

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Parâmetros vibratórios para detecção de atividade alimentar do inseto *Ceropsylla*
(Hemiptera: Psyllidae) em galhas foliares de *Pouteria ramiflora* (Sapotaceae)

GUILHERME DE FARIA SILVA NAVES

PROF. DR. DENIS COELHO DE OLIVEIRA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

UBERLÂNDIA – MG

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Parâmetros vibratórios para detecção de atividade alimentar do inseto *Ceropsylla*
(Hemiptera: Psyllidae) em galhas foliares de *Pouteria ramiflora* (Sapotaceae)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção
do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Graduando: Guilherme de Faria Silva Naves

Orientador: Prof. Dr. Denis Coelho de Oliveira
Co-Orientador: Rafael Rios Moura

UBERLÂNDIA – MG

2017

Agradecimentos

À instituição Universidade Federal de Uberlândia , por ter provido os recursos para que eu pudesse concluir minha formação.

À FAPEMIG, por ter financiado todo este projeto.

Ao professor Denis, por ter me recebido em seu laboratório desde o início da minha graduação, por ter sido um orientador exemplar, ter me incentivado, dado todo o apoio e por ter acreditado em mim desde o começo.

Ao meu co-orientador Rafael Rios, por ter sido fundamental no desenvolvimento deste projeto desde o início, por ter tido paciência para me instruir durante todo este processo, e ter me ajudado a acreditar mais em mim mesmo.

Ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, por terem fornecido o equipamento que utilizamos neste trabalho.

À minha família, em especial meu pai minha mãe e meu tio Walter, por terem acreditado em mim e na minha formação acadêmica. Sem vocês, certamente não teria chegado até aqui.

Aos meus amigos, pelo apoio, incentivo, além das conversas esclarecedoras, momentos de apoio e boas risadas. Thiago Correia Lima, Dielli Delegá, Geovana Santos, apesar da trajetória até aqui ter sido difícil, vocês certamente fizeram com que ela fosse mais agradável. Meus mais sinceros agradecimentos, vocês são incríveis!

À todos meus colegas do LADEVI e LAFIVE, por mostrarem que um bom ambiente de trabalho, e desenvolvimento em equipe certamente contribuem para produção e progresso!

À Uiara e ao João, por terem sido uma base forte para mim durante todo este ano. Pelas conversas sérias, dicas, direcionamentos, momentos de descontração e por terem contribuído ativamente para minha preparação até aqui. Serei eternamente grato a vocês!

À Leticia, minha companheira, que esteve comigo desde o início deste trabalho. Muito obrigado pelo apoio e incentivo.

RESUMO

Galhas são interações entre insetos altamente especializados e plantas, que resultam numa estrutura vegetal fechada feita a partir da manipulação da planta pelo inseto, proporcionando proteção e nutrição até seu desenvolvimento e maturação. Haja vista a grande diversidade estrutural das galhas, compreender as implicações causadas pela interação galhador-hospedeiro em ambas as partes acaba por se tornar desafiador. Por se tratar de uma estrutura fechada, analisar aspectos comportamentais e da dieta desses insetos quando envoltos pela galha se torna algo ainda mais difícil. Com isso, o presente estudo propõe uma nova metodologia para o estudo de galhas, que traz uma exceção à regra no que diz respeito a sua conformidade estrutural, e torna possível analisar o comportamento alimentar de um inseto galhador de modo a não comprometer sua estrutura. Para tal, foi realizado em laboratório experimentos com o inseto *Ceropsylla* (Hemiptera: Psyllidae), que induz galhas em *Pouteria ramiflora* (Sapotaceae), por meio de uma metodologia não invasiva utilizando o vibrômetro a laser PDV-100 (Politec®), a fim de analisar seus padrões de vibração, e selecionar os parâmetros adequados para descrever sua alimentação. As análises foram feitas simulando situações de fluxo contínuo e fluxo interrompido no floema, e os resultados mostraram que as análises de padrões de vibração de *Ceropsylla* sp. são eficientes em sensibilidades alta e baixa do vibrômetro. Os parâmetros de amplitude se mostraram discrepantes em situações com e sem fluxo no floema, sendo maiores em fluxo contínuo, o que sugere que o inseto pode estar se alimentando no interior da câmara larval.

