



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BACHARELADO)

MARIA CAROLINA TARGINO ROLIM

**HISTOQUÍMICA E FITOQUÍMICA DE GALHAS ENTOMÓGENAS DO PARQUE  
ECOLÓGICO DE SERRA NEGRA, EM BEZERROS, PERNAMBUCO.**

RECIFE

2023

MARIA CAROLINA TARGINO ROLIM

**HISTOQUÍMICA E FITOQUÍMICA DE GALHAS ENTOMÓGENAS DO PARQUE  
ECOLÓGICO DE SERRA NEGRA, EM BEZERROS, PERNAMBUCO.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à  
Coordenação do Curso de Bacharelado em Ciências  
Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco -  
UFPE, como um dos requisitos exigidos para obtenção do  
título de Bacharel em Ciências Biológicas

Orientadora: Profa. Dra Jarcilene Silva de Almeida.

**RECIFE**

**2023**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Rolim , Maria Carolina Targino .

Histoquímica e fitoquímica de galhas entomógenas do Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco. / Maria Carolina Targino Rolim . - Recife, 2023.

49p. : il., tab.

Orientador(a): Jarcilene Silva de Almeida

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2023.

1. Cecidógenos . 2. Compostos fenólicos . 3. Defesa vegetal . 4. Herbivoria . I. Almeida , Jarcilene Silva de . (Orientação). II. Título.

580 CDD (22.ed.)

MARIA CAROLINA TARGINO ROLIM

**HISTOQUÍMICA E FITOQUÍMICA DE GALHAS ENTOMÓGENAS DO PARQUE  
ECOLÓGICO DE SERRA NEGRA, EM BEZERROS, PERNAMBUCO.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à  
Coordenação do Curso de Bacharelado em Ciências  
Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco -  
UFPE, como um dos requisitos exigidos para obtenção do  
título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 24/08/2023

Nota: 9,1

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Jarcilene Silva de Almeida (Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Antônio Fernando Morais de Oliveira  
Universidade Federal de Pernambuco

---

MSc. Áurea Nascimento de Siqueira Mesquita  
Universidade Federal de Pernambuco

*Dedico este trabalho aos meus pais,  
meus irmãos e ao meu avô (in  
memoriam).*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por toda Sua bondade para comigo. Tua graça e misericórdia me sustentou desde o meu nascimento.

Agradeço a minha família, meus pais Josilene e Joaquim, por tantos ensinamentos, amor e carinho. Obrigada por fortalecerem esse sonho. Sem vocês, nada disso seria possível. Agradeço aos meus irmãos por estarem presentes em todos os momentos da minha vida, Stephannie e João Victor. Vocês foram essenciais para a conclusão dessa fase. Para vocês, todo meu amor, admiração e gratidão.

Agradeço às minhas tias Jaqueline e Socorro por toda bondade e carinho. Agradeço a minha prima/irmã Joseany por estar presente mesmo de longe.

Agradeço a dona Claudinha e Julis por tanta torcida e apoio. Vocês tornaram essa fase da minha vida mais leve.

Agradeço à minha orientadora, professora Jarcilene Almeida, por toda cumplicidade e empatia. A senhora é um verdadeiro exemplo de orientadora. Obrigada por tanta paciência em me ouvir e por toda sua disposição. Jamais esquecerei de todo seu esforço nas trilhas e nos campos.

Agradeço a professora Emília Arruda por ter topado me ajudar e auxiliar nesse processo. Gratidão por toda disponibilidade.

Agradeço ao professor Antônio Fernando por ter me ajudado na fase final dos testes fitoquímicos.

Agradeço a minha parceira de laboratório, Rayana, por tanta cumplicidade, paciência e carinho. Você foi uma das minhas primeiras amigas na faculdade e desde o início sempre estivemos juntas em todos os desafios da faculdade.

Agradeço aos meus amigos que ganhei ao longo dos 4 anos na UFPE, Celine, Natacha, Lucas, Jéssica, Marta, Pedro, Alice, Andressa, Poliana, Isolda, Luiza dentre tantos outros que fizeram da minha graduação um dos melhores momentos da minha vida.

Agradeço a Universidade Federal de Pernambuco por ter me acolhido tão bem e por ter sido um verdadeiro lar ao longo desses anos.

E, por fim, agradeço ao LAVEg, LEAF e LIM, especificamente aos meus amigos do LIM que me apoiaram na fase final do TCC. Apenas gratidão por todos vocês!

## RESUMO

A herbivoria possui influência no que se refere à diversidade de plantas, atuando na abundância das plantas e na conexão das interações no ambiente. Plantas e insetos coevoluíram e desenvolveram algumas estratégias para interferir no sistema de defesa um do outro, em nível químico, morfológico e molecular. Um tipo de relação característica entre plantas e herbívoros marcada por alterações no tecido da planta hospedeira são denominadas galhas. Neste trabalho registra-se a ocorrência de galhas, galhadores, em plantas coletadas ao longo da trilha principal do Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco. Como resultado foram coletadas galhas de folhas, caule e órgãos reprodutivos (fruto) de quatro famílias distintas. Os principais indutores foram obtidos insetos da família Cecidomyiidae (Diptera). Os testes histoquímicos detectaram a presença de estruturas de defesa, por exemplo, taninos, em diferentes regiões das galhas, substâncias lipídicas próximas às câmaras larvais e também carboidratos (amido). Nas análises fitoquímicas indicaram a presença de compostos fenólicos, alcaloides e saponinas. No que se refere aos dados da espectrofotometria de UV/VIS, percebeu-se que, em geral, os tecidos com galhas apresentaram maiores concentrações de fenóis totais. Os resultados deste trabalho contribuem para aumento do conhecimento sobre a diversidade de plantas hospedeiras e insetos galhadores associados à vegetação de brejo de altitude.

**Palavras-chaves:** Cecidógenos; Compostos fenólicos; Defesa vegetal; Herbivoria.

## **ABSTRACT**

Herbivory has an influence on plant diversity, acting on plant abundance and connecting interactions in the environment. Plants and insects coevolved and developed some strategies to interfere with each other's defense systems, at a chemical, morphological and molecular level. A type of characteristic relationship between plants and herbivores marked by changes in the tissue of the host plant are called galls. In this work, the occurrence of galls, gallers, on plants collected along the main trail of the Serra Negra Ecological Park, in Bezerros, Pernambuco, is recorded. As a result, galls were collected from leaves, stems and reproductive organs (fruit) from four different families. The main inducers were obtained from insects from the Cecidomyiidae family (Diptera). Histochemical tests detected the presence of defense structures, for example, tannins, in different regions of the galls, lipid substances close to the larval chambers and also carbohydrates (starch). Phytochemical analyzes indicated the presence of phenolic compounds, alkaloids and saponins. Regarding UV/VIS spectrophotometry data, it was noticed that, in general, tissues with galls presented higher concentrations of total phenols. The results of this work contribute to increasing knowledge about the diversity of host plants and galling insects associated with high-altitude swamp vegetation.

**Keywords:** Cecidogenes; Phenolics compounds; Plant defense; Herbivory.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Localização do Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco.	19
Figura 2 –	Início da trilha do Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco.	20
Figura 3 –	Teste para detecção de saponinas.	24
Gráfico 1 –	Curva padrão de ácido gálico para determinação de compostos fenólicos dos extratos das galhas.	26
Figura 4 –	Características morfológicas de galhas entomógenas coletadas no Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco.	30
Figura 5 –	Testes histoquímicos de galhas entomógenas coletadas no Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco.	32
Gráfico 2 –	Percentual de substâncias da histoquímica de galhas entomógenas coletadas no Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco.	33
Figura 6 –	Cromatografia em camada delgada utilizando extratos de folhas com e sem galhas.	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Reagentes utilizados para realização dos testes histoquímicos e o respectivo grupo metabólico que são capazes de identificar.	22
Tabela 2 – Escala utilizada para construção da matriz numérica e dos gráficos das análises histoquímicas.	23
Tabela 3 – Testes para presença ou ausência de compostos fenólicos e alcalóides.	35
Tabela 4 – Teste para presença de saponinas de extratos com galhas e sem galhas .	36
Tabela 5 – Teor de fenóis totais dos extratos pelo método espectrofotométrico	40

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

GC	Galha caulinar
GF	Galha foliar
GR	Galha reprodutiva
S/G	Sem galha

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	13
3	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
	3.1 Herbivoria .....	14
	3.2 Galhas .....	15
	3.3 Mecanismos de defesa da planta .....	16
	3.4 Brejos de altitude .....	18
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	19
	4.1 Área de estudo .....	20
	4.2 Coleta e processamento do material coletado .....	20
	4.3 Histoquímica .....	21
	4.4 Fitoquímica .....	23
	4.4.1 Detecção de compostos fenólicos e alcalóides .....	23
	4.4.2 Detecção de saponinas .....	24
	4.4.3 Cromatografia em camada delgada .....	25
	4.4.4 Espectrofotometria <i>de UV/VIS</i> .....	25
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	27
	5.1 Plantas hospedeiras .....	27
	5.2 Descrição das galhas .....	29
	5.4 Testes histoquímicos .....	30
	5.5 Análise fitoquímica .....	34
	5.5.1 Detecção de compostos fenólicos e alcalóides .....	34
	5.5.2 Detecção de saponinas .....	35
	5.5.3 Cromatografia em camada delgada .....	37
	5.5.4 Quantificação de compostos fenólicos .....	38
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	41
7	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	42

## 1. INTRODUÇÃO

As interações ecológicas têm sido bastante estudadas visto que fornecem importantes informações sobre as comunidades. Essas interações formam uma teia onde todos os indivíduos envolvidos são afetados ou beneficiados mutuamente (Del-Claro, 1998). Nessa perspectiva, a interação entre galha-planta é considerada por alguns especialistas como uma relação desarmônica parasitária, visto que o inseto galhador obtém benefícios da planta, mas causa consequências negativas para a planta hospedeira (Mani, 1964).

As plantas e insetos coevoluíram e desenvolveram algumas estratégias para interferir no sistema de defesa um do outro. Estas estratégias são caracterizadas por mudanças químicas, morfológicas e moleculares (Howe e Jander, 2008). Portanto, uma das estratégias das plantas é a capacidade de produzir compostos químicos que são essenciais para a manutenção do metabolismo primário e secundário, onde estes compostos desempenham uma importante influência entre a interação planta-animal (Edwards e Wratten, 1981). Vegetais que têm a ocorrência de galhas apresentam um maior acúmulo de compostos secundários já que essa modificação é uma característica química da planta (Ferreira *et al.*, 2007).

A partir desse contexto, o presente estudo foi realizado em um brejo de altitude, no Parque Ecológico de Serra Negra, localizado no município de Bezerros no estado de Pernambuco. Portanto, partindo-se da hipótese de que plantas galhadas possuem maiores concentrações de compostos secundários, este trabalho possui como principal objetivo a realização da histoquímica e fitoquímica de galhas entomógenas para identificar quais aspectos histoquímicos e fitoquímicos são semelhantes e/ou distintos entre diferentes gêneros de plantas coletadas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

- Analisar histoquímica e fitoquimicamente as galhas entomógenas mais abundantes das plantas hospedeiras, coletadas no Parque Ecológico de Serra Negra.

