

Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Ciências Biológicas  
Departamento de Botânica  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal

Lívia Maria de Lima Santos

Alocação de recurso entre nutrição e defesa em galhas foliares de  
espécies da família Euphorbiaceae

Recife- PE  
2014

Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Ciências Biológicas  
Departamento de Botânica

Alocação de recurso entre nutrição e defesa em galhas foliares de  
espécies da família Euphorbiaceae

Lívia Maria de Lima Santos

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Biologia Vegetal como  
parte dos requisitos para obtenção do título  
de Mestre em Biologia Vegetal, com área de  
concentração em Ecologia.

Recife- PE  
2014

Catálogo na Fonte:  
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Santos, Livia Maria de Lima,

Alocação de recurso entre nutrição e defesa em galhas foliares de espécies da família Euphorbiaceae /  
Livia Maria de Lima Santos. – Recife: O Autor, 2014.

50 f.: il., fig., tab.

Orientadora: Jarcilene Silva Almeida Cortez

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências  
Biológicas. Pós-graduação em Biologia Vegetal, 2014. **Inclui bibliografia e anexos**

1. Euforbiácea 2. Plantas - Nutrição 3. Plantas da Caatinga I. Cortez, Jarcilene Silva  
Almeida (orient.) II. Título.

583.69

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2014-034

LÍVIA MARIA DE LIMA SANTOS

**“ALOCAÇÃO DE RECURSO ENTRE NUTRIÇÃO E DEFESA EM  
GALHAS FOLIARES DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA  
EUPHORBIACEAE”**

APROVADA EM: 18/02/2014

BANCA EXAMINADORA:

---

Profa. Dra. Jarcilene S. Almeida-Cortez (Orientadora) – UFPE

---

Profa. Dra. Emília Pereira de Arruda – UFPE

---

Profa. Dra. Márcia Silva do Nascimento – UFPE

Recife- PE

2014

*À minha avó Gercina in memorium*

*Ofereço*

*A minha mãe Laudicéia e a minha irmã Larissa pelos princípios a mim repassados e os inúmeros momentos de demonstração de amor e companheirismo incondicional.*

**Dedico**

## Agradecimentos

A Deus, pela coragem e vontade a mim concedida.

A minha orientadora, Jarcilene Almeida Cortez pela oportunidade, didática e visão ecológica.

Ao programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal e a CAPES pela concessão da bolsa.

A profa. Márcia do Nascimento pelo apoio incondicional, a profa. Andréa Bandeira pela ajuda na fitoquímica e a profa. Emília Arruda pelo auxílio nos cortes histológicos.

Ao prof. Rómulo Menezes, ao Dr. Dário primo e a todos que compõem o Departamento de Energia Nuclear - UFPE.

A todos que fazem parte do Leaf (Laboratório de Ecologia Aplicada a Fitoquímica) e ao Lipa (Laboratório de interação Inseto-Planta).

Ao projeto INNOVATE pela logística nas coletas e aos donos de fazendas de Itacuruba e Floresta, Pernambuco que permitiram a nossa entrada em suas propriedades para realização dos estudos.

A Maryana Dias, Natália e Déborah pelo ajuda nos cortes e preparação das lâminas.

A Nayga (Barbara Laine) e Nayga estressinho (Fernanda Tavares) pelo companheirismo, ajuda e as risadas garantidas na jornada de laboratório.

Aos meus avos Bernadete de Lima e Lucindo de Lima, pelas palavras de conforto e auxílio.

A minha avó Gercina Leite *in memorium*, por me abrigar no período da faculdade e nunca se esquecer de mim, nem nos momentos de pouca lucidez dos seus últimos dias de vida.

A minha irmã Larissa Mayra de Lima Santos, pelo apoio e carinho nas horas mais difíceis e fáceis também.

Ao Rildo Matias pelo apoio constante.

A minha Mãe Laudicéia Maria de Lima, pelo exemplo de coragem e por confiar em mim mais do que eu mesma.

## RESUMO

Galhas são estruturas originadas por um aumento diferenciado no número e tamanho das células vegetais, em resposta a estímulos produzidos por organismos indutores principalmente insetos, porém, as plantas hospedeiras não são passivas diante da herbivoria, produzindo metabolitos de defesa. Entretanto os recursos do ambiente (nutrição do solo e disponibilidade hídrica) são preponderantes para as respostas dos vegetais a atuação do herbívoro. Este estudo teve como objetivo analisar se há relação entre a ocorrência de galhas e o balanço carbono/nitrogênio no solo e em plantas em ambiente de Caatinga. A fim de atingir este objetivo inicialmente foi realizado um levantamento de espécies de Euphorbiaceae portadoras de galhas foliares ocorrentes em diferentes áreas de Caatinga. Foram coletadas plantas na Fazenda Tamanduá, em Santa Terezinha, PB; Floresta e Itacuruba, PE. A fim de verificar se os solos com diferentes características físico-químicas e disponibilidade hídrica influenciam na relação carbono/nitrogênio das plantas e na produção de defesas vegetais (compostos fenólicos) consequentemente na frequência de galhas foliares; foi selecionada a espécie *C. quercifolius* para análises da quantidade de Nitrogênio, Carbono orgânico total, relação C/N e compostos fenólicos totais das folhas; coletado solos das áreas para as análises físico/químicas e disponibilidade hídrica. Foram encontradas galhas em *Cnidocolus quercifolius*, *Manihot epruinosa* e *Croton blanchetianus*. As galhas observadas foram descritas morfoantomicamente e realizados testes histoquímicos. *C. quercifolius*, *C. blanchetianus* apresentaram galhas globoides e *M. epruinosa* galha cilíndrica, todas apresentaram de um a dois lóculos, com apenas uma larva, induzida por dípteros. Os testes histoquímicos para *C. quercifolius* e *M. epruinosa* apresentaram grãos de amido, lipídios, compostos fenólicos e ausência de alcaloides, *C. blanchetianus* foi positivo apenas para lipídios e compostos fenólicos. De maneira geral, a relação Carbono/Nitrogênio no solo foi alta (10:1) e nas plantas foi abaixo de  $9 \text{ g/kg}^{-1}$ , entretanto as plantas tiveram um incremento na síntese de compostos fenólicos o que coincidiu com a maior frequência de galhas foliares nas áreas amostradas.

Palavras-chave: Herbivoria. Disponibilidade hídrica. Nutrição. Solo - Planta. Euphorbiaceae.

## ABSTRACT

Galls are structures caused by differential increase in the number and size of plant cells in response to stimuli produced by inducing organisms mainly insects, however, the host plants are not passive in the face of herbivory, producing metabolites defense. However, the resources of the environment (soil nutrition and water availability) are crucial to the responses of plants to herbivore performance. This study aimed to examine whether there is a relationship between the occurrence of galls and the carbon/nitrogen balance in soil and plants of Caatinga environment. In order to achieve this goal initially a survey of species of Euphorbiaceae suffering from leaf galls occurring in different areas of Caatinga was performed. Plants were collected at Fazenda anteatore in Santa Therese, PB; Forest and Itacuruba, PE. In order to verify that soils with different physico - chemical characteristics and water availability influence the carbon/nitrogen ratio of the plants and the production of plant defenses (phenolic compounds) consequently the frequency of leaf galls, was selected for the species *C. quercifolius* analyzes the amount of nitrogen, total organic carbon, C/N ratio and total phenolic compounds of leaves; soils collected from areas to the physical/chemical and water availability analysis. Galls were found in *Cnidoscolus quercifolius*, *Manihot epruinosa* and *Croton blanchetianus*. The galls were observed and described morfoantomicamente performed histochemical tests. *C. quercifolius*, *C. blanchetianus* presented globoid galls and *M. epruinosa* cylindrical gall, all had one or two loci, with only one larva induced flies. Histochemical tests for *C. quercifolius* and *M. epruinosa* showed starch grains, lipids, phenolic compounds and absence of alkaloids, *C. blanchetianus* was only positive for lipids and phenolic compounds. Generally, the carbon/nitrogen ratio in the soil was high (10:1) and plants were below  $9 \text{ g/kg}^{-1}$ , however plants had an increase in the synthesis of phenolic compounds which coincided with the highest frequency of leaf galls in the sampled areas.

**Keywords:** Herbivory. Water availability. Nutrition. Soil-Plant. Euphorbiaceae.

## LISTA DE FIGURAS

**ARTIGO 1-** Morphological and histochemical study leaf galls in three species of Euphorbiaceae from Northeast Brazilian Seasonal Tropical Dry Forest

**Figure 1.** External aspect of galls; a) *Cnidoscolus quercifolius*; b) *Croton blanchetianus*; c) *Manihot epruinosa*.....31

**Figure 2.** Anatomy of entire leaves and leaves without galls *Cnidoscolus quercifolius* a) unisseriate epidermis; (b) presence of druse in the epidermis; c) lignification and suberization of tissues gall; d) presence of chambers galls.....32

**Figure 3.** Anatomy of entire leaves and leaves without galls *Croton blanchetianus* a) uniseriate epidermis; b) lignified and suberized cells in gall tissue.....32

**Figure 4.** Anatomy of entire leaves and leaves without galls *Manihot epruinosa* a) unisseriate epidermis and thick cuticle; b) change in the palisade parenchyma in tissue galled.....33

**Figure 5.** Histochemical tests in gall and not gall tissue in *Cnidoscolus quercifolius*; a) presence of starch in the guard cells of stomata in tissues without galls; b) gall tissue with focused on the starch parenchyma median; c) phenolic compounds are in cells along the larval chamber; d) the lipids are in cells along the larval chamber.....33

**Figure 6.** Histochemical tests in gall and not gall tissue in *Croton blanchetianus*; a) absence of alkaloids in tissues without gall; b) absence of phenolic compounds in tissues without gall.....34

**Figure 7.** Histochemical tests in gall and not gall tissue in *Manihot epruinosa*; a) presence of starch in the guard cells of stomata in tissues without galls and parenchyma spongy; b) absence of alkaloids in tissues with gall; c) lipid droplets inside the camera larval; d) absence of starch with gall tissues.....34

**ARTIGO 2-** Há relação entre a ocorrência de galhas e o balanço carbono/nitrogênio em plantas de Caatinga?

**Figura 1.** Localização das áreas de estudo nos municípios de Floresta e Itacuruba, Pernambuco, Brasil.....38

**Figura 2.** Índices pluviométricos mensais, durante o ano de 2013. Os meses em destaque representam o período de coleta de *Cnidoscolus quercifolius* nas áreas de estudo em Floresta e Itacuruba, Pernambuco.....39

**Figura 3.** Relação entre C/N do solo e a relação C/N das folhas de *Cnidoscopus quercifolius* nos tratamentos (A = ausência de rios; T = rios temporários; P = rios permanentes).....51

**Figura 4.** Compostos fenólicos totais e porcentagem de ocorrência de indivíduos de *Cnidoscopus quercifolius* com galhas nos tratamentos (A = ausência de rios; T = rios temporários; P = rios permanentes).....51

## LISTA DE TABELAS

**ARTIGO 1-** Morphological and histochemical study leaf galls in three species of Euphorbiaceae from Northeast Brazilian Seasonal Tropical Dry Forest

**Table 1.**Histochemical evaluation of starch, lipids, alkaloids and phenolic compounds in leaves with galls and leaves without galls.....31

**ARTIGO 2-** Há relação entre a ocorrência de galhas e o balanço carbono/nitrogênio em plantas de Caatinga?

**Tabela 1.** Determinação das características físicas do solo nas áreas de coleta nos diferentes tratamentos (A = ausência de rios; T = rios temporários; P = rios permanentes).....49

**Tabela 2.** Determinação das características químicas do solo das áreas de coleta nos diferentes tratamentos (A = ausência de rios; T = rios temporários; P = rios permanentes).....49

**Tabela 3.** Concentração de Nitrogênio total, Carbono orgânico total, Relação C/N e Compostos fenólicos totais em *folhas Cnidosculos quercifolius* nos tratamentos (A = ausência de rios; T = rios temporários; P = rios permanentes).....50

**Tabela 4.** Porcentagem de ocorrência de galhas em indivíduos de *Cnidosculos quercifolius* nos tratamentos (A = ausência de rios; T = rios temporários; P = rios permanentes).....50

## SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Aspectos morfológicos e histoquímicos das galhas.....	15
2.2 Compostos fenólicos totais e a ocorrência de galhas.....	16
2.3 Hipótese do balanço C/N e a produção de compostos de defesa das plantas.....	17
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
4 ARTIGOS A SEREM SUBMETIDOS PARA PUBLICAÇÃO.....	21
4.1 ARTIGO 1 - Morphological and histochemical study leaf galls in three species of Euphorbiaceae from Northeast Brazilian Seasonal Tropical Dry Forest (Submetido e aceito na revista Plant Protecion Quartely).....	22
Abtract.....	22
1.Introduction.....	23
2. Methodology.....	24
2.1Plant material collection.....	24
2.2 Galls morphology and anatomical analysis.....	24
2.3Histochemistry.....	24
3.Results.....	24
3.1 External morphology of galls.....	24
3.2 Anatomy of entire leaves and leaves with galls.....	25
3.3 Histochemical analyses.....	26
4.Discussion.....	26
5.Acknowledgments.....	27
6. Bibliography.....	27
4.2 ARTIGO 2 - Há relação entre a ocorrência de galhas e o balanço carbono/nitrogênio em plantas de Caatinga? (Artigo a ser submetido na revista Journal of Plant Nutrition).....	35
Resumo.....	36

1.Introdução.....	37
2.Material e métodos .....	38
2.1 Área de estudo .....	38
2.2 Delimitação experimental, coleta e preparação das amostras .....	39
2.3 Compostos fenólicos totais.....	40
2.4 Determinação de nitrogênio total em vegetal e solo.....	40
2.5 Determinação de carbono orgânico total em vegetal e solo .....	40
2.6 Análise estatística .....	41
3.Resultados e discussão .....	41
4. Agradecimentos.....	44
5. Referências bibliográficas .....	44

## 1. APRESENTAÇÃO

A herbivoria é uma interação ecológica de forte pressão evolutiva entre o herbívoro e sua planta alvo. Dentre as diversas formas de herbivoria estão os insetos indutores de galhas, que formam uma estrutura de proteção e alimentação a partir da multiplicação dos tecidos herbivorados. A morfologia da galha é o fenótipo estendido do indutor que determina a localização, a forma e a constituição química do tecido nutritivo da galha (Isaias *et al.*, 2013).

