

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

## **Tese de Doutorado**

# **Interações entre galhadores e inimigos naturais: múltiplas abordagens**

Fernando Albuquerque Luz

Porto Alegre, Outubro de 2018

# **Interações entre galhadores e inimigos naturais: múltiplas abordagens**

**FERNANDO ALBUQUERQUE LUZ**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título Doutor em Ciências com ênfase em Ecologia.

Orientador: Prof. Dr. Milton Mendonça de Souza Júnior

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Geraldo Luiz Gonçalves Soares  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Simone Mundstock Jahnke  
Prof. Dr. Walter Santos de Araújo

Porto Alegre, Outubro de 2018

*“Dedico este trabalho a todos que enchem minha vida de amor, alegria e  
cumplicidade*

## AGRADECIMENTOS

À CAPES pela bolsa de Doutorado. Ao PPG Ecologia-UFRGS pela formação.

Ao meu orientador, Prof. Milton, que também gosto de chamar de Chefe, mas que não é um chefe, e sim um cara super querido, que sempre foi muito compreensivo comigo, e com as minhas “demandas”, um profissional que admiro muito e só levo lembranças boas, obrigado por acreditar em mim e neste trabalho.

A “minha IC”, Ana Paula Goetz, que trabalhou com muitos dados que vocês vem nesta Tese, se não fosse essa menina, este Capítulo 2 não existiria. Sou muito grato por toda a ajuda e parceria #TimeGalhas nestes quatro anos e meio.

Á todo mundo da UNIPAMPA e Dom Pedrito, onde estive por dois anos deste Doutorado, não tenho nem palavras para expressar o quanto fui feliz e realizado neste lugar e com estes colegas de trabalhos e com meus alunos, obrigado por estes dois anos inesquecíveis.

A CEEE e ao Seu Luíz que cederam as áreas de coleta do capítulo 2. E sempre foram gentis nas nossas idas á campo.

Aos autores do livro “Guia para análise de redes ecológicas” que disponibilizaram um excelente material gratuitamente. E aos taxonomistas que identificaram todo material biológico deste trabalho.

Ao meu Pai, minha irmã, a minha pequena e amada família, que são tudo, e que merecem todo agradecimento por tudo. Também minha vó, que partiu agora, que foi tudo pra mim, que ajudou a me criar, onde eu passava todas minhas férias, e que me ensinou quase tudo que eu sei, e o que importa saber, minha melhor professora, sou muito grato.

Por fim, a todos meus amigos, colegas e pessoas que eu amo, valeu por caminharem do meu lado, fica tudo mais fácil.

## RESUMO

As galhas são estruturas vegetais formadas em resposta a ação do inseto herbívoro, quando do ataque à planta. Desta forma, para um inimigo natural como uma vespa parasitoide, atacar um inseto galhador requer perfurar este tecido vegetal para alcançar o recurso. As galhas variam em sua forma e também no tempo e no espaço e as implicações disso para as interações com outros organismos foi o foco desta Tese. No Capítulo 1, buscou-se esclarecer conceitos relativos à guilda de organismos associados a galhas, sendo o foco nos cecidófagos, inquilinos e cleptoparasitas. Estabelecemos formas e critérios para distinguir uma guilda da outra, pois atualmente estes termos são confusos na literatura específica. No Capítulo 2 foram amostradas galhas e parasitoides em duas regiões de Floresta Estacional Semidecidual com a finalidade de entender padrões (aninhamento e modularidade) nestas interações através de uma abordagem de redes tróficas e suas métricas. A modularidade das interações, assim como a alta especialização e baixa conectividade das redes, apesar da grande variação de especificidade dos parasitoides encontrados seguiu as características esperadas para redes de interações antagonistas. No Capítulo 3 utilizamos os seis galhadores presentes em apenas uma planta hospedeira, *Guapira opposita*, para anular os efeitos de espaço e planta hospedeira, tentando entender quais processos ecológicos estariam influenciando as interações, e concluímos que a forma da galha é o principal processo que molda as interações parasitoide/galhador neste sistema. Isto está de acordo com trabalhos sobre a morfologia da galha e sua importância para a defesa contra inimigos naturais, como considerado na “*enemy hypothesis*” para a natureza adaptativa das galhas. E por fim, no Capítulo 4, no mesmo sistema de *G. opposita* estudamos um único parasitoide, *Galeopsomyia* sp. e a variação intraespecífica do tamanho de seu ovipositor no ataque às galhas, e vimos que galhas mais espessas estavam relacionadas a eclosão de indivíduos de maior ovipositor, enquanto que em galhas menos espessas, encontramos variação no tamanho dos ovipositores. Logo, galhas mais espessas acabam limitando certos indivíduos da população, aqueles com menores ovipositores. Por fim, concluímos que por este tipo de interação ainda ser pouco estudado, continuamos com os problemas taxonômicos de ambos os grupos, e questões simples de história natural. Apesar de a literatura internacional mostrar o que temos de melhor em termos de análises e simuladores sofisticados, perguntas simples e importantes ficam esquecidas e a presente Tese tentou resgatar e fazer ressurgir algumas delas.

**Palavras Chave:** *Guapira opposita*; *Galeopsomyia*; Inquilinismo; Modularidade; Morfologia; Redes Tróficas.

## ABSTRACT

Galls are plant structures formed through the action of an insect herbivore on plant tissues. Thus, for a natural enemy, such as a parasitoid wasp, attacking a galling insect requires piercing the plant tissue to penetrate the gall. What changes in gall shape, across time and space imply for interactions with other organisms was the focus of this thesis. In Chapter 1, we sought to clarify concepts related to guilds of organisms associated with galls, focusing on cecidophages, inquilines and kleptoparasites. We have established clear criteria to distinguish one guild from the other, for these terms currently appear confused in the specific literature. In Chapter 2, galls and parasitoids were sampled in two regions of Semideciduous Seasonal Forest to help understand patterns (nestedness and modularity) in these interactions using a trophic network approach. The modularity found in these interactions, as well as the high specialization and low connectivity of these networks, despite the large specificity variation of parasitoids, followed literature expectations for antagonistic interaction networks. In Chapter 3 we used six gallers present in only one host plant, *Guapira opposita*, to avoid the effects of space and host plant, trying to understand which ecological processes are influencing the interactions, and conclude that gall shape is the main aspect shaping parasitoid/galler interactions in this system. This is in accordance with the perceived importance of gall morphology for the defense against natural enemies, as considered in the "enemy hypothesis" for the adaptive nature of insect galls. Finally, in Chapter 4, in the same *G. opposita* system we study a single parasitoid species, *Galeopsomyia* sp. and its intraspecific ovipositor size variation, as related to gall attack, and we found thicker galls to be related to hatching of individuals of longer ovipositors, whereas in thicker galls, we found variation in ovipositor size. Therefore, thicker galls limit the attack to certain individuals of the wasp population, those with longer ovipositors. Finally, we conclude that because this type of interaction is still understudied, we continue with taxonomic problems for both groups, and simple questions of natural history. Although the literature tries to address current problems in terms of sophisticated analyses and simulations, simple and important questions are usually forgotten, and the present thesis has tried to rescue and resurrect some of them.

**Key Words:** *Guapira opposita*; *Galeopsomyia*; Inquilinism; Modularity; Morphology; Networks.

**Sumário**

<b>Resumo</b> .....	<b>5</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>6</b>
<b>Sumário</b> .....	<b>7</b>
<b>Introdução Geral</b> .....	<b>9</b>
Galhas e Insetos galhadores .....	9
Guildas associadas a galhas.....	10
Interações galhador/galha x parasitoide .....	11
Redes Tróficas.....	12
Referências .....	14

**Capítulo 1. Guilds in insect galls: who is who ..... 18**

Abstract .....	19
Desenvolvimento .....	21
Considerações Finais .....	26
Referências .....	28
Tabela.....	31
Figura.....	33

**Capítulo 2. Redes de interação entre insetos galhadores e parasitoides em Florestas**

<b>Estacionais no sul do Brasil</b> .....	<b>34</b>
Resumo .....	35
Introdução .....	36
Material e métodos .....	38
Resultados .....	41
Discussão .....	45
Referências .....	48
Figuras .....	51
Material Suplementar .....	53

**Capítulo 3. What drives gallers and parasitoids interacting in the same host plant? A network approach to reveal morphological coupling as the main intervening factor. ... 59**

Resumo .....	60
Introdução .....	61
Material e métodos .....	63
Resultados .....	66
Discussão .....	69
Referências .....	73
Figuras .....	76

**Capítulo 4. Phenotypic coupling in ovipositor size in the parasitoid *Galeopsomyia* sp. (Hymenoptera – Eulophidae) attacking different gall inducers ..... 78**

Abstract e Resumo .....	79
Introdução .....	81
Material e métodos .....	83
Resultados .....	85
Discussão .....	87
Referências .....	90
Figura .....	93

**Considerações Finais ..... 94**



## 1. INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1 Galhas e Insetos Galhadores

Galhas são alterações no tecido vegetal em resposta à alimentação ou outro estímulo induzido por organismos como insetos, ácaros, vírus, entre outros (Dreger-Jaufret & Shorthouse 1992). Para insetos, são estruturas altamente especializadas, geradas por hipertrofia e/ou hiperplasia dos tecidos vegetais e de alto valor adaptativo, concedendo ao indutor nutrientes, proteção contra intempéries e contra inimigos naturais (Price et al 1987). Os insetos galhadores são capazes de induzir galhas nos mais diversos grupos de plantas, assim como em todos os órgãos vegetais, sendo assim as galhas são estruturas comumente encontradas na vegetação (Mani 1964).

A habilidade de induzir galhas em plantas evoluiu convergentemente em dezenas de táxons filogeneticamente distantes e é resultado de uma espetacular adaptação radiativa (Stone & Schönrogge 2003). Os insetos são o grupo mais representativo de indutores de galha, e dentro desses a família, Cecidomyiidae (Diptera) compreende a maioria das espécies conhecidas (Price 2005), exibindo diversos padrões de associação com seus hospedeiros (Yukawa & Rohfritsch 2005). Por exemplo, espécies congênicas podem colonizar uma ou várias famílias vegetais (Yukawa et al 2005) ou ainda um único gênero de plantas (Gagné 2010), gerando padrões de radiação evolutiva complexos (Shorthouse et al 2005).

A principal radiação do estilo de vida endofítico é dentro do grupo dos Cecidomyiidae (Diptera) e é essa indiscutivelmente a menos entendida (Stireman et al 2010). Cecidomyiidae possui hoje uma diversidade registrada de 6203 espécies (Gagné 2014), mas o real número estimado para este grupo é muito maior ( $\approx 85000$  espécies) (Espírito Santo & Fernandes 2007).

Assim, a formação da galha representa um potencial nicho a ser explorado por outros organismos, pois ela pode ser utilizada tanto como alimento quanto como abrigo para diversos outros animais (Sanver & Hawkins 2000). Por serem as galhas diversas e abundantes, alguns trabalhos já demonstraram que galhas representam importantes microhabitats para diversos pequenos organismos que habitam as plantas (*e.g.* Maruyama et al 2012). Devido a essas características mencionadas, podemos encontrar diferentes guildas de outros organismos que interagem tanto com as galhas quanto com os galhadores.

### **1.2 Guildas associadas as galhas**

As galhas são fontes de recurso para uma gama de outros organismos, além dos seus indutores, tais como: predadores, parasitóides, sucessores, simbiontes, cecidófagos, inquilinos e cleptoparasitas (Mani 1964, Fernandes et al 1987, Sanver & Hawkins 2000, Sugiura et al 2004, Morris et al 2000). Estes três últimos casos recebem pouca atenção da literatura.

Os galhadores são considerados como engenheiros de microhábitats, visto que as galhas por eles induzidas são estruturas conspícuas, muitas vezes rígidas externamente e de tamanho considerável, que podem no mínimo oferecer abrigo para pequenos invertebrados. Sendo assim, terminam por ser exploradas por outros organismos, sejam eles herbívoros ou onívoros, que não necessariamente interagem diretamente com o galhador (Sanver & Hawkins 2000). Em geral, estes organismos são conhecidos como sucessores ou inquilinos.

Predadores e parasitóides são os principais responsáveis pela mortalidade dos indutores de galha. Os predadores conhecidos são pássaros e outros insetos (Craig et al 2007) e, dentre os parasitóides, muitas vespas são conhecidas por atacarem os imaturos de indutores de galha (*e.g.* Stone et al 2002). Sucessores são organismos que utilizam a galha após a saída do indutor e os simbiontes são, na maioria, fungos que estão associados com os galhadores na exploração das galhas (Mani 1964).

Inquilinos e cecidófagos são organismos incapazes de produzir sua própria galha, mas que se alimentam destes tecidos induzidos por um galhador (Mani 1964). O cleptoparasitismo é o roubo do recurso (galha) por outro organismo, ocasionando no afugentamento ou morte do galhador (Mound & Morris 2000).

Os termos inquilinismo, cleptoparasitismo e cecidofagia muitas vezes são confundidos e utilizados de forma equivocada na literatura de galhas. Essas guildas associadas ao sistema planta-indutor podem interagir tanto com o galhador quanto com a galha, formando uma rede complexa de interações (Sugiura & Yamazaki 2009). Dentre as principais interações neste sistema, estão aquelas envolvendo seus principais inimigos naturais, os parasitoides.

### **1.3 Interações Galhadores/Galha X Parasitoides**

Parasitoides são insetos caracterizados por se desenvolverem e se alimentarem dentro de outro artrópode, são compostos de pequenos insetos que variam de 0,2mm (Mymaridae) até de 150mm (Ichneumonidae) e apresentam uma alta riqueza de espécies, pouco explorada taxonomicamente (Quicke 2015).

Os parasitoides utilizam seus ovipositores para depositar seus ovos dentro ou fora do seu hospedeiro. Parasitoides que atacam insetos endofíticos, como galhadores, necessitam perfurar o tecido da galha para alcançar seu hospedeiro (Price & Clancy 1986). Assim, características das galhas são importantes nas interações com estes organismos, pois limitam o acesso a este recurso.

Neste sentido, a hipótese do valor adaptativo das galhas como proteção contra inimigos naturais diz que a estrutura da galha, ou parte dela, serve como defesa, e permite prever que galhas de estrutura similar podem compartilhar inimigos naturais (Price et al 1987). Porém, o compartilhamento de parasitoides, segundo Schönrogge et al (1995), pode

estar mais relacionado com a distribuição espacial dos hospedeiros. Essa aparente discrepância entre hipóteses, de que inimigos naturais compartilhados estariam associados a questões espaço-temporais, ou então a recursos similares, ainda é pouco clara e restrita na literatura.

Os parasitóides e seus insetos herbívoros hospedeiros coevoluíram formando diversas e complexas comunidades que representam cerca de 1/3 da diversidade animal global. Já os fatores que estruturam essas comunidades ainda são pouco entendidos (Bailey et al 2009). Um tema emergente na ecologia de comunidades de herbívoros é entender como os atributos do hospedeiro e sua história evolutiva estão associadas com as comunidades de inimigos naturais (Bailey et al 2009).

#### **1.4 Redes tróficas**

A tese trata de mais de uma abordagem para estudar as interações de organismos com os galhadores. Porém, em dois dos quatro artigos da tese a principal forma que utilizamos para entender as interações entre os galhadores e os parasitoides é utilizando as redes tróficas.

O estudo de redes tróficas é um dos mais completos em Ecologia, podendo conciliar estrutura e função da biodiversidade como um todo. Por ser um método tão abrangente, os avanços nestes estudos podem ser utilizados para resolver problemas globais (Thompson et al 2012). Por ser amplamente aplicável a sistemas com muitas unidades que interagem entre si, a teoria de Redes é utilizada não só na Ecologia, mas em diversas áreas do conhecimento como computação, sociologia e etc.

Na Ecologia, as redes tróficas descrevem principalmente as interações entre os organismos. Usualmente as redes são construídas por *links* que representam as interações consumidor-recurso, e são importantes resumos dos padrões de organização em comunidades biológicas (Morin 2011). Também podem ser usadas para examinar o potencial de interações

indiretas, dentre muitos outros fatores, pois consegue agregar diferentes níveis hierárquicos da Ecologia (Thompson et al 2012).

Comunidades de herbívoros e parasitóides são ótimos sistemas para se estudar redes tróficas quantitativas, porque os *links* tróficos são mais fáceis tecnicamente de quantificar quando comparados com o de predadores (Schönrogge et al 2005). Além do que, as relações tróficas entre insetos herbívoros e seus parasitóides compreendem o principal componente da biodiversidade biológica (Memmott & Godfray 1994). Mesmo assim estudos quantitativos das interações herbívoros – parasitóides ainda são raros (Paniagua et al 2009).

Muito tem sido feito em relação a estudos com redes tróficas, porém estes costumam focar nas estruturas das comunidades e efeito do impacto antrópico sobre elas (e.g. Bascompte & Jordano 2007; Tylianakis et al 2007) e pouco se sabe sobre as relações de insetos endofíticos-parasitóides e os principais fatores ecológicos e evolutivos básicos que estruturam estas redes (Paniagua et al 2009) principalmente na região Neotropical.

## REFERENCIAS

Bailey RK, Schönrogge, JM, Cook G, Melika G, Csóka CT, Stone GN. 2009. Host niches and defensive extended phenotypes structure parasitoid wasp communities. PLoS Biology 7:e1000179.

Bascompte J, Jordano P. 2007. Plant-animal mutualistic networks: the architecture of biodiversity. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics 38:567-593.

Craig TP, Itami JK, Horner JD. 2007. Geographic variation in the evolution and coevolution of a tritrophic interaction. Evolution 61: 1137-1152.

Dreger-Jauffret F, Shorthouse JD. 1992. Diversity of gall-inducing insects and their galls. In: Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O. (eds.) Biology of Insect-induced galls. Oxford University Press, New York. 8-33.

Espírito-Santo MM, Fernandes GW. 2007. How many species of gall-inducing insects are there on Earth, and where are they? Ann. Entomol. Soc. Am. 100:95-99.

Fernandes GW, Martins RP, Tameirão-Neto E. 1987. Food web relationships involving *Anadiplosis* sp. galls (Diptera: Cecidomyiidae) on *Machaeriumaculeatum* (Leguminosae). Rev. Bra. Bot. 10: 117-123.

Gagné RJ. 2014. A catalog of the Cecidomyiidae (Diptera) of the world. Mem. Entomol. Soc. Wash. 25:1-544.

Memmott J, Godfray HCJ, Gauld ID. 1994. The structure of a tropical host – parasitoid community. J. Anim. Ecol. 63:521-540.

Mani MS 1964. Ecology of plant galls. Dr. W. Junk . The Hague, Netherlands .434 pp.

Maruyama PK, Nahasa L, Moura-Neto C, Santos JC . 2012. Gall-inducing nematodes as ecosystem engineers for arthropods associated with its host plant in the Cerrado of Brazil. *Stud. Neotrop. Fauna Envir.* 47: 131–138.

Mendonça M de S Jr. 2007. Plant diversity and galling arthropod diversity searching for taxonomic patterns in an animal-plant interaction in the Neotropics. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 42:347-357.

Morin PJ. 2011. *Community Ecology*, 2nd ed. Blackwell Science, Malden MA. 413pp.

Morris DC, Mound LA, Schwarz MP. 2000 *Advenathripsinquilinus*: a new genus and species of social parasites (Thysanoptera:Phlaeothripidae). *Austr. J. Entomol.* 39: 53–57.

Mound LA, Morris DC 2000. Inquilines or kleptoparasites? New phlaeothripine Thysanoptera associated with domicile-building thrips on Acacia trees. *Aus. J. Entomol.* 39: 130–137.

Paniagua MR, Medianeiro E, Lewis O. 2009. Structure and vertical stratification of plant galler – parasitoid food webs in two tropical forests. *Ecol. Entomol.* 34:310–320.

Price PW. 2005. Adaptive radiation of gall-inducing insects. *Basic and Applied Ecology*, 6:413-421.

Price PW, Clancy KM. 1986. Interactions among three trophic levels: gall size and parasite attack. *Ecology* 67:1593-1600.

Price PW, Fernandes GW, Waring GL. 1987. Adaptive nature of insect galls. *Environ. Entomol.* 16:15-24.

Quicke DLJ. 2015. *The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: Biology, Systematics, Evolution and Ecology*. WileyBlackwell, Oxford, UK

Sanver D, Hawkins BA. 2000. Galls as habitats: the inquiline communities of insect galls. *Basic. App. Ecol.* 1: 3-11.

Schönrogge K, Stone GN, Crawley MJ. 2005. Spatial and Temporal Variation in Guild Structure: Parasitoids and Inquilines of *Andricus quercuscalicis* (Hymenoptera: Cynipidae) in Its Native and Alien Ranges. *Oikos*. 72: 51-60.

Shorthouse JD, Wool D, Raman A. 2005. Gall-inducing insects - nature's most sophisticated herbivores. *Basic. Appl. Ecol.* 6:407-411.

Stireman JO, Devlin H, Carr TG, Abbot P. 2010. Evolutionary diversification of the gall midge genus *Asteromyia* (Cecidomyiidae) in a multitrophic ecological context. *Mol. Phylogenet. Evol.* 54:194-210.

Stone GN, Schönrogge K. 2003. The adaptive significance of insect gall morphology. *Tree*.18:512-522.

Stone GN, Schönrogge K, Atkinson RJ, Bellido D, Pujade-Villar J 2002. The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae). *Ann. Rev. Entomol.* 47: 633-668.

Sugiura S, Yamazaki K, Fukasawa Y, 2004. Weevil parasitism of ambrosia galls. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 97: 184-193.

Sugiura S, Yamazaki K, 2009. Gall-attacking behavior in phytophagous insects, with emphasis on Coleoptera and Lepidoptera. *Terrest. Arthr. Review.* 2: 41-61.

