVEIRA, A.N.; SILVA, N.M. CANTO, S.L.O. Ocorrência de *Tuthillia cognata* Hodkinson, Brown & Burckhardt, 1986 (Hemiptera: Homoptera, Psyllidae) em plantios experimentais de camu-camu *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh em Manaus (Amazonas, Brasil). *Acta Amazônica*. v. 34, n. 1, p. 115-119. 2004.
- BOTTON, M.; RINGENBERG, R.; ZANARDI, O.Z. Controle químico da forma galícola da filoxera *Daktulosphaira vitifoliae* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Phylloxeridae) na cultura da videira. *Ciência Rural*. v. 34, n. 5, p. 1327-1331. 2004.
- BRONNER, R. The role of nutritive cells in the nutrition of cynipids and cecidomyiids. In: *Biology of insect induced galls* (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 118-140.
- BRUNDETT, M.C.; KENDRICK, B.; PETERSON, C.A. Efficient lipid staining in plant material with Sudan Red 7B or Fluoral Yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotechnic & Histochemistry*. v. 66, p. 111-116. 1991.

- CULLING, C.F.A. Modern microscopy: elementary theory and practice. Butterworth and Co., London, 1974.
- DORCHIN, N.; CRAMER, M.D.; HOFFMANN, J.H. Photosynthesis and sink activity of wasp-induced galls in *Acacia pycnantha*. (Author abstract). Ecology. v. 87, n. 7, p. 1781(11). 2006.
- DREGER-JAUFFRET, F.; SHORTHOUSE, J.D. Diversity of gall-inducing insects and their galls. In: Biology of insect induced galls (Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O., eds.). Oxford University, Oxford, 1992. p. 8-33.
- DRUMMOND, M.M. Galhas entomógenas em *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinoideae): estrutura anatômica, histoquímica e sazonalidade. 94f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.
- FERNANDES, G.W.; MARTINS, R.P. Tumores de plantas: as galhas. Ciência Hoje. v. 19, p. 58-62. 1985.
- FERNANDES, G.W.; PRICE, P.W. Comparisons of tropical and temperate galling species richness: the roles of environmental harshness and plant nutrient status. In: PRICE, P.W.; LEWINSON, T.M.; FERNANDES, G.W.; BENSON, W.W. Plant animal interactions : evolutionary ecology in tropical and temperate regions. WILEY & SONS, New York. 639p. 1991.
- FERREIRA, K.M.; OLIVA, M.A.; HERNANDEZ-TERRONES, M.G. Caracterização histoquímica da folha de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). In: Congresso Nacional de Botânica, 56., 2005, Curitiba. Resumos do 56º Congresso Nacional de Botânica. Curitiba: UFPR, 2005.
- FEUCHT, W.; SCHMID, P.P.S.; CHRIST, E. Distribution of flavonols in meristematic tissues of *Prunus avium* shoots. Journal of Plant Physiology. v. 125, p. 1-8. 1986.
- GONÇALVES, S.J.M.R.; ISAIAS, R.M.S.; VALE, F.H.A.; FERNANDES, G.W. Sexual dimorphism of *Pseudotectococcus rollinae* Hodgson & Gonçalves 2004 (Hemiptera Coccoidea Eriococcidae) influences gall morphology on *Rollinia laurifolia* Schltdl. (Annonaceae). Tropical Zoology, v. 18, p. 161-169. 2005.
- GONÇALVES-ALVIM, S.J.; FARIA, M.L.; FERNANDES, G.W. Relationships between four neotropical species of galling insects and shoot vigor. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil. v. 28, n. 1, p. 147-155. 1999.
- HARBORNE, J.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry. v. 55, p. 481-504. 2000.
- HARTLEY, S.E. Are galls large rhizobia? Oikos. v.84(2), p. 333-342. 1999.