Entretanto a utilização da planta como alimento pelo inseto indutor está baseada no conteúdo nutricional (aminoácidos essenciais, nitrogênio ou água) (White, 1984) e na composição química, que pode limitar o uso da planta pelo herbívoro.

Os compostos fenólicos são os metabolitos secundários mais estudados na interação entre os insetos indutores de galha e a planta hospedeira (Soares *et al.*, 2000). O aumento na produção de fenólicos pode proteger as larvas dos insetos indutores de ataque de parasitoides e de predadores, bem como diminuir a competição com outros insetos não adaptados ao ambiente químico dos tecidos vegetais (Janzen, 1977; Cornell, 1983). Todavia, alguns autores como Nyman e Julkunen-Tiitto (2000) relataram a redução e até ausência do efeito das galhas sobre a produção de compostos fenólicos.

Segundo a hipótese do balanço C/N de Brianty *et al.* (1983), a síntese dos metabolitos de defesa e nutricionais da planta refletem as condições e recursos do meio, como a disponibilidade de água e nutrientes do solo, esses fatores já foram relacionados quanto a determinação da ocorrência e distribuição da herbivoria. Todavia, a maior parte dos estudos que abordam tais parâmetros se concentra em florestas tropicais úmidas e em florestas temperadas (Coley e Barone, 1996), em se tratando de floresta tropical seca ainda pouco se conhece como o fenômeno se comporta (Silva *et al.*, 2009). Neste contexto, o presente estudo busca investigar o balanço C/N no solo e nas plantas, e como ocorre à alocação de recursos entre a nutrição e a defesa em folhas de espécies da família Euphorbiaceae sob pressão de herbivoria de insetos indutores de galhas, em Floresta Topical Seca - Caatinga.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2. 1. Morfologia e histoquímica de galhas

Galhas são estruturas desenvolvidas no tecido vegetal mediante ataque de diversos agentes indutores como vírus, bactérias, fungos, nematoides, ácaros, e principalmente insetos (Mani, 1964). Os insetos indutores podem pertencer a várias ordens como os coleópteros, tisanópteros, hemípteros, homópteros, himenópteros, dípteros e lepidópteros. Porém, os dípteros da família Cecidomyiidae (Maia e Fernandes, 2004) correspondem, em média, a 64% das espécies de insetos indutores de galhas no mundo (Espírito-Santo e Fernandes, 2007).

A morfologia da galha é um espelho da filogenia dos indutores, sendo considerado um fenótipo estendido do indutor (Dawkins, 1982). É estimado que 13000 espécies de insetos fossem capazes de induzir galhas (Stone e Schrönrogge, 2000), sendo cada morfotipo de galha típico da espécie que o induziu (Cuevas - Reyes *et al.*, 2007). Entretanto, uma planta pode responder a vários estímulos de insetos galhadores diferentes são as chamadas multi-hospedeiras.

As galhas estão presentes em quase todos os grupos de plantas, sendo as angiospermas dominantes, o processo de indução pode ser em órgãos reprodutivos e vegetativos, principalmente folhas (Mani, 1964).

No processo de formação da galha a fêmea do inseto insere seus ovos dentro de um tecido meristemático e maduros (Moura *et al.*, 2008), após a eclosão dos ovos as larvas manipulam geneticamente e quimicamente o tecido vegetal a sua volta, dando início ao processo de formação da galha (Hartley, 1999). As principais alterações observadas nos tecidos das folhas acometidas por galhas são na epiderme, cujas células se tornam significativamente mais altas quando comparadas a folhas saudáveis e onde ocorre um aumento nas divisões anticlinais e ainda esparsas divisões no sentido periclinal (Moura *et al.*, 2008).

Na fase de desenvolvimento e crescimento das galhas é observado hiperplasia e hipertrofia do mesofilo e da epiderme levando à formação da câmara ninfal, indicando aumento no aporte de nutrientes (Larson, 1998).

A formação da estrutura galhígena implica na formação de um gradiente citológico e fisiológico (Oliveira e Isaias, 2010). Em galhas induzidas por cecidomídeos, por exemplo, ocorre a formação de um tecido nutritivo reflexo do novo “órgão” formado. É relatado que os sugadores também induzem a formação de um

tecido nutritivo pouco diferenciado, mas com função definida, em torno da câmara larval. Por conseguinte, análises citológicas e histoquímicas de galhas podem se configurar como uma excelente ferramenta para a compreensão das relações entre o hábito alimentar do galhador e a forma final da galha.

Em geral, o tecido nutritivo de galhas apresenta abundância de citoplasma, provocado pelo aumento de organelas citoplasmáticas, com elevada atividade enzimática, acúmulo de material genético e açúcares em geral (Bronner, 1992), principalmente de amido nas camadas externas da galha durante o processo de formação.

Entretanto, algumas estruturas galhígenas descritas para regiões neotropicais fogem do padrão descrito por Bronner (1992), como as galhas desenvolvidas por Cecidomyiidae em *Lantana camara* (Verbenaceae), elas apresentam acúmulo de lipídios no tecido nutritivo (Moura *et al.*, 2008). Logo, a composição do tecido nutritivo varia de acordo com o metabolismo da planta hospedeira e as exigências nutricionais do indutor.

## **2.2. Compostos fenólicos totais e a ocorrência de galhas**

A variação quantitativa dos compostos fenólicos é atrelada a padrões de respostas dos vegetais a alterações bióticas como a atuação de galhadores ou abióticas como a qualidade do solo e disponibilidade de água, os quais podem refletir indiretamente na ocorrência destes herbívoros (Fernandes e Price 1992, Hartley, 1999).

A via do ácido chiquímico é responsável pela síntese da maioria dos derivados fenólicos, sendo a luminosidade um fator preponderante na sua produção. Esse fato é explicado porque a enzima-chave fenilalanina-amonialiasa (PAL) é estimulada pela radiação UV presente na luz solar, logo, os derivados fenólicos atuam também como mecanismo de proteção contra a luminosidade excessiva (Jones, 1984).

Mudanças no metabolismo dos derivados fenólicos nos tecidos vegetais parecem beneficiar o inseto galhador, uma vez que o aumento na produção de fenólicos pode proteger as larvas dos insetos indutores de ataque de parasitoides e de predadores, bem como diminuir a competição com outros insetos não adaptados ao ambiente químico dos tecidos vegetais (Janzen, 1977; Cornell, 1983).

Segundo Ramalho e Silva (2010) outra função reportada para os compostos fenólicos é a atuação sinérgica com hormônios (auxina) que estimulam o crescimento da estrutura da galha.

O conteúdo e a complexidade dos compostos fenólicos totais em plantas hospedeiras de galhas são diferenciados de acordo com a espécie do galhador (Santos e Blatt, 1998), porém pouca informação está disponível sobre mudanças nos padrões químicos relacionados aos indutores.

O aumento da concentração de substâncias fenólicas é associado à presença de galhas (Abrahamson e Weis, 1997), entretanto alguns autores como Nyman e Julkunen-Tiitto (2000) relataram a redução e até ausência do efeito das galhas sobre a produção de compostos fenólicos.

Ramalho e Silva (2010) observaram o processo de variação sazonal da concentração de substâncias fenólicas totais em folhas de *Aspidosperma spruceanum*, sadias e com a presença de galhas, descrevendo também uma diminuição na ocorrência de galhas em períodos de maior conteúdo de fenólicos, esse fato pode indicar um microambiente químico inadequado ao processo de indução.

### **2.3. Hipótese do balanço C/N e a produção de compostos de defesa das plantas**

A síntese de defesas químicas vegetais é diretamente influenciada por agentes bióticos, como a herbivoria e fatores abióticos, como a disponibilidade de água.

De acordo com a hipótese do balanço C/N de Brianty *et al.* (1983), o investimento em substâncias a base de carbono (ex. compostos fenólicos) é uma rota alternativa quando a disponibilidade de nutrientes no ambiente (ex. solo) é menor que a taxa fotossintética. Em solos pobres, em fósforo e nitrogênio, a rota de produção de aminoácidos seria desviada para a produção de compostos fenólicos, a partir da fenilalanina (Harbone, 1990).

A hipótese do balanço C/N não prevê pressão seletiva da herbivoria ou de outros fatores externos sobre a produção de compostos secundários. Neste caso, a impossibilidade de crescimento efetivo da planta criaria condições fisiológicas e estruturais desfavoráveis a herbivoria.

De acordo com a hipótese da disponibilidade de recurso elucidada por Coley (1983) que engloba a teoria do balanço C/N, o crescimento da planta estaria restrito somente a disponibilidade de recurso.

O crescimento rápido de plantas aconteceria associado à produção de tecido simples e a baixo custo (sem investimento em compostos ou estruturas protetoras) devido à alta disponibilidade de luz e nutrientes. Portanto, a perda energética devido a danos causados pela herbivoria seria desprezada pela planta. Entretanto, o crescimento

lento imposto pela carência de nutrientes ou outros recursos (ex. água) implicaria em aumento da importância relativa do tecido produzido. Neste caso a perda pela herbivoria poderia ser relevante para a sobrevivência da planta (Ribeiro e Fernandes, 2000).

De forma geral, espécies vegetais que apresentam crescimento rápido, apresentariam maiores concentrações de nitrogênio em suas folhas e investiria menos na defesa química das mesmas, enquanto espécies de crescimento lento, possuiriam menores concentrações de nitrogênio em suas folhas e maior investimento em defesas químicas (Coley e Barone, 1996; Poorter e Bongers, 2006). A menor alocação de recursos em defesas químicas e maior disponibilidade de nutrientes por algumas espécies de plantas podem aumentar a herbivoria.

A concentração de nitrogênio no tecido foliar pode influenciar a ocorrência e as densidades populacionais de insetos herbívoros, que podem variar negativamente ou positivamente em relação ao conteúdo de nitrogênio e defesas químicas disponíveis nas folhas consumidas (Boege, 2005; Cronin *et al.*, 2010).

As defesas químicas e a herbivoria são influenciadas também por agentes seletivos do ambiente, como a disponibilidade de água e nutrientes do solo, esses fatores já foram relacionados. Entretanto, a maior parte dos estudos que abordam tais parâmetros se concentra em florestas tropicais úmidas e em florestas temperadas (Coley e Barone, 1996), em se tratando de floresta tropical seca ainda pouco se conhece como o fenômeno se comporta (Silva *et al.*, 2009).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahamson, W.G., Weis, A.E. 1997. Evolutionary ecology across three trophic levels: goldenrods, gall makers and natural enemies. *Princeton*: Princeton University Press.
- Boege, K. 2005. Herbivore attack in *Casearia nitida* influenced by plant ontogenetic variation in foliage quality and plant architecture. *Oecologia*, 143:117-125.
- Bronner, R. 1992. The role of nutritive cells in the nutrition of cynipids and cecidomyiids. In: Shorthouse JD, Rohfritsch O (ed) *Biology of insect-induced galls*. New York: *Oxford University Press*, 118-140.
- Bryant, J.P., Chapin, F.S., Klein, D.R. 1983. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, 40: p.357-368.
- Coley, P. D., Barone, J. A. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27:305-335.

- Coley, P.D. 1983. Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monographs*, 53:209 -233.
- Cornell, H.V. 1983. The secondary chemistry and complex morphology of galls formed by the Cynipinae (Hymenoptera): why and how? *The American Midland Naturalist Journal* 110: 225- 234.
- Cronin, J. P., Tonsor, S. J., Carson, W. P. A. 2010. Simultaneous test of trophic interaction models: which vegetation characteristic explains herbivore control over plant community mass? *Ecology Letters*,13:202 -212.
- Cuevas-Reyes, P., Quesada, M., Hanson, P., Oyama, K. 2007. Interactions among three trophic levels and diversity of parasitoids: a case of top-down processes in mexican tropical dry forest. *Environmental Entomology*, 36: 792-800.
- Dawkins, R. 1982. The extended phenotype: the gene as the unit of selection. *Oxford: Oxford University Press*.
- Espírito-Santo, M. M., G. W. Fernandes. 2007. How many species of gall-inducing insects are there on earth, and where are there? *Annals of the Entomological Society of America* 100: 95-99.
- Fernandes, G.W., Price, P.W. 1992. The adaptive significance of insect gall distribution: survivorship of species in xeric and mesic habitats. *Oecologia* 90: 14-20.
- Harbone, J.B. 1990. Role of secondary metabolites in chemical defense-mechanisms in plants Ciba F. Symp. 154:126-139.
- Harris, W.R., Berthon, G, Day, J.P.; Exley, C., Flaten, T.P., Forbes, W.F., Kiss, T., Orvig,C., Zatta, P.F. 1996. Speciation of aluminum in biological systems. *Journal Toxicology Health*. 48: 543-568.
- Hartley, S.E. 1999. Are gall insects large rhizobia? *Oikos*, 84: 333-342.
- Isaias, R. M. S, Carneiro, R. G. S., Oliveira, D. C. O., Santos J.C. 2013. Illustrated and Annotated Checklist of Brazilian Gall Morphotypes. *Neotrop. Entomol.* 42:230 -239.
- Janzen, D. H. 1977. Why fruits rot, seeds mold and meat spoils. *The American Naturalist* 111: 691-713.
- Jones, D. H. 1984. Phenylalanine ammonia-lyase: Regulation of its induction, and its role in plant development. *Phytochemistry* 23: 1349-1521.
- Larson, K .1998. The impact of two gall-forming arthropods on the photosynthetic rates of their host. *Oecologia* 115: 161-166.
- Maia, V.C., Fernandes, G.W. 2004. Insect galls from Serra de São José (Tiradentes, MG, Brazil) *Brazilian Journal of Biology*, 64: 423-445.