Thompson RM, Brose U, Dunne JA, Hall Jr RO, Hladyz S, Kitching RL, Martinez ND, Rantala H, Romanuk TN, Stouffer DB, Tylianakis JM. 2012. Food webs: reconciling the structure and function of biodiversity. *Trends. Ecol. Evol.* 27:689-697.

Tylianakis JM, Tscharrntke T, Lewis OT. 2007. Habitat modification alters the structure of tropical host-parasitoid food webs. *Nature* 445: 202-205.

Yukawa J, Rohfritsch O. 2005. Biology and ecology of gall-inducing Cecidomyiidae (Diptera). In: Raman A, Schaefer CW, Withers TM. (Eds.), *Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Aarthropods*. Science Publishers Inc., Enfield, NH, 273-304.



Yukawa J, Uechi N, Tokuda M, Sato S. 2005. Radiation of gall midges (Diptera: Cecidomyiidae) in Japan. *Basic Appl Ecol.* 6:453–46.

## CAPÍTULO 1

Running head:

Luz & Mendonça: Guilds in insect galls: who is who.

Membership status:

non-member

Billing contact:

Fernando Albuquerque Luz

Instituto de Biociências - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Av. Bento Gonçalves, 9500, Bloco IV

Porto Alegre, 91.501-970, Brazil

Phone: +55 (53) 8115 8194

Email: fernandoaluz@gmail.com

**Guilds in insect galls: Who is who**

Fernando Albuquerque **Luz\*** and Milton de Souza **Mendonça** Júnior

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), PPG-Ecologia, Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências, Porto Alegre, 91501-970, Brazil.

\*Corresponding author; E-mail: fernandoaluz@gmail.com

---

<sup>1</sup>Este capítulo foi aceito para publicação na revista Florida Entomologist

## **Abstract**

Evolutionary and biological patterns can be obscured by inadequate or ill-defined terminology, for example those regarding ecological interactions. In this context, we find in the gall literature an evident problem of terminology. Cecidogenous (gall-inducing) species are considered ecosystem engineers, promoting structures rich in nutrients and generating distinct microhabitat. Within these structures many organisms can be found interacting with the galls and gall inducers. These interactors are classified in guilds, and guild boundaries are somewhat obscure given the variety of situations occurring in these systems. Cecidophages, inquilines and kleptoparasites appear to be poorly understood and misinterpreted. Therefore, in this study we bring an overview of the features that might help conceptualize and differentiate these interactions. We suggest that some cases described in the literature might be reassessed and clear criteria are proposed here to distinguish among these three guilds associated with galls.

Key Words: terminology; associated guild; successor; galler;

## **Resumo**

Padrões biológicos e evolutivos podem ser obscurecidos pelo uso inadequado ou mal definido de conceitos biológicos, por exemplo na definição de interações ecológicas. Neste contexto, encontramos na literatura de galhas um evidente problema de terminologia. Galhadores são considerados engenheiros de ecossistemas, promovendo uma estrutura rica em nutrientes e com um micro-habitat próprio que inexistente normalmente na planta. Por esta causa, encontramos diversos organismos interagindo com as galhas e com os galhadores. Estas

interações são divididas em guildas associadas às galhas, e nessa divisão em guildas é onde está o problema. As guildas de cecidófagos, inquilinos e cleptoparasitas são ainda mal compreendidas e interpretadas. Sendo assim, neste estudo trazemos um apanhado de características que auxiliam na conceituação e distinção dessas interações entre si. Sugerimos que alguns casos descritos na literatura sejam revistos e que sejam usados os critérios aqui propostos para diferenciar estas três guildas associadas às galhas.

Palavras Chave: terminologia; guildas associadas; sucessor; galhador

Galls are alterations in plant tissues due to feeding or other stimuli, induced by organisms such as insects, mites, viruses among others (Dreger-Jaufret & Shorthouse 1992). Insects, however, are the most common cause (Maia & Fernandes 2004). Hypertrophy and hyperplasia in plant cells bring about changes (Dreger-Jaufret & Shorthouse 1992), resulting in gall tissues rich in nutrients and consequently with a higher nutritional value than the original host plant tissue (Price et al 1987).

Because of nutrient richness and ability to provide a differentiated microhabitat, galls serve as a resource for many organisms. In addition, it also houses the inducer, which serves also as a resource for its natural enemies. Therefore, the gall system encompasses a complex web of organisms that interact distinctively with the gall and/or the gall-inducer (Sanver & Hawkins 2000).

These interactions have been reported ever since Mani (1964), who designated them as guilds associated to galls. Later, Sugiura & Yamazaki (2009) also constructed a brief conceptual review of these guilds, with an emphasis on Coleopteran and Lepidopteran cecidophages. These guilds can be divided into two groups: organisms that interact with galls and can interact secondarily with the inducer, and those that interact directly with the inducer. The first can be separated into inquilines, cecidophages and successors. The second would be predators, parasitoids, symbionts and kleptoparasites (Figure 1, adapted from Sugiura & Yamazaki, 2009). Among all these organisms, predators, parasitoids, symbionts and successors appear to be well delimited in its use in the literature. Nevertheless, three groups of organisms interacting inside gall structure have confusing roles due to terminological problem.

Predators and parasitoids are some of the culprits of gall inducer mortality. It is known for birds and various insects to be gall-inducer predators (Craig et al 2007), and among the parasitoids many wasps (e.g. Chalcidoidea, Ichneumonoidea) are known for

attacking immature gall inducers (e.g. Stone et al. 2002). Furthermore, parasitoids are reported as the main top-down control for populations of gall-inducing insects (Toma & Mendonça 2015). Their role appears to be clear and unequivocal, interacting in a straightforward manner with gallers only (trophically), although parasitoids end up using the gall as a refuge in the process as well.

Successors are organisms that use the gall after the inducer leaves it (Mani 1964). These are very common in conspicuous galls that remain connected to plants over a long period of time, and are most commonly mites, spiders, thrips, beetles, and springtails. They apparently use gall tissues for food and shelter, but dead/decaying gall tissue is probably attacked by fungi which also serve as food. These successors may form specific food webs within the abandoned gall and are clear examples of the engineering effect gallers have on host plants (Sanver & Hawkins 2000).

The majority of the symbionts are fungi that live within galls (Mani 1964), an interaction that can be considered mutualistic, since the gall-inducers use the fungi for food, and the fungi require the insects to transport their spores (Rohfritsch 1997).

Inquilines and cecidophages are incapable of producing their own galls, but feed off gall tissues (Mani 1964). Inquilines install themselves on galls in a way that might or might not be fatal to the inducers, and also can prompt the formation of new gall tissue. Cecidophages, on the other hand, simply eat gall tissues. Like inquilines, they do not attempt to kill the inducer; however, they are unable to induce the production of new tissues (Caltagirone 1964).

Kleptoparasitism is the theft of the resource (i.e. the gall) by another organism, instigated by the abandonment of the gall or death of the gall-inducer (Mound & Morris 2000). Although already studied in the context of galls (e.g. Mound & Morris 2000; Bono 2007), kleptoparasitism was not considered in the work of Sugiura & Yamazaki (2009);

accordingly, Figure 1 includes this interaction between guilds associated to the gall/gall-inducing system.

Among these interactions, cecidophagy, inquilinism, and kleptoparasitism are the least well-understood. Their characterizations are, as well, too broad, and often superposed in the literature so as to be insufficiently distinct; they are frequently used without adequate criteria.

A more complete conceptual definition of these three gall-associated guilds is presented here, with a terminology we believe to be more adequate. We hope that these terms can become clear and without ambiguity, leading to a more consistent use in the literature.

#### DIFFERENTIATING CECIDOPHAGES, INQUILINES, AND KLEPTOPARASITES

In the context of galls, inquiline and cecidophage interactions were differentiated by Mani (1964) within an evolutionary context. The author pointed out that inquilines must have acquired their habits from gall-inducing ancestors, while cecidophages would have evolved independently. On the other hand, Mound & Morris (2000) studied kleptoparasitic thrips of other gall-inducing thrips or home builders, but they only reported that the kleptoparasites kill the gall inducers; this is not the case for inquiline thrips, which do not disturb the gall-inducer.

Although the works cited above provide some tools for distinguishing among these guilds, none of them uses multiple non-superposed parameters, capable of completely differentiating organisms into one or the other category. In contrast, we propose the use of five parameters (food habit; coexistence with the inducer; production of new tissues; phylogenetic relationship with the inducer; and mobility) found in the literature to conceptualize and differentiate cecidophages, inquilines, and kleptoparasites from each other. A summary of the information can be seen in Table 1.

### ***Food Habit***

This is the primary characteristic that separates kleptoparasitism from the other two interactions. Cecidophages and inquilines are exclusively phytophages (Caltagirone 1964; Ronquist 1994), while kleptoparasites interact, firstly, with the inducer; when they do not chase the inducer away they kill it, demonstrating omnivorous habits (Mound & Morris 2000; Luz et al 2015).

### ***Coexistence with the inducer***

The only interaction where there is no possibility of coexistence with the inducer is in kleptoparasitism (Luz et al 2015). Inquilines coexist with the inducer when they feed on the same tissue (see below), and this occurs when there is, for example, a Hymenopteran inducer and a Hymenopteran inquiline (Brooks & Shorthouse 1997). When inquilines do not feed off the same tissues as gallers, they modify gall tissues in a lethal way; for example, when there is a Lepidopteran inducer and a Hymenopteran inquiline (Van Noort et al 2007). Cecidophages, however, coexist by feeding internally and/or externally from the gall, and are only lethal in cases where they consume a large part of the tissue available to the inducer or when they cause the gall chamber to open up to the outside.

### ***Production of new tissues***

This is the primary characteristic that differentiates inquilinism from the other guilds. Inquilines stimulate the production of new tissue in galls (Brooks & Shorthouse 1997), increasing the amount of resources (plant tissue) the gall has, and can even be beneficial to the inducers (Lázló & Tóthméréz 2006) when they belong to the same taxon (at least to the level of order). This is because they feed off the same sort of nutritive tissue, and in the same way. When they belong to different insect orders, however, they are lethal, because



Hymenoptera, Diptera, Coleoptera and Lepidoptera induce the formation of different kinds of gall tissues and inquilines also must feed exclusively on a given gall tissue type, compatible with the insect order it belongs to. When inquilines occupy galls with incompatible tissue, they modify the available tissue, and then this new tissue may not be compatible with the type of feeding of the gall-inducer (Van Noort et al. 2007). Inquilines can also change the shape and colour of the gall (Brooks & Shorthouse 1997; Ferraz & Monteiro 2003). Cecidophages and kleptoparasites, on the other hand, are incapable of inducing new tissue production, or modifying the gall phenotype.

### ***Phylogenetic relationship with the inducer***

Mani (1964) made the first distinction between inquilines and cecidophages by suggesting that inquilines have this habit because they evolved from gall-inducing ancestors, while cecidophages evolved the habit of feeding off gall tissue independently. Evidence of this comes from the fact that inquilines can modify gall tissue and stimulate production of new tissues, while cecidophages only eat the original gall tissue, internally and/or externally.

It is possible to find inquilines that modify gall tissues but which are not phylogenetically closely related to the gallers of the galls they occupy (e. g. Van Noort et al. 2007). However, this group of inquilines belong to the Cynipidae (Hymenoptera), have evolved from gall-inducing ancestors, and some species attack inducers other than gallflies (Stone et al. 2002).

On the other hand, for kleptoparasites, studies undertaken by Bono (2007), Morris et al. (2000), and Luz et al. (2015) suggest that these also bear a close relationship to inducers, as having the same nutritive tissue compatibility or by having evolved from gall-inducing ancestors, for instance kleptoparasitic thrips (e.g. Morris et al. 2000). However, more studies must be undertaken to reach a firmer conclusion.

### *Mobility*

These interactions can also be separated with respect to mobility. Inquilines occupy one gall and there remain until the end of their immature stage (Stone et al. 2002); cecidophages are more mobile, using one or more galls for feeding, and can feed from the exterior of gall tissues (Sugiura & Yamazaki 2009); finally, kleptoparasites can be more mobile, but normally use a single gall (Luz et al. 2015).

### FINAL CONSIDERATIONS

The major nomenclature problem seems to be the term inquilinism, since for a long time in the literature all the organisms associated to galls, which were not predators or parasitoids, would be placed in this guild (e.g. Redfern & Askew 1992). In working with gall studies, it is important to recognize that there is more than one guild that occupies the "house" of the inducer, and that these must be separated following clear criteria so that biological and evolutionary patterns are not confused.

Inquilines are confused with cecidophages and successors, nevertheless: 1) successors do not interact with inducers in time, and 2) cecidophages ought to be considered organisms that may not possess a close phylogenetic association with the inducer, which are able to feed off more than one gall, and are incapable of stimulating new gall tissue production. With this in mind, many cases in the literature can be revised in the future.

The largest confusion between inquilines and cecidophages occurs for Coleoptera and Lepidoptera. Probably many of the designated "inquilines" are actually cecidophages: they do not modify the gall, are not sedentary, and do not have a close phylogenetic relationship with the inducer.

Another problem with the term inquiline can be found in Thysanoptera research. As well characterized as they are in the literature, the designation of inquilinism in thrips does not fit the broad characterization suggested here. Therefore, we suggest researchers studying Thysanoptera may consider favoring this newer characterization of inquilinism proposed here, in what seems to us to be more clearly defined terms.

Another important aspect that must be taken into account, primarily by taxonomists that have described cecidogenic species, is that an insect collected directly from the gall may not be an inducer, it can also be an inquiline, cecidophage, or a kleptoparasite, and this can be very common in galls collected from a single sample or period of the year. Most often these mistakes would involve inquilines, and less frequently cecidophages, since the former are more common and in similar taxa; but the latter are mobile.

The inadequate use of these terminologies can lead to a poor understanding of interactions in the gall-associated guilds. Researchers that work with the host-gall-galler system must take care to distinguish the guilds associated to each of these three elements. Unknowingly, many designate all individuals as inquilines, causing a great confusion in the literature, and erroneous interpretations about the significance of this diversity.

Ultimately, we believe that future research, using the criteria suggested in this study, could be able to resolve and clarify semantic problems in the specific literature associated to these guilds. It is also hoped that ecological and evolutionary hypotheses concerning these groups can emerge with greater clarity.

### **Acknowledgements**

Thanks to Adriano Cavalleri (FURG), Geraldo Soares (UFRGS) and Rosy Isaias (UFMG) for critically reading a first draft of the manuscript. F. A. Luz was supported by a

CAPES Doctoral Program Fellowship. M. Mendonça is supported by a CNPq Productivity grant (309616/2015-8).

### References Cited

- Bono J. 2007. Patterns of kleptoparasitism and inquilinism in social and non-social *Dunatothrips* on Australian *Acacia*. *Ecological Entomology* 32: 411–418.
- Brooks SE, Shorthouse JD. 1997. Developmental morphology of stem galls of *Diplolepi snodulosa* (Hymenoptera: Cynipidae) and those modified by the inquilines *Periclis tuspirata* (Hymenoptera: Cynipidae) on *Rosa blanda* (Rosaceae). *Canadian Journal of Botany* 76: 365-381.
- Caltagirone LE. 1964. Notes on the biology, parasites, and inquilines of *Pontania pacifica* (Hymenoptera: Tenthredinidae), a leaf-gall incitant on *Salix lasiolepis*. *Annals of the Entomological Society of America* 57: 279-291.
- Craig TP, Itami JK, Horner JD. 2007. Geographic variation in the evolution and coevolution of a tritrophic interaction. *Evolution* 61: 1137-1152.
- Dreger-Jauffret F, Shorthouse JD. 1992. Diversity of gall-inducing insects and their galls, pp. 8- 33. *In* Shorthouse JD, Rohfritsch O. [eds.], *Biology of insect inducing galls*. New York: University Press.
- Ferraz FFF, Monteiro RF. 2003. Complex interactions involving a gall midge *Myrciamyia maricaensis* Maia (Diptera, Cecidomyiidae), phytophagous modifiers and parasitoids. *Revista Brasileira de Zoologia* 20: 433-437.
- Lászlò Z, Tóthmérész B. 2006. Inquiline effects on a multilocular gall community. *Acta Zoologica Academia e Scientiarum Hungaricae* 52: 373–383.

- Luz FA, Gonçalves GL, Becker VO, Moreira GRP. 2015. Natural history, molecular phylogeny and taxonomy of a new kleptoparasitic gelechiid moth associated with Melastomataceae galls in Southern Brazil. *Journal of Natural History* 49: 1849-1875.
- Maia VC, Fernandes GW. 2004. Insect galls from Serra de São José (Tiradentes, MG, Brazil). *Brazilian Journal of Biology* 64: 423-445.
- Mani MS. 1964. Ecology of plant galls. Dr. W. Junk . The Hague, Netherlands.
- Miyatake T, Kuba H, Yukawa J. 2000. Seasonal occurrence of *Bactrocera scutellata* (Diptera: Tephritidae), a cecidophage of stem galls produced by *Lasioptera* sp. (Diptera: Cecidomyiidae) on wild gourds (Cucurbitaceae). *Annals of the Entomological Society of America* 93: 1274–1279.
- Morris DC, Mound LA, Schwarz MP. 2000. *Advenathrips inquilinus*: a new genus and species of social parasites (Thysanoptera: Phlaeothripidae). *Australian Journal of Entomology* 39: 53–57.
- Mound LA, Morris DC. 2000. Inquilines or kleptoparasites? New phlaeothripine Thysanoptera associated with domicile-building thrips on Acacia trees. *Australian Journal of Entomology* 39: 130–137.
- Price PW, Fernandes GW, Waring GL. 1987. Adaptive nature of insect galls. *Environmental Entomology* 16: 15-24.
- Redfern M, Askew RR. 1992. Plant galls. *Naturalists' Handbooks* 17. Slough, England Richmond Publishing.
- Rohfritsch O. 1997 . Morphological and behavioural adaptations of the gall midge *Lasioptera arundinis* (Schiner) (Diptera, Cecidomyiidae) to collect and transport conidia of its fungal symbiont . *Tijdschrift voor Entomologie* 140 : 59 - 66 .

- Ronquist F. 1994. Evolution of parasitism among closely related species: Phylogenetic relationship and the origin of inquilinism in gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae). *Evolution* 48: 241-266.
- Sanver D, Hawkins BA. 2000. Galls as habitats: the inquiline communities of insect galls. *Basic and Applied Ecology* 1: 3-11.
- Stone GN, Schönrogge K, Atkinson RJ, Bellido D, Pujade-Villar J. 2002. The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae). *Annual Review of Entomology* 47: 633-668.
- Sugiura S, Yamazaki K. 2009. Gall-attacking behavior in phytophagous insects, with emphasis on Coleoptera and Lepidoptera. *Terrestrial Arthropod Reviews* 2: 41–61.
- Toma TSP, Mendonça, MdeSJr. 2014. Population ecology of galling arthropods in the Neotropics pp. 69-98 *In* Fernandes, GW, Santos JC [eds.]. *Neotropical Insect Galls*. Springer.
- Van Noort S, Stone GN, Whitehead VB, Nieves-Aldrey JL. 2007. Biology of *Rhoophilus loewi* (Hymenoptera: Cynipoidea: Cynipidae), with implications for the evolution of inquilinism in gall wasps. *Biological Journal of the Linnean Society* 90: 153–172.

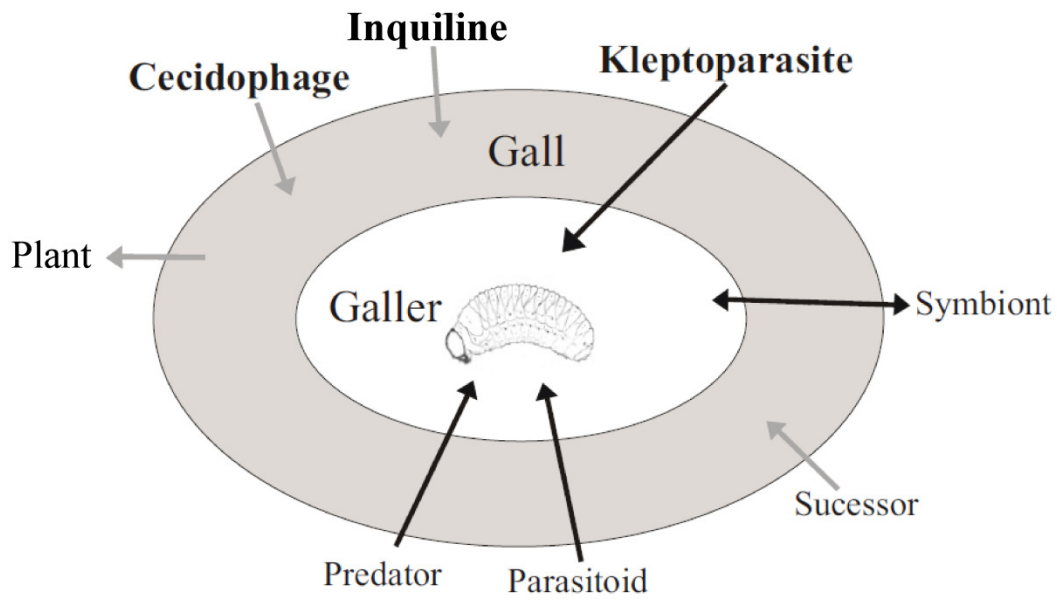
**Table 1.** Parameters used to differentiate interactions of Inquilinism, Cecidophagy, and Cleptoparasitism of galls, compiled from the literature

<b>Traits</b>	<b>Inquilinism</b>	<b>Cecidophagy</b>	<b>Kleptoparasitism</b>	<b>Source</b>
<b>Food Habit</b>	Exclusively phytophagous.	Exclusively phytophagous.	Omnivorous habit.	Caltagirone 1964; Van Noort et al 2007; Mound & Morris 2000; Luz et al 2015.
<b>Coexistence with the Inducer</b>	Coexistence, if no large tissue modification.	Coexistence, but can be lethal.	Do not coexist.	Sanver & Hawkins 2000; Miyatake et al 2000; Mound & Morris 2000; Ronquist 1994; Luz et al 2015.
<b>Production of New Tissues</b>	Stimulates production of new tissues when from same taxonomic group, but when from different group modifies tissues.	Do not modify gall tissue or phenotype.	Do not modify gall tissue or phenotype.	Brooks & Shorthouse 1997; Ronquist 1994; Van Noort et al 2007; Sugiura & Yamazaki 2009; Bono 2007; Luz et al 2015.
<b>Phylogenetic Relationship With Inducer</b>	Close phylogenetic relationship with inducer	No phylogenetic relationship with inducer	Can have a close phylogenetic relationship with inducer	Mani 1964; Sugiura & Yamazaki 2009. Luz et al 2015.
<b>Mobility</b>	Sedentary	High	Low	Stone et al 2002; Sugiura & Yamazaki 2009; Luz et al 2015.

