

## Modificaciones morfológicas inducidas por *Tetradiplosis panghitruz* Martínez (Diptera: Cecidomyiidae) en tallos de *Prosopis caldenia* Burkart (Fabaceae)

Bárbara Mariana CORRÓ MOLAS<sup>1</sup>, Juan José MARTÍNEZ<sup>2</sup>, Luisina CARBONELL SILLETTA<sup>1</sup>,  
María Celeste GALLIA<sup>1</sup>, Graciela Lorna ALFONSO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de La Pampa, Avenida Uruguay 151, CP LP6300, Santa Rosa, La Pampa, bmcormolas@cpenet.com.ar. <sup>2</sup>División Entomología, Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Ángel Gallardo 470, CI405CJR, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, jjmartinez@macn.gov.ar.

**Abstract.** Morphological modifications induced by *Tetradiplosis panghitruz* (Diptera: Cecidomyiidae) in stems of *Prosopis caldenia* Burkart (Fabaceae). Representatives of a recently described species of *Tetradiplosis* Kieffer & Jörgensen (Diptera: Cecidomyiidae) induce galls in stems of *Prosopis caldenia* Burkart (Fabaceae). The modifications on plant tissues during the development of the gall were studied, as well as their relationship with the life cycle of the inducer. Galls were collected in a field belonging to the Universidad Nacional de La Pampa, Santa Rosa, La Pampa, Argentina. In summer, females of *Tetradiplosis panghitruz* lay their eggs individually on the epidermis of stems developed in the previous spring. Eggs hatch and larvae move through the egg corion and the stem epidermis to penetrate the internal tissues of the stem. The first modification induced by the larvae is the increased size of cells in the cortical parenchyma. Once inside the stem, the larva induces the formation of a cell chamber in the xylem. Galls induced by *T. panghitruz* are uni, bi, or plurilocular with a single larva per chamber. Immature stages of the gall inducer develop entirely inside the gall. The plant tissue which undergoes the most significant modifications during gall formation is the secondary xylem. The main body of the gall is composed by anomalous xylem, strata of sclerenchymatic xylem cells which constitute the chamber walls, and nutritive cells which are in contact with the larva.

**Key words:** Anatomy, galls, Cecidomyiidae, *Prosopis*, xylem.

**Resumen.** En los tallos del caldén, *Prosopis caldenia* Burkart (Fabaceae) una especie recientemente descrita en el género *Tetradiplosis* Kieffer & Jörgensen (Diptera: Cecidomyiidae) induce agallas. Se estudiaron las modificaciones en los tejidos vegetales durante el desarrollo de la agalla y en relación al ciclo de vida del inductor. Las agallas estudiadas fueron colectadas de caldenes ubicados en el Campo de Enseñanza de la Universidad Nacional de La Pampa, Santa Rosa, La Pampa, Argentina. La hembra de *Tetradiplosis panghitruz* coloca los huevos individualmente sobre la epidermis de los tallos desarrollados en la primavera. La larva emerge, atraviesa la cubierta del huevo y la epidermis caulinar para ingresar a los tejidos internos del tallo. Las primeras modificaciones del inductor involucran el aumento de tamaño de las células del parénquima cortical. Una vez en el interior del tallo la larva forma la cámara larval en el xilema. Las agallas de *T. panghitruz* son uni, bi o multicamerales, con una larva por cámara. Los estados inmaduros del inductor se desarrollan completamente en el interior de la agalla. El tejido que experimenta las principales modificaciones inducidas por *T. panghitruz* es el xilema secundario. El cuerpo de la agalla está formado por el xilema anómalo, estratos de células xilemáticas esclerenquimáticas que forman las paredes de las cámaras larvales y el tejido nutritivo que está en contacto con la larva.

**Palabras clave:** Anatomía, agallas, Cecidomyiidae, *Prosopis*, xilema.

### INTRODUCCIÓN

El concepto moderno de agalla entomógena considera que la agalla es una expresión morfológica de una serie de adaptaciones de la planta hospedera para contener al insecto inductor (Raman, 2007). El insecto inductor genera una perturba-

ción en el patrón de crecimiento y altera el proceso de diferenciación en la planta hospedera resultando en una estructura simétrica, la agalla (Raman, 2007). En general la agalla provee protección y nutrición al insecto inductor y en muchos casos soporta una comunidad de organismos parasitoides e inquilinos representando un microhábitat

para una comunidad discreta de organismos especializados (Ferraz & Monteiro, 2003; Maia, 2012; Raman, 2007; Stone & Schönrogge, 2003).

Se han registrado agallas en todos los órganos vegetales y el proceso de formación y las características estructurales de la agalla están principalmente relacionadas a la especie inductora más que al órgano afectado, a la especie hospedera y a los factores ambientales (Abrahamson *et al.*, 1998; Stone & Cook, 1998; Dorchin *et al.*, 2003; Stone & Schönrogge, 2003; Kraus, 2009; Méndes de Sá *et al.*, 2009). Las agallas más complejas estructuralmente muestran una diferenciación de capas de tejidos vegetales especializados para la protección y para la nutrición del inductor (Stone & Schönrogge, 2003; Kraus, 2009). Entre las agallas más complejas se destacan las inducidas por algunas especies de Cecidomyiidae (Diptera) (Arduin & Kraus, 1995; Rohfritsch, 1999; 2010; Mendes de Sá *et al.*, 2009; Marini-Fillho & Fernandes, 2012). Los estudios anatómicos de las agallas de cecidómidos muestran zonas de tejidos especializados bien definidas estructuralmente como una zona interna de células nutritivas que limita la cámara larval, una zona de protección frecuentemente con células lignificadas y en algunos casos un tejido de reserva (Arduin & Kraus, 1995; Rohfritsch, 1999; Dorchin *et al.*, 2002; Kraus *et al.*, 2003; Oliveira & Isaias, 2010; Oliveira *et al.*, 2010). Estudios recientes muestran que hay variaciones citológicas e histoquímicas entre estas zonas especializadas y entre los estados de maduración de las agallas (Oliveira *et al.*, 2010). La continua actividad de alimentación del cecidómido gallicola estimula la formación estructural de la agalla y mantiene las variaciones histoquímicas en los tejidos afectados (Cook, 1904; Price *et al.*, 1987; Oliveira *et al.*, 2010; Rohfritsch, 2010). Así, el sitio dentro de la cámara larval donde la larva se alimenta determina la forma de la agalla (Price *et al.*, 1987).

En cecidómidos gallicolas, la estrategia del ciclo de vida está estrechamente relacionada a la fenología de la especie hospedadora (Tolentino Campos *et al.*, 2010). Yukawa & Rohfritsch (2005) describen distintos tipos de historias de vida en relación al sitio donde el inductor pasa el invierno y el estadio de desarrollo invernante.