- Mani, M. S. 1964. Ecology of plant galls. W. Junk, The Hague, 434p.
- Moura, M. Z. D., Soares, G. L. G., Isaias R. M. S. 2008. Species-specific changes in tissue morphogenesis induced by two leaf arctic Gallers in *Lantana camara* L. (Verbenaceae), *Australia Journal of Botany* 53: 153-160.
- Nyman, T., Julkunen-Tiitto, J. 2000. Manipulation of the phenolic chemistry of willows by gall-induced sawflies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 13184-13187.
- Olf, H., Alonso, D., Berg, M.P., Eriksson, B.K., Loreau, M., Piersma, T. e Rooney, N. 2009. Parallel ecological networks in ecosystems. *Philosophical Transactions of The Royal Society B*. 364: 1755-1779.
- Oliveira, D. C., Isaias R. M. S. 2010. Cytological and histochemical gradients induce by a sucking insect in galls of *Aspidosperma australe* Arg. Muell (Apocynaceae) *Plant Science* 178: 350–358.
- Poorter, L., Bongers, F. 2006. Leaf traits are good predictors of plant performance across 53 rain forest species. *Ecology*, 87:1733-1743.
- Ramalho, V. F., Silva, A. G. 2010. Modificações bioquímicas e estruturais induzidas nos tecidos vegetais por insetos galhadores. *Natureza on line* 8 (3): 117-122.
- Ribeiro, S. P., Fernandes G. W. 2000. Interações entre insetos e plantas no cerrado: teoria e hipóteses de trabalho. *Oecologia Australis*,8:24-32.
- Schrönrogge, K., Harper, L.J. e Lichtenstein, C. P. 2000. The protein content of tissues in cynipid galls (Hymenoptera: Cynipidae): Similarities between cynipid galls and seeds. *Plant, Cell and Environment*, 23: 215-222.
- Santos, M. D., Blatt, C. T. T. 1998. Teor de flavonóides totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. De mata e de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*, 21:2.
- Silva, A. P. N., Moura, G. B. A., Giongo, P. R., Silva, A. O. 2009. Dinâmica espaço-temporal da vegetação no semiárido de Pernambuco. *Revista Caatinga*. Natal, 22:4, p. 195-205.
- Soares, G. L. G., Isaias, R. M. S., Gonçalves, S.J. M. R., Christiano, J. C. S. 2000. Alterações químicas induzidas por coccídeos galhadores (Coccoidea:Brachyscelidae) em folhas de *Rollinia laurifolia* Schdtl. (Annonaceae). *Revista Brasileira de Zoociências* 2: 103-116.
- White, T. C. R.1984. The abundance of invertebrate herbivores in relations to the availability of nitrogen in stressed food plants. *Oecologia*, 63: 90-105.

### **3. ARTIGOS A SEREM SUBMETIDOS PARA PUBLICAÇÃO**

**3.1. ARTIGO 1 - Morphological and histochemical study leaf galls in three species of Euphorbiaceae from Northeast Brazilian Seasonal Tropical Dry Forest (Artigo submetido e aceito na revista Plant Protection Quarterly)**

## **Morphological and histochemical study of leaf galls in three species of Euphorbiaceae from North-east Brazilian Seasonal Tropical Dry Forest**

Lívia Maria de Lima Santos<sup>1</sup>, Fernanda Meira Tavares<sup>2</sup>, Emília Cristina Pereira de Arruda<sup>3</sup>,  
Jarcilene Silva Almeida-Cortez<sup>1,2,3</sup>

1-Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, 50.372-970 Recife, Pernambuco, Brazil

2-Programa de Pós Graduação em Ecologia- Universidade Federal Rural de Pernambuco- Dois Irmãos, 52171-900 Recife, Pernambuco, Brazil

3-Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, 50.372-970 Recife, Pernambuco, Brazil

### **Abstract**

Galls are plant structures formed by abnormal growth of cells, tissues or organs induced by fungi, nematodes or insects. Gall-inducing insects are mostly confined to one host plant species. We investigated the morphoanatomy and histochemical characteristics of Dipteran galls on the leaves of three species of Euphorbiaceae: *Cnidoscolus quercifolius*, *Croton blanchetianus* and *Manihot epruinosa*. The galls from *C. quercifolius* are isolated or agglomerated on the abaxial and adaxial surface of the leaf. They are globoid, green, glabrous and the larval chamber has only a single orange larva. The histochemical analysis revealed the presence of lipids, starch grains, and tannins in galled and non-galled tissues, with higher concentrations in the galled tissue. *Croton blanchetianus* bears green, globoid, pubescence leaf galls on the abaxial and adaxial surface of the leaf with high concentrations of lipids in the galled tissue. *Manihot epruinosa* leaf galls are clavate and occur on the abaxial and adaxial surface. The larval chamber is unilocular with beige larvae and a high concentration of lipids.

**Keywords:** cecidomiidae, chemical composition, herbivory, morphoanatomy

## 1. Introduction

Galls are structures caused by an increase in the number and size of different plant cells in response to stimuli produced by inducing organisms and provide nourishment, shelter and protection to the inducer or its progeny (Shorthouse, et al. 2005, Raman 2007). Galls can occur on vegetative and reproductive parts, especially leaves. Gall-inducing insects are specialist plant feeders with most confined to one host plant species.

In the case of galls induced by insects, it is estimated that there are 13,000 species (Espírito-Santo and Fernandes 2007). The feeding habits of larvae and the position of the chamber galling cause the various forms of galls present in nature (Hori 1992; Rohfritsch 1992).

Insect galls differ in their form, organization, and complexity from the abnormal growths induced by fungi and bacteria. Nearly 90% of known galls show either bilateral or radial symmetry (Raman 2007, 2011). Studies on anatomical aspects of galls induced by insects (Diptera), demonstrated cellular changes (Rohfritsch 1992; Kraus et al. 2003), mainly due to hypertrophy of the palisade parenchyma and changes in pericyclic fibers, which lose their secondary walls (Kraus and Arduin 2001). The larvae of galling insects generally feed on a nutritive tissue that internally surrounds the gall chamber (Rohfritsch 1992). Bronner (1992) outlines that in cecidomyiid galls, nutritive cells are never destroyed by the larva, while extensive development of vascular tissues is observed. The nutritive tissue is not exclusive to the galls of Cecidomyiidae and are also observed in galls of Hymenoptera: Cynipidae. However, the galls of Cynipidae accumulate lipids, while those of Cecidomyiidae accumulate carbohydrates (Oliveira and Isaias 2010). However, in *Lantana camara* L. (Verbenaceae), galls induced by Cecidomyiidae, have nutritive tissue with lipids, (Moura et al. 2008). Secondary metabolites tend to focus in the superficial layers of tissues of the larval chamber, where they can have a defense function (Mani 1964; Bronner 1992).

The Euphorbiaceae *sensu lato* are distributed mainly in the tropics, and is a large and diverse angiosperm family. The aim of this study was to investigate the morphological and histochemical structure of Dipteran galls on leaves of three Euphorbiaceae species: *Cnidoscolus quercifolius* Polh., *Croton blanchetianus* Pax & K. Hoffm. and *Manihot epruinosa* Pax & K. Hoffm.

## **2. Methodology**

### **2.1 Plant material collection**

The species studied are from different areas of Caatinga (Tropical Seasonal Dry Forest). We harvested leaves with galls (n=11) and without galls (n=15) of five individuals from each host species *Croton blanchetianus* and *Manihot epruinosa* from the municipalities of Santa Terezinha, Paraíba, and *Cnidoscolus quercifolius* from Itacuruba, Pernambuco, northeastern Brazil. The leaves were collected in February, May and June 2013. Part of the material was fixed in 50% FAA (37% formaldehyde, glacial acetic acid and 50% ethanol, 01:01:18, v/v) and stored in 70% ethanol (Johansen 1940).

### **2.2 Galls morphology and anatomical analysis**

Gall descriptions follow Isaias et al. (2013). Fresh tissue samples of leaves without galls and with galls were fixed in FAA (50% formaldehyde and 50% acid-Alcohol, 01:01, v/v) for 72 hours, then dehydrated in ethanol, followed by infiltration and embedding in histological paraffin following Johansen (1940). Transverse sections were made with a rotary microtome (Hidrax –M55 ZEISS), stained with astra blue and basic fuchsin, and the sections mounted in synthetic resin (Kraus et al. 1998). Images were obtained using a digital camera coupled to a Leica DMLB microscope. (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany), and the Leica IM50 and manager v. 5.0 software was used for analysis (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany).

### **2.3 Histochemistry**

Free-hand sections were submitted to various histochemical tests; these were ferric chloride (Johansen, 1940) staining to detect phenolic compounds, lugol iodine solution for starch (Kraus and Arduin 1997), Dragendorff's reagent (Yoder and Malhberg 1976) for alkaloids and Sudan III (Jensen 1962) staining for lipid detection.

## **3. Results**

### **3.1 External morphology of galls**

*Cnidoscolus quecifolius*, *Croton blanchetianus* and *Manihot epruinosa* leaf galls were induced by different dipteran larvae. Leaf galls of *Croton blanchetianus* are

globoid, sometimes crowded, green, hairy, and are located on the abaxial and adaxial leaf surfaces. The galls are closed (Fig.1b), have only one locule and one beige larva per locule. *Manihot epruinosa* galls are clavate, isolated, green or pinkish, glabrous, and located on the abaxial and adaxial leaf surface. Galls are closed (Fig.1c), have only one locule and one beige larva per locule. Galls on *C. quercifolius* were globoid, found on the abaxial and adaxial leaf, were closed, isolated or grouped in large numbers, green, glabrous, apex tapered (Fig.1a), unilocular, with intensely orange larvae. The nutritive tissue in galls of each host species typical differed in response to the feeding activity of their larvae.

### 3.2 Anatomy of galled and ungalled leaves

Non-galled leaves of *C. quercifolius* had a uniseriate epidermis (Fig. 2a) whose external periclinal wall is thickened and covered by a thick cuticle. The mesophyll is isobilateral presenting druses of calcium oxalate (Fig. 2b), and parenchyma cells are without wall thickening.

Leaf galls occur on the leaf midrib and develop from mesophyll cells. When galls are fully formed, the sinuous anticlinal walls of epidermal cells are lost and there are signs of cellular hypertrophy and hyperplasia. Galls also promote breakdown and deformation of the adjacent parenchyma, especially in the palisade parenchyma and trigger the process of lignification and suberization of tissues, especially those adjacent to the larval chamber (Fig. 2 c), which present one locules (Fig. 2e). It is also possible to observe the occurrence of scar tissue in the chamber and collapsed cells.

The leaves of *C. blanchetianus* had a uniseriate epidermis with stellate non-glandular trichomes (Fig. 3a) and a thin cuticle. *C. blanchetianus* leaves are amphistomatic. The mesophyll is characteristically differentiated into two regions namely, an upper palisade parenchyma and a lower spongy parenchyma with the presence of druses of calcium oxalate. We observed secretion structures with latex in the leaf cortex and angular collenchyma. Galled tissues showed changes in lignification and suberized mesophyll cells surrounding the larval chamber (Fig. 3c).

*M. epruinosa*, leaves had a uniseriate epidermis with papillae on the abaxial surface and large quantities of druses of the calcium oxalate with a relatively thick cuticle (Fig. 4a). The leaves were hypostomatic and the mesophyllis dorsiventral was hypostomatic. We observed endodermal (Fig. 4a) extension of parenchyma with the presence of secondary and tertiary bundles and angular collenchyma. Galls in leaf

tissues induce changes in the palisade parenchyma (Fig. 4b) with lignification and suberization in cells adjacent to the larval chamber.

### 3.3 Histochemical analyses

Histochemical analyzes of intact leaf tissue of *C. quercifolius* revealed the occurrence of starch grains (Table 1) in stomatal guard cells (Fig. 5a) and the parenchyma of the midrib. We did not notice the presence of phenolic compounds. Lipids were concentrated in the cuticle, specifically in the epicuticular wax. Galls present amyloplasts on the parenchyma tissue (Fig. 5b) and phenolic compounds (Fig. 5c) and lipid substances in cells that join the larval chamber (Fig. 5d). Alkaloids were not detected. Non-galled tissues of *C. blanchetianus* (Table 1) present lipids concentrated in the mesophyll and the cuticle. Starch, alkaloids and phenolic compounds were not detected (Fig. 6a,b). In galled leaf tissue, lipids are concentrated in cells of the inner chamber and larval cuticle, but specifically in the epicuticular wax. Starch grains are present in small quantities in the palisade parenchyma. Phenolic compounds are located on the outside of the chamber and alkaloids were not detected.

Non-galled leaves *M. epruinosa* (Table 1) present lipids in the cuticle and palisade parenchyma. Starch grains were concentrated in the spongy parenchyma (Fig. 7a) and in guard cells. In both non-galled and galled leaf tissue, phenolic compounds and alkaloids were not detected (Fig. 7b). In galls, lipids were concentrated on the inside the larval chamber (Fig. 7c) and the presence of starch was not observed (Fig. 7d).

## 4. Discussion

The anatomical features of *Cnidoscolus quercifolius*, *Croton blanchetianus* and *Manihot epruinosa* are similar to other species of Euphorbiaceae and feature a uniseriate epidermis, the mesophyll is dorsiventral (Metcalf and Chalk 1950), the cuticle relatively thick with druses (Hummel and Staesche 1962, Webster et al. 1996, Metcalfe and Chalk 1950, Theobald et al. 2008) and trichomes are present (Metcalf and Chalk 1950; Lucena and Sales 2006). The mesophyll is characteristically differentiated into two regions namely, an upper palisade parenchyma and a lower spongy parenchyma.