## Figure captions

**Fig. 1.** Organism guilds associated with galls and gall inducers. Gray arrows represent interaction with the gall, black arrows with the galler (Modified from Sugiura & Yamazaki 2009).





**Fig. 1.** Organism guilds associated with galls and galler. Gray arrows represent interaction with the gall, black arrows with the galler (Modified from Sugiura & Yamazaki 2009).

## CAPÍTULO 2

### Redes de interação entre insetos galhadores e parasitoides em Florestas Estacionais no sul do Brasil

Running title: Gall inducer-parasitoid networks

Correspondence: Fernando A. Luz, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves 9500, Setor 4, Prédio 43422, Sala 102, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brasil. [fernadoaluz@gmail.com](mailto:fernadoaluz@gmail.com)

Fernando Albuquerque Luz<sup>1</sup>; Ana Paula Moraes Goetz<sup>1</sup>; Tiago Shizen Pacheco Toma<sup>2</sup>; Milton de Souza Mendonça Júnior<sup>1</sup>

1. Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, RS, 91501-970, Brazil.

2. Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie (IMBE), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, CNRS, IRD, Aix Marseille Université, IUT d'Avignon, Avignon cedex 9, France.

**RESUMO.** Insetos herbívoros e seus inimigos naturais representam diferentes e importantes interações nas comunidades. Esses organismos representam 1/3 das espécies animais, e por existirem muitas guildas de insetos herbívoros e formas de interação planta-herbívoro e também herbívoro-inimigo natural, muitos padrões nestas interações ainda são obscuros.

2. Neste trabalho tentamos buscar padrões nas redes de interações entre insetos galhadores e parasitoides em áreas de Floresta Estacional no Brasil. Uma análise dessas redes tróficas através de suas diversas métricas e topologias foi empregada para caracterizar essa comunidade, ressaltando que análises como as aqui apresentadas ainda são inéditas na literatura para este tipo de interação.

3. Nossos resultados mostram que as redes galhador-parasitoide possuem um padrão modular e não possuem um padrão aninhado, o que é esperado para redes antagonistas. Além disso, foram encontradas interações altamente específicas compondo a rede e com isso uma baixa conectância. Cada galhador na rede hospeda em média quatro espécies de parasitoides na comunidade.

4. Devem existir vários processos que limitam as interações entre esses organismos, sejam eles ecológicos ou mesmo evolutivos. Parasitoides podem atacar exclusivamente alguns galhadores talvez influenciados pela planta hospedeira. Além disto, este tipo de interação é provavelmente influenciado pela forma e tamanho da galha em relação à capacidade de oviposição e tamanho do parasitoide, tornando estas interações peculiares e complexas.

**Palavras Chave:** Conectância; Especialização; Insetos Herbívoros; Modularidade;

## INTRODUÇÃO

Redes de interação são capazes de caracterizar interações ecológicas em comunidades e evidenciam sua estrutura a partir da identidade e abundância das espécies interagentes (Thompson *et al.*, 2012). Recentemente este método analítico vem crescendo popularmente como uma forma de explorar processos e relações entre a estrutura das comunidades e o seu funcionamento (Heleno *et al.*, 2014).

As redes de interação refletem padrões de interação entre as espécies encontrados na comunidade, os mais comuns sendo o aninhamento (Atmar & Patterson, 1993) e a compartimentação ou modularidade (Leibold & Mikkelsen, 2002). O aninhamento caracteriza-se por espécies especialistas interagirem com generalistas e espécies com poucas interações que estão associadas a grupos mais abundantes (Atmar & Patterson 1993). Este tipo de padrão tem sido associado a comunidades fragmentadas e em redes de interações mutualísticas. (Bascompte *et al.*, 2003; Hagen *et al.*, 2012; Staniczenko *et al.*, 2013). A modularidade ou compartimentação é dada quando existem conjuntos reconhecíveis de organismos que interagem entre si, formando diferentes compartimentos na rede, o que costuma acontecer em interações especializadas e que passaram por um processo de co-evolução (Lewinsohn *et al.*, 2006), sendo normalmente, encontrada em redes antagonísticas (Henri & Van Veen, 2011).

Grande parte dos estudos de redes tem sido realizado em comunidades mutualísticas de interação animal-planta (Miranda *et al.*, 2013), ao passo que os trabalhos com sistemas antagonistas como hospedeiros e parasitoides ainda são incipientes. Para May (1990), entender os processos que estruturam as interações de insetos hospedeiros e parasitoides é importante, pois esses organismos compreendem um terço das espécies animais e mais de 50% das espécies animais terrestres. Alguns

estudos de redes tróficas já tentaram identificar padrões em redes de interação insetos herbívoros (hospedeiro) – parasitoides, mas focados em minadores (e.g. Cagnolo, 2010; Henri & Van Veen, 2011). Quanto aos galhadores, existem raros estudos que utilizam redes tróficas, e estes são restritos a comparações de ambientes (e.g. Paniagua *et al.*, 2009), sem explorar explicitamente padrões internos de organização para este tipo de rede de interação.

Os insetos galhadores são um grupo muito particular de insetos herbívoros, que induzem modificações nos tecidos vegetais, formando uma estrutura conhecida como galha, que abriga a larva do inseto indutor (Mani, 1964). Apesar dos galhadores interagirem com um grande número de organismos (Luz & Mendonça, 2018 – submetido), são os parasitoides o principal grupo de organismos associados a estes insetos (Mani, 1964).

As galhas são consideradas uma estrutura adaptativa dos seus indutores, e funcionariam como uma estrutura de defesa aos inimigos naturais (“hipótese do inimigo natural”) (Price, 1972). Porém, alguns clados desenvolveram formas de utilizar este recurso através de estratégias de ultrapassar a barreira imposta pela galha (Stone *et al.*, 2005). Isto pode ser evidenciado por estudos que reportaram casos onde galhas com estruturas semelhantes (espessura; tamanho; pilosidade) compartilham comunidades de parasitoides semelhantes morfológicamente (e.g. Bailey *et al.*, 2009; László & Thotméréz 2013). Além disso, estas interações também podem ser influenciadas por fatores temporais e espaciais (Bailey *et al.*, 2009; Schönrogge *et al.*, 1995). Esta diversidade de fatores deve ser considerada quando se busca entender os padrões apresentados por este tipo de rede de interação (Nyman *et al.*, 2007).

O objetivo deste estudo foi construir redes de interação galhador-parasitoide de duas áreas de Floresta Estacional e descrever seus padrões de organização utilizando

métricas de redes e de topologias. Nossa hipótese é que estas redes possuem um padrão modular, como é esperado para as redes antagonistas, além de apresentar redes com baixa conectância, alta especialização e taxa de parasitismo, que é observado em dados gerais de interações hospedeiro-parasitoide.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de Estudo

O estudo foi realizado em dois locais no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. As duas localidades encontram-se no bioma Mata Atlântica, e as amostragens ocorreram em áreas de florestas classificadas como Floresta Estacional Semi-decidual (Oliveira-Filho *et al.*, 2015), uma formação arbórea característica de regiões com estacionalidade climática, com a porcentagem de árvores decíduas na estação fria entre 25 e 50% (IBGE 2012).

A primeira área (FEC) pertence à Companhia Estadual de Energia Elétrica-Rio Grande do Sul (CEEE-RS) e está localizada no município de Canela. Situada próxima a áreas de Floresta com Araucária, há influência de espécies que ocorrem nesta formação na área amostrada (Oliveira-Filho *et al.*, 2015). A região, cuja altitude é cerca de 612 m.n.m., está sob clima do tipo Cfa, dessa forma, ocorrem chuvas bem distribuídas ao longo do ano e a temperatura do mês mais quente é superior a 22°C (Peel *et al.*, 2007).

A segunda área (FES) corresponde a uma propriedade privada, localizada no município de Santa Tereza. A região onde está situada é caracterizada por uma altitude de cerca de 240 m.n.m. e também está sob o clima do tipo Cfa.

### Coleta de Dados

Oito amostragens estacionais foram realizadas entre 2015 e 2016 (uma para cada outono e inverno e mais três para cada primavera e verão) em quatro parcelas contínuas de mata em dois tipos distintos de estágios sucessionais nas duas Florestas Estacionais. Foram amostradas duas parcelas correspondentes a áreas de mata secundária (29°22'58.1"S 50°44'08.1"W e 29°22'50.4"S 50°44'11.9"W) e duas outras parcelas com cerca de dez anos após atividades de restauração (29°22'50.2"S 50°44'03.2"W e 29°22'44.1"S 50°43'49.8"W) na FEC. Na FES, também foram amostrados duas parcelas correspondendo a uma região de mata secundária (29°09'27.5"S 51°41'34.6"W e 29°09'45.8"S 51°42'33.2"W), assim como outras duas parcelas datando oito anos após ações de restauração (29°09'44.8"S 51°42'32.8"W e 29°09'47.8"S 51°42'40.5"W), cada parcela possuía cerca de 5 ha. A mata secundária possuía maior umidade, árvores com maior DAP e menos incidência de sol dentro da mata, enquanto as áreas de restauração, eram mais secas, com árvores menores e mais jovens e com bastante luminosidade.

Esses locais eram percorridos por duas pessoas, por um período de 1h, coletando todas as galhas que eram encontradas, totalizando 8h de coleta por área por amostragem, 64h de esforço total de coleta para cada área (FEC e FES). As galhas coletadas eram levadas para laboratório, onde eram contabilizadas e individualizadas em sacos plásticos, com algodão úmido na base da folha ou caule até a emergência dos parasitoides ou dos galhadores. Os parasitoides foram acondicionados em tubos contendo álcool 80%, individualizados para a identificação em menor nível taxonômico possível, através de literatura e envio de material para especialistas. Para a identificação das morfoespécies de galhadores foi utilizada a hipótese do fenótipo estendido, onde as galhas são fenótipos estendidos dos galhadores, assim, cada galhador além de atacar apenas uma única espécie vegetal, possui uma morfologia única de galha (Carneiro *et*

*al.*, 2009), e através da forma da galha (morfortipo) é possível separar as morfoespécies de galhadores.

Todas as galhas coletadas neste estudo, caracterização dos morfortipos e plantas hospedeiras podem ser visualizados em Goetz *et al.*, (2018).

#### Análises de Dados

Para avaliar diferenças na composição das comunidades de parasitoides e também dos galhadores entre as duas áreas (FEC e FES) foram realizadas para cada grupo de organismos PERMANOVAs com 999 permutações usando distância de Bray-Curtis.

Para a construção das redes foi utilizado o pacote Bipartite, com imagens editadas no software Corel Draw X3. As métricas de rede foram analisadas também no pacote Bipartite e foram escolhidas segundo Paniagua *et al.*, (2009) e Tylianakis *et al.*, (2007), que representam os raros trabalhos com redes e interações hospedeiro/parasitoide, para título de comparação. Assim, foram utilizadas as seguintes métricas: (1) número de links, que é o total de interações espécie-espécie sem considerar a abundância destas interações; (2) taxa de parasitismo, que é a divisão do número de hospedeiros pelo número de parasitoides encontrados, resultando na taxa de hospedeiros parasitados na comunidade; (3) conectância, que é o percentual de quantas interações foram amostradas, das possíveis de acontecerem naquela comunidade; (4) especialização ( $H^2$ ), que é um índice que varia de 0 a 1, e quanto mais próximo a 1, mais especializadas são as espécies da comunidade para aquela interação estudada; (5) vulnerabilidade, que é em média, quantos parasitoides uma espécie de hospedeiro possui na comunidade; (6) assimetria da rede, que é um valor de 0 a 1, que mede a dependência de um lado da rede (parasitoide) pelo outro lado da rede (galhadores) na



comunidade, este valor além de representar dependência, sugere processos coevolutivos mais estritos, ou seja, quanto maior a simetria da rede, maior seria a coevolução entre os grupos, e: (7) densidade de links, que representa o número de links, interações, médio de todos os táxons da rede.

Para testar se os valores encontrados para as redes observadas diferem dos encontrados ao acaso, foram empregados modelos nulos, considerando matrizes aleatorizadas, mas que mantêm os totais marginais de linhas e colunas (PP null model). O P-valor, assim, reflete a posição do valor observado na distribuição de probabilidades obtidas pela aleatorização das redes; também foi utilizado o mesmo método para comparar as variáveis entre as duas diferentes áreas (FEC e FES) (Mello *et al.*, 2016). As redes foram feitas para cada área conjuntamente (agrupando as quatro parcelas), pois estas são contínuas. Para a análise da modularidade da rede foi usada a função QuaBimo, do pacote *Bipartite* citado acima. Todas as análises feitas acima foram implementadas no programa *R* (versão 3.0.2, *R* Core Development Team, 2012).

Calculou-se o aninhamento através da métrica NODF no programa ANINHADO (Guimaraes & Guimaraes 2006). Utilizando o valor de “N Total” para o valor total de NODF da rede. Para testar a significância do valor de NODF foi utilizado o modelo NODF (Ce)-nullmodel (Almeida-Neto *et al.*, 2008).

## RESULTADOS

Foram coletadas 4092 galhas em FEC e 6712 em FES, num total de 89 morfotipos de galhas. Destas, 40 morfoespécies tiveram interações com parasitoides registradas e serão aqui analisadas, sendo 28 morfoespécies de galhadores em FEC e 23 em FES, as áreas tendo compartilhado 12 morfoespécies de galhadores com

parasitoides. A PERMANOVA mostrou diferenças significativas na composição de galhas entre FEC e FES ( $F=3,17$ ;  $p=0,001$ ).

Os morfotipos mais abundantes de galhas em FEC foram galha foliar em *Leandra regnelli* (Melastomataceae) ( $n=1207$ ) e galha de ramo em *Piper aduncum* (Piperaceae) ( $n=760$ ) e em FES galha foliar em *Nectandra megapotamica* (Lauraceae) ( $n=2575$ ) e galha de ramo em *N. megapotamica* ( $n=652$ ). A lista completa das espécies de plantas hospedeiras e abundâncias de morfoespécies de galhas podem ser conferidas na Tabela 1 do Material Suplementar.

Para os parasitoides foram coletados um total de 2399 espécimes divididos em 82 espécies, pertencendo às seguintes famílias: Aphelinidae (3 esp.); Braconidae (12 esp.); Encyrtidae (1 esp.); Eulophidae (23 esp.); Eulpeimidae (2 esp.); Euytomidae (7 esp.); Mymaridae (1 esp.); Phoridae (2 esp.); Platygasteridae (7 esp.); Pteromalidae (15 esp.); Scelionidae (1 esp.); Tanoagmastidae (1 esp.); Torymidae (6 esp.).

Das 82 espécies de parasitoides, 38 espécies atacaram um único hospedeiro. Destas, oito foram singletons ou doubletons. Foram específicas a um único hospedeiro todas as espécies de: Aphelinidae (3); Braconidae (12); Phoridae (2). Eulophidae foi a família mais rica (23 esp.), e destas apenas quatro espécies foram específicas em termos da morfoespécie de galhador atacado, todas as outras atacando normalmente três a seis hospedeiros.

Em FEC foram coletados 34 parasitoides exclusivos da região e em FES 19 exclusivos. Foram compartilhados entre as duas áreas 28 espécies, destas 12 da família Eulophidae. A PERMANOVA mostrou diferenças significativas na composição de parasitoides entre FEC e FES ( $F=2,25$ ,  $p=0,007$ ), não foi encontrada diferenças nas composições dentre as parcelas das áreas. Dentre os parasitoides mais abundantes estão: Platygasteridae sp.2 (426 indivíduos, sendo 239 em FES e 187 em FEC, atacando um

total de cinco diferentes hospedeiros); Tanoagmastidae sp. (228 indivíduos, sendo 202 em FES e 26 em FEC, quatro diferentes hospedeiros); Eulophidae sp.1 (187 indivíduos, sendo 83 em FES e 104 em FEC), em cinco diferentes hospedeiros).

Construímos e analisamos as redes para cada localidade separadamente, devido à diferença de composição de espécies. Na Tabela 1, podemos observar um resumo dos valores totais de hospedeiros, parasitoides e taxa de parasitismo, além de variáveis de rede calculadas para cada localidade e uma comparação entre estas.

As redes podem ser visualizadas nas Figuras 1 (FEC) e 2 (FES); as conectâncias das redes apresentaram valores baixos e que diferem dos modelos nulos, mostrando que das interações possíveis, nem 10% delas está ocorrendo nestas comunidades. FEC teve um valor significativamente maior de conectância em relação a FES. Por outro lado, encontraram-se valores altos de especialização nas redes, que também diferem do que seria esperado ao acaso, e sem diferenças entre as áreas, indicando alto grau de especificidade nestas interações. Obtiveram-se doze interações estritamente espécie-específicas, onde um parasitoide só teve um hospedeiro galhador, que por sua vez hospedou apenas aquele parasitoide.

Cada hospedeiro (galhador) teve, em média, 3,755 parasitoides associados nas duas redes. Este valor reflete a vulnerabilidade das redes, e não diferiu do que poderia ser encontrado ao acaso, assim como a assimetria das redes.

A densidade de links não diferiu significativamente entre as áreas, mas sim em comparação com os valores encontrados nos modelos nulos. Estes valores representam o número médio de interações de todas as redes.

Tabela 1: Dados descritivos das comunidades de galhadores e parasitoides nas áreas de FEC e FES e Métricas de redes analisadas. Valores  $p > 0,05$  representam não diferença dos modelos nulos, ou seja, sem significância já os valores de  $p < 0,05$  o contrário. FEC = Floresta Estacional Semidecidual de Canela e FES = Floresta Estacional Semidecidual de Santa Tereza.

Métricas de Rede	FEC	FES	Diferença estatística entre as duas áreas
Número de espécies galhadoras	28	23	
Abundância de galhadores	4092	6712	
Número de espécies de parasitoides	62	47	
Abundância de parasitoides	1175	1271	
Número de links (n)	96	82	
Taxa de parasitismo (%)	28,7	18,9	
Conectância (p)	0,062 ( $p < 0,05$ )	0,083 ( $p < 0,05$ )	$p < 0,05$
Especialização (H2)	0,768 ( $p < 0,05$ )	0,858 ( $p < 0,05$ )	$p > 0,05$
Vulnerabilidade	3,76 ( $p > 0,05$ )	3,75 ( $p > 0,05$ )	$p > 0,05$
Assimetria da Rede	0,370 ( $p > 0,05$ )	0,342 ( $p > 0,05$ )	$p > 0,05$
Densidade de links	2,86 ( $p < 0,05$ )	2,60 ( $p < 0,05$ )	$p > 0,05$
Modularidade(QuanBiMo)	0,58 ( $p < 0,05$ )	0,67( $p < 0,05$ )	$p > 0,05$
Aninhamento (NODF)	1.15 ( $p = 0,98$ )	2.30 ( $p = 0,91$ )	$p < 0,05$

Ambas as redes apresentaram um padrão modular, e o padrão aninhado foi descartado. Os módulos encontrados podem ser observados nas Figuras S1 e S2 (material suplementar). Certos hospedeiros e parasitoides interagiram apenas entre si, formando módulos sem nenhum compartilhamento com outras espécies na rede. Os galhadores que induzem galhas na planta hospedeira *Inga marginata* (Fabaceae), tiveram parasitoides exclusivos, em ambas as áreas. O mesmo aconteceu com as duas galhas em *Luehea divaricata* (Malvaceae) em FES. Por outro lado, galhas de *Piper aduncum* e *Guapira opposita* (Nyctaginaceae), que foram bastante representativas, compartilharam parasitoides com galhas de outros hospedeiros.

## DISCUSSÃO

As interações antagonistas tendem a formar comunidades compartimentadas, quando há grande pressão seletiva e especificidade nas interações (Poulin 1997; Lewinsohn *et al.*, 2006). As interações aqui encontradas apresentaram este alto grau de especificidade e uma baixa conectância, o que resultou num padrão fortemente modular, apesar da presença de algumas poucas espécies de parasitoides generalistas na rede, principalmente representadas pela família Eulophidae.

Os parasitoides possuem diferentes graus de especificidade, dependendo muito de características dos hospedeiros (tamanho, distribuição e estratégias de defesa) (Godfray 1994). Nyman *et al.*, (2007) encontram desde espécies de parasitoides associados primeiramente à planta hospedeira do galhador, outras associadas a um dado gênero de galhadores, mesmo que atacando diferentes plantas, outros grupos ainda associados a formas de galhas específicas e não necessariamente ao táxon galhador ou vegetal. Além disso, estes autores encontraram clados altamente espécie-específicos e, ao mesmo tempo, outros extremamente generalistas. Apesar disso, em nosso caso a maioria, 46,3% das espécies de parasitoides das redes estudadas foi espécie-específica, ou associada a um grupo restrito de galhas, mantendo o padrão modular esperado. O padrão de especificidade dos parasitoides pode ter uma relação taxonômica, visto que todas as espécies das famílias Aphelinidae, Braconidae e Phoridae foram específicos a um único hospedeiro e por outro lado Eulophidae foi a família que trouxe certa generalidade para as redes.

