

MORFOLOGÍA Y BIOLOGÍA DE LA AGALLA FOLIAR GLOBOIDE INDUCIDA POR UN CECIDÓMIDO (DIPTERA) EN *Neltuma caldenia* (FABACEAE) EN LA PROVINCIA DE LA PAMPA

Corró Molas, Bárbara M.¹@, Martínez, Juan J.^{1,2} y Cornejo, Laura. G.^{1,2}

¹ Universidad Nacional de La Pampa, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Santa Rosa, La Pampa Argentina.

² CONICET

@ bmcormolas@exactas.unlpam.edu.ar

Recibido: 22/03/2023

Aceptado: 26/07/2023

RESUMEN. El caldén es una especie arbórea de ambientes templado-semiáridos y endémica de la Argentina. El objetivo fue estudiar la morfología, desarrollo y biología de la agalla inducida por un cecidómido en el pecíolo y pulvino del caldén. Fueron colectadas hojas con y sin agallas en fragmentos de bosques periurbanos de Santa Rosa, La Pampa. Los cortes histológicos temporarios fueron realizados a mano alzada y los permanentes con micrótopo rotatorio. Fueron examinadas larvas, pupas y adultos del inductor. La formación de la agalla altera la zona de la base foliar y principalmente el pulvino primario. La agalla es globoide, cerrada, castaño amarillo cuando madura, con 1-3 cámaras larvales y constituida por dos partes (superior e inferior). La organización interna en compartimentos de tejidos es acorde a la estructura general de las agallas de cecidómidos. Entre los rasgos distintivos se destacan la formación de súber, la modificación de las células epidérmicas en esclereidas en la zona de contacto entre las dos partes y la dehiscencia. El inductor es un cecidómido univoltino, cumple el ciclo de vida de la primavera de un año a la primavera siguiente, sobrevive en invierno en el interior de la agalla como larva madura, sobre la planta.

PALABRAS CLAVE: Agalla entomógena, Cecidomyiidae, caldén, *Prosopis*.

ABSTRACT. MORPHOLOGY AND BIOLOGY OF GLOBOID LEAF GALL INDUCED BY A CECIDOMYIIDAE (DIPTERA) ON *NELTUMA CALDENIA* (FABACEAE) IN THE PROVINCE OF LA PAMPA. The caldén is an arboreal species of tempered-semiarid environments and endemic to Argentina. The objective of the work was to study the morphology, development, and biology of the gall induced by a cecidomyiid on the caldén leaf. Leaves with and without galls were collected in fragments of peri-urban forests in Santa Rosa, La Pampa. The temporary histological sections were made by freehand and permanent histological sections with a microtome. The larvae, pupae, and adults of the inducer were examined. Gall formation alters the zone of the leaf base and the petiole, mainly the primary pulvinus. The gall is globoid, closed, yellow-brown when mature, with 1-3 larval chambers, and made up of two parts (upper and lower). The internal organization in tissue compartments is consistent with the general structure of the cecidomyiids gall. The distinctive features are the cork formation, the modification of the epidermal cells in sclereids in the contact zone between the two parts, and the dehiscence. The inducer is a univoltine cecidomyiid species that completes the life cycle in one year, from spring to spring, and it survives the winter season inside the gall as a mature larva.

KEY WORDS: Insect gall, Cecidomyiidae, caldén, *Prosopis*.

INTRODUCCIÓN

La agalla es una estructura neoformada sobre la planta que resulta de la acción de un organismo galígeno que altera el patrón de crecimiento y la diferenciación de las células y tejidos vegetales para constituir un

microambiente que le provea protección y nutrición (Isaias et al., 2014; Price et al., 1987; Raman, 2007; Rohfritsch, 1992). Entre los organismos galígenos se destacan los insectos, por la capacidad de controlar y redirigir el patrón de crecimiento de los tejidos vegetales agallados (Fernandes et al., 2012) y por la diversidad y la complejidad de los morfotipos de agallas que inducen, especialmente los himenópteros, dípteros y lepidópteros. En las agallas con mayor complejidad interna como las de himenópteros cinípidos y dípteros cecidómidos,

Cómo citar este trabajo:

Corró Molas, B. M., Martínez, J. J. y Cornejo, L. G. (2023). Morfología y biología de la agalla foliar globoide inducida por un cecidómido (díptero) en *Neltuma caldenia* (Fabaceae) en la provincia de La Pampa. *Semiárida*, 33(1), 39-54.



se distinguen compartimentos especializados bien definidos anatómicamente y funcionalmente, con variaciones citológicas e histoquímicas y tejidos modificados especializados para la nutrición, defensa y protección del inductor (Fernandes et al., 2012; Jayaraman, 1983; Nogueira et al., 2018; Oliveira et al., 2010a; Oliveira & Isaias, 2010; Rohfritsch, 1992; Stone & Schönrogge, 2003).

Por otro lado, las agallas pueden clasificarse en morfotipos, principalmente sobre la base de su morfología externa (Isaias et al., 2013). En general, la forma, el tamaño y la estructura interna son característicos para la especie inductora y algunas propiedades como colores y acumulación de sustancias están asociadas a la planta hospedadora y al órgano o tejido vegetal afectado (Cardoso et al., 2022; Dreger-Jaufret & Shorthouse, 1992; Stone & Cook, 1998; Stone & Schönrogge, 2003).

La estrategia de vida del inductor es otro factor vinculado al desarrollo, caracterización y biología de las agallas. El ciclo de vida del inductor puede estar sincronizado con la fenología de las plantas, con la persistencia del órgano vegetal agallado o con la biología de los parasitoides (Yukawa & Rohfritsch, 2005; Raman, 2011).

En relación a la fauna asociada a las agallas, los organismos involucrados cumplen diferentes roles e intervienen en etapas específicas del desarrollo de la agalla. En el caso de agallas de cecidómidos, los parasitoides e inquilinos invaden las agallas cuando contienen al inductor y, los habitantes oportunistas en general colonizan las agallas cuando están vacías o después de la emergencia del inductor, especialmente en agallas persistentes sobre la planta (Yukawa & Rohfritsch, 2005; Martínez et al., 2013; Almeida et al., 2014).

El caldén *Prosopis caldenia* Burkart (Fabaceae) recientemente ha sido asignado a *Neltuma caldenia* (Burkart) C. E. Hughes & G. P. Lewis sobre la base de estudios filogenómicos (Hughes et al., 2022). Es la especie arbórea dominante en los bosques xerófilos del distrito del Caldén en la ecorregión del Espinal (Burkart et al., 1999). Es una Fabaceae endémica de la Argentina, restringida a la ecorregión Espinal y

con importancia ecológica, turística y socio-económica (Matteucci, 2012). Habita en ambientes templado-semiáridos, formando caldenales discontinuos en el sur de la provincia de San Luis y centro de La Pampa y, conforma pequeños bosquillos o árboles aislados en el centro de San Luis, sur y centro-oeste de Córdoba y sur de Buenos Aires (Inventario, 2007). El árbol alcanza de 5 a 12 metros de altura, desarrolla ramas flexuosas con espinas geminadas en los nudos y braquiblastos laterales tuberiformes. Es una especie caducifolia con hojas bipinnadas, estípulas escamiformes y pulvinos primarios y secundarios. Las ramas jóvenes llevan una hoja tetrayugada por nudo, los braquiblastos llevan hojas uni-biyugadas dispuestas en fascículos (Burkart, 1976; Steibel & Troiani, 1999).

En el caldén, se han registrado agallas inducidas por dípteros cecidómidos en las hojas, tallos, inflorescencia y en estructuras reproductivas como el ovario-fruto inmaduro. En dos de estas agallas se han realizado publicaciones sobre su morfología, desarrollo y biología y, sobre el inductor. La agalla caulinar generada por *Tetradiplosis panghitruz* Martínez es persistente mucho tiempo sobre la planta después de la emergencia del inductor y la agalla foliar inducida por *Rhopalomyia caldeniae* Cornejo y Martínez es formada en los foliólulos y se cae después de la emergencia (Cornejo et al., 2019; Corró Molas et al., 2014; Corró Molas et al., 2017; Martínez et al., 2013).

En el marco de un estudio integral sobre la diversidad de agallas y sus aspectos biológicos en especies leñosas del bosque de caldén en la provincia de La Pampa, el objetivo del presente trabajo es estudiar la agalla foliar inducida por un cecidómido en el pecíolo de la hoja del caldén. Además, en particular, se considera describir el desarrollo y la morfología de la agalla, reconocer el morfotipo, identificar al inductor, aportar información sobre la biología de la agalla y del inductor y obtener datos preliminares sobre la fauna asociada.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en fragmentos de bosque de caldén próximos a Santa Rosa (La Pampa, Argentina, 36°37'16" S, 64°19'28" O).

Morfología y biología de la agalla foliar globoide inducida por un cecidómido (diptera) en *Neltuma caldenia* (Fabaceae) ...

En la zona las estaciones del año son bien marcadas, la amplitud térmica es alta, ocurren heladas, la temperatura media anual varía entre 14 °C y 16 °C, la máxima y mínima anual media son 23,6 °C y 7°C respectivamente, las temperaturas máximas absolutas pueden alcanzar 44,0 °C y las mínimas absolutas pueden ser hasta -13 °C (Cano, 2004, Casagrande et al., 2006, Méndez et al. 2021). El clima en la zona es subhúmedo seco y las lluvias están concentradas en los meses estivales, siendo la precipitación media anual para el período 1980-2018 de 705,4 mm (Méndez et al., 2021).