En Argentina se han registrado agallas de Cecidomyiidae en especies de *Prosopis* (Kieffer & Jörgensen, 1910; Gagné, 1994; Carabajal de Belluomini & Fiorentino, 2006; Carabajal de Belluomini *et al.*, 2009). En particular, en *Prosopis caldenia* fueron descritas recientemente dos especies, *Tetradiplosis panghitruz* Martínez y *T.*

*rayen* Martínez (Diptera: Cecidomyiidae) sobre tallos jóvenes e inflorescencias respectivamente (Martínez *et al.*, 2013). En las agallas caulinares, los estados inmaduros de *T. panghitruz* completan su desarrollo en el interior de la agalla, en la cámara larval, y los adultos emergen a principios del verano. Estas agallas frecuentemente son colonizadas durante su desarrollo por especies de insectos parasitoides, inquilinos o cleptoparásitos y luego de la emergencia de los adultos, son ocupadas por otras especies de artrópodos (Martínez *et al.*, 2013). Las agallas caulinares fueron descritas morfológicamente como engrosamientos multicamerales que se producen uniformemente en toda la circunferencia del tallo y se ha sugerido que el tejido afectado por la actividad de *T. panghitruz* es el xilema secundario o leño (Martínez, 2009). Hasta el momento no hay estudios anatómicos de estas agallas.

El caldén, *P. caldenia* es la especie arbórea dominante de las formaciones boscosas que se desarrollan dentro de la provincia de La Pampa. Es endémica de la República Argentina y su área de distribución abarca el sur de la Provincia de Córdoba, el norte de La Pampa y el suroeste de San Luis (Cabrera, 1976). El espinal constituye un sistema clave en la distribución geográfica de muchas especies animales hacia el sur, ya que comprende los bosques más australes del dominio chaqueño bordeados por pastizales pampeanos hacia el este y por el gran arbustal del monte hacia el oeste (Arturi, 2005). En las últimas décadas, el impacto del avance de las prácticas agrícolas, la tala, los incendios descontrolados y reiterados y el pastoreo resultan en un deterioro del ecosistema y en la reducción del área de distribución de *Prosopis caldenia* (Arturi, 2005).

El presente trabajo es una contribución para aumentar los conocimientos sobre la biología del caldén, en particular sobre la interacción planta – fitófago y sobre la biodiversidad de la artrópodo-fauna asociada a las agallas de *P. caldenia*. Los objetivos de este estudio son identificar el tipo de estrategia del ciclo de vida de *T. panghitruz*, diferenciar los estadios de desarrollo de la agalla y describir las modificaciones inducidas por *T. panghitruz* en los tejidos caulinares de *P. caldenia*. La información generada puede ser utilizada para apoyar y fundamentar las acciones de protección y conservación del caldenal como ecosistema nativo, endémico, natural y de gran importancia por la diversidad biológica que alberga y para futuros estudios fitosanitarios de esta especie arbórea nativa, endémica y de múltiples aplicaciones socio-culturales y económicas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El sitio de estudio (36° 33' Sur y 64° 18' Oeste) está ubicado en el Campo de Enseñanza de la Universidad Nacional de La Pampa. Se colectaron mensualmente agallas y tallos normales de *P. caldenia*, de septiembre de 2010 a marzo de 2013. El material fue fijado con FAA (alcohol 96° - agua destilada - formol - ácido acético glacial en proporción 10:7:2:1) y posteriormente preservado en alcohol 70°. Se examinaron diez agallas de cada fecha de colecta y se registró el estado de desarrollo del inductor en cada agalla. Se realizaron cortes transversales y longitudinales de las muestras a mano alzada. Las técnicas de tinción utilizadas fueron la coloración con azul de toluidina en solución acuosa como colorante metacromático, la coloración directa con safranina, la coloración combinada sucesiva doble con safranina a saturación en alcohol 80° y verde rápido a saturación en alcohol etílico absoluto, y se utilizó lugol para detectar el almidón (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). El material fue observado con microscopio estereoscópico y óptico. Las fotografías fueron obtenidas con cámara digital Sony 16,1 MP adaptadas sobre el ocular 10 X y 16 X.

Para el análisis de la anatomía del tallo de *P. caldenia* sin agallas se siguieron las descripciones de Cozzo (1951), Tortorelli (1956) y Castro (1994).

## RESULTADOS

### Anatomía de tallo de *P. caldenia* sin agallas

En el presente estudio se examinaron predominantemente tallos con 1 a 3 anillos de crecimiento del xilema secundario. Los tallos jóvenes (Fig. 1.A), en el primer año de crecimiento presentan la epidermis uniestrada con tricomas simples unicelulares. En posición subepidérmica se observan 2-3 estratos de colénquima, luego parénquima cortical con cloroplastos y hacia el interior un anillo incompleto de paquetes de fibras rodeando los tejidos vasculares y la médula parenquimática. Las células del parénquima medular son de contorno redondeado y usualmente contienen amiloplastos. Entre los paquetes de fibras se observan grupos de esclereidas. Los tallos en el comienzo del crecimiento secundario presentan restos de epidermis sobre la peridermis en formación. En el floema secundario, las fibras floemáticas están dispuestas en estratos bien definidos. En el floema y en el parénquima cortical se distinguen cristales romboidales. El xilema secundario es no estratificado y difuso, los vasos es-

tán dispuestos en forma solitaria o son múltiples en grupos de 2-4 vasos. Los vasos aislados son de sección circular y en el corte longitudinal mayoritariamente presentan trayecto rectilíneo. Los anillos de crecimiento están bien definidos y se distinguen por la diferencia de tamaño entre los vasos de primavera y los de verano y por la predominancia de fibras en el leño de verano (Fig. 1.B). Al inicio de cada anillo hay parénquima marginal y en el final hay escaso parénquima marginal y abundantes fibras. El parénquima axial paratraqueal es confluyente y más abundante que el apotraqueal, difuso y escaso (Fig. 1.C). Las células parénquimáticas axiales son rectangulares, con paredes celulares relativamente delgadas a gruesas y numerosas puntuaciones. Las fibras axiales son abundantes, tienen los extremos aguzados y las paredes celulares gruesas y lignificadas, es frecuente que contengan almidón. El almidón es abundante en el parénquima xilemático axial (Fig. 1.D). El parénquima leñoso radial forma radios uniseriados a pluriseriados (Fig. 1.E). Son radios homogéneos, homocelulares y las células tienen la pared celular relativamente delgada con abundantes puntuaciones, algunas con cristales romboidales.

### Desarrollo de la agalla de *Tetradiplosis panghitruz*

En el área de estudio los caldenes rebrotan a fines de octubre (primavera), florecen en noviembre y diciembre (primavera y verano), fructifican en febrero (verano) y pierden las hojas en mayo (otoño), después de las primeras heladas fuertes, acorde a Cano (1988).

Los adultos de *T. panghitruz* emergen a principios del verano. La hembra ovipone en tallos jóvenes en activo crecimiento y coloca los huevos individualmente sobre la epidermis del tallo. Los huevos quedan separados entre sí pero dispuestos en hilera a lo largo del tallo (Fig. 2.A). La oviposición predominantemente es sobre una cara del tallo.