### 2.2. Objetivos específicos

- Identificar o gênero e/ou a família das plantas hospedeiras e os insetos indutores das galhas, ao menor nível taxonômico;
- Caracterizar a histoquímica nos tecidos das galhas para identificar possíveis alterações;
- Identificar a presença ou ausência de determinados compostos secundários através de testes fitoquímicos;
- Avaliar a composição química dos tecidos das galhas e entender suas estratégias relacionadas à nutrição e proteção no que se refere à interação planta-animal.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Herbivoria

O equilíbrio entre os ecossistemas depende de inúmeros fatores, destacando-se entre eles as relações ecológicas entre os organismos. Essas relações desejam atender as condições básicas para a sobrevivência dos seres vivos, por exemplo, otimização dos processos de nutrição como também de reprodução (Macedo *et al.*, 2005).

Estudos que tratam sobre as redes multitróficas têm crescido nos últimos anos, na busca para compreender a dinâmica entre comunidades de plantas e os herbívoros (Dáttilo; Rico-Gray, 2018; Claro; Siligardi, 2009). A herbivoria é considerada como uma das maiores interações planta-animal existentes, na qual o animal alimenta-se do vegetal, sendo os animais (consumidores primários) e as plantas (produtores primários), que conferem consequências negativas no desenvolvimento e manutenção em uma população, além de consequências positivas em outras (Cornelissen; Fernandes, 2003). Essa relação inseto-planta, permite o desenvolvimento de importantes interações no ambiente, tendo forte influência nos serviços ecossistêmicos (Ricklefs; Relyea, 2016).

A herbivoria possui influência no que se refere à diversidade de plantas, visto que atua na abundância das plantas e na conexão das interações no ambiente (Ohgushi, 2005). O impacto que os herbívoros têm na adaptação das plantas é o reflexo de um longo processo da interação existente entre eles. Portanto, as plantas podem ser submetidas a diferentes estados de danos desde o início do seu desenvolvimento até a fase mais madura (Tiffin, 2002).

Os insetos que participam dessa interação planta-animal, herbivoria, podem ser classificados de acordo com sua preferência alimentar, aqueles insetos que apresentam uma íntima relação com apenas uma espécie de planta, são denominados como galhadores (Gullan e Cranston, 1998). Em contrapartida, uma única planta possui a capacidade de abrigar galhas induzidas por diferentes insetos indutores (Mani, 1964). Os insetos que têm as plantas como principal fonte de alimentação são, geralmente, pertencentes às ordens: Orthoptera, Phasmida, Hemiptera, homoptera, hymenoptera, Diptera, Lepidoptera, Thysanoptera e Coleoptera (Edwards e Wratten, 1981).

### 3.2 Galhas

Um tipo de relação característica entre plantas e artrópodes herbívoros pode ser estabelecida por alterações no tecido da planta hospedeira permeada pela presença de insetos larvais situados no mesófilo da folha, sendo denominada como galhas (Schoonhoven *et al.*, 2005). Essas alterações, conhecidas como galhas entomógenas, simbolizam a mais específica associação entre a entomofauna de herbívoros e seus hospedeiros, no caso, as plantas (Mani, 1964).

A ocorrência de galhas entomógenas pode ocorrer por toda a planta, incluindo raízes, caules, folhas e partes reprodutivas (Mani, 1964). No entanto, as galhas são mais comuns nos ramos e nas folhas, sendo mais predominantes nas famílias botânicas, destacando-se, Fabaceae, Asteraceae, Melastomataceae, Myrtaceae e Solanaceae (Houard, 1933; Mendonça, 2007; Julião *et al.*, 2007).

Partindo dessa perspectiva, algumas hipóteses têm sido propostas para elucidar a origem e evolução das galhas. Dentre estas, três têm se destacado na literatura, sendo chamadas de estresse hídricos, proteção contra predadores e nutrição (Price *et al.*, 1987). Um estudo realizado por Fernandes e Price (1988) retrata que o estresse hídrico pode influenciar o desenvolvimento das galhas. Em contrapartida, alguns estudos retratam que o hábito endofítico, ou seja, o desenvolvimento no interior da galha, possibilita uma maior proteção contra inimigos naturais, sendo uma hipótese pertinente para, possivelmente, explicar a origem e evolução das galhas. E em relação ao processo de nutrição, as galhas podem ter sofrido influência no seu desenvolvimento em decorrência do índice de concentrações nutricionais da planta, conforme descrito por Shannon e Brewer (1980).

Em relação aos principais insetos indutores, nota-se que a maioria pertence à família Cecidomyiidae. De acordo com Raman *et al.*, (2005), há o conhecimento de mais de 13.000 espécies de insetos da família Cecidomyiidae, representando cerca de 2% da riqueza de insetos. No entanto, esse número já foi modificado e algumas estimativas afirmam que o número de insetos galhadores encontra-se acima de 130.000 (Espírito Santo e Fernandes, 2007).

As galhas induzidas por insetos são variadas em inúmeros caracteres, como: estrutura química, cor, formato, tamanho, número no ambiente, resistência e dentre outros. As galhas mais simples possuem características morfológicas menos

elaboradas, podendo ser comparadas com pequenas projeções localizadas nas folhas ou no caule. Em contrapartida, galhas mais complexas possuem suas características mais elaboradas, por exemplo, presença de tricomas que possuem a função de defesa (Fernandes, 1987). Diante do exposto, os caracteres morfológicos das galhas são moderados por seus insetos indutores (Nyman *et al.*, 2000) e a histoquímica dos tecidos das galhas varia, na maioria das vezes, em relação à morfologia da galha, o hábito alimentar do inseto e também do índice de modificações do inseto galhador (Oliveira *et al.*, 2016)

### 3.3 Mecanismos de defesa da planta

Através de alguns estudos, pode-se perceber que os insetos formadores de galhas possuem a capacidade de interferir no desenvolvimento dos tecidos das plantas. Cada inseto indutor faz com que os tecidos das plantas sejam modificados em formatos distintos, elaborando estruturas características e específicas da espécie indutora (Meyer, 1987). Dessa forma, as características do inseto indutor são importantes visto que podem coordenar as propriedades químicas das galhas (Nyman; Julkunen-Tiitto, 2000).

A histoquímica tem sido utilizada como um importante recurso para comprovar e detectar classes de metabólitos de uma planta. Esta técnica é fundamentada na utilização de reagentes cito ou químico-histológicos antecipadamente estabelecidos, possibilitando a localização de alguns grupos metabólitos vegetais (Dôres, 2007). As análises histoquímicas têm sido utilizadas como um ótimo parâmetro para o aprendizado dos gradientes das funcionalidades de galhas, especificamente, no que se refere à percepção de metabólitos primários (Nyman, 2000).

De acordo com Esposito-Polesi e colaboradores (2013), às células das plantas produzem diferentes tipos de substâncias que apresentam um alto valor no que se refere a taxonomia e filogenia. Alguns desses compostos, produzidos pelas plantas, são importantes na atuação de processos ecológicos, por exemplo, polinização, dispersão de frutos e sementes assim como na simbiose das raízes. Ademais, outros compostos possuem uma importante função na estrutura das plantas, como a lignina.

Os metabólitos primários, como proteínas, lipídios, ácidos nucléicos e polissacarídeos são caracterizados por apresentarem uma alta importância no que se refere ao desenvolvimento e crescimento do vegetal (Taiz e Zeiger, 2006). Os tecidos onde são encontrados insetos galhadores, na maioria das vezes, induzidos por insetos cecidomiídeos, possuem como principais características altas taxa de citoplasma, organelas citoplasmáticas, riqueza de RNA e um alto agregado de açúcares (Bronner, 1992).

Assim como a histoquímica, a fitoquímica é uma importante área da ciência que estuda as estruturas químicas das plantas, desde suas características moleculares até as características das suas estruturas biológicas, tendo como principal objetivo a elucidação dos compostos dos metabólitos secundários, sendo também importante para analisar os princípios ativos, odores, pigmentos e a capacidade medicinal da planta (Vizzotto *et al.*, 2010).

Os metabólitos citados anteriormente, os secundários, possuem a função de promover a defesa das plantas no ambiente, sendo estes divididos em três grupos: compostos fenólicos, nitrogenados e terpenóides (Taiz e Zeiger, 2006). É a partir desses compostos secundários que as plantas desenvolvem a capacidade de reagir e se defenderem quimicamente contra o ataque de herbívoros

Os metabólitos secundários, em específicos, os fenólicos, base carbono, é a classe de substâncias mais estudadas na relação entre insetos galhadores e as plantas (Soares *et al.*, 2000), estes compostos são caracterizados por ser um grupo de substância que possuem uma íntima relação com as galhas já que promovem a defesa da planta contra o ataque de possíveis herbívoros (Santos, 2014).

O aumento na formação de compostos fenólicos na planta, pode promover proteção aos insetos indutores, ainda na fase larval, proteção contra o ataque de predadores e/ou parasitóides, assim como reduzir a competição com outros insetos que não são adaptados a química do tecido da planta (Cornell, 1983)

Nessa mesma perspectiva, a influência da planta hospedeira pelo indutor da galha pode interferir nos aspectos químicos do tecido da galha. O tecido de armazenamento, de plantas não galhadas, na maioria das vezes, é caracterizado por apresentar um alto índice de nutrientes e baixo em compostos secundários quando comparado com o tecido de plantas galhadas (Price *et al.*, 1986). Dessa forma, deve-se analisar se plantas galhadas possuem mais compostos secundários quando comparadas com plantas não galhadas.

### 3.4 Brejos de altitude

A Caatinga apresenta uma área por volta de 8000.000 km<sup>2</sup>, englobando os estados de Pernambuco, Alagoas, Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí, Sergipe, Minas Gerais e Bahia (Ab' Saber, 1977). O domínio fitogeográfico do Agreste de Pernambuco é constituído por uma vegetação semiárida principal denominada Caatinga em alguns locais específicos, enquanto uma outra parcela mais abundante, sustentada pelos ventos úmidos e altitude, é denominada como Brejo de Altitude (Lima, 1996).

Segundo Sobrinho (1971), os brejos de altitude são caracterizados como ilhas florestais úmidas circundadas por uma vegetação típica da caatinga, constituída por espécies de mata atlântica. Estes brejos de altitude são considerados como um dos melhores modelos que restaram da riqueza da flora em virtude das intensas modificações no ambiente ao longo dos anos, em decorrência das atividades humanas para fins econômicos (Rodal *et al.*, 1998). A Reserva Biológica de Serra Negra encontra-se situada no semiárido de Pernambuco, entre as cidades vizinhas de Floresta e Inajá. Além disso, é caracterizada por apresentar 1.1000 ha (8°35'-8°38' S e 38°02'- 38°04' W), sendo considerada a única unidade de conservação serrana do estado de Pernambuco, localizada no município de Bezerros. Segundo o Decreto Federal nº 87.591, a Reserva Biológica de Serra Negra foi constituída em 20 de setembro de 1982 (IBAMA, 1989).

