

MAYARA MOLEDO PICANÇO

**ALTERAÇÕES ANATÔMICAS E HORMONAIAS EM PLANTAS DE GOIABA  
DEVIDO AO ATAQUE DO PSILÍDEO *Triozoida limbata***

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia, para obtenção do  
título de

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P585a  
2019 Picanço, Mayara Moledo, 1991-  
Alterações anatômicas e hormonais em plantas de goiaba  
devido ao ataque do psíldeo *Triozoida limbata* / Mayara Moledo  
Picanço. – Viçosa, MG, 2019.  
vi, 22 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Og Francisco Fonseca de Souza.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 19-22.

1. Psylloidea. 2. *Triozoida limbata*. 3. *Psidium guajava*.  
4. Goiaba - Doenças e pragas . I. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de  
Pós-Graduação em Entomologia. II. Título.

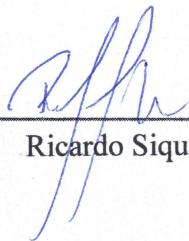
CDD 22. ed. 595.754

MAYARA MOLEDO PICANÇO

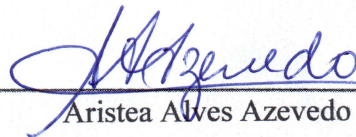
**ALTERAÇÕES ANATÔMICAS E HORMONAIAS EM PLANTAS DE GOIABA  
DEVIDO AO ATAQUE DO PSILÍDEO *Triozoida limbata***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

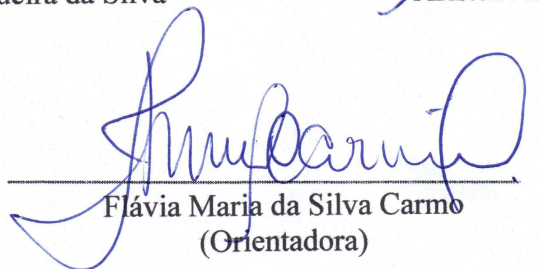
APROVADA: 28 de fevereiro de 2019.



\_\_\_\_\_  
Ricardo Siqueira da Silva



\_\_\_\_\_  
Aristeia Alves Azevedo



\_\_\_\_\_  
Flávia Maria da Silva Carmo  
(Orientadora)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e sabedoria.

Aos meus pais, Marcelo e Katia, por todo amor, carinho e educação que me deram durante todos esses anos, e aos meus irmãos Luiza e Marcelo Filho pela amizade.

Ao meu esposo Matheus, pelo amor, companhia e dedicação durante todos os anos juntos.

Aos meus amigos, em especial à Cecília, Julianna e Mariana por me suportarem por tanto tempo.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia, pela oportunidade de realização do mestrado.

Aos professores Flávia Maria Carmo e Og Francisco de Souza, pela orientação, amizade e confiança durante o mestrado.

Aos professores Aristeia Azevedo, Humberto Ramos e Ricardo Siqueira, pelas sugestões e apoio.

Aos funcionários dos Departamentos de Biologia Geral, Biologia Vegetal e Entomologia em especial à Sílvia (DBG), Aurora (DBV), Eliane (DDE) e José Evaristo (DDE) pela ajuda e amizade.

Aos estagiários e colegas de laboratório, pela amizade e apoio.

A todos, que contribuíram para realização desse trabalho.

Ao doutorando em Entomologia da UFV Elizeu de Sá Farias pela entrega desta Dissertação na PPG da UFV.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## BIOGRAFIA

MAYARA MOLEDO PICANÇO, filha de Marcelo Coutinho Picanço e Kátia Regina da Silva Moledo Picanço, nasceu em Itaperuna, estado do Rio de Janeiro, no dia 31 de janeiro de 1991.

Em março de 2010, ingressou no curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal de Viçosa (UFV), graduando-se em julho de 2016. De janeiro de 2011 a março de 2014 foi estagiária e bolsista de Iniciação Científica no Departamento de Biologia Vegetal da UFV, sob orientação da Professora Ana Paula Santos Gonçalves desenvolvendo trabalho sobre Taxonomia e distribuição geográfica de espécies de *Merostachys* (Poaceae: Bambusoideae: Arthrostylidiinae). Nos anos de 2014 a 2015 foi bolsista no Programa Ciências Sem Fronteiras na University of Nebraska-Lincoln (UNL) nos Estados Unidos. No Center for Plant Science Innovation da UNL desenvolveu trabalho sobre *Molecular biology and evolutionary genetics of horizontal gene transfer* (HGT), sob orientação do Professor Jeffrey P. Mower. De setembro 2015 a fevereiro de 2017 estagiou no Departamento de Biologia Geral da UFV, sob orientação da Professora Flávia Maria da Silva Carmo em Ecologia desenvolvendo trabalhos sobre a relação inseto-planta. Em março de 2017 ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da UFV, obtendo o título de mestre em fevereiro de 2019.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. Condições experimentais</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2. Criação do psilídeo</b> .....	<b>3</b>
<b>2.3. Experimentos</b> .....	<b>5</b>
<b>2.3.1. Alterações morfo-anatômicas nas folhas causadas pelo psilídeo</b> .....	<b>5</b>
<b>2.3.2. Efeito do ataque do psilídeo na concentração de hormônios nas folhas</b> .....	<b>6</b>
<b>3. RESULTADOS</b> .....	<b>9</b>
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	<b>19</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>19</b>

## RESUMO

PICANÇO, Mayara Moledo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Alterações anatômicas e hormonais em plantas de goiaba devido ao ataque do psíldeo *Triozoida limbata***. Orientador: Og Francisco Fonseca de Souza. Coorientadora: Flávia Maria da Silva Carmo.

No mundo, o cultivo de fruteiras tropicais como a goiabeira (*Psidium guajava*) tem aumentado sua importância. Entretanto, o ataque de pragas é um dos principais entraves a obtenção de altas produtividades nestes cultivos. Neste contexto, o psíldeo *Triozoida limbata* (Hemiptera: Triozidae) é uma das pragas mais importantes da goiabeira na região neotropical. Para o controle eficiente e sustentável das pragas é importante o entendimento das relações entre estes insetos e as plantas. O ataque de insetos sugadores, como os psíldeos, pode provocar alterações morfo-anatômicas e nas concentrações de hormônios nas plantas. Assim, este trabalho teve por objetivo determinar as alterações morfo-anatômicas e hormonais nas plantas de goiaba causadas por *T. limbata*. Para tanto, foram realizados dois experimentos. No primeiro foram avaliadas as alterações morfo-anatômicas nas folhas causadas pelo psíldeo. Já no segundo, foi avaliado o efeito do ataque do psíldeo nas concentrações de fitormônios. Verificou-se que o ataque das ninfas de *T. limbata* causou a formação de galha por enrolamento das folhas. Nas galhas ocorreu hipertrofia e hiperplasia nas células e não houve diferenciação dos tecidos do mesófilo. Nas células do mesófilo foliar das galhas ocorreu acúmulo de amido. As alterações morfo-anatômicas nas folhas foram maiores na parte interna das galhas. Devido ao ataque de *T. limbata* ocorreu aumento da concentração de ácido jasmônico e redução da concentração de zeatina nas folhas. Portanto, neste trabalho foram elucidadas as alterações nas plantas de goiaba causadas pelo ataque de *T. limbata* e assim ampliou-se o entendimento da relação entre este inseto praga e esta fruteira.

