

MAURÍCIO MAGALHÃES DOMINGUES

**INOVAÇÕES NO CONTROLE BIOLÓGICO DO PSILÍDEO-DE-CONCHA DO
EUCALIPTO *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: APHALARIDAE)**

Botucatu

2024

MAURÍCIO MAGALHÃES DOMINGUES

**INOVAÇÕES NO CONTROLE BIOLÓGICO DO PSILÍDEO-DE-CONCHA DO
EUCALIPTO *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: APHALARIDAE)**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia (Proteção de
Plantas).

Orientador: Carlos Frederico Wilcken

Botucatu

2024

D671i

Domingues, Maurício Magalhães

Inovações no controle biológico do psílídeo-de-concha do eucalipto

Glycaspis brimblecombei (Hemiptera: Aphalaridae) / Maurício

Magalhães Domingues. -- Botucatu, 2024

106 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientador: Carlos Frederico Wilcken

1. Eucalipto - doenças e pragas. 2. Psílídeo (Inseto). 3. Controle
biológico. 4. Hiperparasitoide. 5. Predadores. I. Título.

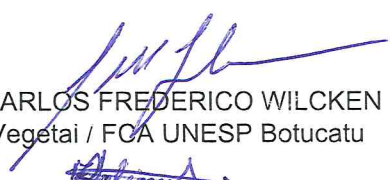
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: INOVAÇÕES NO CONTROLE BIOLÓGICO DO PSILIDEO DE CONCHA DO EUCALIPTO *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: APHALARIDAE)

AUTOR: MAURÍCIO MAGALHÃES DOMINGUES

ORIENTADOR: CARLOS FREDERICO WILCKEN

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Agronomia (Proteção de Plantas), pela Comissão Examinadora:



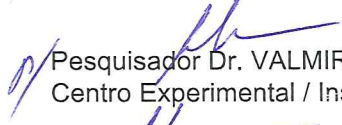
Prof. Dr. CARLOS FREDERICO WILCKEN (Participação Presencial)
Proteção Vegetal / FCA UNESP Botucatu



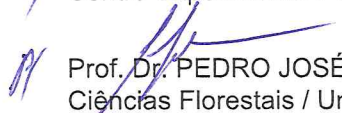
Pesquisador Dr. EVERTON PIRES SOLIMAN (Participação Virtual)
Tecnologia Florestal / Suzano Papel e Celulose



Prof. Dr. JOSÉ COLA ZANÚNCIO (Participação Virtual)
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde / Universidade Federal de Viçosa



Pesquisador Dr. VALMIR ANTONIO COSTA (Participação Virtual)
Centro Experimental / Instituto Biológico - Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo



Prof. Dr. PEDRO JOSÉ FERREIRA FILHO (Participação Virtual)
Ciências Florestais / Universidade Federal de São Carlos

Botucatu, 26 de novembro de 2024

Aos meus pais, Sueli e Mauro, meu irmão, Lucas,

Minha esposa Marielle e meu filho Joaquim,

dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais, Sueli e Mauro, meu irmão, Lucas, minha esposa, Marielle, meu filho Joaquim e toda minha família que me apoiou em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken, pela orientação, ensinamentos e exemplo profissional.

À Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu e ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, e todos os docentes envolvidos na minha formação.

Ao Everton Pires Soliman, Leonardo Rodrigues Barbosa, Prof. Dr. Valmir Antônio Costa, Prof. Dr. José Cola Zanuncio, Prof. Pedro José Ferreira Filho e Prof. Dr. Alberto Soares Correa que foram fundamentais para o enriquecimento desse trabalho com suas contribuições.

À Suzano S.A. pela confiança e a toda sua equipe de Pesquisa e Desenvolvimento.

Ao Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais (LCBPF) e todos os alunos de graduação, pós-graduação e as técnicas que me auxiliaram durante todo esse tempo.

Ao IPEF-PROTEF e empresas florestais pelo apoio em muitas etapas desse trabalho.

Aos meus queridos amigos da República Abre-Lacre que são minha “família” e amigos para toda a vida.

À todos aqueles que de alguma forma contribuíram, torcendo por mim em todos os momentos.

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

“Somente Deus é a minha proteção segura. Os problemas da vida nunca conseguirão me derrotar completamente”

A BÍBLIA VIVA. Salmo 62:2. Ed. Mundo Cristão, 2000.

RESUMO

O psílídeo de concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae), originário da Austrália e introduzido no Brasil, reduz a produtividade de plantações de eucalipto, importantes na economia brasileira. O manejo dessa praga depende do aprimoramento de táticas de criação massal de *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), descoberta de novos inimigos naturais e detecção e conhecimento das relações entre espécies exóticas, do gênero *Psyllaephagus*, com *G. brimblecombei* e *P. bliteus*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de *G. brimblecombei* em diferentes clones comerciais de *Eucalyptus*; aprimorar as técnicas de criação massal de *G. brimblecombei*; relatar novas espécies de hiperparasitoides e suas relações entre *G. brimblecombei* e *P. bliteus*; identificar inimigos naturais associados a infestações de *G. brimblecombei* e prospectar espécies de Coccinellidae com potencial de predação de ovos desta praga. O desenvolvimento e reprodução de *G. brimblecombei* confirma a adaptação deste inseto aos clones de *E. urophylla* e *E. grandis* x *E. urophylla*. A técnica de infestação inicial das mudas de eucalipto em casa de vegetação com adultos e ramos com ovos de *G. brimblecombei* resultou em 51,90 ovos e 782,20 ninfas de primeiro instar por muda de eucalipto, e 0,24 e 3,61 insetos por folha, respectivamente. O desenvolvimento de *G. brimblecombei* foi melhor no IPB2 (*E. urophylla*), o qual pode ser utilizado para produção massal dessa praga com 285,3 indivíduos produzidos por geração em cada gaiola em laboratório e 641 indivíduos por planta em casa de vegetação. A análise filogenética confirmou a associação da linhagem de parasitoides encontradas no Brasil com *P. brachiatus* e *Psyllaephagus* sp. HH (Hymenoptera: Encyrtidae) relatados na Austrália como hiperparasitoides heterônomo com fêmeas se desenvolvendo em psílídeos não parasitados e machos naquelas parasitadas por fêmeas de sua própria espécie ou outros parasitoides. A biologia dessas linhagens de *Psyllaephagus* é, ainda, pouco conhecida e seu impacto como hiperparasitoides em seus hospedeiros no Brasil precisa ser melhor estudado. Este relato contribui para a compreensão das relações entre *P. brachiatus* e *Psyllaephagus* sp. HH com espécies de psílídeos e seus hospedeiros e parasitoides no Brasil, especialmente *G. brimblecombei* e *P. bliteus*, e possíveis impactos no manejo integrado desta praga. *Psyllaephagus bliteus* e *P. brachiatus* emergiram, apenas, de ninfas de *G. brimblecombei* parasitadas. Fêmeas de *P. brachiatus* parasitaram, respectivamente, 78% e 76%, e 84% e 88% das ninfas de *G. brimblecombei* sadias ou parasitadas,

respectivamente, por *P. bliteus* com e sem concha em placas de Petri, estas últimas com emergência de, apenas, machos de *P. brachiatus*. *Psyllaephagus brachiatus* parasitou, nas gaiolas, 3,64% das ninfas de *G. brimblecombei* e emergiu de 89,33% das mesmas com razão sexual de 0,94. A proporção de *P. brachiatus* e *P. bliteus* em campo foi de 4,15 a 25,21%, com média de 10,53%, e a razão sexual, desse hiperparasitoide, de 0,50. *Psyllaephagus brachiatus* é um hiperparasitoide heterônomo de *G. brimblecombei* e *P. bliteus*, com sua fêmea se desenvolvendo na praga e seu macho nesse parasitoide. Um total de 1838 inimigos naturais, de 18 espécies, sete famílias e cinco ordens, foi coletado em áreas infestadas por *G. brimblecombei*. Espécies dos gêneros *Allograpta* (Diptera: Syrphidae) e *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae), além de *Atopozelus opsimus* Elkins (Hemiptera: Reduviidae), *Chrysoperla* sp. (Neuroptera: Chrysopidae), *Harmonia axyridis* Pallas, *Jaguarita conjugata* Mulsant e *Olla v-nigrum* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) foram dominantes. *Psyllaephagus bliteus* e *P. brachiatus* foram muito abundantes, *Allograpta* sp., *A. opsimus* e *Chrysoperla* sp., *H. axyridis*, *O. v-nigrum* e *Psyllaephagus blastopsyllae* Tamesse et al. (Hymenoptera: Encyrtidae) dispersas e as demais espécies raras. *Psyllaephagus bliteus* foi dominante, altamente frequente e abundante. A avaliação de espécies de Coccinellidae associadas a infestações de *G. brimblecombei*, incluindo *Cycloneda sanguinea* Linnaeus, *Eriopsis conexa* Germar, *H. axyridis*, *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville, *J. conjugata* e *O. v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae), teve adultos recém-emergidos de *J. conjugata* e *O. v-nigrum* predando ovos de *G. brimblecombei*, ao contrário de *C. sanguinea*, *E. conexa*, *H. axyridis* e *H. convergens*. A predação de ovos de *G. brimblecombei*, por *O. v-nigrum* foi alta, com média de 1.016 ovos consumidos, em 24 horas. Estes resultados abrem perspectivas para o controle biológico de *G. brimblecombei* e de melhoria de táticas de criação massal dessa praga e do uso de seus inimigos naturais no manejo sustentável integrado dessa espécie invasora no Brasil.

Palavras-chave: criação massal; hiperparasitoide; inimigos naturais; predador.

ABSTRACT

The red gum lerp psyllid *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae), native to Australia and introduced to Brazil, reduces the productivity of *Eucalyptus* plantations in this country. The manage of this pest depends on improving mass-rearing techniques of *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), finding new natural enemies, and detecting and understanding the relationships between exotic species of the genus *Psyllaephagus* with *G. brimblecombei* and *P. bliteus*. The objective of this work was to evaluate the development of *G. brimblecombei* on different commercial eucalyptus clones, to improve mass-rearing techniques of *G. brimblecombei*, to report new species of hyperparasitoids and their relationships with *G. brimblecombei* and *P. bliteus*, to identify natural enemies associated with *G. brimblecombei* infestations, and to prospect Coccinellidae species with potential to prey eggs of this pest. The development and reproduction of *G. brimblecombei* confirm the adaptation of this insect to *E. urophylla* and *E. grandis* x *E. urophylla* clones. The infestation technique of saplings in a greenhouse using adults and branches with *G. brimblecombei* eggs resulted in an average of 51.90 eggs and 782.20 first-instar nymphs per eucalyptus sapling, and 0.24 and 3.61 insects per leaf, respectively. The development of *G. brimblecombei* was better on the IPB2 (*E. urophylla*) that can be used to mass rearing this pest, with 285.3 individuals produced per generation and cage in the laboratory and 641 individuals per plant in the greenhouse. The phylogenetic analysis confirmed the association of the parasitoid lineage found in Brazil with *Psyllaephagus brachiatus* Riek and *Psyllaephagus* sp. HH (Hymenoptera: Encyrtidae), reported in Australia as heteronomous hyperparasitoids, with females developing on unparasitized psyllids and males on those parasitized by females of their own species or other parasitoids. The biology of these *Psyllaephagus* lineages is not fully understood, and their impact as hyperparasitoids on their hosts in Brazil needs to be further studied. This report contributes to understanding the relationships between *P. brachiatus* and *Psyllaephagus* sp. HH with psyllid species, their hosts, and parasitoids in Brazil, especially *G. brimblecombei* and *P. bliteus*, as well as the potential impacts on the integrated management of this pest. *Psyllaephagus bliteus* and *P. brachiatus* emerged exclusively from parasitized *G. brimblecombei* nymphs. *Psyllaephagus brachiatus* females parasitized 78% and 76%, and 84% and 88% of healthy or parasitized nymphs of *G. brimblecombei*, respectively, by *P. bliteus*, with or