La larva I emerge y perfora un extremo de la cubierta del huevo para alcanzar los tejidos vegetales. La cubierta del huevo queda adherida sobre la superficie del tallo cubriendo la entrada de la larva. En esta zona se observa una hendidura con la epidermis y las capas de células subepidérmicas dañadas. Debajo, el parénquima cortical y el parénquima situado entre los paquetes de fibras están alterados por un aumento del tamaño de las células (Figs. 2.B, C). En consecuencia, la zona próxima a la entrada de la larva presenta un leve aumento de espesor, imperceptible a simple vista. A principio del otoño, se encuentra la

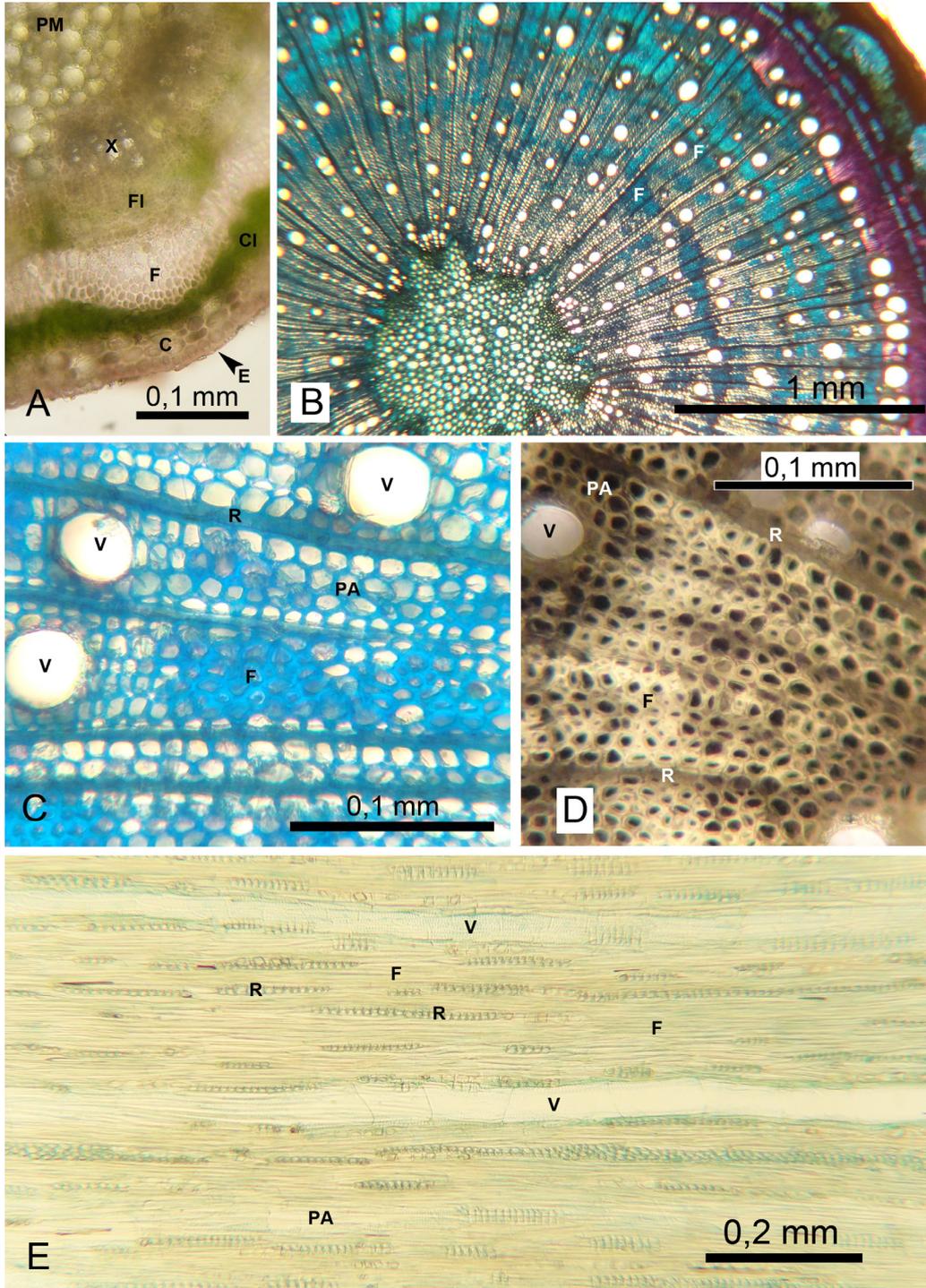


Fig. 1. Anatomía caulinar normal de *Prosopis caldenia*. A, CT (corte transversal) de tallo en crecimiento primario; B, CT de tallo en crecimiento secundario sin agallas, tinción: toluidina; C, xilema secundario de tallo sin agallas en CT, tinción: toluidina; D, xilema secundario de tallo sin agallas en CT, tinción: lugol; E, xilema secundario de tallo sin agallas en CLT (corte longitudinal tangencial), tinción: toluidina. Referencias: C, colénquima; Cl, clorénquima, E, epidermis uniestrata con cutícula; F, fibras; FI, floema; PA, parénquima axial; PM, parénquima medular; R, radio xilemático, V, vasos; X, xilema.