- HARTLEY, S.E. The chemical composition of plant galls: are levels of nutrients and secondary compounds controlled by the gall-former? *Oecologia*. v.113, p. 492-501. 1998.
- ISAIAS, R.M.S. Galhas entomógenas em *Machaerium* (Leguminosae-Papilionoidae): anatomia e histoquímica. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo. 1998.
- JENSEN, W.A. Botanical histochemistry: principles and practice. San Francisco: W. H. Freeman, 1962. 408p.
- JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc, 1940. 523p.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M.; VENTURELLI, M. Anatomy and ontogenesis of hymenopteran leaf galls of *Struthanthus vulgaris* Mart. (Loranthaceae). *Revista Brasileira de Botânica*. v. 25, n.4, p.449-458. 2002.
- KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica: EDUR, 1997. 198p.
- KRAUS, J.E.; SOLÓRZANO FILHO, J.A.; ARDUIN, M.; ISAIAS, R.M.S. Respostas morfogênicas de plantas brasileiras a insetos galhadores. *In*: Fortunato, R.; Bacigalupo, N. PROCEEDINGS OF THE VI CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BOTÂNICA. Mar del Plata, Argentina, 2-8 October, 1994.
- KRAUS, J.E.; SUGIURA, H.C.; CUTRUPI, S. Morfologia e ontogenia em galhas entomógenas de *Guarea macrophylla* subsp. *tuberculata* (Meliaceae). *Fitopatologia Brasileira*. v. 21. n. 3. p. 349-356. 1996.
- KRAUS, J.E.; TANOUE, M. Morpho-ontogenetic aspects of entomogenous galls in roots of *Cattleya guttata* (Orchidaceae). *Lindleyana*. v. 14. n. 4. p. 204-213. 1999.
- KRAUSE, G.H. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum*. v. 74, p.313-349. 1988.
- LARSON, K. C. The impact of two gall-forming arthropods on the photosynthetic rates of their hosts. *Oecologia*. v. 115, p. 161-166. 1998.
- LARSON, K.C.; WHITHAM, T.G. Manipulation of food resources by a gall-forming aphid: the physiology of sink-source interactions. *Oecologia*. v. 88, p. 15-21. 1991.
- LEITE, G.L.D.; VELOSO, R.V.S.; REDOAN, A.C.; LOPES, P.S.N.; MACHADO, M.M.L. Artrópodes (Arthropoda) associados a mudas de pequiheiro *Caryocar brasiliense* Cambess. (Caryocaraceae). *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, v. 73, n. 3, p. 365-370. 2006.

- LICHTENTHALER, H.; WELLBURN, A. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*. v. 11, n. 5, p. 591-592. 1983.
- MANI, M.S. Ecology of plant galls. The Hague: Dr. Junk Publishers, 1964. 434p.
- MARQUES, M.C.S. Estudo fitoquímico dos extratos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). Lavras: UFLA, 2001. 91p. (Dissertação de Mestrado em Agroquímica/Agrobioquímica).
- MOORE, A.E.P.; ASHFORD, A.E.; PETERSON, R.L. Reserve substances in *Paxillus involutus* sclerotia. Determination by histochemistry and X-ray microanalysis. *Protoplasma*. v. 163, p. 67-81. 1991.
- MOTTA, L.B.; KRAUS, J.E.; SALATINO, A.; SALATINO, M.L.F. Distribution of metabolites in galled and non-galled foliar tissues of *Tibouchina pulchra*. *Biochemical Systematics and Ecology*. v. 33, p. 971-981. 2005.
- NÜRNBERGER, T.; SCHEEL, D. Signal transmission in the plant immune response. *Trends in Plant Science*. v. 6, n. 8, p. 372-379. 2001.
- OLIVEIRA, P.S. The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). *Functional Ecology*. v. 11, p. 323-330. 1997.
- OLIVEIRA, P.S.; FREITAS, A.V.L. Ant-plant-herbivore interactions in the neotropical cerrado savanna. *Naturwissenschaften*. v. 91, p. 557-570. 2004.
- POTIKHA, T. S., COLLINS, C. C., JOHNSON, D. I., DELMER, D. P. & LEVINE, A. The involvement of hydrogen peroxide in the differentiation of secondary walls in cotton fibers. *Plant Physiology*. V. 119, p. 849-858. 1999.
- PRICE, P.W. The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos* v. 62, p. 244-252. 1991.
- PRICE, P.W.; FERNANDES, G.W.; WARING, G.L. Adaptive nature of insect galls. *Environmental Entomology*. v. 16, p. 15-24. 1987.
- RAMAN, A. Cecidogenesis of leaf galls on *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) induced by *Trioza jambolanae* Crawford (Homoptera: Psylloidea). *Journal of Natural History*. v. 25, p. 653-663. 1991.
- SASS, J.E. Botanical microtechnique. 2nd ed. Ames: Iowa State College Press., 1951. 391p.
- SILVA, I.M.; ANDRADE, G.I.; FERNANDES, G.W.; LEMOS FILHO, J.P. Parasitic relationships between a gall-forming insects *Tomoplagia rudolphi* (Diptera: Tephritidae) and its host plant (*Vernonia polyanthes*, Asteracea). *Annals of Botany*. v. 78, p. 45-48. 1996.