without lerp in Petri dishes, the latter resulting in the emergence of only *P. brachiatus* males. *Psyllaephagus brachiatus* parasitized 3,64% of the *G. brimblecombei* nymphs in the cages and emerged from 89.33% of them with a sex ratio of 0.94. The proportion of *P. brachiatus* and *P. bliteus* in the field varied from 4.15 to 25.21%, with an average of 10.53%, and with a sex ratio of 0.50 for this parasitoid. *Psyllaephagus brachiatus* is a heteronomous hyperparasitoid of *G. brimblecombei* and *P. bliteus*, with its female developing into the pest and its male developing into this parasitoid. A total of 1838 natural enemies, from 18 species, seven families and five orders, were collected in the areas infested by *G. brimblecombei*. Species of the genera *Allograpta* (Diptera: Syrphidae) and *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae), in addition to *Atopozelus opsimus* Elkins (Hemiptera: Reduviidae), *Chrysoperla* sp. (Neuroptera: Chrysopidae), *Harmonia axyridis* Pallas, *Jaguarita conjugata* Mulsant and *Olla v-nigrum* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) were dominant. *Psyllaephagus bliteus* and *P. brachiatus* were very abundant, *Allograpta* sp., *A. opsimus* and *Chrysoperla* sp., *H. axyridis*, *O. v-nigrum* and *Psyllaephagus blastopsyllae* Tamesse et al. (Hymenoptera: Encyrtidae) dispersed and the other species rare. *Psyllaephagus bliteus* was dominant, highly frequent and abundant. Assessment of Coccinellidae species associated with *G. brimblecombei* infestations, including *Cycloneda sanguinea* Linnaeus, *Eriopsis conexas* Germar, *H. axyridis*, *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville, *J. conjugata* and *O. v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) revealed newly emerged adults of *J. conjugata* and *O. v-nigrum* preying on *G. brimblecombei* eggs, unlike *C. sanguinea*, *E. conexas*, *H. axyridis* and *H. convergens*. Egg predation by *O. v-nigrum* was high, with an average of 1016 eggs consumed in 24 hours. These results open new perspectives for the biological control of *G. brimblecombei*, improving the mass rearing tactics of the pest and the use of natural enemies for the sustainable management of this invasive species in Brazil.

Keywords: hyperparasitoid; mass rearing; natural enemies; predator.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	19
CAPÍTULO 1 - DEVELOPMENT OF <i>Glycaspis brimblecombei</i> (HEMIPTERA: APHALARIDAE) ON DIFFERENT <i>Eucalyptus urophylla</i> AND <i>Eucalyptus grandis</i> X <i>Eucalyptus urophylla</i> COMMERCIAL CLONES	22
ABSTRACT.....	22
1.1 INTRODUCTION.....	22
1.2 MATERIALS AND METHODS.....	23
1.3 RESULTS.....	26
1.4 DISCUSSION.....	29
REFERENCES.....	32
CAPÍTULO 2 – APERFEIÇOAMENTO DE TÉCNICAS DE CRIAÇÃO DE <i>Glycaspis brimblecombei</i> (HEMIPTERA: APHALARIDAE) EM CASA-DE-VEGETAÇÃO.....	35
RESUMO.....	35
ABSTRACT.....	36
2.1 INTRODUÇÃO.....	37
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
2.3 RESULTADOS.....	39
2.4 DISCUSSÃO.....	42
2.5 CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	45
CAPÍTULO 3 – <i>Psyllaephagus brachiatus</i> AND <i>Psyllaephagus</i> sp. HH (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE) IN INFESTATIONS OF <i>Glycaspis brimblecombei</i> (HEMIPTERA: APHALARIDAE) IN BRAZIL.....	47
ABSTRACT.....	47
3.1 INTRODUCTION.....	48
3.2 MATERIALS AND METHODS.....	48
3.3 RESULTS.....	50
3.4 DISCUSSION.....	53
REFERENCES.....	55

CAPÍTULO 4 – <i>Psyllaephagus brachiatus</i> (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE), HIPERPARASITOIDE HETERÔNOMO DE <i>Glycaspis brimblecombei</i> (HEMIPTERA: APHALARIDAE) E <i>Psyllaephagus bliteus</i> (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE).....	57
RESUMO.....	57
ABSTRACT.....	58
4.1 INTRODUÇÃO.....	59
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	60
4.3 RESULTADOS.....	62
4.4 DISCUSSÃO.....	72
4.5 CONCLUSÃO.....	75
REFERÊNCIAS.....	76
CAPÍTULO 5 – DIVERSIDADE DE INIMIGOS NATURAIS EM INFESTAÇÕES DE <i>Glycaspis brimblecombei</i> (HEMIPTERA: APHALARIDAE) EM CULTIVOS DE EUCALIPTO.....	78
RESUMO.....	78
ABSTRACT.....	79
5.1 INTRODUÇÃO.....	79
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	80
5.3 RESULTADOS.....	81
5.4 DISCUSSÃO.....	85
5.5 CONCLUSÃO.....	88
REFERÊNCIAS.....	89
CAPÍTULO 6 – PREDATION ACTIVITY OF DIFFERENT SPECIES OF COCCINELLIDAE ON <i>Glycaspis brimblecombei</i> (HEMIPTERA: APHALARIDAE) EGGS.....	94
ABSTRACT.....	94
6.1 INTRODUCTION.....	94
6.2 MATERIALS AND METHODS.....	95
6.3 RESULTS.....	97
6.4 DISCUSSION.....	98
6.5 CONCLUSION.....	99
REFERENCES.....	100

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	103
REFERÊNCIAS.....	105

INTRODUÇÃO GERAL

O setor de florestas plantadas no Brasil é referência mundial e indicador importante de desenvolvimento econômico, social e ambiental. Em 2023, a área total de árvores plantadas era de 10,2 milhões de hectares, principalmente, por espécies do gênero *Eucalyptus* e *Pinus* com, respectivamente, 7,8 e 1,9 milhões de hectares e o restante com outras espécies, como seringueira, acácia, teca e paricá com aumento de 3% em relação a 2022 (IBÁ, 2024). O gênero *Eucalyptus*, originário da Austrália e ilhas da Oceania, com mais de 600 espécies, foi introduzido no Brasil em 1903 e sua madeira é destinada, principalmente, para as indústrias de papel, celulose e aço (Brisola; Demarco, 2011). Pragas nativas, como formigas cortadeiras e lagartas desfolhadoras, e exóticas, como *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae), *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) e besouros do gênero *Gonipterus* (Coleoptera: Curculionidae) reduzem sua produtividade (Barbosa *et al.*, 2023).

O nome comum do psíldeo-de-concha *G. brimblecombei*, descrito a partir de espécimes coletados em Brisbane, Queensland, Austrália, se originou de seus hospedeiros preferidos, espécies de eucalipto da seção Exsertaria, incluindo *E. camaldulensis*, e a proteção da ninfa, chamada de concha, composta, principalmente, por amido (Moore, 1964). A alta capacidade reprodutiva e de dispersão do psíldeo-de-concha permitiu sua presença nos continentes americano, europeu e africano (Santos *et al.*, 2020). O primeiro relato desse inseto na América foi em 1998, no estado da Califórnia, Estados Unidos da América, e em 2003 foi no estado de São Paulo, Brasil, se dispersando por todo o país (Wilcken *et al.*, 2015). O hábito de *G. brimblecombei* é sugador preferindo brotos e folhas novas e sua reprodução é sexuada, com fêmeas ovipositando de 45 a 700 ovos com média de 119 ovos de formato oval, coloração amarela e colocados em linha, agrupados ou individualizados presos à lâmina foliar por uma estrutura denominada pedicelo. O período embrionário dura de seis a 12 dias, as ninfas passam por cinco instares e sua duração do estágio imaturo é de 12 a 22 dias (Firmino-Winckler *et al.*, 2009). A temperatura pode limitar o desenvolvimento de *G. brimblecombei*, onde sua diminuição aumenta o ciclo dessa praga e o aumento desse parâmetro reduz sua

viabilidade (Junk *et al.*, 2020). Surtos populacionais desta praga ocorrem, principalmente, em períodos secos com temperatura amena (Mannu *et al.*, 2018.).

Descoloração das folhas, redução da área fotossintética e do crescimento das plantas e secamento dos ponteiros caracterizam os danos por *G. brimblecombei*, em altas infestações, reduzindo o desenvolvimento e a produção da madeira (Del-Piero *et al.*, 2022). A produção de honeydew, excretada pelas ninfas deste inseto, atraem fungos saprófitas que agravam a redução da área fotossintética (Domingues *et al.*, 2022). A não adoção de medidas de controle pode causar 15% da mortalidade das plantas no primeiro ano e, até, 40% no segundo (Gill, 1998; Dreistadt *et al.*, 1999).

Acetamiprido, acetamiprido + bifentrina e etofenproxi são produtos químicos registrados para o manejo de *G. brimblecombei* (AGROFIT, 2024). No entanto, a eficácia dos inseticidas pode ser limitada em casos de alta infestação ou quando a aplicação ocorre fora do momento ideal para o controle. O controle biológico com o parasitoide *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) (Favoreto *et al.*, 2021), fungos entomopatogênicos (Domingues *et al.*, 2022) e percevejos predadores (Dias *et al.*, 2012) são alternativas para o manejo de *G. brimblecombei*.

Psyllaephagus bliteus é um inseto diminuto com coloração verde metálica, asas hialinas e pernas de cor creme e suas fêmeas, geralmente, maiores que os machos e a cor e o comprimento das antenas utilizados na identificação dos sexos (Daane *et al.*, 2005). Antenas do macho com 9 segmentos e amareladas e as das fêmeas com 11 segmentos e marrons, além do abdômen mais estreito devido ao ovipositor (Riek, 1962). Esse inimigo natural parasita ninfas de *G. brimblecombei* colocando um a quatro ovos em cada uma entre o tórax e o abdômen, com preferência por aquelas de terceiro e quarto instares (Plascencia-González *et al.*, 2005). Larvas de *P. bliteus* são vermiformes com cor branca e se desenvolvem na cavidade abdominal das ninfas hospedeiras, deixando-as com o aspecto de “múmia” e se transformam em pupas. O adulto emerge por um primeiro orifício de saída no abdômen da múmia e outro na lateral da concha (Daane *et al.*, 2005). *Psyllaephagus bliteus* se reproduz por partenogênese arrenótoca facultativa e, na ausência de machos, suas fêmeas colocam ovos férteis originando, apenas, machos (Favoreto *et al.*, 2021).

Limitações, como dependência da criação em ninfas de *G. brimblecombei*, com preferência pelas de terceiro e quarto instares, partenogênese arrenótoca em laboratório e superparasitismo limitam a criação e liberação massal de *P. bliteus* (Daane *et al.*, 2005; Favoreto *et al.*, 2021), exigindo o aperfeiçoamento de táticas de criação desse parasitoide e de seu hospedeiro. A taxa de parasitismo de *P. bliteus* em campo é variável (Ferreira-Filho *et al.*, 2015, Cuello *et al.*, 2021) e, em muitos casos, baixa, o que pode estar associado à hiperparasitoides (Hall *et al.*, 2017).

Os inimigos naturais, comumente associados com *G. brimblecombei*, incluem joaninhas, larvas de sirfídeos, crisopídeos, formigas e aranhas, considerados predadores ineficazes e oportunistas por não serem adaptadas para perfurar a concha das ninfas desta praga (Barbosa *et al.*, 2023). O potencial destes inimigos naturais no manejo de *G. brimblecombei*, com destaque para a fase de ovo sem controle biológico conhecido deve ser investigado na prospecção de novos inimigos naturais para este inseto-praga. Essa pesquisa traz novas perspectivas para o manejo integrado de *G. brimblecombei* e para aprimorar táticas de criação massal dessa praga, relatar a presença de hiperparasitoides e suas interações, e avaliar a diversidade de inimigos naturais e o potencial de uso dos mesmos no manejo desta praga.