## ABSTRACT

PICANÇO, Mayara Moledo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Anatomical and hormonal changes in guava plants caused by the psyllid *Triozoida limbata* crops.** Advisor: Og Francisco Fonseca de Souza. Coadvisor: Flávia Maria da Silva Carmo.

In the world, the cultivation of tropical fruit trees such as guava (*Psidium guajava*) has increased its importance. However, pest attack is one of the main obstacles to obtaining high yields in these crops. In this context, the psyllid *Triozoida limbata* (Hemiptera: Triozidae) is one of the most important pests of guava in the Neotropical region. For the efficient and sustainable control of pests, it is important to understand the relationships between these insects and plants. The attack of sucking insects, like the psyllids, can cause morpho-anatomical alterations and in the concentrations of hormones in the plants. Thus, this work aimed to determine the morpho-anatomical and hormonal changes in guava plants caused by *T. limbata*. For that, two experiments were carried out. In the first one, the morpho-anatomical changes in the leaves caused by the psyllid were evaluated. In the second, the effect of the attack of the psyllid on the concentrations of phytohormones was evaluated. It was found that the attack of the *T. limbata* nymphs caused gall to form by folding the leaves. In the galls hypertrophy and hyperplasia occurred in the cells and there was no differentiation of mesophyll cells. In the leaf mesophyll cells of the galls occurred accumulation of starch. The morpho-anatomical changes in the leaves were larger in the internal part of the galls. Due to the attack of *T. limbata* there was an increase in the concentration of jasmonic acid and a reduction in the concentration of zeatin in the leaves. Therefore, in this work the changes in the guava plants caused by the attack of *T. limbata* were elucidated and thus the understanding of the relation between this insect pest and this fruit tree was enlarged.

## 1. INTRODUÇÃO

Os psílídeos (Hemiptera: Psylloidea) são um grupo de pragas de grande importância causando perdas significativas na produtividade das plantas cultivadas (Queiroz et al. 2012, Hall et al. 2013, Prager et al. 2017). Com relação

Os psílídeos (Hemiptera: Psylloidea) são um grupo de pragas de grande importância causando perdas significativas na produtividade das plantas cultivadas (Queiroz et al. 2012, Hall et al. 2013, Prager et al. 2017). Com relação ao dano às plantas os insetos sugadores como os psílídeos podem ser divididos em dois grupos: (i) as espécies que causam danos principalmente por serem vetores de doenças às plantas e (ii) as espécies que causam danos devido a sucção de seiva e as substâncias injetadas durante sua alimentação (Raven 1983, Schoonhoven et al. 2005). Este primeiro grupo de psílídeos tem sido muito estudado por diversos pesquisadores em todo mundo, sobretudo *Diaphorina citri* Kuwayama (Liviidae) que é a principal praga dos citros em diversas partes do planeta (Grafton-Cardwell et al. 2013). Entretanto, este segundo grupo de psílídeos tem sido pouco estudado. Uma das espécies de psílídeo deste segundo grupo é *Triozioida limbata* Enderlein (Trioziidae) que é uma das pragas mais importantes da goiabeira (*Psidium guajava* L.) na região neotropical (Moreira 2005, Semeão et al. 2012a, 2012b).

Deve-se ressaltar que a região entre os trópicos ocupa a maior área terrestre do planeta abrangendo cerca de 40% desta área (Val et al. 2005). Nesta região, o cultivo de fruteiras tropicais como a goiabeira tem alcançado cada vez mais importância. O consumo dos frutos das fruteiras tropicais tem aumentado em todo mundo devido ao seu sabor, conteúdo nutricional e terem propriedades preventiva de várias doenças. As folhas e frutos das fruteiras tropicais também contêm substâncias medicinais que tem sido cada vez mais usadas na medicina

tradicional e alternativa (Rodríguez et al. 2017, Acham et al. 2018, FAO 2019). Entretanto, o ataque de pragas a estas plantas como o psílideo *T. limbata* tem causado grandes danos (em até 55%) e reduzido suas produtividades (Moreira 2005).

Para o controle dos insetos praga de forma eficiente e sustentável é importante o entendimento das relações entre estes organismos e às plantas (Prokopy & Kogan 2009, Nebapure & Sagar 2015). Nas relações entre os insetos sugadores (como os psílideos) e as plantas é importante o entendimento das alterações provocadas por seus ataques às plantas. Neste contexto, os insetos sugadores podem provocar alterações morfológicas externas e anatômicas nas plantas e nas concentrações de fitormônios (Tooker & Helms 2014). Entre as alterações morfológicas externas causadas pelos insetos sugadores está o retorcimento das folhas (Raven 1983, Schoonhoven et al. 2005). O ataque destes insetos praga também pode provocar alterações anatômicas nos tecidos das plantas por eles atacados (Fernandes et al. 2012). Nas relações entre os insetos herbívoros e as plantas, sobretudo para os insetos sugadores, os fitormônios tem papel relevante. Estes compostos exercem papel importante nas injúrias causadas pelos insetos sugadores e também na defesa das plantas a estas pragas (Tooker & Helms 2014).

Apesar da importância dos cultivos de goiaba e do psílideo *T. limbata* como praga pouco se conhece sobre a relação entre eles, sobretudo das alterações causadas por este inseto esta planta. Assim, este trabalho teve por objetivo determinar as alterações morfo-anatômicas e hormonais nas plantas de goiaba causadas pelo ataque do psílideo *T. limbata*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Condições experimentais

Este trabalho foi realizado no campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa (20°48'45" S; 42°56'15" W; altitude 672 m e clima tropical de altitude), MG, Brasil. No trabalho foram usadas plantas de goiaba da variedade Paluma e elas foram cultivadas práticas usuais sem aplicação de pesticidas (Silva et al. 2010). O cultivo das plantas foi realizado em casas de vegetação usando-se vasos de polietileno de oito litros terra de barranco e cada vaso continha uma planta. Na casa de vegetação a temperatura foi média de 27°C e umidade relativa do ar média de 70%. As plantas foram separadas em dois grupos: o primeiro foi utilizado na criação do psilídeo e o segundo foi usado nos experimentos. As plantas possuíam cerca de seis meses de idade quando elas foram usadas na criação e nos experimentos. Os dois grupos de plantas foram cultivados em casas de vegetação isoladas uma da outra para evitar que os insetos da criação atacassem as plantas usadas nos experimentos (Figura 1A).

### 2.2. Criação do psilídeo

Folhas com ninfas do psilídeo foram coletados de goiabeiras cultivadas no campus da UFV para o estabelecimento da criação. Estas folhas foram transportadas para casa de vegetação. Na casa de vegetação estas folhas foram coladas sobre 60 plantas de goiaba. Aspectos desta criação são mostrados na Figura 1. Exemplos dos adultos do psilídeo foram coletados e armazenados em frasco de vidro (10 mL) contendo solução etanólica a 92%. Estes insetos foram enviados para o Dr. Daniel Burckhardt do Department of Biosciences do Natural History Museum em Basel, Suíça. Estes exemplares foram identificados como *Triozoida limbata* Enderlein (Hemiptera: Triozidae).