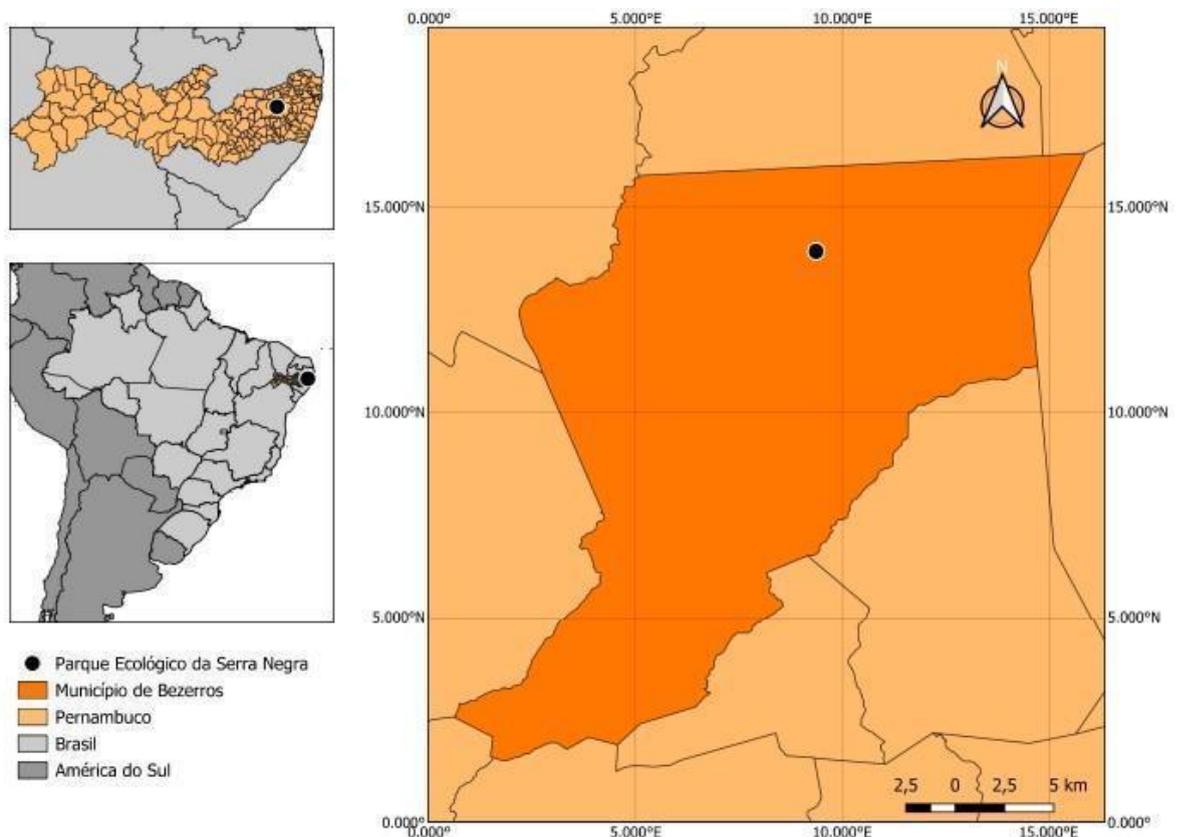
A Reserva Biológica de Serra Negra diferencia-se do ambiente que a circunda devido às características que envolvem o relevo e condições climáticas. Dessa forma, tornou-se uma área de alta importância para a preservação ambiental, já que se encontra inserida em uma região de clima semiárido (Lemos, 2020). Em virtude do clima mais úmido, os brejos de altitude possuem uma vegetação mais fechada e solos mais avançados, sendo assim muito procurados para a prática e desenvolvimento de pequenas propriedades rurais e para sustento das práticas de subsistência (Gois *et al.*, 2019).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Área de estudo

O presente estudo foi realizado no Parque Ecológico de Serra Negra, localizado no município de Bezerros do estado de Pernambuco (Figura 1). O Parque Ecológico de Serra Negra encontra-se inserido em um Brejo de Altitude. De acordo com Lima (1960), entende-se como brejo de altitude fragmentos da floresta tropical perenifólia, inseridos dentro da caatinga. Percebe-se que ao longo dos últimos anos, houve um aumento significativo relacionado aos estudos da vegetação dos brejos de altitude de Pernambuco. Isso porque alguns pesquisadores já observaram que estes brejos possuem um elevado índice de endemismo, de riqueza e de diversidade (Nascimento e Rodal, 2008). Dessa forma, destaca-se o Parque Ecológico de Serra Negra que se encontra inserido em uma região de transição.

**Figura 1:** Localização do Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco.



Fonte: A autora (2023).

**Figura 2:** Início da trilha do Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco.



Fonte: A autora (2023).

#### 4.2 Coleta e processamento do material coletado

As coletas foram realizadas ao longo da trilha principal do Parque Ecológico de Serra Negra nos meses de janeiro e abril. Foram coletados ramos com as galhas que foram visualizadas em um esforço amostral de 3h de caminhada e inspeção dos indivíduos localizados nas duas margens da trilha. Além da coleta das folhas, galhas foliares e reprodutivas, foram coletados material reprodutivo a fim de facilitar a identificação da espécie. Todo o material foi colocado em sacos de papel e sacos plásticos e foram transportados para o Laboratório de Interações Multitróficas (LIM), pertencente ao Departamento de Botânica do Centro de Biociências (UFPE).

No laboratório o material passou por um processo de triagem, no qual foi separado o material com galhas para a obtenção de toda entomofauna relacionada. Uma parte do material com presença de galhas foi transferido para sacos plásticos com vedação, tipo ziploc, e etiquetado com suas respectivas informações da coleta. Para a obtenção da entomofauna, os sacos plásticos vedados e etiquetados foram deixados em temperatura ambiente e observados diariamente por sete dias ou até

que pudesse ser visualizada a saída dos insetos indutores, parasitóides e/ou inquilinos, assim visando a identificação de cada um de acordo com a metodologia descrita em Almeida *et al.*, (2003). A identificação do inseto foi realizada através de auxílio de microscópio estereoscópico por comparação através da consulta de estudos já realizados.

Posteriormente, as folhas e galhas foram armazenadas em freezer, em temperatura abaixo de 10°C, para que o material fosse conservado e tivesse suas condições fisiológicas mantidas o mais próximo do parâmetro normal, possibilitando assim a realização das análises histoquímicas e fitoquímicas.

### 4.3 Histoquímica

Uma parte do material coletado foi destinado às análises histoquímicas, o qual foi fixado em FAA 50 (Formaldeído, Ácido acético e Álcool etílico) por 48 horas e preservado em etanol 70% (Johansen, 1940).

Para o preparo das lâminas para análises em microscópio óptico, este material foi submetido à cortes transversais à mão com auxílio de giletes, na região mediana das galhas, os quais foram clarificados com hipoclorito de sódio (água sanitária), lavados em água destilada e em ácido acético 2%. Os cortes foram montados em lâminas semi-permanentes com glicerina 50% (Purvis *et al.*, 1964).

Essa técnica foi utilizada para análise geral e descrição das galhas para detecção de lipídios, amido, fenóis, alcaloides e taninos, conforme a tabela 1. Este processo foi utilizado para avaliar a composição química dos tecidos das galhas e entender suas estratégias relacionadas à nutrição e proteção no que se refere à interação planta-animal.

**Tabela 1:** Reagentes utilizados para realização dos testes histoquímicos e o respectivo grupo metabólico que são capazes de identificar.

<b>Grupos metabólicos</b>	<b>Reagentes</b>	<b>Reação positiva</b>	<b>Relação planta-animal (Função)</b>	<b>Referência</b>
Lipídios (Intracelulares)	Sudan III	Vermelho alaranjado	Nutrição	Sass (1951)
Carboidrato (Amido)	Lugol	Azul escuro, marrom	Nutrição	Johansen (1940)
Fenóis	Cloreto férrico	Verde intenso, vermelho alaranjado, azul intenso	Proteção	Johansen (1940)
Alcaloides	Reagente de Wagner	Laranja a castanho avermelhado	Proteção	Furr e Malberg (1981)
Fenóis (taninos)	Vanilina clorídrica	Vermelho a castanho	Proteção	Mace e Howell (1974) e Gardner (1975)

Fonte: A autora (2023).

Após o uso dos reagentes acima descritos, foi utilizada uma escala de ausência e presença descrita na tabela 2, cuja identificação da presença/ausência e intensidade dos compostos químicos foi transformada em uma matriz numérica, representada no gráfico 2.

**Tabela 2:** Escala utilizada para construção da matriz numérica e dos gráficos das análises histoquímicas.

Quantidade de células corados <sup>1</sup>	Presença e ausência	Simbologia (Intensidade)	Conversão numérica (matriz)
Nenhum	Ausente	-	0
1-5	Presente	+	1
6-10	Presente	++	2
Acima de 11	Presente	+++	3

Fonte: A autora (2023).

<sup>1</sup>Contagem realizada nas lâminas histológicas para as quatro espécies estudadas.

Em relação a análise de lâmina e dos dados, as observações do material e o registro fotográfico foram feitos em microscópio óptico Leica DM750 com câmera acoplada ICCS50 e Zeiss.

#### 4.4 Fitoquímica

Para a realização da fitoquímica, as galhas foram colocadas na estufa durante, aproximadamente, 48 horas, sendo este tempo o suficiente para deixar todo o material desidratado para o processo da maceração. A maceração foi realizada com o auxílio de um pistilo, a fim homogeneizar e reduzir a amostra mais fina possível para que pudesse ser realizado o extrato a fim de identificar a presença ou ausência dos compostos secundários. Posteriormente, foram realizados alguns testes, os quais são caracterizados por identificar a presença ou ausência de substâncias fenólicas, alcaloides e saponinas.

##### 4.4.1 Detecção de compostos fenólicos e alcaloides

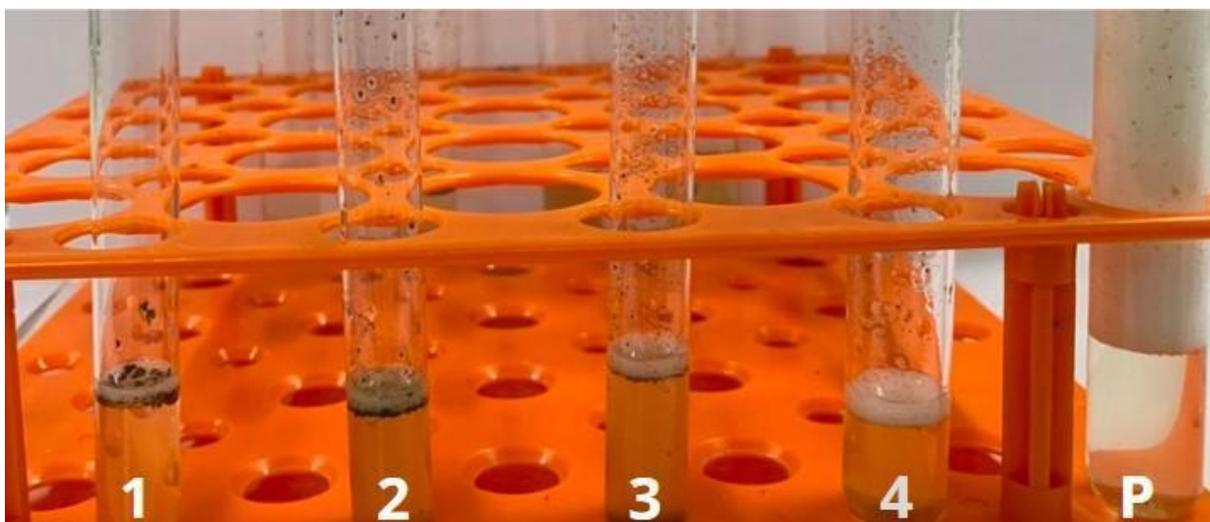
Para a detecção de compostos fenólicos e de alcaloides, as galhas maceradas foram colocadas dentro de tubos de ensaio onde, posteriormente, houve a adição de, aproximadamente, 4 mL de etanol. Após esse processo, foram

adicionadas 10 gotas do extrato sobre um vidro de relógio e 5 gotas de cada reagente. O cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) foi utilizado como o reagente para a detecção de compostos fenólicos. A cor mais intensa indica que a substância testada possui a maior concentração de fenóis. Enquanto o HCL(1%) e o reagente de *Dragendorff* foram utilizados para detectar a presença de alcaloides, tendo o butilbrometo de escopolamina, conhecido popularmente como Buscopan, como padrão. A cor mais intensa (laranja), seguida de precipitado, indica a presença de alcalóides.