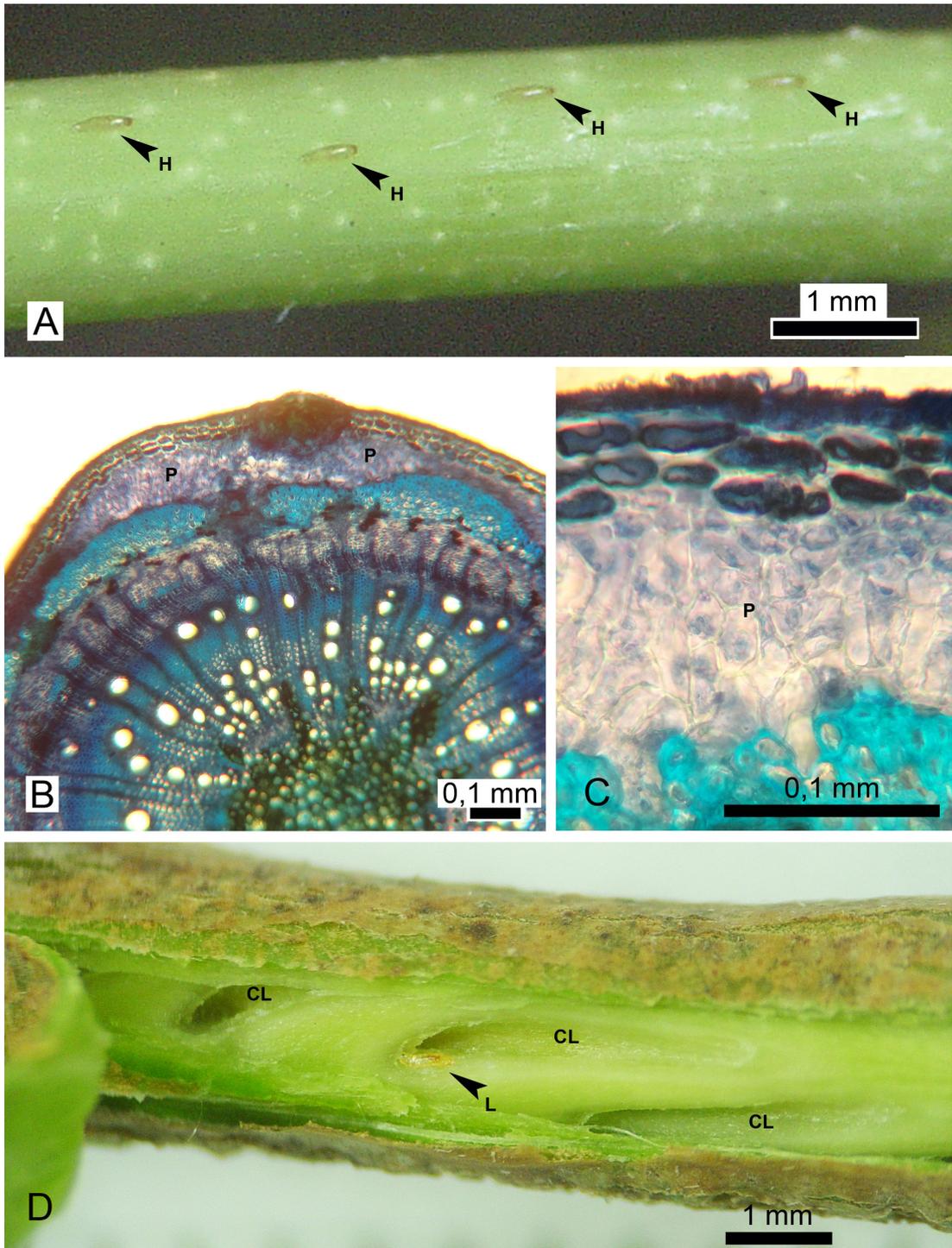


Fig. 2. A. Posturas de *Tetradiplotis panghitruz* en tallos de *P. caldenia*, huevos no eclosionados. Figs. B-D Tallo de *P. caldenia* con agallas inducidas por *Tetradiplotis panghitruz*; B, CT del tallo en crecimiento secundario, tinción: toluidina; C, detalle del parénquima cortical, tinción: toluidina; D, tallo con la corteza parcialmente removida mostrando las cámaras larvales; CL, cámara larval; H, huevo; L, larva; P, parénquima cortical.

larva I en la galería formada inmediatamente debajo de la corteza. Externamente y a simple vista es casi imperceptible la presencia de las larvas del inductor en el tallo, no hay orificios de salida del inductor y el engrosamiento y la coloración del tallo afectado es similar al tallo normal (Figs. 2.D, 3.A). Cuando retiramos el tejido cortical y el floema se observan varias cavidades separadas entre sí, alargadas, ciegas en los extremos, con sección aproximadamente triangular, son las cámaras larvales en formación (Fig. 2.D). Cada cámara a modo de galería está dispuesta en forma paralela al eje mayor del tallo y contiene una larva I de *T. panghitruz*. Las cámaras están en el primer anillo de crecimiento del xilema, con las caras radiales rodeadas por xilema y la cara tangencial externa limitada por la zona cambial, de manera que cuando se retira la corteza completa quedan al descubierto las cavidades de las cámaras conteniendo las larvas fácilmente visibles. La larva I tiene una coloración anaranjada característica y se mueve libre y activamente sobre las paredes de la cámara (Fig. 2.D). En el transcorte del tallo afectado se observan claramente cómo las cámaras aparecen distribuidas en el primer anillo de crecimiento del xilema secundario y en ningún caso están en contacto con la médula parenquimática (Fig. 3.B). Ahora, las secciones transversales de las cámaras varían de triangular a oval o redondeada. Sobre las paredes de la cámara se distinguen grupos de células parenquimáticas redondeadas, de mayor tamaño que las parenquimáticas axiales y radiales del leño, con paredes celulares delgadas y con abundantes puntuaciones (Figs. 3.D, 3.E). Estas células están al alcance de la larva y constituirían las células nutritivas de la larva. Las porciones más profundas de las cámaras y próximas a la médula están rodeadas de xilema normal, mientras que en el extremo opuesto, las porciones más distales a la médula están rodeadas de xilema anómalo. Este tejido anómalo es marcadamente homogéneo, los vasos son escasos y de pequeño diámetro, predominan las células parenquimáticas con paredes gruesas y las fibras con paredes celulares gruesas y lignificadas (Fig. 3.C, 3.D).

En primavera, en los tallos con *T. panghitruz* se observa externamente una porción notablemente engrosada respecto al tallo normal (Fig. 4.A). Ahora la agalla es fácilmente distinguible, tiene generalmente forma alargada y coloración verdosa. La superficie externa es suave y no se observan los futuros orificios de salida pero ya están formados debajo de la corteza. En esta etapa del desarrollo de la agalla, el crecimiento

en grosor del tallo implica un incremento de la longitud de cada cámara larval. La galería preexistente de la cámara formada por la larva I se continúa con una nueva galería aproximadamente perpendicular al eje del tallo y que llega hasta la zona cambial (Fig. 4.B). En esta zona se encuentra el futuro orificio de salida del inductor que permanece cubierto por la corteza y es mantenido y moldeado por la actividad de la larva. Al retirar la corteza en una agalla recientemente colectada, es muy frecuente observar a la larva moviéndose activamente en las inmediaciones del futuro orificio de salida. La agalla en crecimiento puede contener una o más cámaras larvales, con una larva II por cámara. Las agallas uni o bicamerales suelen presentar el engrosamiento anormal del tallo principalmente hacia un lado del órgano resultando en una agalla con simetría bilateral (Fig. 4.C). En las agallas multicamerales, el engrosamiento es uniforme alrededor de la circunferencia del órgano y la simetría de la agalla es radial (Fig. 4.D). En el transcorte de la agalla multicameral se han registrado hasta siete secciones de cámaras dispuestas alrededor de la médula.

A medida que el tallo afectado crece, aumenta en diámetro y volumen por el desarrollo del xilema secundario anómalo, particularmente por la proliferación del parénquima xilemático. Los vasos son escasos confirmando al xilema un aspecto homogéneo y dificultando la identificación de los anillos de crecimiento. En corte longitudinal los vasos presentan un trayecto sinuoso. El parénquima axial predomina en cantidad sobre los vasos y las fibras y constituye la mayor parte del cuerpo de la agalla (Figs. 4.E). Las células tienen paredes engrosadas y lignificadas confirmando al parénquima axial un aspecto fibroso. El parénquima radial forma numerosos radios anchos y lignificados. En el corte longitudinal tangencial los radios xilemáticos son sinuosos, confluentes y tienen contorno irregular (Figs. 4.F, G) a diferencia de los radios xilemáticos de los tallos normales, los cuales tienen contorno oval y están bien separados uno de otro (Fig. 1.E). En la proximidad de la cavidad de la cámara estos radios confluyen en un estrato de células lignificadas para formar las paredes de la cámara y dar soporte a varias capas de células parenquimáticas no lignificadas (Fig. 4.F). Estas capas parenquimáticas limitan la superficie interna de la cavidad y están en contacto con la larva. El tejido que rodea el futuro orificio de salida es un parénquima hiperplásico, sin cloroplastos ni almidón y con paredes celulares delgadas. En esa zona el floema normal