The crystals and the other surface modifications pubescence, epidermal trichomes, spines or waxy coatings increase reflectance of UV radiation (Darling 1989).

and avoid herbivory in the mesophyll and epidermal cells. Leaves of species under pressure from herbivores tend to have higher densities of druses of calcium oxalate compared with those that are not attacked (Molano-Flores 2001).

Tissue changes in galled leaves compared with healthy leaves are marked by intense sclerification and loss of sinuosity of epidermal cell walls, which seems to be common in mechanisms of cecidogenesis (Meyer and Maresquelle 1983). Tissue and cellular processes such as hypertrophy and hyperplasia are also common reactions to gall formation (Kraus et al. 1998). In addition to structural changes, alterations in the metabolism of primary and secondary leaves occur. These changes are primarily related to the storage of nutrients for growth and maintenance of the gall. The constitution of the nutritive tissue of the gall is characterized by the abundance of lipids and starch, which usually occur in cells surrounding the larval cavity (Mani 1964, Freidberg 1984).

Lipid droplets were present in cells of the inner wall of the larval chamber. The Euphorbiaceae is typically rich in lipids (Nishimura et al. 1977). Secondary metabolites, such as alkaloids, terpenes, phenolic compounds, flavonoids have been described for *Cnidoscolus quercifolius*, *Croton blanchetianus* and *Manihot epruinosa* (Erosa-Escalante et al. 2004, Hill et al. 2001, Teixeira 1987 Salatino et al. 2007). However, in this study alkaloids and phenolics were only identified in the gall tissue on *Cnidoscolus quercifolius*, and may represent a mechanism of plant defense. However, its detection in cortical layers may be inferred as a chemical defense against natural enemies (Yang et al. 2003), as seen in *Croton blanchetianus* species.

## 5. Acknowledgments

University Federal of Pernambuco, financial support Facepe/ CNPq/CAPES/CETENE and Project INNOVATE.

## 6. Bibliography

- Arduim, M. and Kraus, J. E. (2001). Anatomy of *Ambrosia* galls on leaves of *Baccharis concinna* and *dracunculifolia* *Baccharis* (Asteraceae). *Brazilian Journal of Botany*, 24, 63-72.
- Bronner, R. (1992). The role of nutritive cells in the nutrition of cynipids and cecidomyiids. eds. In: Shorthouse, J.D. and Rohfritsch O. 'Biology of Insect-Induced Galls'. pp.118-140. (Oxford University Press, New York).

- Espírito Santo, M. M. and G. W. Fernandes. (2007). How many species of gall-inducing insects are there on earth, and where are there? *Annals of the Entomological Society of America* 100, 95-99.
- Escalante-Erosa, F., Ortegón-Campos, I. Parra-Tabla, V. and Peña-Rodríguez, M. (2004). Chemical Composition of the epicuticular wax of *Cnidioscolus aconitifolius* Magazine. *Society. Química Mexico*. 48, 24-25.
- Fahn, A. (1990). 'Plant anatomy'. p.588 (Butterworth Heinemann, Oxford, England).
- Freidberg, A. (1984). Gall Tephritidae (Diptera).eds.1n: Ananthakrishnan, T. N. (Editor). 'Biology of gall insects' pp.129-167. (Oxford and mH, India).
- Hardy, N.B. and Cook, L.G. (2010). Gall-induction in insects: evolutionary dead-end or speciation driver? *BMC Evolutionary Biology*, 10,257.
- Hill, A. P. et al. (2001). Preliminary phytochemical screening of the genus *Croton* L. species. Cidade Havana. *Journal of Pharmacy* 35, 203-206.
- Nishimura, H., Philp, R.P., Calvin, M. (1977). Lipids of *Hevea brasiliensis* and *Euphorbia coerulescens*. *Phytochemistry* 16, 1048-1049.
- Hori, K. (1992). Insect secretions and their effect on plant growth, with special reference to hemipterans. eds. In: Short house, J.D. and Rohfritsch O. 'Biology of Insect-Induced Galls'.pp.157-170. (Oxford University Press, New York).
- Hummel, K.and Staesche, K. D. (1962). Hair types in the natural spread of kinship groups. Gebruder Borntraeger, Berlin, 292.
- Isaias, R.M.S, Carneiro, R.G.S ,Oliveira, D.C.O, Santos J.C. (2013). Illustrated and Annotated Checklist of Brazilian Gall Morphotypes. *Neotrop. Entomol.* 42, 230– 239.
- Jensen, W. A.(1962). 'Botanical Histochemistry: Principles and Practice'. p.408. (W. H. Freeman and Company, San Francisco).
- Johansen, D.A. (1940). 'Plant microtechnique'.p.523. (McGraw - Hill Books, New York).
- Kraus, J. E., Isaias, R.M.S., Vecchi, C. and Fernandes, G. W. (2003). Structure of insect galls on two species of *Chrysothamnus simpatric nauseosus* (Pall. ex Pursh) Britton (Asteraceae). University of São Paulo, *Bulletin of Botany* 21, 251-263.
- Kraus, J.E., Sousa, H.C., Rao, M.H., Castro, N.M., Vecchi, C. and Luque, R. (1998). Astrablue and basic fuchsin double staining of plant materials. *Biotechnic and Histochemistry* 73, 235-243.
- Larcher, W. (2000). *Ecofisiologia vegetal*. Rima, p.531. São Carlos.

- Lucena, M. F. A. and Sales, M. F. (2006). Leaf trichomes in species of *Croton*. *Rodriguésia* 57, 11-25.
- Mani, M. S. (1992). Introduction to Cecidology. eds. In: Short house, J.D. and Rohfritsch O. 'Biology of Insect-Induced Galls'. pp.3-7 (Oxford University Press, New York).
- Metcalf, C.R., Chalk, L. (1957). Anatomy of the dicotyledons (leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses). Oxford, *Clarendon Press* 2, 1500.
- Metcalf, C. R.and. Chalk, L. (1950). Anatomy of the Dicotyledons, Oxford Clarendon Press, 1,2.
- Meyer, J. and Maresquelle, H. J. (1983). Anatomie des galles. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- Molano-Flores, B. (2001). Herbivory and concentrations Affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). *Annals of Botany* 88,387-391.
- Moura, M.Z.D., Soares, G. L.G Isaias R.M.S. (2008). Species-specific changes in tissue morphogenesis induced by two leaf arctic Gallers in *Lantana camara* L. (Verbenaceae), *Australia Journal of Botany* 53, 153-160.
- Oliveira, D. C. and Isaias R. M. S. (2010). Cytological and histochemical gradients induce by a sucking insect in galls of *Aspidosperma australe* Arg. Muell (Apocynaceae) *Plant Science* 178, 350–358.
- Parkhurst, D. F. (1978). The adaptative significance of stomatal occurrence on one or Both surfaces of leaves. *Journal of Ecology* 66, 367-383.
- Raman, A. (2007). Insect-induced plant galls of India: unresolved questions. *Current Science* 92, 748-757.
- Rohfritsch O. (1992). Patterns in gall development. eds. In: Short-house, and J. D. Rohfritsch, O. 'Biology of Insect-Induced Galls'. pp.60-86. (Oxford University Press, New York).
- Salatino, A., Salatino, M.L.F. Negri, G. (2007). Traditional uses, Chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). São Paulo. *Brazilian Journal Chemical Society* 18, 11-33.
- Shorthouse, J.D., Wool, D. and Raman A. (2005) Gall-inducing insects–Nature’s most sophisticated herbivores. *Basic and Applied Ecology* 6, 407-411
- Teixeira, J.P.F. (1987). Chemical composition of *Manihot catingae* seeds *Bragantia*. São Paulo. *Campinas*, 46, 2.

Theobald, W.L., Krahulik, J.L. and Rollins, RC. (2008). Trichome description and classification Brazilian Journal Medicinal Plants, Botucatu eds. In: Metcalf, C. R.; Chalk, L. 'Anatomy of the dicotyledons'. pp. 40-53. (Clarendon Press, Oxford).

Webster, G. L. Del-Arco-Aguilar, M. J., Smith. B. A. (1996). Systematic distribution of foliar trichome types in Croton (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 121, 41-57.

Yang, C.M., Yang, M.M., Huang, M.Y., Hsu, J.M. and Jane, W.N. (2003). Herbivorous insect causes deficiency of pigment-protein complexes in an oval-pointed cecidomyiid gall of *Machilus thunbergii* leaves. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 44, 314-321.

Table 1: Histochemical evaluation of starch, lipids, alkaloids and phenolic compounds in leaves with galls and leaves without galls

Species	<i>Cnidoscolus quercifolius</i>		<i>Croton blanchetianus</i>		<i>Manihot epruinosa</i>	
	N.G.	G.	N.G.	G.	N.G.	G.
<b>Tests</b>						
Alkaloides	-	-	-	-	-	-
Phenolic compounds	-	+	-	+	-	-
Starch	+	+	-	+	+	-
Lipids	+	+	+	+	+	+

+ = positive detection; - = negative detection (N.G. = no galled; G= galled).

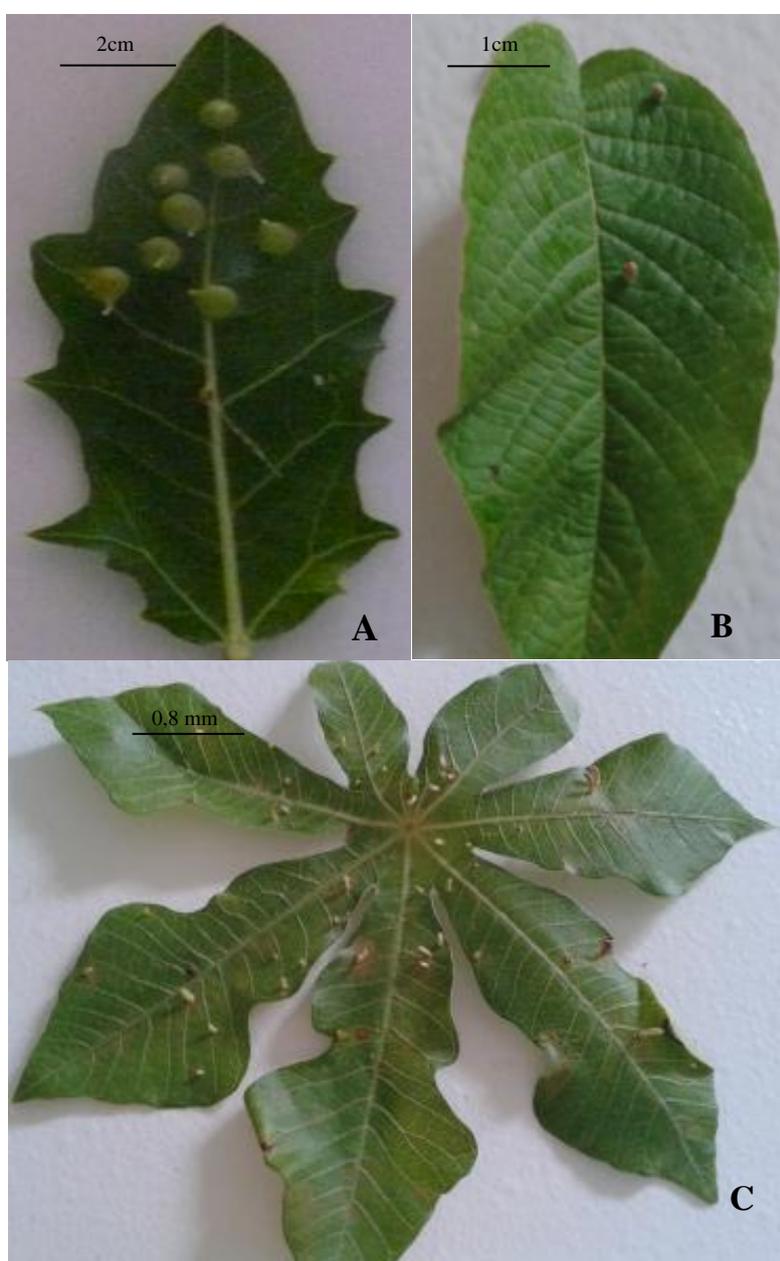


Figure 1: External aspect of galls; a) *Cnidoscolus quercifolius*; b) *Croton blanchetianus*; c) *Manihot epruinosa*.