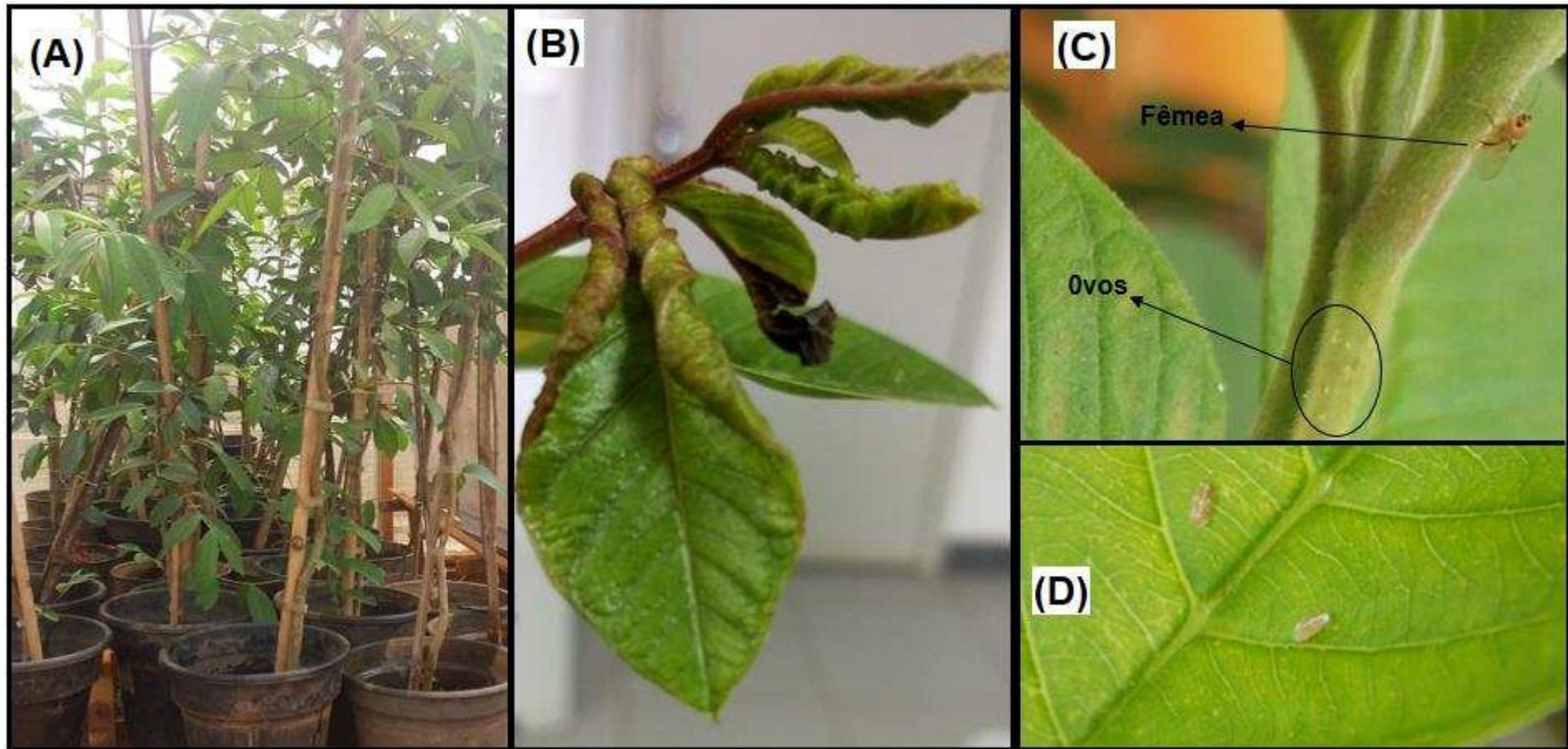


Figura 1. (A) Plantas de goiaba cultivadas em vaso, (B) galhas por enrolamento das folhas, (C) fêmea e ovos do psílideo *Triozoida limbata* e (D) ninfas deste inseto.

## **2.3. Experimentos**

Foram realizados dois experimentos. No primeiro experimento foram avaliadas as alterações morfo-anatômicas nas folhas de goiabas causadas pelo ataque do psilídeo. Já no segundo experimento foi avaliado o efeito do ataque do psilídeo sobre a concentração de hormônios nas folhas de goiaba.

### **2.3.1. Alterações morfo-anatômicas nas folhas causadas pelo psilídeo**

Inicialmente foram monitorados o ciclo de vida do psilídeo e as modificações morfológicas externas ocorridas nas folhas de goiaba durante o ciclo deste inseto. Para tanto, 30 plantas da criação (contendo cada uma pelo menos cinco folhas contendo ovos recém ovipostos do psilídeo) foram selecionados. Além disto, cinco plantas não atacadas pelo psilídeo foram separadas totalizando assim, 35 plantas. Estas plantas foram transportadas para casa de vegetação isentas da presença do psilídeo. Diariamente em uma planta atacada e em outra não atacada era fotografada uma folha. Na folha atacada era anotado o estágio que se encontrava o psilídeo. Para tanto, a partir do 2º ínstar do psilídeo o estágio a galha contendo este inseto foi aberta e esta avaliação foi realizada conforme descrito por Semeão et al. (2012a, 2012b). Diariamente foram feitas fotografias das folhas atacadas e não atacadas pelo psilídeo. A partir destas observações e usando estas fotografias foi confeccionada Figura contendo os estágios do ciclo de vida do psilídeo e fotografias das alterações morfológicas externas nas folhas de goiaba atacadas por este inseto.

Posteriormente, foram separadas dez folhas de goiaba pertencentes a cada estágios das alterações morfológicas externas determinados anteriormente (foram determinados três estágios). Estas folhas foram cortadas paralelas à margem na região atacada e fixadas em FAA<sub>50</sub> (formaldeído: ácido acético:

álcool etílico 50%, 2:1: 18 v/v) por 48h e estocados em etanol 70% (Johansen 1940). Os cortes fixados foram depois seccionados transversalmente a mão livre e corados com safrablau (azul de astra + safranina). O material corado foi montado em lâminas temporárias para visualização sob microscopia de luz (Olympus AX70) e as imagens obtidas foram fotografadas (Axio Cam HRc Zeiss). Para verificar a presença de grânulos de amido nas células foram realizados testes histoquímicos qualitativos nas folhas de diferentes estágios, utilizando solução de lugol (Johansen 1940). Foram confeccionadas Figuras utilizando as fotografias contendo as seções anatômicas das folhas de goiaba atacada e não atacada pelo psíldeo para determinação das modificações anatômicas nos tecidos vegetas causadas pelo ataque deste inseto.

### **2.3.2. Efeito do ataque do psíldeo na concentração de hormônios nas folhas**

Este experimento foi realizado para determinação das alterações hormonais ocorridas nas folhas de goiaba associadas a formação das galhas induzidas pelo ataque do psíldeo. Foi observado em experimento prévio que estas galhas se formam até seis dias após o ataque das ninfas às folhas de goiaba. Assim, foi estabelecido que este seria o tempo máximo de duração deste experimento.