#### 4.4.2. Detecção de saponinas

A metodologia baseou-se em um estudo realizado por Sousa *et al.* (2018), com algumas modificações. Em tubos de ensaio foi adicionado, em média, 2g das amostras maceradas e cerca de 3mL de água. Após essa etapa, cada tubo de ensaio foi agitado por 15s. As amostras que apresentaram espumas após a agitação indicam que há saponinas em sua composição. Para a amostra controle, foi utilizada uma pequena quantidade da casca de *Ziziphus joazeiro*, conhecido popularmente como Juá, visto que essa espécie é caracterizada por ser rica em saponinas.

**Figura 3:** Teste para detecção de saponinas



Fonte: A autora (2023).

1, 2, 3, 4- Galhas foliares

P- Amostra padrão positivo para presença de saponinas

#### 4.4.3 *Cromatografia em camada delgada*

Em pequenos frascos de vidro foi adicionado, aproximadamente, 2g de material macerado com e sem galha e cerca de 3mL de metanol para o preparo da amostra. Após essa etapa, com o auxílio de um capilar, a amostra foi aplicada três vezes consecutivas na parte inferior da placa. Em seguida, após um período de 15 minutos, foi analisada a fase móvel da cromatografia para identificar a variedade de compostos fenólicos presentes em cada amostra. Em relação ao revelador utilizado nessa análise, para a observação na luz violeta, foi o Reagente de Neu e o composto usado como padrão foi a Quercetina. A técnica foi baseada em acordo com Wagner e Bladt propôs em seu livro (1996).

#### 4.4.4 *Espectrofotometria de UV/VIS*

##### Extração

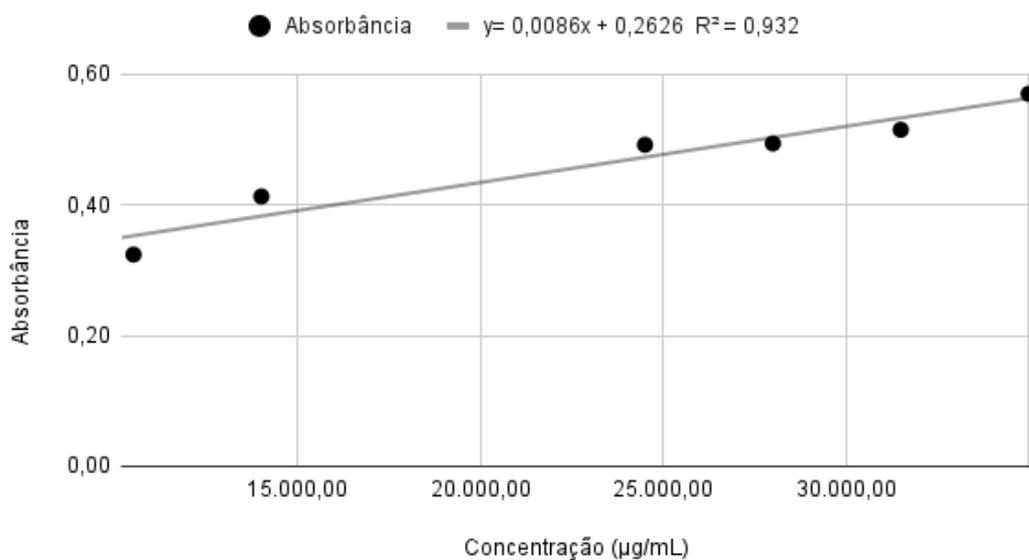
Para a quantificação de fenóis totais, inicialmente, houve a pesagem de, aproximadamente, 100g de material com galhas maceradas, onde foi adicionado 10mL de metanol 80%, em tubos de ensaio, aquecidos a 70°C por 30min. Posteriormente, foi filtrado o sobrenadante para um balão volumétrico de 50mL, sendo esse processo repetido com 10mL de metanol 80%, onde foi adicionado metanol até preencher o balão volumétrico em 50mL.

##### Doseamento: método Follin-Ciocalteu

Foi utilizado o método espectrofotométrico descrito por Waterman e Mole (1994), com algumas modificações. Em tubos de ensaios foi acrescentado 3,9 mL de água destilada, 0,1 mL do extrato descrito anteriormente, 0,25 mL do reagente Folin-Ciocalteu(10%), 0,75 mL da solução de Carbonato de Sódio (20%) onde após 1 hora essa reação foi analisada no espectrofotômetro em 760nm. O teor de fenóis totais foi expresso em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g)

Foi utilizada uma solução padrão de ácido gálico (17,5mg em 50 mL de metanol 80%), com concentrações finais de 10 a 350  $\mu\text{g/mL}$ . A equação da reta obtida foi  $y = 0,0086x + 0,2626$  com  $R^2 = 0,932$  (gráfico 1)

**Gráfico 1:** Curva padrão de ácido gálico para determinação de compostos fenólicos dos extratos das galhas.



Fonte: A autora (2023).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Plantas hospedeiras

A partir da coleta realizada foram identificadas quatro espécies distintas de plantas que continham galhas, estas ocorrendo em folhas, caule e frutos. A maioria das galhas coletadas ocorreram em folhas e em menor número em órgãos reprodutivos. A identificação das espécies das plantas ocorreu baseada através de listas de espécies e também por meio das características reprodutivas do material, onde foi possível identificar espécies representantes da família Bromeliaceae, dos gêneros *Ouratea*, *Erythroxylum* e *Aspidosperma cuspa*. Uma das espécies que continha galhas foi coletada, mas não foi possível de ser identificada em virtude da falta de material reprodutivo. Nos itens a seguir, serão destacadas algumas das características principais das plantas hospedeiras.

#### 5.1.1 *Ouratea*

*Ouratea* é um gênero que pertence à família Ochnaceae, sendo as espécies dessa família caracterizadas por apresentarem hábitos de vida variado, por exemplo, herbáceo, arbóreo e subarbustivo. A disposição das folhas é simples e alterna. No Brasil, essa família encontra-se dividida em 13 gêneros (Chacon, 2011), destacando-se o gênero *Ouratea* no vigente trabalho. Este gênero é caracterizado por apresentar algumas características químicas importantes, como pode ser observado no trabalho realizado por Vieira *et al.* (2021). Neste estudo, foi possível identificar a composição histoquímica dos tecidos das galhas, assim como as características da câmara larval. O trabalho realizado por Maia (2022) relatou as características morfológicas de uma espécie de *Ouratea*, destacando a presença dos cecidomiídeos como insetos indutores.

#### 5.1.2 *Erythroxylum*

O gênero *Erythroxylum* pertence à família Erythroxylaceae e é representado por árvores, arbustos e subarbustos, englobando quatro gêneros, sendo representado por mais de 230 espécies. A sua distribuição é ampla, sendo bastante

encontrada no Brasil, Venezuela e Madagascar (Albuquerque *et al.*, 2014). Para este gênero, pode-se destacar o trabalho de Maia e Fernandes (2011) que retrata sobre as principais características das galhas de uma espécie do gênero *Erythroxylum* e a nova ocorrência de duas novas espécies de insetos galhadores da família dos cecidomiídeos, sendo estes os possíveis indutores das galhas desse gênero no presente estudo.

### 5.1.3 *Aspidosperma cuspa*

O gênero *Aspidosperma*, pertencente à família Apocynaceae, possui como principal característica química a presença constante de alcaloides indólicos (Bolzani, 1987). Na literatura existem alguns trabalhos relacionados com a histoquímica de galhas no gênero *Aspidosperma*, destacando-se *Isaias et al. (2012)*, *Dias et al. (2013)*, *Malenovsky et al. (2015)*. Dentre a fitoquímica destaca-se *Alves et al. (2014)*. Os trabalhos citados acima tratam sobre a importância do gênero no que se refere às suas propriedades físico-químicas. O gênero *Aspidosperma* tem se tornado importante no que se refere aos estudos histoquímicos e fitoquímicos de galhas visto que espécies de *Aspidosperma* são caracterizadas por apresentarem a produção de metabólitos oriundos pela via do ácido chiquimato, especificamente, os taninos e os alcaloides (Lorenzi, 1998).

### 5.1.4 Bromeliaceae

A família Bromeliaceae é caracterizada por apresentar mais de 50 gêneros e mais de 2000 espécies distribuídas em diferentes regiões tropicais. Este gênero é amplamente conhecido em virtude da sua exuberante beleza que apresenta importância para fins ornamentais (Kubtzki, 1998). Existem literaturas que retratam a presença de galhas nessa família (*Bregonci et al. 2010*). No entanto, ainda são escassos estudos acerca de galhas nessa família.

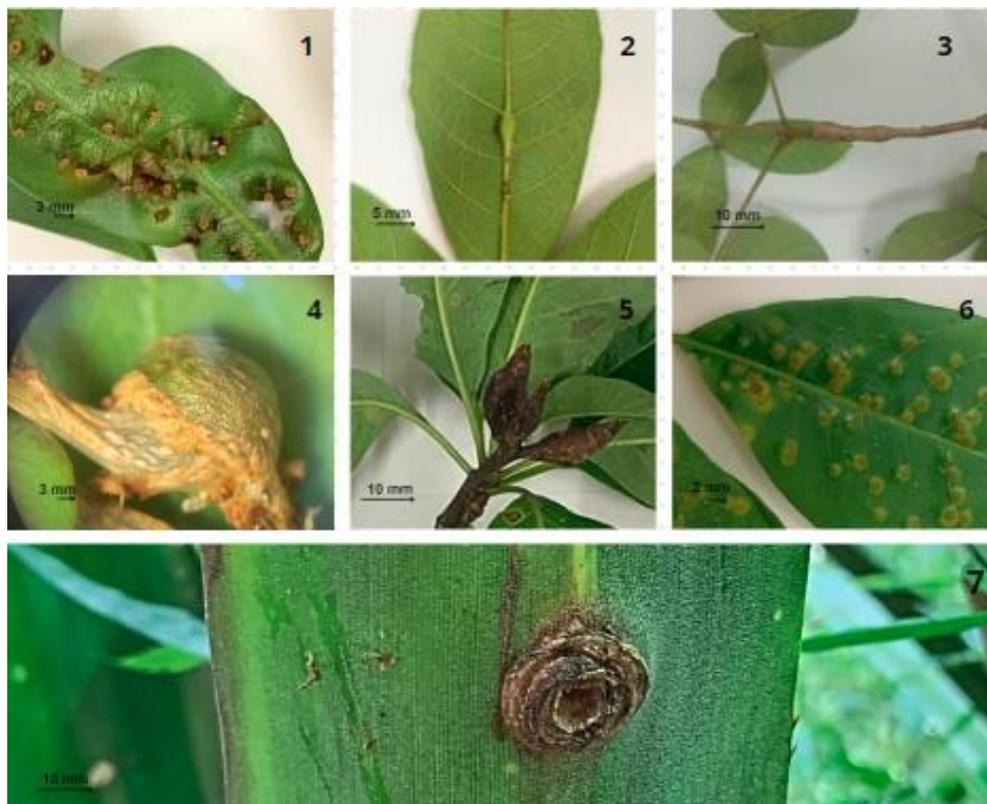
## 5.2 Descrição das galhas

Neste estudo, a coloração das galhas variou de esverdeadas a amarronzadas em todas as espécies, sendo mais recorrente a coloração verde. A cor amarronzada foi visualizada, principalmente, na galha de órgão reprodutivo de *Aspidosperma cuspa* e da espécie da família Bromeliaceae, conforme mostra a Figura 4. Apesar de ser uma característica fácil de ser mensurada, a maioria dos estudos não retrata sobre a coloração. A variação da coloração ocorre em decorrência das modificações dos pigmentos vegetais conforme explicado em um estudo realizado por Isaias *et al.*, (2014).