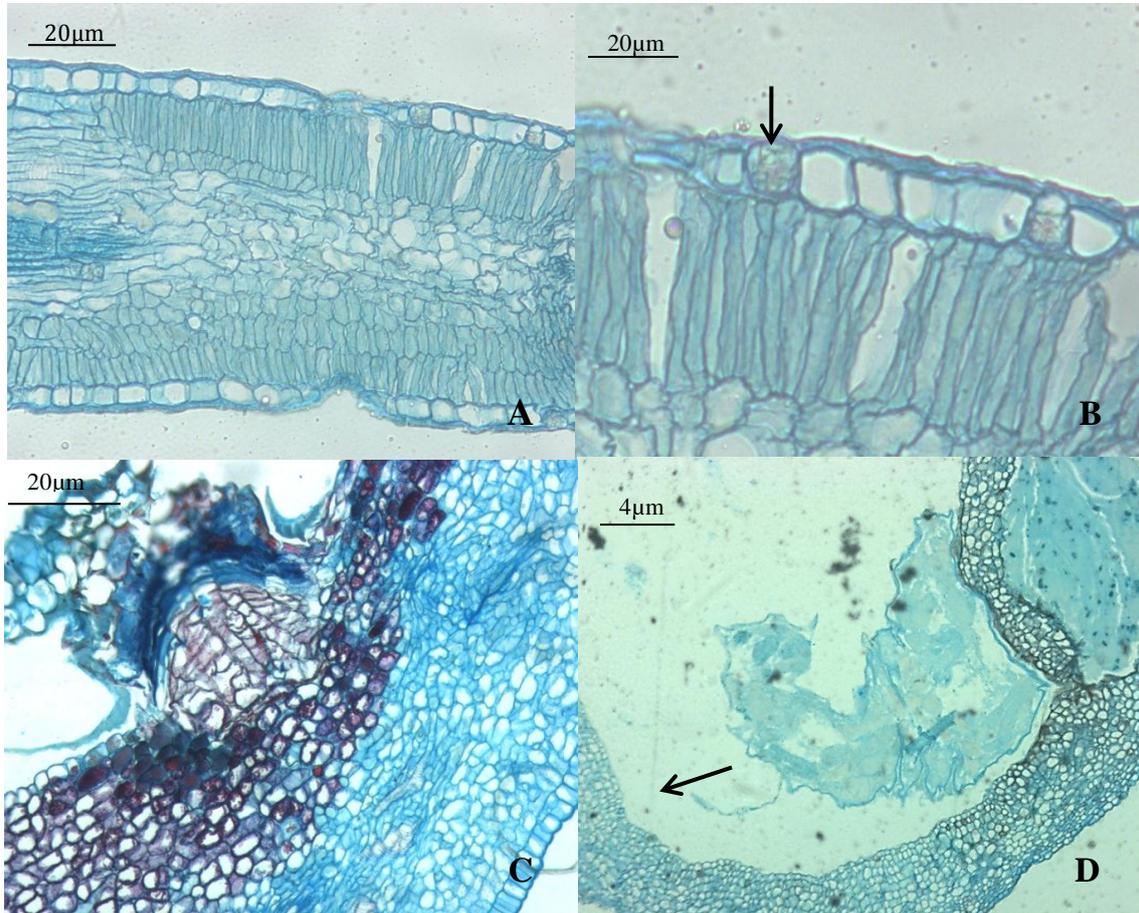


Figure 2: Anatomy of leaves of *Cnidoscolus quercifolius* a) uniseriate epidermis; b) druse with calcium oxalate (arrow) in the epidermis; c) lignification and suberization of galled tissues; d) gall chamber

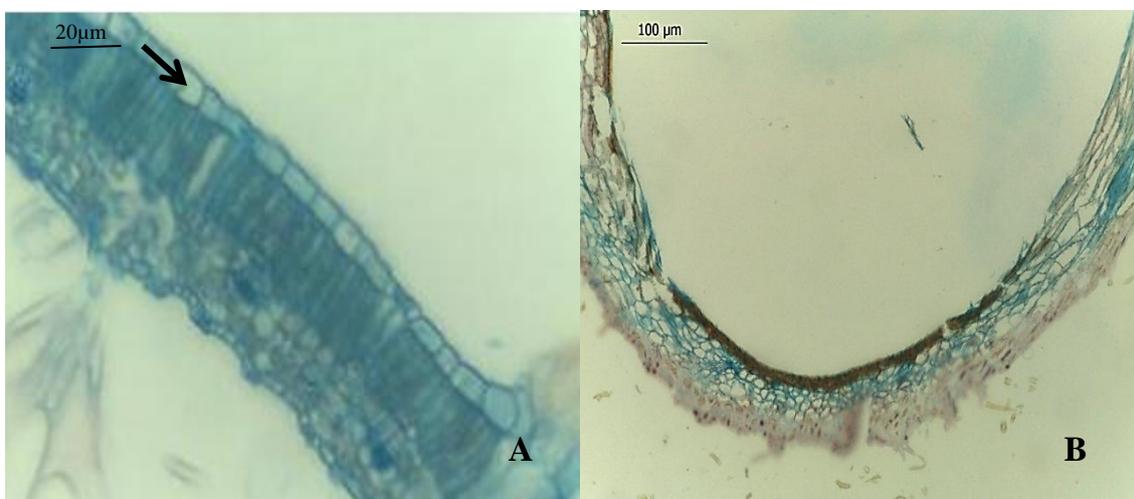


Figure 3: Anatomy of leaves of *Croton blanchetianus* a) uniseriate epidermis; b) lignified and suberized cells in galled tissue.

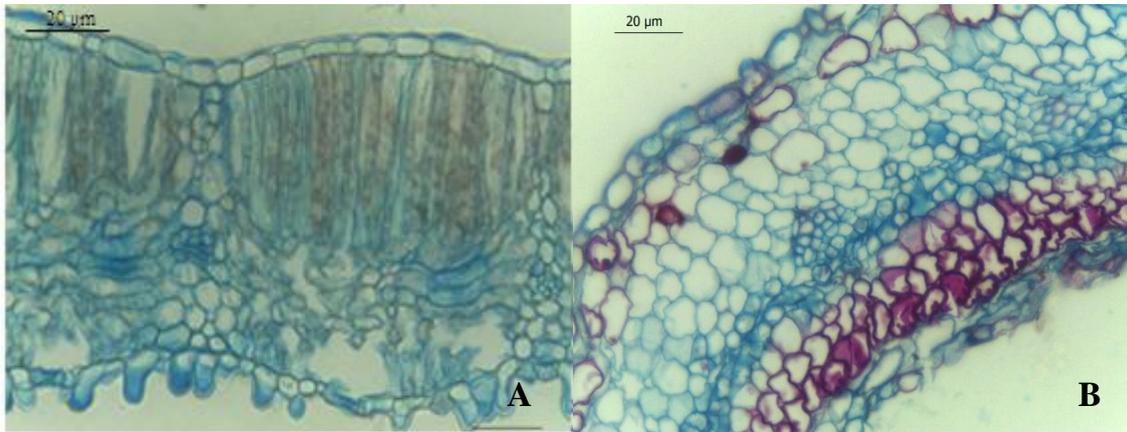


Figure 4: Anatomy of leaves of *Manihot epruinosa* a) uniseriate epidermis and thick cuticle; b) change in the palisade parenchyma in galled tissue.

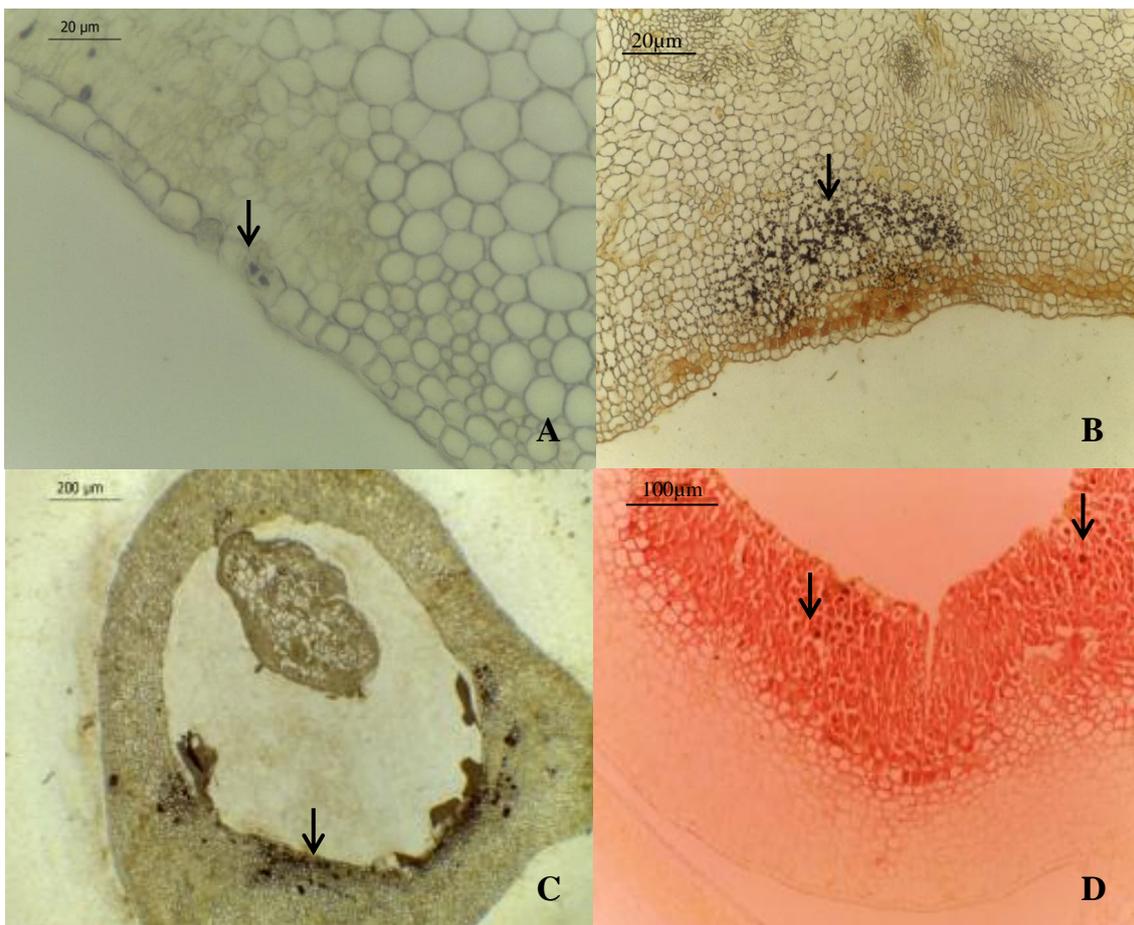


Figure 5: Histochemical tests in galled and non-galled tissue in *Cnidoscolus quercifolius*; a) presence of starch in the guard cells of stomata in tissues without galls; b) galled tissue with starch in the parenchyma median; c) phenolic compounds are in cells along the larval chamber; d) Arrows indicate the lipids in cells along the larval chamber.

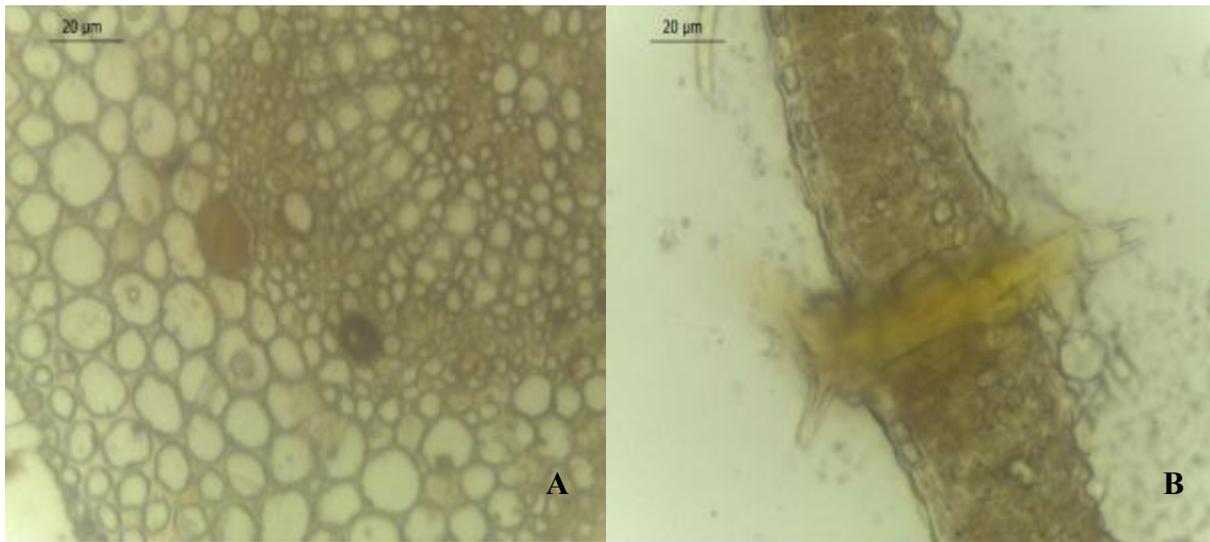


Figure 6: Histochemical tests in galled and non-galled tissue of *Croton blanchetianus*; a) absence of alkaloids in tissues without galls; b) absence of phenolic compounds in tissues without galls.