CAPÍTULO 1

DEVELOPMENT OF *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: APHALARIDAE) ON DIFFERENT *Eucalyptus urophylla* AND *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla* COMMERCIAL CLONES

ABSTRACT

Glycaspis brimblecombei Moore (Hemiptera: Aphalaridae), an exotic pest with a sucking habit feed, preferentially on the new leaves and shoots of eucalyptus plants. Temperature and host types affect the duration of this insect life cycle. Damage caused by *G. brimblecombei* includes leaf discoloration, dieback, and reduction of the growth and wood production of eucalyptus plants. Breeding techniques to facilitate the mass production of *G. brimblecombei* to rear natural enemies for biological control efforts were examined. The objective was to evaluate the development of *G. brimblecombei* on two clones of *Eucalyptus urophylla* (AEC0144 and IPB2) and two of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* (IPB13 and clone 4), and the potential to mass produce individuals of this pest in the laboratory to multiply its natural enemy, *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae). The experiment was conducted in standard rearing cages with six eucalyptus plants and the release of forty pairs of *G. brimblecombei* in each one, with three replications. The number of *G. brimblecombei* eggs was greater on clones IPB2 and clone 4 and the nymph viability and adult production on IPB2. The sex ratio was similar between treatments. The development and reproduction of *G. brimblecombei* confirms the adaptation of this insect to the clones of *E. urophylla* and *E. grandis* x *E. urophylla*, considered deterrents to oviposition by its females. The development of *G. brimblecombei* was better on IPB2 (*E. urophylla*) which can be used to mass produce this insect with 285.3 individuals produced per generation and cage with forty pairs, representing 7.13 individuals produced per female of this insect.

Keywords: Biological control, mass rearing, red gum lerp psyllid

1.1 INTRODUCTION

The red gum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae), an exotic pest native to Australia and with a sucking habit, feeds preferentially on the shoots and young leaves of eucalyptus plants (Del-Piero et al.,

2022), dispersed worldwide (Dittrich-Schröder et al., 2021). Severe infestations of this insect result in leaf discoloration, dieback, reduction of photosynthetic area, and consequently, the growth and wood production. They also increase susceptibility to nutritional stress, diseases, and secondary pests (Jere et al., 2020; Dal-Pogetto et al., 2022).

Glycaspis brimblecombei reproduces sexually, with females laying four to 45 eggs each one (Tuller et al., 2017), and with an embryonic period from six to 12 days. The nymphs of this insect go through five instars, with a duration of 14 to 17 days and an average of two to three days per instar, depending on the *Eucalyptus* species or clone (Firmino-Winckler et al., 2009). Temperature and relative humidity affects the development of *G. brimblecombei* (Firmino-Winckler et al., 2009; Mannu et al., 2018). The occurrence and population outbreaks of this pest are more common in drier climate and mild temperatures (Boavida et al., 2016; Ferreira-Filho et al., 2017; Junk et al., 2020).

The parasitoid *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) is the main tactic to manage *G. brimblecombei* (Caleca et al., 2018; Favoreto et al., 2021), but mass rearing these insects remains a challenge. The objective of this study was to evaluate the development of *G. brimblecombei* on four treatments represented by two *Eucalyptus urophylla* (AEC0144 and IPB2) and two of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* (IPB13 and clone 4) clones and to assess their potential for laboratory production of this pest to multiply its natural enemy, *P. bliteus*.

1.2 MATERIAL AND METHODS

Obtaining insects

Branches infested with *G. brimblecombei* were collected on *Eucalyptus urophylla* (AEC0144) plantations at Suzano S.A. in Três Lagoas, Mato Grosso do Sul state, Brazil (20°58'45"S 51°57'34"W, 368 m) and placed in containers with water inside acrylic rearing cages (35 cm wide x 60 cm high x 40 cm deep), in a room with controlled conditions at 26 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ relative humidity, and a photoperiod of 12:12 hours, to obtain adults in the laboratory of the company Suzano in Três Lagoas city.

Development of "Glycaspis brimblecombei" on different eucalyptus clones

The development of *G. brimblecombei* was evaluated in four treatments, represented by two *Eucalyptus urophylla* clones (AEC0144 and IPB2), and two of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* (IPB13 and clone 4), in a room with controlled conditions at 26 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ relative humidity, and a photoperiod of 12:12 hours. The clones were selected based on their historical infestation by the pest in Mato Grosso do Sul. Twenty-four saplings of each clone, produced in the Suzano nursery in Três Lagoas, Mato Grosso do Sul state, Brazil, in 1L pots and with 60 days and a height of 50 cm, were separated and pruned to facilitate sprouting. After sprouting, six of them were placed per rearing cage (35 cm wide x 60 cm high x 40 cm deep), and forty couples of *G. brimblecombei* released in each one over a period of 7 days. (Figure 1), representing a plot with three replications. These saplings were irrigated daily using a 500 ml spray bottle. The number of eggs, nymphs (first to fifth instar), and adults of *G. brimblecombei* produced, egg viability and viability per instar, sex ratio of adults, number of individuals produced per female, and total number of adults produced per breeding cage were evaluated.



Figure 1. Saplings of AEC0144 (A) and IPB2 (B) of *Eucalyptus urophylla*, and IPB13 (C) and clone 4 (D) of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* in rearing and capturing cages with a sucker (E); and release (F) of *Glycaspis brimblecombei* adults (Hemiptera: Aphalaridae).

The numbers of leaves per eucalyptus clone were counted and those of eggs, nymphs (first to fifth instar), and adults of *G. brimblecombei* counted per plant and removed from the breeding cage at each stage of this insect. The total (egg to adult), eggs (egg to first instar nymph), nymphs (nymph to adult) and viability per instar of *G. brimblecombei* were calculated using the formula: $(\text{viable insects} * 100) / \text{total number of insects}$. The sex ratio was calculated by dividing the number of *G. brimblecombei* females by the total number of males and females (Boomsma; Nachman, 2002). The number of insects produced per female was obtained by dividing the total number of insects at the end of the cycle by that of insects used at the beginning of the infestation.

Data analysis

The impact of host plants on egg and nymph viability of *G. brimblecombei* was evaluated using generalized linear models with a binomial distribution. The data were subjected to ANOVA using the F-test, and the means compared using Tukey's test ($P \leq 0.05$). The data analysis was performed using Minitab software (version 19) developed by Minitab (2010).

1.3 RESULTS

The number of *G. brimblecombei* eggs per plant was greater on IPB2 and clone 4, 214.17 ± 27.03 and 193.83 ± 39.33 eggs, respectively, averaging 1.3 eggs per leaf and 31.96 and 29.08 eggs per female, respectively, compared to AEC0144 and IPB13 (Tables 1 and 2).

Table 1. Number of eggs, nymphs (first to fifth instars), and adults per plant and per leaf (mean $\pm$ standard error of the mean) of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) on clones AEC0144 and IPB2 (*Eucalyptus urophylla*) and IPB13 and clone 4 (*Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*)

Stage	AEC0144	IPB2	IPB13	Clone 4
Numbers per Plant				
Eggs	103.78 $\pm$ 16.75Ab	214.17 $\pm$ 27.03Aa	44.39 $\pm$ 11.78Ac	193.83 $\pm$ 39.33Aa
1st instar	75.67 $\pm$ 11.64ABb	164.28 $\pm$ 22.79ABa	25.33 $\pm$ 6.96ABc	127.56 $\pm$ 26.86ABa
2nd instar	66.72 $\pm$ 10.64ABb	138.00 $\pm$ 18.14BCa	18.67 $\pm$ 4.90Bc	105.28 $\pm$ 20.27BCa
3rd instar	55.89 $\pm$ 8.67ABb	123.83 $\pm$ 15.18BCa	11.94 $\pm$ 3.20Bc	84.78 $\pm$ 14.31BCb
4th instar	42.44 $\pm$ 6.61Bb	86.89 $\pm$ 8.78Ca	8.33 $\pm$ 2.31Bc	55.06 $\pm$ 8.29Cab
5th instar	21.17 $\pm$ 4.53Cb	49.22 $\pm$ 3.88Da	4.89 $\pm$ 1.49Bc	25.78 $\pm$ 4.30Db
Adults	18.78 $\pm$ 4.39Cb	47.56 $\pm$ 3.87Da	3.94 $\pm$ 1.36Bc	22.61 $\pm$ 3.52Db
Numbers per Leaf				
Eggs	0.73 $\pm$ 0.11Ab	1.32 $\pm$ 0.16Aa	0.51 $\pm$ 0.12Ab	1.33 $\pm$ 0.23Aa
1st instar	0.55 $\pm$ 0.09ABb	1.01 $\pm$ 0.13ABa	0.29 $\pm$ 0.07ABb	0.88 $\pm$ 0.16ABa
2nd instar	0.48 $\pm$ 0.08ABb	0.85 $\pm$ 0.10BCa	0.21 $\pm$ 0.05Bb	0.72 $\pm$ 0.13Ba
3rd instar	0.41 $\pm$ 0.07Bb	0.76 $\pm$ 0.08BCa	0.14 $\pm$ 0.03BCc	0.58 $\pm$ 0.09BCab
4th instar	0.31 $\pm$ 0.05Bb	0.54 $\pm$ 0.05Ca	0.10 $\pm$ 0.02Cc	0.38 $\pm$ 0.05Cb
5th instar	0.16 $\pm$ 0.04Cb	0.30 $\pm$ 0.03Da	0.06 $\pm$ 0.01Cc	0.18 $\pm$ 0.03Db
Adults	0.14 $\pm$ 0.04Cb	0.29 $\pm$ 0.03Da	0.05 $\pm$ 0.01Cc	0.16 $\pm$ 0.02Db

Means followed by the same capital letter, per column, or lower-case letter, per line, do not differ by the Tukey Test ($p \leq 0.05$).

Table 2. Number of eggs and adults per female, total viability (egg to adult) and nymph viability (nymph to adult), number of insects per cage (Adults/Cage), and sex ratio (SR) of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) on clones AEC0144 and 2 (*Eucalyptus urophylla*), and 3 and 4 (*Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*)

Variable	AEC0144	IPB2	IPB13	Clone 4
Eggs/female	15.57 ± 1.59b	31.96 ± 2.52a	6.66 ± 1.53c	29.08 ± 5.33a
Adults/female	2.82 ± 1.11b	7.13 ± 0.30a	0.60 ± 0.17c	3.40 ± 0.24b
Total viability	23.01 ± 4.16ab	28.16 ± 4.22a	7.93 ± 2.12c	14.31 ± 2.39b
Nymph viability	25.95 ± 4.10ab	35.29 ± 4.20a	13.54 ± 2.67b	20.31 ± 2.57b
Adults/Cage	112.8 ± 0.02a	285.3 ± 0.02a	24.0 ± 0.02a	136.0 ± 0.02a
SR	0.58 ± 0.03a	0.61 ± 0.02a	0.57 ± 0.02a	0.58 ± 0.01a

Means followed by the same lower-case letter, per line, do not differ by the Tukey Test ($p \leq 0.05$).

The viability of *G. brimblecombei* eggs was greater on AEC0144 and IPB2, 81.90% and 78.19%, respectively. The viability of first and second instar nymphs was greater on AEC0144, IPB2, and clone 4, 89.05% and 86.07%, 88.26% and 88.40%, and 87.10% and 84.99%, respectively (Table 3 and Figure 2).

Table 3. Viability (%) (mean ± error of the mean) of eggs and of each instar of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) on clones AEC0144 and IPB2 (*Eucalyptus urophylla*), and IPB13 and clone 4 (*Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*)

Stage	AEC0144	IPB2	IPB13	Clone 4
Eggs	81.90 ± 1.17Aa	78.19 ± 0.95ABa	59.27 ± 1.24BCb	70.03 ± 1.08ABab
1st instar	89.05 ± 0.50Aa	88.26 ± 0.47Aa	79.83 ± 0.69Ab	87.10 ± 0.82Aa
2nd instar	86.07 ± 0.43Aa	88.40 ± 0.42Aa	65.60 ± 0.86Bb	84.99 ± 0.76Aa
3rd instar	76.99 ± 0.85Aa	73.25 ± 0.65Ba	71.08 ± 0.90Ba	67.39 ± 0.67Ba
4th instar	52.15 ± 1.45Bb	60.72 ± 0.91Ca	46.98 ± 1.37Cb	45.44 ± 0.92Cb
5th instar	78.17 ± 1.47Ab	96.20 ± 0.16Aa	76.42 ± 1.47ABb	89.74 ± 0.32Ab

Means followed by the same capital letter, per column, or lower-case letter, per line, do not differ by the Tukey Test ($p \leq 0.05$).