Além disso, das galhas analisadas, com exceção das galhas ocorrentes em Bromeliaceae e de órgãos reprodutivos de *A. cuspa*, aquelas que apresentaram a presença de algum inseto indutor, pode-se perceber, possivelmente, a predominância de insetos da ordem diptera, em específico, a família dos cecidomiídeos.

Em geral, os insetos galhadores pertencem, na grande parte das vezes, a ordem diptera, especificamente, à família Cecidomyiidae, conforme estudos já realizados por Oliveira e Maia (2005), onde pode perceber que das galhas coletadas em uma área de restinga, 91% pertenciam a família Cecidomyiidae. Outro estudo realizado por Bregonci *et al.*, (2010), analisou a presença de cecidomiídeos em algumas plantas hospedeiras, destacando-se a espécie do gênero *Ouratea*, sendo esse gênero material de estudo do vigente trabalho. Dessa forma, nossos achados corroboram com estudos prévios (Oliveira e Maia, 2005; Bregonci *et al.*, 2010).

Figura 4: Características morfológicas de galhas entomógenas coletadas no Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco.



Fonte: A autora (2023).

1- Galha foliar (*Ouratea*), 2- Galha foliar (Morfofoto 1- espécie não identificada), 3- Galha caulinar (Morfofoto 1- espécie não identificada), 4- Galha caulinar (*Erythroxylum*), 5- Galha órgão reprodutivo (*Aspidosperma cuspa*), 6- Galha foliar (*Aspidosperma cuspa*), 7- Galha foliar (Bromeliaceae).

### 5.3 Testes histoquímicos

Em virtude da falta do material botânico, todas as espécies citadas anteriormente, no item 5.1, participaram dessa análise, com exceção da espécie da família Bromeliaceae sp. que continha apenas 2 galhas foliares, as quais foram utilizadas para o processamento da fitoquímica.

Através dos testes histoquímicos, foi possível identificar a presença de substâncias de defesa (compostos fenólicos, taninos e alcaloides) e nutrição (lipídios e carboidratos), em quase todos os tecidos das galhas avaliadas, conforme mostra a Figura 5. As galhas foliares de *Ouratea* apresentaram substâncias fenólicas em todos os tecidos, sendo este um resultado semelhante de um estudo realizado por

Oliveira et. al (2006), onde corroborou com a hipótese do estudo elaborada por Abrahamson *et al.* (1991), em que afirma que o alto índice de compostos fenólicos está relacionado com a presença de herbivoria.

Na comparação entre galhas dos diferentes órgãos, foi verificado que galhas foliares de *Ouratea* e caulinares de *Erythroxylum* apresentaram composição histoquímica similar, presença de lipídios em todos os tecidos. Assim como as galhas foliares de *Aspidosperma cuspa* e as caulinares do morfotipo 1 (não identificado), ainda que em órgãos diferentes da planta, apresentaram composição bastante semelhante, essencialmente de lipídios e carboidratos nos tecidos parenquimáticos (Figura 3), sendo este um resultado de acordo com o estudo de Motta e colaboradores (2005), onde afirma que os insetos galhadores modificam o metabolismo da planta hospedeira para que, assim, possam obter o maior valor nutricional.

Ainda em relação à observação por regiões dos tecidos das galhas avaliadas, foi possível perceber que apenas a epiderme de *Erythroxylum* apresentou substâncias de proteção como alcaloides e taninos. O tecido parenquimático foi o que apresentou maior diversidade de substâncias químicas, tanto de defesa como de nutrição, assim como a câmara larval e seu entorno, conforme o Gráfico 2. De acordo com a literatura, a presença de alcalóides e de taninos concebem a galha um potencial de defesa visto que estes metabólitos se encontram envolvidos no processo de proteção contra os possíveis herbívoros (Cornell, 1983).

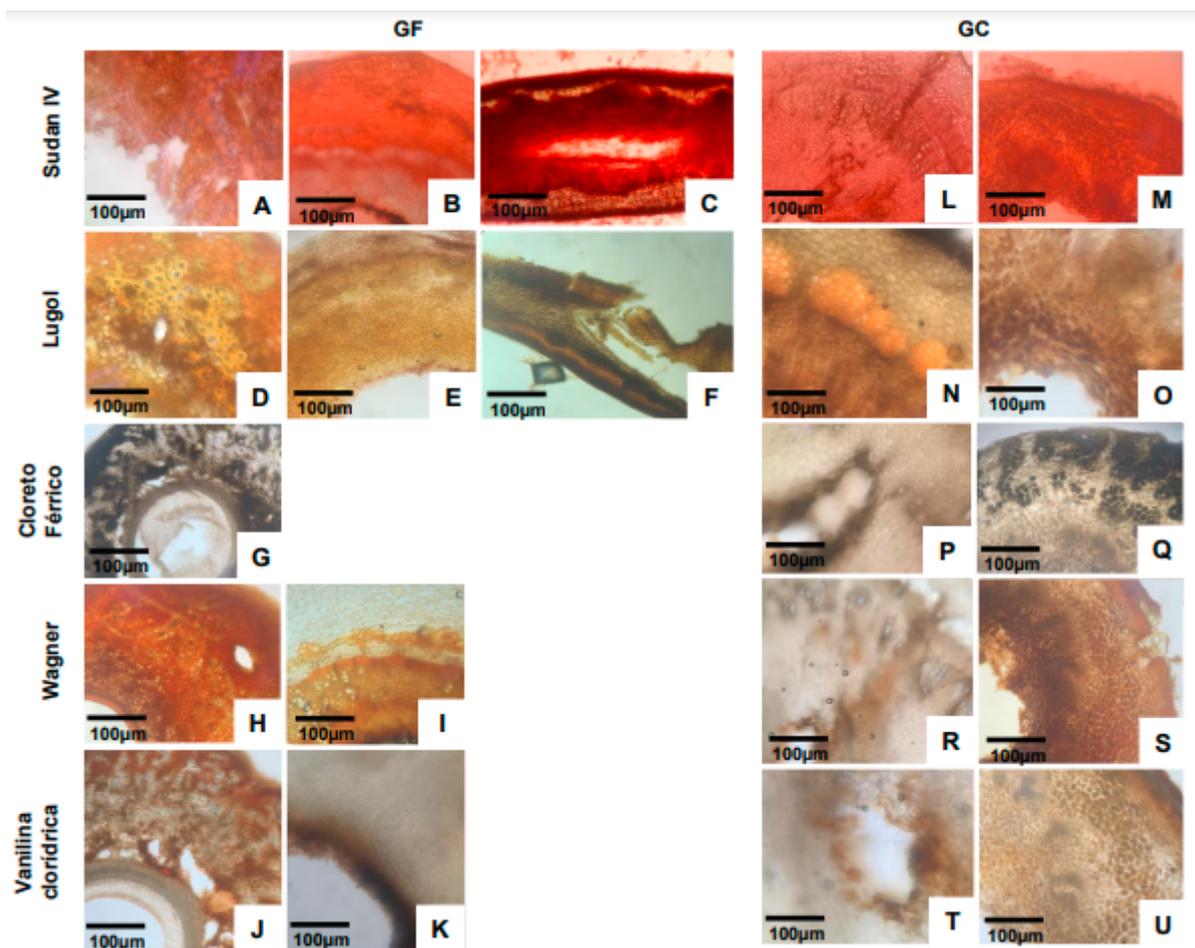
As galhas induzidas por dípteros, especificamente, os cecidomiídeos, sendo estes os possíveis indutores das galhas avaliadas, apresentam um forte gradiente de concentração em relação a presença de amido que se encontra relacionado ao tecido de reserva, auxiliando no processo da alimentação (Bronner, 1992).

Em relação às galhas reprodutivas de *Aspidosperma cuspa*, substâncias não foram detectadas em nenhum dos cortes analisados. Na análise anatômica desse material percebeu-se que essa encontra-se em um avançado estágio de desenvolvimento, senescência, em virtude da presença de células colapsadas. Dessa forma, sendo uma hipótese para explicar o resultado negativo para todos os testes histoquímicos.

De maneira geral, foi possível constatar que as substâncias lipídicas são os compostos químicos nutricionais mais comumente observados na maioria das

galhas avaliadas, sobretudo nos tecidos adjacentes à câmara larval, sendo este um resultado de acordo com o que foi proposto por Mani (1964) e Freidberg (1984), onde afirmam que substâncias de nutrição, por exemplo, os lipídios, ocorrem nos tecidos das galhas, principalmente ao redor da cavidade das galhas.

**Figura 5:** Testes histoquímicos de galhas entomógenas coletadas no Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco.



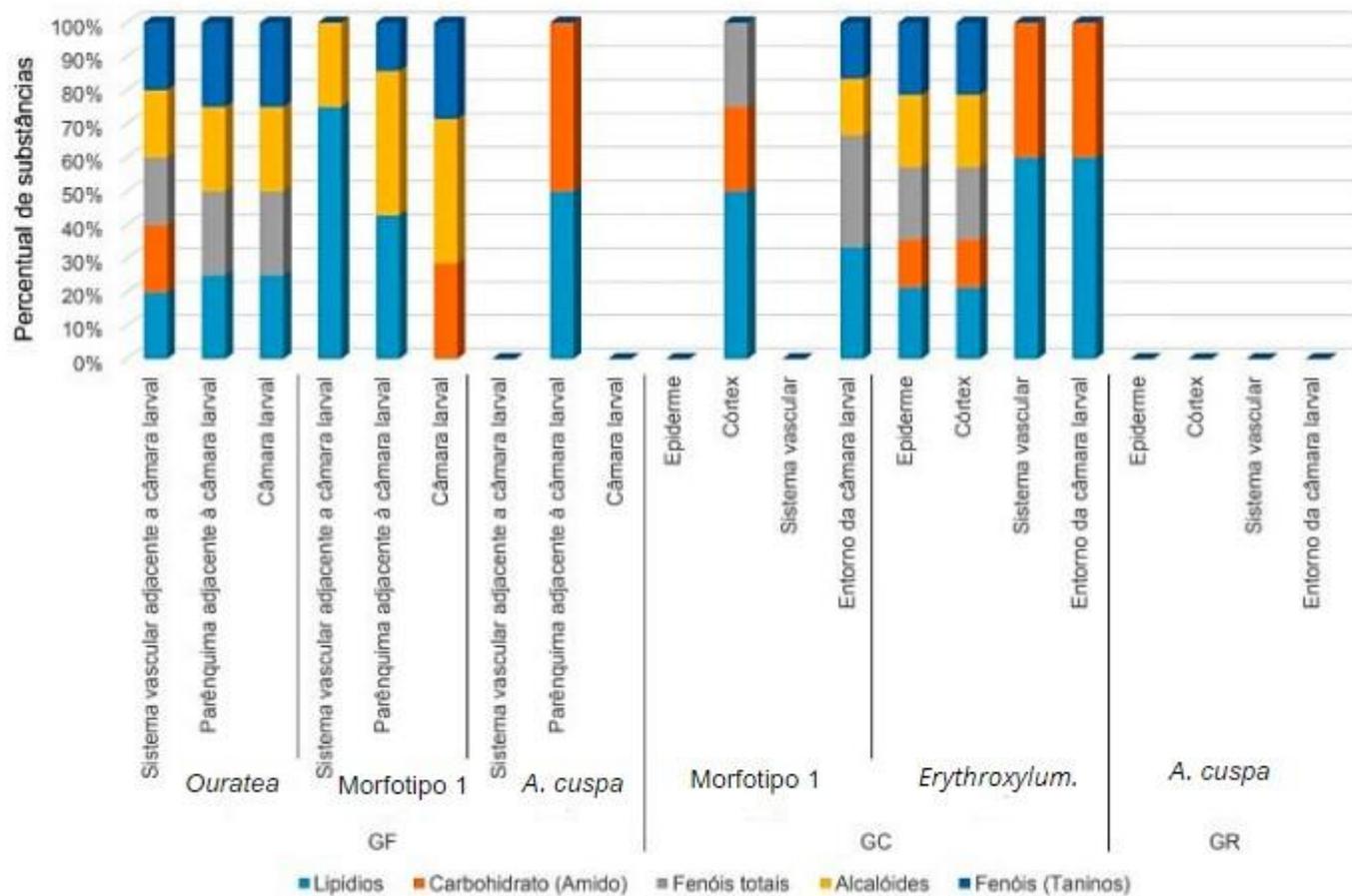
Fonte: A autora (2023).