Palavras-chave: galhas, padrões, vibração, fluxo, alimentação

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	7
2. MATERIAIS E MÉTODOS	11
2.1 Sistema de estudo.....	11
2.2 Material biológico.....	11
2.3 Coleta de dados	11
2.4 Análises estatísticas.....	13
3. RESULTADOS.....	14
4. DISCUSSÃO.....	16
5. CONCLUSÃO.....	18
6. REFERÊNCIAS.....	18

1. INTRODUÇÃO

Galhas são consideradas órgãos vegetais neoformados (Shorthouse et al 2005), cujos padrões de desenvolvimento e crescimento são determinados pela atividade alimentar do galhador (Dreger-Jauffret & Shorthouse, 1992). Insetos estão entre os principais organismos indutores de galhas (Mani 1964), produzindo uma alta diversidade de morfotipos nas plantas hospedeiras (Isaias et al 2013). Insetos galhadores manipulam os tecidos da planta hospedeira para formar as galhas, onde as larvas irão se abrigar durante seu desenvolvimento. Essa estrutura pode fornecer condições que aumentam sua sobrevivência, como proteção contra inimigos naturais, construção de um microambiente favorável para completar seu ciclo de vida e nutrição rica e adequada (Price et al 1986, Stone & Schonrogge 2003, Oliveira et al 2016). De fato, a atividade alimentar do inseto é o gatilho inicial para o desenvolvimento da galha, que é dependente da capacidade reativa do tecido da planta hospedeira (Mani 1964, Weis et al. 1988, Dreger-Jauffret, Shorthouse 1992). A galha é um dreno de fotoassimilados, o que favorece a alimentação dos insetos galhadores (Bronner 1992, Castro et al 2012). Assim, as alterações morfológicas que ocorrem durante o desenvolvimento da galha, em geral, promovem e garantem maior aporte de recursos ao inseto galhador (Bronner 1992). Em galhas induzidas por *Pemphigus betae* (Hemiptera) em pecíolos de *Populus angustifolia*, por exemplo, nota-se um grande incremento de células de floema, sítio de alimentação do inseto galhador (Richardson et al 2017).

O aparelho bucal dos hemípteros é penetrante, sugador e extremamente adaptado à dieta líquida, sendo caracterizado por um rostro, que abriga sua estrutura sugadora (haustelo) (Costa Lima 1940, Raman 2012). Em Psylloidea, o aparelho bucal perfurante e sugador é composto por dois pares de estiletes modificados em mandíbulas e maxila. A extremidade distal do lábio tem quatro órgãos sensitivos equidistantes dispostos bilateralmente, que permitem que o inseto reconheça as plantas, formando uma bainha de estilete proteico durante sua alimentação (Sharma & Raman 2017). Danos causados por insetos sugadores são quase sempre imperceptíveis, haja vista que as paredes celulares permanecem intactas mesmo quando há retirada do conteúdo celular nos tecidos vegetais (Gullan & Cranston 2007). Algumas espécies possuem ninfas

neonatas que, ao se alimentar, estimulam o crescimento de galhas em brotos axilares próximos do sítio de indução por translocação de compostos químicos (exemplo, *Apsylla cistellata* (Hemiptera: Calophyidae) em *Magnifera indica* (Anacardiaceae)) (Sharma & Raman 2017). Embora algumas espécies indutoras de galhas dentro de Sternorrhyncha (Aphidoidea, Psylloidea, Coccoidea e Aleyrodoidea) possam se alimentar de fluidos de células não vasculares, a grande maioria se alimenta de forma passiva em células dos elementos crivados (Wool 2005, Ranam 2012), o que torna possível criar hipóteses sobre todas as condições alimentares através da pressão positiva (e.g. Heldt & Piechula 2011, Taiz et al 2015). Entretanto, a dificuldade de conduzir experimentações ou observações dos comportamentos dos galhadores no interior das galhas limita nossa capacidade de testar essas hipóteses.

A dificuldade de estudar os comportamentos do galhador e sua dieta durante seus estágios de desenvolvimento no interior da galha tem motivado o desenvolvimento de diferentes métodos de investigação. Dentre os métodos invasivos, pode-se citar as análises de composição química e histoquímica nos tecidos da galha (histoquímica) e a posição do aparelho bucal do galhador na galha por análises histológicas (Oliveira et al 2010, Isaias et al 2014). Além disso, método importante para a compreensão do comportamento alimentar dos insetos sugadores é a técnica de monitoramento eletrônico EPG (Electrical Penetration Graph), proposto por McLean e Kinsey (1964), que parte do princípio de que a planta e o inseto fazem parte de um circuito elétrico, sendo possível monitorar alguns dos comportamentos do inseto galhador (Backus 1994). Essas abordagens, entretanto, podem comprometer a fisiologia do galhador e fornecer estimativas enviesadas dos comportamentos que ele exhibe. Portanto, o desenvolvimento de abordagens não-invasivas podem fornecer uma compreensão mais realista da dinâmica interação entre o galhador e a planta durante seu desenvolvimento no interior da galha.