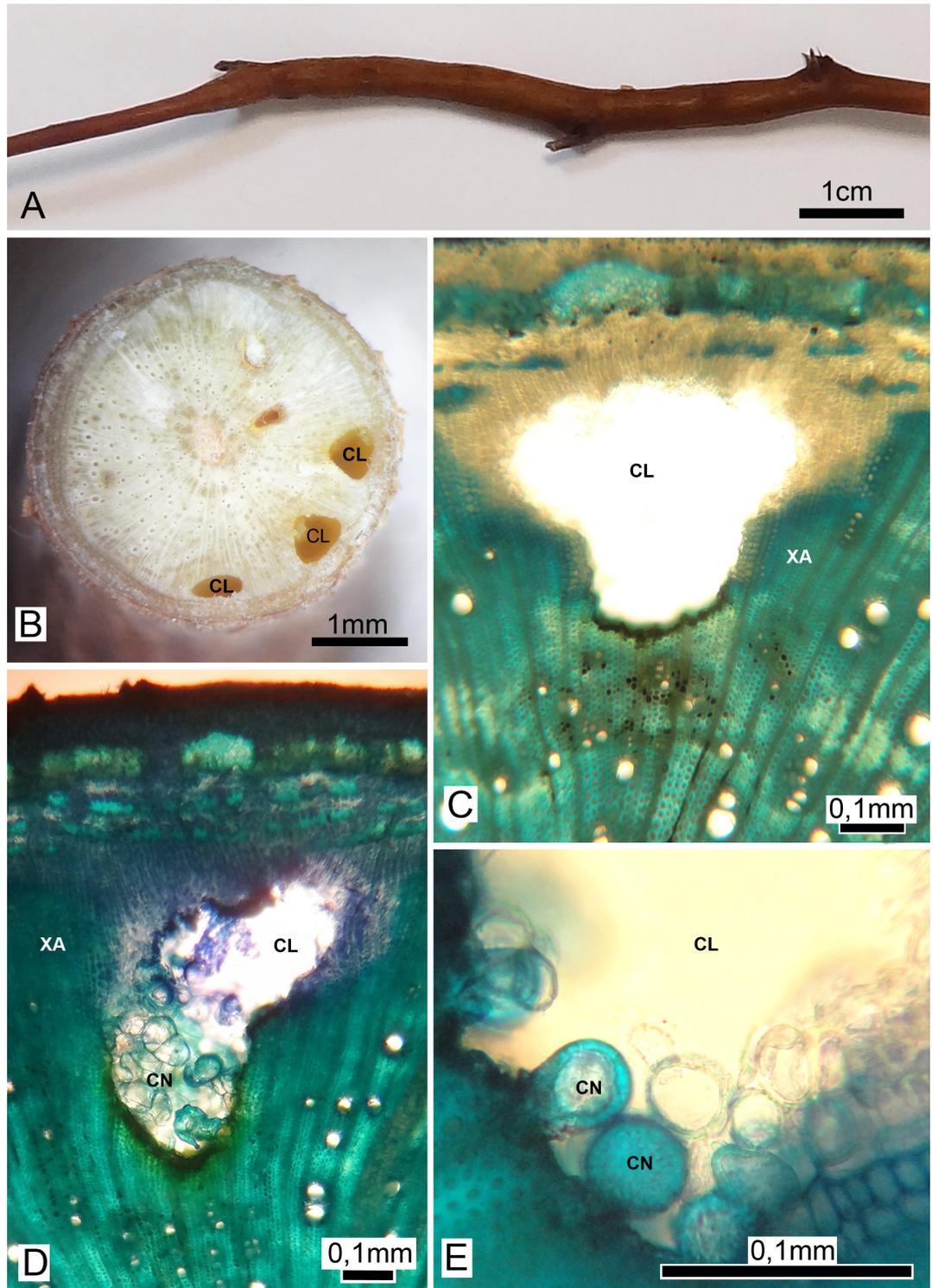


Fig. 3. Tallo de *P. caldenia* con agallas inducidas por *Tetradiplosis panghitruz*. A, morfología externa del tallo afectado; B, CT de agalla multicameral; C, CT del tallo afectado al nivel de una cámara larval, tinción: toluidina; D, CT del tallo afectado al nivel de una cámara larval, tinción: toluidina; E, detalle de las células parenquimáticas modificadas en el interior de la cámara larval, tinción: toluidina; C, cámara larval; CN, célula nutritiva; XA, xilema anómalo.

desaparece y se observan pocas esclereidas aisladas. El almidón se observa en los parénquimas xilemático axial y radial anómalos y alejados de la cavidad de la cámara.

A mediados y fines del verano las agallas contienen las larvas III que completan su desarrollo en el interior de la cámara para dar lugar a la pupa del inductor. En esta fase de desarrollo (Fig. 4.H) la agalla no incrementa el tamaño, la cámara larval conserva su forma y comienzan a observarse externamente algunos orificios de salida del inductor como resultado de la emergencia de los primeros adultos. Frecuentemente se observan las exuvias pupales en los orificios de salida. Las características histológicas de la agalla en esta etapa son similares a las características de la agalla en crecimiento, las células parenquimáticas axiales y radiales del xilema anómalo engrosan sus paredes y se lignifican. Las células parenquimáticas axiales, en particular, adquieren el aspecto de esclereidas.

## DISCUSIÓN

Los estados inmaduros de *T. panghitruz* completan su desarrollo en el interior de la agalla, que permanece en el árbol durante todos los estados fenológicos del caldén. La larva I es el estadio invernante de *T. panghitruz* y en el ciclo de vida, es el que presenta mayor duración. Según estas características y de acuerdo a la clasificación propuesta por Yukawa & Rohfritsch (2005), el ciclo de vida de *T. panghitruz* corresponde a la estrategia tipo II B.

Las alteraciones inducidas por *T. panghitruz* en tallos de *P. caldenia* resultan en agallas con simetría bilateral o radial acorde a la definición de agalla de Raman (2007). Cuando la oviposición y la eclosión del huevo son sucesos que ocurren fuera de los tejidos vegetales, el inductor está expuesto al ataque de parasitoides, a la desecación o a la depredación (Yukawa & Rohfritsch, 2005). Si bien en este trabajo no se estudió la mortalidad de *T. panghitruz* en ese período, desde la oviposición hasta la entrada de la larva a los tejidos del tallo, el hecho de que la larva recién emergida no se desplaza sobre el tallo, sino que ingresa al tallo en el mismo lugar en que la hembra colocó el huevo podría ser una estrategia para reducir las causas de mortalidad. Por otra parte, considerando que los huevos son colocados en hileras y que la larva I ingresa a los tejidos del tallo en el sitio donde se colocó el huevo, la mortalidad en ese período podría modificar la proximidad de las larvas I vivas en una hilera de oviposición. Si las

larvas I están próximas podrían generar agallas bi y multicamerales, bilaterales o radiales. Si las larvas I están suficientemente distanciadas podrían generar agallas unicamerales y bilaterales. Esto podría explicar la diversidad de morfologías de las agallas de *T. panghitruz*. El sitio donde la larva se alimenta dentro de la cavidad de la cámara determina la forma de la agalla (Price *et al.*, 1987). En las agallas con una o dos cámaras y con simetría bilateral se ve claramente que el engrosamiento del tallo ocurre en el lado del órgano donde la larva se alimenta.