Para los estudios histológicos fueron colectados 20 braquiblastos con agallas durante verano, primavera, otoño e invierno; la colección de hojas maduras sin agallas se realizó en primavera. Las muestras fueron fijadas en FAA (alcohol 96° - agua destilada - formol - ácido acético glacial en proporción 10:7:2:1) y conservadas en alcohol 70° (D'Ambrogio de Argüeso, 1986).

Para identificar la fauna asociada fueron colectadas a mediados del invierno 138 agallas de las que fueron diseccionadas 159 cámaras. Las agallas están formadas de 1 a 3 cámaras y después de estar expuestas varios meses al ambiente pueden presentar daños físicos, en algunos casos la agalla completa está dañada y en otros casos, una parte o alguna de las cámaras de la agalla está dañada. Así, la información de la fauna asociada fue asociada al número de cámaras diseccionadas que no presentaron daños físicos.

Identificar el sitio de oviposición e iniciación de la agalla es una tarea difícil de lograr en el campo porque no es visible a simple vista y ocurre en un lapso breve, que es la brotación del caldén. Por tal motivo, se concentró la búsqueda en un árbol de caldén seleccionado por presentar gran cantidad de agallas. En el momento de la brotación, fueron colectados brotes cada dos días y examinados minuciosamente con microscopio estereoscópico en laboratorio.

Para obtener una aproximación del tamaño relativo de la agalla unicameral, se midió el ancho máximo de 12 agallas con el inductor vivo en su interior (6 agallas en crecimiento y con la LII, 6 agallas desarrolladas y con la larva III).

Las características anatómicas fueron estudiadas sobre cortes a mano alzada y preparados temporarios de 24 agallas en total (6 de cada estación anual). Estos preparados fueron coloreados con safranina y azul de toluidina en solución acuosa. Para detectar la ubicación histológica de almidón, lignina y taninos se utilizaron los reactivos lugol, cloruro férrico y floroglucina-ácido clorhídrico respectivamente sobre los cortes a mano alzada. Por otro lado, 2 agallas colectadas en la primavera fueron incluidas en parafina, según la técnica convencional (D'Ambrogio de Argüeso, 1986) cortadas con micrótopo Microm HM 310-tipo rotativo y coloreadas con safranina-verde rápido. Durante el procesamiento de estas preparaciones se utilizó Pathoclear® Plus (Biopack®) como sustituto del solvente xileno.

Los adultos del inductor fueron obtenidos de agallas colectadas a fines del invierno y mantenidas en el laboratorio hasta la emergencia. Para identificar al inductor se realizaron preparados microscópicos permanentes en Bálsamo de Canadá natural de larvas y adultos, siguiendo las técnicas propuestas para este grupo de insectos (Gagné, 1994). Se utilizaron las claves de Gagné (1989, 1994, 2018) para la determinación taxonómica de los insectos.

Las observaciones fueron realizadas con microscopios ópticos, LabKlass XSZ-146 AT (muestras vegetales) y Zeiss Primostar (muestras del insecto inductor) y con microscopio estereoscópico Motic SMZ 168 TL. Las fotografías fueron obtenidas con cámara digital Sony 20,4 MP adosada a los instrumentos ópticos.

RESULTADOS

Pecíolo sin agallas

El pecíolo de la hoja bipinnada del caldén posee una glándula circular en el extremo distal, sobre la superficie adaxial y un pulvino primario en el extremo basal. Además, entre el pecíolo y la base foliar se observa externamente la hendidura por donde ocurre la abscisión foliar (Figura 1). Estructuralmente, el pecíolo y el pulvino primario comparten la misma organización general: epidermis uniestrada con



Figura 1. Hoja bipinnada madura del braquioblasto de caldén. Círculo: detalle del pulvino primario y la base foliar. e: estípulas, g: glándula circular, p: pulvino primario, pe: pecíolo, flecha: hendidura por donde ocurre la abscisión foliar. Barra = 1 cm.

Figure 2. Mature bipinnate leaf of the caldén brachyblast. Circle: detail of the primary pulvinus and the leaf base. e: stipules, g: circular gland, p: primary pulvinus, pe: petiole, arrow: slit through which leaf abscission occurs. Bar = 1 cm.

tricomas filiformes unicelulares y cutícula gruesa, corteza, anillo central de tejidos vasculares y médula (Figuras 2A-H). En particular, en el pecíolo se observan estomas, una a dos capas de colénquima subepidérmico más desarrollado en la superficie abaxial, parénquima cortical diferenciado en un parénquima periférico fotosintético, un parénquima fundamental con células taníferas

dispersas y un parénquima interno perivascular formado por 1-2 estratos de células con amiloplastos y cristales prismáticos (Figuras 2A, C, E, G). Varias capas de fibras lignificadas circundan a los tejidos vasculares que forman un anillo alrededor de una médula parenquimática estrecha y en general, lignificada (Figuras 2A, G). Hacia la cara adaxial se encuentran 2-3 haces vasculares colaterales pequeños, con casquetes de fibras lignificadas (Figura 2A).

En el pulvino primario, se observa la epidermis sin estomas y la corteza, más amplia y uniforme que en el pecíolo. El parénquima cortical es más homogéneo que el del pecíolo y puede contener antocianos. En la corteza se diferencia un parénquima uniforme tanífero con células grandes y en 1-2 dos estratos más internos de células con amiloplastos y cristales prismáticos (Figuras 2B, D, F). Los tejidos vasculares, dispuestos en anillo, están rodeados por una vaina perivascular de tejido esclerenquimático no lignificado. En corte longitudinal estas células esclerenquimáticas con paredes celulares gruesas, son largas como las fibras. La médula es más amplia que en el pecíolo y, en general, está poco o no lignificada (Figuras 2B, H).

Los taninos fueron detectados en algunas células epidérmicas, células de los radios medulares, células del floema, en la médula y, principalmente, en células del parénquima cortical del pecíolo y del pulvino primario. El almidón fue detectado, principalmente, en células parenquimáticas adyacentes al anillo esclerenquimático perivascular en el pecíolo y el pulvino. La lignina en el pecíolo fue detectada en el xilema, el anillo esclerenquimático perivascular y en los casquetes de los haces, mientras que en el pulvino primario, sólo en el xilema.

Inductor y Agalla

El insecto inductor de la agalla estudiada es univoltino, su ciclo de vida se desarrolla desde una primavera a la primavera del año siguiente. La especie se encuentra en proceso de descripción, corresponde a la familia Cecidomyiidae supertribu Lasiopteridi y muy probablemente a un género inédito (Insecta, Diptera). El ciclo de vida del inductor