Para realização deste experimento 35 plantas de goiaba foram cultivadas em casa de vegetação isentas do ataque do psíldeo. Estas plantas foram transferidas para laboratório e aí ficaram em aclimação por 10 dias antes da realização deste experimento. Em cada planta de goiaba foi selecionada uma folha pertencente do primeiro par abaixo da gema apical. Isto foi feito devido a se ter observado em experimento prévio que esta é a folha preferida para oviposição pelas fêmeas do psíldeo. Posteriormente, cinco ninfas de 3° instar

do psílídeo foram colocadas sobre a face adaxial de cada folha. Foi usado este ínstar devido a se ter observado que ele é nele que inicia a formação das galhas.

Este experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Os tratamentos foram os tempos de 0 (sem ataque), 1, 2, 3, 4, 5 e 6 dias após o ataque psílídeo às folhas de goiaba. Cada repetição foi constituída por uma folha de goiaba contendo cinco ninfas de 3º ínstar do psílídeo. Após estes períodos de exposição (0 a 6 dias) as ninfas do psílídeo foram retirados das folhas. Posteriormente, cada folha foi acondicionada em embalagens de papel alumínio. Este material foi inserido em caixa de isopor (96 x 80 x 55 mm) e posteriormente armazenado em Ultrafreezer -80°C (Thermo Scientific, Forma™ 8600 Series) por duas semanas.

Posteriormente, as folhas foram trituradas individualmente em nitrogênio líquido. Foi avaliada a massa deste material em balança analítica (Denver Instrument, A-250, 0,1 mg de precisão) e ele foi transferido para microtubos de 1,5 mL. Foi adicionado 400 µL de solução extratora (metanol: isopropanol: ácido acético na proporção 20:79:1) em cada microtubo. Os microtubos foram agitados quatro vezes em vortex (Fisher Vortex Genie) e cada agitação durou 20 segundos. Os microtubos foram transferidas para um sonicador (Branson®, 2510) onde permaneceram por 8 min. a 4°C. Em seguida as amostras foram inseridas em caixa de isopor contendo gelo por 30 minutos. Logo após, as amostras foram centrifugadas (Eppendorf 5424 R) a 14.000 g por 30 min. a 4°C. Após a centrifugação as amostras apresentaram duas fases: o sobrenadante e o pellet. O sobrenadante foi transferido para novos microtubos de 1,5 mL. O pellet foi submetido aos procedimentos descritos a partir do uso da solução extratora. Os sobrenadantes resultantes das duas centrifugações (a inicial e com o pellet) foram acondicionados em um microtubo de 1,5 mL. Este material foi

novamente centrifugado a 14.000 g por 10 min. a 4°C. Do sobrenadante de cada foi transferida 300 µL de amostra para vial de 2 ml (Pan et al. 2008, Nehela et al. 2016).

A quantificação de hormônios foi feita em uma coluna cromatográfica (Agilent Eclipse Plus, RRHD, 1.8 µm, 2.1x50 mm) com fluxo de 0,3 mL/min, acoplada online a um espectrômetro de massa do tipo triplo quadrupolo QqQ (Agilent), disponível no Núcleo de Análise de Biomoléculas, NuBioMol, CCB, UFV. As análises foram realizadas nas cinco réplicas de cada tratamento (Pan et al. 2008, Nehela et al. 2016).

Utilizou-se o software MassHunter para o processamento dos espectros de massa gerados. Esse software possibilita a obtenção dos cromatogramas extraídos de cada transição e dos valores de área que indicam a abundância de cada hormônio. O software Skyline foi utilizado para fazer as correções das áreas e determinar os valores de concentração em nanograma/grama (ng/g) (Pan et al. 2008, Nehela et al. 2016).

Os dados das concentrações de hormônios em função do tempo após o ataque de *T. limbata* foram submetidos a análise variância ( $\alpha = 0,05$ ). Os dados daqueles hormônios que apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) foram submetidos a análise de regressão em função do tempo após o ataque de *T. limbata*. Os modelos de regressão foram selecionados baseando-se nos seguintes critérios: significância ( $\alpha = 0,05$ ), simplicidade, significado biológico e maior coeficiente de determinação ( $R^2$ ) (Johnson & Omland 2004, Barbosa et al. 2019).

### 3. RESULTADOS

Durante o ciclo de vida o psílídeo *T. limbata* passou pelos estágios de ovo, ninfa e adulto e este ciclo vida. No estágio ninfal este psílídeo passou por cinco ínstars (Figura 2). No primeiro ínstar as ninfas de *T. limbata* estavam localizadas na face abaxial das folhas. Neste momento as folhas atacadas pelo psílídeo possuíam aparência semelhante as folhas não atacadas. Quando as ninfas passaram para o segundo ínstar elas se movimentaram para a face adaxial das folhas e aí elas permaneceram até o final o estágio ninfal. A partir deste momento verificaram-se alterações morfológicas nas folhas de goiaba.

As alterações morfológicas externas ocorridas nas folhas atacadas por *T. limbata* podem ser divididas em três estágios. O primeiro estágio durou sete dias e nele ocorreu o enrolamento dos bordos das folhas para cima. Neste estágio as ninfas do inseto de segundo e terceiro ínstar se alojaram no interior do túnel formado pelo enrolamento das folhas. O segundo estágio durou seis dias e nele o tecido foliar estava amarelado e as ninfas de *T. limbata* estavam no terceiro e quarto ínstar. Já o terceiro estágio durou onze dias e nele o tecido foliar estava vermelho arroxeado e as ninfas do inseto estavam no quarto e quinto ínstar (Figura 2).

Comparando-se as secções anatômicas de folhas atacadas ou não pelas ninfas de *T. limbata* verificaram-se alterações morfológicas nos tecidos foliares. Nas folhas não atacadas observou-se diferenciação dos tecidos do mesófilo verificando-se a separação entre os parênquimas e lacunoso. Já nas folhas atacadas não houve diferenciação dos tecidos do mesófilo e ocorreu aumento do número e tamanho das células. Entretanto, o sistema vascular não foi alterado devido ao ataque do psílídeo (Figura 3).



Figura 2. Estágios do ciclo de vida do psíldeo *Triozoida limbata* e das alterações morfológicas nas folhas de goiaba atacadas por este inseto.