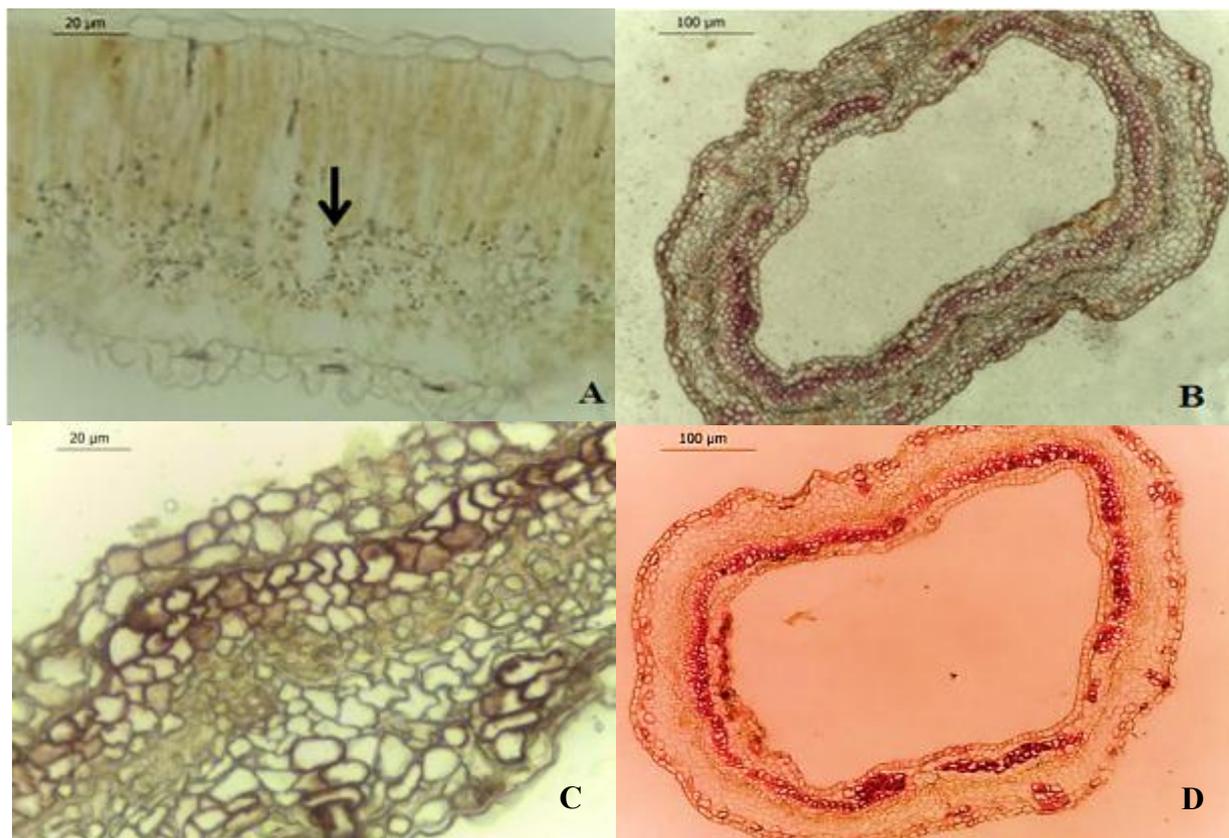


Figure 7: Histochemical tests in galled and non-galled tissue in *Manihot epruinosa*; a) presence of starch in the guard cells of stomata in tissues without galls and parenchyma spongy; b) absence of alkaloids in tissues with galls; c) lipid droplets inside the nutritivetissue; d) absence of grain starch in gall tissues.

#### **4. ARTIGO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO**

**4.1 ARTIGO 2 - Há relação entre a ocorrência de galhas e o balanço carbono/nitrogênio em plantas da Caatinga? (Artigo a ser submetido na revista Journal of Plant Nutrition)**

## Há relação entre a ocorrência de galhas e o balanço carbono/nitrogênio em plantas da Caatinga?

Lívia Maria de Lima Santos<sup>1</sup>, Bárbara Laine Ribeiro da Silva<sup>2</sup>, Dário Costa Primo<sup>2</sup>, Jarcilene Silva Almeida-Cortez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciência Biológicas, Laboratório de Interação Planta-Animal. Av. Professor Nelson Chaves, 1235 CDU 50670-420 - Recife, PE – Brasil

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia, Departamento de Energia Nuclear. Av. Professor Nelson Chaves, 1000 CDU 50740-540 - Recife, PE – Brasil

\* Autor para correspondência. Tel.: +55 81 2126 8348. E-mail: livia-linne@hotmail.com

### RESUMO

Galhas são estruturas reacionais produzidas mediante o ataque de indutores, principalmente insetos, que provocam hiperplasia e hipertrofia nas células vegetais. A ocorrência e distribuição dos insetos galhadores sofrem influência indireta de fatores abióticos que afetam a planta hospedeira, como a disponibilidade hídrica e a nutrição do solo. Com o objetivo de verificar se os solos com diferentes características físico-químicas e a disponibilidade hídrica das áreas de estudo influenciam na relação carbono/nitrogênio das plantas e na produção de defesas vegetais (compostos fenólicos totais) e conseqüentemente na frequência de galhas foliares; foi selecionada a espécie *Cnidoscopus quercifolius* para análises da quantidade de Nitrogênio, Carbono orgânico total, relação C/N e compostos fenólicos totais das folhas; coletado solos das áreas para as análises físico/químicas em ambientes com ausência de rios (A), rios temporários (T) e rios permanentes (P). De maneira geral, a relação C/N foi baixa nas folhas das plantas, porém foi verificado um aumento na síntese de compostos fenólicos (em ambientes A e T) que implicou no aumento da frequência de galhas foliares.

**Palavras-chave:** Relação C/N. Compostos fenólicos. Ocorrência de galhas.

## 1. INTRODUÇÃO

A herbivoria pode afetar a reprodução, a competição entre as plantas e comprometer a estrutura da comunidade vegetal (Coley, 1980). Entretanto, as plantas não são passivas diante do dano provocado pelos herbívoros desenvolvendo mecanismos físicos, biológicos e químicos de proteção (Coley, 1983).

Todavia, as defesas vegetais frente à pressão de herbivoria estão associadas à disponibilidade de nutrientes do ambiente e qualidade da planta hospedeira (Stiling e Moon, 2005).

A quantidade de carbono, nitrogênio e a presença de compostos de defesa nos tecidos vegetais podem afetar o desempenho dos herbívoros, principalmente insetos (Awmack e Leather, 2002).

Dietas ricas em macronutrientes, especialmente nitrogênio solúvel, podem influenciar as taxas e o tempo de desenvolvimento, fecundidade, sobrevivência e a distribuição dos insetos herbívoros (Mattson, 1980).

Em se tratando do carbono é um elemento associado ao crescimento das plantas, no entanto quando em ambientes oligotróficos, ele é deslocado para a produção de compostos secundários, principalmente compostos fenólicos totais para proteger a planta contra o ataque de predadores (Hermes e Matson, 1992; Ribeiro e Fernandes, 2000).

As respostas às mudanças envolvendo a disponibilidade de nutrientes para os herbívoros irão variar de acordo com as diferentes guildas de insetos e os tipos de danos causados por eles nas plantas (Strauss, 1987).

Para os insetos indutores de galhas essas características nutricionais, embora importantes, podem ser contornadas uma vez que os integrantes dessa guilda utilizam a galha como dreno ativo das substâncias nutricionais da sua planta hospedeira, direcionando o fluxo de recursos das partes adjacentes à galha para o seu próprio benefício (Hartley e Lawton, 1992).

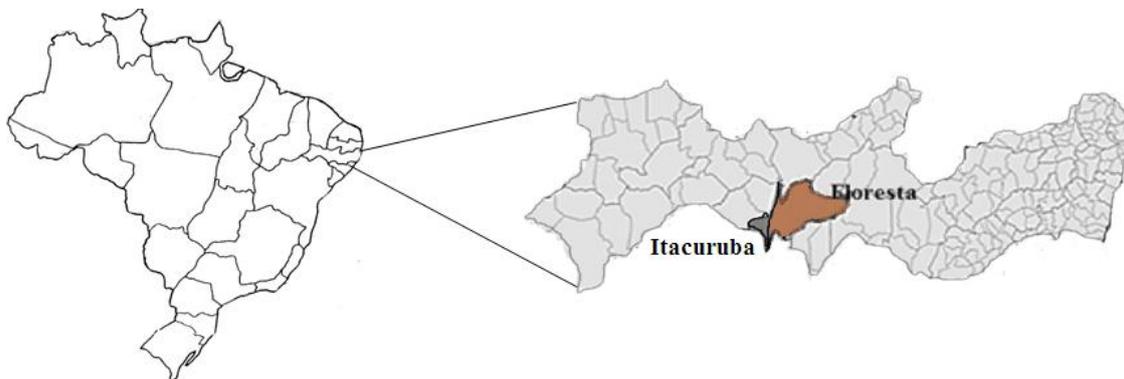
Outro fator preponderante na distribuição e ocorrência de insetos é a disponibilidade hídrica, em se tratando de insetos indutores de galhas a ocorrência tende a ser maior em ambientes xéricos do que em ambientes méxicos, essa diferença ocorre em função das características locais da vegetação, incluindo a baixa qualidade nutricional das plantas hospedeiras encontradas nessas regiões xéricas e a presença de inimigos naturais das estruturas galhígenas (Fernandes e Price, 1992).

Este trabalho teve como objetivo verificar a importância da quantidade versus qualidade do recurso da planta hospedeira *Cnidoscolus quercifolius* sobre a ocorrência de galhas induzidas por dípteros (Cecidomyiidae) em ambiente de floresta seca – Caatinga. As seguintes questões foram respondidas: 1. A ocorrência de galhas diminui com o aumento da disponibilidade hídrica? 2. A ocorrência de galhas aumenta com a concentração de nutrientes (C e N) em folhas de *Cnidoscolus quercifolius*? 3. A maior relação C/N estimula a produção de defesas vegetais (compostos fenólicos) aumentando a ocorrência de galhas?

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Área de estudo

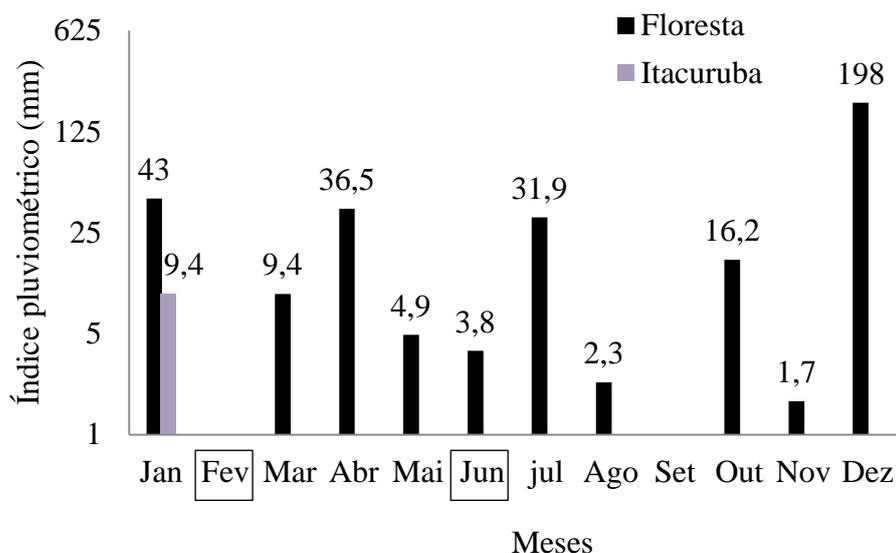
O estudo foi realizado em áreas de caatinga pertencentes aos municípios de Itacuruba (8°49'6" S, 38°41'57" W, altitude de 305 metros e temperatura de 26,1°C ) e Floresta (8°35'55" S, 38°33'50" W, altitude de 316 metros e temperatura de 26,5°C), localizados na mesorregião do São Francisco e microrregião do sertão de Itaparica, Pernambuco. De acordo com a classificação de Koppen, os municípios apresentam o clima do tipo BSw'h' (muito quente, semiárido, tipo estepe), a média de precipitação para a área é 623 mm, concentradas entre os meses de janeiro a maio (Embrapa, 2001).



**Figura 1.** Localização das áreas de estudo nos municípios de Floresta e Itacuruba, Pernambuco, Brasil.

Os locais amostrados foram categorizados segundo a proximidade de rios em três tratamentos: A1 a A6 = áreas sem a presença de rios; T1 a T6 = áreas com rios temporários; P1 a P6 = áreas com rios permanentes (junto ao rio São Francisco e ao rio

Pajeú).



**Figura 2.** Índices pluviométricos mensais, durante o ano de 2013. Os meses em destaque representam o período de coleta de *Cnidoscopus quercifolius* nas áreas de estudo em Floresta e Itacuruba, Pernambuco.

### 2.1. Delineamento experimental, coleta e preparação das amostras

O experimento foi dividido em três tratamentos, seis parcelas por tratamento totalizando dezoito parcelas, com dimensões de 50 X 50 m para coleta do material botânico e parcelas de 1 X 1 m para a coleta do solo.

Foram realizadas duas coletas de material vegetal, nos meses de fevereiro e junho e uma coleta de solo no mês de junho de 2013. Em cada parcela, foram retiradas folhas completamente expandidas, nos quatro pontos cardeais do terço médio externo da copa de cinco indivíduos de *Cnidoscopus quercifolius*, totalizando 180 espécimes amostrados. Logo após, as folhas serem retiradas das árvores foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa a 60° C, após a secagem passaram pelo processo de moagem em moinho do tipo Wiley e o pó armazenado em frascos escuros hermeticamente fechados, para posterior análise de carbono orgânico total (COT), nitrogênio total e compostos fenólicos totais.

Para o solo, foi realizada uma amostra composta deformada em cinco pontos da parcela (1x1m) do experimento com profundidade de 0-10 cm. Em seguida, as amostras foram armazenadas em sacos hermeticamente fechados e parte do material foi encaminhado para o laboratório de física e fertilidade do solo da Empresa

Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, para as análises dos nutrientes (P, Ca, Mg, Na, K, Al, H) e componentes texturais. A outra parte do material foi levada para o laboratório de fertilidade do solo do departamento de Energia Nuclear - UFPE, onde o solo foi seco ao ar, destorroado e passado em peneira de 2 mm, para realização das análises de COT (carbono orgânico total) e nitrogênio total.

### 2.3. Compostos fenólicos totais

A concentração de compostos fenólicos totais foi avaliada utilizando-se 3 gramas da amostra por meio do método espectrofotométrico, de Folin-Ciocalteau (1927) adaptado por Waterman e Simon (1994), os resultados foram expressos como equivalentes de ácido gálico, através da equação da reta:

Onde:

$$X = \frac{Y - B}{A}$$

X - Concentração de compostos fenólicos em  $\mu\text{g/mL}$ ;

Y – Absorbância das amostras a 760 nm;

B – Constante da reta;

### 2.4. Determinação de nitrogênio total em vegetal e solo

A determinação do Nitrogênio total foi obtido a partir de digestão sulfúrica utilizando-se 0,250g da amostra, seguida de destilação de Kjeldahl, conforme método descrito por (Thomas *et al.*, 1967).