- SOARES, G.L.G.; ISAIAS, R.M.S.; GONÇALVES, S.J.M.R.; CHRISTIANO, J.C.S. Alterações químicas induzidas por coccídeos galhadores (Coccoidea, Brachyscelidae) em folhas de *Rollinia laurifolia* Schdtl. (Annonaceae). *Revista Brasileira de Zoociências*. v. 2, n.1, p. 103-116. 2000.
- SOAVE, R.D.F.; SILVA, O.A. Aspectos fenológicos e variação dos conteúdos das clorofilas *a* e *b* em *Caryocar brasiliense* Camb. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*. v. 36, n. 1, p. 57-69. 1993.
- STONE, G.N.; SCHÖNROGGE, K. The adaptative significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology and Evolution*. v. 18, n. 10, p. 512-522. 2003.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.
- TAKAHASHI, F.S.C. Teores de pigmentos relacionados ao ambiente foliar e ao estresse oxidativo no sistema Eriococcidae – *Rollinia laurifolia*. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.
- THIELE, A.; KRAUSE, G.H.; WINTER, K. *In situ* study of photoinhibition of photosynthesis and xanthophyll cycle activity in plants growing in natural gaps of the tropical forest. *Australian Journal of Plant Physiology*. v. 25, p. 189-195. 1998.
- VRCIBRADIC, D.; ROCHA, C.F.D.; MONTEIRO, R.F. Patterns in gall-forming in *Ossaea confertiflora* (Melastomataceae) by *Lopesia brasiliensis* (Diptera: Cecidomyiidae) in na área on Atlantic Rainforest in Southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Biologia*. v. 60, n. 1, p.159-166. 2000.
- WHITHAM, T. G. The theory of habitat selection: examined and extended using *Pemphigus* aphids. *American Naturalist*. v. 115, p. 449-466. 1980.
- YANG, C.M.; YANG, M.M.; HSU, J.M.; JANE, W.N. Herbivorous insect causes deficiency of pigment-protein complexes in an oval-pointed cecidomyiid gall of *Machilus thunbergii* leaf. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. v. 44, p. 314-321. 2003.
- YUKAWA, J. Synchronization of galls with host plant phenology. *Population Ecology*. v. 42, n. 2, p. 105-113. 2000.

Tabela 1. Valores médios para as variáveis clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais, xantofilas+carotenóides (mg.g⁻¹), relação clorofila *a*/clorofila *b*, e relação clorofilas/carotenóides em folha sadia (FS), porção sadia de folha galhada (PSFG) e galha (G) de *Caryocar brasiliense*.