O padrão aninhado, que é esperado para comunidades mutualísticas (Michio *et al.*, 2010), não foi encontrado nas redes galhador-parasitoide. Ainda, os valores muito baixos de NODF são explicados pela alta especialização e baixa conectância da rede, que não dão suporte para um aninhamento pela falta de espécies altamente generalistas.

Além disso, a densidade de links mostrou que a média geral de interações nestas comunidades é de 2,7 interações por espécie, o que representa menos do que se espera em uma comunidade interativa aninhada.

As redes entre parasitoides e galhadores ainda são pouco exploradas. Paniagua *et al.*, (2009) utilizou as redes para avaliar *turn over* das comunidades em um gradiente vertical florestal, e embora não fosse o foco do trabalho, suas redes foram caracterizadas por compartimentalização, mas que não foi testada quanto a significância. Estas redes também apresentaram valores de conectância, vulnerabilidade e densidade de links similares a este estudo. Assim como esse, outros estudos que usam galhadores e parasitoides não comparam padrões específicos de rede como aqui proposto, mas utilizam redes como uma ferramenta para a comparação entre ambientes, ou então apresentam redes não quantitativas.

Já as redes tróficas de interações entre minadores de folha e seus parasitoides são mais presentes na literatura. Os minadores de folha compreendem uma outra guilda de insetos endofíticos, que por isso se assemelham ao modo de vida dos galhadores. Derocles (2015) encontrou para este tipo de interação uma alta especificidade dos parasitoides com os minadores de folha. Rott & Godfray (2000) observaram que as redes de interação entre minadores de folha e parasitoides é altamente influenciada pela planta hospedeira do inseto herbívoro, como em alguns casos das redes deste estudo. Cagnolo (2011) encontrou um padrão modular para este tipo de interação, com valores de  $M$  próximos aos aqui encontrados embora o estudo tenha ocorrido em áreas de Chaco Argentino, com características bastante distintas das florestas aqui estudadas.

Apesar da diferença na composição de espécies de galhas e parasitoides entre as áreas, as métricas e padrões da rede se portaram da mesma maneira para as duas áreas, o que nos permite alguma generalização para este tipo de interação, neste tipo de

ambiente. Além disso, estes padrões foram encontrados para uma escala global em redes de hospedeiro-parasitoides (Morris *et al.*, 2014)

Bailey *et al.*, (2009) mostrou que galhas sobre carvalho com atributos estruturais (morfológicos) similares possuem parasitoides similares. Apesar dos atributos estruturais das galhas encontradas não terem sido mensurados neste estudo, podemos observar que os módulos das redes de interação foram centrados alternativamente em: 1) galhas com pouca dureza como característica diferencial, compartilhando muitas espécies de parasitoides; 2) galhadores que ocorrem na mesma planta hospedeira, 3) módulos isolados, espécie-específicos, e por fim 4) módulos com galhas sem nenhuma relação aparente (de estrutura ou planta hospedeira). Isso nos mostra que apesar do papel importante dos atributos estruturais das galhas nas interações (e.g. Lazlo & Thotmerez 2013; Luz 2018 - Capítulo 3), outros fatores podem também estar sendo responsáveis pelos módulos nestas redes de interações, como mais provavelmente o fator planta hospedeira; fatores coevolutivos e a ocorrência de espécies generalistas de parasitoides.

Concluimos que as interações entre parasitoides e galhadores, neste caso, seguem um padrão modular, com alta especialização nas interações, como esperado para redes antagonistas. Os fatores que fazem com que os módulos sejam formados devem ser melhor explorados em trabalhos futuros. O comportamento de algumas métricas de redes de forma semelhante a outros estudos (e.g. Paniagua 2009; Tylianakis 2007) fornece indícios de que os padrões aqui encontrados, como alta modularidade, baixa conectância e baixa densidade de links sejam característicos de redes de interação galhador-parasitoide.

## REFERÊNCIAS

- Almeida-Neto, M., Guimarães, P., Guimarães, P.R., Loyola, R.D. & Ulrich, W. (2008) A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and measurement. *Oikos*, **117**, 1227–1239.
- Atmar, W. & Patterson, B.D. (1993) The measure of order and disorder in the distribution of species in fragmented habitat. *Oecologia*, **96**, 373–382.
- Bailey, R.K., Schönrogge, J.M., Cook, G., Melika, G., Csóka, C.T., & Stone, G.N. (2009) Host niches and defensive extended phenotypes structure parasitoid wasp communities. *PLoS Biology* **7**, e1000179.
- Bascompte, J., Jordano, P., Melián, C. & Olesen, J. (2003) The nested assembly of plant-animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, **100**, 9383–9387.
- Cagnolo, L., Salvo, A., & Valladares, G. (2011) Network topology: patterns and mechanisms in plantherbivore and host-parasitoid food webs. *Journal of Animal Ecology*, **80**, 342–351
- Carneiro, M.A.A., Borges, R.A.X., Araújo, A.P.A., & Fernandes, G.W. (2009) Insetos indutores de galhas da porção sul da Cadeia do Espinhaço, MG, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, **53**, 570–592.
- Derocles, S.A.P., Evans, D.M., Nichols, P.C., Evans, S.A., & Lunt, D.H. (2015) Determining Plant – Leaf Miner – Parasitoid Interactions: A DNA Barcoding Approach. *PLoS ONE*, **10**, e0117872. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117872>
- Godfray, H.C.J. (1994) *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey.
- Goetz, A.P.M., Luz, F.A., Toma, T.S.P., & Mendonça Jr, M.de.S. (2018) Gall-inducing insects of deciduous and semideciduous forests in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Iheringia, Série Zoologia*, **108**, e2018015.
- Guimarães, P.R. & Guimarães Jr, P.R. (2006) Improving the analyses of nestedness for large sets of matrices. *Environments Modelling Software*, **21**, 1512–1513.
- Hagen, M., Kissling, W.D., Rasmussen, C., De Aguiar, M.A.M., Brown, L.E. et al. (2012) Biodiversity, species interactions and ecological networks in a fragmented world. *Advances in Ecological Research*, **46**, 89–210.
- Heleno, R. et al. (2014) Ecological networks: delving into the architecture of biodiversity. *Biological Letters*, **10**, e20131000.
- Henri, D.C., & Van Veen, F.J.F. (2011). *Body Size, Life History and the Structure of Host – Parasitoid Networks*, First Edition (New York, NY: Elsevier Ltd.)



- IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2012) Manual Técnico da Vegetação Brasileira. Rio de Janeiro, IBGE. 271p.
- László, Z., & Tóthmérész, B. (2013). The enemy hypothesis: Correlates of gall morphology with parasitoid attack rates in two closely related rose cynipid galls. *Bulletin of Entomological Research*, **103**, 326-335.
- Leibold, M.A., & Mikkelsen, G.M. (2002) Coherence, species turnover, and boundary clumping: elements of meta-community structure. *Oikos*, **97**, 237-250.
- Lewinsohn, T.M., Prado, P.I., Jordano, P., Bascompte, J. & Olesen, J. (2006) Structure in plant–animal interaction assemblages. *Oikos*, **113**, 174–184.
- Mani, M.S. (1964). Ecology of plant galls. Dr. W. Junk . The Hague, Netherlands.
- May, R.M. (1990) How many species? *Philosophical Transactions of The Royal Society B*, **330**, 293–304.
- Michio, K., Satoshi, K., & Yoshikuni, S. (2010) Food webs are built up with nested subwebs. *Ecology*, **91**, 3123–3130
- Miranda, M., Parrini, F., & Dalerum, F. (2013) A categorization of recent network approaches to analyse trophic interactions. *Methods in Ecology and Evolution*, **4**, 897-905.
- Morris, R. J., Gripenberg, S., Lewis, O. T., & Roslin, T. (2014). Antagonistic interaction networks are structured independently of latitude and host guild. *Ecology letters*, **17**, 340-349.
- Nyman, T., Bokma, F. & Kopelke, J.-T. (2007) Reciprocal diversification in a complex plant-herbivore-parasitoid food web. *BMC Biology*, **5**, 49.
- Oliveira-Filho, A.T., Budke, J.C., Jarenkow, J.A., Eisenlohr, P. V. & Neves, D.R.M. (2015) Delving in to the variations in tree species composition and richness across South American subtropical Atlantic and Pampean forests. *Journal of Plant Ecology*, **8**, 242– 260.
- Paniagua, M.R., Medianeiro, E., & Lewis, O. (2009) Structure and vertical stratification of plant galler – parasitoid food webs in two tropical forests. *Ecological Entomology*, **34**, 310–320.
- Peel, M.C., Finlayson, B.L., & McMahon, T.A. (2007) Updated world map of the Köppen- Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences*, **11**, 1633–1644.
- Poulin, R. (1997) Species richness of parasite assemblages: evolution and patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **28**, 341– 58.
- Price, P.W. (1972) Parasitoids utilizing same host – Adaptive nature of differences in size and form. *Ecology*, **53**, 190–195.

- R Development Core Team. (2012) R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. See <http://www.R-project.org> [accessed on 15 April 2018].
- Rott, A.S., & Godfray, H.C.J. (2000) The structure of a leafminer-parasitoid community. *Journal of Animal Ecology*, **69**, 274–289.
- Schönrogge, K., Stone, G.N., & Crawley, M.J. (2005) Spatial and Temporal Variation in Guild Structure: Parasitoids and Inquilines of *Andricus quercuscalicis* (Hymenoptera: Cynipidae) in Its Native and Alien Ranges. *Oikos*, **72**, 51-60.
- Staniczenko, P.P.A., Kopp, J.C., & Allesina, S. (2013) The ghost of nestedness in ecological networks. *Nature Communications*, **4**, 1391
- Thompson, R.M., Brose, U., Dunne, J.A., Hall, R.O., Hladyz, S. et al. (2012) Food webs: reconciling the structure and function of biodiversity. *Trends in Ecology and Evolution*, **27**, 689–697.
- Tylianakis, J.M., Tscharrntke, T., & Lewis, O.T. (2007) Habitat modification alters the structure of tropical host– parasitoid food webs. *Nature*, **445**, 202–205.

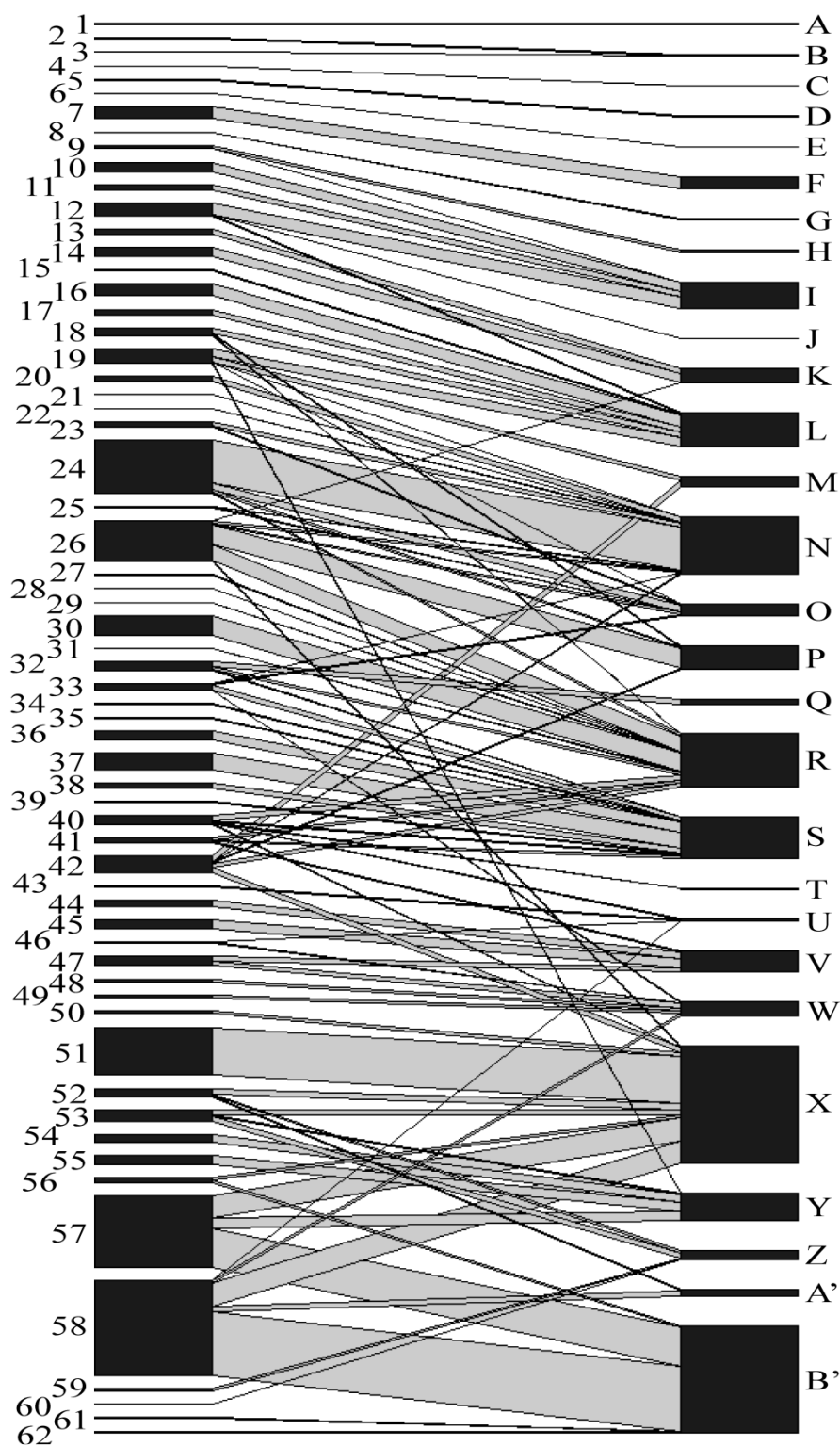


Figura 1. Rede de interação entre parasitoides e galhadores em Floresta Estacional Semidecidual município de Canela, RS. Na direita os morfotipos de galha, representando as espécies de galhadores. Na esquerda os morfotipos de parasitoides. As faixas cinza representam as interações e sua espessura à quantidade de interações observadas. A lista das espécies com os respectivos códigos está disponível na Tabela 2 do Material Suplementar.

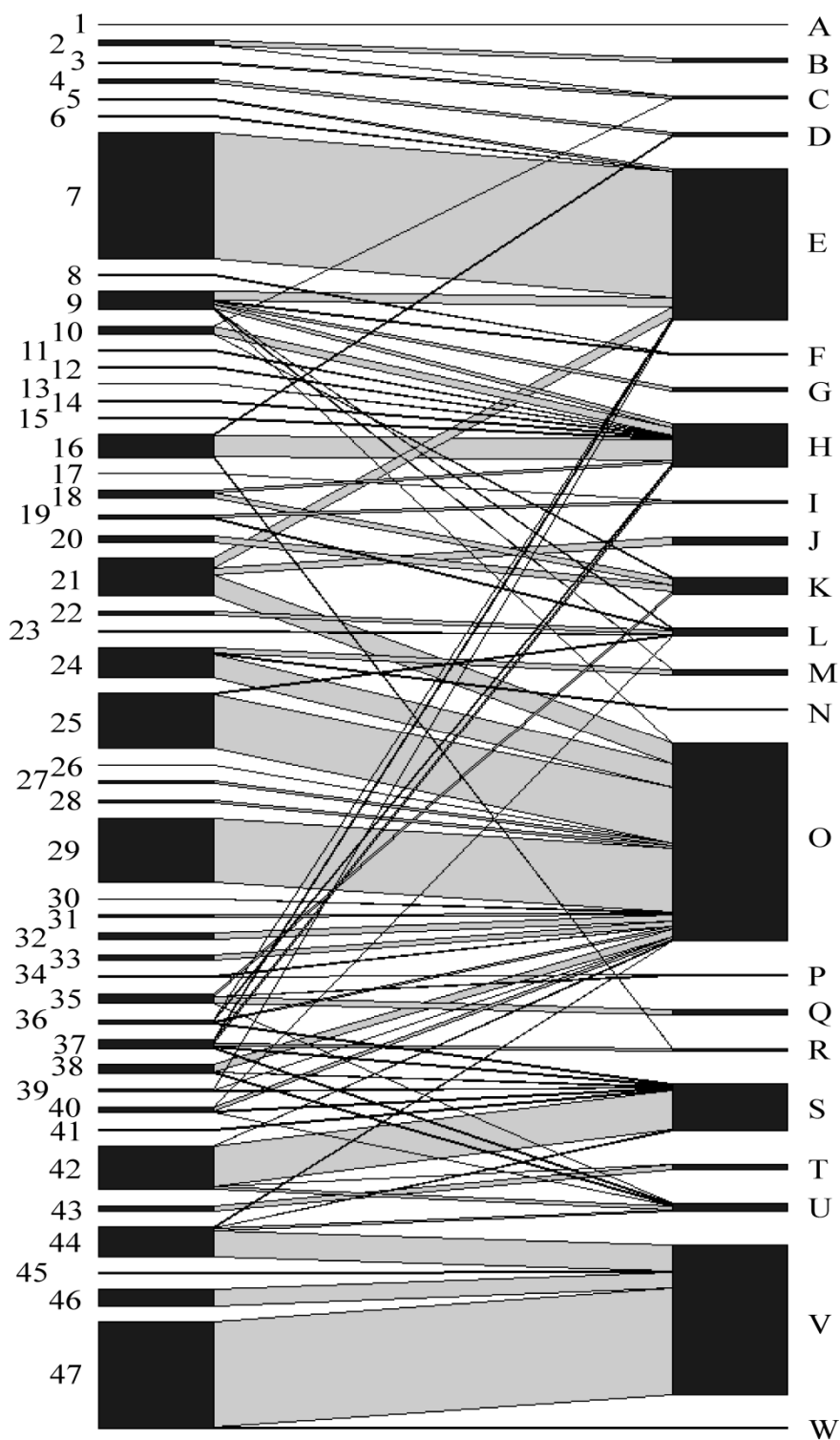


Figura 2. Rede de interação entre parasitoides e galhadores em Floresta Estacional Semidecidual município de Santa Tereza, RS. Na direita os morfotipos de galha, representando as espécies de galhadores. Na esquerda os morfotipos de parasitoides. As faixas cinza representam as interações e sua espessura à quantidade de interações observadas. A lista das espécies com os respectivos códigos está disponível na Tabela 3 do Material Suplementar.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

**Tabela 1.** Morfotipos de galhas nomeados por sua forma e suas hospedeiras e respectivas abundâncias nas diferentes áreas estudadas. Imagens e descrições das galhas disponíveis em Goetz *et al* (2018)

	FEC	FES	Total
<i>Allophilus edulis</i> -foliar	0	16	16
<i>Allophilus sedulis</i> -ramo	0	2	2
<i>Bauhinia forficata</i>	0	2	2
<i>Calea serrata</i> –nó	8	3	11
<i>Calea serrata</i> -ramo	2	0	2
<i>Calea serrata</i> -nervura	4	0	4
<i>Caleas errata</i> -folha enrugada	0	3	3
<i>Celtis iguanea</i> -foliar	326	0	326
<i>Celtis iguanea</i> -ramo	10	0	10
<i>Cordia ecalyculata</i>	224	0	224
<i>Cissus striata</i>	32	0	32
<i>Cordia americana</i>	0	218	218
<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	0	237	237
<i>Cestrum strigillatum</i>	0	1	1
<i>Dasyum spinescens</i>	2	0	2
<i>Dioscorea scabra</i> -acúleo	0	10	10
<i>Dolichandra unguis-cati</i>	26	12	38
<i>Eugenia uniflora</i> -achatada	14	1	15
<i>Eugenia uniflora</i> -cônica	0	53	53
<i>Guapira opposita</i> -ramo	2	0	2
<i>Guapira opposita</i> -rosa	360	0	360
<i>Guapira opposita</i> -achatada	522	0	522
<i>Guapira opposita</i> -esférica	292	0	292
<i>Inga marginata</i> -globóide	6	25	31
<i>Inga marginata</i> -nervura	92	12	104
<i>Justicia brasiliana</i>	0	2	2
<i>Inga marginata</i> -pilosa	316	0	316
<i>Inga marginata</i> -esférica	14	0	14
<i>Leandra regnellii</i> -foliar	1207	333	1540
<i>Leandra regnellii</i> -ramo	170	0	170
<i>Luehea divaricata</i> -conica	357	93	450
<i>Luehea divaricata</i> -achatada	0	382	382
<i>Luehea divaricata</i> -globóide	0	2	2
<i>Machaerium paraguariense</i>	0	7	7
Meliaceae	38	0	38
<i>Mikania glomerata</i> -conica	70	23	93
<i>Mikania glomerata</i> -peciolo	14	7	21
<i>Mikania glomerata</i> -ramo	110	0	110
<i>Mikania glomerata</i> -nervura	1	0	1
<i>Mikania micrantha</i>	0	11	11

<i>Mikania elegans</i>	62	0	62
<i>Mikania ternata</i>	28	0	28
<i>Mikania umbellatla</i>	43	0	43
<i>Myrcianthes pungens</i>	0	21	21
<i>Myrsine coriace</i>	0	2	2
<i>Mollinedia schottiana</i>	14	0	14
<i>Moquiniastrum polymorphum</i>	1	0	1
<i>Nectandra megapotamica</i> -ramo	148	652	800
<i>Nectandra megapotamica</i> -foliar	230	2575	2805
<i>Nectandra megapotamica</i> -enrolamento	4	73	77
<i>Nectandra megapotamica</i> -achatada	0	2	2
<i>Ocotea puberula</i>	1	50	51
<i>Piper aduncum</i> -Ramo/Nó	760	590	1350
<i>Piper aduncum</i> -Pecíolo/Nervura	579	135	714
<i>Piper aduncum</i> -Vulcão	16	152	168
<i>Piper aduncum</i> -Esférica	214	15	229
<i>Piper aduncum</i> -Fruto	0	36	36
<i>Piper mikanianum</i> -ramo	26	507	533
<i>Piper mikanianum</i> -foliar	2	39	41
<i>Piper mikanianum</i> -fruto	116	68	184
<i>Psycotria cartaginesis</i> -foliar	210	11	221
<i>Psycotria cartaginesis</i> -nervura	32	0	32
<i>Rudgea parquioides</i> -foliar	70	2	72
<i>Psidium cattleyanum</i>	0	4	4
<i>Trixis praestans</i>	0	4	4
<i>Sebastianiasp.</i>	180	0	180
<i>Seguieria aculeata</i>	14	0	14
<i>Smilaxsp.</i>	2	0	2
<i>Trema michranta</i>	54	0	54
Hospedeira não identificada 4	10	0	10
Hospedeira não identificada 38	2	0	2
Hospedeira não identificada 10	0	18	18
Hospedeira não identificada 11	0	2	2
Hospedeira não identificada 12	0	103	103
Hospedeira não identificada 13	0	6	6
Hospedeira não identificada 21	0	29	29
Hospedeira não identificada 29	0	3	3
Hospedeira não identificada 30	0	8	8
Hospedeira não identificada 33	0	8	8
Hospedeira não identificada 34	0	4	4
Hospedeira não identificada 43	0	91	91
Hospedeira não identificada 44	0	4	4
Hospedeira não identificada 45	0	1	1
Hospedeira não identificada 47	0	62	62
Hospedeira não identificada 48	0	173	173
Hospedeira não identificada 8	0	9	9

Tabela 2. Lista das espécies presentes na rede de interação na área de Floresta Estacional Semidecidual de Canela-RS, Brasil. Os morfotipos de galhas que representam as espécies de galhadores podem ser visualizados em Goetz *et al* (2018).