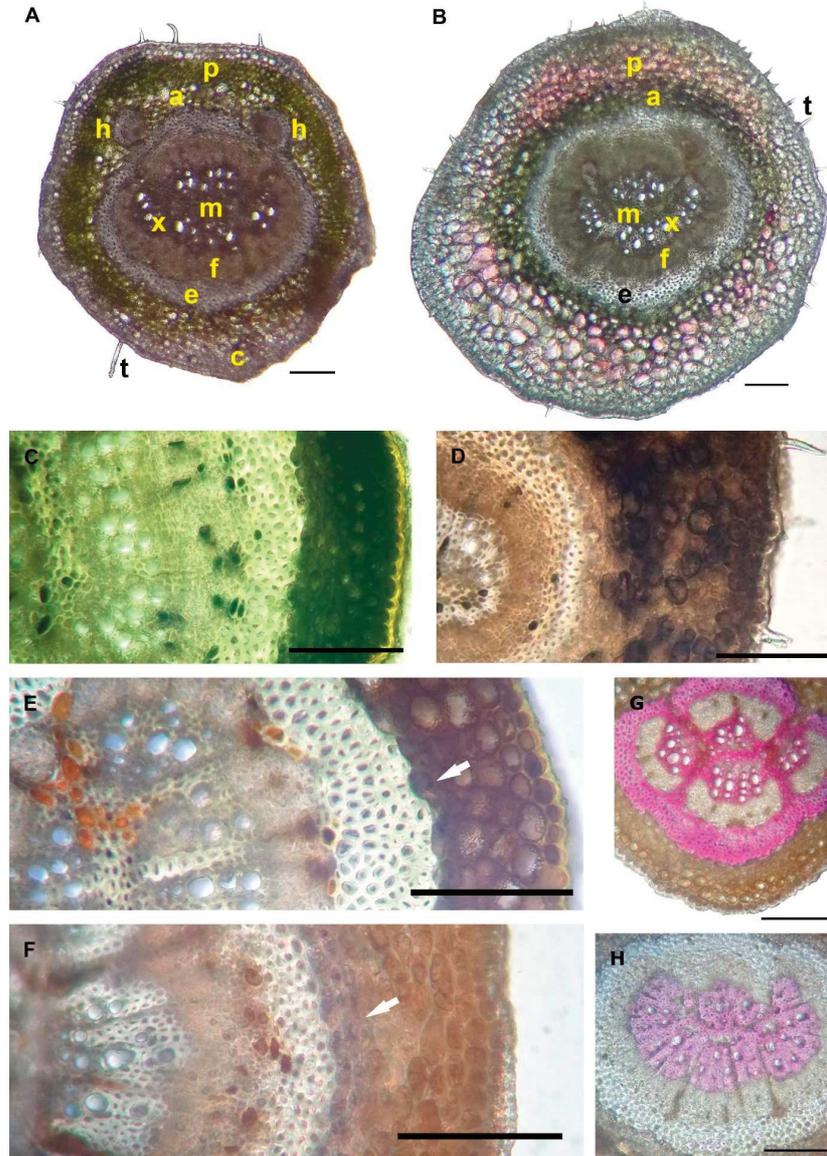


Figura 2. Cortes transversales de pecíolo y pulvino primario sin agallas y detección histoquímica de metabolitos. A: Pecíolo; B: Pulvino primario; C y D: reacción de cloruro férrico para detectar taninos, en pecíolo (C) y en pulvino primario (D); E y F: reacción de lugol para detectar almidón (flechas), en pecíolo (E) y en pulvino primario (F); G y H: Reacción de floroglucina-ácido clorhídrico para detectar lignina en pecíolo (G) y en pulvino primario (H). a: parénquima amilífero, c: colénquima, e: vaina perivascular esclerenquimática, f: floema, h: haces colaterales, m: médula, p: parénquima cortical, t: tricoma, x: xilema. Barras = 100 μ m.

Figure 2. Cross sections of petiole and primary pulvinus without galls and histochemical detection of metabolites. A: Petiole, B: primary pulvinus, C and D: ferric chloride reaction to detect tannins, in petiole (C) and in primary pulvinus (D), E and F: Lugol reaction to detect starch (arrows), in petiole (E) and in primary pulvinus (F), G and H: phloroglucin-hydrochloric acid reaction to detect lignin in petiole (G) and in primary pulvinus (H). a: starchy parenchyma, c: collenchyma, e: sheath perivascular sclerenchyma, f: phloem, h: collateral bundle, m: pith, p: cortical parenchyma, t: trichome, x: xylem. Bars = 100 μ m.

Corró Molas, B. M., Martínez, J. J. y Cornejo, L. G.

comprende los estados de huevo, larva (larva I, II y III), pupa y adulto. Los estados de larva y pupa se desarrollan dentro de la agalla. Luego de la emergencia del adulto, la agalla persiste vacía en la planta. En el área de estudio, la larva I se observa a principios de la primavera, la larva II hasta finales del verano, la larva III alcanza su madurez durante el otoño y permanece durante todo el invierno en el interior de la agalla. La pupa comienza a desarrollarse entre finales del invierno e inicio de la primavera, se trata de un estado breve ya que rápidamente comienzan a emerger los adultos.

Las agallas se encuentran únicamente en las hojas de los braquiblastos y, usualmente, hay varias agallas en cada braquiblasto (Figura 6A). La mayoría están desarrolladas en el extremo basal del pecíolo y la base foliar. Con menor frecuencia se encuentran en el extremo distal del pecíolo y, excepcionalmente, en el raquis y peciólulos de la hoja (Figuras 3A, B). En general, se forma una agalla por hoja, aunque pueden observarse dos o tres (Figura 3B). Cada agalla puede contener de 1 a 3 cámaras con una larva inductora por cámara. Una agalla unicameral que ha completado su desarrollo y contiene a la larva III alcanza en promedio 2,31 mm de ancho máximo. En la mayoría de las agallas unicamerales, el eje mayor de la cámara

se orienta aproximadamente perpendicular al eje longitudinal del pecíolo.

El inicio de la agalla ocurre a principios de la primavera en las hojas jóvenes, pequeñas y en desarrollo (Figura 4A). Si bien no fue posible observar la oviposición, se pudo observar a la larva I sobre la superficie epidérmica del pecíolo, en los primeros momentos de la inducción. La larva I induce la proliferación de las células epidérmicas y subepidérmicas próximas, de manera que se forman dos proyecciones lobuladas sobre la larva, una superior y otra inferior (Figura 4B, C). A medida que las proyecciones crecen y rodean a la larva llegan a tocarse por los bordes dejando en el interior un espacio, la cámara larval. En este momento, la agalla es perceptible a simple vista, presenta color verde claro brillante y consistencia carmosa y turgente por su alto contenido de agua. Su aspecto general es globoso porque las partes superior e inferior juntas forman una unidad y se encuentran firmemente unidas sin estar fusionadas (Figuras 5A, B). En general, la agalla unicameral tiene forma esférica a subsférica (Figuras 5A, B y 6B-E), mientras que las agallas con dos y tres cámaras tienden a ser más anchas y aplanadas (Figuras 4D, E). Externamente, la zona de contacto entre las partes superior e inferior

queda definida en el área ecuatorial de la agalla y se identifica a simple vista a modo de una hendidura o surco. Este surco recorre la circunferencia de la agalla sin cerrar el círculo, es decir, es incompleto (Figuras 6B-E). La parte superior de la agalla, con forma de protuberancia convexa, funciona a modo de tapa de la cámara larval y la parte inferior contiene la porción más cóncava de la cámara (Figuras 6E) y los tejidos vasculares característicos del pecíolo. La cámara larval en sección longitudinal presenta contorno elíptico y en sección transversal aproximadamente plano cóncavo (Figuras 5C, D), el techo varía de



Figura 3. Hojas bipinnadas maduras de caldén con agallas. A: agalla en el raquis; B: dos agallas en los extremos basal (pulvino primario) y apical del pecíolo. Barras: A = 2 cm, B = 1 cm.

Figure 3. Caldén bipinnate leaves with galls. A: gall on the rachis; B: two galls at the basal (primary pulvinus) and apical ends of the petiole. Bars: A = 2 cm, B = 1 cm.

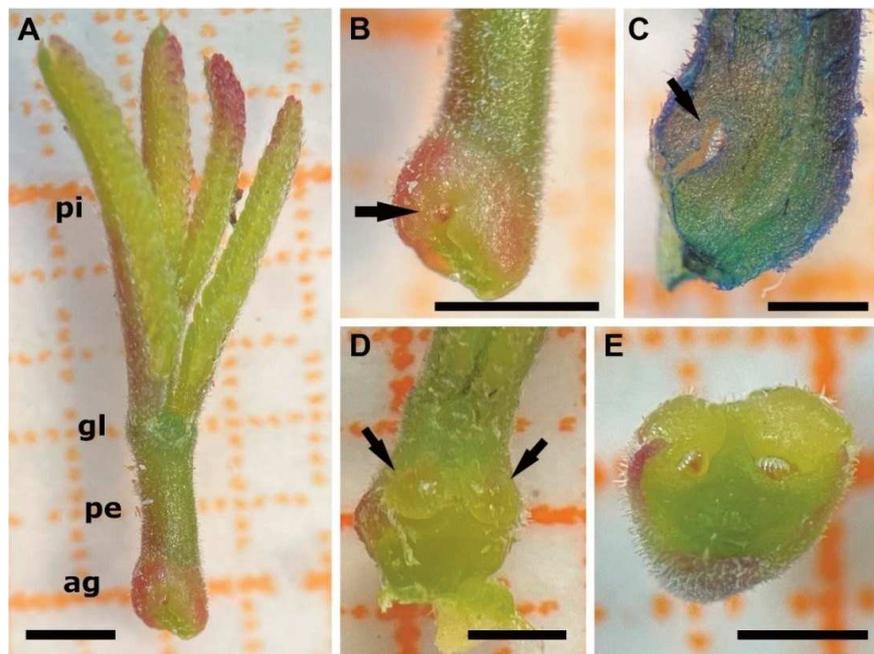


Figura 4. Agallas en crecimiento sobre hojas en desarrollo. A-C: agalla unicameral; A: agalla en la zona del pulvino primario, en el extremo basal del peciolo; B: detalle de agalla y la larva (flecha) expuesta, el color rosado se debe a la presencia de antocianos; C: corte superficial y longitudinal para observar la larva (flecha) y la cámara larval en formación, tinción con azul de toluidina para generar contraste; D y E: agalla bicameral; D: agalla vista de frente con la parte superior (flechas); E: se retiró parte de la agalla para observar la ubicación de las larvas. ag: agalla, gl: glándula central del peciolo, pe: peciolo, pi: pinna. Barras: A, B, D, E = 1 mm, C = 5 μ m.