En el presente estudio las características anatómicas de los tallos jóvenes de *P. caldenia* sin agallas y la presencia de almidón y cristales en los tallos normales son acordes a las características citadas por Cozzo (1951), Tortorelli (1956) y Castro (1994).

Acorde a la observación de Martínez (2009) el principal tejido del tallo afectado por la presencia de *T. panghitruz* es el xilema secundario. Como otras agallas inducidas por cecidómidos, las agallas de *T. panghitruz* exhiben una especialización y zonación de tejidos (Oliveira & Isaias, 2010) y podrían ser consideradas agallas prosoplásmicas (Kraus, 2009).

En el proceso de formación de las agallas, los estadios descriptos por Kraus (2009): incipiente, de crecimiento, de maduración y de senescencia fueron identificados en la formación de las agallas de *T. panghitruz*. El estadio de inicio o incipiente está asociado a la actividad de la larva I cuando emerge del huevo e induce los primeros cambios en los tejidos vegetales. En este estadio la agalla es inconspicua externamente y los primeros cambios que ocurren después de la entrada del inductor es la hipertrofia de las células parenquimáticas corticales. Yukawa & Rohfritsch (2005) señalan que el comportamiento de alimentación de la larva inductora estimula el crecimiento celular. Estas células en contacto con la larva, constituirían el primer tejido nutritivo de la larva (Price *et al.*, 1987; Raman, 2011; Oliveira & Isaias, 2010).

El estadio de crecimiento involucra la formación de la cámara larval, la diferenciación de las zonas que conforman la agalla y el aumento de la biomasa de la agalla (Kraus, 2009). En las agallas de *T. panghitruz*, el estadio de crecimiento se extiende desde mediados del verano, cuando la cámara larval está en formación y contiene células hipertrofiadas expuestas hacia la cavidad de la cámara y en contacto directo con la larva. Estas serían células nutritivas acorde a lo descripto en otras agallas (Price *et al.*, 1987; Raman, 2011;

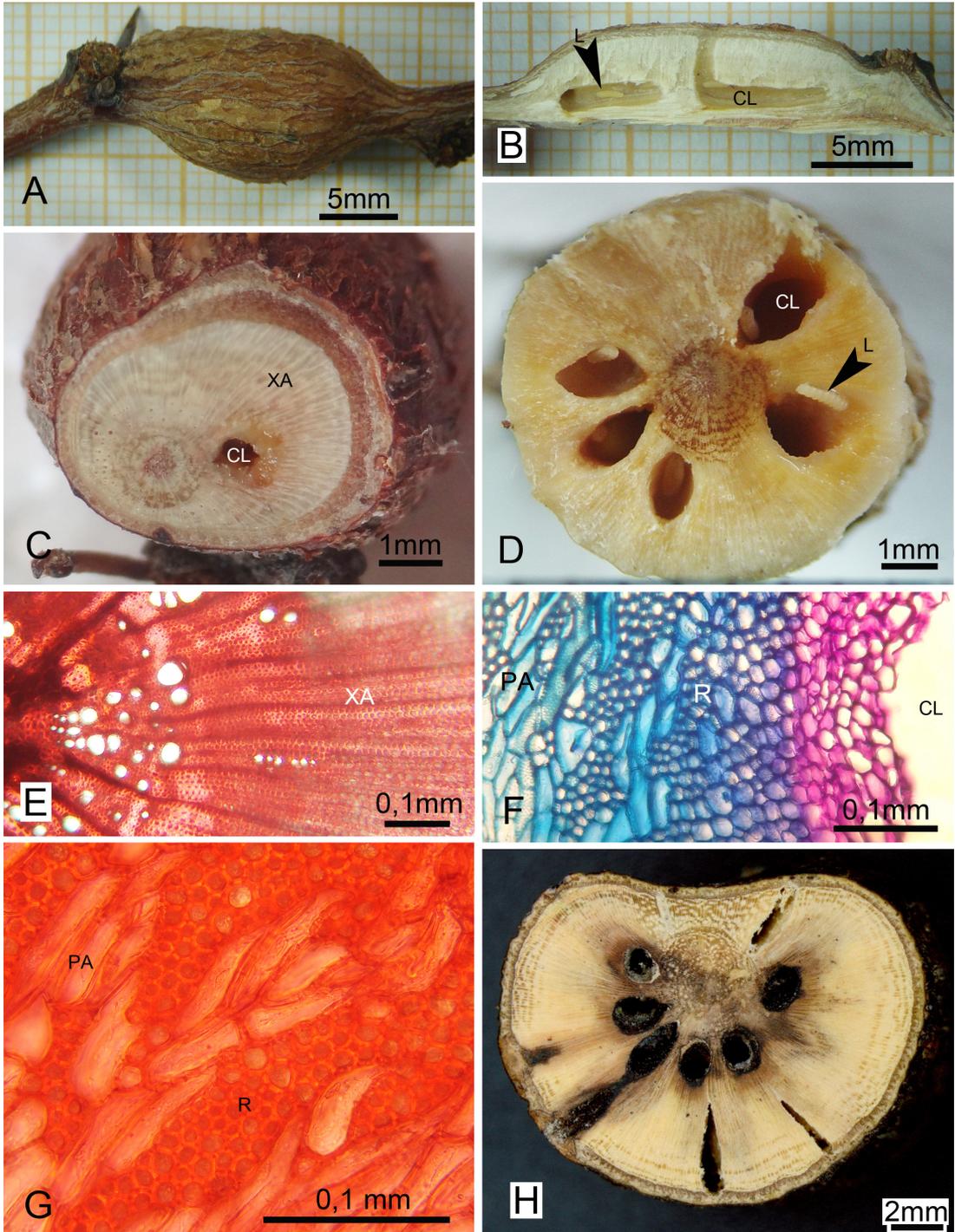


Fig. 4. Tallo de *P. caldenia* con agallas inducidas por *Tetradiplosis panghitruz*. A, morfología externa del tallo afectado; B, sección longitudinal del tallo afectado mostrando dos cámaras larvales; C, CT de una agalla unicameral; D, CT de una agalla multicameral; E, detalle mostrando dos cámaras larvales; F, CLT a nivel de la cámara larval, tinción: toluidina; G, CLT del xilema anómalo, tinción: safranina/verde rápido; H, CT de una agalla multicameral madura; CL, cámara larval, L, larva, PA, parénquima axial; R, radios xilemáticos; XA, Xilema anómalo.