### 2.5. Determinação de carbono orgânico total em vegetal e solo

A quantificação do carbono orgânico total (COT) foi realizada por oxidação via úmida utilizando-se 0,050g da amostra, 20 ml de dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) 1/2 N e 20 ml de ácido sulfúrico concentrado, com aquecimento. Adição de 100 ml de água deionizada após esfriamento, 5 ml de ácido fosfórico concentrado ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), 1 ml de difenilamina e titulação com sulfato ferroso amoniacal [ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ] 1 N até viragem da cor púrpura para verde (Walkley e Black, 1934 modificado por Tedesco *et al.*, 1995).

## 2.6. Análise estatística

Para responder as perguntas, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA - *one way*) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, por meio do programa Statistica Versão 8.0.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação dos componentes texturais (Tabela. 1) demonstrou que o solo é composto de 82% a 56% de areia (grossa e fina), 13% a 30 % de silte e apenas de 6% a 22% de argila. A principal classe textural amostrada foi o franco arenoso, encontrada em treze áreas dos dezoito pontos amostrados. Os solos arenosos possuem menor retenção de água e menor acúmulo de matéria orgânica (Buso e Kliemann, 2003), afetando diretamente a disponibilidade de nutrientes para as plantas no ecossistema.

Os teores de carbono orgânico total (COT) e de Nitrogênio total (N-total) (Tabela 2) observados na maioria dos pontos amostrados foram menores que 8 g kg<sup>-1</sup> para COT e 1,6 g/kg<sup>-1</sup> para N-total, os volumes são compatíveis com o fornecimento limitado de matéria orgânica para o sistema pela baixa produção de fitomassa vegetal, juntamente com o déficit de umidade que diminui a atividade e a diversidade da fauna edáfica (Teodoro *et al.*, 2011) associados ao manejo inadequado dos solos da região.

Segundo Giongo *et al.* (2011) os estoques de carbono orgânico total no solo do semiárido podem variar de 20 a 48,4 t ha<sup>-1</sup> em função da área amostrada e da sazonalidade. Maia *et al.* (2007) em solo de Caatinga hiperxerofita no estado do Ceará e Kauffman *et al.* (1993) estimaram um estoque de 48,4 e 26,4 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Amorim (2009) destacou a variação sazonal do estoque de carbono para o município de Petrolina, obtendo volumes de 16,5; 11,8 e 9,89 g/Kg<sup>-1</sup> em períodos de chuva, e na estação seca observou volumes de 14,2; 10,0 e 8,99 g/Kg<sup>-1</sup> em profundidades de 0-30 cm.

As relações C/N foram baixas nas parcelas A6 com 2,5:1, A4 apresentando 3,69:1 e T4 com valor de 4,8:1 (Tabela 2). Não foi constatada diferença significativa entre a relação C/N do solo nos tratamentos (A, T e P) (F = (0,40); P = 0,67).

Uma grande proporção de terras semiáridas (82%) possui alta concentração N trocável e baixo teor MO (matéria orgânica) (Silva, 2000; CNRBC, 2004) que interfere diretamente na proporção C/N.

A relação C/N indica à qualidade dos resíduos vegetais e a disponibilidade de N mineral na solução do solo, quanto menor a relação C/N maior a deposição de resíduos

de plantas e menor o acúmulo de C, influenciando diretamente na taxa de decomposição dos resíduos vegetais (Ceretta *et al.*, 2002).

As folhas de *Cnidoscopus quercifolius* apresentaram elevadas concentrações de nitrogênio, o teor de N-total variou de 4,75 % a 3,84% na primeira coleta e de 4,12% a 3,48% na segunda coleta (Tabela 3). Porém, não foi observada diferença nas concentrações em função dos tratamentos (A, T e P) e temporal (entre as coletas) ( $F = (1,00)$ ;  $P = 0,42$ ).

No estudo realizado por Ribeiro-Filho *et al.*, (2007) foram encontrados valores semelhantes de nitrogênio para *C. quercifolius* inerme (4,12%) e com espinhos (3,44 %) nos estados do Rio Grande do Norte e da Paraíba.

A quantidade de nitrogênio é diretamente relacionada à ocorrência, sobrevivência e tempo de desenvolvimento dos insetos herbívoros (Awmack e Leather, 2002). Assim, muitos herbívoros se especializam em consumir tecidos de órgãos de plantas que apresentam maior quantidade de compostos nitrogenados (Campbell e Clarke, 2006), como encontrado nas folhas de *C. quercifolius*.

Para o carbono orgânico total (COT) avaliado na primeira coleta foram observadas variações de 23,41% a 18,78% e na segunda amostragem foi de 23,77% a 18,86% (Tabela 3), não foi constatada diferença significativa na análise das concentrações em função dos tratamentos e períodos de coleta ( $F = (0,63)$  e  $P = 0,64$ ). Foi relatado por Salcedo e Sampaio (2008), que de maneira geral a fitomassa aérea total é constituída de 40% de C (folhas e galhos), no presente estudo foi avaliado apenas as folhas logo os resultados obtidos de carbono estão dentro do esperado.

A produção da fitomassa aérea é variável de acordo com o ambiente do semiárido (Giongo *et al.*, 2011), essa produção irá influenciar diretamente no estoque de matéria orgânica no solo.

Ao relacionar os teores de C/N das folhas de *C. quercifolius* em função das áreas dos tratamentos e entre os períodos de coleta, não foi verificado diferença estatística significativa ( $F = (0,43)$  e  $P = 0,78$ ).

Os valores da relação C/N obtidos para *C. quercifolius* (Tabela 3) revelaram-se baixos, porém foi evidenciando um incremento de compostos a base de carbono, na forma de compostos fenólicos totais. Segundo Rosolem *et al.* (2003) espécies com relação C/N inferior a 20 propiciam uma menor permanência da matéria orgânica no solo contribuindo com a ciclagem de nutrientes.

Ao contrastar a relação C/N do solo com C/N da planta, objetivando visualizar a influência do ambiente e dos períodos de coleta na absorção de nutrientes pelas plantas não foi observada diferença significativa ( $F = (0,86)$  e  $P = 0,53$ ) (Figura 3).

A interação entre folhas de *C. quercifolius* e as galhas variou entre zero e 76% de ocorrência (Tabela 4), sendo observada diferença significativa espacial (entre os tratamentos) e temporal (períodos de coleta) ( $F = (4,35)$  e  $P = 0,002$ ) (Figura 4), com maior incidência em ambientes A (ausência de água) e T (água temporária) que demonstraram elevadas concentrações de compostos fenólicos totais. No tratamento P (água permanente) apresentaram os valores mais baixos de compostos fenólicos que coincidiram com os menores índices de ocorrência de galhas. Substâncias fenólicas possuem elevado potencial antioxidante, característica que é intensificada paralelamente a produção de espécies reativas de oxigênio, originadas pelo ataque de insetos galhadores a planta hospedeira (Rao *et al.*, 1996, Queiroz *et al.*, 1998).

Scareli-Santos e Varanda (2009) afirmam existir uma relação direta e negativa entre infestação de insetos e os valores da relação C/N. Uma vez que, quanto menor os valores da relação C/N mais compostos carbonados serão direcionados para a síntese de metabolitos de defesa (ex. compostos fenólicos) e menor a possibilidade de ocorrência de insetos herbívoros.

De acordo com os resultados obtidos não é possível afirmar que valores baixos de C/N e maior investimento em compostos a base de carbono podem alterar a ocorrência de galhas em *C. quercifolius*, que demonstrou teores de compostos fenólicos e ocorrência de galhas, elevados. De acordo com Formiga *et al.* (2009), as galhas atuam como verdadeiros drenos de recursos dentre os quais os compostos fenólicos, concentrando-os nas camadas corticais das câmaras larvais para evitar o ataque de inimigos naturais.

A hipótese do balanço C/N é uma forma de interpretação do uso dos recursos disponíveis pelas plantas, avaliando a alocação para o crescimento ou defesa (Scareli-Santos e Varanda, 2009), objetivando encontrar um modelo ecológico que explique os investimentos pelos vegetais (Lerdau e Coley, 2002). Herms e Matson (1992) consideraram os custos para a síntese de metabolitos a base de carbono (ex. fenólicos, glicosídeos cianogênicos), sendo necessários 5 g de CO<sub>2</sub> para cada g de metabolito.

Para esta espécie do semiárido é necessário um estudo mais detalhado das vias de produção dos compostos de defesa e nutrição.

#### 4. AGRADECIMENTOS

A todos que compõem o Departamento de Energia Nuclear-UFPE; FACEPE, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro e ao projeto INNOVATE pela logística.

#### 5. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Alves, G. D., Sampaio, E. V. S. B., Salcedo, I. H., Silva, V. M. 1999. Potencial de Mineralização de N e de C em Vinte Solos de Pernambuco. *R. Bras. Ci. Solo*, 23:245-256.
- Amorim, L.B. 2009. Caracterização da Serrapilheira em Caatinga preservada e Mudanças no Carbono do Solo após o Desmatamento sem Queima. Dissertação (mestrado em Ciência do Solo). Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, PE. 62pp.
- Aquino, A. M., Almeida, D. L., Silva, V. F. 1992. *Comunicado Técnico*, 8, Centro Nacional de Pesquisa Biológica do Solo: Rio de Janeiro.
- Awmack, C.S., Leather, S.R. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annu. Rev. Entomol*, 47:817-814.
- Awmack, C.S., S.R., Leather. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual. Review Entomology*, 47: 817-844
- Azeredo, E. H., Cassino, P. C. R., Lima, E. 2002. Avaliação da infestação de insetos-praga associados à batata (*Solanum tuberosum* L.) sob efeito de nutrientes nitrogenados e potássicos e teores acumulados de aminoácidos livres nas cultivares Achat e Monalisa *Rev. Bras. entomol.* 46:1.
- Buso, W. H. D. e Kliemann, H. J. 2003. Relações de carbono orgânico e de nitrogênio total e potencialmente mineralizável com o nitrogênio absorvido pelo milho. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 33: 97-105.
- Campbell, M.L., Clarke. P.J. 2006. Seed dynamics of resprouting shrubs in grassy woodlands: Seed rain, predators and seed loss constrain recruitment potential. *Austral Ecol* 31:1016-1026.
- Ceretta, C.A., Basso, C.J., Herbes, M.G., Poletto, N., Silveira, M.J. 2002. Produção e decomposição de fitomassa de plantas invernais de cobertura de solo e milho, sob diferentes manejos da adubação nitrogenada. *Cienc. Rural*, 32:49-54.

Coley, P. D. 1983. Herbivory and defensives characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monography*, 53: 209-233.

Coley, P.D. 1980. Effects of leaf age and plant life history patterns on herbivory. *Nature*, 284: 545-546.

Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Caatinga - C.N.R.B.C. Cenários para o bioma caatinga. Secretaria da Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente. 2004. Recife: *Sectma*, 283 p.

Cuevas-Reyes, P., Quesada, M., Hanson, P. e Oyama, K. 2007. Interactions among three trophic levels and diversity of parasitoids: a case of top-down processes in mexican tropical dry forest. *Environmental Entomology*, 36:792-800.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. 2001. Diagnóstico Ambiental do Município de Floresta, Pernambuco. Rio de Janeiro-RJ: EMBRAPA. (Circular Técnica, ISSN1517-5146). Disponível em:<<http://www.cnps.embrapa.br/solosbr/pdfs/circular tecnica10diagambfloresta pdf>> Acesso em: 20 de janeiro de 2014.

Fernandes, G. W., P. W. Price. 1988. Biogeographical gradients in galling species richness: tests of hypotheses, *Oecologia* 76: 161-167.

Folin, C., Ciocalteu, V. 1927. Tyrosine and tryptophan determination in proteins. *J Biol Chem*, 73:627-650.

Formiga, A. T., Gonçalves, S. J. M. R., Soares, G. L. G. Isaias, R. M. S. 2009. Relações entre o teor de fenóis totais e o ciclo das galhas de Cecidomyiidae em *Aspidosperma spruceanum* Müll. Arg. (Apocynaceae) *Acta bot. bras.* 23:93-99.

Giongo, V., Galvão, S. R. S., Mendes, A. M. S., Gava, C. A. J., Cunha, T. J. F. 2011. Soil Organic Carbon in the Brazilian Semi-arid Tropics. Dynamic Soil, Dynamic Plant *Global Science Books*.

Hartley, S. E., J. H., Lawton. 1992. Host-plant manipulation by gall-insects: a test of the nutrition hypothesis. *Journal of Animal Ecology* 61: 113-119.

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

Herns, D. A., W. J., Mattson. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology*, 67: 283-335.

Kauff, J. B., Sanford, Jr R. L., Cummings, D. L., Salcedo, I. H., Sampaio, E. V. S. B. 1993. Biomass and nutrient dynamics associated with slash fires in neotropical dry forests. *Ecology* 74:140-151.

Lerdau, M., Coley, P.D. 2002. Benefits of the carbon-nutrient balance hypothesis. *Oikos*, 98: 534-536.

Luz, R. G., Fernandes, G. W., Silva, O. J., Neves, S. F., Fagundes, M. 2012. Galhas de insetos em habitats xérico e mésico em região de transição Cerrado-Caatinga no norte de Minas Gerais, Brasil. *Neotropical Biology and Conservation*, 7: 17.

Maia, S. M. F., Xavier, F. A. S., Oliveira, T. S., Mendonça, E. S., Araújo Filho, J. A. 2006. Impactos de Sistemas agroflorestais e convencional sobre a qualidade do solo do semiárido cearense. *Revista Árvore* 30:837-848.

Malta, L. R. S. 2009. Simulação do balanço e transporte de nitrogênio e fósforo provenientes de dejetos animais aplicados em áreas agrícolas. Estudo de caso: bacia do Toledo – Paraná – Brasil. 2009. 186 f. Tese (Doutorado em Engenharia civil). Universidade de São Paulo.