Figure 4. Galls growing on developing leaves. A-C: unicameral gall; A: gall in the area of the primary pulvinus, at the basal end of the petiole; B: detail of the gall and the larva (arrow) exposed, the pink color is due to the presence of anthocyanins; C: superficial and longitudinal section to observe the larva (arrow) and forming larval chamber, stained with toluidine blue for contrast; D and E: bicameral gall; D: gall seen from the front with the upper part (arrows); E: part of the gall was removed to observe the location of the larvae. ag: gall, gl: central petiole gland, pe: petiole, pi: pinna. Bars: A, B, D, E = 1 mm, C = 500 μ m.

plano a levemente convexo y el piso es cóncavo. En el corte transversal de la agalla joven se observa la cutícula gruesa, la epidermis con tricomas unicelulares, una amplia zona cortical con escasos espacios intercelulares adyacente a grandes células parenquimáticas con paredes celulares finas hacia el interior de la agalla. A continuación, se observa una zona más interna de células parenquimáticas con paredes celulares gruesas, algunas lignificadas, que forman una vaina pluriestrata alrededor de un abundante tejido parenquimático uniforme y compacto que constituye la pared de la cámara larval en contacto con la larva. El sistema vascular, en la parte inferior de la agalla consta de los haces vasculares del peciolo dispuestos en semicírculo con casquetes de fibras

lignificadas y, en la parte superior de la agalla, se observan pequeños haces vasculares incluidos en el parénquima cortical más interno, dispersos alrededor de la cámara. A nivel de la hendidura o surco, las células epidérmicas en la zona de contacto de las proyecciones superior e inferior adquieren formas con extremos libres aguzados que se complementan una con otra, conformando un ajuste o cierre (Figuras 5D, 7D). La epidermis de la agalla en vista superficial presenta contornos celulares rectilíneos, paredes celulares gruesas y ausencia de estomas. En las células epidérmicas y las parenquimáticas subepidérmicas se detectó la presencia de taninos y de lignina, en el parénquima cortical se observaron cristales (Figura 5C). La agalla unicameral colectada a

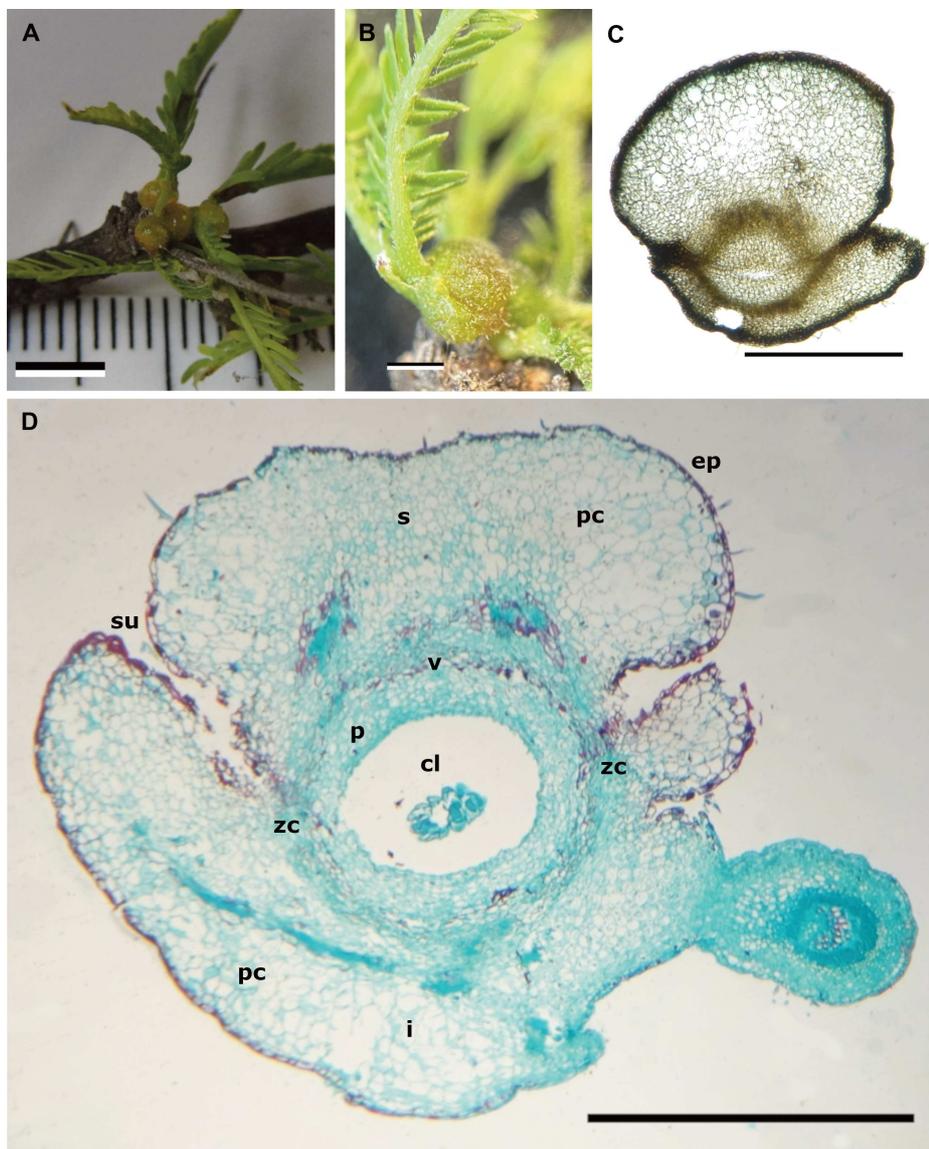


Figura 5. Agallas en la fase de crecimiento y desarrollo. A-C: agallas color verde claro en hojas jóvenes; A, B: aspecto general; C: corte transversal de la agalla a mano alzada con la reacción de cloruro férrico, en negro los taninos; D: corte transversal con micrótopo de la agalla en hoja madura, tinción safranina-verde rápido. ep: epidermis, cl: cámara con la larva, i: parte inferior de la agalla, p: parénquima de la pared de la cámara, pc: parénquima cortical, s: parte superior de la agalla, su: surco, v: zona que dará lugar a la vaina esclerenquimática, algunas células ya poseen lignina en las paredes celulares, zc: zona de contacto. Barras: A = 5 mm, B-D = 1 mm.

Figure 5. Galls in the growth and development phase. A-C: light green galls on young leaves; A, B: general aspect; C: freehand cross section of gall with ferric chloride reaction, tannins in black; D: microtome cross section of gall, safranin-fast green staining. ep: epidermis, cl: chamber with the larva, i: lower part of the gall, p: parenchyma of the chamber wall, pc: cortical parenchyma, s: upper part of the gall, su: groove, v: zone that will give rise to the sclerenchyma sheath, some cells already have lignin in the cell walls, zc: contact zone. Bars: A = 5 mm, B-D = 1 mm.

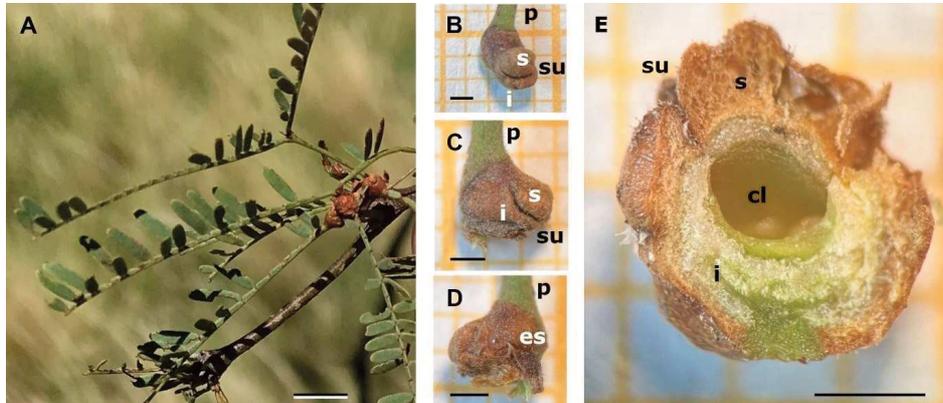


Figura 6. Agallas color castaño amarillo en hojas maduras. A: aspecto general; B-D: agalla unicameral; B: vista de frente; C-D: vista lateral; E: agalla unicameral en corte transversal. cl: cámara larval, es: estípula persistente en la agalla, i: parte inferior de la agalla, p: peciolo, s: parte superior de la agalla, su: surco. Barras: A = 1 cm, B-D = 1 mm.

Figure 6. Light yellow-brown galls on mature leaves. A: general aspect; B-C: single chambered gall; B: front view; C-D: side view; E: single-chambered gall in cross section. cl: larval chamber, es: persistent stipule on gall, i: lower part of gall, p: petiole, s: upper part of gall, su: groove. Bars: A = 1 cm, B-D = 1 mm.

mediados de la primavera con la larva II en el interior en promedio alcanzó 2,02 mm de ancho.

A inicios del verano, la agalla es color castaño-amarillo claro (Figuras 6A-E). A medida que avanza el verano, la epidermis y el parénquima subepidérmico acumulan más taninos, el parénquima cortical, muy extenso en la parte superior, adquiere consistencia seca y las células mueren (Figura 7A). Hacia el límite interno de la corteza, se observa en dirección a la cámara un parénquima amilífero y a continuación hacia la periferia, se observan células parenquimáticas en hileras ordenadas formando capas, similar a la disposición estratificada típica del súber (Figura 7B). Las células parenquimáticas lignificadas aledañas a la pared de la agalla se transforman en esclereidas que conforman una vaina esclerenquimática (Figuras 7A, B). El parénquima que forma la pared de la cámara larval presenta variaciones en sus células, las más alejadas o periféricas tienen cristales y abundantes amiloplastos, las células más próximas a la luz de la cámara larval presentan citoplasma denso, pocos a muy escasos amiloplastos y núcleo grande, toda la pared constituye el tejido nutritivo para la larva del inductor (Figuras 7A-C). En la zona de contacto o cierre, las células epidérmicas con extremos

aguzados que se complementan ya presentan sus paredes engrosadas y lignificadas (Figuras 7A, E).