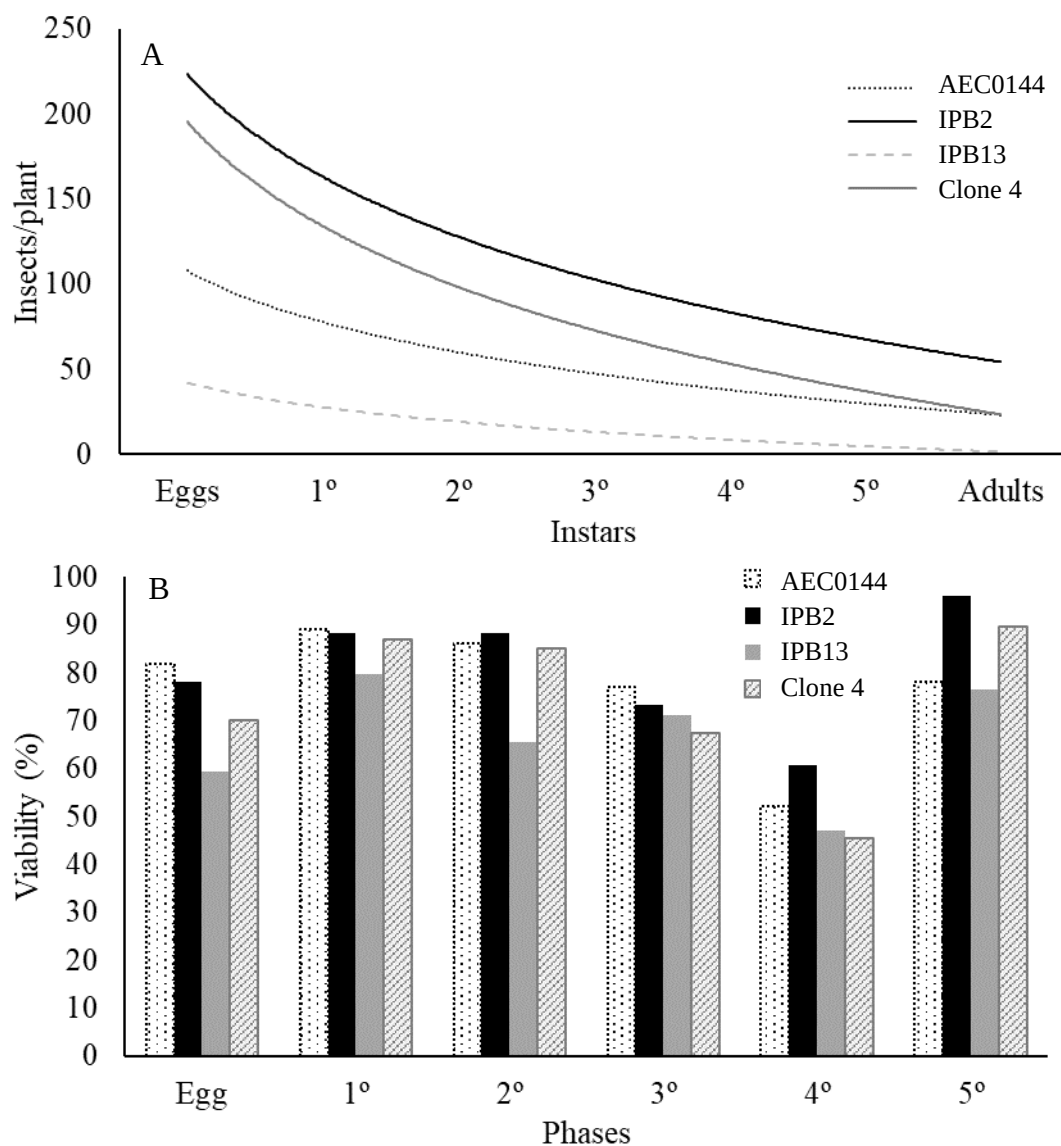


Figure 2. Number of eggs and nymphs per instar, and adults (A) and viability of the egg stage and each instar (B) of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) on clones AEC0144 and IPB2 (*Eucalyptus urophylla*), and IPB13 and clone 4 (*Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*).

The viability of third instar *G. brimblecombei* nymphs was similar between treatments, $67.39 \pm 0.67\%$ to $76.99 \pm 0.85\%$. However, that of fourth and fifth instar nymphs was greater on IPB2, $60.72 \pm 0.91\%$ and $96.20 \pm 0.16\%$, respectively. The viability of fourth instar nymphs was lower in all clones, $45.44 \pm 0.92\%$ to $60.72 \pm 0.91\%$ (Table 3 and Figure 2).

The viability of the nymph period of *G. brimblecombei* was greater on IPB2 (*E. urophylla*) (35.29 ± 4.20) than on IPB13 (13.54 ± 2.67), and clone 4 (20.31 ± 2.57) (Table 2 and Figure 2). The number of *G. brimblecombei* adults produced was greater on IPB2 (*E. urophylla*), 47.56 ± 3.87 individuals per plant, than on the AEC0144 (18.78 ± 4.39), IPB13 (3.94 ± 1.36), and clone 4 (22.61 ± 3.52) (Table 1, Figure 2).

The sex ratio, 0.57 to 0.61, was similar between treatments, with an average of 0.58 (Table 2). The number of *G. brimblecombei* adults produced was greater on IPB2, 7.13 per female and a total of 285.6 per breeding cage (Table 2).

1.4 DISCUSSION

The greatest number of eggs per plant of *G. brimblecombei* on clones IPB2 and clone 4 is similar to that of this insect on those of *E. urograndis* and *E. urophylla* x *Eucalyptus camaldulensis* (Silva et al., 2010). The 31.96 and 29.08 eggs per female on IPB2 and clone 4 indicate high attractiveness to oviposition by females of this insect (Yao et al., 2022), similar to that reported for the clone 3025 (*E. grandis* x *E. camaldulensis*), susceptible to *G. brimblecombei*, 31.2 eggs per female (Pereira et al., 2020), and greater than that on *E. urophylla*, 22.3 eggs per female (Firmino-Winckler et al., 2009). The variability of physical and chemical characteristics, such as type and concentration of terpenes and sideroxylonals, besides total epicuticular wax and stomata between eucalyptus plants, can explain differences in the development of *G. brimblecombei* (Andrew et al., 2007, Del-Piero et al., 2022). However, the number of eggs of this insect varies greatly, such as the 77 and 132 eggs per plant of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* clones with different resistance levels to this insect (Ribeiro et al., 2015).

The greater viability of *G. brimblecombei* eggs on clones AEC0144 and IPB2 (*Eucalyptus urophylla*) and of their first and second instar nymphs on these clones and also on clone 4 (*Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*) is similar to that of egg viability of this insect on susceptible *E. camaldulensis* and *E. grandis* x *E. camaldulensis* clones but it differs from that on *E. urophylla* clones with lower viability of first and second instar nymphs (Pereira, 2011). These results and reports of oviposition and feeding of *G. brimblecombei* in lignified branches of *E. grandis* x *E. urophylla* (Dal-Pogetto et al., 2022) reduce intra-specific competition (Klomp, 1964),

enhancing the adaptation of this pest to *E. urophylla* and *E. grandis* x *E. urophylla* clones. These clones have been reported as repellent to adults and deterrent to oviposition (Pereira et al., 2013) and with deleterious effects on the development of this pest due to the anatomy of their leaves (Ribeiro et al., 2015; Silveira et al., 2021; Del-Piero et al., 2022). However, this did not prevent the oviposition and feeding by *G. brimblecombei*. This adaptation may be related to subpopulations (Chen; Schoville, 2018) of this insect with endosymbionts facilitating its nutrition (Favoreto et al., 2022; Meng et al., 2022).

The similar viability of third instar nymphs between treatments and higher values for fourth and fifth instar with the IPB2 indicates its suitability to rearing this pest to mass produce *P. bliteus*, as this parasitoid prefers nymphs in these stages (Favoreto et al., 2021). The lower viability of *G. brimblecombei* nymphs in the fourth instar with all clones differs from that reported for this insect with *E. urophylla*, averaging 88.24% (Pereira, 2011), which can be attributed to the clone responses to artificial laboratory lighting (Lockett et al., 2022). This indicates the need of improving laboratory rearing techniques for this pest using suitable clones to increase the viability of these stages. Besides, it confirms the susceptibility of *E. urophylla* and *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* to *G. brimblecombei*, as found with outbreaks of *G. brimblecombei* on clones of these plants in the field (Dhahri et al., 2014; Dal-Pogetto et al., 2022).

The higher viability of the nymph stage of *G. brimblecombei* on IPB2 is similar to that reported for *E. urophylla*, 29% (Pereira, 2011). On the other hand, the high mortality of this insect, even in more susceptible clones, may be related to plant quality and of their compounds acting in defense by antibiosis (Haukioja, 1991). Additionally, the volatile organic compounds emitted by plants can interfere with the recognition of secondary products by the insect for oviposition, thereby reducing its offspring (Bernays, 2001; Steward et al., 2022).

The greater production of *G. brimblecombei* adults on IPB2, originating from a population collected on the AEC0144 plantation, indicates the lack of necessity for pre-imaginal conditioning by this insect (Liu; Liu, 2006), similar to that reported for *Eucalyptus camaldulensis* and *E. grandis* x *E. camaldulensis* (gracem 'HGC'). This means that the host origin does not affect the preference and development of the pest in another one (Pereira et al., 2013). This condition increases the importance

and potential for damage caused by *G. brimblecombei* in eucalyptus plantations with different clones.

The sex ratio of *G. brimblecombei*, similar between treatments, agrees with that of 0.6 for the 'urograndis' hybrid, indicating a higher number of females. However, it differs from the sex ratio of 0.4 for this insect on *E. urophylla* and *E. grandis*, indicating a higher number of males (Firmino-Winckler et al., 2009). These differences may be related to the host plant, temperature, and endosymbionts such as *Wolbachia pipientis* Hertig (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in *G. brimblecombei* (Bondy; Hunter, 2019; Favoreto et al., 2022). A greater number of females is important to mass rearing this insect as it increases its oviposition rates and populations (Werren; Beukeboom, 1998; Aceituno-Medina et al., 2020).

The highest number of adults produced on IPB2 of *E. urophylla* indicates better conditions for the development and population increase of *G. brimblecombei*. This may be related to a reduced induction of host response, thereby increasing the quality of this plant for the insect (Silva et al., 2013). The ease adaptation of *G. brimblecombei* to different genetic materials and the challenges of its rearing and management are a concern for the forestry sector. This increases the need of improving these steps to mass rearing this pest and its parasitoid *P. bliteus*, as well as to prospecting additional natural enemies. The better development on the IPB2 (*E. urophylla*) indicates that it could be used to mass rearing *G. brimblecombei*, with a production of 7.13 adults per female and a total of 285.3 for the forty females released per cage with this plant.