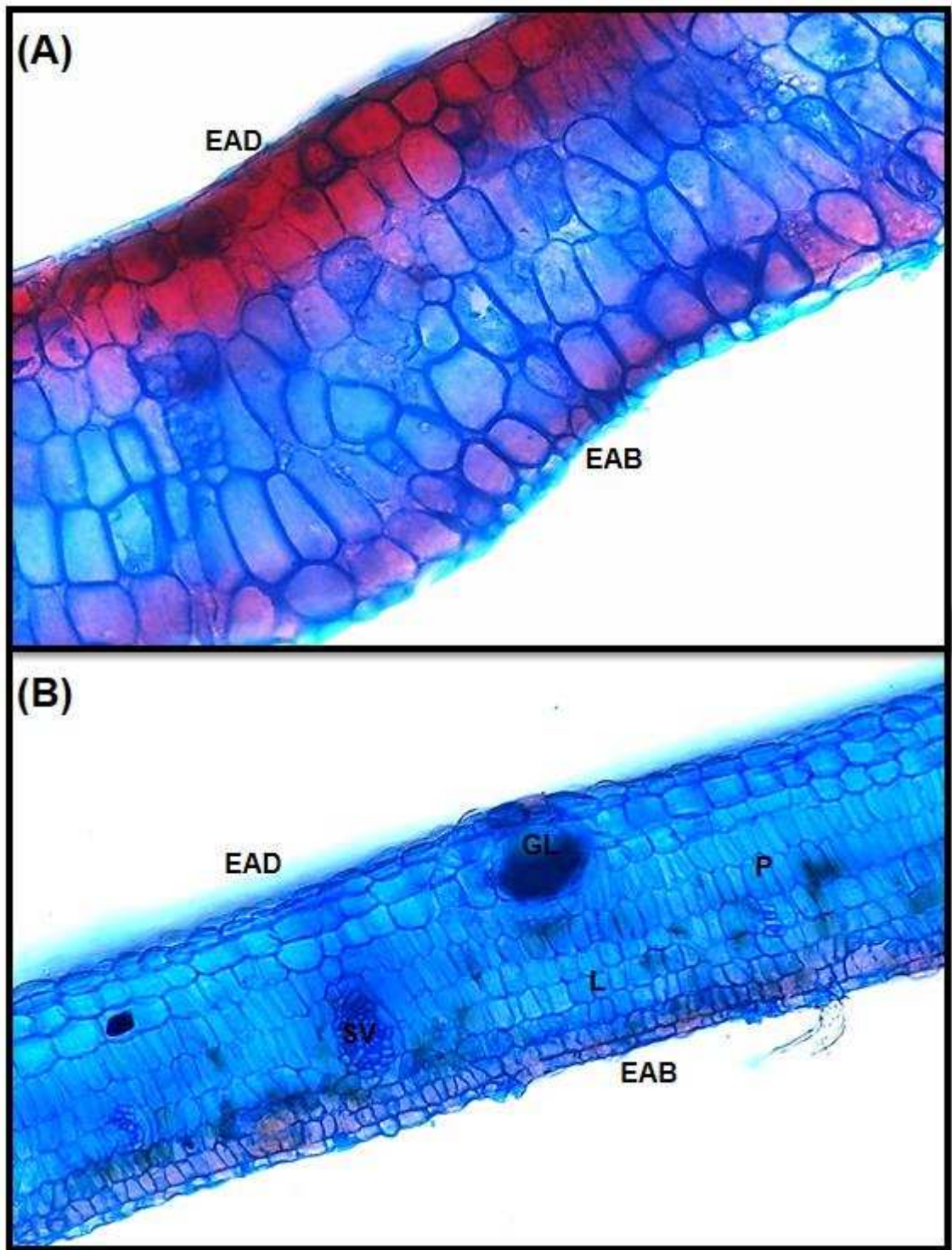


Figura 3. Seções anatômicas de folha de goiaba (A) atacada e (B) não atacada pelo psíldeo *Triozoida limbata*. EAD = epiderme adaxial, EAB = epiderme abaxial, P = parênquima paliçádico, L = parênquima lacunoso, SV = sistema vascular e GL = glândula secretora.

Comparando-se as secções anatômicas das camadas interna e externa do túnel formado pelo enrolamento da folha verificaram-se que elas possuíam características diferentes. Na camada interna deste túnel não houve diferenciação dos tecidos do mesófilo e ocorreu aumento do número e tamanho das células. Já na camada externa do túnel observou-se maior diferenciação dos tecidos do mesófilo em comparação com os tecidos da camada interna desse túnel (Figura 4). Além disto, na secção anatômica de folha de goiaba atacada pelo psilídeo *T. limbata* corada observou-se um grande número de grânulos de amido (Figura 5).

Foram detectadas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de ácido jasmônico ( $F_{6;28} = 4,00$ ;  $P = 0,0051$ ) e zeatina ( $F_{6;28} = 3,69$ ;  $P = 0,0080$ ) nas folhas de goiaba após o ataque do psilídeo *T. limbata*. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) nas concentrações de ácido salicílico ( $\bar{x} = 10,51 \pm 4,84$  ng. g<sup>-1</sup>;  $F_{6;28} = 2,06$ ;  $P = 0,0902$ ), ácido abscísico ( $\bar{x} = 41,55 \pm 5,65$  ng. g<sup>-1</sup>;  $F_{6;28} = 1,50$ ;  $P = 0,2139$ ), metionina ( $\bar{x} = 660,54 \pm 78,01$  ng. g<sup>-1</sup>;  $F_{6;28} = 2,41$ ;  $P = 0,0526$ ), auxina ( $\bar{x} = 2,69 \pm 0,20$  ng. g<sup>-1</sup>;  $F_{6;28} = 0,9150$ ;  $P = 0,5000$ ), metil jasmonato ( $\bar{x} = 31,11 \pm 4,53$  ng. g<sup>-1</sup>;  $F_{6;28} = 1,65$ ;  $P = 0,1695$ ) e giberelina ( $\bar{x} = 0,82 \pm 0,06$  ng. g<sup>-1</sup>;  $F_{6;28} = 1,04$ ;  $P = 0,5800$ ) nas folhas em função do ataque de *T. limbata*.

O modelo de regressão da concentração de ácido jasmônico nas folhas em função do tempo após o ataque de *T. limbata* foi uma regressão linear simples até que esta curva atingisse um máximo (platô). A partir deste momento em a concentração de ácido jasmônico atingiu este valor máximo nas folhas esta concentração permaneceu constante. Neste modelo foi estimado que cerca de quatro horas (0,16 dia) após o início do ataque deste psilídeo ocorreu aumento da concentração de ácido jasmônico nas folhas e a partir deste momento a concentração desta substância se manteve alta e constante (0,76 ng. g<sup>-1</sup>) (Figura 6A). Já a concentração de zeatina nas folhas decresceu até três dias após o ataque de *T. limbata*. A partir deste momento a concentração de zeatina nas folhas permaneceu baixa e constante (Figura 6B).