Com o intuito de detectar e analisar a atividade de larvas do besouro asiático *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) em madeiras de árvores decíduas, Zorovic e Cockl (2015) usaram um laser Doppler para medir vibrações emitidas pela larva do besouro durante sua alimentação no interior dessas árvores. Esta abordagem permitiu a análise dos comportamentos alimentares das larvas de *A. glabripennis* no interior dos troncos da árvore. O uso de laser Doppler, portanto, pode fornecer um método eficiente para estudar os comportamentos alimentares de insetos galhadores no interior das galhas. Neste estudo,

utilizamos ferramentas de análise vibratória para investigar o comportamento alimentar do inseto galhador *Ceropsylla* sp. (Hemiptera: Psylloidea), que induz galhas nas folhas jovens de *Pouteria ramiflora* (Sapotaceae) durante o pico de brotação. A galha, quando madura, é caracterizada por apresentar uma intumescência em sua porção adaxial e uma abertura na porção abaxial, deixando exposta a superfície dorsal do inseto, recoberto apenas por uma substância branca de consistência cerosa (Calácio 2016), como mostrado na figura 1. A porção do inseto exposta na face abaxial das folhas permite que o laser Doppler seja focalizado diretamente no corpo do inseto. Essa disposição do inseto na planta pode minimizar o ruído das vibrações oriundas dos tecidos vegetais. Portanto, *Ceropsylla* sp. é uma espécie modelo para a utilização de ferramentas de análise vibratória nos estudos dos comportamentos alimentares de insetos galhadores.

Em vista da potencial aplicação do estudo de vibrações para avaliar os comportamentos de insetos galhadores, os objetivos deste estudo foram (1) descrever parâmetros vibratórios adequados para estudar o comportamento alimentar de insetos galhadores e (2) identificar padrões de vibração associados à alimentação do galhador. Assim, propomos a hipótese de que a larva do inseto galhador *Ceropsylla* sp. deve produzir vibrações mais intensas durante a alimentação e distintas das vibrações na ausência de alimentação. Testamos essa hipótese a partir da seguinte previsão: larvas do galhador irão produzir vibrações numa amplitude maior e em uma frequência distinta no interior da galha quando puderem se alimentar.

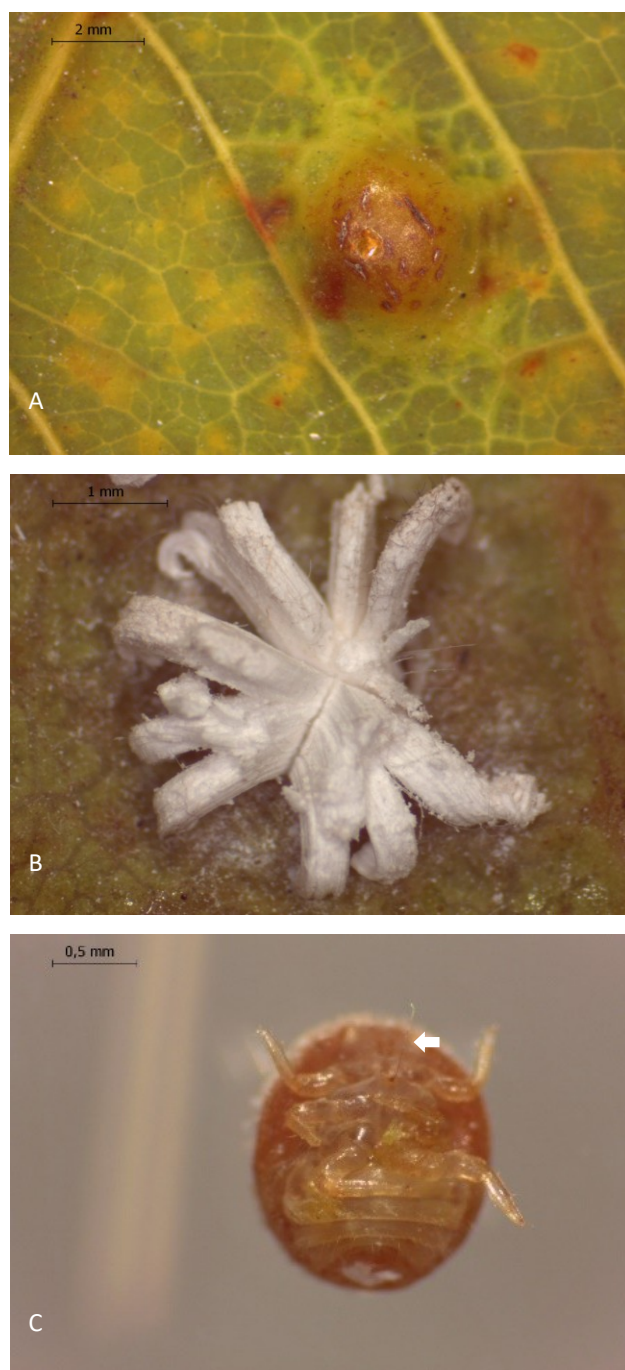


Figura 1. **A** - Superfície abaxial da folha de *Pouteria ramiflora* (Sapotaceae), mostrando porção da galha coberta por tecido vegetal; **B**- superfície adaxial da folha, mostrando superfície dorsal da galha coberta pela substância cerosa; **C**- Imagem detalhada da porção ventral do inseto galhador *Ceropsylla sp.* Psyllidae (Hemiptera), onde a seta indica o aparelho bucal sugador