Tratamento	Variáveis					
	Clorofila <i>a</i> *	Clorofila <i>b</i> *	Clorofilas totais**	Xantofilas + Carotenóides**	Clorofila <i>a/b</i> *	Clorofilas/Carotenóides**
FS	858,13a	250,85a	1108,98a	209,10a	3,49a	5,58a
PSFG	802,01a	250,35a	1052,38a	207,21a	3,32a	5,26a
G	226,38b	104,83b	331,21b	78,77b	2,38b	4,21b

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente entre si, pelo teste Tukey.

* e ** - significativo, respectivamente, a 1 e 5% de probabilidade.

Tabela 2. Valores médios para as variáveis clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais, xantofilas+carotenóides (mg.g⁻¹), relação clorofila *a*/clorofila *b*, e relação clorofilas/carotenóides em folhas sadias de *Caryocar brasiliense* em quatro períodos de coleta.

Período de coleta	Clorofila <i>a</i> *	Clorofila <i>b</i> *	Clorofilas totais**	Xantofilas + Carotenóides**	Clorofila <i>a/b</i> *	Clorofilas/Carotenóides**
Março/05	947,09a	284,46a	1231,55a	180,88a	3,39a	7,33a
Junho/05	751,79a	243,21a	995,00a	199,07a	3,13a	5,07b
Setembro/05	761,96a	212,18a	974,14a	227,80a	3,61a	4,28b
Dezembro/05	971,67a	263,54a	1235,21a	228,63a	3,73a	5,64b

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente entre si, pelo teste Tukey.

* e ** - significativo, respectivamente, a 1 e 5% de probabilidade.

Tabela 3. Valores médios para as variáveis clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais, xantofilas+carotenóides (mg.g⁻¹), relação clorofila *a*/clorofila *b*, e relação clorofilas/carotenóides em porção sadia de folhas galhadas de *Caryocar brasiliense* em quatro períodos de coleta.

Período de coleta	Clorofila <i>a</i> *	Clorofila <i>b</i> *	Clorofilas totais**	Xantofilas + Carotenóides**	Clorofila <i>a/b</i> *	Clorofilas/Carotenóides**
Março/05	830,55a	284,46a	1103,71a	212,27a	3,08a	5,22a
Junho/05	741,06a	243,21a	990,19a	204,44a	3,08a	4,87a
Setembro/05	755,76a	212,18a	974,38a	191,11a	3,46a	5,50a
Dezembro/05	880,77a	263,54a	1141,24a	221,01a	3,65a	5,43a

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente entre si, pelo teste Tukey.

* e ** - significativo, respectivamente, a 1 e 5% de probabilidade.

Tabela 4. Valores médios para as variáveis clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais, xantofilas+carotenóides (mg.g⁻¹), relação clorofila *a*/clorofila *b*, e relação clorofilas/carotenóides na galha de *Caryocar brasiliense* em quatro períodos de coleta.

Período de coleta	Clorofila <i>a</i> *	Clorofila <i>b</i> *	Clorofilas totais**	Xantofilas + Carotenóides**	Clorofila <i>a/b</i> *	Clorofilas/Carotenóides**
Março/05	99,76b	40,20b	139,96b	42,68b	2,46ab	3,47a
Junho/05	246,26a	167,42a	413,68a	99,20a	1,85b	4,05a
Setembro/05	325,31a	114,01ab	439,31a	99,90a	2,79a	4,72a
Dezembro/05	234,18ab	97,69ab	331,87ab	73,30ab	2,41ab	4,58a

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente entre si, pelo teste Tukey.

* e ** - significativo, respectivamente, a 1 e 5% de probabilidade.