Espécie vegetal hospedeira e morfotipo da galha		Parasitoide	
A	<i>Dolichandra unguis-cati</i>	1	Pteromalidae sp.12
B	<i>Trema micrantha</i>	2	Torymidae sp.5
C	<i>Mikania glomerata</i> – Cônica	3	Pteromalidae sp.7
D	<i>Mikania umbelata</i>	4	Eulophidae sp.16
E	<i>Mollinedia elegans</i>	5	Braconidae sp.12
F	<i>Mikania ternata</i>	6	Braconidae sp.10
G	<i>Inga marginata</i> – Nervura	7	Braconidae sp.9
H	<i>Inga marginata</i> – Pilosa	8	Braconidae sp.2
I	<i>Inga marginata</i> – Globoide	9	Eurytomidae sp.2
J	<i>Inga marginata</i> – Esférica	10	Torymidae sp.1
K	<i>Piper mikanianun</i> – Foliar	11	Braconidae sp.1
L	<i>Mikania glomerata</i> – Ramo	12	Tanaogmastidae sp.
M	<i>Piper aduncum</i> – Pilosa	13	Phoridae sp.1
N	<i>Piper aduncum</i> – Ramo	14	Eulophidae sp.12
O	<i>Piper aduncum</i> – Nervura	15	Pteromalidae sp.2
P	<i>Leandra regnelli</i> – Ramo	16	Eulophidae sp.6
Q	<i>Piper mikanianum</i> – Ramo	17	Braconidae sp.7
R	<i>Leandra regnelli</i> – Foliar	18	Eulophidae sp.9
S	<i>Nectandra megapotamica</i> – Ramo	19	Torymidae sp.2
T	<i>Rudgea parquioides</i>	20	Torymidae sp.3
U	<i>Celtis iguanea</i> – Foliar	21	Platygastridae sp.3
V	<i>Mikan iaelegans</i>	22	Mymaridae sp.
W	<i>Nectandra megapotamica</i> – Esférica	23	Eulophidae sp.2
Y	<i>Guapira opposita</i> – Achatada	24	Eulophidae sp.1
X	<i>Cordia ecalliculata</i>	25	Eulophidae sp.3
Z	<i>Guapira opposita</i> – Rosa	26	Eulophidae sp.4
A'	<i>Guapira opposita</i> – Esférica	27	Encyrtidae sp.
B'	<i>Psycotria carthaginesis</i>	28	Scelionidae sp.
		29	Pteromalidae sp.1
		30	Platygastridae sp.1
		31	Aphelinidae sp.2
		32	Pteromalidae sp.3
		33	Eulophidae sp.10
		34	Braconidae sp.5
		35	Aphelinidae sp.1
		36	Braconidae sp.6
		37	Eulophidae sp.11
		38	Eurytomidae sp.1
		39	Eurytomidae sp.7
		40	Pteromalidae sp.6
		41	Eulophidae sp.7

42	Eulophidae sp.5
43	Pteromalidae sp.13
44	Pteromalidae sp.15
45	Braconidae sp.3
46	Pteromalidae sp.4
47	Eulophidae sp.8
48	Pteromalidae sp.8
49	Pteromalidae sp.14
50	Eulophidae sp.22
51	Pteromalidae sp.8
52	Eulophidae sp.18
53	Eulophidae sp.17
54	Torymidae sp.6
55	Pteromalidae sp.9
56	Eulophidae sp.13
57	Platygastridae sp.6
58	Platygastridae sp.2
59	Platygastridae sp.5
60	Eulophidae sp.15
61	Eulophidae sp.19
62	Eulophidae sp.20

Tabela 3. Lista das espécies presentes na rede de interação na área de Floresta Estacional Semidecidual de Santa Tereza-RS, Brasil. Os morfotipos de galhas que representam as espécies de galhadores podem ser visualizados em Goetz *et al* (2018).

Espécie vegetal hospedeira e morfotipo da galha		Parasitoide	
A	Hospedeira 19	1	Braconidae sp.3
B	Hospedeira 33	2	Platygastridae sp.4
C	Hospedeira 8	3	Eulophidae sp.14
D	<i>Mikania glomerata</i> – Ramo	4	Eulophidae sp.8
E	<i>Nectandra megapotamica</i> – Esférica	5	Eulophidae sp.15
F	<i>Leandra regnelli</i> – Foliar	6	Platygastridae sp.3
G	Hospedeira 28	7	Platygastridae sp.2
H	<i>Piper mikanianum</i> – Ramo	8	Platygastridae sp.1
I	<i>Luehea divericata</i> – Achatada	9	Pteromalidae sp.8
J	<i>Ocotea puberela</i>	10	Torymidae sp.4
K	<i>Piper aduncum</i> – Fruto	11	Braconidae sp.8
L	<i>Luehea divericata</i> – Cônica	12	Torymidae sp.3
M	<i>Piper aduncum</i> – Nervura	13	Phoridae sp.2
N	Hospedeira 14	14	Torymidae sp.8
O	<i>Nectandra megapotamica</i> - Ramo	15	Phoridae sp.1
P	Hospedeira 21	16	Torymidae sp.2
Q	<i>Psycotria carthaginesis</i>	17	Aphelinidae sp.3
R	<i>Piper mikanianun</i> – Foliar	18	Eurytomidae sp.4
S	<i>Piper aduncum</i> – Ramo	19	Eurytomidae sp.5
T	Hospedeira 15	20	Pteromalidae sp.10
U	<i>Piper aduncum</i> – Nervura	21	Eulophidae sp.13
W	<i>Inga marginata</i> – Globoide	22	Eulophidae sp.23



X	<i>Inga marginata</i> – Esférica	23	Braconidae sp.11
		24	Eulophidae sp.12
		25	Pteromalidade sp.5
		26	Eulophidae sp.9
		27	Braconidae sp.6
		28	Eurytomidae sp.6
		29	Eurytomidae sp.1
		30	Eulophidae sp.21
		31	Eulophidae sp.10
		32	Braconidae sp.5
		33	Braconidae sp.4
		34	Eupelmidae sp.2
		35	Eulophidae sp.2
		36	Eupelmidae sp.1
		37	Pteromalidae sp.3
		38	Eulophidae sp.11
		39	Eulophidae sp.4
		40	Eulophidae sp.3
		41	Eulophidae sp.5
		42	Eulophidae sp.1
		43	Pteromalidae sp.11
		44	Eurytomidae sp.3
		45	Torymidae sp.1
		46	Braconidae sp.1
		47	Tanaogmastidae sp.

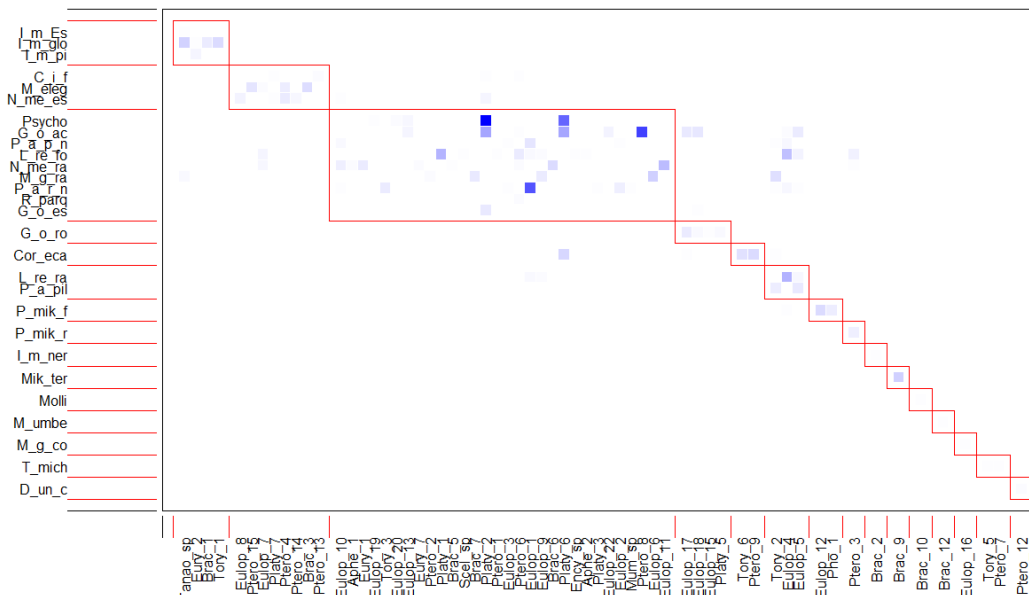


Figura S1. Módulos encontrados pelo programa R na função QuamBiMo, para a rede da Floresta Estacional Semidecidual do município de Canela.

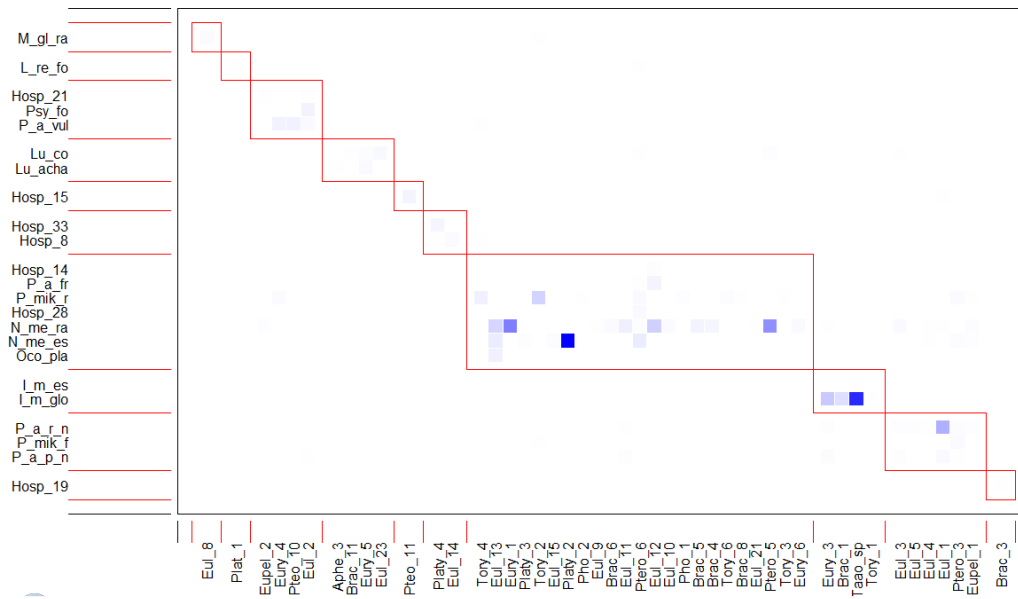


Figura S2. Módulos encontrados pelo programa R na função QuamBiMo, para a rede da Floresta Estacional Semidecidual do município de Santa Tereza.

## CAPÍTULO 3

### **What drives gallers and parasitoids interacting in the same host plant? A network approach to reveal morphological coupling as the main intervening factor.**

Fernando Albuquerque Luz\*; Ana Paula Moraes Goetz; Milton de Souza Mendonça  
Júnior

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Ecologia, Instituto de  
Biotecnologia, Porto Alegre, Brazil.

## RESUMO

Redes de interação podem ser estruturadas segundo fatores neutros, como a abundância dos componentes das comunidades, ou então segundo a ocorrência das espécies no espaço, no tempo ou ainda por aspectos intrínsecos das espécies interagentes. Galhadores são um grupo especializado de insetos herbívoros que induzem galhas, estruturas nas plantas que estão relacionadas também com a defesa contra os inimigos naturais. Sendo assim, as interações entre estes insetos e seus parasitoides tornam-se mais complexas, pois parasitoides além de precisarem encontrar a galha, precisam perfurá-la para alcançar o hospedeiro. Estudos que quantificam e analisam os processos que podem influenciar a ocorrência destas interações não são comuns. Assim, os objetivos deste trabalho foram analisar as características dessas redes tróficas, assim como encontrar processos ecológicos preditivos da estrutura dessas redes de interação. Para isso, foi utilizada apenas uma planta hospedeira, *Guapira opposita* (Nyctaginaceae) e seis espécies de insetos galhadores que atacam essa planta no local de estudo, o Morro Santana, localizado em Porto Alegre, RS, Brasil. Foram realizadas 14 amostragens no tempo, com galhas amostradas em 30 plantas por ocasião, resultando no total de 1762 galhas encontradas, das quais emergiram 741 parasitoides, divididos em 45 espécies. A rede de interações entre essas espécies apresentou dois módulos, sendo um destes contendo apenas uma espécie de hospedeiro e seus parasitoides. O nível de especialização da rede foi elevado, pois 39 espécies de parasitoides foram exclusivas de um único hospedeiro e a conectância da rede foi baixa. Dentre os processos avaliados, o acoplamento morfológico galha-parasitoide foi o modelo que mais explicou as interações encontradas. A espécie que compôs o módulo único, *Pisphondylia brasiliensis*, induz uma galha multicâmara e com maior espessura de tecido, se comparada com as galhas do sistema estudado. Além disso, ela teve a menor taxa de parasitismo e foi atacada por parasitoides com ovipositor mais longo, suportando ideias de acoplamento entre as espécies interagentes sugeridas na literatura. Galhas menos espessas foram também as que tiveram a maior taxa de parasitismo e mais interações, fato que suporta a espessura das galhas predizer estas interações, implicando alta importância da forma da galha nas interações com os inimigos naturais. Os resultados encontrados dão lastro a uma das hipóteses para a natureza adaptativa das galhas, em que a estrutura da galha serve como proteção contra inimigos naturais, e galhas mais complexas morfológicamente sofrem menos ataques, além de galhas mais próximas morfológicamente compartilharem mais inimigos naturais. Concluímos que a forma da galha é um fator chave na ecologia deste grupo de herbívoros e que as redes de interação são fundamentalmente importantes para o entendimento do conjunto dessas interações. Estudos em maior escala devem ser desenvolvidos para podermos chegar a conclusões ainda mais gerais sobre as interações entre galhadores e parasitoides.

Palavras Chave: *Bruggmannia*; enemy hypothesis; Eulophidae; morfologia da galha.

## INTRODUÇÃO

Uma das maneiras de estudar a estrutura das comunidades que vem ganhando força na literatura é através das redes de interações, que são representações das associações (links) entre as espécies (nós) (Thompson et al., 2012). Há diferentes formas de amostrar e representar redes ecológicas, uma delas é através das redes quantitativas, que são aquelas em que se mede explicitamente a força de cada interação, já para evidenciar padrões topológicos em situações em que dois conjuntos de organismos funcionalmente distintos estão envolvidos num tipo específico de interação, é comum usar as redes bipartidas (Blüthgen et al., 2008).

Apesar de prover uma importante maneira de gerar e testar diferentes hipóteses sobre a estrutura de comunidades naturais de insetos herbívoros (Morris et al., 2004), são incipientes os estudos sobre redes tróficas de insetos galhadores e parasitoides. Por exemplo, o primeiro estudo na região tropical que quantificou a assembleia de parasitoides associada a insetos galhadores foi publicado há menos de uma década (Paniagua et al., 2009). Estudos abordando a interação entre esses grupos de organismos seguem escassos ou inexistentes, limitados aos estudos com os Cynipidae e seus parasitoides no hemisfério norte (e.g. Stone et al., 2002).

O hábito de induzir galhas nas plantas evoluiu independentemente em diversos grupos animais, mais comumente nos insetos (Mani, 1964). As vantagens adaptativas desta forma de vida vêm sendo discutidas por mais de um século na literatura (review in Stone & Schönrogge, 2003). Estas vantagens estão resumidas em três hipóteses sobre o valor adaptativo das galhas: a hipótese nutritiva, onde as galhas provêm um alto valor nutricional para os galhadores; a hipótese do micro-habitat, em que as galhas oferecem uma proteção contra fatores ambientais externos, e por fim a hipótese dos inimigos naturais, em que a galha protege o indutor do ataque destes organismos (Price et al.,

1987). Assim, a galha pode ser uma proteção contra o ataque de inimigos não especializados (Hawkins, 1997). Porém, dentre os inimigos naturais dos insetos galhadores, o principal grupo são os parasitoides (Mani, 1964), um grupo relativamente específico de parasitas que obrigatoriamente reduzem o fitness do hospedeiro individual a zero (Laffery & Kuris, 2002).

Além dos galhadores, os parasitoides atacam outros tipos de insetos, em especial herbívoros, sendo que estes dois grupos de animais juntos compreendem um terço de todas as espécies animais. Apesar disso, os fatores que estruturam essas comunidades ainda são pouco compreendidos, frequentemente sem considerar os efeitos dos atributos (morfologia, histórias de vida e aspectos evolutivos) nem do hospedeiro, nem do parasitoide (Bailey et al., 2009).

Trabalhos sobre como parasitoides atacam galhadores, inserem seus ovipositores e encontram os galhadores nas galhas, ou sobre a fauna de parasitoides associada a certos grupos de indutores, assim como relações filogenéticas entre galhadores e parasitoides podem ser encontrados na literatura (e.g. Abrahamson et al., 1989; Cronin et al., 2001; Brown & Rossi, 2013; Cerkvenika, 2017). Entretanto, estudos ecológicos que tentam entender como estes processos afetam as interações que se estabelecem na comunidade são mais raros.

Dentre as características dos hospedeiros que estariam dificultando e facilitando estas interações ocorrerem, a mais estudada é a forma da galha, como tamanho, espessura, número de câmaras, sendo essas inversamente proporcionais ao sucesso de ataque dos parasitoides (Stone & Schönrogge, 2003; László & Tóthmérész, 2013). Outros fatores como o tempo e o espaço também já foram relatados como importantes para determinar estas interações (Schönrogge et al., 2005). Estes processos discutidos irão gerar padrões nas redes de interação entre as espécies em questão.

Aqui utilizamos uma única planta hospedeira com diversos galhadores, pois sendo a hospedeira provável guia para a orientação dos parasitoides (Godfray, 1994), ela também funciona como fator de isolamento espacial para os mesmos. Sendo assim, excluimos o fator planta hospedeira como um processo que determina as interações entre essas espécies.

Assim, os objetivos deste trabalho foram: (1) analisar características das interações (taxa de parasitismo, vulnerabilidade, conectância, especialização) entre os galhadores de *G. opposita* e seus parasitoides através de uma rede trófica; (2) verificar a existência de padrões topológicos de organização da comunidade (aninhamento, compartimento ou combinado); (3) investigar qual processo ecológico (abundância dos organismos, forma da galha, tempo) poderia estar predizendo as interações encontradas. Neste sentido, nossas hipóteses são (1) que os galhadores irão interagir com um grande número de inimigos naturais, tendo uma alta taxa de parasitismo, como já foi previamente observado por Maia and Monteiro (1999) e uma grande especialização nas interações como é encontrado em relações hospedeiro/parasita (Poulin, 1997). (2) o padrão de organização encontrado será o modular, o padrão mais comum para redes antagonistas (Lewinsohn et al., 2006); (3) dentre os processos avaliados como determinantes da estrutura da rede, o acoplamento morfológico galha-parasitoide deverá ser o principal preditor das interações, sugerimos esta hipótese a partir de trabalhos similares que analisaram interações individualmente mas sem considerar as redes tróficas entre os organismos (e.g. Stone & Schönrogge, 2003; László & Tóthmérész, 2013) apontam a morfologia da galha como característica importante nas interações, incluindo aquelas com os parasitoides.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Sistema de Estudo*

São conhecidas na natureza plantas que suportam uma grande diversidade de herbívoros, chamadas de super-hospedeiras (Veldtman & McGeoch, 2003). Um exemplo disso seria *Guapira opposita* (Nyctaginaceae), uma planta comumente encontrada em todo território brasileiro e relatada como super-hospedeira de insetos indutores de galha (Mendonça, 2007).

Até o momento foram registradas nove espécies/morfotipos de galhadores nessa planta, variando entre os locais amostrados. Dentre as nove espécies, todas pertencem à família Cecidomyiidae (Diptera), das quais cinco correspondem ao gênero *Bruggmannia* (*B. elongata*; *B. robusta*; *B. acaudata*; *B. monteiroi*; e outra espécie já registrada, mas ainda não descrita), duas espécies de *Proasphondylia* (*P. guapirae* e *P. formosa*), uma espécie de *Pisphondylia* (*P. brasiliensis*) e outro cecidomiídeo ainda não identificado (Maia & Fernandes, 2004; Maia et al., 2008; Gagné, 2010).