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Sistema de estudo

Pouteria ramiflora (Sapotaceae) é uma espécie frutífera distribuída em áreas de Cerrado (Dalponte & Lima 1999). Possui folhas simples, oblongas, alternas e espiraladas, variando de 6 a 20 cm de comprimento e 3 a 13 cm de largura (Calácio 2016). As galhas presentes na planta são intralaminares, induzidas por uma espécie de *Ceropsylla sp.* (Hemiptera: Psyllidae). A galha madura apresenta uma intumescência voltada para a superfície adaxial da folha, além de uma abertura voltada para a superfície abaxial. Durante a formação da galha, ocorre o desenvolvimento do tecido com hipertrofia celular e hiperplasia parenquimática (Calácio 2016). Este tecido é dividido em córtex adaxial e abaxial, que fica em contato direto com o inseto galhador (Calácio 2016).

2.2 Material biológico

As amostras foram coletadas na Reserva Ecológica do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU). A Reserva possui 127 ha e se localiza a 8 km a oeste do perímetro urbano de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil (18°60'S-48°17'O). A fitofisionomia predominante é o cerrado *stricto sensu* (Lima et al. 1989). O clima da região é o subtropical úmido (Cwa, de acordo com o sistema de classificação de Köppen), com uma estação seca de abril a setembro e outra chuvosa de outubro a março. As temperaturas médias são mais baixas durante o período seco, e acima de 35°C no verão (Alvares et al. 2013).

2.3 Coleta de dados

Para a realização das gravações, foi utilizado um laser Doppler Portal Digital Vibrometer (PDV-100, Politec), unido a um notebook Dell Inspiron 14 2630, processador Intel Core i5-3337U, CPU 1,80 GHz, memória RAM 6,00 GB, Windows 8.1 (64 bits), HD com 700 GB. Os

áudios foram gravados em quantidades de tempo pré definidas de 15 a 30 minutos utilizando o Sony Sound Forge Pro 11.0 (Sony Pictures Digital Inc.) e os arquivos foram salvos em formato WAV. Após as gravações, os arquivos foram editados para posterior análise no programa Audacity (v.2.1.2). Os parâmetros vibratórios foram estimados usando o programa Raven Pro 1.4 (Bioacoustics Research Program). Os experimentos foram feitos no Laboratório de Anatomia, Desenvolvimento Vegetal e Interações, na Universidade Federal de Uberlândia, e as simulações foram feitas utilizando uma placa de granito adaptada uma superfície não vibratória, para que não houvesse alterações nos resultados do experimento. Foram utilizadas 12 folhas com galhas para os experimentos pareados. A área estimada das folhas foi estimada usando o programa ImageJ (National Institutes of Health) e, em seguida, foi calculada a da densidade de galhas por cm^2 .



Figura 2. Esquema ilustrativo representando o procedimento de gravação para a coleta de dados. O ramo foi colocado dentro de uma proveta com água, e posicionado sobre uma placa de granito. Em seguida, o laser era mirado a uma distância padrão de 25cm na superfície adaxial contendo a porção da galha exposta.

Em laboratório, foram simuladas duas condições de disponibilidade de alimento (baseadas no fluxo do floema e xilema) para o inseto galhador: fluxo contínuo e fluxo interrompido. No primeiro tratamento (fluxo contínuo), um ramo foi devidamente cortado, submerso em 600 ml de água, dentro de um proveta Laborglas para evitar embolia e a interrupção do fluxo de água nos feixes vasculares. Em seguida, o laser do PDV-100 foi focalizado em uma galha a uma distância padronizada de 25cm da folha. No segundo tratamento (fluxo interrompido), o mesmo ramo foi fixado na parte de fora da proveta e devidamente posicionado para que o laser fosse focalizado novamente sobre a mesma galha. Para medir a densidade das galhas, foi utilizado o software de processamento de imagem ImageJ para calcular a área das folhas e número de galhas por folhas.