En las agallas analizadas desde finales del verano y hasta el otoño-invierno se observa una sucesión de modificaciones histológicas en concomitancia con la transformación de la larva II a la larva III del inductor. Entre los cambios histológicos más importantes se observa el aplastamiento de muchas de las células nutritivas para formar una capa compacta en contacto con la larva III, la disminución de amiloplastos y el aumento de la distinción del aspecto estratificado del súber. La larva III madura ocupa todo el espacio de la cámara a diferencia de la larva II, que es de menor tamaño, no oblitera la cavidad y puede desplazarse por el interior de la cámara larval. En otoño los foliólulos y raquis caen, pero las agallas persisten en la planta durante el invierno (Figura 8A). En las hojas con la agalla desarrollada en el extremo basal del peciolo, se pierde la hendidura entre la base foliar y el peciolo que es por donde ocurre la abscisión en la hoja sin agalla. Las estípulas pueden persistir visibles en la parte inferior de la agalla.

En el momento de la emergencia del adulto, las partes superior e inferior de la agalla son

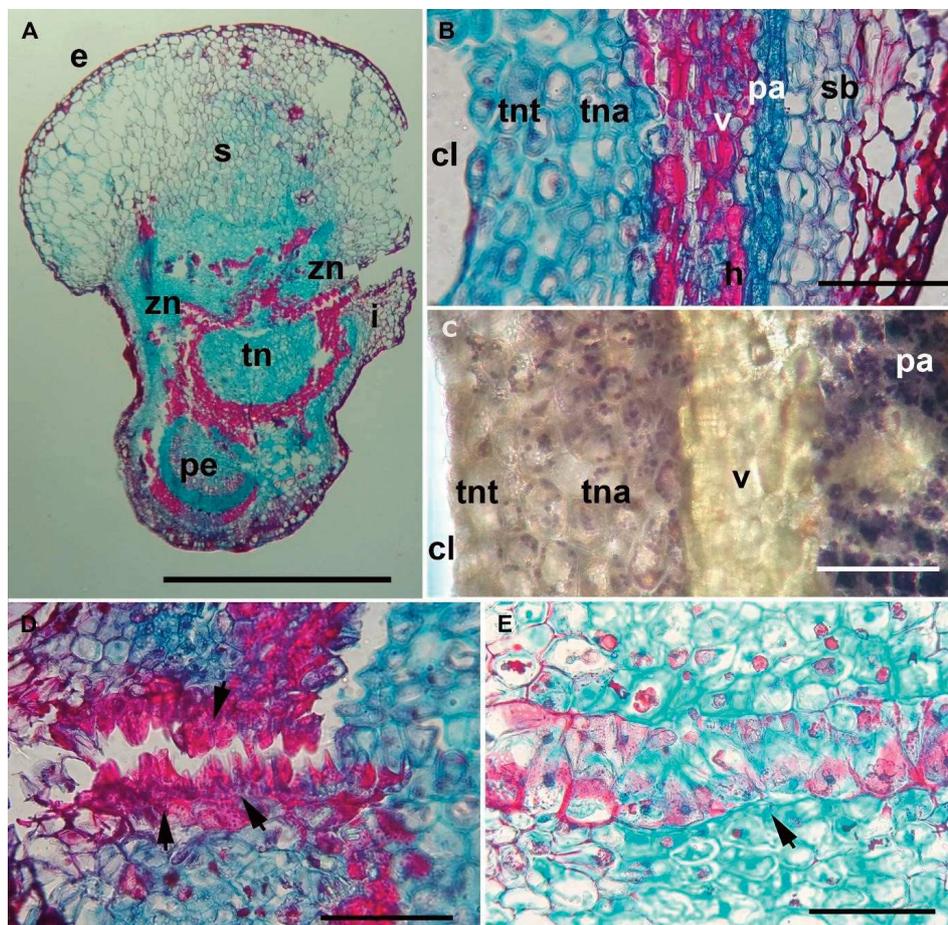


Figura 7. Agallas en diferenciación y maduración, corte transversal, A-D: agalla madura; E: agalla que continúa en proceso de diferenciación; A: aspecto general; B: detalle de la pared de la agalla; C: detalle del tejido nutritivo con la reacción positiva de lugol, el almidón contenido en amiloplastos; D-E: zona de contacto o cierre entre las partes superior e inferior con las células epidérmicas modificadas; D: células con extremos libres aguzados y paredes celulares lignificadas (flechas); E: células epidérmicas con extremos aguzados y paredes celulares finas (flecha). cl: cámara larval, e: epidermis, h: tejidos vasculares, pa: parénquima amilífero, pe: tejidos vasculares del peciolo; s: parénquima cortical de la parte superior, sb: súber, v: vaina esclerenquimática con cristales, tn: tejido nutritivo, tna: tejido nutritivo amilífero, tnt: tejido nutritivo típico, zn: zona de contacto. Barras: A = 1000 μ m, B-E = 100 μ m.

Figure 7. Cross section of galls in in differentiation and mature phase. A-D: mature gall; E: gall in differentiation process; A: general aspect; B: detail of the gall wall; C: detail of the nutritive tissue with the lugol reaction, the starch contained in amyloplasts; D-E: zone of contact or closure between the upper and lower parts with modified epidermal cells; D: cells with sharp free ends and lignified cell walls (arrows); E: epidermal cells with thin cell walls (arrow). cl: larval chamber, e: epidermis, h: vascular tissues, pa: starchy parenchyma, pe: vascular tissues of the petiole; s: upper cortical parenchyma, sb: cork, v: sclerenchyma sheath with crystals, tn: nutritive tissue, tna: starchy nutritive tissue, tnt: typical nutritive tissue, zn: contact zone. Bars: A = 1000 μ m, B-E = 100 μ m.

separadas por la presión que ejerce el inductor. La exuvia del insecto queda en la abertura generada en la agalla y el adulto abandona la agalla (Figura 8B).

En las hojas agalladas, en general la lámina foliar bipinnada mantiene las características morfológicas observadas en las hojas sin agallas, a veces con pinnas de menor tamaño. Sin embargo,

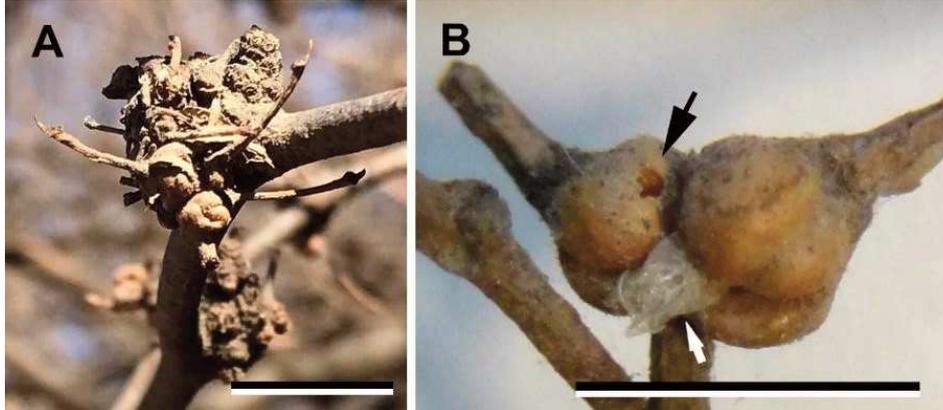


Figura 8. Agallas en invierno. A: aspecto general; B: dos agallas, una agalla con la exuvia del inductor después de la emergencia (flecha blanca) y la otra agalla tiene un orificio de salida de un ocupante no inductor (flecha negra). Barras = 5 mm.

Figure 8. Galls in winter. A: general aspect; B: two galls, one gall with the exuviae (white arrow) of the inducer after emergence and the other gall has an exit hole (black arrow) from a non-inducer occupant. Bars = 5 mm.

se observan modificaciones exomorfológicas notorias por el acortamiento o la ausencia del peciolo y la ausencia del pulvino primario.

De las 159 cámaras de agallas maduras inspeccionadas a mediados del invierno, se observó que sólo en 4 cámaras se encontraron larvas III del inductor. Por otra parte, 142 cámaras estaban vacías y 13 contenían larvas y pupas de insectos no inductores. Los insectos no inductores encontrados fueron identificados como larvas de curculiónidos (Coleoptera) y de especies no identificadas de parasitoides de diversas familias del orden Hymenoptera. En la parte superior seca de la agalla se encontraron ácaros (Chelicerata, Acari). En estas agallas con otros organismos no inductores, no se observaron diferencias exomorfológicas con las agallas producidas por el inductor cecidómido

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En el caldén, la estructura anatómica del peciolo y pulvino primario sin agalla y el contenido de taninos y cristales en partes foliares son similares a los descritos en otras especies de *Neltuma* (Meyer & Morton, 1971; Vilela, 1993; Corró Molas et al., 2017; Gómez et al., 2019; Hughes et al., 2022). La vaina perivascular no lignificada en el pulvino primario coincide con las observaciones en otras Fabaceae (Rodrigues &

Machado, 2004, 2006).

