

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/11/2022

CAROLINA JORDAN

NOVAS POSSIBILIDADES PARA O CONTROLE MICROBIANO DE *Gonipterus platensis* (MARELLI) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

Botucatu

2020

CAROLINA JORDAN

**NOVAS POSSIBILIDADES PARA O CONTROLE MICROBIANO DE *Gonipterus
platensis* (MARELLI) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Ciência Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken

Coorientador: Dr. Gabriel Moura Mascarin

Botucatu

2020

J82n	Jordan, Carolina Novas possibilidades para o controle microbiano de <i>Gonipterus platensis</i> (Marelli) (Coleoptera: Curculionidae) / Carolina Jordan. -- Botucatu, 2020 109 p. : tabs., fotos, mapas Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu Orientador: Carlos Frederico Wilcken Coorientador: Gabriel Moura Mascarin 1. Controle microbiano. 2. Entomopatogenos. 3. Bioprospecção. 4. Gorgulo-do-eucalipto. I. Título.
------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: NOVAS POSSIBILIDADES PARA O CONTROLE MICROBIANO DE *Gonipterus platensis*
(MARELLI) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

AUTORA: CAROLINA JORDAN

ORIENTADOR: CARLOS FREDERICO WILCKEN

COORDINADOR: GABRIEL MOURA MASCARIN

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA FLORESTAL,
pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. CARLOS FREDERICO WILCKEN (Participação Virtual)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP


Pesquisador Dr. JOSÉ EDUARDO PETRILLI MENDES (Participação Virtual)
Pesquisa e Desenvolvimento / Bracell


Prof.ª Dr.ª NÁDIA CRISTINA DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Agronomia / Centro Universitário Integrado

Botucatu, 27 de novembro de 2020

Aos meus amados pais, Paulo Roberto Jordan
e Antônio Cristina Romani Jordan.
Por serem refúgio e acolhimento,

dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus que me mantém forte no dia a dia.

À Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP/FCA) pela graduação e ao Programa de Pós Graduação em Ciência Florestal pela oportunidade de estudo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken, pela confiança, conselhos, amizade, orientação e ensinamentos transmitidos da graduação até o mestrado.

Ao meu co-orientador Dr. Gabriel Moura Mascarin pela orientação, disponibilidade e paciência na escrita e análise dos dados.

Aos Professores Dr. Edson Luiz Lopes Baldin e Dr. Jayme Augusto de Souza-Neto (FCA/UNESP – Campus de Botucatu) pelas contribuições ao trabalho no momento do exame de qualificação.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida (Instituto Biológico), Prof^a. Dr^a. Janete Aparecida Desidério e Prof. Dr. Manoel Victor Franco Lemos (FCAV/UNESP – Campus de Jaboticabal) pela disponibilidade e concessão das cepas de fungos e bactérias para a realização desse estudo. À Prof^a. Dr^a. Silvia Renata Siciliano Wilcken, por permitir a utilização do Laboratório de Biologia Molecular.

Aos membros do Laboratório de Genômica Funcional e Microbiologia de Vetores (FCA/UNESP – Campus de Botucatu) e ao Prof. Dr. Bergmann M. Ribeiro e Leonardo A. Silva do Laboratório de Baculovirus (Universidade de Brasília), pela disponibilidade de realização de experimentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil – CAPES – Código de financiamento 001.

Ao Instituto de Estudos e Pesquisas Florestais (IPEF) e às empresas que integram o Programa de Proteção Florestal (PROTEF), pelo imenso apoio na realização de coletas de insetos.

A toda equipe do Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais (LCBPF), Ana, Bárbara, Beatriz, Bianca, Camila, Carla, Carol, Cendy, Diego, Fábio, Fabrício, Fernanda, Flávia, Gabriela, Giulia, Juliane, Heitor, Leonardo, Lorena, Luciane, Luísa, Mauricio, Murilo, Paula, Rafaela, Renato, Sidinei, Simone, Thais, Thamires, Vanessa e Valier, os quais foram grandes parceiros ao longo de todos esses anos, principalmente as técnicas e aos integrantes do Grupo de Trabalho sobre *Gonipterus* e a equipe do Laboratório de Microbiologia.