REFERENCES

- Aceituno-Medina, M., A. Ordoñez, M. Carrasco, P. Montoya, and E. Hernández. 2020. Mass rearing, quality parameters, and bioconversion in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) for sterile insect technique purposes. *J. Econ. Entomol.* 113: 1097-1104.
- Andrew, R.L., I.R. Wallis, C.E. Harwood, M. Henson, and W.J. Foley. 2007. Heritable variation in the foliar secondary metabolite sideroxylonal in *Eucalyptus* confers cross-resistance to herbivores. *Oecologia* 153: 891-901.
- Bernays, E.A. 2001. Neural limitations in phytophagous insects: implications for diet breadth and evolution of host affiliation. *Annu. Rev. Entomol.* 46: 703-727.
- Boavida, C., A. Garcia, and M. Branco. 2016. How effective is *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in controlling *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psylloidea)? *Biol. Control* 99: 1-7.
- Bondy, E.C., and M.S. Hunter. 2019. Sex ratios in the haplodiploid herbivores, Aleyrodidae and Thysanoptera: A review and tools for study. *Adv. Insect Phys.* 56: 251-281.
- Boomsma, J.J., and G. Nachman. 2002. Analysis of sex ratios in social insects. In: Hardy, I.C.W. ed. *Sex ratios: concepts and research methods*. Cambridge University Press, Cambridge, 93-111.
- Caleca, V., S. Bella, A.L. Pergola, A. Lombardo, M. Maltese, S. Nucifora, R. Rizzo, P. Suma, F. Tortorici, and C. Rapisarda. 2018. Environmental factors impact and incidence of parasitism of *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera Encyrtidae) on populations of *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera Aphalaridae) in Mediterranean climatic areas. *Redia* 101: 89-100.
- Chen, Y.H., and S.D. Schoville. 2018. Editorial overview: ecology: ecological adaptation in agroecosystems: novel opportunities to integrate evolutionary biology and agricultural entomology. *Curr. Opin. Insect Sci.* 26: 4-8.
- Dal-Pogetto, M.H.F.A., W.S. Tavares, J.C. Zanuncio, W.M. Silva, M.V. Masson, P.J. Ferreira-Filho, L.R. Barbosa, and C.F. Wilcken. 2022. High population levels lead *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) to unrecorded feeding and oviposition behaviors on *Eucalyptus urograndis* plants. *Braz. J. Biol.* 84: e250931.
- Del-Piero, F.H.M.O., C.F. Wilcken, M.M. Domingues, A.L. Favoreto, R.A. Rodella, A.I.A. Pereira, W.M. Silva, J.E. Serrão, and J.C. Zanuncio. 2022. Anatomical indicators of *Eucalyptus* spp. resistance to *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae). *PeerJ* 10, e13346.
- Dhahri, S., M.L. Jamaa, A. Garcia, C. Boavida, and M. Branco. 2014. Presence of *Glycaspis brimblecombei* and its parasitoid *Psyllaephagus bliteus* in Tunisia and Portugal. *Silva Lusitana* 22: 99-105.
- Dittrich-Schröder, G., J.R. Garnas, D. Arriagada-Cares, R. Ahumada, B.P. Hurley, S.A. Lawson, and B. Slippers. 2021. Diversity and introduction history of *Glycaspis brimblecombei* reflects a history of bridgeheads and distinct invasions. *Front. For. Glob. Change* 4: 783603.
- Favoreto, A.L., V.R. Carvalho, M.M. Domingues, M.F. Ribeiro, G. Cavallini, S.A. Lawson, W.M. Silva, J.C. Zanuncio, and C.F. Wilcken. 2022. *Wolbachia pipientis*: first detection in populations of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) and *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in Brazil. *Braz. J. Biol.* 82: e264475.

- Ferreira-Filho, P.J., C.F. Wilcken, M.V. Masson, W.S. Tavares, J.C. Guerreiro, J.B. Carmo, E.P. Prado, and J.C. Zanuncio. 2017. Influence of temperature and rainfall on the population dynamics of *Glycaspis brimblecombei* and *Psyllaephagus bliteus* in *Eucalyptus camaldulensis* plantations. *Rev. Colomb. Entomol.* 43: 1-6.
- Firmino-Winckler, D.C., C.F. Wilcken, N.C.D. Oliveira, and C.A.O.D. Matos. 2009. Biologia do psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera, Psyllidae) em *Eucalyptus* spp. *Rev. Bras. Entomol.* 53: 144-146.
- Haukioja, E. 1991. Induction of defenses in trees. *Annu. Rev. Entomol.* 36: 25-42.
- Jere, V., J. Mhango, D. Njera, and H. Jenya. 2020. Infestation of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) on three *Eucalyptus* species in selected ecological zones in Malawi. *Afr. J. Ecol.* 58: 251-259.
- Junk, J., M. Eickermann, M. Milenovic, P. Suma, and C. Rapisarda. 2020. Re-visiting the incidence of environmental factors on a pre-imaginal population of the red gum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei* Moore. *Insects* 11: 860.
- Klomp, H. 1964. Intraspecific competition and the regulation of insect numbers. *Annu. Rev. Entomol.* 9: 17-40.
- Liu, S.S., and T.X. Liu. 2006. Preimaginal conditioning does not affect oviposition preference in the diamondback moth. *Ecol. Entomol.* 31: 307-315.
- Lockett, M.T., R. Rasmussen, S.K. Arndt, G.R. Hopkins, and T.M. Jones. 2022. Artificial light at night promotes bottom-up changes in a woodland food chain. *Environ. Pollut.* 310: 119803.
- Mannu, R., F. Buffa, C. Pinna, V. Deiana, A. Satta, and I. Floris. 2019. Preliminary results on the spatio-temporal variability of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera Psyllidae) populations from a three-year monitoring program in Sardinia (Italy). *Redia* 101: 7.
- Meng, L., C. Xia, Z. Jin, and H. Zhang. 2022. Investigation of gut bacterial communities of asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*) reared on different host plants. *Insects* 13: 694.
- Minitab. 2010. Minitab 17 Statistical Computer Software. Minitab Inc., State College, PA
- Pereira, J.M. 2011. Resistência de genótipos de eucalipto ao psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae). Ph.D. Thesis, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, UNESP, São Paulo, Brasil.
- Pereira, J.M., E.L.L. Baldin, E.P. Soliman, and C.F. Wilcken. 2013. Attractiveness and oviposition preference of *Glycaspis brimblecombei* Moore in *Eucalyptus* spp. *Phytoparasitica* 41: 117-124.
- Pereira, J.M., E.L.L. Baldin, E.P. Soliman, and C.F. Wilcken. 2020. Development of the red gum lerp psyllid *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) in *Eucalyptus* spp. *Sci. For.* 48: e3283.
- Silva, A.L.D., O. Peres-Filho, A. Dorval, and C.K.D.C. Castro. 2013. Dinâmica populacional de *Glycaspis brimblecombei* e inimigos naturais em *Eucalyptus* spp., Cuiabá-MT. *Floresta e Ambiente* 20: 80-90.
- Silva, J.O., K.N. Oliveira, K.J. Santos, M.M. Espírito-Santo, F.S. Neves, and M.L. Faria. 2010. Effects of landscape structure and *Eucalyptus* genotype on the abundance and biological control of *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae). *Neotrop. Entomol.* 39: 91-96.
- Silveira, A.C., G.L.A. Siqueira, F.M. Mayer, S.R.S. Lazzarotto, O.G. Miguel, C.A. Zini, D.L. Queiroz, and M. Lazzarotto. 2021. Thermal tool to evaluate essential oil

- composition of different *Eucalyptus* genotypes in relation to *Glycaspis brimblecombei* susceptibility (Hemiptera: Aphalaridae). J. Therm. Anal. Colorim. 147: 7363-7371.
- Steward, R.A., R.S. Epanchin-Niell, and C.L. Boggs. 2022. Novel host unmasks heritable variation in plant preference within an insect population. Int. J. Org. Evol. 76: 2634-2648.
- Tuller, J., K.N. Oliveira, J.O. Silva, M.L. Faria, M.M. Espírito-Santo, J.E. Serrão, and J.C. Zanuncio. 2017. *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) attack patterns on different *Eucalyptus* genotypes. PeerJ 5: e3864.
- Werren, J.H., and L.W. Beukeboom. 1998. Sex determination, sex ratios, and genetic conflict. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 29: 233-261.
- Yao, Q., M. Wang, and Z. Chen. 2022. The relative preference of *Empoasca onukii* (Hemiptera: Cicadellidae) for oviposition on twenty-four tea cultivars. J. Econ. Entomol. 115: 1521–1530.

CAPÍTULO 2

APERFEIÇOAMENTO DE TÉCNICAS DE CRIAÇÃO DE *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: APHALARIDAE) EM CASA-DE-VEGETAÇÃO

RESUMO

Glycaspis brimblecombei Moore (Hemiptera: Aphalaridae), praga de origem australiana e introduzida em diversos países, se alimenta da seiva de diferentes espécies de eucalipto. O enrolamento e deformação das folhas, envassouramento, fumagina, seca de ponteiro e morte das plantas caracterizam danos por esse inseto. A dependência de criação em ninfas de *G. brimblecombei* com preferência por aquelas de terceiro e quarto instares, partenogênese arrenótoca em laboratório e superparasitismo limitam a produção de *P. bliteus* para liberação massal, exigindo o aperfeiçoamento de técnicas de criação desse parasitoide e de seu hospedeiro. O objetivo deste trabalho foi avaliar a técnica de criação de *G. brimblecombei* em casa-de-vegetação e compará-la com sua criação em laboratório. Ramos infestados com *G. brimblecombei*, coletados em plantio de *Eucalyptus urophylla* na Suzano S.A. em Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, foram acondicionados em recipientes com água em gaiolas de criação para coleta de adultos deste inseto. A infestação das mudas de eucalipto com *G. brimblecombei* em casa de vegetação, produção de ninfas de *G. brimblecombei* em vasos de volumes diferentes em casa de vegetação e o desenvolvimento das ninfas de *G. brimblecombei* em diferentes clones de eucalipto em laboratório e casa de vegetação foram avaliados. A técnica de infestação inicial das mudas em casa de vegetação, utilizando adultos e ramos com ovos de *G. brimblecombei*, teve média de 51,90 ovos e 782,20 ninfas de primeiro instar por muda de eucalipto, e 0,24 e 3,61 insetos por folha, respectivamente. A produção de ninfas e adultos de *G. brimblecombei* em mudas de *E. urophylla* não diferiu entre vasos de 3L e 1L. A viabilidade de ovos e ninfas de primeiro e segundo instar foi semelhante entre as técnicas de criação. A viabilidade das ninfas de terceiro até o quinto instar foi maior em casa-de-vegetação. O desenvolvimento de *G. brimblecombei* em casa de vegetação foi melhor no IPB2 (*E. urophylla*) com produção de 641 adultos por planta. O uso combinado da criação de *G. brimblecombei* em laboratório e casa de vegetação pode ser uma alternativa para o desenvolvimento da criação massal deste inseto.

Palavras-chave: controle biológico, criação massal, eucalipto, psíldeo-de-concha

ABSTRACT

Glycaspis brimblecombei Moore (Hemiptera: Aphalaridae), a pest of Australian origin and introduced in several countries, feeds on the sap of different species of *Eucalyptus*. Leaf rolling and deformation, “witch broom”, dieback and sooty mold and plant death characterize damage by this pest. Dependence of its rearing on *G. brimblecombei* nymphs with a preference for the third and fourth instars ones, occurrence of arrhenotoca parthenogenesis in laboratory conditions and superparasitism limit *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) rearing for mass release, making necessary to improved it. The objective of this work was to evaluate breeding technique of *G. brimblecombei* in a greenhouse and compare it with it rearing in the laboratory. Branches infested with *G. brimblecombei* collected in a *Eucalyptus urophylla* plantation at Suzano S.A. in Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, were placed in containers with water in rearing cages to collect adults of this insect. The production of nymphs on *Eucalyptus* saplings, in pots of different volumes in a greenhouse, infested with *G. brimblecombei*, and the development of nymphs of this insect in different *Eucalyptus* clones in the laboratory and greenhouse was evaluated. The initial infestation technique of saplings in a greenhouse using adults and branches with *G. brimblecombei* eggs had an average of 51.90 eggs and 782.20 first instar nymphs per *Eucalyptus* sapling, and 0.24 and 3.61 insects per leaf, respectively. The production of *G. brimblecombei* nymphs and adults in *E. urophylla* saplings was similar using 3L and 1L pots. The viability of eggs and first and second instar nymphs was similar between rearing techniques. The viability of third to fifth instar nymphs was greater in the greenhouse. The development of *G. brimblecombei* in the greenhouse was better on clone IPB2 (*E. urophylla*) producing 641 adults per plant. The combined use of *G. brimblecombei* rearing in the laboratory and greenhouse may be an alternative for the mass breeding of this insect.