GF: galhas foliares(A-K); GC: galhas caulinares(L-U).

A,D,G,H,J: *Ouratea*; B,E,I,K: Morfotipo 1-Espécie não identificada. C,F: *Aspidosperma cuspa*; L,N,P,R,T: Morfotipo 1- Espécie não identificada; M,O, Q, S, U: *Erythroxylum*.

O Gráfico 2 demonstra o percentual de substâncias da histoquímica de galhas entomógenas coletadas no Parque Ecológico de Serra Negra, destacando a presença dos fenóis, taninos, alcaloides, carboidratos e lipídios.

**Gráfico 2.** Percentual de substâncias da histoquímica de galhas entomógenas coletadas no Parque Ecológico de Serra Negra, em Bezerros, Pernambuco.



Fonte: A autora (2023).

## 5.4 Análise fitoquímica

Para as análises fitoquímicas foram utilizadas galhas do gênero *Ouratea*, *Erythroxylum*, *Aspidosperma cuspa*, galhas da família Bromeliaceae e do morfotipo 1 (espécie não identificada).

### 5.4.1 Detecção de compostos fenólicos e alcalóides

Pode-se perceber, através dos métodos qualitativos dos compostos fenólicos e alcalóides, que galhas foliares de *Aspidosperma cuspa* e caulinares de *Erythroxylum* compartilharam o mesmo resultado, ambas tiveram reação positiva para os dois metabólitos. As galhas reprodutivas de *Aspidosperma cuspa* não apresentaram mudança na coloração para ambos os testes. Uma possível explicação para esse resultado refere-se ao início do processo de senescência da galha visto que nos testes histoquímicos também não observou resultados positivos.

Dos extratos analisados, percebeu-se que a presença de fenóis ocorreu, principalmente, nos testes em que o material de estudo foram as galhas. Isso se deve ao fato de que os compostos fenólicos podem ter a função de beneficiar os insetos galhadores podendo desenvolver uma função de defesa para possíveis ataques de predadores e parasitóides (Cornell, 1983). Além disso, estes compostos atuam como inibidores da alimentação para alguns herbívoros, em específico, os insetos (Harborne, 2000). Podendo considerar, então, como uma reação das plantas mediante a presença de galhas.

Em relação à presença de alcalóides, é possível perceber que esse metabólito ocorreu em menor proporção quando comparado aos compostos fenólicos. De acordo com Luca e Laflamme (2001), os alcalóides são um grupo de metabólitos secundários que ocorrem em menor frequência nas plantas, apenas cerca de 20% das espécies botânicas possuem a presença desse metabólito.

Para os extratos das galhas que apresentaram reação positiva, *Aspidosperma cuspa* e *Erythoryxylum*, para a presença de alcalóides, isso deve-se ao fato de que as plantas mediam os estresses de acordo com algumas alterações químicas, destacando-se as altas concentrações na presença de alcalóides (Fernandes e Price, 1988). Ainda de acordo com a literatura, a família do gênero *Aspidosperma*, Apocynaceae, é caracterizada por apresentar a presença de alcalóides em suas

espécies (Pereira *et al.*, 2007). Dessa forma, explicando o resultado da presença de alcalóides para *A. cuspa*.

Além disso, apesar dos demais extratos não terem dado reação positiva para a presença de compostos secundários, isso não implica necessariamente na ausência destes, visto que outros fatores podem ter contribuído para isso, por exemplo, o uso de pouca amostra no teste ou então um baixo teor de compostos secundários que ocasionou em um resultado negativo.

**Tabela 3:** Testes para presença ou ausência de compostos fenólicos e alcaloides

Espécies	Metabólitos secundários	
	Fenóis	Alcalóides
<i>Ouratea</i> (GF)	+	-
<i>Ouratea</i> (S/G)	-	-
<i>Erythroxylum</i> (GC)	+	+
<i>Erythroxylum</i> (S/G)	-	-
<i>Aspidosperma cuspa</i> (GF)	+	+
<i>Aspidosperma cuspa</i> (GR)	-	-
<i>Aspidosperma cuspa</i> (S/G)	-	-
Bromeliaceae(GF)	+	-
Bromeliaceae (S/G)	-	-
Morfotipo 1 (GF)	-	-

Fonte: A autora (2023).

(GC) Galha caulinar, (GF) Galha foliar; (GR) Galha reprodutiva; (S/G) Sem galha; (Morfotipo 1) Galha da espécie não identificada

(+) Detectada a presença do metabólito; (-) Não detectada.

#### 5.4.2 Detecção de saponinas

Através do teste para a detecção de saponinas, observou-se que galhas do gênero *Erythroxylum*, *Aspidosperma* e da família Bromeliaceae apresentaram reação positiva. Alguns efeitos biológicos têm sido descritos em relação a função das saponinas nas plantas, destacando-se a sua ação anti herbivoria (Francis *et al.*, 2002). Um estudo realizado por Nobrega (2009) retrata sobre o gênero *Aspidosperma* ser rico em saponinas, podendo ser este um dos fatores que colaborou para o resultado positivo da espécie nesse teste.

Em relação às galhas do gênero *Ouratea*, foi observado que não apresentaram reação positiva para a presença de saponinas. Apesar de ter sido um resultado negativo, isso não indica verdadeiramente a ausência desse metabólito visto que outros fatores podem influenciar nessas concentrações, por exemplo, condições climáticas, competição de populações, radiação e entre outros (Ferreira, 2018)

Em um trabalho realizado por Detoni (2009), observou-se que a presença de saponinas é mais recorrente em amostras de tecidos não galhados, mas não se sabe ao certo o motivo desse comportamento. Dessa forma, em virtude dos poucos estudos que relatam a relação entre as saponinas e as galhas, não se pode afirmar se a ocorrência de saponinas possui alguma ligação com a presença de galhas. Logo, é necessário mais testes e estudos para compreender essa relação.

**Tabela 4:** Teste para presença de saponinas de extratos com galhas e sem galhas. .

<b>Espécies</b>	<b>Resultado</b>
<i>Ouratea</i> (GF)	-
<i>Ouratea</i> (S/G)	-
<i>Erythroxylum</i> (GC)	+
<i>Erythroxylum</i> (S/G)	+
<i>Aspidosperma cuspa</i> (GF)	+
<i>Aspidosperma cuspa</i> (GR)	-
<i>Aspidosperma cuspa</i> (S/G)	-
Bromeliaceae(GF)	+
Bromeliaceae(S/G)	-
Morfotipo 1 (S/G)	+

Fonte: A autora (2023).

(GC) Galha caulinar; (GF) Galha foliar; (GR) Galha reprodutiva; (S/G) Sem galha; (Morfotipo 1) Galha da espécie não identificada

(+) Detectada a presença de saponina; (-) Não detectada.

### 5.4.3 Cromatografia em camada delgada

A técnica cromatografia em camada delgada demonstrou que algumas galhas apresentam diversidades no que diz respeito aos compostos fenólicos. Isso porque houve variação na cor das manchas, sendo as manchas azuis e verdes indicações de compostos secundários, em específico, os fenólicos.

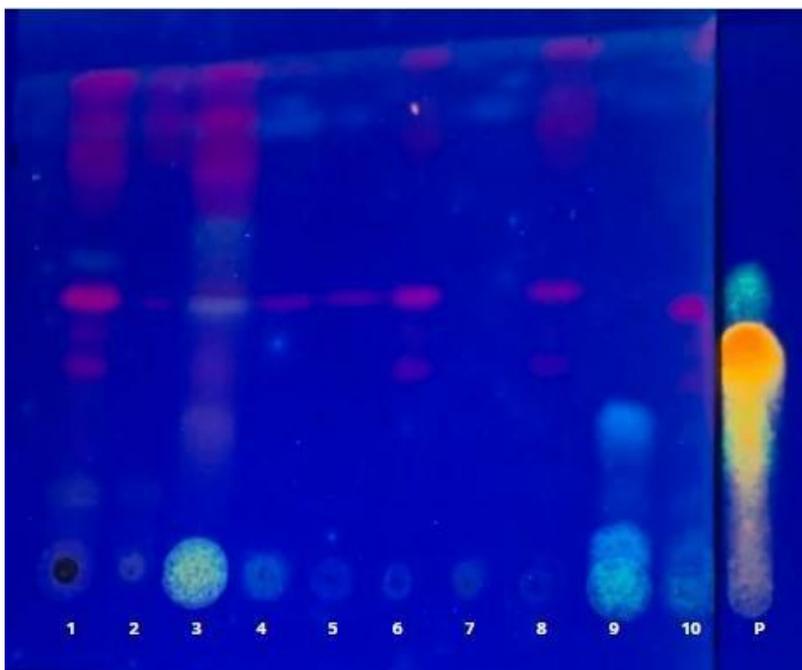
Dessa forma, foi possível analisar que os testes utilizando galhas apresentaram uma maior variação de cores, corroborando com a hipótese de que folhas galhadas possuem uma maior diversidade de compostos fenólicos (Amorim *et al.*, 2017).

As galhas de *Ouratea*, expressas como 1 na figura 6, foi o ponto que apresentou maior variação de cor na placa, diferentemente do ponto 2(sem galhas foliares), sendo este um resultado semelhante ao trabalho de Santos e Silva (2018), onde identificou que a quantidade de compostos fenólicos em folhas não galhadas, de uma espécie do gênero *Ouratea*, é menor quando comparadas com folhas com presença de galhas. Dessa forma, o mesmo se aplica para os demais pontos com galhas que apresentaram variação na cor azul ou verde, demonstrando que, possivelmente, a variabilidade dos compostos secundários são respostas da planta mediante a presença dos insetos galhadores.