### *Amostragem*

As coletas foram realizadas na face sul do Morro Santana, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil (30°03'53.3"S 51°07'41.5"W), uma área de floresta subtropical ombrófila, durante o período de outubro de 2014 a janeiro de 2016, totalizando 14 ocasiões amostrais. Em cada coleta foi feita uma transecção ao longo de um trecho diferente em uma trilha longa, e exemplares de *Guapira opposita* de até 5m de altura eram procurados até alcançar um número de 30 plantas. Todas as galhas presentes nessas plantas eram retiradas e levadas para laboratório onde eram quantificadas e acondicionadas em sacos plásticos para a emergência dos galhadores/parasitoides.

Os parasitoides foram armazenados em tubos contendo álcool 70%, identificados ao menor nível taxonômico possível, e todos os espécimes tiveram o comprimento de seu ovipositor medido em estereomicroscópio com lente milimetrada.



Para espécies de parasitoides que tiveram vários indivíduos medidos foi calculada uma média do tamanho do ovipositor para aquela espécie. Foi medida a espessura da parede das galhas até a câmara larval (n=5 para cada tipo de galha), que corresponde à distância em que o ovipositor do parasitoide precisaria perfurar para alcançar a câmara larval.

#### *Análise de Dados*

Para o cálculo das métricas de redes tróficas (conectância; especialização e links por espécies) foi utilizado o pacote *Bipartite* (Dormann et al 2008) para o R (versão 3.0.2 R Development Core Team, 2008). Para quantificar a modularidade das redes usamos a função *QuaBimo* que detecta módulos em redes quantitativas baseado em SA e MCMC. Para análise de aninhamento foi utilizado o índice (NODF) implementado no programa ANINHADO (Guimarães & Guimarães, 2006).

Para quantificar a importância que cada processo tem para prever as interações encontradas, construímos as seguintes matrizes de dados: Observada (O), com galhadores nas colunas e parasitoides nas linhas, e nos cruzamentos o número (abundância) de interações entre cada par de espécies; Abundância (A), ao invés de conter o número das interações nas lacunas da matriz, foi multiplicado o número de galhas total de cada espécie, pelo número de parasitoides total de cada espécie, representando a probabilidade de interação entre as duas espécies; Acoplamento Morfológico (M), onde foram usadas as medidas de espessura das galhas e do tamanho de ovipositor; se o parasitoide possui um ovipositor de tamanho capaz de perfurar o tecido daquela galha e alcançar até a câmara, a célula foi indicada como 1 na matriz, caso contrário, 0, mostrando quais interações eram permitidas por acoplamento morfológico; Tempo (T), nas lacunas entre galhadores/parasitoides foi colocado o número de meses em que ambas espécies estavam presentes na amostragem,

independente se estavam interagindo entre si naquele espaço temporal, representando a probabilidade de se encontrarem no tempo.

Também foram feitas matrizes que levaram em consideração mais de um processo, tendo sido multiplicadas (AM; AT; MT e AMT, via transformação de Hadamard) e normalizadas. Por fim, foi construída uma matriz nula, onde as espécies tinham as mesmas probabilidades de interagir. Para avaliar se a abundância (A), o acoplamento morfológico (M), e/ou o tempo (T) podem prever a matriz de interações observada, foi utilizado um método probabilístico. Se as matrizes criadas para essas características (A, M, T, AM, AT, MT, AMT, nula) podem prever as interações observadas, essas teriam um número maior de interações do que a matriz observada (O). Para isso usamos o método de Akaike (AIC) para avaliar a capacidade de predição de cada modelo, e o  $\Delta AIC$  para compará-los. O  $\Delta AIC$  é obtido diminuindo o AIC do modelo que mais se adequou pelo AIC dos demais modelos. Todas essas análises também foram realizadas em ambiente R. A construção das matrizes e as análises de dados para os processos que podem prever a rede foram baseadas em Vázquez et al. (2009) e Vizentin-Bugoni et al. (2014).

## RESULTADOS

Foram encontradas seis espécies de galhadores em *G. opposita* na área de estudo; *B. elongata*, *B. robusta*, *B. acaudata*, *Bruggmannia* sp. 1, *Bruggmannia* sp.2 e *P. brasiliensis* (Tabela 1). Durante o período de amostragem foram coletadas 1762 galhas, das quais emergiram 741 parasitoides, numa taxa de parasitismo média (abundância de hospedeiros/abundância de parasitoides) igual a 42%.

A taxa de parasitismo (abundância de hospedeiros/abundância de parasitoides) não teve relação direta com a abundância de cada espécie de hospedeiro: o maior

parasitismo foi em *B. elongata* (65%), e a menor taxa em *P. brasiliensis* (8%). Quanto ao número de espécies de parasitoides associados a cada hospedeiro, novamente *B. elongata* teve o maior número (16 esp.) e *B. acaudata* (6 esp) o menor.

Tabela 1: Espécies galhadoras sobre *Guapira opposita* (Nyctaginaceae) no Morro Santana, Porto Alegre, Brasil, com descrição das galhas, medidas de espessura da parede, abundância de galhas e de parasitoides emergindo destas, riqueza de morfoespécies de parasitoides e taxa de parasitismo.

Espécie indutora	Órgão galhado	Forma da galha	Cor da galha	Espe <span>ssura</span>	Abundância de galhas	Abundância	Riqueza de parasitoides	Taxa de parasitismo
				da parede da galha (mm)		de parasitoides		
<i>B. elongata</i>	Folha	Intralaminar	Verde	0,4 – 1,1	372	243	16	65%
<i>B. robusta</i>	Folha	Globoide	Rosa	0,5 – 1	254	137	9	53%
<i>B. acaudata</i>	Folha	Extralaminar	Verde	1,2 – 1,8	128	37	6	29%
<i>B. sp.1</i>	Ramo	Fusiforme	Marrom	2,3 – 3,4	127	27	8	21%
<i>B. sp.2</i>	Folha	Globoide	Verde	1,2 – 1,8	756	286	12	37%
<i>Pisphondyilia brasiliensis</i>	Ramo	Roseta	Verde	2,7 – 6,2	125	11	7	8%

Os hospedeiros galhadores ocorreram em todo ano com exceção do final de outono e início do inverno (maio, junho e julho). As espécies foram sincrônicas na maioria dos outros meses, ocorrendo em todas as demais coletas, com exceção de *B. elongata* que não ocorreu em janeiro e fevereiro e *B. robusta* que só ocorreu na primavera. A maior taxa de parasitismo foi encontrada no final do inverno e começo da primavera.

Os 741 parasitoides foram representados por 45 espécies, divididos em nove famílias. A mais representativa foi Eulophidae (15 esp.), seguida por Platygasteridae (7 esp.); Pteromalidae (6 esp.); Eurytomidae (6 esp.); Torymidae (3 esp.); Braconidae (3 esp.); Aphelinidae (2 esp.); Mymaridae (2 esp.) e Phoridae (Diptera, 1 sp.).

A espécie de parasitoide mais abundante foi Platygasteridae sp.7 (256 indivíduos) atacando dois hospedeiros, *B. robusta* (93) e *Bruggmania* sp.2 (163). Esta foi seguida pela espécie Eulophidae sp.16 (73 indivíduos), sendo que 70 destes indivíduos de vespas atacaram *B.elongata*, uma atacou *B. robusta* e duas outras, *Bruggmannia* sp.1.

A rede de interação entre os hospedeiros e parasitoides (Figura 1), apresentou dois módulos ( $Q = 0,20$ ;  $p=0,001$  para a modularidade), um módulo contendo as cinco espécies de *Bruggmannia* e outro apenas *P. brasiliensis*, sendo que esta não compartilhou nenhuma interação com as demais espécies. A rede também não apresentou aninhamento significativo dentro dos módulos ( $NODF = 1,8$ ;  $p=0,76$ ).

Cada espécie de hospedeiro teve em média 11,6 inimigos naturais (vulnerabilidade). A conectância encontrada na rede de interação foi de 21%. Das 45 espécies de parasitoides registradas, somente duas atacaram os cinco galhadores do gênero *Bruggmannia*. Uma atacou apenas três das seis espécies de galhadores e outras três espécies de parasitoides atacaram apenas duas de galhadores. As demais 39 espécies de parasitoides interagiram apenas com uma espécie de hospedeiro, o que reflete no alto índice de especialização da rede, ( $H^{2'} = 0,55$ ) e na baixa quantidade de links por espécie de parasitoide (links/parasitoides = 1,1). Além disso, a rede apresentou um baixo número de links total (60), novamente relatando um baixo número de interações entre as espécies presentes. Uma explicação para estes resultados da rede é que das 45 espécies de parasitoides, 19 foram singletons e 9 doubletons, essas últimas todas interagindo com apenas um hospedeiro.

Quando avaliados os processos que podem estar determinando essas interações, o acoplamento morfológico (combinação entre espessura da galha e comprimento do ovipositor do parasitoide) foi o modelo que melhor explicou essas interações, seguido

pelo modelo mais complexo, que juntou acoplamento morfológico, abundância e tempo (Figura 2). O modelo que pior explica estas interações teve como único fator o tempo.

## DISCUSSÃO

Utilizando uma única planta hospedeira e assim simplificando este importante fator do substrato vegetal nas interações galhador-parasitoide, encontramos interações especializadas, formando uma rede modular altamente influenciada pela morfologia da galha, sendo este o primeiro estudo do tipo utilizando apenas uma única espécie de planta hospedeira de galhadores.

Maia and Monteiro (1999) analisaram os parasitoides de *B. elongata* e *B. robusta*, duas das espécies analisadas aqui, porém no Rio de Janeiro, sendo elas então atacadas por 26 e 11 espécies de parasitoides, e no presente trabalho por 16 e 9 espécies, respectivamente. Os autores também registraram Eulophidae como a família mais rica em número de espécies atacando *B. elongata* e *B. robusta*. Eulophidae já foi apontada como a família de parasitoides com a maior representatividade associada à Cecidomyiidae galhadores na região Neotropical (Maia & Azevedo, 2009) e neste trabalho estes himenópteros representaram 33% das espécies.

Corroborando nossa primeira hipótese, apenas 21 % das interações possíveis entre galhadores e parasitoides foram observadas. Em geral, redes que apresentam baixos valores de conectância podem implicar na existência de importantes processos de bloqueio das interações, refletindo também em redes mais especializadas. Em nosso caso, apenas seis das 45 espécies de parasitoides atacaram mais de um hospedeiro, tornando essa rede mais especializada do que esperada ao acaso. Outros autores já estudaram parasitoides de galhadores, taxas de parasitismo e compartilhamento de

hospedeiros (e.g. Askew, 1980; Maia & Monteiro, 1999; László & Tóthmérész, 2013), mas nenhum abordou este aspecto com as métricas de redes tróficas.

Redes especializadas são reflexos de processos ecológicos e evolutivos e normalmente estão associadas com padrões modulares (Lewinson et al., 2006). A rede de galhadores de *G. opposita* e seus parasitoides apresentou dois módulos bem distintos, um para as espécies do gênero *Bruggmannia* e outro para *P. brasiliensis*, esta não compartilhando nenhum parasitoide com as demais espécies, vindo de encontro à segunda hipótese postulada, em que essas interações apresentariam um padrão modular.

Dentre os processos que podem estar determinando essas interações, e assim influenciando a especialização dos parasitoides e a modularidade da rede, o tempo (T) foi o que teve o maior  $\Delta AIC$ . Isso se deve, provavelmente, à alta sincronia das galhas em grande parte das coletas neste sistema, o que não é um padrão encontrado em outras plantas com mais de um galhador (Oliveira et al., 2013, Toma & Mendonça, 2014). A única espécie que mostrou um padrão temporal mais claro foi o parasitoide *Chrysomotomyia* sp., atacando *B. elongata* em todas as amostragens, sendo que no mês em que a galha induzida por essa espécie não esteve presente, ele foi encontrado atacando as outras quatro espécies de galhador do mesmo gênero. Apesar do modelo temporal não ter sido explicativo, tivemos uma sazonalidade aparente na taxa de parasitismo, que foi maior durante os meses de primavera. Apesar de sabermos pouco sobre o ciclo de vida destes galhadores, é possível especular que parasitoides, quando tem acesso ao néctar, recurso alimentar mais disponível no período primaveril nos subtropicais brasileiros, aumentariam sua taxa de fecundidade e oviposição (e.g. Dyer and Landis, 1996; Berndt et al., 2002).

Diferentemente do esperado em outras situações, como em redes aninhadas (Vázquez et al., 2009), a abundância não se mostrou um bom modelo para explicar as

relações galhadores-parasitoides. Os galhadores mais comuns foram atacados pelos parasitoides mais comuns, mas os parasitoides mais raros foram específicos. Este processo ecológico neutro costuma ser um dos principais fatores a explicar a estrutura de muitas redes mutualísticas, o que não é o caso deste estudo.

Corroborando a terceira hipótese deste estudo, o modelo que mais explicou as interações desta rede foi o do acoplamento morfológico, entre a espessura da parede da galha e o comprimento do ovipositor do parasitoide. O acoplamento morfológico foi muito visível nas interações: por exemplo, as duas espécies de Aphelinidae, os menores parasitoides registrados no estudo e também aqueles com menores ovipositores, ocorreram exclusivamente em galhas de *B. elongata*, a galha com a menor espessura entre os hospedeiros. Entretanto, os parasitoides com maiores ovipositores, himenópteros das famílias Torymidae e Braconidae, interagiram com galhas maiores e com paredes mais espessas como as galhas induzidas por *Bruggmannia* sp.2 e *P. brasiliensis*. Outros parasitoides com ovipositores curtos atacaram apenas galhas de *B. elongata* e de *B. robusta*, as galhas com menores espessuras. Parasitoides que variam o tamanho do seu ovipositor, como *Galeopsomyia* sp, atacaram uma gama maior de hospedeiros (Capítulo 4 desta Tese).

Stone and Schönrogge (2003) acreditam que a morfologia da galha é um dos principais fatores que influenciam as interações dos organismos galhadores, além disso, as galhas representam um fenótipo estendido dos indutores e galhadores próximos filogeneticamente tendem a compartilhar morfologias de galha similares. Essa correlação filogenética pode explicar também os dois módulos da rede encontrada, que correspondem aos dois gêneros dos galhadores.

*Pisphondylia brasiliensis* teve a menor taxa de parasitismo e o menor número de interações com parasitoides. A galha desta espécie é a mais complexa, tendo a maior

espessura, além de ser multicameral e ter maior tamanho, se comparada com as demais. László and Tóthmérész (2013) colocam que galhas grandes e multicâmaras são atributos negativamente correlacionados com a taxa de parasitismo. Jones (1983) também percebeu que galhas maiores e com mais de uma larva por galha tinham baixa frequência de ataque de parasitoides. Nesse sentido, ainda podemos citar trabalhos como Weis et al. (1985) e Weis and Abrahamson (1985) onde o diâmetro da galha foi positivamente correlacionado com a falha do parasitoide *Eurytoma gigantea* em atacar as larvas de *Eurosta solidaginis*. Já *Bruggmannia elongata*, indutora da galha com menor espessura, foi a que sofreu maior taxa de parasitismo e teve maior número de espécies de parasitoides associados. Estes resultados dão suporte à relação ovipositor do parasitoide - espessura da galha ter originado o melhor modelo preditivo para esta rede de interações.

Estes resultados vão ao encontro da hipótese do inimigo natural, na qual estes últimos são postulados como um dos principais fatores adaptativos do hábito galhador, que prediz que galhas com morfologia similar compartilhariam inimigos naturais e que quanto mais complexas forem estas galhas, maior sua defesa contra estes inimigos (Price et al., 1987). As galhas que tiveram espessuras de tamanho mais próximos e que ocorreram nas folhas foram as que compartilharam inimigos naturais, exceto para duas espécies de parasitoides, *Galeopsomyia* sp. e *Chrysomotomyia* sp., que atacaram todas as cinco espécies de *Bruggmannia*. Bailey (2009) e László and Tóthmérész (2013), suportam essa hipótese, onde encontraram resultados que mostraram que os aspectos da morfologia da galha (tamanho, pilosidade e espessura) estão altamente relacionados com os ataques dos parasitoides.

Concluimos que a morfologia da galha é o principal fator que leva a criação de módulos nas redes de interação entre organismos galhadores e parasitoides numa



mesma planta hospedeira e que essas interações possuem um alto grau de especialização. A baixa conectância se deve a importância deste acoplamento morfológico para que as interações ocorram. Além disso, suportamos as hipóteses presentes na literatura que dizem que galhas mais complexas possuem menores taxas de parasitismo, assim como galhas morfológicamente mais próximas tendem a compartilhar inimigos naturais.

## REFERÊNCIAS

- Abrahamson, W. G., Sattler, J. F., Mccrea, K. D., & Weis, A. E. (1989). Variation in selection pressures on the goldenrod gall fly and the competitive interactions of its natural enemies. *Oecologia*, 79, 15-22
- Bailey, R., Schönrogge, K., Cook, J. M., Melika, G., Csóka, G., Thuróczy, C., & Stone, G. N. (2009). Host niches and defensive extended phenotypes structure parasitoid wasp communities. *PLoS Biology*, 7:e1000179
- Berndt, L. A., Wratten, S. D., & Hassan, P. G. (2002). Effects of buckwheat flowers on leafroller parasitoids in a New Zealand vineyard. *Agricultural and Forest Entomology*, 4, 39-45
- Blüthgen, N., Fründ, J., Vásquez, D.P., & Menzel, F. (2008) .What do interaction networks metrics tell us about specialization and biological traits? *Ecology*, 89, 3387–3399
- Brown, P., & Rossi, A. M. (2013). Geographic and Host-Associated Size Variation in the Parasitoid Wasp *Torymus umbilicatus* (Hymenoptera: Torymidae) in Florida: Implications for Host Survival and Community Structure. *Florida Entomologist*, 96, 832- 838
- Cerkvenika, U., van de Straata, B., Gusseklooa, S. W. S., & van Leeuwena, J. L. (2017). Mechanisms of ovipositor insertion and steering of a parasitic wasp. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, <https://doi.org/10.1073/pnas.1706162114>
- Cronin, J. T., Hyland, K., & Abrahamson, W. G. (2001). The pattern, rate, and range of within patch movement of a stem-galling fly. *Ecological Entomology*, 26, 16-24
- Dormann, C.F., Gruber, B., & Fründ, J. (2008) Introducing the bipartite package: analysing ecological networks. *R News*, 8, 8–11
- Dyer, L. E., & Landis, D. A. (1996). Effects of habitat, temperature, and sugar availability on longevity of *Eriborusterebrans* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Environmental Entomology*, 25, 1192-1201
- Gagné, R.J. (2010). Update for a catalog of the Cecidomyiidae of the world. Digital version 1.