Oliveira & Isaias, 2010). La larva I inverna en la agalla en crecimiento y en la primavera, cuando el cambium se reactiva, la actividad de las larvas I y II produce un aumento de la masa y del volumen de la agalla. El xilema secundario experimenta fundamentalmente hiperplasia, el tallo afectado incrementa en grosor, la agalla aumenta en volumen, es evidente externamente y en su interior se completa la formación de las cámaras larvales (Oliveira & Isaias, 2010; Oliveira *et al.*, 2010). Los fenómenos de hipertrofia celular e hiperplasia de los tejidos han sido documentados como eventos frecuentes y determinantes en la formación de agallas (Oliveira & Isaias, 2010). En el siguiente estadio, el de maduración, la agalla conserva aproximadamente el diámetro alcanzado en el estadio de crecimiento y contiene en su interior larvas III y a veces pupas. El estadio de senescencia comprende el periodo posterior a la emergencia de los adultos caracterizado por la degradación de los tejidos y por su colonización (Kraus, 2009). En el caso de *T. panghitruz* las agallas senescentes perduran en la planta, su coloración se torna marrón y son evidentes los orificios de emergencia.

Las agallas de *T. panghitruz* cuando contienen las larvas I y II que se desplazan libremente dentro de la cámara exhiben los principales cambios en forma, anatomía y tamaño, mientras que cuando contienen la larva III, no ocurren cambios importantes. Esto sugiere que los periodos de mayores cambios en la morfogénesis de la agalla son el incipiente y el de crecimiento y que la actividad de la larva es un factor clave para producir y mantener los cambios (Cook, 1904; Oliveira *et al.*, 2010; Kraus *et al.*, 2002).

La identificación de tejidos con función nutritiva, de protección y mecánica en la anatomía de la agalla caulinar de *T. panghitruz* coincide con lo descripto para otras agallas de cecidómidos (Dorchin *et al.*, 2003; Oliveira & Isaias, 2010; Oliveira *et al.*, 2010). En la agalla de *T. panghitruz* se identificó como el tejido nutritivo del inductor al estrato interno de tejido parenquimático no lignificado que tapiza la cavidad de la cámara y que está en contacto directo con la larva. El estrato de tejido lignificado y uniforme que sostiene al tejido nutritivo constituiría las paredes de la cámara con funciones fundamentalmente estructurales. El tejido más externo, notoriamente homogéneo, lignificado, con acumulación de almidón y que representa el mayor volumen de los tejidos de la agalla, es el tejido que forma el cuerpo de la agalla. Este tejido que provee de carbohidratos, agua y protección a la

larva y da soporte mecánico a la agalla constituye la corteza de la agalla (Rohfritsch, 1999). La lignificación de las células contribuiría al soporte de la estructura de la agalla y a la protección mecánica contra especies parasitoides (Price *et al.*, 1986; Dorchin *et al.*, 2003; Stone & Schönrogge, 2003; Oliveira *et al.*, 2010) que han sido registradas en las agallas de *T. panghitruz* (Martínez *et al.*, 2013). El almidón es una sustancia de reserva usual en el xilema de tallos normales de *P. caldenia* (Tortorelli, 1956; Castro 1994). En coincidencia con lo observado en otras agallas, en las agallas estudiadas el almidón se acumula en células alejadas del tejido nutritivo (Rohfritsch, 1999; Raman, 2007; Oliveira *et al.*, 2010). En las agallas caulinares maduras con larvas III y a veces pupas de *T. panghitruz* la acumulación de almidón es menos evidente posiblemente porque la acción de alimentación de la larva es menos intensa. Esto es acorde a lo indicado por Oliveira, *et al.* (2010), el gradiente de almidón en el tejido de la agalla de cecidómidos es mantenido por la acción de alimentación de la larva y el gradiente desaparece en la agalla senescente.

En las agallas de *T. panghitruz* las células nutritivas hipertrofiadas se disponen en forma discontinua sobre las superficies internas de la cámara larval, similar a lo reportado por Rohfritsch (1999) en agallas foliares. Principalmente en las agallas incipientes, las células nutritivas agrandadas tienen paredes celulares delgadas con abundantes puntuaciones y son fácilmente visibles. Es posible que la larva I obtenga el alimento a través de las puntuaciones de las paredes celulares sin matar a las células nutritivas como fue citado para *Physemocercis hartigi* (Liebel) (Rohfritsch, 1999).

## CONCLUSIONES

*Tetradiplosis panghitruz*. induce agallas uni y multicamerales en los tallos jóvenes de *P. caldenia*. Las agallas son leñosas y el morfotipo de la agalla está caracterizado por engrosamientos del tallo que resultan en estructuras alargadas con simetría radial en agallas multicamerales y con simetría bilateral en agallas uni-bicamerales.

Los estados inmaduros (larva y pupa) de *T. panghitruz* completan su crecimiento y maduración en el interior de las agallas. Cada cámara contiene una larva que atraviesa por tres estadios larvales, las larvas I y II son las que inducen las principales alteraciones en los tejidos vegetales. El adulto emerge a través del orificio de salida. La estrategia del ciclo de vida es de tipo II

B según la clasificación de Yukawa & Rohfritsch (2005), la larva I es el estadio invernante y con mayor duración.

En la ontogénesis de la agalla se suceden los estadios de inicio, crecimiento, maduración y senescencia. En el área de estudio, a principios y mediados del verano se comienzan a ver las agallas incipientes, en otoño, invierno y en la primavera se encuentran las agallas en crecimiento y a fines de la primavera y principio del siguiente verano se observan las agallas maduras y senescentes.

Durante la ontogénesis de la agalla hay alteraciones en el parénquima cortical, en el floema secundario y principalmente en el xilema secundario. Este tejido es el que experimenta las mayores modificaciones, fundamentalmente hay alteraciones en la estructura y en la cantidad relativa de sus tipos celulares. En las agallas incipientes y en crecimiento se identifica claramente un tejido nutritivo y en la agalla en crecimiento se ve la zonación de tejidos especializados característicos en otras agallas de cecidómidos, un tejido nutritivo compuesto por células hipertrofiadas y por capas de tejido parenquimático hiperplásico y un tejido lignificado con funciones protectoras y estructurales.

#### AGRADECIMIENTOS

Quisiéramos expresar nuestro agradecimiento a la Dra. María Teresa Cosa, al Dr. Juan Carlos Tivano y a un revisor anónimo por sus valiosos comentarios sobre el manuscrito. El presente trabajo fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2012-0617) y por la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa (Proyecto N° 246).