Os seguintes parâmetros vibratórios dos gravações foram avaliados:

- Delta de tempo (s): diferença entre os tempos inicial e final das vibrações;
- Energia (dB): a amplitude total dentro das áreas selecionadas (amplitude total);
- Pico de Amplitude (dB): energia máxima em cada feixe selecionado;
- Amplitude média (dB): o valor de densidade de energia do espectrograma, calculado a partir da soma dos limites superior e inferior da frequência da vibração selecionada dividida pelo número de picos de frequência;
- Frequência central (Hz): uma medida da frequência que divide a vibração selecionada em dois intervalos de frequência com a mesma energia.
- Delta de Frequência (Hz): diferença entre os limites mais altos e mais baixos de cada vibração selecionada;

2.4 Análises estatísticas

Os parâmetros vibratórios foram comparados de acordo com duas velocidades de amplitude do PDV-100 usando um teste t. A variável independente foram duas velocidades de amplitude (5 e 125 mm/s/v) e a dependente foram os parâmetros vibratórios. Em seguida, foram comparados os parâmetros vibratórios entre os tratamentos de fluxo do floema (interrompido e contínuo) usando um teste t pareado. A variável independente foram os tratamentos do fluxo do floema e a dependente foram os parâmetros vibratórios medidos em cada folha. Todas as análises foram realizadas no programa livre R versão 3.4.0 (R Core Team 2011).

3. Resultados

O número de galhas ocorreu em média de $4,25 \pm 0,57$ galhas, de 1 a 8 galhas por folha, média \pm erro padrão (mínimo – máximo), em uma densidade de 0,12 galhas/cm², em folhas com área de $38,41 \pm 2,02$ cm² de 29,06 a 52,62 cm². A tabela 1 mostra que não houve diferença entre os parâmetros avaliados na comparação entre as amplitudes de 5mm/s/v e 125mm/s/v, exceto para as medidas 5% de frequência, que variou entre $413,44 \pm 103,36$ (5mm/s/v) a $159,99 \pm 21,85$ (125mm/s/v)

Tabela 1. Parâmetros analisados em diferentes amplitudes

Parâmetros	5 mm/s/v	125 mm/s/v	Teste t
Delta de tempo (s)	$0,62 \pm 0,15$	$1,57 \pm 0,47$	$t=1,922$; $gl=15,64$; $p=0,073$
Energia (dB)	$70,86 \pm 11,87$	$77,77 \pm 9,03$	$t=0,463$; $gl=18,22$; $p=0,649$
Pico de amplitude (dB)	$56,16 \pm 9,38$	$62,54 \pm 7,41$	$t=0,534$; $gl=18,69$; $p=0,599$
Amplitude media (dB)	$37,34 \pm 6,41$	$39,82 \pm 4,75$	$t=0,310$; $gl=17,86$; $p=0,760$
Frequência central (Hz)	$7872,55 \pm 1342,75$	$6958,95 \pm 1405,87$	$t=-0,469$; $gl=21,59$; $p=0,643$
5% de frequência (Hz)	$413,44 \pm 103,36$	$159,99 \pm 21,85$	$t=-2,399$; $gl=9,809$; $p=0,038$
95% de frequência (Hz)	$15813,97 \pm 2636,38$	$14952,65 \pm 2288,33$	$t=-0,247$; $gl=19,86$; $p=0,808$
Pico de frequência (Hz)	$2446,19 \pm 1663,21$	$6037,37 \pm 1867,74$	$t=1,436$; $gl=21,90$; $p=0,165$

Os resultados parâmetros de amplitude e frequência diferiram entre as galhas com e sem fluxo de floema (Tabela 2). Com isso, as discrepâncias entre os resultados de frequência e amplitude, que se mostraram maiores no fluxo contínuo, indicam que o inseto pode estar se alimentando no interior da câmara larval. Apenas o delta de tempo das vibrações, e 5% de frequência não apresentaram alterações entre os tratamentos. Nos casos que apresentaram diferença, os parâmetro apresentou um aumento nos parâmetros vibratórios das galhas submetidas ao fluxo contínuo em comparação com o fluxo interrompido. Dentre os parâmetros de amplitude, tamanhos de efeito semelhantes foram obtidos para a energia e o pico de amplitude (1,43 e 1,4 vezes maior, respectivamente, em fluxo contínuo), enquanto o pico de frequência apresentou valores maiores que os demais parâmetros de frequência (2,21 vezes maior). Assim, identificamos que o inseto galhador *Ceropsylla* sp. produz, em média, pulsos vibratórios, em média, com uma energia de 88,08 dB e pico de amplitude de 69,80 dB, com pico de frequência de 6254,05 Hz.

Tabela 2. Comparação dos parâmetros vibratórios do galhador *Ceropsylla* sp. (Hemiptera: Psylloidea) em glahas foliares de *Pouteria ramiflora* (Sapotaceae) submetidas a dois tratamentos de fluxo do floema (contínuo e interrompido). Os valores de cada parâmetro correspondem à média \pm erro padrão. O tamanho do efeito corresponde ao valor médio de cada parâmetro no fluxo contínuo dividido pela média do mesmo parâmetro no fluxo interrompido. Os * destacam valores de $p < 0,05$.