Em relação às manchas vermelhas, estas indicam a presença da clorofila, sendo este o pigmento diretamente relacionado com a atividade fotossintética da planta (Bernades, 1987). Dessa forma, sendo as manchas vermelhas recorrentes em todos os pontos da placa.

Ademais, para as reações que não tiveram tantos pontos marcados na placa, pode-se dizer que, provavelmente, exista a presença de compostos fenólicos glicosados nessas amostras. Fenóis glicosilados são substâncias que tornam as plantas não palatáveis em decorrência do sabor amargo (Reichardt, 1995). Estes compostos nas análises de cromatografia em camada delgada, podem não se locomover na placa em decorrência da polaridade da fase estacionária, além das ligações de hidrogênio que interagem com a sílica de gel na placa, dificultando a migração na fase móvel (Tonin, 2006; Soares *et al.*, 2008)

**Figura 6.** Cromatograma utilizando extratos de folhas com e sem galhas



Fonte: A autora (2023).

1- *Ouratea* (GF), 2- *Ouratea* (S/G), 3- Morfotipo 1 (S/G), 4- *Erythroxylum* (GC), 5- *Erythroxylum* (S/G), 6- *Aspidosperma cuspa* (GF), 7- *Aspidosperma cuspa* (GR), 8- *Aspidosperma cuspa* (S/G), 9- Bromeliaceae (GF), 10- Bromeliaceae (S/G), P- Padrão.

(GC) Galha caulinar; (GF) Galha foliar; (GR) Galha reprodutiva; (S/G) Sem galha;

#### 5.4.4 Quantificação dos compostos fenólicos

No que se refere aos dados obtidos através da espectrofotometria, observou-se que, em geral, os extratos com galhas apresentaram maiores concentrações de fenóis totais, sendo este um resultado semelhante ao estudo realizado por Coruh e Ercisli (2010), onde também observaram maiores concentrações de fenóis totais na comparação de amostras com galhas e sem galhas.

O extrato das galhas foliares de *Aspidosperma cuspa* apresentou concentrações de fenóis totais superior aos demais extratos, com um valor de 148,01 mg GAE/g, sendo este um resultado semelhante ao encontrado por Alves e colaboradores (2014), que analisou o teor de fenóis totais em folhas de *Aspidosperma cuspa* e concluiu que essa espécie é caracterizada por apresentar uma ampla variedade de compostos ativos. Este resultado encontra-se de acordo com um trabalho de Formiga *et al.*, (2009), onde identificou que folhas com galhas

de uma espécie do gênero *Aspidosperma*, tiveram forte influência no aumento do teor de fenóis, em decorrência da presença de galhas.

Na comparação entre os extratos sem galhas e com galhas reprodutivas de *Aspidosperma cuspa*, foi observado valores iguais, 96 mg EAG/g. Sendo este resultado, um possível reflexo dos valores da absorvância e dos pesos das amostras terem sido iguais, além do possível processo de senescência da galha reprodutiva. No entanto, ainda que com resultados iguais, foram valores menores quando comparados com as galhas foliares da mesma espécie

As galhas caulinares do gênero *Erythroxylum*, apresentaram um valor de 124,84 mg GAE/g, sendo uma concentração maior de fenóis totais quando comparadas com o extrato do mesmo gênero, mas sem a presença de galhas. De acordo com estudos realizados por Dsouza e Ravishankar (2014), existe uma significativa relação entre os compostos fenólicos e as galhas, corroborando então com este resultado.

Na comparação dos extratos com galhas e sem galhas do gênero *Ouratea* e da família Bromeliaceae, observou-se que não seguiu o padrão esperado. Os extratos com galhas e sem galhas, de *Ouratea* e Bromeliaceae, apresentaram, respectivamente, 120,14; 95,46 mg GAE/g e 136,75; 100,34 mg GAE/g, resultados semelhantes foram observados em Santos (2006), que observou que folha sem galhas apresentaram altas concentrações de ácido gálico.

Além disso, no que diz respeito aos dados obtidos das galhas do morfotipo 1 (espécie não identificada), destaca-se a acentuada diferença entre o extrato com galhas e sem galhas. Apesar dessa espécie não ser identificada, pode-se inferir que essa planta encontra-se, possivelmente, em processo de defesa em virtude da presença das galhas já que o extrato com galhas apresentou uma quantidade mais expressiva de fenóis totais (Motta *et al.*, 2005).

**Tabela 5.** Teor de fenóis totais dos extratos pelo método espectrofotométrico

Extratos(plantas hospedeiras)	Fenol total (mg GAE por grama de extrato)
<i>Ouratea</i> (GF)	120,14
<i>Ouratea</i> (S/G)	136,75
<i>Erythroxylum</i> (GC)	124,84
<i>Erythroxylum</i> (S/G)	100,34
<i>Aspidosperma cuspa</i> (GF)	148,01
<i>Aspidosperma cuspa</i> (GR)	96,42
<i>Aspidosperma cuspa</i> (S/G)	96,42
Bromeliaceae(GF)	95,46
<i>Bromeliaceae</i> (S/G)	100,34
Morfotipo 1 (GF)	133,13
Morfotipo 1 (S/G)	48,5

Fonte: A autora (2023).

(GF) Galha foliar; (GC) Galha caulinar; (GR) Galha reprodutiva; (S/G) Sem galha; (Morfotipo 1) Galha da espécie não identificada.

## 6. CONCLUSÃO

A partir do exposto, pode-se concluir que, quando presente, os insetos galhadores encontrados nas plantas hospedeiras pertencem, possivelmente, a ordem diptera, em específico, à família dos cecidomiídeos.

Em relação a histoquímica das galhas, verificou-se a presença de grupos químicos relacionados ao processo de nutrição e proteção, principalmente, nos tecidos próximos à loja dos insetos. Além disso, a histoquímica também avaliou a presença de substâncias de defesa próximas a epiderme e no córtex.

Os dados obtidos através dos testes para detecção de compostos secundários, corroboram com a hipótese de que plantas galhadas revelam maiores concentrações de compostos fenólicos, visto que na comparação entre extratos com galhas e sem galhas, os extratos que continham a presença de galhas tiveram reação positiva.

No que se refere aos dados obtidos através da espectrofotometria, pode-se perceber, que as galhas foliares do gênero *Aspidosperma* apresentaram maiores concentrações de fenóis totais. No entanto, mais estudos são necessários acerca das concentrações de fenóis totais nas plantas do gênero *Ouratea*, *Erythroxyllum* e da família Bromeliaceae para que, assim, possam ter comparações com outros estudos acerca dos resultados obtidos.

Dessa forma, esse estudo torna-se importante para a compreensão da relação inseto galhador-planta, destacando quais aspectos químicos da planta podem ser modificados na presença das galhas.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABRAHAMSON, W. G.; MCCREAD, K.D.; WHITWELL, A. J.; VERNIERI, L. A. The role of phenolics in goldenrod ball gall resistance and formation. **Biochem Syst Ecol** 19: 615- 622, 1991.
- AB'SABER, A. N. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. **Geomorfologia**, 1977.
- ALBUQUERQUE, C. H.; TAVARESA, J. F.; OLIVEIRA, S. L.; SILVA, T. S. GONÇALVES; G. F., COSTA, V. C. O., AGRAC, M. F.; PESSOA, H. L. F.; SILVA, M. S. Flavonoides Glicosilados de *Erythroxyllum pulchrum* A. St.-Hil. (Erythroxyllaceae). **Química Nova**, v. 37, n. 4, p. 663-666, 2014.
- ALMEIDA, L.M.; RIBEIRO-COSTA, C.S. & MARINONI, L. In **Manual de coleta, conservação, montagem e identificação de insetos**, 2003.
- ALVES *et al.* Estudo fitoquímico e potencial terapêutico de *Aspidosperma* spp. (Apocynaceae). **Congresso Brasileiro de Química**, 2014.
- AMORIM *et al.* Potencialidades vegetais determinam diversidade anatômica e histoquímica em *Mikania glomerata* Spreng. galhas. **Revista Brasileira de Botânica**, 40 , 517-527. 2017.
- BERNARDES, M. S. Fotossíntese no dossel das plantas cultivadas. In: CASTRO, P. R. C. *Ecofisiologia da produção agrícola*. Piracicaba: POTAFOS, 1987. p. 13-48.
- BREGONCI, J. de M.; POLYCARPO, P.V.; MAIA, V. C. Galhas de insetos do Parque Estadual Paulo César Vinha (Guarapari, ES, Brasil). **Biota Neotropica**, v. 10, p. 265-274, 2010.
- BRONNER, N. The role of nutritive cells in the nutrition of cynipids and cecidomyiids. **Biology of insect-induced galls**, p. 118-140, 1992.
- BOLZANI, Vanderlan Da S. *et al.* Indole alkaloid evolution in *Aspidosperma*. **Biochemical systematics and ecology**, v. 15, n. 2, p. 187-200, 1987.
- CHACON, R. G. **Ochnaceae nos estados de Goiás e Tocantins, Brasil**. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília, 2011.
- CLARO, K. D. e SILINGARDI, H. M. T. Insect-plant interactions: new pathways to a better comprehension of ecological communities in Neotropical savannas. **Neotropical Entomology**, 38, 159-164. 2009.

CORNELISSEN, T. G.; FERNANDES, G. W. Insetos herbívoros e plantas: de inimigos a parceiros? **Ciência Hoje**, p. 24-30, 2003.

CORNELL, H.V. The secondary chemistry and complex morphology of galls formed by the Cynipinae (Hymenoptera): why and how?. **American Midland Naturalist**, p. 225-234, 1983.

CORUH, S., E ERCISLI. S. Interactions between galling insects and plant total phenolic contents in *Rosa canina* L. genotypes. *Sci Res Essays*, 5(14), 1935-1937. 2010.

DÁTTILO, W., RICO- GRAY,V. **Ecological networks in the tropics**. Cham, Switzerland: Springer, 2018.

DEL-CLARO, K. A importância do comportamento de formigas em interações: formigas e tripses em *Peixotoa tomentosa* (Malpighiaceae) no cerrado. **Revista de Etologia**, v. 1, n. 1, p. 3-10, 1998.

DIAS, G. G. *et al.* Developmental pathway from leaves to galls induced by a sap-feeding insect on *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera (Anacardiaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 187-200, 2013.

DÔRES, R. G. R. **Análise morfológica e fitoquímica da fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.)**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, 200

DSOUZA, M. R., E RAVISHANKAR, B. E. Nutritional sink formation in galls of *Ficus glomerata* Roxb.(Moraceae) by the insect *Pauropsylla depressa* (Psyllidae, Hemiptera). **Tropical Ecology**, 55(1), 129-136, 2014.

ESPÍRITO-SANTO, M. M.; FERNANDES, G. W. How many species of gall-inducing insects are there on earth, and where are they?. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 100, n. 2, p. 95-99, 2007.

ESPOSITO-POLESI, N. P., ALMEIDA, C. V. & ALMEIDA, M. Avaliação histoquímica de espécies de microplantas hospedeiras de endófitos. **Revista Biociências**, 2013.

EDWARDS, P. J.; WRATTEN, S. D. Ecologia das interações entre insetos e plantas. **Ed. E.P.U.** São Paulo, 1981.

FERNANDES, G. W.; PRICE, P. W. Biogeographical gradients in galling species richness: tests of hypotheses. **Oecologia**, v. 76, p. 161-167, 1988.

FERREIRA, A. E. A. Atividade biológica e caracterização de compostos presentes nas folhas e cascas de *Cordia sessilis* (Vell) Kuntze. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, 2018.