Durante el desarrollo de la agalla estudiada, los cambios inducidos más significativos fueron en la estructura, función y contenido de sustancias de las células de la epidermis y del parénquima de la corteza. Las transformaciones histológicas observadas, como la lignificación de células epidérmicas en la zona de contacto o cierre y de las células parenquimáticas que conforman las esclereidas de la vaina esclerenquimática, revelan el control que ejerce el inductor sobre la rediferenciación de los tejidos del huésped y la histolocalización de metabolitos primarios y secundarios (Bragança et al., 2017; Isaías et al., 2014).

La agalla en la hoja de *N. caldenia* corresponde según la forma al morfotipo globoide (Isaías et al., 2013) y es inducida por una especie univoltina de díptero cecidómido perteneciente a la supertribu Lasiopteridi (Gagné 1989, 1994, 2018). En el área de estudio, la estrategia de vida del inductor coincide con la estrategia tipo IIA de Yukawa y Rohfritsch (2005) pues, las larvas maduran lento, alcanzando la madurez antes del invierno. Los adultos emergen en la primavera con la brotación de las hojas del caldén. Esta sincronización permite al inductor contar con el recurso para la formación de la agalla (Rohfritsch, 1992).

Corró Molas, B. M., Martínez, J. J. y Cornejo, L. G.

En las plantas caducifolias, los insectos inductores de agallas en general transcurren el periodo invernal en el suelo, pero en algunos casos la agalla con el inductor en el interior sobrevive el período invernal sobre la planta (Yukawa & Rohfristch, 2005). Tal es el caso de la agalla globoide en el caldén, donde el desarrollo de esta altera la zona de abscisión foliar y la agalla no cae. El sitio específico en la hoja donde se desarrolla la agalla (base foliar, peciolo o pulvino) sería determinante para la persistencia de la agalla en la planta. Esto no ocurre con la otra agalla foliar del caldén inducida en los foliólulos por el cecidómido *Rhopalomyia caldeniae*, una especie multivoltina cuya última generación de cada temporada cae al suelo en estado de larva madura por efecto de la abscisión foliar (Cornejo et al., 2019; Corró Molas et al., 2017).

La estructura interna de la agalla analizada es acorde con las características descritas en otras agallas de cecidómidos (Costa et al., 2018; Isaias et al., 2014; Mishra & Patni, 2015; Nogueira et al., 2018; Rohfristch, 1992) tales como la distinción de zonas de tejidos especializados en compartimentos dispuestos alrededor de la cámara larval y el desarrollo en fases (inducción, crecimiento y diferenciación, maduración y dehiscencia).

La transición entre dichas fases es gradual, principalmente entre las dos primeras. En la fase de inducción, comienza la formación de la agalla y se establecen las primeras condiciones que conducirán a que la agalla desarrolle la forma globoide y cerrada. Se produce el inicio del crecimiento diferencial de los tejidos próximos a la larva y la orientación de la cámara larval con su eje mayor aproximadamente perpendicular al eje longitudinal del peciolo. Posiblemente, la posición particular de la larva I sobre la epidermis y el comportamiento de alimentación estén relacionados (Formiga et al., 2011; Isaias et al., 2014; Jayaraman, 1983; Rohfristch, 1992). Las agallas analizadas en el caldén son inducidas únicamente en las hojas de los braquiblastos, mostrando un proceso de selección del recurso y del sitio de oviposición por parte del galígeno (Kraus, 1996; Raman et al., 2005). En la brotación de la especie, las pequeñas hojas jóvenes del braquiblasto forman un conjunto compacto que no

ocurre con una única hoja o lámina. Esta condición foliar posiblemente otorgue sombra y aporte mayor protección contra los factores ambientales a la larva I que está más expuesta en las primeras etapas de la fase de inducción. Factores como la lluvia, el viento, la desecación y los predadores son críticos para la larva en las primeras etapas del proceso de iniciación de la agalla (Rohfristch, 1992). Similar propuesta ha sido publicada para otras agallas de cecidómidos, donde la hoja joven plegada podría conferir protección al huevo y a la larva (Birch et al., 1992).

En la fase de crecimiento y diferenciación se observa la mayor cantidad de cambios morfológicos y estructurales, algunos de los cuales son perceptibles a simple vista como la apariencia de la agalla. Se produce un incremento del tamaño de la agalla, logrando su forma globoide. Además, se profundiza el surco ecuatorial, demarcando claramente las partes superior e inferior. La consistencia de la agalla, carnosa y el color verde claro, pasan a una consistencia seca y color castaño-amarillo.

Desde el punto de vista estructural e histológico, los tejidos más internos alrededor de la cámara larval forman tres compartimentos o zonas bien definidos. El compartimento más externo formado por la epidermis y el parénquima cortical cumple diversas funciones a medida que el desarrollo de la agalla progresa, especialmente en la parte superior de la agalla. En las primeras etapas, cuando la agalla es verde claro, el parénquima cortical es activo fotosintéticamente y reserva agua, esto podría facilitar la provisión de recursos para los tejidos que están alejados de los tejidos vasculares, contribuiría a mantener condiciones microambientales favorables en el interior de la agalla y podría participar en la expansión de la parte superior. El contenido de agua del parénquima ha sido observado como reserva de agua en agallas de ambientes secos (Nogueira et al., 2018) y el efecto de la turgencia podría ayudar a alcanzar la forma en una agalla en formación (Martini et al., 2020). Cuando la parte superior de la agalla adquiere una consistencia seca y color castaño amarillo, los taninos y lignina que se localizan en los tejidos periféricos (epidermis y parénquima subepidérmico), podrían

contribuir a la defensa y protección (Mishra & Nogueira et al., 2018; Patni, 2015). Específicamente, la lignina confiere a los tejidos vegetales resistencia a la compresión, rigidez ante la flexión, impermeabilización y defensa (Evert, 2008). En particular, su presencia en los tejidos más periféricos de la agalla podría reforzar la integridad y el soporte físico de la porción más externa de la cubierta de la agalla que durante la época invernal y sin la cobertura foliar, estaría más expuesta a daños superficiales por agentes abióticos y bióticos.

En la agalla globoide, la presencia de súber constituido por capas de células en hileras es una característica anómala muy singular que no ocurre en la hoja del caldén sin agalla. En este sentido el súber podría ser considerado como un tejido ectópico acorde al felógeno ectópico descrito en una agalla caulinar (Jorge et al., 2022). Por otro lado, en la agalla estudiada, el súber tiene un origen profundo en los tejidos agallados y los tejidos que quedan por fuera, parénquima y epidermis, que terminan muriendo, permanecen en la agalla formando una importante y gruesa cubierta protectora. Esto no ocurre en otras agallas foliares de cecidómidos donde la epidermis es reemplazada por la formación superficial de felógeno y peridermis (Kraus, 1996; Albert et al., 2013). En la agalla globoide, esta gruesa cubierta compuesta por súber-parénquima-epidermis podría aumentar las propiedades de aislación e impermeabilización características del súber en las plantas (Evert, 2008) y constituir un rasgo con valor adaptativo para este galígeno (Stone & Schönrogge, 2003).

El siguiente compartimento está constituido por esclereidas lignificadas y comprende a la vaina esclerenquimática concéntrica a la pared de la cámara larval. Podría aportar el soporte físico del cuerpo de la agalla y contribuir a la protección mecánica, tal como ha sido observado en otras agallas de cecidómidos (Corró Molas et al., 2017; Costa et al., 2018; Jayaraman, 1983; Kraus et al., 1996; Mishra & Patni, 2015; Rohfritsch, 1992). Por otro lado, la continuidad entre la vaina esclerenquimática y las esclereidas de la zona de contacto o cierre, a modo de una barrera lignificada, podría asegurar la aislación del espacio interno de la cámara y mantener al

inductor en condiciones de humedad adecuadas (Formiga et al., 2011).

El último compartimento compuesto por el tejido nutritivo para el insecto inductor tiene aspecto uniforme y posee diferenciación en el contenido celular de almidón. Las células más periféricas constituyen el tejido nutritivo amilífero con funciones de reserva y las células más próximas a la larva con escaso a nulo contenido de almidón, constituyen el tejido nutritivo típico. Esta especialización de la capa de tejido nutritivo (Bronner, 1992) y el gradiente de almidón desde la periferia hacia la cavidad de la cámara larval se ha registrado en otras agallas de cecidómidos (Bragança et al., 2017; Oliveira et al., 2010b). Según Costa et al. (2018) y Rohfritsch, (1992) el tejido nutritivo deriva de la transformación de la epidermis y del parénquima subepidérmico cuando la larva I no atraviesa la epidermis, sino que es envuelta por estos tejidos.

En la agalla, el almidón se acumula en células a ambos lados de la vaina de esclerenquimática, en proximidad a los tejidos vasculares neoformados, similar a la ubicación perivascular del almidón en el peciolo-pulvino primario no agallados. En otra agalla foliar se observó una disposición similar (Bragança et al., 2017). Estos tejidos amilíferos en la agalla podrían cumplir un rol en el mantenimiento de los tejidos vivos, especialmente durante el inicio de la época invernal y, del tejido nutritivo típico que en esta agalla debe suministrar alimento a la larva durante un tiempo prolongado (Bronner, 1992; Rohfritsch, 1992; Nogueira et al., 2018).