Aos meus amigos do trabalho e co-autores, principalmente a Vanessinha, Leiliane, Paulinha e Mauricio os quais não mediram esforços para me auxiliar na condução dos experimentos e na escrita dos manuscritos, esse trabalho tem um pouco de vocês.

À minha família, a qual sempre me apoiou em todas as circunstâncias e mesmo com as dificuldades me auxiliaram a conquistar mais esse objetivo.

Aos meus grandes amigos que Botucatu, UNESP e LCBPF me trouxeram, os quais sempre foram sinônimos de refúgio seguro em dias difíceis, acolhimento e a alegria no dia a dia.

À Leiliane que com sua paciência me acalma e com sua coragem me incentiva.

RESUMO

O Brasil é considerado, atualmente, uma potência florestal, possuindo a maior produtividade e uma das menores rotações do mundo em seus plantios de eucalipto. Todavia, a presença de grandes maciços florestais favorece a ocorrência e o estabelecimento de insetos-praga. O gorgulho-do-eucalipto, *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae), é o principal besouro desfolhador do eucalipto no mundo e um dos mais antigos a ser detectado fora da Austrália. Essa praga possui alto potencial destrutivo, tanto na fase adulta quanto na fase larval e o seu controle no Brasil se dá principalmente pela utilização de agentes de controle biológico, destacando-se os micopesticidas à base de *Beauveria bassiana*, como também o parasitóide de ovos, *Anaphes nitens* (Hymenoptera: Mymaridae). Por outro lado, existem somente dois produtos compostos por *B. bassiana* registrados e disponíveis comercialmente para o controle desse inseto. Ademais, desde 2012 as taxas de parasitismos vêm oscilando, com níveis de intenso a baixo. Diante disso, há necessidade de se explorar novas estratégias de controle, visando o manejo integrado de pragas. Consequentemente, o presente trabalho visa aprofundar o conhecimento sobre o controle microbiano desse inseto-praga, dividido em quatro diferentes objetivos, sendo eles; *i e ii*) conhecer e identificar os possíveis microsporídeos e vírus associados ao *G. platensis*; *iii*) selecionar isolados de *Bacillus thuringiensis* que expressem alta toxicidade a larvas neonatas de *G. platensis*, como também; *iv*) rastrear e selecionar isolados brasileiros de fungos entomopatogênicos com alta virulência a adultos de *G. platensis* com a maior produção de inóculo secundário em cadáveres de insetos. Obtivemos resultados pioneiros com essa pesquisa, indicando alternativas viáveis para o controle biológico desse inseto-praga, fornecendo assim subsídios ao manejo integrado e produção massal.

Palavras-chave: Controle microbiano. Entomopatogenos. Bioprospecção. Gorgulho-do-eucalipto.

ABSTRACT

Brazil is currently considered a forestry power with leading productivity and having one of the shortest rotations in the world in its *Eucalyptus* plantations. However, the extensive forest planted areas favour occurrence and establishment of insect pests. The eucalyptus snout beetle (ESB), *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae), is the major defoliating weevil in the world and one of the oldest to be detected outside Australia. This pest has a high destructive potential, both in adulthood and in larval phase, and its principal control in Brazil relies mainly on the use of biological control agents, especially mycopesticides based on *Beauveria bassiana*, as well as an egg parasitoid, *Anaphes nitens* (Hymenoptera: Mymaridae). Nevertheless, there are only two products based on *B. bassiana* commercially available for its control. In addition, since 2012, parasitism rates have varied with levels from intense to low. Therefore, there is an urgent need to explore new control strategies, aimed at integrated pest management. Consequently, the present work aims to expand the knowledge about the microbial control of this insect pest, split into four different objectives, namely: *i and ii*) to know and identify the possible microsporidian and virus pathogens associated with *G. platensis*; *iii*) to select *Bacillus thuringiensis* isolates that express high toxicity to neonate larvae of *G. platensis*, and *iv*) to screen and select Brazilian isolates of entomopathogenic fungi with high virulence against *G. platensis* adults coupled with the highest secondary inoculum production in insect cadavers. Pioneering results were obtained with this research, indicating viable alternatives for the biological control of this insect pest, thus providing subsidies for integrated management and mass production.