([http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/12754100/Gagne\\_2010\\_World\\_Catalog\\_Cecidomyiidae.pdf](http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/12754100/Gagne_2010_World_Catalog_Cecidomyiidae.pdf); accessed 21/07/2018)

GODFRAY, H. C. J. (1994), Parasitoids behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press, Princeton, 473p

Guimarães, P.R., & P.R. Guimarães Jr. (2006). Improving the analyses of nestedness for large sets of matrices. *EnvironmentsModelling Software*, 21, 1512-1513

Hawkins, B.A. et al. (1997) Predators, parasitoids, and pathogens as mortality agents in phytophagous insect populations. *Ecology*, 78, 2145–2152

Jones, D. (1983). The influence of host density and gall shape on the survivorship of *Diastropus kincaidii* Gill (Hymenoptera: Cynipidae). *Canadian Journal of Zoology*, 61, 2138-2142

Lafferty, K.D., & Kuris, A. M. (2002). Trophic strategies, animal diversity and body size. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 507–513. [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02615-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02615-0)

László, Z., & Tóthmérész, B. (2013). The enemy hypothesis: Correlates of gall morphology with parasitoid attack rates in two closely related rose cynipid galls. *Bulletin of Entomological Research*, 103, 326-335. DOI: 10.1017/S0007485312000764

Lewinsohn, T. M., Loyola, R. D., & Prado, P. I. (2006) Matrizes, redes e ordenações: a detecção de estrutura em comunidades interativas. *Oecologia Brasiliensis*, 10, 90–104

Maia, V. C., & Fernandes, G. W. (2004). Insectgallsfrom Serra de São José (Tiradentes, MG, Brazil). *Revista Brasileira de Biologia*, 64, 423-445

Maia, V. C., Magenta, M. A. G., & Martins, S. E. (2008). Ocorrência e caracterização de galhas de insetos em áreas de restinga de Bertioga (São Paulo, Brasil). *Biota Neotropica*, 8, 167-197

Maia, V. C., & Monteiro, R. F. (1999). Espécies cecidógenas (Diptera, Cecidomyiidae) e parasitóides (Hymenoptera) associados a *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. (Nyctaginaceae) na restinga da Barra de Maricá, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16, 483-487

Maia, V. C. & Azevedo, M. A. P. (2009). Diversidade de micro-himenópteros associados com galhas de Cecidomyiidae (Diptera) em restingas do estado do Rio de Janeiro (Brasil). *Biota Neotropica*, 9,151-164

Mani, M. S. (1964) Ecology of plant galls. Dr. W. Junk .The Hague, Netherlands .434 pp

Mendonça, M. de S. Jr. (2007). Plant diversity and galling arthropod diversity searching for taxonomic patterns in an animal-plant interaction in the Neotropics. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botanica*, 42, 347-357

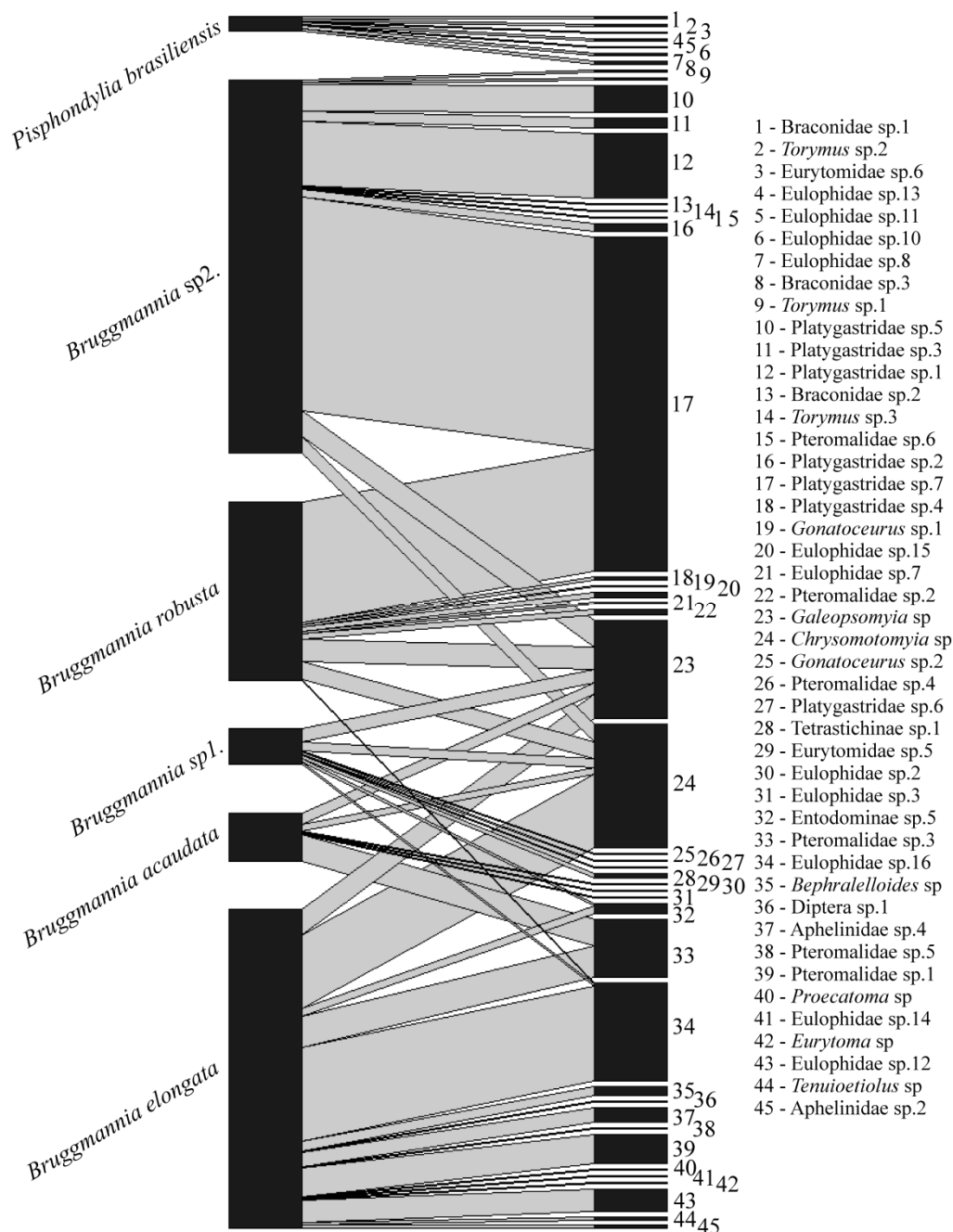
Morris, R. J., Lewis, O. T., & Godfray, H. C. J. (2004). Experimental evidence for apparent competition in a tropical forest food web. *Nature*, 428, 310–313

Oliveira, D. C., Mendonça, M. S. J., Moreira, A. S. F. P., Lemos-Filho, J. P., & Isaias, R. M. S. (2013). Water stress and phenological synchronism between *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae) and multiple galling insects: formation of seasonal patterns. *Journal of plant interactions*, 8, 225-233

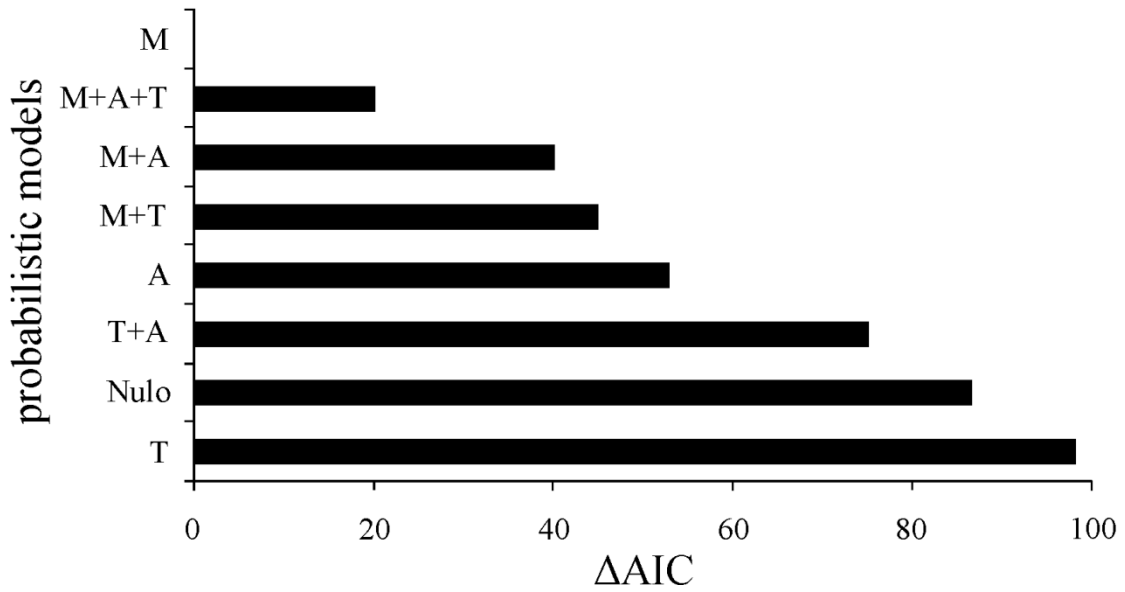
- Paniagua, M. R., Medianeiro, E., & Lewis, O. (2009). Structure and vertical stratification of plant galler – parasitoid food webs in two tropical forests. *Ecological Entomology*, 34, 310–320
- Poulin, R. (1997). Species richness of parasite assemblages: evolution and patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28, 341–358
- Price, P. W., Fernandes, G. W., & Waring, G. L. (1987). Adaptive nature of insect galls. *Environmental Entomology*, 16, 15-24
- R Development Core Team. (2012) R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. See <http://www.R-project.org>.
- Schönrogge, K., Stone, G. N., & Crawley, M. J. (2005). Spatial and Temporal Variation in Guild Structure: Parasitoids and Inquilines of *Andricus quercuscalicis* (Hymenoptera: Cynipidae) in Its Native and Alien Ranges. *Oikos*, 72, 51-60
- 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
- Stone, G. N., & Schönrogge, K. (2003). The adaptive significance of insect gall morphology. *Tree*, 18, 512-522
- Thompson, R. M., Brose, U., Dunne, J. A., Hall Jr, R. O., Hladysz, S., Kitching, R. L... Tylianakis, J. M. (2012). Food webs: reconciling the structure and function of biodiversity. *Trends in Ecology and Evolution*, 27, 689-697
- Toma, T. P., & Mendonça, M. d. S. Jr. (2014). Population ecology of Gall-forming Arthropods in the Neotropics. *In: Fernandes, G.W., Santos, J.C. (eds.) Neotropical Insect Galls*. Springer, Dordrecht.
- Vázquez, D. P., Blüthgen, N., Cagnolo, L., Chacoff, N. P. (2009). Uniting pattern and process in plant–animal mutualistic networks: a review. *Annals of Botany*, 103, 1445–1457. doi:10.1093/aob/mcp057
- Veldtman, R. & MacGeoch, M. A. (2003). Gall-forming insect species richness along a non-scleromorphic vegetation rainfall gradient in South Africa: The importance of plant community composition. *Austral Ecology*, 28, 1-13
- Vizentin-Bugoni, J. Maruyama, P. K., & Sazima, M. (2014). Processes entangling interactions in communities: forbidden links are more important than abundance in a hummingbird-plant network. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 281, 23972407
- Weis, A. E., Abrahamson, W. G., & McCrea, K. D. (1985). Host gall size and oviposition success by the parasitoid *Eurytoma gigantea*. *Ecological Entomology*, 10, 341-348
- Weis, A. E. & Abrahamson, W. G. (1985). Potential selective pressures by parasitoids on a plant-herbivore interaction. *Ecology*, 66, 1261-1269

## FIGURAS

**Figura 1:** Rede de interação bipartida entre galhadores (à esquerda) de *Guapira opposita* e seus parasitoides (à direita) no Morro Santana, Porto Alegre, Brasil. As barras cinza representam as interações e as colunas pretas as espécies. A espessura de barras e colunas indica a frequência (número de vezes que ela foi registrada) destas.



**Figura 2:** Valores de  $\Delta AIC$  do modelo probabilístico gerado pelas matrizes de interação para explicar a estrutura da rede galhador-parasitoide em *Guapira opposita*. (M) acoplamento morfológico (a combinação entre espessura da galha e comprimento do ovipositor do parasitoide). (T) tempo (sincronia galhador-parasitoide); (A) abundância, e matriz nula (Nulo).



## CAPÍTULO 4

Ecology, Behavior and Bionomics

### **Phenotypic coupling in ovipositor size in the parasitoid *Galeopsomyia* sp. (Hymenoptera – Eulophidae) attacking different gall inducers.**

FA Luz, APM Goetz, MMdeS Júnior.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências, Porto Alegre, Brazil.

Fernando Albuquerque Luz, Instituto de Biociências, Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, RS, 91501-970, Brasil. fernandoaluz@gmail.com. +55 (53)981158194.

Running title: Ovipositor variation in parasitoid whit diffetent gall hosts.

Orcid numbers

FAL: 0000-0002-1176-698X

APMG: 0000-0002-9531-6504

MMdeSJ: 0000-0001-5272-5124

---

Este Capítulo será submetido a revista Neotropical Entomology

## ABSTRACT

Parasitoid ovipositor size importantly affects host choice; those attacking exposed hosts usually have shorter ovipositors compared to those in need of drilling deeper through substrates such as plant tissue and gall tissue. Most studies treat this theme at the interspecific level, and the aim of this work was to test for intraspecific variation and phenotypic coupling in ovipositor size for *Galeopsomyia* sp. (Eulophidae) attacking galls. Galls were sampled from *Guapira opposita*, a plant host to five species of gallers in southern Brazil: *Bruggmannia elongata*; *B. robusta*; *B. acaudata* and two undescribed species of *Bruggmannia* (here, sp.1 and sp.2). On each transect, all galls from the 30 first plants between 50 cm and 3 m tall were sampled and kept in sealed plastic bags until parasitoid emergence. A total of 15 samples were done, over two years. We measured galler last instar larvae length (n=5), gall thickness (n=5 for each gall type), and ovipositor length for all *Galeopsomyia* sp. individuals. There were no differences in larval length among galler species. However, *Bruggmannia* sp.1 and sp.2 galls were significantly thicker than those of *B. acaudata*, and the latter thicker than both *B. elongata* and *B. robusta* galls. Wasp ovipositor size differed significantly between those coming from *Bruggmannia* sp.1 and sp.2 galls relative to all others. Host size is thus fundamental to determine parasitoid size, but in this case host (larval) size does not change, and instead gall protection differs. Thicker galls were attacked by larger parasitoids with longer ovipositors, as is found at the interspecific level, denoting phenotypic coupling. Thicker galls appear to be selecting larger parasitoid individuals, which in the long run can lead to important evolutionary change as well.

Keywords: endophytic; oviposition; ovipositor size; host selection

## RESUMO

O tamanho do ovipositor dos parasitoides influencia sua escolha do hospedeiro. Parasitoides que atacam hospedeiros expostos tendem a ter ovipositores menores em relação aos que precisam perfurar algum tipo de substratos ou tecidos como o das galhas. Como a maioria dos estudos trata esse assunto em nível interespecífico, o objetivo deste trabalho foi testar a variação intraespecífica e acoplamento fenotípico no tamanho do ovipositor de *Galeopsomyia* sp atacando galhas. Todas as galhas foram coletadas ao longo de um ano em *Guapira opposita*, planta hospedeira de cinco espécies de galhadores: *Bruggmannia elongata*; *B. robusta*; *B. acaudata*; duas espécies não descritas de *Bruggmannia* (sp.1 e sp.2). Em cada transecção, todas as galhas das 30 primeiras plantas com altura entre 50 cm e 3 m foram coletadas e acondicionadas até a emergência dos parasitoides. Um total de 15 amostras foram tomadas ao longo de dois anos. As larvas de último ínstar dos galhadores (n=5), espessura das galhas (n=5 para cada tipo de galha, assim como o tamanho do ovipositor dos indivíduos de *Galeopsomyia* sp. foram medidos. Não foi encontrada diferença para o tamanho das larvas entre espécies de galhador. Porém, as galhas de *Bruggmannia* sp.1 e sp.2 foram significativamente mais espessas que as de *B. acaudata* e essas mais espessas que as de

*B. elongata* e *B. robusta*. Os tamanhos do ovipositor diferiram significativamente para vespas saídas das galhas de *Bruggmannia* sp.1 e sp.2 em relação às demais. A dimensão do hospedeiro é fundamental para determinar o tamanho do parasitoide, mas neste caso o tamanho do hospedeiro não variou, e sim a espessura do tecido a ser perfurado. Galhas mais espessas foram atacadas por parasitoides maiores e com ovipositor mais longo, como costuma acontecer no nível interespecífico, indicando acoplamento fenotípico. Assim, espessuras maiores de galha parecem estar selecionando indivíduos maiores da população, o que pode ter consequências evolutivas importantes a longo prazo.

Palavras- Chave: Endofítico; Oviposição; Seleção de Hospedeiro; Tamanho do Ovipositor



## INTRODUÇÃO

A diversidade dos Hymenoptera parasitas é resultado também da grande variedade de adaptações de seus ovipositores, seja na estrutura ou na forma (Boring *et al* 2009). Dessa maneira, talvez o aumento no comprimento do ovipositor dos micro himenópteros seja uma das chaves da grande diversidade do grupo, pois possibilitou atacar um grande número de hospedeiros de distintos tamanhos e ocupando diferentes espaços (Sivinski & Aluja 2003). Sendo assim, características do ovipositor, como tamanho e espessura, podem ser usadas para entender não apenas a forma como atacam ou escolhem o hospedeiro (Boring *et al* 2009) mas também a história de vida dos parasitoides, pois suas características são um reflexo de como os parasitoides alcançam e perfuram suas presas (Price 1972).

Dessa forma, a evolução do ovipositor está correlacionada com os atributos (tamanho, idade, local) do hospedeiro que cada parasitoide ataca (Brajkovic *et al* 1999), isto é, as características do ovipositor estão intimamente ligadas ao tipo de hospedeiro. Parasitoides que atacam insetos endofíticos devem ser capazes de superar a dificuldade de perfurar tecido vegetal, gerando também acoplamento fenotípico entre parasitoide e hospedeiro. Além disso, a espessura desse tecido pode determinar a disponibilidade e a facilidade de encontrar hospedeiros (Weiss 1983, Weiss *et al* 1985).

Dentre os insetos endofíticos, o grupo dos galhadores é o mais diverso. Esses organismos são capazes de induzir hiperplasia e/ou hipertrofia das células dos tecidos vegetais resultando em uma estrutura denominada galha, que representa o fenótipo estendido do seu indutor, assim, cada espécie de galhador induz uma única forma de galha, com características únicas para cada espécie. (Dreger-Jaufret & Shorthouse 1992). Insetos galhadores são atacados por uma rica fauna de inimigos naturais e, conforme Bailey *et al* (2009), a evolução da forma (tamanho, espessura, estruturas

externas) da galha está relacionada à defesa contra eles. Dentre esses inimigos, os himenópteros parasitoides são os principais, podendo ser generalistas ou até mesmo espécie-específicos (Price *et al* 1986).

Price *et al* (1987), ao estudarem a natureza adaptativa das galhas, ponderaram que provavelmente galhas que possuem uma forma semelhante, tendem a compartilhar inimigos naturais (“Enemy hypothesis”). Assim, no nível interespecífico, essas variações da forma da galha podem levar a variações fenotípicas do inimigo natural. Assim, espera-se que parasitoides que exploram o mesmo hospedeiro tenham o mesmo tamanho de ovipositor (Price 1972). Porém, isso não é uma regra, uma vez que é comum que espécies que atacam o mesmo hospedeiro galhador difiram no comprimento dos seus ovipositores e isso se deve a hospedeiros que não possuem estratégias de defesa e são fáceis de serem localizados, podendo ser alvos de diferentes parasitoides com diferentes tamanhos de ovipositores, não obedecendo a este padrão (Price 1972).

Na interação com hospedeiros protegidos por alguma estrutura, como os insetos galhadores, é necessária perfuração do tecido vegetal, por exemplo, e o hospedeiro será atacado apenas por parasitoides com ovipositores mais longos (e.g. Sivinski *et al* 2001). Porém, estudos mais recentes demonstraram que parasitoides com ovipositores curtos, podem conseguir atacar galhas no início do seu desenvolvimento, onde a estrutura ainda é “tenra”, conseguindo assim “acessar” a larva (Stone & Schönrogge 2003). A diferença no tamanho do ovipositor pode variar também intraespecificamente, tanto no uso de diferentes hospedeiros como com a distribuição geográfica do parasitoide (Brown & Rossi 2013).

Raros estudos trabalham com variações intraespecíficas de parasitoides e as consequências destas variações no uso de seus hospedeiros. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a variação no tamanho do ovipositor da espécie *Galeopsomyia*

sp. em relação a cinco espécies diferentes de insetos galhadores e suas galhas. A hipótese do estudo é que galhas com diferentes espessuras irão levar a diferenças no ovipositor do parasitoide, neste caso, galhas mais espessas devem resultar em indivíduos de parasitoides com ovipositores maiores, intraespecificamente ao invés de interespecificamente.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Área de Estudo***

As coletas foram realizadas no Morro Santana, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, sul do Brasil (30°03'53.3"S 51°07'41.5"W). Este morro apresenta grande diversidade biológica, com fauna e flora biogeograficamente oriundas de diferentes partes do continente sul-americano. É formado por rochas graníticas e constitui o ponto mais alto do município de Porto Alegre, com 311m de altitude. Seu clima é subtropical, com verão quente. O morro possui 1.000 ha de campos, capoeiras e florestas. As florestas representam uma extensão da Mata Atlântica (Floresta Estacional), formada por vegetação característica destas formações vegetais, incluindo espécies tais como: *Nectandra appositifolia* (Lauraceae); *Sorocea bomplandii* (Moraceae); *Mollinedia elegans* (Monimiaceae), e também *Guapira opposita* (Nyctaginaceae) (UFRGS 2003).

### ***Sistema de Estudo***

*Guapira opposita* é uma espécie que ocorre em todo território brasileiro, apresentando uma grande plasticidade fenotípica (Souza & Lorenzi 2008). Esta planta é conhecida por ser uma super hospedeira de galhas, isto quer dizer que ela hospeda um grande número de espécies destes insetos herbívoros (Mendonça 2007). Estudos ecológicos com super hospedeiras são interessantes, pois geram dados de fácil

comparação, uma vez que se trata apenas de um modelo vegetal, que apresenta poucas variações (Moura 2007). No Rio Grande do Sul, segundo Mendonça (2007), *G. opposita* pode apresentar até sete espécies diferentes de galhadores.

*Galeopsomyia* é um gênero pertencente à Eulophidae, família muito representativa na interação com insetos galhadores, sendo apontada até mesmo como a de maior importância, fato colocado nos raros estudos abordando a interação entre esses organismos no Brasil (e.g. Maia & Monteiro 1999, Maia & Azevedo 2009), além disso, o gênero já foi relatado atacando as galhas de *G. opposita* (Maia & Azevedo 2009, Cap. III desta tese).

### ***Amostragem***

Foram realizadas 15 coletas no Morro Santana, entre março de 2014 e fevereiro de 2016. Galhas de cinco espécies indutoras foram coletadas na planta *G. opposita*: *Bruggmannia elongata*; *B. robusta*; *B. acaudata*; *Bruggmannia* sp.1; e *Bruggmannia* sp.2, espécies novas para a literatura segundo taxonomista do grupo (V. Maia, Museu Nacional, UFRJ).

Utilizando trilhas preexistentes no interior da mata, em cada uma das coletas foram marcadas transecções. Cada transecção era percorrida a procura de *G. opposita* que tivessem uma altura entre 50 cm e 3 m. As 30 primeiras plantas encontradas eram vistoriadas e tinham todas as galhas presentes coletadas.

Depois de cada coleta, as galhas foram levadas para laboratório, acondicionadas em sacos plásticos, com algodão umedecido aplicado na extremidade do pecíolo ou do ramo, para não desidratarem. As galhas eram vistoriadas diariamente até a emergência dos parasitoides. Após a emergência, estes eram individualizados em tubos contendo álcool 70% e devidamente identificados quanto ao seu hospedeiro. Após, foram

medidos o ovipositor e a cabeça das fêmeas, admitindo que a prole é o reflexo também da morfologia da fêmea que fez a oviposição, forma comumente utilizada em outros trabalhos do gênero (e.g. Sivinski *et al* 2001, Brown & Rossi 2013), ou seja, cabeças e ovipositores grandes devem ser reflexos de progenitora com essas características.

Galhas e larvas das cinco espécies de galhadores também foram coletadas, e as larvas de último ínstar dos galhadores foram medidas quanto ao comprimento e a maior largura. A razão entre os valores foi usada como medida de formato (n=5 para cada espécie). A espessura das galhas foi medida (n=5 para cada tipo de galha), da parede externa da galha até a câmara larval, onde se localizava a larva, que seria a distância mínima que o ovipositor da fêmea parasitoide necessitaria perfurar para encontrar o hospedeiro.