Parâmetros vibratórios	Fluxo contínuo do floema	Fluxo interrompido do floema	Tamanho do efeito	Teste t pareado
Delta de tempo	1,18 \pm 0,21	1,17 \pm 0,56	1	t=0,015; gl=11, p=0,494
Energia	88,08 \pm 1,62	61,7 \pm 13,28	1,43	t=2,12; gl=11, p=0,028 *
Pico de amplitude	69,80 \pm 1,55	49,97 \pm 10,83	1,40	t=1,99; gl=11, p=0,035 *
Amplitude média	44,91 \pm 1,79	32,66 \pm 7,03	1,37	t=2,04; gl=11, p=0,033 *
Frequência central	9740,94 \pm 562,96	4938,30 \pm 1620,49	1,97	t=2,74; gl=11, p=0,009 *
5% de frequência	301,49 \pm 70,72	229,69 \pm 74,46	1,31	t=1,101; gl=11, p=0,147
95% de frequência	19921,07 \pm 103,18	10702 \pm 2849,18	1,86	t=3,26; gl=11, p=0,004 *

Pico de frequência	6254,05 ± 2091,91	2828,04 ± 1535,01	2,21	t=2,24; gl=11, p=0,023 *
-----------------------	-------------------	-------------------	------	--------------------------

4. Discussão

De fato, a galha é considerada um dreno de fotoassimilados (Castro et al 2012, Oliveira et al 2016) e, quando é induzida por insetos sugadores (Hemiptera) estimulam intenso desenvolvimento de células de floema, i.e. sítios para alimentação (Richardson et al 2017). Nas galhas induzidas por *Ceropsylla* sp. em *P. ramiflora* também ocorre a diferenciação de feixes de floema aumentando os sítios para alimentação do inseto (Calácio 2017).

Estes insetos sugadores inserem seu aparelho bucal através do apoplasto até o contato com as células do floema onde o processo de alimentação começa e termina de forma passiva (Hewer et al 2011). Com os ramos de *P. ramiflora* em fluxo de água contínuo, o transporte no floema é maior e consequentemente, os insetos sugadores emitem maiores picos de vibração durante seu processo de alimentação passivo. Assim como ocorre na alimentação de alguns afídeos (Mittler 1957, Lazzaroto et al 2010), a alimentação do inseto galhador por inserção do estilete no floema é favorecida pela grande capacidade deste tecido em transportar açúcares em alta pressão. Essa relação alimentar entre o inseto galhador e a planta permite inferir que as vibrações produzidas pelo inseto serão intensificadas quando ele se alimenta.

A seleção de sítios de alimentação por insetos sugadores nas plantas hospedeiras depende de sinais gustatórios que ocorrem durante a penetração do estilete do inseto nos tecidos periféricos e, especialmente, nos feixes vasculares (Powell et al 2006). A partir deste reconhecimento, o inseto pode se alimentar por minutos, ou até horas contínuas, no tecido vegetal (Tjallinggi 1994). Estudos usando a técnica de EPG (Electrical Penetration Graph) mostram que

afídeos sugadores de floema podem permanecer no tecido da planta hospedeira sem inserir o aparelho bucal nesses tecidos, procurando ou forrageando em busca de sítios de alimentação para inserção do estilete ou ainda se alimentando passivamente no floema (Lazzaroto et al 2010). Ainda, segundo estes autores, na maior parte do tempo os afídeos estão procurando e fazendo punções com seu estilete nos tecidos da planta hospedeira em busca de um sítio para alimentação.

Parâmetros vibratórios foram identificados e distinguidos quanto à alimentação do galhador, ao se comparar com situações de não alimentação. Antes de iniciar essas medições, foi testado duas sensibilidades do laser Doppler PDV-100 para registrar os parâmetros vibratórios. O inseto galhador *Ceropsylla* sp. emitiu pulsos vibratórios semelhantes entre as velocidades de amplitude de 5mm/s/v e 125mm/s/v nas galhas foliares de *P. ramiflora* e os parâmetros que tiveram efeito biológico ($p < 0,05$) foram os de Energia (Db), Pico de Amplitude (Db), Amplitude Média (Db), Frequência Central (Hz), 95% de frequência (Hz), e Pico de frequência (Hz) em tratamentos de fluxo contínuo, quando comparados com fluxo interrompido nos parâmetros vibratórios, indicando uma possível atividade alimentar do inseto. Desta forma, sugere-se que as análises de padrões de vibração de *Ceropsylla* sp. são eficiente tanto em baixa quanto alta sensibilidade do PDV-100. Nos experimentos pareados da mesma galha submetida ao fluxo contínuo e interrompido do floema, foi encontrado valores mais altos de amplitude e frequência entre os parâmetros vibratórios. A identificação desses parâmetros pode ser útil durante a investigação dos eventos de alimentação do galhador.