En la fase de maduración se mantiene la forma, el color de la agalla y la consistencia seca del parénquima cortical, se hace más notoria la estratificación del súber y comienza la reducción y el aplastamiento de la pared de la cámara larval. En la agalla madura con el tejido nutritivo activo se encuentra a la larva II, que luego da lugar a la larva III. Posiblemente, en las etapas finales del estadio de la larva III, ésta tenga una escasa a nula actividad de alimentación. Esto podría conducir a que el tejido nutritivo deje de ser activo, pierda sus características (Raman, 2011) y adopte otra función como protección y aislación, tal como ha observado Kraus et al. (1996). Por otro lado, en esta agalla, el conjunto de las características

Corró Molas, B. M., Martínez, J. J. y Cornejo, L. G.

mencionadas podría contribuir a mantener la agalla en buen estado físico, especialmente en relación con el soporte mecánico e integridad física del cuerpo de la agalla y aumentaría las funciones de aislación, defensa y protección para asegurar la supervivencia del inductor durante los meses invernales.

En la fase de dehiscencia ocurre la emergencia y salida del adulto por el desacople de las células especializadas de la zona de contacto o cierre. Estas células especializadas logran un acoplamiento perfecto entre las dos partes (superior e inferior) y facilitan una dehiscencia mecánica no espontánea, coincidiendo con lo observado en la agalla bivalva del caldén inducida por *R. caldeniae* (Corró Molas et al., 2017, Cornejo et al., 2019). Esta especialización celular no fue registrada en otra agalla bivalva inducida por el cecidómido *Contarinia bivalviae* sobre la Fabaceae *Acacia catechu*, donde la dehiscencia también ocurre por separación de las partes (Jayaraman, 1983).

El modelo de desarrollo de la agalla estudiada es consistente en forma general, con el modelo de la agalla de cecidómidos denominada de cobertura ("covering gall") (Rohfritsch, 1992), pero con algunas modificaciones. Según este modelo, la larva ubicada externamente sobre la epidermis es rodeada y cubierta por el crecimiento de los tejidos vegetales próximos que se extienden a su alrededor a modo de proyecciones delimitando la cámara larval y el ostiolo. En la agalla estudiada se observa carencia del ostiolo, siendo una agalla cerrada. En ambientes secos, semiáridos una agalla cerrada podría contribuir a mantener las condiciones abióticas internas favorables para el desarrollo del inductor (Stone & Schönrogge, 2003). Otra diferencia es que las proyecciones alrededor de la larva son desiguales, especialmente en tamaño y posición, la parte superior es mayor y más gruesa que la parte inferior. La parte superior es la porción de la agalla que queda más expuesta a la radiación solar y al ambiente. Como fue mencionado anteriormente, el ciclo de vida del inductor es largo y la agalla activa permanece en la planta un año, ambas características exponen mayor tiempo al inductor al ataque de parasitoides (Yukawa & Rohfritsch, 2005) y a daños producidos por agentes abióticos.

Posiblemente, una parte superior engrosada podría funcionar como una barrera que dificulte el acceso a otros ocupantes y provea protección ante los factores abióticos durante el largo ciclo de vida. A pesar de ello, y si bien en este trabajo no se realizaron estudios específicos para identificar las causas de mortalidad, a finales del invierno se encontró un alto porcentaje de cámaras larvales cerradas vacías, esto es 89,3 %, el 2,5 % contenían a la larva III y el 8,2 % poseía inquilinos y parasitoides.

Con relación a la fauna asociada a las agallas, en este trabajo, se examinaron sólo agallas anteriores a la emergencia y los roles identificados tales como parasitoides (larvas de himenópteros) e inquilinos (larvas de curculiónidos) coinciden con los registrados en otras agallas del caldén (Martínez et al., 2013; Cornejo et al., 2019). Se encontraron habitantes oportunistas (ácaros) en agallas con el inductor, a diferencia de lo registrado en agallas caulinares en el caldén donde los habitantes oportunistas, que corresponde a hormigas de la especie *Myrmelachista gallicola* Mayr, fueron encontrados en agallas abandonadas (Martínez et al., 2013).

La información lograda en este trabajo conduce a plantear la necesidad de futuros estudios más profundos sobre la biodiversidad asociada a estas agallas del peciolo del caldén y las interacciones biológicas que ocurren. Por otro lado, las diferencias observadas en las agallas desarrolladas en la hoja del caldén con morfotipos globoide y bivalvo inducidas por cecidómidos univoltinos y multivoltinos, podrían ser analizadas como un caso de coespeciación (Jayaraman, 1983).

FINANCIAMIENTO

El presente trabajo fue realizado con financiamiento de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa (Proyecto nro. 30) y de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2017-3074).

BIBLIOGRAFÍA

Albert, S., Rana, S. & Gandhi, D. (2013). Anatomy and ontogenesis of foliar galls induced by *Odinadiplosis odinae* (Diptera: Cecidomyiidae) on *Lannea coramandelica* (Anacardiaceae). *Acta Entomologica Serbica*, 18(1/2), 161-175. <https://aes.bio.bg.ac.rs/index.php/aes/article/view/161>

Morfología y biología de la agalla foliar globoide inducida por un cecidómido (díptera) en *Neltuma caldenia* (Fabaceae)...

ew/10

- Almeida, M. F. B., Rodrigues Dos Santos, L. & Carneiro, M. A. A. (2014). Senescent stem-gall in trees of *Eremanthus erythropapus* as a resource for arboreal ants. *Revista Brasileira de Entomologia*, 58(3), 265-272. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262014000300007>
- Birch M. L., Brewer, J. W. & Rohfritsch, O. (1992). Biology of *Dasineura affinis* (Cecidomyiidae) and influence of its gall on *Viola odorata*. In J. D. Shorthouse & O. Rohfritsch (Eds.), *Biology of insect-induced galls* (pp. 171-184). Oxford University Press, Oxford.
- Bragança G. P., Oliveira, D. C. & Isaias, R. M. S. (2017). Compartmentalization of metabolites and enzymatic mediation in nutritive cells of Cecidomyiidae galls on *Piper arboreum* Aubl. (Piperaceae). *Journal of Plant Studies*, 6 (1), 11-22. <http://dx.doi.org/10.5539/jps.v6n1p11>
- Bronner, R. (1992). The role of nutritive cells in the nutrition of cynipids and cecidomyiids. In J. D. Shorthouse & O. Rohfritsch (Eds.), *Biology of Insect-induced Galls* (pp. 118-140), Oxford University Press, Oxford.
- Burkart, A. (1976). A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam. Mimosoideae). *Journal of the Arnold Arboretum*, 57, 219-525.
- Burkart R., Bárbaro, N. O., Sánchez, R. O. & Gómez, D. A. (1999). Eco-Regiones de la Argentina. Administración de Parques Nacionales, Programa de Desarrollo Institucional Ambiental. Buenos Aires.
- Cardoso, J. C. F., Gonçalves, P. H. P., Oliveira, D. C. & Rezende, U. C. (2022). Host plant intraspecific variation determines gall traits. *Plant Biology*, 25(1), 208-214.
- Casagrande, G. A., Vergara, G. T. & Bellini, Y. (2006). Cartas agroclimáticas actuales de temperaturas, heladas y lluvia de la provincia de La Pampa (Argentina). *Revista de la Facultad de Agronomía UNLPam.*, 17 (1/2), 15-22. <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/semiarida/article/view/4605/4755>
- Cornejo, L., Corró Molas, B. M., Kuzmanich, N. & Martínez, J. J. (2019). New species of *Rhopalomyia* and *Dasineura* (Diptera: Cecidomyiidae) associated with *Prosopis caldenia* Burkart (Fabaceae) in Argentina. *Zootaxa*, 4691(2), 161-170.
- Corró Molas, B. M., Martínez, J. J., Carbonell Silletta, L., Gallia, M. C. & Alfonso, G. L. (2014). Modificaciones morfológicas inducidas por *Tetradiplosis panghitruz* Martínez (Diptera: Cecidomyiidae) en tallos de *Prosopis caldenia* Burkart (Fabaceae). *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales*, 16(1), 1-12. <http://www.scielo.org.ar/pdf/rm/16n1/16n1v16n1a01.pdf>
- Corró Molas, B. M., Martínez, J. J., Nacaratti, S., Arrese, J. J., Testa, N. & Álvarez, M. N. (2017). Exomorfolgia y anatomía de la agalla bivalva foliar inducida por *Rhopalomyia* sp. (Insecta, Diptera, Cecidomyiidae) en *Prosopis caldenia* (Fabaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 52(3), 535-547. <http://www.scielo.org.ar/pdf/bsab/v52n3/v52n3a11.pdf>
- Costa, E. C., Carneiro, R. G. S., Silva, J. S. & Isaias, R. M. S. (2018). Biology and development of galls induced by *Lopesia* sp. (Diptera: Cecidomyiidae) on leaves of *Mimosa gemmulata* (Leguminosae: Caesalpinioideae). *Australian Journal of Botany*, 66, 161-72. https://www.academia.edu/85898740/Biology_and_development_of_galls_induced_by_Lopesia_sp_Diptera_Cecidomyiidae_on_leaves_of_Mimosa_gemmulata_Leguminosae_Caesalpinioideae
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Ed. Hemisferio Sur S. A.,
- Dreger-Jaufret, F. & Shorthouse, J. D. (1992). Diversity of gall-inducing insects and their galls. In J. D. Shorthouse & O. Rohfritsch (Eds.), *Biology of insect-induced galls* (pp. 8-33). Oxford University Press, Oxford.
- Evert, R. F. (2008). *Anatomía vegetal*. Meristemas, células y tejidos de las plantas: su estructura, función y desarrollo. Ediciones Omega.
- Fernandes, G. W., Carneiro, M. A. A. & Isaias, R. M. S. (2012). Gall-inducing insects: from anatomy to biodiversity. In A. Panizzi A. & J. P. Parra (Eds.) *Insect Bioecology and Nutrition for Integrated Pest Management*, (pp. 369-396). CRC Press, Boca Raton, FL, USA. <https://debio.ufop.br/sites/default/files/debio/files/5.pdf>
- Formiga, A. T., Soares, G. L. G. & Isaias, R. M. S. (2011). Responses of the host plant tissues to gall induction in *Aspidosperma spruceanum* Müell. Arg. (Apocynaceae). *American Journal of Plant Sciences*, 2, 823-834. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2011.26097>
- Gagné, R. J. (1989). *The plant-feeding gall midges of the North America*. Cornell University Press, Ithaca.
- Gagné, R. J. (1994). *The gall midges of the Neotropical Region*. Cornell University Press, Ithaca.
- Gagné, R. J. (2018). Key to adult of North American genera of the subfamily Cecidomyiinae (Diptera, Cecidomyiidae). *Zootaxa*, 4392(3), 401-457.
- Gómez, A. A., Mercado, M. I., Belizán, M. M. E., Ponessa, G., Vattuone, M. A. & Sampietro, D. A. (2019). In situ histochemical localization of alkaloids in leaf and pods of *Prosopis ruscifolia*. *Flora*, 256, 1-6.
- Hughes, C. E., Ringelberg, J. J., Lewis, G. P., Catalano, S. A. (2022). Desintegration of the genus *Prosopis* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, mimosoid clade). *Phytokeys*, 205, 147-189.
- Inventario. (2007). *Primer Inventario nacional de bosques nativos. Inventario de campo de la Región del Espinal distritos Caldén y Nandubay*. J. L. Menéndez & M. La Rocc (Técnicos responsables). Secretaría de Ambiente y Desarrollo sostenible de la Nación. Jefatura de Gabinete de Ministros. Argentina.
- Isaias, R. M. S., Oliveira, D. C., Carneiro, R. G. S. & Kraus, J. E. (2014). Developmental anatomy of galls in the Neotropics: arthropods stimuli versus host plant constraints. In: G. W. Fernandes & J. C. Santos (Eds.), *Neotropical Insect Galls* (pp. 15-34). Springer, London.
- Isaias, R. M. S., Oliveira, D. C., Carneiro, R. & Santos, J.