Keywords: Microbial control. Entomopathogens. Bioprospecting. Eucalyptus snout beetle.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	15
CHAPTER 1 - First record of a new microsporidium pathogenic to <i>Gonipterus platensis</i> in Brazil	19
1.1 Abstract	19
1.2 Introduction	20
1.3. Results	21
1.4 Discussion	27
1.5 Materials and Methods	31
References.....	34
CHAPTER 2 - Identification and genome sequencing of RNA viruses in Eucalyptus snout beetle <i>Gonipterus platensis</i> (Coleoptera: Curculionidae)	40
2.1 Abstract	40
Reference	46
2.2 Supplementary material	47
CHAPTER 3 - Potential of <i>Bacillus thuringiensis</i> isolates to manage <i>Gonipterus platensis</i> (Coleoptera: Curculionidae) larvae populations.....	54
3.1 Abstract	54
3.2 Introduction	54
3.3 Materials and Methods	55
3.4 Results	59
3.5 Discussion	60
3.6 Conclusion	62
References.....	62
CHAPTER 4 - Entomopathogenic fungi as the microbial frontline against the alien <i>Eucalyptus</i> pest <i>Gonipterus platensis</i> in Brazil	74
4.1 Abstract.....	74
4.2 Introduction	74
4.3 Results	76
4.4 Discussion	80
4.5 Conclusion	83
4.6 Methods	83
References.....	90
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	106
REFERÊNCIAS	107

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é reconhecido mundialmente pela alta produtividade florestal, em comparação com os demais países, com uma das menores rotações entre plantio e a colheita de eucalipto. Esse reconhecimento se dá principalmente devido à adoção de boas práticas de manejo, melhoramento genético e condições edafoclimáticas. Em 2019, o Brasil apresentou produtividade média de $35,3\text{m}^3.\text{ha}.\text{ano}^{-1}$, e as suas áreas de plantio de eucalipto vêm se expandindo ao longo do tempo, ocupando atualmente 6,97 milhões de hectares (IBA, 2020).

Geralmente as florestas plantadas são compostas por uma base genética restrita de espécies, o que predispõem o estabelecimento e dispersão de pragas, ocasionando perdas de produção (SCHUHLLI *et al.*, 2016). Entre as pragas exóticas mais importantes se destaca o gorgulho-do-eucalipto, *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae) o qual voltou a ter importância desde o final de 2012 (IPEF, 2015). Essa espécie, nativa da Austrália, possui alto potencial destrutivo, se alimenta principalmente de folhas jovens, tanto na fase adulta quando na fase larval (TOOKE, 1955). Porém, é no estágio larval que ocorrem os maiores danos, uma vez que se alimentam exclusivamente de folhas jovens e brotações no ápice da copa (SOUZA *et al.*, 2016).

Atualmente essa praga se encontra distribuída no Sul e Sudeste do Brasil (WILCKEN & OLIVEIRA, 2015). Quando ocorre em plantios novos, pode ocasionar desfolha completa do ponteiro, redução da produtividade, bifurcação do fuste e dificuldades no momento da colheita (TOOKE *et al.*, 1955; SANCHES *et al.*, 1993; SOUZA *et al.*, 2016).

Em 2016 foi realizado levantamento dos danos ocasionados pelo gorgulho-do-eucalipto no Estado de São Paulo e foi verificada redução do incremento médio anual (IMA) de aproximadamente 20%, variando de 10,4% a 42,8%, dependendo da espécie ou clone de eucalipto. Ao traçar cenários com a área atacada pelo inseto nos anos de 2012 (3,5 mil ha); 2013 (6,5 mil ha); 2014 (19 mil ha) e 2015 (26 mil ha), os autores concluíram que as perdas econômicas poderiam ser entre R\$ 1,5 milhão (no melhor cenário) e R\$ 6 milhões (no pior cenário) apenas nesse Estado (SOUZA *et al.*, 2016).