Com isso, a utilização de uma nova abordagem com a metodologia proposta neste estudo tornaria possível descrever a dinâmica de alimentação de outras interações de insetos galhadores com suas plantas hospedeiras, bem como entender se as condições em que as plantas estão sujeitas, ou se os mecanismos de defesa afetam de alguma forma o comportamento de indução de galhas. Por se tratar de uma gama amplamente diversificada, a interação específica de galhadores com seus hospedeiros possibilita uma série de estudos histológicos, anatômicos e também comportamentais. Mas, por se tratar de um meio predominantemente fechado, este tipo de interação até então não permitia que estudos comportamentais mais aprofundados fossem feitos sem que houvesse violação da estrutura da galha, o que tornava mais fácil comprometer o estudo e afetar os comportamentos do galhador.

5. Conclusão

Este estudo, portanto, inaugura uma metodologia importante para os estudos da interação entre galhadores e plantas hospedeiras e torna possível investigar os comportamentos alimentares dos galhadores em diferentes cenários ambientais e de laboratório, além de permitir descrever a dinâmica temporal desses comportamentos e testá-las em condições que favorecem a indução e o desenvolvimento das galhas. Por fim, também é possível analisar como diferentes condições em que as plantas estão sujeitas alteram o comportamento do inseto galhador..

6. Referências bibliográficas

ALVARES, C. A., STAPE, J. L., SENTELHAS, P. C., DE MORAES, G., LEONARDO, J. & SPAROVEK, G (2013). **Köppen's climate classification map for Brazil**. Meteorologische Zeitschrift, v. 22, n. 6, p. 711-728

BACKUS, E. A. (1994). **History, development, and applications of the AC electronic monitoring system for insect feeding**. History, development, and application of AC electronic insect feeding monitors. Thomas Say Publications in Entomology, Entomological Society of America, Lanham, MD, 1-51.

BRONNER, R. (1992). **The role of nutritive cells in the nutrition of cynipids and cecidomyiids.** Biology of insect-induced galls. Oxford University Press, New York, 118-140.

CALÁCIO, T. F., OLIVEIRA D. C. (2016). **Galhas foliares induzidas por Ceropsylla sp. (Hemiptera: Psyllidae) em Pouteria ramiflora (Mart.) Radlk. (Sapotaceae): simplicidade estrutural vs complexidade histoquímica.**

CASTRO, A. C., OLIVEIRA D. C., MOREIRA A. S. F. P., LEMOS-FILHO, J. P., ISAIAS, R. M. S. (2012). **Source–sink relationship and photosynthesis in the horn-shaped gall and its host plant Copaifera langsdorffii Desf. (Fabaceae)**

CRESPI, B., & WOROBEY, M. (1998). **Comparative analysis of gall morphology in Australian gall thrips: the evolution of extended phenotypes.** Evolution, 1686-1696.

DALPONTE, J. C., & LIMA, E. D. S. (1999). **Disponibilidade de frutos e a dieta de Lycalopex vetulus (Carnivora-Canidae) em um cerrado de Mato Grosso, Brasil.** Revista Brasileira de Botânica, 22(2), 325-332.

DANKS, H. V. (2000). **Dehydration in dormant insects.** Journal of Insect Physiology, 46(6), 837-852.

DINANT S., LEMOINE R. (2010). **The phloem pathway: new issues and old debates.** C. R. Biol. 333 307–319

DREGER-JAUFFRET, F., & SHORTHOUSE, J. D. (1992). **Diversity of gall-inducing insects and their galls.** Biology of insect-induced galls, 295

FAHN, A. (1990). **Plant anatomy** (4th edn). Oxford Pergamon.

FERNANDES, G. W., CARNEIRO, M. A., & ISAIAS, R. M. (2012). **Gall-inducing insects: from anatomy to biodiversity**. Insect bioecology and nutrition for integrated pest management. Edited by AR Panizzi and JRP Parra. CRC Press, Boca Raton, Florida, 369-395.

GULLAN, P. J., CRANSTON, P. S., MCINNES, K. H., & HOENEN, S. M. M. (2007). Os insetos: um resumo de entomologia. Roca..

HELDT, W.H., PIECHULA, B., (2011). **Plant biochemistry**, 4th ed. Academic Press—Elsevier, USA, pp. 618.

HEWER A., BECKER A, VAN BEL A. J. E. (2011). **An aphid's Odyssey – the cortical quest for the vascular bundle**. J. Exp. Biol. 214 3868–3879 10.1242/jeb.060913

ISAIAS, R. M. D. S., CARNEIRO, R. G. S., OLIVEIRA, D. C., & SANTOS, J. C. (2013). **Illustrated and annotated checklist of Brazilian gall morphotypes**. *Neotropical Entomology*, 42(3), 230-239.