Keywords: biological control, *Eucalyptus*, mass rearing, red gum lerp psyllid

2.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* é plantado em mais de 100 países em seis continentes, cobrindo mais de 20 milhões de ha, com maior proporção de área de plantio no Brasil, 22% (Hua *et al.*, 2022). *Eucalyptus camaldulensis*, *E. grandis*, *E. tereticornis*, *E. globulus*, *E. nitens*, *E. urophylla*, *E. saligna*, *E. dunnii* e *E. pellita* e seus híbridos são plantados em cerca de 90% da área atual de eucalipto no Brasil, pragas exóticas e nativas podem reduzir a produtividade dessas plantas (Stanturf *et al.*, 2013; Barbosa *et al.*, 2023).

Glycaspis brimblecombei Moore (Hemiptera: Aphalaridae), praga de origem australiana e introduzida em diversos países, se alimenta da seiva de plantas de eucalipto e, em altas infestações, pode causar o enrolamento e deformação das folhas, envassouramento, fumagina, seca de ponteiro e morte das plantas (Dittrich-Schröder *et al.*, 2021; Del-Piero *et al.*, 2022). O controle biológico com o parasitoide *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), fungos entomopatogênicos e percevejos predadores são os mais utilizados no manejo de *G. brimblecombei* (Dias *et al.*, 2012; Cuello *et al.*, 2021; Domingues *et al.*, 2022). Dependência de criação em ninfas de *G. brimblecombei*, com preferência pelas de terceiro e quarto instares, partenogênese arrenótoca em laboratório e superparasitismo pode limitar a criação de *P. bliteus* para liberação massal (Daane *et al.* 2005; Favoreto *et al.*, 2021), exigindo o aperfeiçoamento de técnicas de criação desse parasitoide e de seu hospedeiro.

Glycaspis brimblecombei tem sido criado em laboratório (Wilcken *et al.*, 2010) e o aprimoramento desta técnica pode aumentar o sucesso de criação e liberação massal de *P. bliteus* e no desenvolvimento de pesquisas futuras. O objetivo deste trabalho foi avaliar a técnica de criação de *G. brimblecombei* em casa-de-vegetação e compará-la com sua criação em laboratório propondo um novo protocolo de criação.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das mudas de eucalipto

Cem mudas de cada clone, produzidas no viveiro da Suzano em Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, plantadas em vasos de 1L ou 3L, com 60 dias e altura de 50 cm, foram separadas e podadas, para brotação e infestação por *G. brimblecombei* em laboratório (26 ± 2 °C, de $60 \pm 10\%$ de umidade relativa, e fotoperíodo 12:12 h) e casa de vegetação, durante a época seca do ano, de abril a agosto de 2022.

Obtenção dos insetos

Ramos infestados por *G. brimblecombei* foram coletados em plantio de *Eucalyptus urophylla* na Suzano S.A. em Três Lagoas, Mato Grosso do Sul e acondicionados em recipientes com água em gaiolas de criação para coleta de adultos deste inseto.

Infestação das mudas de eucalipto com *G. brimblecombei* em casa de vegetação

Dez mudas de AEC0144 (*E. urophylla*) (uma repetição) com altura de um metro e plantadas em vasos de três litros foram utilizadas por técnica de infestação por *G. brimblecombei* por adultos e ovos de *G. brimblecombei*. Na primeira técnica, quatrocentos casais de *G. brimblecombei* foram liberados em casa de vegetação para oviposição nas mudas e, na segunda, ramos infestados coletados no campo com, aproximadamente, 16.000 ovos de *G. brimblecombei*, amostrados por ramos, foram colocados por três dias sobre as mudas de eucalipto. Estas mudas foram irrigadas, diariamente, com sistema de gotejamento e, quando necessário manualmente. Os números de ovos e ninfas de primeiro instar de *G. brimblecombei* produzidos foram contados.

Produção de ninfas de *G. brimblecombei* em vasos de volumes diferentes em casa de vegetação

A produção de ninfas de *G. brimblecombei* em casa de vegetação no clone AEC0144 (*E. urophylla*) foi avaliada em dois tratamentos em mudas com 60 cm (vaso de um litro) e 100 cm de altura (vaso de três litros). Essas mudas foram infestadas com ramos com, aproximadamente, 16.000 ovos de *G. brimblecombei* coletados no campo e colocados sobre as mesmas e irrigadas, diariamente, com

sistema de gotejamento e, quando necessário, manualmente. O número de ninfas e adultos de *G. brimblecombei* produzidos foram contados.

Desenvolvimento de ninfas de *G. brimblecombei* em diferentes clones de eucalipto em laboratório e casa de vegetação

O desenvolvimento de *G. brimblecombei* em gaiolas e casa de vegetação foi avaliado em dois clones de *Eucalyptus urophylla* (AEC0144 e IPB2) e dois de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* (IPB13 e clone 4), a 26 ± 2 °C, de $60 \pm 10\%$ de umidade relativa, e fotoperíodo 12:12 h. Quarenta casais de *G. brimblecombei* foram liberados por gaiola de criação padrão com seis plantas para a infestação das mesmas em laboratório. Um total de 20 mudas com 60 cm de altura, plantadas em vasos de um litro, por clone, foi infestado. Após cinco dias, dez mudas infestadas por clone foram colocadas em casa de vegetação até as ninfas atingirem o quinto instar e retornaram para as gaiolas, e dez mudas foram mantidas nas gaiolas até a emergência dos adultos desse inseto (5 plantas por gaiola). Estas mudas foram irrigadas diariamente com o auxílio de pisseta de 500 ml em laboratório e com sistema de gotejamento em casa de vegetação e, quando necessário manualmente. O número de repetições foi de dez mudas por clone para cada técnica. O número de ovos e ninfas de primeiro instar de *G. brimblecombei* produzidos foram avaliados. A viabilidade foi calculada usando a fórmula: (insetos viáveis * 100) / número total de insetos.

Análise de dados

Os efeitos das plantas hospedeiras na viabilidade dos ovos e das ninfas foram analisados ajustando modelos lineares generalizados com distribuição binomial. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F. Médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os dados foram analisados utilizando o software Minitab (versão 19) (MINITAB, 2010).

2.3 RESULTADOS

As médias de ovos e ninfas de *G. brimblecombei*, por técnica de infestação inicial das mudas em casa de vegetação utilizando adultos e ramos foi,

respectivamente, de 51,90 e 782,20 de primeiro instar por muda de eucalipto, e 0,24 e 3,61 insetos por folha (Tabela 1).

Tabela 1 - Insetos produzidos e insetos por folha (média $\pm$ erro padrão e intervalo de variação dos dados) na infestação inicial de mudas de AEC0144 (*E. urophylla*) em casa-de-vegetação utilizando adultos e ovos de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae)

Técnica	Insetos produzidos	insetos/folha
Adultos	51,90 $\pm$ 16,27b (0-166)	0,24 $\pm$ 0,07b (0,00-0,61)
Ovos	782,20 $\pm$ 46,90a (530-1040)	3,61 $\pm$ 0,16a (2,36-5,71)

Médias seguidas de mesma letra minúscula, por coluna, não diferem pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A produção de ninfas e adultos de *G. brimblecombei* em mudas de AEC0144 (*E. urophylla*) não diferiu entre vasos de 3L e 1L (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de ninfas (primeiro a quinto instar) e adultos por planta (média $\pm$ erro padrão e intervalo de variação dos dados) de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) no AEC0144 (*Eucalyptus urophylla*)

Fase	Vaso de 3L	Vaso de 1L
1º instar	782,20 $\pm$ 46,90Aa (530-1040)	672,30 $\pm$ 40,56Aa (457-896)
2º instar	708,60 $\pm$ 42,34Aa (481-940)	608,10 $\pm$ 37,03Aa (404-809)
3º instar	635,40 $\pm$ 38,03ABa (430-845)	546,70 $\pm$ 32,59ABa (371-728)
4º instar	606,70 $\pm$ 36,39Ba (412-807)	521,30 $\pm$ 31,41Ba (354-695)
5º instar	578,50 $\pm$ 34,51BCa (391-765)	497,50 $\pm$ 29,89BCa (336-659)
Adultos	544,30 $\pm$ 32,71Ca (368-724)	466,70 $\pm$ 28,40Ca (316-624)

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, por coluna, ou minúscula, por linha, não diferem pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

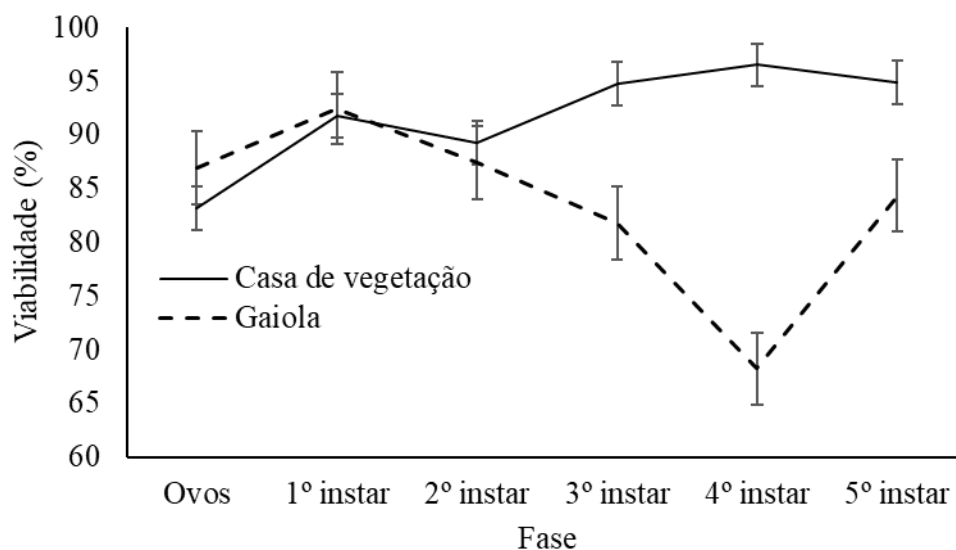
A viabilidade de ovos e ninfas de primeiro e segundo instares de *G. brimblecombei* foi semelhante entre técnicas de criação e a de terceiro ao quinto instares maior em casa-de-vegetação (Tabela 3 e Figura 1).

Tabela 3 - Viabilidade (%) de ovos e ninfas (primeiro ao quinto instar) de *Glycaspis brimblecombei* produzidas em casa-de-vegetação (CV) e em laboratório (gaiola) em diferentes clones de *Eucalyptus*

Técnica	Ovos	1º	2º	3º	4º	5º
CV	82.87 ^{1.24} a	91.38 ^{1.09} a	90.68 ^{1.22} a	94.93 ^{1.80} a	96.19 ^{1.69} a	94.61 ^{0.77} a
Gaiola	86.95 ^{1.17} a	92.48 ^{0.50} a	87.41 ^{0.43} a	81.81 ^{0.85} b	68.21 ^{1.45} b	84.35 ^{1.47} b

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, por coluna, ou minúscula, por linha, não diferem pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Valores em sobrescritos são o erro padrão da média.

Figura 1 - Viabilidade (%) de ovos e ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) em casa de vegetação e laboratório (gaiola)



A produção de adultos de *G. brimblecombei* em casa de vegetação foi melhor no IPB2 (*E. urophylla*) com 641 produzidos por planta (Tabela 4).