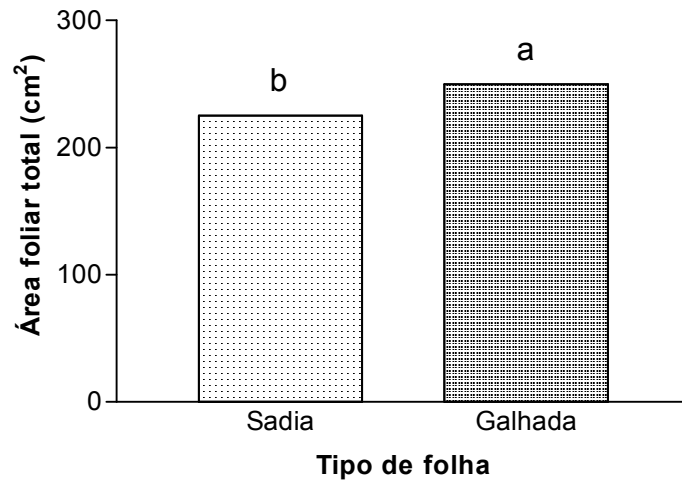


Figura 1. Impacto da indução de galhas na área foliar de *Caryocar brasiliense*.

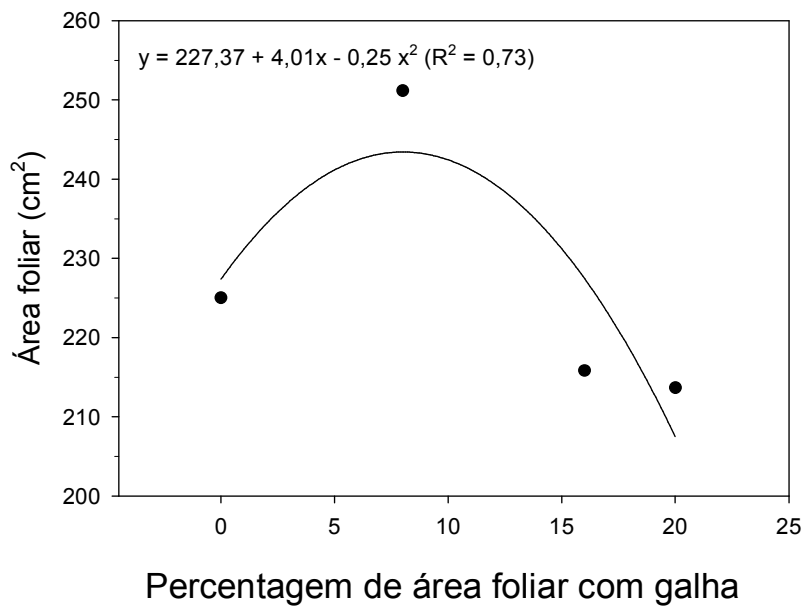


Figura 2. Efeito de diferentes níveis de cobertura foliar com galhas na área foliar total de *Caryocar brasiliense*.