LIMA, W. D. P. (1989). **Função hidrológica da mata ciliar**. Simpósio sobre mata ciliar, 1, 25-42.

LAZAROTO CM, LAZZARI SMN, PENTEADO SRC. (2010). **Feeding behavior of two exotic aphid species on their original hosts in a new invaded area**. *Neotropical Entomology* 40: 316-321.

LIMA, C. (1940). **Insetos do Brasil**. Tomo 2.

LIMA, S.C., ROSA, R. & FELTRAN FILHO, A. (1989). **Mapeamento do uso do solo no Município de Uberlândia-MG, através de imagens TM/LANDSAT**. *Sociedade & Natureza* 1:127-145

LIU, Y. J., HALL, D., CROSS, J., FARMAN, D., AMARAWARDANA, L., LIU, Q. R., & HE, X. K. (2009). **(2S, 8Z)-2-Butyrox-8-heptadecene: Major component of the sex pheromone of chrysanthemum gall midge, *Rhopalomyia longicauda***. Journal of chemical ecology, 35(6), 715-723.

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

OLIVEIRA, D. C., & ISAIAS, R. M. S. (2010). **Redifferentiation of leaflet tissues during midrib gall development in *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae)**. South African Journal of Botany, 76(2), 239-248.

PRICE, P. W.; FERNANDES, G. W. & WARING, G. L. (1986). **Adaptive nature of insect galls**. Environmental Entomology, 16: 15- 24

PRICE, P. W., AND H. PSCHORN-WALCHER. (1988). **Are galling insects better protected against parasitoids than exposed feeders? A test using tenthredinid sawflies**. Ecol. Entomol. 13:195–205.

POWELL G, TOSH CR, HARDINE J. (2006). **Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives**. Annu Rev Entomoml 51: 309-330

RAMAN, A. (2012). **Gall induction by hemipteroid insects**. Journal of plant interactions, 7(1), 29-44.

ROOT, R. B. (1967). **The niche exploitation pattern of the blue-gray gnatcatcher**. Ecological Monographs 37:317-350.

RICHARDSON, R.A., BODY, M., WARMUND, M.R. ET AL. (2017) **Morphometric analysis of young petiole galls on the narrow-leaf cottonwood, *Populus angustifolia*, by the sugarbeet root aphid, *Pemphigus betae***

Protoplasma (2017) 254: 203.

SHARMA, A., & RAMAN, A. (2017). **Feeding biology and nutritional physiology of Psylloidea (Insecta: Hemiptera): implications in host-plant relations.** CURRENT SCIENCE, 113(8), 1543.

SCHULZ A. (1998). **The phloem. Structure related to function.** Prog. Bot. 59 429–475
10.1007/978-3-642-80446-5_16

SHORTHOUSE, J. D., WOOL, D., & RAMAN, A. (2005). **Gall-inducing insects–Nature's most sophisticated herbivores.** Basic and Applied Ecology, 6(5), 407-411.

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

TAIZ, L., ZEIGER, E., MØLLER, I. M., & MURPHY, A. (2015). **Plant physiology and development.** Sinauer Associates, Incorporated.

TJALLINGII WF (1994). **Sieve element acceptance by aphids.** Eur J. Entomol. 91: 47-52.

VAN BEL A. J. E., KNOBLAUCH M. (2000). **Sieve element and companion cell: the story of the comatose patient and the hyperactive nurse.** Aust. J. Plant Physiol. 27 477–487
10.1071/PP99172

WARING, G. L., AND P. W. PRICE (1990). **Plant water stress and gall formation (*Cecidomyiidae: Asphondylia* spp.) on creosote bush.** Ecol. Entomol. 15:87–95.

WEIS, A. E., WALTON, R. and CREGO, C. L., 1988, **Reactive plant tissue sites and the population biology of gall makers**. Ann. Rev. Entomol., 33: 467-486

WHITE, T. T. (1984). **The abundance of invertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants**. Oecologia, 63(1), 90-105.

WHITHAM, T. G. (1992). **Ecology of Pemphigus gall aphids**. **Biology of Insect-induced Galls** (Shorthouse, JD and Rohfritsch, O., eds), 225-237.

WOOL, D. (2005). **Differential colonization of host trees by galling aphids: Selection of hosts or selection by hosts?**. Basic and Applied Ecology, 6(5), 445-451.

ZOROVIĆ, M., & ČOKL, A. (2015). **Laser vibrometry as a diagnostic tool for detecting wood-boring beetle larvae**. Journal of pest science, 88(1), 107-112.