FERREIRA, M. F. M. *et al.* Comparação da Incidência de Galhas em Duas Formações Florestais do Bioma Cerrado: Cerrado Stricto Sensu e Mata Seca. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 1, n. 5, p.36-38, jul. 2007.

FORMIGA, A.T, GONÇALVES; S. J. D. M. R., SOARES; G. L. G.; ISAIAS, R. M. D. D. Relações entre o teor de fenóis totais e o ciclo das galhas de Cecidomyiidae em *Aspidosperma spruceanum* Müll. Arg.(Apocynaceae). **Acta Botanica Brasilica**, 23, 93-99. 2009.

FRANCIS, G., KEREM, Z., MAKKAR, H. P., E BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: a review. **British journal of Nutrition**, 88(6), 587-605, 2002.

FREIDBERG, A., 1984, Gall Tephritidae (Diptera). pp. 129- 167. In Ananthakrishnan, T. N. (editor). *Biology of gall insects*. Oxford e mH, India.

FURR, Y.; MALBERG, P. G. Histochemical analysis of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **J. Nat. Prod.**, v. 44, p. 153-159, 1981.

GARDNER, R. O. Vanillin-hydrochloridric acid as a histochemical test for tannin. **Stain Tachnol.**, v. 50, p. 315-317, 1975.

GOIS, L. S. de S.; CORREA, A. C. de B.; MONTEIRO, K. de A. Análise Integrada dos Brejos de Altitude do Nordeste do Brasil a partir de Atributos Fisiográficos. **Espaço aberto**, v. 9, n. 2, p. 77-98, 2019.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. *The insects: an outline of entomology*. **5ed. London: Chapman & Hall**. 1998.

HARBORNE, J. B. Plant secondary metabolism. In CRAWLEY, MJ. **Plant ecology**. Oxford. Blackwell Science, p.133-155. 2000.

HOUARD, E. *Les zoocécidies dès plantes de l'Amérique Du Sud et de l'Amérique Central*. Hermann et Cie, Paris, 549p. 1933.

HOWE, G. A; JANDER, G. Imunidade vegetal a insetos herbívoros. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p.41-66, 2008

IBAMA. *Unidades de Conservação do Brasil, Vol. 1 - Parques Nacionais e Reservas Biológicas*. **Ibama: Brasília**, 1989.

ISAIAS, D. S., CARNEIRO, R. M. S., SANTOS, R. G., OLIVEIRA, J. C. Gall morphotypes in the Neotropics and the need to standardize them. **Neotropical insect galls**, 51-67. 2014.

ISAIAS, R. M. S. *et al.* Análise comparativa entre as defesas mecânicas e químicas de *Aspidosperma australe Müell. Arg.* e *Aspidosperma cylindrocarpon Müell. Arg.* (Apocynaceae) contra herbivoria. **Floresta e Ambiente**, 2012.

JOHANSEN, D. **Plant microtechnic**. New York: McGraw Hill Book Company, Inc., 1940

JULIÃO, G. R.; M. E. C. AMARAL & G. W. FERNANDES. Galhas de insetos e suas plantas hospedeiras no Pantanal sul-mato-grossense. *Naturalia* 27: 47–74. 2007.

KUBTZKI, K. The families and genera of vascular plants. IV. Flowering plants. Monocotyledons. Alismatanae and Commelinanae (except Graminaeae). Berlin: Springer Verlag, 1998. 511p.

LEMOS, J. E. D. Avaliação das mudanças socioambientais decorrentes da atividade turística em Serra Negra–Bezerros/PE–pelo método GTP. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal da Paraíba, 2020.

LIMA, D. de A. Estudos fitogeográficos de Pernambuco. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, 2007.

LIMA, D. de A. Esboço fitoecológico de alguns brejos de Pernambuco. **Boletim Técnico do Instituto de Pesquisas Agronomicas de Pernambuco**, 1966.

LORENZI, H. Árvores brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Ed. Plantarum**, 1992.

LUCA, V.; LAFLAMME, P. The expanding universe of alkaloid biosynthesis. *Physiology and Metabolism*, v.4, p.225-33, 2001.

MACE, M.E.; HOWELL, C.R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedings. **Canadian Journal of Botany**, v. 52, p. 2423-2426, 1974.

MÂCEDO, M.; FLINTE, V.; GRENHAS, V. Insetos na Educação. Rio de Janeiro: **Fundação CECIERJ**, 2005.

MAIA, V. C. Uma nova espécie de mosquito galheiro (Diptera, Cecidomyiidae) em *Ouratea cuspidata* (A. St.-Hil.) Engl.(Ochnaceae), uma planta endêmica do Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 66, 2022.

MAIA, V. C. E FERNANDES, S. P. C. Two new species of gall midges (Diptera, Cecidomyiidae) associated with *Erythroxyllum ovalifolium* Peyr. (Erythroxyllaceae) from the Barra de Maricá restinga, Maricá, Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, 2011.

MALENOVSKÝ, I. *et al.* Descriptions of two new Pseudophacopteron species (Hemiptera: Psylloidea: Phacopteronidae) inducing galls on *Aspidosperma* (Apocynaceae) in Brazil. **Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae**, v. 55, n. 2, p. 513-538, 2015.

MANI, M.S. 1964. **Ecology of Plant Galls**. Junk, The Hague.

MENDONÇA, M. S. Plant diversity and galling arthropod diversity searching for taxonomic patterns in an animal-plant interaction in the neotropics. *Boletín Sociedad Argentina Botánica* 42: 347–357. 2007.

MEYER, J. Plant galls and gall inducers. **Gebruder Borntraeger**, 291 p. 1987.

MOTTA, L. B. *et al.* Distribution of metabolites in galled and non-galled foliar tissues of *Tibouchina pulchra*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, n. 10, p. 971-981, 2005.

MOTTA, *et al.* Distribution of metabolites in galled and non galled foliar tissues of *Tibouchina pulchra*. **Biochemical sistemics and ecology**, 1981.

NASCIMENTO, L. M.; RODAL, M. J. N. Fisionomia e estrutura de uma floresta estacional montana do maciço da Borborema, Pernambuco-Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 31, p. 27-39, 2008.

NOBREGA, M. G. L. A. Perfil fitoquímico e farmacológico de *Aspidosperma pyriforme* Mart. “ensaios pré clínicos”. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco, 2009.

NYMAN, T. Phylogeny and ecological evolution of gall-inducing sawflies (Hymenoptera: Tenthredinidae). **University of Joensuu**, PhD Dissertation in Biology v. 6, 92p. 2000.

NYMAN, T.; JULKUNEN-TIITTO, R. Manipulation of the phenolic chemistry of willows by gall-inducing sawflies. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2000.

NYMAN, T.; WIDMER, A.; ROININEN, H. Evolution of gall morphology and host-plant relationships in willow-feeding sawflies (Hymenoptera: Tenthredinidae). **Evolution**, v. 54, n. 2, p. 526-533, 2000.

OHGUSHI, T. Indirect interaction webs: herbivore-induced effects through trait change in plants. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.**, v. 36, p. 81-105, 2005.

OLIVEIRA, D. C. *et al.* Manipulation of host plant cells and tissues by gall-inducing insects and adaptive strategies used by different feeding guilds. *Journal of Insect Physiology* 84: 103-113. 2016.

OLIVEIRA, J. D., E MAIA, V. C. Ocorrência e caracterização de galhas de insetos na restinga de Grumari (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). **Arquivos do Museu Nacional**, 63(4), 669-675, 2005.

OLIVEIRA, V. B. *et al.* Atividade biológica e alcalóides indólicos do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae): uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 92-99, 2009.

PEREIRA, M.M. et al. Alcalóides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae). **Química Nova**, v.30, n.4, p.970-83. 2007

PRICE, P. W., FERNANDES, G. W. & WARING, G. L. Adaptive nature of insects galls. **Environmental Entomology**, 1987.

RAMAN, A.; SCHAEFER, C. W.; WITHERS, T. M. Biology, ecology, and evolution of gall-inducing arthropods. **Science Publishers**, 2005.

REICHARDT, Paul B. The chemistry of plant/animal interactions. 1995.

RICKLEFS, R. E. RELYEA R. A economia da natureza, 7a edição, 2016.

RODAL, M.J.N., M.F. SALES & S.J. MAYO. Florestas serranas de Pernambuco: localização e conservação dos remanescentes dos brejos de altitude. **Imprensa Universitária**, 1998.

SANTOS, C. S. E SILVA, D. S. Descrição morfoanatômica das galhas e sua distribuição nas folhas de *Ouratea spectabilis* (MART EX ENGL.) Engl. (Ochanaceae). Desafios- **Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, 5( especial), 178-199. 2018.

SANTOS, J. C.; ALMEIDA, J. S. C.; FERNANDES, G. W. Diversity of gall-inducing insects from Atlantic forest of Pernambuco, Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, p. 47-56, 2011.

SANTOS, I. V. Estudo das interações planta-herbívoro em *Laguncularia racemosa* (L.) Gaerten (combretaceae) no manguezal de Maracaípe, Ipojuca, PE. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2006.

SANTOS, L. M. L. Alocação de recurso entre nutrição e defesa em galhas foliares de espécies da família Euphorbiaceae. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2014.

SASS, J. **Botanical microtechnique**. The Iowa State College Press, Ames. 1951.

SCHOONHOVEN, L. M.; VAN LOON, J. J. A; DICKE, M. Insect-plant biology. **Oxford university press**, 2005

SHANNON, R. E.; BREWER, J. W. Starch and sugar levels in three coniferous insect galls. **Zeitschrift für angewandte Entomologie**, v. 89, n. 1-5, p. 526-533, 1980.

SOARES et. al.; Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante da Casca de Uvas Niágara e Isabel. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 1, p. 059-064, 2008

SOARES, G. L. G. *et al.* Alterações químicas induzidas por coccídeos galhadores (Coccoidea, Brachyscelidae) em folhas de *Rollinia laurifolia* Schdtl.(Annonaceae). **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 2, n. 1, 2, 2000.

SOBRINHO, J. V. As regiões naturais do Nordeste, o meio e a civilização. **CONDEPE**. Recife, 1971.

SOUSA, I. J. O. *et al.* Estudo fitoquímico, avaliação da capacidade hemolítica e antimicrobiana de um extrato bruto da casca do caule de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). **BIOFARM-Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 14, n. 4, p. 208-225, 2018.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. **Editora Porto Alegre**, 2006.

TIFFIN, P. Competition and time of damage affect the pattern of selection acting on plant defense against herbivores. **Ecology**, v. 83, n. 7, p. 1981-1990, 2002.

TONIN, F. G. Análise de flavanóides por cromatografia líquida de alta eficiência e eletroforese capilar-otimização de separação e aplicações tecnológicas. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2006.

VIEIRA, A. C.M., *et al.* Estudo morfológico e anatômico de galhas foliares induzidas por Cecidomyiidae em espécies da restinga de Maricá–RJ. **Biologia: Ensino, Pesquisa e Extensão – uma abordagem do conhecimento científico nas diferentes esferas do saber**, 2021.

VIZZOTO, M. KROLOW, A. C. R. & WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado**, 2010.

WAGNER, H.; BLADT, S. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. **Springer Science & Business Media**, 1996.

WATERMAN, P.G, E MOLE, S. *Análise de metabólitos fenólicos de plantas* . Oxford: Publicações Científicas Blackwell. Métodos em Ecologia. 1994.