- Corró Molas, B. M., Martínez, J. J. y Cornejo, L. G. C. (2013). Illustrated and annotated checklist of Brazilian gall morphotypes. *Neotropical Entomology*, 42, 230-239.
- Jayaraman, P. (1983). Ontogenetic studies on bivalved-gall of *Acacia catechu* Wild. Caused by *Contarinia bivalviae* (Rao). *Cecidologia Internationale*, IV (1,2,3), 25-35.
- Jorge, N. C., Vasconcelos, H. L., Freitas, M. S.C., Vale, F. H. A. & Isaias, R. M. S. (2022). The peculiar post-sensescence in globose stem galls triggered by fungi and arboreal ants on *Eremanthus erythropappus* (D.C.) McLeish (Asteraceae). *South African Journal of Botany*, 150, 1026-1030.
- Martínez, J. J., Corró Molas, B. M. & Alfonso, G. L. (2013). New species of *Tetradiplosis* (Diptera: Cecidomyiidae) inducing galls on *Prosopis caldenia* (Fabaceae) in Argentina. *Zootaxa*, 3702 (6), 587-596.
- Martini, V. C., Moreira, A. S. F. P., Fuzaro, L., Gonçalves, L. A. & Oliveira, D. C. (2020). *Pseudophacopteron longicaudatum* (Hemiptera) induces intralaminar leaf galls on *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae): a qualitative and quantitative structural overview. *Anals da Academia Brasileira de Ciências*, 92(Suppl. 2), 1-16. <https://www.scielo.br/j/aabc/a/qcS9qtf598jNYxhJNST7c3kq/?lang=en>
- Matteucci, S. D. (2012). Ecorregión Espinal. En J. Morello, S. D. Matteucci, A. F. Rodríguez & M. Silva (Eds.) *Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos*, (pp. 349-390). Orientación Gráfica Editora.
- Méndez, M., Vergara, G., Casagrande, G. y Bongiano, S. (2021). Clasificación climática de la región agrícola de la provincia de La Pampa, Argentina. *Semiárida*, 31(2), 9-20. [http://dx.doi.org/10.19137/semiarida.2021\(02\).09-20](http://dx.doi.org/10.19137/semiarida.2021(02).09-20)
- Meyer, R. E. & Morton, H. L. (1971). Morphology and anatomy of honey mesquite. *Technical Bulletin*, 1423, 186 pp. United States Department of Agriculture.
- Mishra, P. & Patni, V. (2015). Development of specialized tissues in the foliar galls of *Quercus leucotrichophora* induced by cecidomyiid: synchronization of nutritive and enemy hypotheses. *European Journal of Experimental Biology*, 5(11), 6-11. <https://www.primescholars.com/articles/development-of-specialized-tissues-in-the-foliar-galls-of-iquercus-leucotrichophora-induced-by-cecidomyiid-synchronization-of-nut.pdf>
- Nogueira, R. M., Costa E. C., Silva S. S. & Isaias R. M. S. (2018). Structural and histochemical profile of *Lopesia* sp. Rübsaamen 1908 pinnula galls on *Mimosa tenuiflora* (Wild.) Poir. in a Caatinga environment. *Hoelmea*, 45(2), 314-322.
- Oliveira, D. C., Carneiro, R. G. S., Magalhães, T. A. & Isaias, R. M. S. (2010) a. Cytological and histochemical gradients on two *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae)-Cecidomyiidae gall systems. *Protoplasma*, 248(4), 829-837.
- Oliveira, D. C. & Isaias, R. M. S. (2010). Redifferentiation of leaflet tissues during midrib gall development in *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae). *South African Journal of Botany*, 76, 239-248. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2009.10.011>
- Oliveira, D. C., Magalhães, T. A., Carneiro, R. G. S., Alvim, M. N. & Isaias, R. M. S. (2010) b. 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. *Environmental Entomology*, 16(1), 15-24. <http://dx.doi.org/10.1093/ee/16.1.15>
- Raman, A. (2007). Insect-induced plant galls of India: unresolved questions. *Current Science*, 92 (6), 748-757.
- Raman, A. (2011). Morphogenesis of insect-induced plants galls: fact and questions. *Flora*, 206, 517-533. <http://dx.doi.org/10.1016/j.flora.2010.08.004>
- Raman, A., Schaffer, C. & Withers, T. M. (2005). Galls and gall-inducing arthropods: an overview of their biology, ecology and evolution. In A. Raman, C. W. Schaefer & T. M. Withers (Eds.), *Biology, ecology and evolution of gall-inducing arthropods* (pp. 2-33). Science Publisher, INC.
- Rodrigues, T. M. y Machado, S. R. (2004). Anatomía comparada do pulvino, peciolo e raque de *Pterodon pubescens* Benth. (Fabaceae – Faboideae). *Acta Botanica Brasílica*, 18 (2), 381-390. <https://doi.org/10.1590/S0102-3306200400200018>
- Rodrigues, T. M. & Machado, S. R. (2006). Anatomía comparada do pulvino primário de leguminosas com diferentes velocidades de movimento foliar. *Revista Brasileira de Botânica*, 29(4), 709-720. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000400020>
- Rohfritsch, O. (1992). Patterns in gall development. In J. D. Sorthouse & O. Rohfritsch (Eds.), *Biology of insect-induced galls* (pp. 60-86). Oxford University Press, Oxford.
- Steibel, P. E. & Troiani, H. O. (1999). El género *Prosopis* (Leguminosae) en la provincia de La Pampa (República Argentina). *Revista de la Facultad de Agronomía UNLPam.*, 10(2), 25-48. <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/semiarida/article/view/4729/4854>
- Stone, G. N. & Cook, J. M. (1998). The structure of cynipid oak galls: patterns in the evolution of an extended phenotype. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 265, 979-988.
- Stone, G. N. & Schönrogge, K. (2003). The adaptive significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology and Evolution*, 18(10), 512-522.
- Vilela, A. E. (1993). Anatomía foliar de *Prosopis* (Leguminosae - Mimosoideae): estrategias adaptativas a diferentes ambientes en *Prosopis nigra*. *Darwiniana*, 32(1-4), 96-107.
- Yukawa, J. & Rohfritsch, O. (2005). Biology and ecology of gall-inducing Cecidomyiidae (Diptera). In A. Raman, C. W. Schaefer & T. M. Withers (Eds.), *Biology, ecology and evolution of gall-inducing arthropods* (pp. 273-304). Science Publisher, INC.