Tabela 4 - Número de ninfas (primeiro ao quinto ínstaes) e adultos por planta (média $\pm$ erro padrão da média) de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) produzidos nos clones AEC0144 e IPB2 (*Eucalyptus urophylla*) e IPB13 e clone 4 (*Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*) em casa de vegetação

Fase	AEC0144	IPB2	IPB13	Clone 4
1º instar	672,30 ^{40,56} Ab	914,50 ^{54,38} Aa	349,20 ^{21,22} Ac	524,80 ^{31,62} Ab
2º instar	606,10 ^{37,25} ABb	829,00 ^{49,82} ABa	305,70 ^{17,34} Ac	475,90 ^{28,49} Ab
3º instar	545,90 ^{32,67} Bb	744,20 ^{44,69} Ba	271,40 ^{13,80} Ac	426,00 ^{25,62} ABb
4º instar	521,30 ^{31,41} Bb	708,50 ^{42,34} Ba	251,80 ^{13,36} ABc	407,40 ^{24,36} ABb
5º instar	490,20 ^{26,84} BCb	673,70 ^{40,22} BCa	236,70 ^{12,40} ABc	386,90 ^{23,19} Bb
Adultos	437,20 ^{22,82} Cb	641,00 ^{39,20} Ca	202,30 ^{20,50} Bc	353,10 ^{24,31} Bb

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, por coluna, ou minúscula, por linha, não diferem pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

2.4 DISCUSSÃO

A reduzida taxa de oviposição de *G. brimblecombei* nas mudas de eucalipto em casa de vegetação pode ser explicada pelo comportamento fototrópico positivo desse inseto, semelhante ao relatado para *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera: Aleyrodidae) (Chu *et al.*, 1995), sugerindo que fêmeas daquele inseto preferem ovipositar em áreas mais expostas à luz natural direta. Isto está relacionado a sensibilidade de *G. brimblecombei* à radiação de longo comprimento de onda e ao seu hábito alimentar, em folhas jovens de *Eucalyptus*, geralmente, com folhas avermelhadas, e, recentemente, expandidas (Farnier *et al.*, 2014.). Este comportamento evidencia baixa eficiência de infestação utilizando adultos de *G. brimblecombei* para a produção massal de ovos desse inseto em casa de vegetação. A utilização de gaiolas ou o confinamento em áreas menores, conforme relatado para *Diaphorina Citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) (Parra *et al.*, 2016), pode aumentar a taxa de oviposição, por restringir os insetos em uma área com condições mais favoráveis ao seu comportamento natural de oviposição. Por outro lado, a maior eficácia da técnica de infestação utilizando ramos com ovos de *G. brimblecombei* semelhante ao relatado para esse inseto em híbrido de *Eucalyptus*

grandis x *Eucalyptus camaldulensis* e do híbrido de *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis* (Oliveira, 2011), confirma que a mesma pode ser utilizada na criação massal dessa praga.

A falta de efeito do volume dos recipientes, 1L ou 3L, na produção de ninfas e adultos de *G. brimblecombei* em mudas de AEC0144 (*E. urophylla*) difere do relatado de que a disponibilidade de nutrientes e o microclima afetaram este parâmetro para *Oenopia conglobata* Linnaeus (Coleoptera: Coccinellidae) (Mamay; Mutlu, 2019). Isto sugere não ser o volume do vaso um fator limitante para o desenvolvimento de *G. brimblecombei* e que o uso de vasos com menor volume (1L) pode ser uma alternativa viável e economicamente eficiente comparado à vasos maiores.

A viabilidade semelhante, de ovos e ninfas de primeiro e segundo instares, entre as técnicas de criação sugere suporte adequado para o desenvolvimento das fases iniciais do ciclo de vida de *G. brimblecombei*, semelhante ao observado para *Epilachna varivestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) (Fan *et al.*, 1992). Por outro lado, a maior viabilidade de ninfas de terceiro ao quinto instar em casa-de-vegetação pode ser atribuída às melhores condições de desenvolvimento, como temperatura, umidade e iluminação, com maior brotação e vigor das mudas de *Eucalyptus* (Arrigoni-Blank *et al.*, 2003). A menor viabilidade das fases finais de *G. brimblecombei* pode estar relacionada com a iluminação nas gaiolas o que, em laboratório, pode reduzir o desenvolvimento do mesmo, semelhante ao relatado para *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Hemiptera: Aphalaridae) (Queiroz *et al.*, 2020).

O maior número de adultos produzidos no IPB2 (*E. urophylla*) indica melhores condições para o desenvolvimento e aumento populacional de *G. brimblecombei*. Isto pode estar relacionado a uma menor resposta do hospedeiro, aumentando a qualidade desta planta para o inseto (Silva *et al.*, 2013). Além disso, esse melhor desenvolvimento no IPB2 (*E. urophylla*) indica que o mesmo possa ser utilizado para a criação massal de *G. brimblecombei* em casa de vegetação, com produção de 641 adultos por planta.

2.5 CONCLUSÃO

Para a criação massal de *G. brimblecombei*, recomenda-se: a infestação inicial das mudas, plantadas em vasos de 1L, com adultos do inseto em gaiolas ou

ramos infestados com ovos sobre as plantas; uso de clone suscetível; mudas infestadas com *G. brimblecombei* devem permanecer em casa de vegetação, com temperatura e umidade controlada, até o último instar e colocadas em gaiolas para coleta dos adultos.

O desenvolvimento de *G. brimblecombei* em casa de vegetação foi melhor no clone IPB2 (*E. urophylla*) com 641 adultos produzidos por planta. O uso combinado das técnicas de criação de *G. brimblecombei* em laboratório e casa de vegetação pode ser uma alternativa para a criação massal deste inseto.

REFERÊNCIAS

- ARRIGONI-BLANK, M. F. *et al.* Efeitos do substrato e luminosidade na emergência e desenvolvimento de mudas de jasmim-laranja (*Murraya exotica* L.). **Revista Ciência Agronômica**, v. 34, n. 1, p. 5-12, 2003.
- BARBOSA, L. R. *et al.* *Eucalyptus* pests. In: ASIEGBU, F.O., KOVALCHUK, A. **Forest Microbiology**, Academic Press, pp. 227-249, 2022.
- CUELLO, E. M. *et al.* Phenology, parasitism and density dependence of *Psyllaephagus bliteus* on *Eucalyptus camaldulensis*. **Phytoparasitica**, v. 49, p. 561-568, 2021.
- CHU, C. C.; HENNEBERRY, T. J.; COHEN, A. C. *Bemesia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae): host preference and factors affecting oviposition and feeding site preference. **Environmental Entomology**, v. 24, n. 2, p. 354-360, 1995.
- DIAS, T. K. R. *et al.* Occurrence of *Atopozelus opsimus* preying on nymphs and adults of *Glycaspis brimblecombei*. **Phytoparasitica**, v. 40, p. 137-141, 2012.
- DITTRICH-SCHRÖDER, G. *et al.* Diversity and introduction history of *Glycaspis brimblecombei* reflects a history of bridgeheads and distinct invasions. **Frontiers in Forests and Global Change**, v. 4, 783603, 2021.
- DEL-PIERO, F. H. M. O. *et al.* Anatomical indicators of *Eucalyptus* spp. resistance to *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae). **PeerJ**, v. 10, e13346, 2022.
- DOMINGUES, M. M., *et al.* Entomopathogenic fungi, isolated from soils and *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) adults, to manage the eucalyptus red gum lerp psyllid *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 6, p. 1886-1893, 2022.
- FAN, Y.; GRODEN, E.; DRUMMOND, F. A. Temperature-dependent development of Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae) under constant and variable temperatures. **Journal of Economic Entomology**, v. 85, n. 5, p. 1762-1770, 1992.
- FARNIER, K.; DYER, A. G.; STEINBAUER, M. J. Related but not alike: not all Hemiptera are attracted to yellow. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 2, p. 67, 2014.
- FAVORETO, A. L. *et al.* Courtship, mating behavior, and ovary histology of the nymph parasitoid *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: encyrtidae). **Journal of Insect Science**, v. 21, n. 2, p. 16, 2021.
- HUA, L. S. *et al.* Engineering wood products from *Eucalyptus* spp. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2022, n. 1, 8000780, 2022.
- MAMAY, M.; MUTLU, Ç. Optimizing container size and rearing density for rapid and economic mass rearing of *Oenopia conglobata* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Coccinellidae). **Turkish Journal of Entomology**, v. 43, n. 4, p. 395-408, 2019.

OLIVEIRA, C. P. **Efeito de subdoses de glyphosate sobre o psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae) em mudas de eucalipto.** 2011. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

PARRA, J. R. P. *et al.* *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) × *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): mass rearing and potential use of the parasitoid in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 7, n. 1, 5, 2016.

QUEIROZ, D. L. *et al.* Criação de *Blastopsylla occidentalis* (Hemiptera: Aphalaridae)-psilídeo das ponteiros do eucalipto, em casa de vegetação. **Comunicado Técnico**, Embrapa, 442, 2020.

SILVA, A. L. D. *et al.* Dinâmica populacional de *Glycaspis brimblecombei* e inimigos naturais em *Eucalyptus* spp., Cuiabá-MT. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 1, p. 80-90, 2013.

STANTURF, J. A. *et al.* *Eucalyptus* beyond its native range: Environmental issues in exotic bioenergy plantations. **International Journal of Forestry Research**, v. 2013, n. 1, 463030, 2013.

WILCKEN, C. F. *et al.* Sistema de criação do psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) e de seu parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae), **Documentos técnicos IPEF**, Piracicaba, 2010.

CAPÍTULO 3

***Psyllaephagus brachiatus* AND *Psyllaephagus* sp. HH (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE) IN INFESTATIONS OF *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: APHALARIDAE) IN BRAZIL**

ABSTRACT

Glycaspis brimblecombei Moore (Hemiptera: Aphalaridae), an Australian-origin pest, has spread and damages plants of the *Eucalyptus* genus in many countries. The parasitoid *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) is the most used biological control strategy to manage this pest. New species of the genus *Psyllaephagus*, detected in infestations of *G. brimblecombei* in Brazil, increase the need of understanding their relationship with this pest and its parasitoid *P. bliteus*. The objective of this study was to report two new species of *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in infestations of *G. brimblecombei* in Brazil. *Psyllaephagus* spp. adults were collected, identified, stored in 90% alcohol at -20°C, and their DNA extracted, amplified using the primers CP1 and CB2 and sent for verification by molecular methods. The phylogenetic analysis confirmed the association of the parasitoid lineage found to *Psyllaephagus brachiatus* Riek and *Psyllaephagus* sp. HH (Hymenoptera: Encyrtidae) reported in Australia as heteronomous hyperparasitoids with females developing in unparasitized psyllids and males in those parasitized by females of their own species or other parasitoids. The biology of these *Psyllaephagus* lineages is not fully known, and its impact as hyperparasitoids in their hosts in Brazil needs to be better studied. This report contributes to understanding the relationships between *P. brachiatus* and *Psyllaephagus* sp. HH with psyllid species and of their hosts and parasitoids in Brazil, especially *G. brimblecombei* and *P. bliteus*, and their possible impacts on the integrated management of these pests.

KEYWORDS: Biological control, *Eucalyptus*, hyperparasitoids

3.1 INTRODUCTION

A wide variety of parasitoids are reported for Australian psyllids, especially lerp-forming species, including 245 valid species (Singh 2016, Wu et al. 2021) of the cosmopolitan genus *Psyllaephagus* Ashmead (Steinbauer et al. 2014, Bush et al. 2020). Fifty-seven *Psyllaephagus* species were described as parasitoids or hyperparasitoids associated with psyllids on *Eucalyptus* trees in Australia (Hollis 2004). The structure of antenna and head of males differentiate species of this genus, but their females maybe indistinguishable (Riek 1962, Myartseva et al. 2002). Identification keys for these species are, in some cases, based on male characteristics and *Psyllaephagus* species can hyperparasitize primary species of the same genus (Trjapitzin 1981, Berry 2007, Hall et al. 2017).

Glycaspis brimblecombei Moore (Hemiptera: Aphalaridae), an Australian-origin pest, has spread and damages *Eucalyptus* species in various countries (Del-Piero et al. 2022). The parasitoid *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) is the most used biological control tactic to manage this pest (Cuello et al. 2021, Favoreto et al. 2021). This species was detected with *G. brimblecombei* in 2003 and considered a fortuitous introduction (Berti-Filho et al. 2003) and imported to Brazil in 2006 (Wilcken et al. 2015). New parasitoid species of the genus *Psyllaephagus* could reduce the efficiency of *G. brimblecombei* management and making necessary to understand their relationship with this pest and its parasitoid *P. bliteus*. The objective of this study was to report *Psyllaephagus brachiatus* Riek and *Psyllaephagus* sp. HH (Hymenoptera: Encyrtidae) in infestations of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) in Brazil.

3.2 MATERIALS AND METHODS

Collection and identification of Psyllaephagus sp.