Em estudo recente realizado em Portugal, a desfolha por *G. platensis* resultou em danos econômicos por volta de 648 milhões de euros nos últimos 20 anos. Tais perdas econômicas ocorreram apesar do parasitismo por *A. nitens* (Hymenoptera: Mymaridae) apresentar variações, sendo bem-sucedido em algumas regiões e permanecendo pouco eficaz em outras. Sem parasitismo, as perdas teriam variado de 2,45 bilhões de euros, em um cenário onde as populações de *G. platensis* eram controladas com inseticidas, para quase 7,2 bilhões de euros se as perdas de madeira fossem compensadas pela madeira importada. Portanto, o benefício do controle biológico com *A. nitens* na área de estudo durante as duas últimas décadas foi de, pelo menos, 1,8 bilhão de euros (VALENTE *et al.*, 2018).

No Brasil, a primeira detecção de *G. platensis* (ex- *G. scutellatus*) ocorreu em 1979 em Curitiba, PR (FREITAS *et al.*, 1979), estando distribuído atualmente nos estados do Rio Grande do Sul (WILCKEN & OLIVEIRA, 2015), Santa Catarina (FENILLI *et al.*, 1982), Paraná, São Paulo (ROSADO-NETO *et al.*, 1993) e Espírito Santo (WILCKEN *et al.*, 2008). Já a espécie *G. pulverulentus* (ex- *G. gibberus*) foi detectada pela primeira vez no Brasil na década de 1950 em Pelotas, RS, restringindo-se aos estados da região Sul do país (BARBIELLINI, 1955; KOBER, 1955; FREITAS, 1979; FENILLI, 1982).

Atualmente as plantações florestais certificadas ocupam 4,4 milhões de hectares, com aumento de 1,7% de 2018 para 2019. Essas certificações são concedidas por organizações como o *Forest Stewardship Council* (FSC) e o *Nation Forest Certification Program* (Cerflor) (IBA, 2020), as quais possuem uma política de restrição de uso de pesticidas, exigindo que as organizações certificadas utilizem o manejo integrado de pragas (MIP) e se adequem ou sigam a legislação local de pesticida (FSC, 2019). Até o presente momento nenhum inseticida químico foi registrado pelo Ministério de Agricultura e Abastecimento (MAPA) para essa praga (AGROFIT, 2020).

Portanto, o controle biológico vem sendo a principal estratégia de manejo adotada a *G. platensis*, destacando-se o parasitoide de ovos *A. nitens* e produtos comerciais à base do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, os quais são compatíveis com o parasitoide (SCHRODER *et al.*, 2020). Além disso, há também a utilização de outros inimigos naturais, como percevejos predadores (*Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) (NASCIMENTO *et al.*, 2018) e nematóides entomopatogênicos (DAMASCENA *et al.*, 2020). Em 2005, a utilização conjunta de

produtos à base de fungos entomopatogênicos e de seu parasitoide de ovos, *A. nitens*, possibilitou o controle da praga que atingia 50.000 ha de plantios no Estado do Espírito Santo (WILCKEN et al., 2008). Porém, apenas dois produtos à base de fungos entomopatogênicos (*Beauveria bassiana*), são registrados e disponíveis comercialmente para seu controle (AGROFIT, 2020). No entanto, existem outras linhagens potenciais de fungos que foram negligenciadas no controle dessa praga.

Atrelado a isso, o controle pelo seu parasitoide pode variar entre níveis de intenso a baixo parasitismo (REIS et al., 2012). As causas para as baixas taxas de parasitismo pelo seu parasitoide *A. nitens* não estão totalmente esclarecidas, porém, podem ser atribuídas a fatores como: condições climáticas, densidade do hospedeiro, altitude e incompatibilidade entre parasitoide e seu hospedeiro (CORDERO RIVERA; SANTOLAMAZZA-CARBONE; ANDRÉS, 1999; TRIBE, 2005; LOCH, 2008; REIS et al., 2012; MAPONDERA et al., 2012). Diante deste cenário, surge a necessidade de novas estratégias, favorecendo o manejo integrado de pragas.