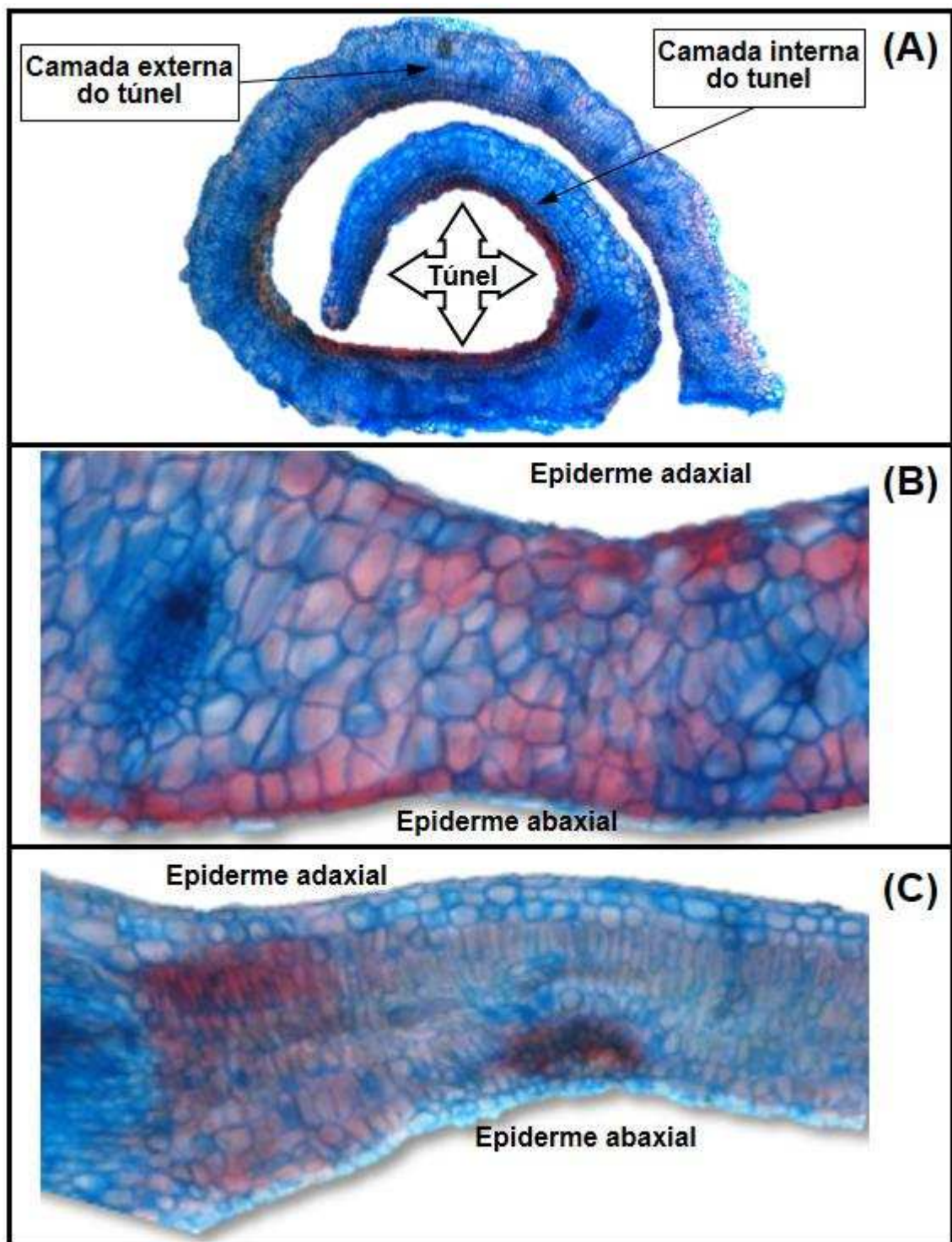


Figura 4. Secções anatômicas de folha de goiaba atacada pelo psíldeo *Triozoida limbata*: (A) túnel formado pelo enrolamento da folha, (B) camada interna do túnel e (C) camada externa do túnel.



Figura 5. Secção anatômica de folha de goiaba atacada pelo psílideo *Triozoida limbata* corada com lugol para evidenciar os grânulos de amido.

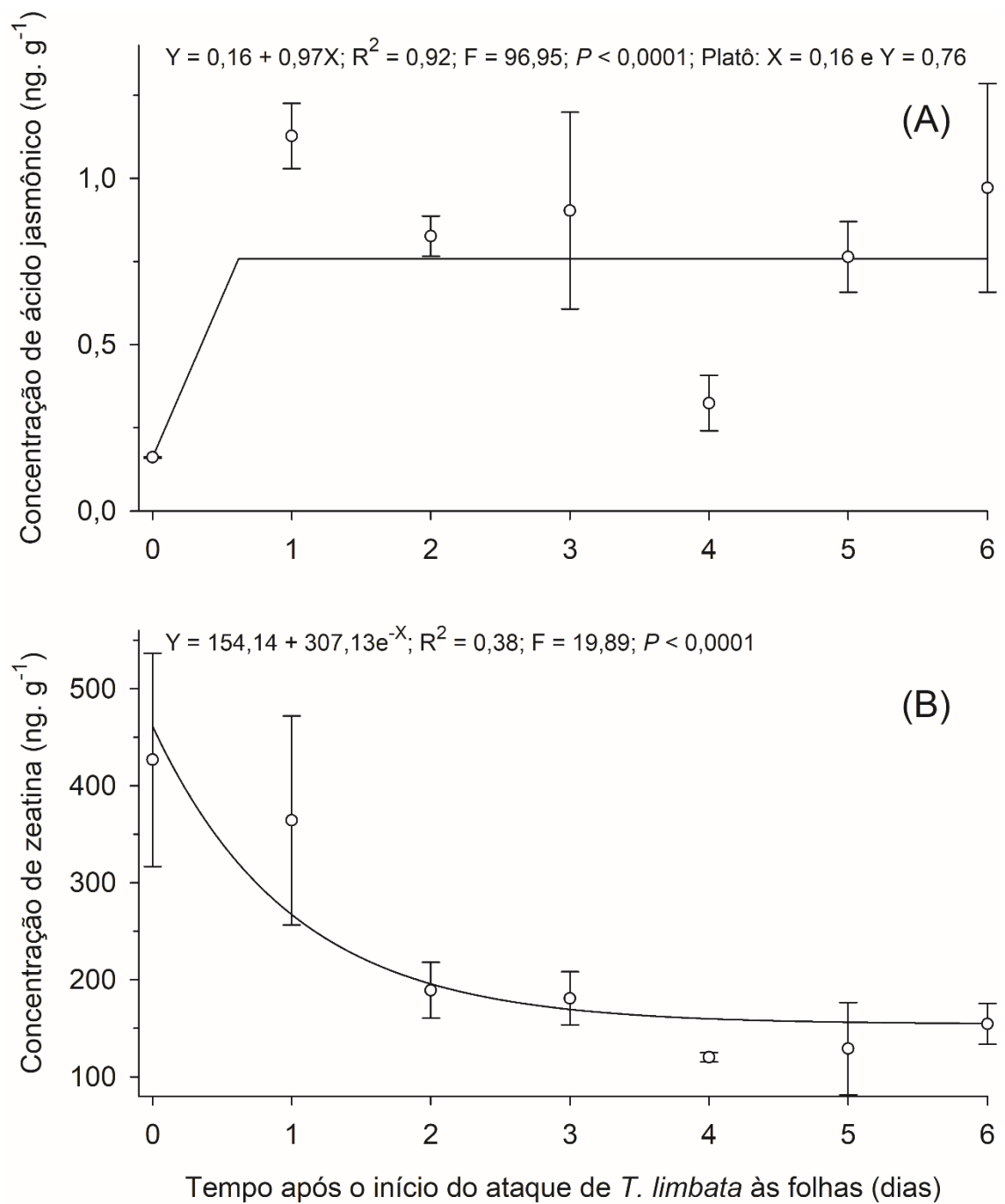


Figura 6. Concentrações do (A) ácido jasmônico e (B) zeatina nas folhas das plantas de goiaba em função do tempo após o ataque do psilídeo *Triozoida limbata*.  $\bar{X} \pm$  Média  $\pm$  erro padrão. As folhas no tempo zero não foram atacadas pelo inseto.