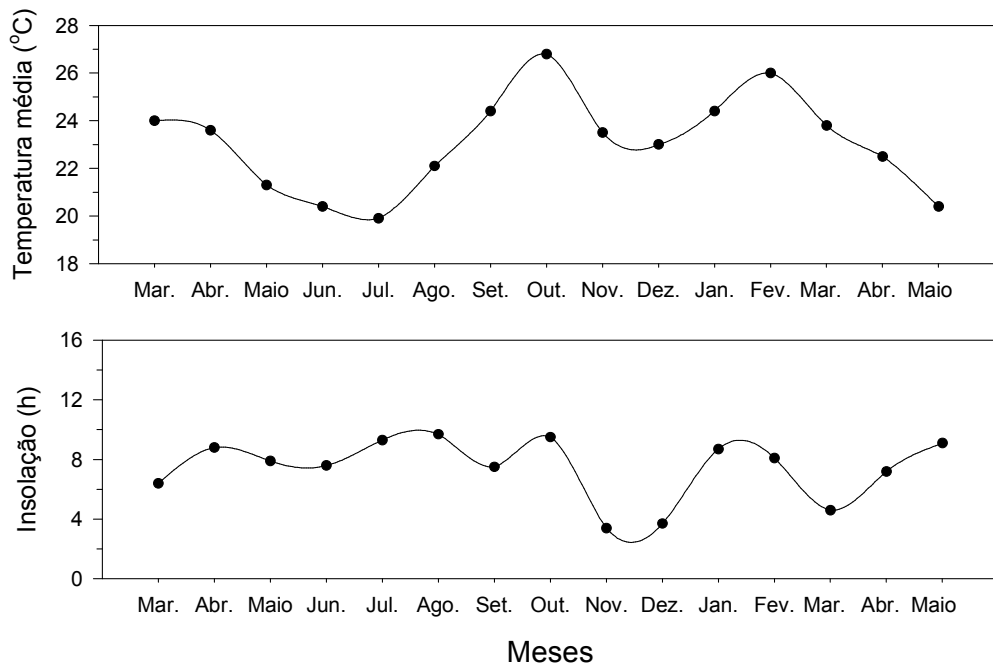


Figura 3. Temperatura (°C) e insolação (h) durante o período experimental.