A descoberta de novos patógenos infectivos e auto-disseminados em besouros (vírus, bactérias, fungos, protozoários ou nematoides) seria o primeiro passo para aperfeiçoar o manejo integrado dessa praga, os quais devem ser eficientes e de fácil multiplicação, visando à produção de bioinseticidas. Os micoinseticidas comerciais, ou inseticidas à base de fungos, têm repercutido em grande sucesso no Brasil, onde milhões de hectares por ano são tratados com *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae* para controlar artrópodes-praga em sistemas agrícolas e florestais (MASCARIN et al., 2019).

A bactéria *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* se destaca também como uma alternativa promissora para o controle de larvas de *G. platensis*, como já verificado para outros coleópteros na Austrália e Nova Zelândia (ELEK & BEVERIDGE, 1999; WITHERS, 2013). Pouco se sabe também sobre os parasitas intracelulares, como microsporídeos, em populações de *G. platensis*, que podem causar efeitos deletérios ao seu desenvolvimento, como já relatado em outros insetos hospedeiros, como aumento na mortalidade das larvas, atraso no desenvolvimento, redução na fecundidade e longevidade do adulto e aumento na suscetibilidade a condições de estresse (SOLTER & BECNEL, 2000). Ademais, há também poucos relatos de vírus infectando besouros (SHUKLA et al. 1984; KIM & KITAJIMA, 1984; KITAJIMA et al. 1985), sendo os vírus importantes agentes de controle biológico.

Desta forma, este trabalho está dividido em quatro diferentes objetivos, sendo eles; *i* e *ii*) conhecer e identificar os possíveis microsporídeos e vírus associados ao *G. platensis*; *iii*) selecionar isolados de *Bacillus thuringiensis* que expressem alta toxicidade a larvas neonatas de *G. platensis*, como também; *iv*) rastrear e selecionar isolados brasileiros de fungos entomopatogênicos com alta virulência a adultos de *G. platensis* com a maior produção de inóculo secundário em cadáveres de insetos, fornecendo assim subsídios a programas de controle biológico mediante a exploração de novos biopesticidas microbianos sob a ótica do manejo integrado desse inseto-praga.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A busca por novas estratégias de controle biológico para *G. platensis* proporcionou nesse trabalho resultados pioneiros e inovadores para o controle microbiano, respondendo os quatro objetivos inicialmente propostos.

Tivemos como principais resultados: a detecção da ocorrência de microsporidiose em adultos de *G. platensis*, indicando uma provável nova espécie deste patógeno, a identificação de dois novos vírus em adultos de *G. platensis*, denominados *Gonipterus platensis* macula-like vírus (GPMLV) e *Gonipterus platensis* bunya-like vírus (GPBLV); a expressão de toxicidade em larvas neonatas para *B. thuringiensis* variando conforme a expressão gênica; a ampla variação na virulência entre os isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* oferecendo a oportunidade de abordar o desenvolvimento potencial de isolados em biocontrole aprimorado com propriedades personalizadas.

Os resultados encontrados nos sugerem novos passos para a pesquisa no manejo integrado do *Gonipterus platensis*, iniciando-se por testes de patogenicidade com os isolados de *B. thuringiensis* selecionados em larvas de outros instares e no inseto adulto, como também testar os produtos a base de *Bacillus thuringiensis* específicos para coleóptera disponíveis em outros países. Iniciar testes em campo com os fungos selecionados e assim iniciar o desenvolvimento de um novo produto, como também identificar a presença dos novos vírus e microsporídeos em outros países e a sua interação com o inseto praga e seu parasitoide.