#### BIBLIOGRAFÍA

- Abrahamson, W.G., G. Melika, R. Scrafford & G. Csóka. 1998. Gall -inducing insects provide insights into plant systematic relationships. *Am. J. Bot.* 5 (9): 1159-1165.
- Arduin, M. & E.J. Kraus. 1995. Anatomía e ontogenia de galhas foliares de *Piptadenia gonocantha* (Fabales, Mimosaceae). *Bolm. Botânica* 14: 109 - 139.
- Arturi, M. 2005. Situación ambiental en la ecorregión Espinal. En: Brown, A., Martínez Ortiz, U., Acerbi, J. y Corcuera J. *La situación ambiental argentina 2005*. Fundación Vida Silvestre Argentina, pp. 241-246.
- Cabrera A.L. 1976. *Regiones fitogeográficas argentinas*. Acmé, Buenos Aires, 85 pp.
- Cano, E. 1988. *Pastizales Naturales de La Pampa. Descripción de las especies más importantes*. Convenio AACREA-Provincia de La Pampa, Tomo I, 425 pp.
- Carabajal de Belluomini, M.V. & D.C. Fiorentino. 2006. Caracterización fitosanitaria de viveros de *Prosopis alba* (Griseb) en Santiago del Estero. *Quebracho* 13: 93-102.
- Carabajal de Belluomini, M.V., L. Castresana, V. Salim & A. Notario. 2009. The diversity of galls and their occurrence in productive forest systems of *Prosopis alba* (Griseb.) in Santiago del Estero, Argentina. *Bol. San. Veg. Plagas* 35: 255-265.
- Castro, M.A. 1994. *Maderas argentinas de Prosopis. Atlas anatómico*. Secretaría General Presidencia de la Nación Argentina, 101 pp.
- Cook, T.M. 1904. Galls and insects producing them. *The Ohio Naturalist*. IV (6): 115-139.
- Cozzo D. 1951. Anatomía del leño secundario de las leguminosas mimosoideas y cesalpinioideas argentinas silvestres y cultivadas. *Rev. Inst. Nac. Inv. Cs. Nat.* 2 (2): 63-146.
- D' Ambrogio de Argüeso. 1986. *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Ed. Hemisferio Sur S. A., Buenos Aires, Argentina, 83 pp.
- Dorchin, N., A. Freidberg & R. Aloni. 2002. Morphogenesis of stem gall tissues induced by larvae of two cecidomyiid species (Diptera: Cecidomyiidae) on *Suaeda monoica* (Chenopodiaceae). *Can. J. Bot.* 80: 1141-1150.
- Ferraz, F.F.F. & R. F. Monteiro. 2003. Complex interactions involving a gall midge *Myrciomyia maricaensis* Maia (Diptera, Cecidomyiidae), phytophagous modifiers and parasitoids. *Rev. Bras. Zool.* 20 (3): 433-437.
- Gagné R.J. 1994. *The gall midges of the Neotropical Region*. Cornell University Press. 352 pp.
- Kieffer J.J. & P. Jörgensen. 1910. Gallen und Gallentier aus Argentinien. *Centralblatt Bakt. Parasit. und Infekt.* 27: 362-442.
- Kraus, J.E. 2009. Galhas: morfogênese, relações ecológicas e importância econômica. En: Maria Lisiane Tissot-Squalii (Org). *Interações ecológicas & Biodiversidade*. 2 ed. Ijuí (RS): Editora UNIJUI (Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul) v. 1, pp. 59-75.
- Kraus, J.E., M. Arduin & M. Venturelli. 2002. Anatomy and ontogenesis of hymenopteran leaf galls of *Struthanthus vulgaris* Mart. (Loranthaceae). *Rev. Brasil. Bot.* 25 (4): 449-458.
- Kraus, J.E., R.M. Dos Santos Isaias, C. Vecchi & G.W. Fernandes. 2003. Structure of insect galls of two sympatric subspecies of *Chrysothamnus nauseosus* (Pall. Ex Pursh) Britton (Asteraceae). *Bol. Bot. Univ. São Paulo* 21(2): 251-263.
- Maia, V.C. 2012. Colepterous galls from the Neotropical Region. *Pap. Avulsos de Zool.* 52 (15): 175-184.
- Marini-Filho, O.J. & G.W. Fernandes. 2012. Stem galls drain nutrients and decrease shoot performance in *Diplusodon orbicularis* (Lythraceae). *Arth.-Plant Int.* 6: 12-128.
- Martínez J.J. 2009. *Diversidad de Doryctinae (Insecta: Hymenoptera: Braconidae) de la Argentina, con énfasis en las especies más importantes*. Editorial de la Universidad Nacional de La Pampa, 100 pp.

- fasis en las formas gallícolas*. Tesis de Doctorado de la Universidad de Buenos Aires, inédito, 247 pp.
- Martínez J.J., B.M. Corró Molas & G.L. Alfonso. 2013. New species of *Tetradiplosis* (Diptera: Cecidomyiidae) inducing galls on *Prosopis caldenia* (Fabaceae) in Argentina. *Zootaxa* 3702 (6): 587-596
- Méndes de Sá, C.E., F.A. O. Silveira, J.C. Santos, R.M. D.S. Isaias & G.W. Fernandes. 2009. Anatomical and developmental aspects of leaf galls induced by *Schizomyia macropillata* Maia (Diptera: Cecidomyiidae) on *Bauhinia brevipes* Vogel (Fabaceae). *Rev. Bras. Bot.* 32 (2): 319-327.
- Oliveira, D.C. & Isaias, R.M. S. 2010. Redifferentiation of leaflet tissues during midrib gall development in *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae). *S. Afr. J. Bot.* 76: 239-248.
- Oliveira, D.C.; Magalhães T.A.; Carneiro R.G., Alvim M.N. & Isaias, R.M. 2010. Do Cecidomyiidae galls of *Aspidosperma spruceanum* (Apocynaceae) fit the pre-established cytological and histochemical patterns? *Protoplasma* 242 (1-4): 81-93.
- Price P.W., Fernandes G.W. & Waring G.L. 1987. Adaptive nature of insect galls. *Environ. Ent.* 16 (1): 15-24.
- Raman, A. 2007. Insect-induced plant galls of India: unresolved questions. *Current Science* 92 (6): 748-757.
- Raman, A. 2011. Insect-plant interactions: the gall factor. En: Seckbach, J. & Z. Dubinsky (Editores) *All flesh is grass: plant – animal interrelationships*. 2: 121-150. Ed. Springer. Berlín, Alemania.
- Rohfritsch, O. 1999. A so called “rudimentary gall” induced by the gall midge *Physemocelis hartigi* on leaves of *Tilia intermedia*. *Can. J. Bot.* 77: 460-470.
- Rohfritsch, O. 2010. Genesis and development of dipterocercidia. *Atti Acad. Nazion. Ital. Entomol.* 58: 55-66.
- Stone, G.N. & J.M. Cook. 1998. The structure of cynipid oak galls: patterns in the evolution of an extended phenotype. *Proc. R. Soc. Lond.* B 265: 979-988
- Stone, N.G. & K. Schönrogge. 2003. The adaptive significance of insect gall morphology. *Trend. Ecol. Evol.* 18 (10): 512-521.
- Tolentino Campos, P., M.C. Dias Costa, R.M. dos Santos Isaias, A.S. Franco Pinheiro Moreira, D. Coelho de Oliveira, J. Pires de Lemos-Filho. 2010. Phenological relationships between two insect galls and their host plants: *Aspidosperma australe* and *A. spruceanum* (Apocynaceae). *Acta Bot. Bras.* 24 (3): 727-733.
- Tortorelli, L.A. 1956. *Maderas y Bosques Argentinos*. Acme Ed., Buenos Aires, 910 pp.
- Yukawa J. & O. Rohfritsch. 2005. Biology and Ecology of gall-inducing Cecidomyiidae (Diptera). En: A. Raman, C. W. Schaefer, T.M. Withers (Editores), *Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Arthropods*. Vol. 1, pp. 273 – 304. Science Publishers Inc., USA.

Recibido: 4-IX-2013  
 Aceptado: 29-V-2014