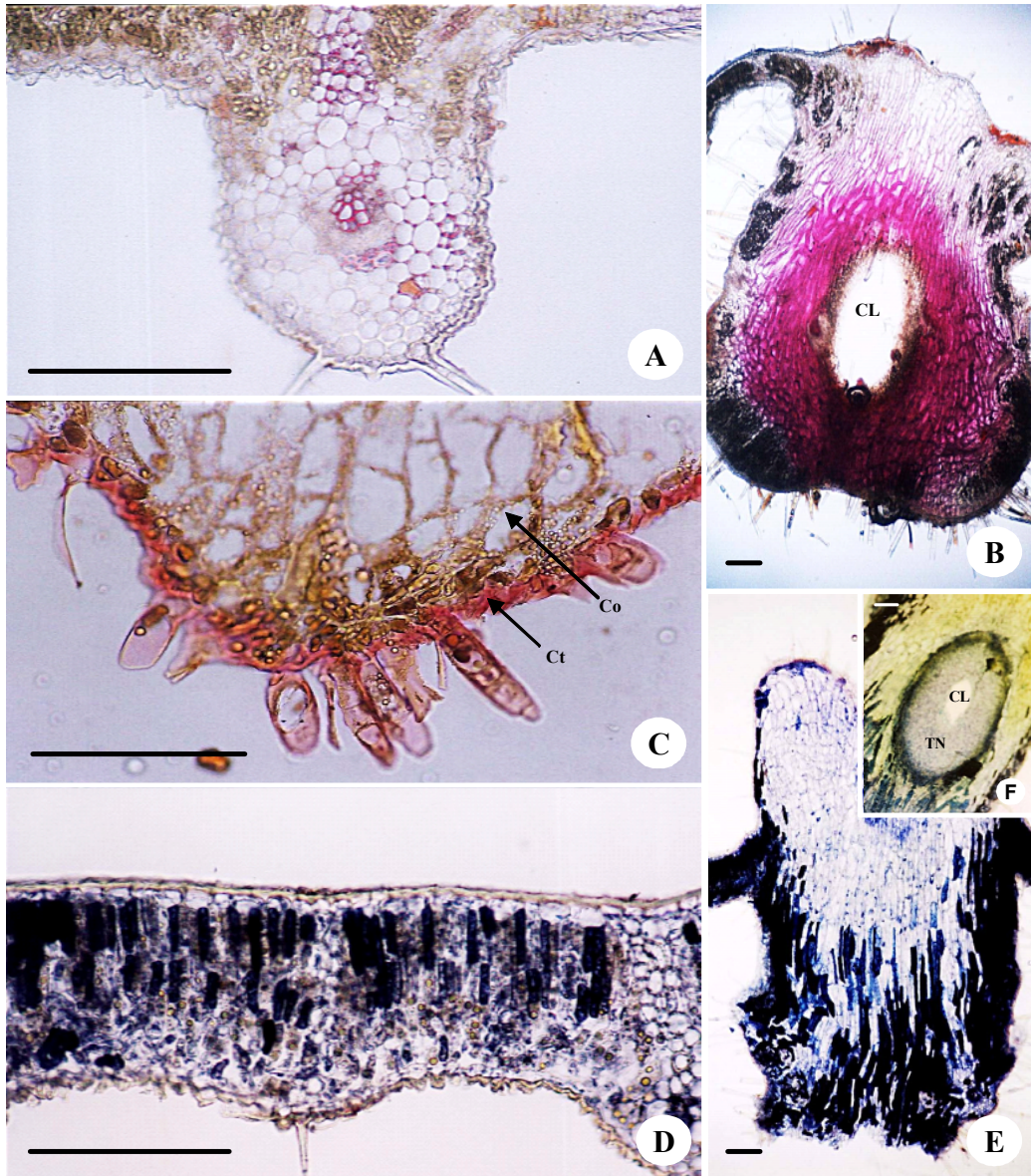


Figura 4 – Histoquímica de *Caryocar brasiliense* Camb. **A e D)** Foliolo sadio. **B, C, E e F)** Galha. **A)** Reação positiva para lignina nos feixes vasculares e extensão de bainha em nervura de segunda ordem. **B)** Lignina em células do córtex da galha, circundando a câmara larval. **C)** Lipídios detectados na cutícula da galha. **D)** Reação positiva para flavonóides no parênquima clorofiliano, concentrados especialmente no parênquima paliádico. **E)** Flavonóides detectados no córtex da galha. **F)** Reação para flavonóides menos intensa no tecido nutritivo da galha. CL = câmara larval; Co = córtex; Ct = cutícula; TN = tecido nutritivo. [Barras = 100 μ m].