Em resumo, esses resultados constituem um passo importante no desenvolvimento de alternativas de biocontrole do gorgulho do eucalipto ambientalmente seguras e potencialmente eficientes. Além disso a descoberta de novos entomopatógenos para essa praga, mesmo que ocorrendo de forma endêmica, auxilia no controle biológico complementar de *G. platensis*. As possíveis interações entre os novos entomopatógenos e o parasitoide *A. nitens* e predadores ainda precisam ser devidamente estudadas para se conhecer a abrangência das relações de controle biológico no complexo eucalipto-gorgulho-inimigos naturais.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Sistema de Agrotóxico Fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 09 jan. 2020.
- BARBIELLINI, A. A. Combate à praga do eucalipto no sul. **Chácaras e Quintais**, v. 91, n. 2, p. 191-192, 1955.
- CORDERO RIVERA, A.; SANTOLAMAZZA-CARBONE, S.; ANDRÉS, J. A. Life cycle and biological control of the Eucalyptus snout beetle (Coleoptera, Curculionidae) by *Anaphes nitens* (Hymenoptera, Mymaridae) in north-west Spain. **Agricultura and Forest Entomology**, Pontevedra, v. 1, n. 2, p. 103–109, 1999.
- DAMASCENA, A. P. et al. Steinernema diaprepesi (Rhabditida: Steinernematidae) parasitizing *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae). **Royal Society Open Science**, Botucatu, v. 7, n. 8, p. 200282, 2020.
- ELEK, J.; BEVERIDGE, N.; Effect of a *Bacillus thuringiensis* subsp. *Tenebrionis* Insecticidal spray on the mortality, feeding, and development rates of larval Tasmanian Eucalyptus leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**, Tasmania, v. 92, n. 5, p. 1062-1071, 1999.
- FENILLI, R. First record of *Gonipterus platensis* Marelli, 1926 and *Gonipterus gibberus* (Boisduval, 1835) (Coleoptera: Curculionidae: Gonipterinae) in the State of Santa Catarina, Brazil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** v. 11, n. 2, p. 293–294, 1982.
- FREITAS, S. **Contribuição ao estudo da morfologia e biologia de *Gonipterus gibberus* (Boisduval, 1835) (Coleoptera, Curculionidae) e levantamento dos danos causados por esta espécie em eucaliptos dos arredores de Curitiba.** Curitiba, 1979. 95p. Tese (Mestrado em Entomologia). Universidade Federal do Paraná.
- FSC. Forest Stewardship Council Pesticides Policy.FSC-POL-30-001 V3–0. **The Forest Stewardship Council**. www.fsc.org (2019).
- INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. Relatório Anual Ibá 2020. São Paulo, 2020. Disponível em: <<https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-iba-2020.pdf>>. Acesso em: 13 outubro 2020.
- IPEF. Gorgulho-do-eucalipto no Brasil. Piracicaba: **IPEF**; Botucatu: Unesp, 2015. 1 Folder.
- KIM, K. S.; KITAJIMA, E. W. Nonoccluded baculovirus-and filamentous virus-like particles in the spotted cucumber beetle, *Diabrotica undecimpunctata* (coleoptera: chrysomelid). **Journal of invertebrate pathology**, Fayetteville, v. 43, n. 2, p. 234-241, 1984.
- KITAJIMA, E. W. et al. Reovirus-like particles and their vertical transmission in the Mexican bean beetle, *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, Brasilia, v. 46, n. 1, p. 83-97, 1985.

KOBER, E. Observações preliminares da ação de diversos inseticidas orgânicos de síntese, no controle ao *Gonipterus gibberus* Boisdouvalli, praga do eucalipto. **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v. 2, n. 1, p. 30-40, 1955.

LOCH, A. D. Parasitism of the Eucalyptus weevil, *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal, by the egg parasitoid *Anaphes nitens* Girault in *Eucalyptus globulus* plantations in southwestern Australia. **Biological Control**, Waga Waga, v. 47, n. 1, p. 1–7, 2008.

MAPONDERA, T. S. et al. Identification and molecular phylogenetics of the cryptic species of the *Gonipterus scutellatus* complex (Coleoptera: Curculionidae: Gonipterini). **Australian Journal of Entomology**, Murdoc, v. 51, n. 3, p. 175-188, 2012.

MASCARIN G. M., LOPES R. B., DELALIBERA Í. J., FERNANDES E. K. K., LUZ C., FARIA M. Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, Jaguariúna, 165, 46-53, 2019.