#### 4. DISCUSSÃO

Baseando-se nas modificações morfo-anatômicas observadas neste trabalho o túnel formado pelo enrolamento das folhas de goiaba atacadas por ninfas de *T. limbata* constitui uma galha por enrolamento. Como relatado por Fernandes et al. (2012) e Fernandes & Santos (2014) as galhas por enrolamento formam túneis abertos que abrigam insetos galhadores. Esta galha foliar foi formada pelo enrolamento das folhas surgiu devido a hiperplasia (aumento no número de células) e hipertrofia (aumento do tamanho das células) dos tecidos foliares da goiaba. Na formação desta galha ocorreu crescimento desigual dos tecidos foliares o que fez com que as folhas da goiaba enrolassem para cima. A hiperplasia e hipertrofia das células das folhas de goiaba foram causadas, possivelmente, por substâncias contidas na saliva das ninfas de *T. limbata* (Hodkinson 1984, Jimenez et al. 2017). O fato das alterações anatômicas nos tecidos foliares terem sido maiores na parte interna da galha do que na sua parte externa, indica que as substâncias liberadas pela saliva do psilídeo têm ação limitada ao local de alimentação destes insetos.

O ataque do psilídeo *T. limbata* também causou acúmulo de amido nos cloroplastos das folhas. Segundo White (1972) o amido acumulado no mesófilo foliar devido ao ataque de psilídeo galhador é usado para a formação da camada protetora externa que envolve às ninfas destes insetos. Neste trabalho foi observada a presença desta camada protetora envolvendo as ninfas de *T. limbata*. Nos cultivos comerciais de goiaba tem sido observado que o controle das ninfas de *T. limbata* tem sido difícil. Assim, o entendimento da composição desta camada protetora pode auxiliar na obtenção de controle eficiente desta praga. Esta eficiência, possivelmente, poderá ser obtida pelo uso de adjuvantes nas caldas inseticidas que possibilitem a penetração destes produtos através

desta camada protetora. Também Dsouza & Ravishankar (2014) observaram que nas galhas feitas pelo psílídeo *Pauropsylla depressa* Crawford (Hemiptera: Psyllidae) nas plantas de *Ficus glomerata* ocorre aumento da concentração de amido.

As galhas proporcionam proteção aos insetos que vivem no seu interior contra intempéries climáticas e inimigos naturais (Price et al. 1987, Stone et al. 2002). Neste contexto, Semeão et al. (2012a) verificaram que a mortalidade de *T. limbata* por inimigos naturais é cerca de 50% maior quando as ninfas estão fora das galhas (1º ínstar) do que quando elas estão no interior das galhas (2º ao 5º ínstar). Também estes autores verificaram que a mortalidade deste psílídeo por chuvas é cerca de duas vezes maior no estágio em que eles estão fora das galhas (1º ínstar) do que quando eles estão no interior destas estruturas (2º ao 5º ínstar).

As galhas, alteração da coloração e necrose nas folhas, observadas neste trabalho, devido ao ataque de *T. limbata* devem contribuir para a ocorrência de danos nas plantas de goiaba. Neste contexto, Moreira (2005) relata que o ataque das ninfas deste psílídeo pode causar até 55% de perdas na produtividade das plantas de goiaba. As alterações de coloração (amarelecimento) das folhas foi devido, possivelmente, a degradação de clorofila (clorose das folhas) e acúmulo de antocianinas (coloração vermelho-arroxeadado das folhas) (Stone et al. 2001). As modificações morfo-anatômicas nas folhas de goiaba causadas por *T. limbata* reduzem a produtividade das plantas devido, possivelmente, a redução da fotossíntese e aumento do consumo de fotoassimilados da planta (Kar et al. 2013, Jiang et al. 2018). A diminuição de área foliar foi causada pela formação de galhas por enrolamento, clorose e necrose das folhas observadas neste

trabalho. Por outro lado a alimentação de insetos sugadores como o psílideo consome fotoassimilados das plantas (Kar et al. 2013, Jiang et al. 2018)

A alteração dos teores de ácido jasmônico e de zeatina nas folhas indica que a alimentação das ninfas de *T. limbata* ativa a defesa da planta e induz alterações anatômicas nos tecidos foliares (Davies 2004, Giron & Glevarec 2014). O ácido jasmônico é um dos principais hormônios associado a defesa da planta. Ele regula positivamente a defesa da planta aos danos mecânicos causados por insetos (Tooker & Helms 2014). Assim, possivelmente, após os danos causados pela alimentação das ninfas de *T. limbata* ocorreu o aumento da concentração de ácido jasmônico nas folhas como uma cascata de defesa. Além disso, este composto é precursor de substâncias voláteis que atraem inimigos naturais (Ferry et al. 2004). Como o ácido jasmônico inibe a produção de zeatina (Fernandes et al. 2012, Schäfer et al. 2015) a redução da concentração deste segundo composto foi consequência deste processo.

A observação de alterações nas concentrações de hormônios nas folhas devido ao ataque das ninfas de *T. limbata* indica a existência de uma relação complexa entre este inseto sugador e as plantas de goiaba (Davies 2004, Fernandes et al. 2012). Neste contexto, a goiabeira é uma planta tropical que possui inúmeras defesas contra herbívoros (Rouseff et al. 2008). Entre estas defesas estão componentes físicos, químicos e bioquímicos. As folhas de goiaba possuem tricomas tectores em ambas as faces, drusas, glândulas secretoras e compostos fenólicos como taninos (Rivera-Arce et al. 2003, Sajjekhan et al. 2011). Compostos estes que têm função de defesa contra insetos herbívoros (Crawley 1989). Portanto, para que um herbívoro como *T. limbata* tenha sucesso na alimentação desta planta é necessário que ele suplante estas defesas.

## 5. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram elucidadas as alterações anatômicas e hormonais nas plantas de goiaba causadas pelo ataque do psilídeo *Triozoida limbata*. Em suma, o ataque deste psilídeo forma uma galha por enrolamento nas folhas da goiaba. Nas galhas ocorre hipertrofia e hiperplasia nas células e não há diferenciação dos tecidos do mesófilo foliar. Nas células do mesófilo foliar das galhas ocorre acúmulo de amido. As alterações morfo-anatômicas nas folhas são maiores na parte interna das galhas. Devido ao ataque de *T. limbata* há aumento da concentração de ácido jasmônico e redução da concentração de zeatina nas folhas da goiaba.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acham I.O., Ahemen S., Ukeyima M.T., Girgih A.T. (2018). Tropical fruits: Bioactive properties and health promoting benefits in chronic disease prevention and management. **Asian Food Science Journal**, 3: 1-13.

Barbosa B.G., Sarmiento R.A., Pereira P.S., Pinto C.B., Lima C.H.O., Silva Galdino T.V., Picanço M.C. (2019). Factors affecting thrips (Thysanoptera: Thripidae) population densities in watermelon crops. **Florida Entomologist**, 102: 10-15.

Crawley M.J. (1989). Insect herbivores and plant population dynamics. **Annual Review of Entomology**, 34: 531-562.

Davies P.J. (2004). **Plant hormones: Biosynthesis, signal transduction, action!**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 750p.

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

FAO. (2019). **Major tropical fruits - Statistical compendium 2017**. Rome: FAO. 38p.

Fernandes G.W., Carneiro M.A., Isaias, R.M. (2012). Gall-inducing insects: from anatomy to biodiversity. In: Panizzi A.R, Parra J.R.P. (Eds.). **Insect bioecology and nutrition for integrated pest management**. Boca Raton: CRC Press. p.369-395.