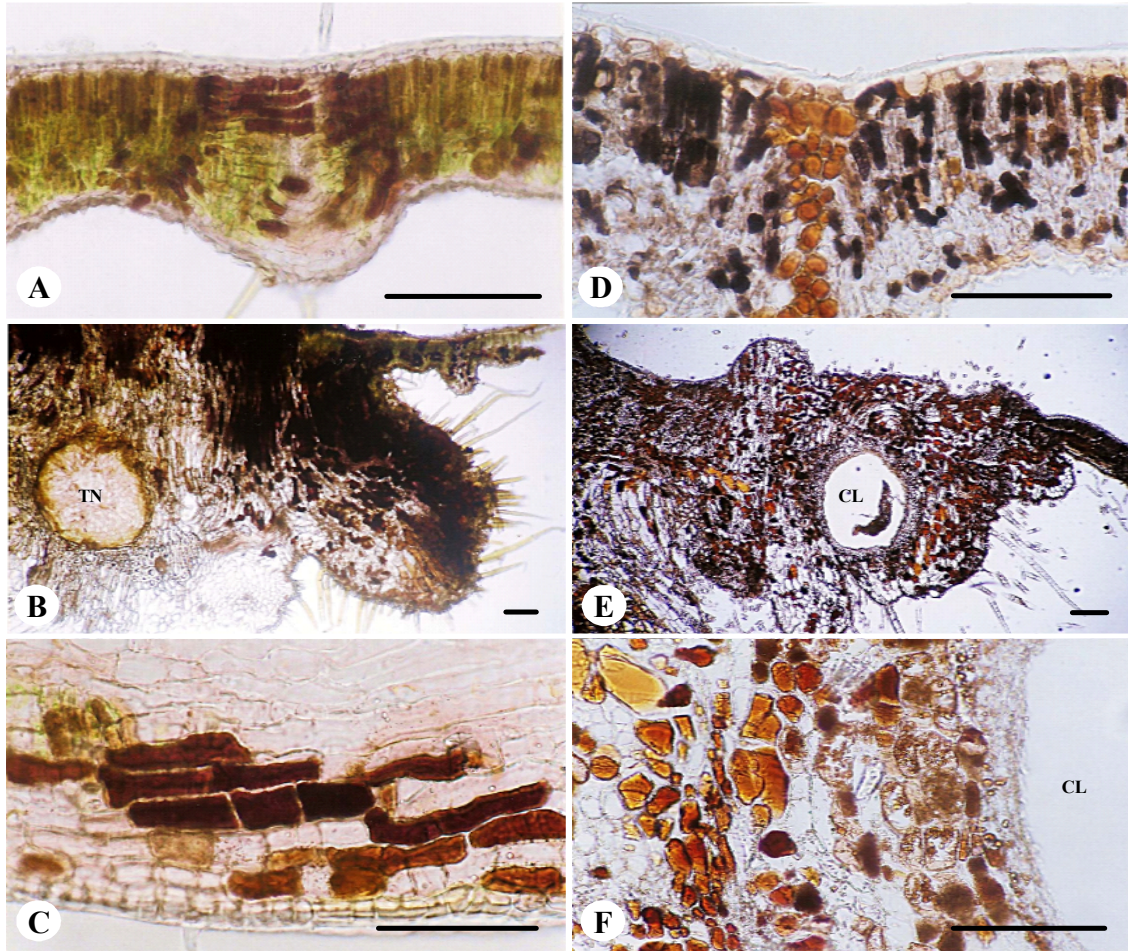


Figura 5 – Histoquímica de *Caryocar brasiliense* Camb. **A e D)** Foliolo sadio. **B, C, E e F)** Galha. **A)** Açúcares redutores evidenciados no mesófilo e feixes vasculares. **B)** Açúcares redutores no córtex da galha, notar ausência de açúcares no tecido nutritivo. **C)** Detalhe de células do córtex da galha, próximas à epiderme, contendo açúcares redutores. **D)** Derivados fenólicos presentes no córtex da nervura de segunda ordem e no sistema fundamental, principalmente no tecido paliádico. **E)** Derivados fenólicos distribuídos pelo córtex da galha. **F)** Detalhe do córtex da galha, com conteúdo fenólico. CL = câmara larval; TN = tecido nutritivo. [Barras = 100 μ m em A, B, E e F; 50 μ m em C e D].

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Caryocar brasiliense é uma espécie de grande valor econômico no norte do estado de Minas Gerais, apresentando ainda forte potencial ecológico devido a sua associação com herbívoros galhadores.

As galhas são consideradas excelentes objetos de estudos interdisciplinares, constituindo modelos vivos para elaboração de hipóteses adaptativas tanto do ponto de vista do organismo hospedeiro, a planta, quanto do ponto de vista do parasita, no caso estudado, um inseto.

O estudo do sistema *C. brasiliense-Eurytoma* sp. permitiu verificar características da planta hospedeira, comumente tidas como anti-herbivóricas, que não impediram a indução das galhas, além de alterações anatômicas e químicas do órgão hospedeiro relacionadas ao valor adaptativo tanto para o microambiente nutricional quanto protetor do indutor.

As características morfológicas da galha estudada são em grande parte similares àquelas de outras galhas de Hymenoptera, contudo a armazenagem de açúcares redutores foi detectada pela primeira vez para galhas neotropicais induzidas por este grupo de insetos.

A formação de galhas em *C. brasiliense* não gera impactos relevantes sobre o desenvolvimento e produção das plantas afetadas, premissa esta que poderá ser confirmada por futuras análises de parâmetros fisiológicos.

Por fim, uma vez que o gênero *Eurytoma* apresenta muitos representantes parasitóides, pode-se inferir que este sistema tenha passado por uma interação tri-trófica, *C. brasiliense* – Cecidomyiidae – *Eurytoma* sp., tendo este último ocupada a posição de parasitóide e passado a ocupar posteriormente o nível de galhador no sistema.

A elucidação das questões aqui abertas requererá estudos ontogenéticos da galha e o levantamento da guilda associada ao sistema.