NASCIMENTO, L. I. et al. First global record of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) as predator of *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae) larvae and adults. **Florida Entomologist**, Itapetininga, v. 100, n. 3, p. 675-677, 2017.

REIS, A. R. et al. Efficiency of biological control of *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae) by *Anaphes nitens* (Hymenoptera: Mymaridae) in cold areas of the Iberian Peninsula: Implications for defoliation and wood production in *Eucalyptus globulus*. **Forest Ecology and Management**, Lisboa, v. 270, p. 216-222, 2012.

ROSADO-NETO, G. H. Gonipterinae dos eucaliptos: Primeiro registro de *Gonipterus scutellatus* para o Estado de São Paulo, Brasil, e algumas considerações sobre *G. gibberus* (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 37, n. 3, p. 465–467, 1993.

SANCHES, M. **Influência da temperatura no desenvolvimento de *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal 1833 (Coleoptera, Curculionidae) em *Eucalyptus viminalis* Labill, de Curitiba (PR)**. Curitiba. 1993. Tese de Doutorado. Tese de Mestrado, não publicada, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, XV+ 65p.

SCHRÖDER, M.L., SLIPPERS, B., WINGFIELD, M.J., HURLEY, B.P. Invasion history and management of Eucalyptus snout beetles in the *Gonipterus scutellatus* species complex. **Journal of Pest Science**, Pretoria, 93(1), 11-25, 2020.

SCHÜHLI, G. S. et al. A review of the introduced forest pests in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Colombo, v. 51, n. 5, p.397-406, 2016.

SHUKLA, R. P.; TANDON, P. L.; SINGH, S. J. Baculovirus-a new pathogen of mango nut weevil, *Sternonchetus mangiferae* (Fabricius)(Coleoptera: Curculionidae). **Current Science (India)**, Bangalore, 1984.

SOLTER, L.F.; BECNEL, J.J. Entomopathogenic Microporidia. In: LACEY, L.A.; KAYA, H.K. (Ed.) **Field manual of techniques in invertebrate pathology**. London: Kluwer Academic, 2000. Chap. 4-3, p. 231-254.

SOUZA, N. M. et al. Ressurgência de uma antiga ameaça: Gorgulho-do-eucalipto *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae). **Circular Técnica IPEF**, n. 209, p. 01-20, 2016. Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/ctecnica/nr209.pdf>>. Acesso em: 05 dez. 2019.

TOOKE, Francis Gwinnett Constans et al. The Eucalyptus Snout. beetle, *Gonipterus scutellatus* Gyll. A Study of its Ecology and Control by biological Means. **The Eucalyptus Snout. beetle, *Gonipterus scutellatus* Gyll. A Study of its Ecology and Control by biological Means.**, 1955.

TRIBE, G. D. The present status of *Anaphes nitens* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of the Eucalyptus snout beetle *Gonipterus scutellatus*, in the Western Cape Province of South Africa. **Southern African Forestry Journal**, Stellenbosc, v. 203, n. 1, p. 49-54, 2005.

VALENTE, C. et al. Economic Outcome of Classical Biological Control: A Case Study on the Eucalyptus Snout Beetle, *Gonipterus platensis* and the Parasitoid *Anaphes nitens*. **Ecological Economics**, Portugal, v. 149, p.40-47, 2018.

WILCKEN, C. F. & OLIVEIRA, N. C. Gorgulho-do-eucalipto *Gonipterus platensis* Marelli. IN: VILLELA E. F., ZUCCHI, R. A. **Pragas Introduzidas no Brasil: Insetos e Ácaros**. Piracicaba: Fealq, p. 779-791. 2015

WILCKEN, C. F. et al. Ocorrência de *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae) em plantações de eucalipto no estado do Espírito Santo. **Arquivos do Instituto Biológico São Paulo**, Botucatu, p.113–115, 2008.

WITHERS, T. M. et al. Laboratory bioassays of new synthetic and microbial insecticides to control Eucalyptus tortoise beetle *Paropsis charybdis*. **New Zealand Plant Protection**, Auckland, v. 66, p. 138-147, 2013.