### ***Análise de Dados***

Para testar as diferenças entre as espécies de galhador para o tamanho das larvas, a espessura das galhas e o comprimento do ovipositor do parasitoide, foram utilizadas ANOVAs' com permutação no software PAST (Hammer *et al* 2001). *A posteriori* foi realizado o teste de Tukey para a comparação entre as diferentes espessuras de galha, dimensões da larva do galhador e tamanhos de ovipositor dos parasitoides entre cada hospedeiro.

## **RESULTADOS**

*Galeopsomyia* sp. atacou cinco espécies de galhadores na planta hospedeira *G. opposita*. Foram coletadas 1.637 galhas durante a amostragem, divididas entre as espécies indutoras: *Bruggmannia elongata* (372 galhas); *B. robusta* (254); *B. acaudata* (128); *Bruggmannia* sp.1 (756); *Bruggmannia* sp.2 (127). *Galeopsomyia* sp. foi a terceira espécie de parasitoide mais abundante, totalizando 75 indivíduos. Destes, 35

foram fêmeas, que foram utilizadas para as medidas de ovipositor e cabeça. As fêmeas estão distribuídas nos morfotipos de galhadores com a seguinte abundância: *Bruggmannia elongata* (10 parasitoides); *B. robusta* (5); *B. acaudata* (6); *Bruggmannia* sp.1 (5); *Bruggmannia* sp.2 (9).

As larvas do último instar das cinco espécies de galhadores não tiveram diferença significativa de tamanho ( $F= 0,929$ ;  $p= 0,461$ ). Todas as larvas variaram em torno de 1.5-2.0mm de comprimento e 0.3-0.4mm de maior largura. Quanto à espessura da parede externa da galha até a câmara larval, as galhas apresentaram diferenças significativas ( $F= 86,1$   $p= 0,001$ ). *B. elongata* e *B. robusta* são menos espessas que *B. acaudata* e estas três menos espessas que *Bruggmannia* sp.1 e *Bruggmannia* sp.2 (Figura 1A), a espessura das galhas variou de 0,6 mm à 3,6 mm.

O tamanho do ovipositor das fêmeas foi fortemente correlacionado com o tamanho da cabeça ( $R^2 = 0,88$ ), sendo assim, utilizamos apenas o tamanho do ovipositor nas análises. O comprimento do ovipositor diferiu ( $F= 4,825$ ;  $p= 0,004$ ) para os indivíduos que emergiram das diferentes galhas; as fêmeas que emergiram de galhas de *B. elongata*, *B. robusta* e *B. acaudata* tem em média ovipositores menores comparadas àquelas que emergiram de galhas de *Bruggmannia* sp.1 e *Bruggmannia* sp.2. (Figura 1B), o tamanho do ovipositor variou de 2,2 mm à 5,6 mm.

As galhas mais espessas foram atacadas por parasitoides com uma média maior de comprimento do ovipositor. Fêmeas com ovipositores longos ocorreram em todas as galhas, porém com maior frequência nas mais espessas. Já fêmeas com ovipositores curtos ocorreram apenas nas galhas menos espessas.

## DISCUSSÃO

Nossos dados apontam que a variação no tamanho do ovipositor possibilitou que *Galeopsomyia* sp. explorasse diferentes espessuras de galha, visto que das galhas mais espessas emergiram parasitoides com ovipositores longos na população. Levando em consideração que a prole deve refletir o tamanho da fêmea-mãe que ovipositou naquela galha, podemos teorizar que vespas menores não são capazes de ovipositar nas galhas mais espessas. Estudos apontam a existência de polimorfismo no tamanho do ovipositor de várias espécies de parasitoides (West-Eberhard 2003), no entanto, são raros os trabalhos que relacionam essa variação com a forma de explorar diferentes hospedeiros, potencialmente gerando acoplamento fenotípico, o que de certa forma implica em não entendermos claramente as razões ecológico-evolutivas desse polimorfismo.

Brown & Rossi (2013) estudaram a variação intraespecífica no ovipositor de *Torymus umbilicatus* e associaram a plasticidade do comprimento do ovipositor das fêmeas com fatores latitudinais, além de também encontrarem resultado similar aos nossos dados, onde o tamanho do ovipositor foi influenciado pela morfologia da galha do seu hospedeiro. Lázló & Tóthmérész (2013) demonstraram que o tamanho da galha não tinha correlação com a comunidade de parasitoides ou sua taxa de ataque, mas com o comprimento do ovipositor necessária para perfurar e atingir a larva indutora. Isso corrobora nossa visão da morfologia funcional da galha, avaliada aqui como a espessura do tecido até a câmara larval, outros argumentos como tricomas e pelos devem ser ainda avaliados em outros estudos. Os resultados confirmaram nossa hipótese inicial de que a diferença na espessura das galhas influenciaria no tamanho do ovipositor das fêmeas que eclodissem daquela galha. As galhas mais espessas tiveram uma concentração de indivíduos com valores altos de comprimento, enquanto galhas menos espessas tiveram

não só vespas com ovipositor mais curto, mas um espectro de variação do comprimento do ovipositor.

Para Weis *et al* (1985) em uma comunidade galhas mais espessas limitam o ataque de parasitoides, no entanto, isto não foi encontrado neste estudo, onde a taxa de parasitismo de *Galeopsomyia* sp. foi equivalente nas galhas de diferentes espécies de galhadores, levando em consideração suas abundâncias. Mesmo assim, este parasitoide pode ser específico a estes hospedeiros, vinculados a esta espécie de planta, não sendo encontrado atacando nenhuma outra galha dentre as estudadas na região (Luz, F. pers. obs., Goetz, A.P. pers. obs., Prauchner, C. pers. obs., LabEcoInt, UFRGS). Observamos ainda que, em nível interespecífico, a espessura das galhas reduz o ataque de toda a comunidade de parasitoides (esta tese, Cap. 3).

Outro fator que poderia influenciar o tamanho do parasitoide e provavelmente o comprimento do seu ovipositor é o tamanho do hospedeiro (larva do galhador), pois galhas maiores abrigariam larvas maiores das quais consequentemente, emergiriam parasitoides maiores (Cohen *et al* 2005), porém este fator foi descartado aqui, pois as larvas dos cinco hospedeiros não apresentaram diferenças de tamanho/formato. É importante salientar, no entanto, que não foi avaliado se o parasitoide consome também recursos da galha diretamente (e.g. *Rileya* sp. em galha de *Eugeniomyia dispar*, Mendonça & Romanowski 2002), o que também poderia gerar uma diferença no tamanho do animal, e consequentemente no seu ovipositor.

Uma estratégia de defesa dos galhadores, além de investir em espessura e tamanho da galha (Godfray 1994), é a dureza do tecido vegetal (toughness), que normalmente está associada ao desenvolvimento da galha em relação ao tempo, pois galhas recém induzidas tendem a ser mais duras (Fernandes *et al* 1999). Este fator não



foi avaliado no presente estudo, uma vez que a dureza poderia diminuir a taxa de parasitismo mas provavelmente não selecionar comprimento de ovipositor.

Parasitoides não necessariamente preferem certos hospedeiros *per se*, e uma primeira preferência pode ser por habitat (ou condições específicas de umidade, temperatura, luminosidade). Além disso, outro fator determinante no ataque dos parasitoides é a orientação dada pela planta onde se encontra seu hospedeiro, pois a planta serve como primeiro reconhecimento do local onde este parasitoide tem que ovipositar (Godfray 1994). Assim, muitos destes parasitoides podem atacar diferentes insetos que se alimentam em apenas uma planta (Vinson 1976), e esta pode ser uma das razões para explicar porque *Galeopsomyia* sp. ataca diferentes hospedeiros em *G. opposita*.

Galhadores do mesmo gênero atacando *G. opposita* podem ter especiado simpatricamente na mesma hospedeira, como já sugerido por Joy & Crespi (2007) ao estudar outro sistema similar. Em um cenário como este, táxons antepassados de *Galeopsomyia* sp. historicamente podem ter estado associados com essa planta e galhadores antepassados de *Bruggmania*. Pressões seletivas, como estas aparentemente impostas pela morfologia das galhas aos indivíduos da população de parasitoides, podem levar a especiação, como foi sugerido por Brown & Rossi (2013) em um estudo semelhante.

Sendo assim, concluímos que a espessura da galha seleciona fenótipos na população de *Galeopsomyia* sp., pois vespas com ovipositores mais longos são capazes de atacar todos os hospedeiros, enquanto os mais curtos atacariam apenas as galhas menos espessas. Isto pode implicar em consequências relacionadas a fatores ecológicos e evolutivos, tais como variação na disponibilidade de recursos, mudanças na estrutura genética da população destas vespas e, mais drasticamente, uma provável futura

especiação em caso de alopatria continuada dos galhadores em múltiplos sítios, num mosaico coevolutivo (*sensu* Thompson 2005)

## REFERÊNCIAS

Bailey R, Schönrogge K, Cook JM, Melika G, Csóka G, Thuróczy C, Stone GN (2009) Host niches and defensive extended phenotypes structure parasitoid wasp communities. *PLoS Biology* 7:e1000179. doi. org/10.1371/journal.pbio.1000179

Boring CA, Sharkey MJ, Nychka JA (2009) Structure and Functional Morphology of the Ovipositor of *Homolobus truncator* (Hymenoptera: Ichneumonoidea: Braconidae). *Journal of Hymenoptera Research* 18:1-24

Brajkovic M, Kronic M, Tomanovic Z, Stanisavljevic LJ (1999) Morphological adaptations of the ovipositor of braconid wasps (Braconidae: Hymenoptera) associated to biological characteristics of their hosts. *Acta Entomologica Serbica* 4:107–125

Brown P, Rossi AM (2013) Geographic and Host-Associated Size Variation in the Parasitoid Wasp *Torymus umbilicatus* (Hymenoptera: Torymidae) in Florida: Implications for Host Survival and Community Structure. *Florida Entomologist* 96:832-838

Cohen JE, Jonsson T, Müller CB, Godfray HC, Savage VM (2005) Body sizes of hosts and parasitoids in individual feeding relationships. *PNAS* 102:684-689. doi: 10.1073/pnas.0408780102

Dreger-Jauffret F, Shorthouse JD (1992) Diversity of gall-inducing insects and their galls. In: Shorthouse JD, Rohfritsch O (eds) *Biology of Insect-induced galls*. Oxford University Press, New York, pp 8-33

Fernandes GW, Espírito-Santo MM, Faria ML (1999) Cynipid gall growth dynamics and enemy attack: effects of gall size, toughness and thickness. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 28:211-281

Godfray HCJ (1994) *Parasitoids behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press, Princeton, p473

Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD (2001). PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*. 2001;4-9

Joy JB, Crespi BJ (2007) Adaptive radiation of gall-inducing insects within a single host-plant species. *Evolution* 61:784-795

László Z, Tóthmérész B (2013) The enemy hypothesis: Correlates of gall morphology with parasitoid attack rates in two closely related rose cynipid galls. *Bulletin of Entomological Research* 103:326-335. doi: 10.1017/S0007485312000764

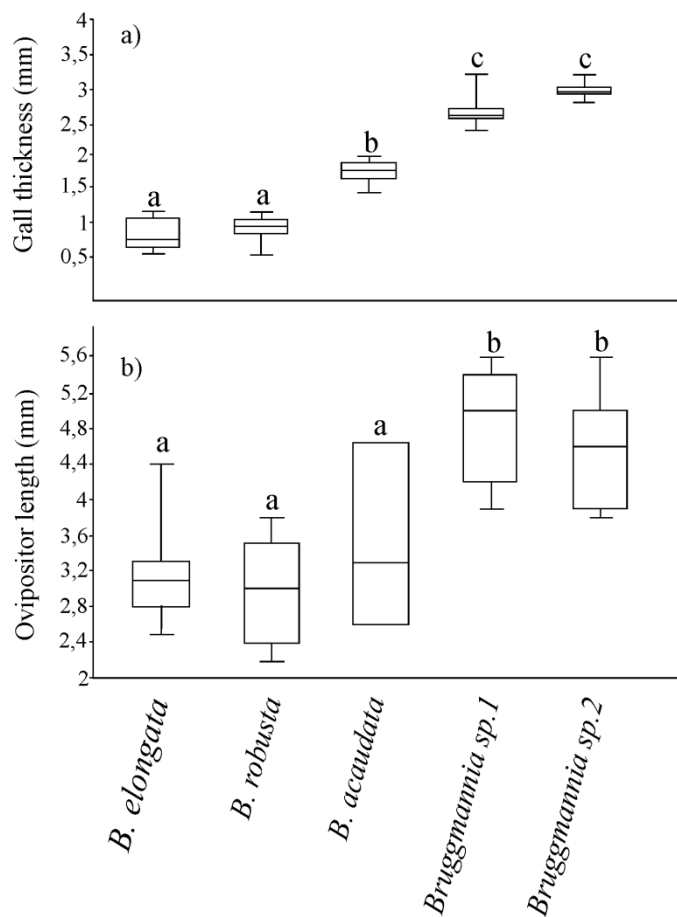
- Maia VC, Azevedo MAP (2009) Diversidade de micro-himenópteros associados com galhas de Cecidomyiidae (Diptera) em restingas do estado do Rio de Janeiro (Brasil). *Biota Neotropica* 9:151-164
- Maia VC, Monteiro RF (1999) Espécies cecidógenas (Diptera, Cecidomyiidae) e parasitóides (Hymenoptera) associados a *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. (Nyctaginaceae) na restinga da Barra de Maricá, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Zoologia* 16:483-487
- Mendonça MdeSjr, Romanowski HP (2002) Natural enemies of the gall-maker *Eugeniamyia dispar* (Diptera, Cecidomyiidae): predatory ants and parasitoids. *Brazilian Journal of Biology*, 62:269-275
- Moura MZD (2007) Padrões anatômicos relacionados a cecidogênese na multihospedeira *Lantana camara* L. (Verbenaceae). Tese de doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.
- Nyman T, Bokma F, Kopelke JP (2007) Reciprocal diversification in a complex plant–herbivore–parasitoid food web. *BMC Biology* 5:e49
- Price PW, Fernandes GW, Waring GL (1987) Adaptive nature of insect galls. *Environmental Entomology* 16:15-24
- Price PW (1972) Parasitoids utilizing same host – Adaptive nature of differences in size and form. *Ecology* 53:190–195
- Sivinski J, Aluja M (2003) The evolution of ovipositor length in the parasitic Hymenoptera and the search for predictability in biological control. *Florida Entomologist* 86:143-150
- Sivinski J, Vulinec K, Aluja M (2001) Ovipositor length in a guild of parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) attacking *Anastrepha* spp. fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Southern Mexico. *Annals of the Entomological Society of America* 94:886-895
- Stone GN, Schönrogge K (2003) The adaptive significance of insect gall morphology. *Tree* 18:512-522
- Thompson JN (2005) *The geographic mosaic of coevolution*. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- UFRGS. Dossiê Morro Santana: Comissão de Instalação da Futura Unidade de Conservação da UFRGS. Porto Alegre, RS, 28 de novembro de 2003. In: <http://www.ecologia.ufrgs.br/morrosantana/frames/dossie2003.pdf> Acessado em 07/01/2018
- Vinson SB (1976) Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology* 21:109-133

Weis AE, Abrahamson WG, McCrea KD (1985) Host gall size and oviposition success by the parasitoid *Eurytoma gigantea*. *Ecological Entomology* 10:341-348

Weis AE (1983) Patterns of parasitism by *Torymus capite* on hosts distributed in small patches. *Journal of Animal Ecology* 52:867-877

West-Eberhard MJ (2003) *Developmental Plasticity and Evolution*. Oxford University Press, New York, p 797

Figura 1: Acoplamento fenotípico entre o parasitoide *Galeopsomyia* sp. (Eulophidae) e seus hospedeiros galhadores, cinco espécies de *Bruggmania* (Cecidomyiidae, *B. elongata*, *B. robusta*, *B. acaudata*, e *Bruggmannia* sp. 1 e sp.2) sobre a planta *Guapira opposita* (Nyctaginaceae). a) Espessura das galhas (dimensão entre a parede externa da galha e câmara larval), e b) Tamanho do ovipositor das fêmeas do parasitoide eclodidas nos diferentes hospedeiros.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ciência está cada vez avançando mais rápido, novos métodos analíticos, novas técnicas e formas de explorar dados surgem a cada dia. À medida que estas novas técnicas surgem, pesquisadores tentam acompanhar e implementá-las nos seus trabalhos. Porém, certos campos de estudo ainda possuem questões básicas a serem respondidas, algumas delas elencadas nesta Tese, a qual não encontramos uma literatura recente expressiva tratando destes assuntos. Em um grupo de organismos que carece de descrição de espécies, onde tanto para galhadores, quanto parasitoides, as estimativas são de que nem 20% das espécies mundiais tenham sido descritas, esta Tese teve o intuito de voltar a abordar perguntas simples, também não deixando de lado novas técnicas analíticas, como a análise de redes tróficas.

Para o primeiro capítulo, o esclarecimento de conceitos é algo fundamental em Ecologia, pois erros em nomenclatura destas interações podem gerar padrões incorretos e incertos no entendimento na dinâmica entre estas espécies. Espera-se que a maior contribuição deste capítulo seja que novas espécies e estudos de caso com estes tipos de guildas venham já com uma informação mais criteriosa, esclarecendo as dúvidas e servindo para trabalhos futuros. Como lacuna neste estudo, está a falta de informação sobre as relações filogenéticas dentro destas guildas e também com os galhadores.

Existe um padrão recorrente na literatura apontando que comunidades interativas antagonistas possuem uma estrutura modular, devido à alta especificidade nestas interações, e este padrão foi confirmado nas redes analisadas. Porém, como estes trabalhos ainda não são comuns na literatura, não sabe-se como estes padrões e estruturas iriam se comportar em outros ambientes, pois fatores biogeográficos podem também serem importantes nestas interações.

Além disso, estas interações são especializadas e pouco conectadas nas redes. A maioria dos parasitoides tem um alto grau de especificidade e poucos se comportam como generalistas. Apesar de não ter sido avaliado neste capítulo, os parasitoides generalistas, parecem ter preferência por galhas com a forma menos complexa (sem pilosidade ou projeções, com baixa dureza e espessura) e esta é uma pergunta pertinente para ser respondida em pesquisas futuras. Tal como se existe um ou mais atributos (dureza, pilosidade, espessura, ciclo de vida longo...) da galha que estejam relacionados com a presença destes parasitoides mais generalistas na comunidade.

Excluir os fatores locais e trabalhar com apenas uma planta hospedeira de galhadores possibilita entender alguns processos ecológicos mais claramente, diminuindo ruídos amostrais. Assim, com o capítulo 3 observou-se o papel importante que a morfologia (termo usado na literatura, muito embora o mais correto fosse “forma”) das galhas tem nas interações dos galhadores com os parasitoides através das galhas. Este dado não é grande novidade na literatura, corrobora a hipótese dos inimigos naturais (Price et al 1987) em que galhas semelhantes compartilhariam inimigos naturais, e trabalhos mais recentes (László & Thotmérész 2013) vem que galhas menos “complexas” são parasitadas em maior grau. Embora a importância da morfologia das galhas não seja uma grande novidade, nenhum trabalho na literatura comprovou essa hipótese desta maneira e com estes métodos.

Novos trabalhos em outros sistemas devem ser feitos para o total reconhecimento do papel da morfologia da galha, principalmente levando em consideração o espaço, coletando em diferentes ambientes. Além disso, a filogenia é um fator importante para determinar as interações; estudos incorporando o fator filogenético nas análises, ainda não foram realizados, muito embora a literatura mostre que a forma

da galha reflete a filogenia, mesmo assim as relações filogenéticas dos galhadores são pouco exploradas quando relacionadas com as interações com parasitoides.

Por fim, no último Capítulo, conseguimos observar uma variação intraespecífica no tamanho do ovipositor de vespas eclodidas em diferentes galhas, com diferentes espessuras. A variação interespecífica de ovipositores, de parasitoides com hospedeiros de diversos tamanhos, já foi constatada algumas vezes. Como os galhadores são herbívoros com características distintas, que neste caso é a galha, provou-se que a espessura da galha pode selecionar indivíduos com tamanhos de ovipositor diferentes na população. As implicações disso a níveis populacionais, evolutivos e ecológicos podem ser melhor exploradas no futuro. Um único trabalho mostra que um parasitoide, *Torymus umbilicatus*, tende a especiação devido a diferenças na estrutura das galhas das espécies de galhador que ele ataca (Brown & Rossi 2013).

As interações entre cleptoparasitas, inquilinos, cecidófagos e parasitoides com os galhadores são um ótimo modelo de estudo ecológico. Apesar de apresentar diversas peculiaridades, problemas taxonômicos, e outras dificuldades (tal como os hiperparasitoides, que nesse trabalho não foram considerados, devido a nossa metodologia e a ausência de indícios de que grupos seriam hiperparasitoides na região.

Os hiperparasitoides são um grupo de parasitoides parasitas de outros parasitoides, esta guilda ainda é pouco estudada, devido à dificuldade da identificação de um hiperparasitismo e a grande lacuna taxonômica que se encontram os microhimenoptera. A identificação nessas interações levaria a redes tripartidas, um campo de estudo ainda pouco explorado.

Conclui-se que de modo geral, que os aspectos morfológicos da galha são fatores cruciais nas interações com parasitoides, sendo eles responsáveis pelos padrões que aqui se encontrou. Além disso, as interações aqui estudadas ainda merecem ser muito



melhores exploradas, pois ainda temos problemas em terminologia destas e esperamos que o Capítulo 1 contribua significativamente para melhorar este aspecto. Além disso, ainda ficam questões em aberto e outras que devem ser exploradas em outros sistemas e regiões. O problema taxonômico envolvendo tanto galhadores como parasitoides, só será resolvido quando tivermos um incentivo à taxonomia, e espera-se que isso aconteça em breve, pois estes grupos são ótimos modelos para estudos ecológicos.