Mello, G., Bueno, C. R. P., Pereira, G. T. 2006. Variabilidade espacial de perdas de solo, do potencial natural e risco de erosão em áreas intensamente cultivadas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 10:315–322.

Nelson, D. W. e Sommers, L. E. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: PAGE, A.L.; Miller, R.H. & Keeney, D.R., eds. *Methods of soil analysis: Chemical and microbiological properties. Part 2.* Madison, *Soil Science Society of America*, 539-579 p.

Raman, A., C. W., Schaefer, T. M., Withers. 2005. *Biology, ecology and evolution of gall-inducing arthropods*, Vol. 1 e 2. New Hampshire, *Science Publishers Inc.*, xxi+817 p.

Ribeiro - Filho, N.M., Caldeira, S.V.P., Florêncio, I.M., Azevedo, D.O., Dantas, J.P. 2007. Avaliação comparada dos índices químicos nitrogênio e fósforo nas porções morfológicas dos espécimes de faveleira com espinhos e sem espinhos. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 9:149-160.

- Ribeiro, S.P., G.W., Fernandes. 2000. Interações entre insetos e plantas no cerrado: teoria e hipótese de trabalho. Pp 299-320. In: R.P., Martins; T.M., Lewinsohn e M.S., Barbeitos (eds). Ecologia e comportamento de insetos. *Série Oecologia Brasiliensis*. Vol 8 PPGE-UFJR Rio de Janeiro-Brasil.
- Salcedo, I. H., Sampaio, E. V. S. B. 2008. Matéria orgânica do solo no Bioma Caatinga in: Santos, G. S., Silva, L. S., Canellas, L. P., Camargo, F. A. O. ( Eds) Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo: Ecossistemas Tropicais e Subtropicais (2<sup>nd</sup>. Edn) Metrópole, Porto Alegre, pp 419-441.
- Scareli-Santos, C. e Varanda, E. M. 2009. Interações nutricionais em dois sistemas inseto galhador-planta hospedeira no Cerrado. *Revista brasileira Biociências*, Porto Alegre,7:376-381.
- Schoonhoven, L.M., J.J.A. van Loon, M., Dicke. 2005. Insect-plant biology. Oxford: University Press.
- Silva, H. R. F., Aquino, L. A., Batista, C. H. 2011. Efeito residual do adubo fosfatado na produtividade do girassol em sucessão ao algodoeiro. *Biosci. J., Uberlândia*, 27:786-793.
- Silva, J. R. C. 2000. Erosão e produtividade do solo no semiárido. In: Oliveira, T. S., Assis, J. R. N., Romero, R. E., Silva, J. R. C. (Eds) Agricultura , Sustentabilidade e o Semiárido, Universidade Federal do Ceará – SBCs, Fortaleza, 168-213 pp.
- Stiling, P., D. C., Moon. 2005. Quality or quantity: the direct and indirect effects of host plants on herbivores and their natural enemies. *Oecologia*, 142: 413-420.
- Strauss S.Y., A.R., Zangerl. 2002. Plant-insect interactions in terrestrial ecosystems. In: Herrera C. M., O., Pellmyr (eds.) Plant-Animal Interactions: An Evolutionary Approach. Oxford: Blackwell Publishing, 77-106 pp.
- Tedesco, M. J., Gianello, C., Bissani, C. A., Vlkweiss, S. J. 1995. Análises de solo, plantas e outros materiais. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, *Departamento de Solos*,174 p.
- Teodoro, R. B., Oliveira, F. L., Silva, D. M. N., Fávero, C., Quaresma, M. A. L. 2011. Leguminosas herbáceas perenes para utilização como coberturas permanentes de solo na Caatinga Mineira. *Revista Ciência Agronômica*, 42:292-300.
- Thomas, R.L.; Shearrd, R.W. e Moyer, J.R. 1967. Comparison of conventional and automated procedures for N, P and K analysis of plant material using a single digestion. *Agron. J.*, 59:240-243.

Walkley, A., Black, I. A. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37:29-38.

Waterman, P. G., Simon, M. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites, oxford ed., Blackwell Scientific Publications, London. 84 p.

## ANEXOS

**Tabela 1.** Determinação das características físicas do solo nas áreas (A = ausência de rios; T = presença de rios água temporários; P = presença de rios permanentes).

	Composição granulométrica (%)				Classe textural
	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila	
A1	53	24	13	10	FA
A2	57	20	13	10	FA
A3	47	32	11	10	FA
A4	40	35	15	10	FA
A5	40	34	18	8	FA
A6	56	26	10	8	AF
T1	33	28	19	20	FA
T2	33	29	26	12	FA
T3	30	28	26	16	FA
T4	52	29	11	8	AF
T5	52	29	11	8	AF
T6	55	26	13	6	AF
P1	32	27	25	16	FA
P2	31	29	30	10	FA
P3	27	28	23	22	FGA
P4	36	32	20	12	FA
P5	43	24	25	8	FA
P6	43	21	30	6	FA

\*FA = franco arenoso; AF = areia franca; FGA = franco argila

**Tabela 2.** Determinação das características químicas do solo das áreas (A = ausência de rios; T = presença de rios água temporários; P = presença de rios permanentes).

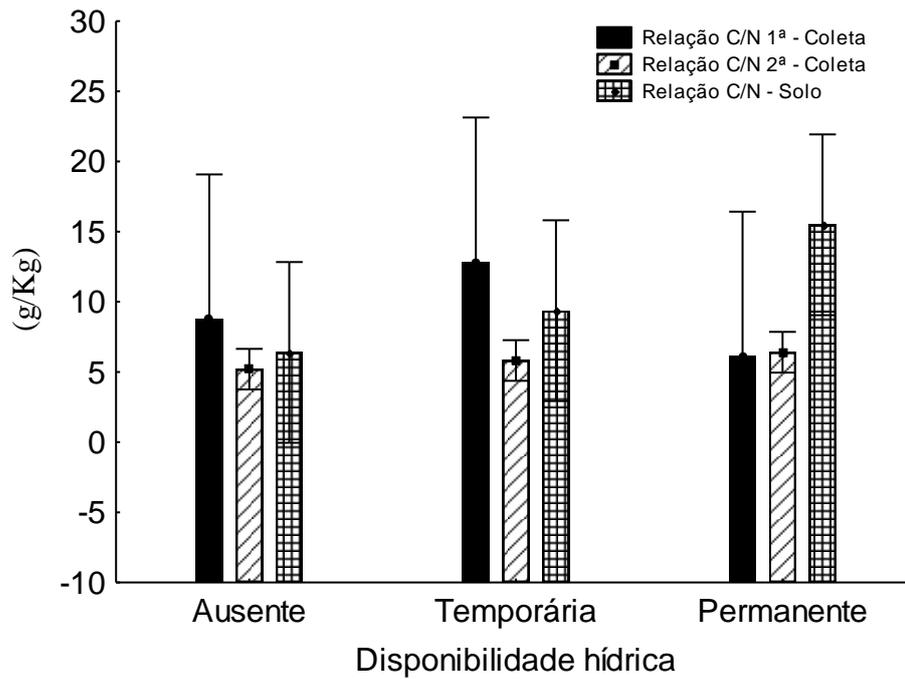
Amostras	Nutrientes do solo (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )						pH (H <sub>2</sub> O)	P (mg/dm <sup>3</sup> )	N (g/Kg <sup>1</sup> )	C (g/Kg <sup>1</sup> )	C/N* (p)	CTC (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	V (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )
	Ca	Mg	K	Na	Al	H							
A1	1,65	1,10	0,32	0,04	0	1,4	6,60	45	0,4	3,9	9,75:1	4,5	69
A2	8,50	1,25	1,00	0,08	0,05	4,81	5,40	19	1,4	13,5	9,64:1	15,7	69
A3	1,90	1,30	0,28	0,04	0	2,06	5,60	8	0,9	5,1	5,66:1	5,6	63
A4	1,45	1,20	0,28	0,03	0,05	2,5	5,50	11	0,8	4,8	3,69:1	5,5	54
A5	1,60	1,70	0,19	0,60	0,35	3,03	5,00	7	1,2	5,7	7,1:1	7,5	55
A6	2,40	1,10	0,18	0,03	0	1,15	7,10	6	1,5	3	2,5:1	4,9	76
T1	10,25	1,95	0,40	0,13	0	2,64	6,00	10	1,3	2	13,3:1	15,4	83
T2	13,15	3,45	0,33	0,27	0	2,06	6,00	7	0,9	11,4	8,7:1	19,3	89
T3	10,15	0,85	0,21	0,13	0	1,73	6,60	6	1,5	8,4	9,33:1	13,1	87
T4	2,40	0,70	0,20	0,03	0,1	3,61	5,40	19	1,5	7,2	4,8:1	7,0	47
T5	4,65	3,00	0,20	0,16	0	1,73	6,50	6	0,6	6	10:1	9,7	82
T6	1,15	0,50	0,11	0,03	0	0,74	6,60	10	0,6	6	10:1	2,5	71
P1	8,30	0,60	0,40	0,25	0	1,98	6,40	18	0,9	8,7	9,66:1	11,5	83
P2	9,90	3,85	0,37	3,90	0	0,41	6,80	11	0,7	2	28:1	18,4	98
P3	11,50	7,00	0,16	1,70	0	1,65	5,80	7	0,8	7,2	9:1	22	93
P4	2,35	1,05	0,35	0,07	0	2,14	6,00	14	0,8	5,1	6,37:1	6	64
P5	2,00	1,10	0,33	0,07	0	2,88	5,90	5	0,4	2,4	6:1	6,4	55
P6	21,10	7,65	0,23	39,00	0	0,08	7,50	46	0,6	2	33:1	68,1	**

**Tabela 3.** Porcentagem de Nitrogênio total, Carbono orgânico total, Relação C/N e Concentração de compostos fenólicos totais em *folhas Cnidoscopus quercifolius* nos tratamentos (A = ausência de rios; T = presença de rios água temporários; P = presença de rios permanentes) e períodos de coletas (1ª coleta fevereiro e 2ª coleta junho de 2013).

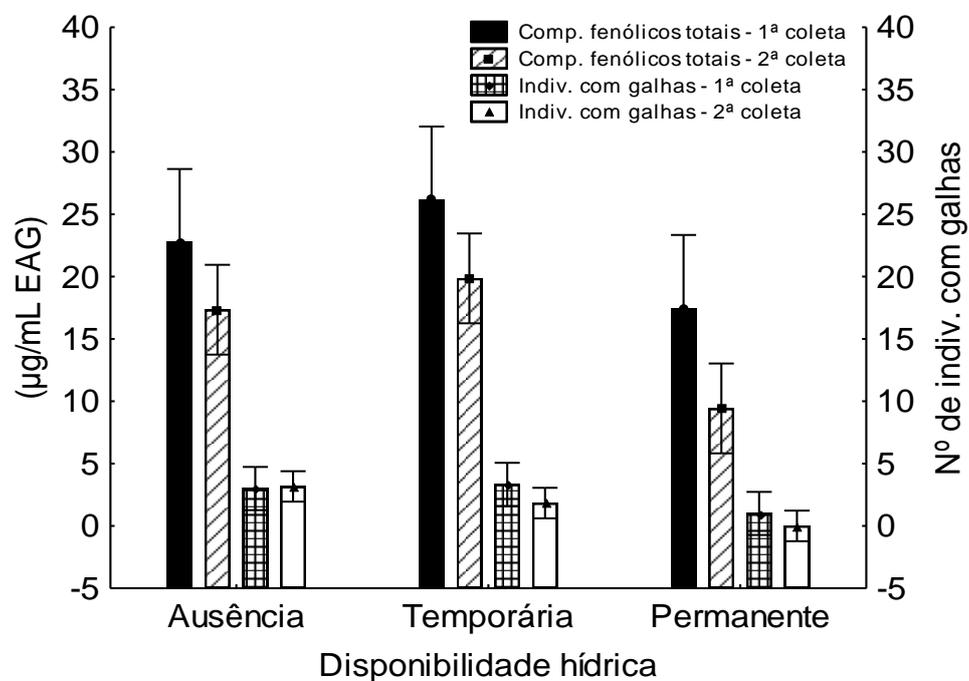
Tratamento	N(%)		C (%)		C/N (g/kg <sup>-1</sup> )		Compostos Fenólicos Totais (µg/mL EAG)	
	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª
A	4,75 ± 0,9	4,12±8,6	21,39±10,5	18,86±9,7	8,69±1,7	5,21±3,1	22,81± 0,2	17,04±6,7
T	3,65±20,1	3,87±15,2	18,78±5,2	23,77±5,3	5,63±1,4	5,82±1,3	26,82±11,6	19,28±6,7
P	3,84±17,8	3,48±11,2	23,41±1,4	21,47±14,5	6,13±2,0	5,20±2,7	17,47±5,4	9,3±6,9

**Tabela 4.** Porcentagem de ocorrência de galhas nos tratamentos (A = ausência de rios; T = presença de rios água temporários; P = presença de rios permanentes) e períodos diferentes (1ª coleta fevereiro e 2ª coleta junho de 2013).

Tratamentos coletas	% de ocorrência de galhas	
	1ª	2ª
A	56,52%	76%
T	65,38%	71,14%
P	20,68%	0%



**Figura 3.** Relação entre C/N do solo das áreas e o C/N das folhas de *Cnidoscopus quercifolius* coletadas nos tratamentos (A = ausência de rios; T = presença de rios água temporários; P = presença de rios permanentes) e períodos diferentes (1ª coleta fevereiro e 2ª coleta junho de 2013).



**Figura 4.** Compostos fenólicos totais e número de indivíduos com galha nas folhas de *Cnidoscopus quercifolius* coletadas nos tratamentos (A = ausência de rios; T = presença de rios água temporários; P = presença de rios permanentes) e períodos diferentes (1ª coleta fevereiro e 2ª coleta junho de 2013).