- Fernandes G.W., Santos J.C. (2014). **Neotropical insect galls**. Dordrecht: Springer. 550p.
- Ferry N., Edwards M.G., Gatehouse J.A., Gatehouse A.M. (2004). Plant-insect interactions: molecular approaches to insect resistance. **Current Opinion in Biotechnology**, 15: 155-161.
- Giron D., Glevarec G. (2014). Cytokinin-induced phenotypes in plant-insect interactions: learning from the bacterial world. **Journal of Chemical Ecology**, 40: 826-835.
- Grafton-Cardwell E.E., Stelinski L.L., Stansly P.A. (2013). Biology and management of Asian citrus psyllid, vector of the huanglongbing pathogens. **Annual Review of Entomology**, 58: 413-432.
- Hall D.G., Richardson M.L., Ammar E.D., Halbert S.E. (2013). Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 146: 207-223.
- Hodkinson I.D. (1984). The biology and ecology of the gall-forming Psylloidea (Homoptera). In: Ananthakrishnan T.N. (Ed.). **Biology of gall insects**. p.59-77.
- Jiang Y., Veromann-Jürgenson L.L., Ye J., Niinemets Ü. (2018). Oak gall wasp infections of *Quercus robur* leaves lead to profound modifications in foliage photosynthetic and volatile emission characteristics. **Plant, Cell & Environment**, 41: 160-175.
- Jimenez F., Cooper W.R., Garczynski S.F., Puterka G.J., Barcenas N.M. (2017). Collection of salivary proteins of psyllids (Hemiptera: Psylloidea). **Journal of Entomological Science**, 52: 201-206.
- Johansen D.A. (1940). **Plant microtechnique**. London: McGraw-Hill. 523p.
- Johnson J.B., Omland K.S. (2004). Model selection in ecology and evolution. **Trends in Ecology & Evolution**, 19: 101–108.
- Kar P.K., Jena K.B., Srivastava A.K., Giri S., Sinha M.K. (2013). Gall-Induced stress in the leaves of *Terminalia arjuna*, food plant of tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta*. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, 25: 205-210.
- Moreira, M.D. (2005). **Sistemas de tomada de decisão de controle para *Triozoida* sp. (Hemiptera: Sternorrhyncha: Psyllidae) em goiabeira**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 102p. (Tese de Doutorado em Entomologia).
- Nebapure S.M., Sagar D. (2015). Insect-plant interaction: A road map from knowledge to novel technology. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, 28: 1-7.
- Nehela Y., Hijaz F., Elzaawely A.A., El-Zahaby H.M., Killiny N. (2016). Phytohormone profiling of the sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) leaves and roots using GC-MS-based method. **Journal of Plant Physiology**, 199: 12-17.

Pan X., Welti R., Wang X. (2008). Simultaneous quantification of major phytohormones and related compounds in crude plant extracts by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. **Phytochemistry**, 69: 1773-1781.

Prager S.M., Trumble J.T. (2017). Psyllids: biology, ecology, and management. In: Wakil W., Brust G.E., Perring T.M. (Eds.). **Sustainable management of arthropod pests of tomato**. Cambridge: Academic Press. p.163-181.

Price P.W., Fernandes G.W., Waring G.L. (1987). Adaptive nature of insect galls. **Environmental Entomology**, 16: 15-24.

Prokopy, R., Kogan, M. (2009). Integrated pest management. In: Resh V.H., Cardé R.T. (Eds.). **Encyclopedia of insects**. Cambridge: Academic Press. p.523-528.

Queiroz D.L., Burckhardt D., Majer J. (2012). Integrated pest management of eucalypt psyllids (Insecta, Hemiptera, Psylloidea). In: Soloneski S. (Ed.). **Integrated pest management and pest control: Current and future tactics**. IntechOpen. p. 385-412.

Raven J.A. (1983). Phytophages of xylem and phloem: a comparison of animal and plant sap-feeders. In: MacFadyen A., Ford E.D. (Eds.). **Advances in ecological research**. v.13. Cambridge: Academic Press. p.135-234.

Rivera-Arce, E. Gattuso, M., Lozoya X. (2003). Anatomical identity parameters of the crude drug *Psidium guajavae* folium. **Pharmaceutical Biology**, 41: 516-521.

Rodríguez, G.R.V., Blancas-Benítez F.J., Wall-Medrano A., Sáyago-Ayerdi, S.G., González-Aguilar G.A. (2017). **Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds from tropical fruits**. In: Yahia E.M. (Ed.). Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry and human health. 2ed. New Jersey: John Wiley & Sons p.155-164.

Rouseff R.L., Onagbola E.O., Smoot J.M., Stelinski L.L. (2008). Sulfur volatiles in guava (*Psidium guajava* L.) leaves: possible defense mechanism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56: 8905-8910.

Sajjekhan S., Jha P.K., Dakappa S. S. (2011). Pharmacognostic evaluation of *Psidium guajava* Linn. leaves (Myrtaceae). **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**, 5: 156-159.

Schäfer M., Brütting C., Meza-Canales I.D., Großkinsky D.K., Vankova R., Baldwin I.T., Meldau S. (2015). The role of cis-zeatin-type cytokinins in plant growth regulation and mediating responses to environmental interactions. **Journal of Experimental Botany**, 66: 4873-4884.

Schoonhoven L.M., van Loon B., van Loon J.J., Dicke, M. (2005). **Insect-plant biology**. 2ed. Oxford: Oxford University Press. 440p.

Semeão A.A., Martins J.C., Picanço M.C., Bruckner C.H., Bacci L., Rosado J.F. (2012a). Life tables for the guava psyllid *Triozoida limbata* in southeastern Brazil. **BioControl**, 57: 79-788.

Semeão A.A., Martins J.C., Picanço M.C., Chediak M., Silva E.M., Silva G.A. (2012b). Seasonal variation of natural mortality factors of the guava psyllid *Triozoida limbata*. **Bulletin of Entomological Research**, 102: 719-729.

Silva, A.L., Mendes A.M.S., Oliveira A.R., Paranhos B.A.J., Santos C.A.F., Silva D.J., Bastos D.C., Batista D.C., Barbosa F.R., Oliveira J.E.M., Araújo J.L.P., Pinto J.M., Castro J.M.C., Soares J.M., Bassoi L.H., Gonzaga Neto L., Moura M.S.B., Calgaro M., Lima M.A.C., Lima M.F., Correia R.C., Petrere V.G. (2010). **A cultura da goiaba**. 2ed. Brasília: EMBRAPA. 180p.

Stone C., Chisholm L., Coops N. (2001). Spectral reflectance characteristics of eucalypt foliage damaged by insects. **Australian Journal of Botany**, 49: 687-698.

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

Tooker J.F., Helms A.M. (2014). Phytohormone dynamics associated with gall insects, and their potential role in the evolution of the gall-inducing habit. **Journal of Chemical Ecology**, 40: 742-753.

Val A.L., Almeida-Val, V.M.F., Randall D.J. (2005). Tropical environment. **Fish Physiology**, 21: 1-45.

White T.C.R. (1972). The production of amylose in the faeces of psyllid larvae with special reference to the lerps of *Cardiaspina densitexta*. **Journal of Insect Physiology**, 18: 2359-2367.