Branches infested by *G. brimblecombei* from *Eucalyptus* clones were collected in plantations in the states of Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, and São Paulo, Brazil (Table 1). These branches were taken to the laboratory and placed in pots with water in standard rearing cages until the emergence of insects. Adults of *Psyllaephagus* sp., emerged from the cages, were collected with the aid of a stereoscopic microscope, preserved in 90% alcohol at -20°C, and sent for molecular

identification to the “Laboratório de Ecologia Molecular de Artrópodes, Departamento de Entomologia e Acarologia” of the “Universidade de São Paulo (ESALQ/USP)” in Piracicaba, São Paulo state, Brazil.

Table 1. Populations (Pop.), hosts, *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus camaldulensis* (E.g × E.c), *E. grandis* × *Eucalyptus urophylla* (E.g × E.u) and *Eucalyptus urophylla* (E.u), latitude, longitude, place and year of collections (Year) of *Psyllaephagus* spp. (Hymenoptera: Encyrtidae) in the states of Mato Grosso do Sul (MS), Minas Gerais (MG), Paraná (PR) and São Paulo (SP) Brazil between 2018 and 2022

Pop.	Hosts	Latitude	Longitude	Place	Year
1	E.g. x E.u	-17.8164	-42.9006	Itamarandiba, MG	2018
2	E.g. x E.u	-20.9999	-52.3514	Brasilândia, MS	2022
2	E.g. x E.u	-21.0305	-51.9594	Três Lagoas, MS	2022
2	E.u	-20.9792	-51.8647	Três Lagoas, MS	2022
2	E.u	-20.6295	-51.6615	Três Lagoas, MS	2022
2	E.g. x E.u	-21.0908	-51.9650	Três Lagoas, MS	2022
3	E.g. x E.c	-23.7453	-50.7634	São Jerônimo da Serra, PR	2019
4	E.g. x E.u	-22.4528	-48.9256	Agudos, SP	2019

Morphological identification

Males of *Psyllaephagus* collected in the Mato Grosso do Sul state were identified, based on their morphology, and deposited in the “Coleção de Insetos Entomófagos “Oscar Monte” and in the Laboratório de Controle Biológico”, of the Instituto Biológico in Campinas, São Paulo state, Brazil, under the reference number IB-CBE-S-838. Morphological identification was performed only for insects from the Mato Grosso do Sul state lineage (Riek 1962) because those collected in other states in 2018 and 2019 did not meet the conditions for morphological identification.

Molecular analysis

DNA from adult male insects from the states of Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, and São Paulo, Brazil was extracted using the Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega). A fragment of the mitochondrial cytochrome b (Cytb) gene was amplified using the primers CP1 (5'-GATGATGAAATTTTGGATC-3') (Harry et al. 1998) and CB2 (5'-ATTACACCTCCTAATTATTAGGAAT-3') (Jermin and Crozier 1994) via PCR with the following reagents: 0.8 µl dNTP (10 mM) (Sinapse Inc.); 1.0 µl Primer F (5 µM); 1.0 µl Primer R (5 µM); 4.0 µl MgCl₂ (50 mM); 2.5 µl buffer (Mg²⁺

Free) (Thermo Fisher Scientific); 10.5 µl milliQ water; 0.2 µl Taq polymerase (5 U) (Thermo Fisher Scientific); and 5 µl of individual DNA in a total volume of 25 µl per reaction. The PCR cycles consisted of initial denaturation at 95°C for three minutes; 35 cycles of denaturation at 95°C for 30 seconds, annealing at 47°C for 30 seconds, and extension at 72°C for two minutes; and a final extension at 72°C for 10 minutes. The PCR amplicons were visualized under ultraviolet light after electrophoresis using 5 µl of amplicon in a 1.5% v/v agarose gel. The amplified fragments were purified in the laboratory using Exo-Sap enzymes (Cellco Biotech) and sequenced bidirectionally by the Sanger method at the “Laboratório de Biotecnologia Agrícola (CEBTEC)” of the “Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ)” of the “Universidade de São Paulo (USP)”. The gene sequences were compared with the public database of the NCBI (National Center for Biotechnology Information). The relationships between the sequenced specimens and those in the database were identified using a Bayesian phylogeny. The evolutionary model calculated using MRMODELTEST v2.3 (Nylander et al. 2004) was the best fit. The Bayesian phylogenetic tree calculated in MRBAYES for a 344 bp fragment of the cytochrome B gene from lineages of *Psyllaephagus* spp. (Ronquist and Huelsenbeck 2003) was run in four simultaneous ones of 15 million generations each, with one cold and three heated chains per run. The first 25% of the trees were discarded by the Burnin process at the end of the runs. The consensus tree was obtained with probabilities >0.50.

3.3 RESULTS

The specimens of the Mato Grosso do Sul state (MS) lineage were identified, by the morphology of its males, as *Psyllaephagus brachiatus* Riek, 1962 (Hymenoptera: Encyrtidae) (Figure 1).



Figure 1. Lateral view of a male of *Psyllaephagus brachiatus* (Hymenoptera: Encyrtidae) associated with infestations of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) and identified using the Riek's 1962 key.

The homology of the amplified and sequenced region from the state of Mato Grosso do Sul (OQ718161), compared to the DNA barcoding database at NCBI, generated a consensus fragment of 699 bp of 100% with the codes MN615707 (Santos et al. 2020) and KU525267 (Fromont 2017) both corresponding to an undescribed species, which is described in this study as *Psyllaephagus brachiatus*, and that from the states of Minas Gerais, Paraná and São Paulo with the KU568437 (Hall et al. 2017) of *Psyllaephagus* sp. HH (OQ789283, OQ789285, and OQ789266), a species yet to be described (Table 2).

Table 2. Population (Pop.), species, GenBank access code (AC), coverage (Cov.), identity (Ident.) and nearest GenBank access (Nearest AC) of *Psyllaephagus* sp. HH and *Psyllaephagus brachiatus* (Hymenoptera: Encyrtidae) collected in *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) infestations in Mato Grosso do Sul (MS), Minas Gerais (MG), Paraná (PR) and São Paulo (SP) states, Brazil

Pop.	Species	AC	Cov.	Ident.	Nearest AC
MG	<i>Psyllaephagus</i> sp. HH	OQ789283	88%	99,20%	KU568437
MS	<i>Psyllaephagus brachiatus</i>	OQ718160	46%	100%	KU525267
MS	<i>Psyllaephagus brachiatus</i>	OQ718161	45%	100%	KU525267
MS	<i>Psyllaephagus brachiatus</i>	OQ718162	60%	100%	KU525267
PR	<i>Psyllaephagus</i> sp. HH	OQ789285	88%	99,59%	KU568437
SP	<i>Psyllaephagus</i> sp. HH	OQ789266	88%	99,39%	KU568437

The phylogenetic analysis of a 344 bp fragment of the cytochrome B gene confirms the introduction of two species of *Psyllaephagus* in Brazil. The lineage collected in Mato Grosso do Sul, morphologically identified as *P. brachiatus*, was associated with *Psyllaephagus* sp. PIII, while those from Minas Gerais, São Paulo, and Paraná were identified as *Psyllaephagus* sp. HH (Figure 2).

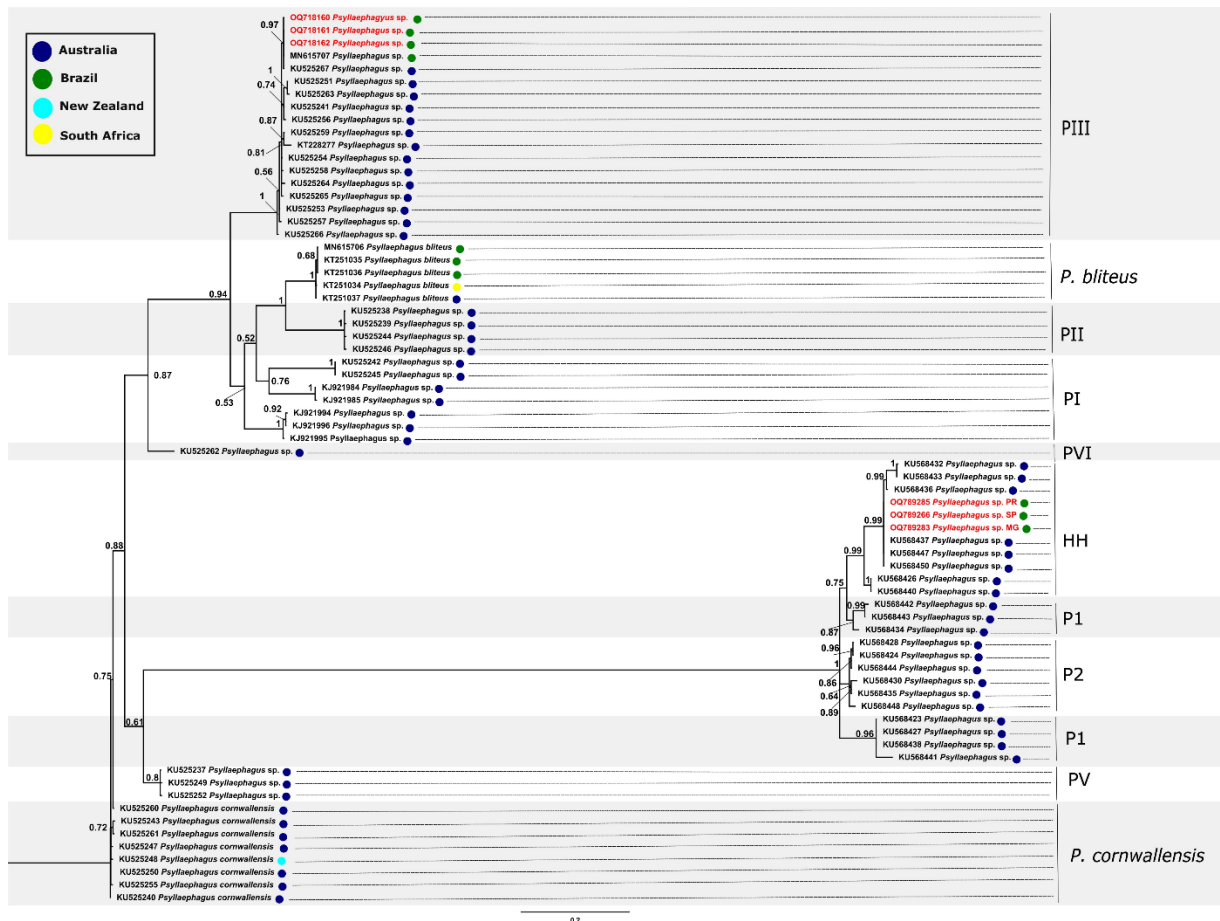


Figure 2. Bayesian phylogenetic tree for a 344 bp fragment of the cytochrome B gene from lineages of *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae).

3.4 DISCUSSION

Psyllaephagus brachiatus, an Australian species, parasitized *Cardiaspina fiscella* Taylor, 1962 on *E. tereticornis* plants and *Glycaspis* sp. on *Eucalyptus* spp. (Hemiptera: Aphalaridae) as primary parasitoid (Riek 1962, Hollis 2004) and only two species of *Psyllaephagus* are typical hyperparasitoids: *P. clarus* and *P. faustus* (Hollis 2004). The similarity with the codes MN615707 and KU525267 indicates that *P. brachiatus* is the species morphologically described in Brazil as *P. bliteus* and, after molecular analysis, it was found to be two distinct parasitoid species of the genus *Psyllaephagus* (Santos et al. 2020). The phylogenetic analysis confirmed the association of the lineage collected in Mato Grosso do Sul, Brazil as *P. brachiatus* (Hall et al. 2017, Fromont 2017) and those from Minas Gerais, São Paulo, and Paraná states as *Psyllaephagus* sp. HH, described as heteronomous hyperparasitoids (Hall et al. 2017).

Psyllaephagus brachiatus and *Psyllaephagus* sp. HH, detected in Brazil, have been reported in Australia as heteronomous hyperparasitoids with their females developing in unparasitized psyllids and its males in insects of this group previously parasitized by females of their own or other parasitoid species (Hunter and Kelly 1998, Hall et al. 2017). The first species was described in psyllids of the genera *Cardiaspina* and *Spondyliaspis* (code KT228277) (Hall et al. 2017) and *Mycopsylla* (Fromont 2017), indicating a generalist hyperparasitoid (Steinbauer et al. 2014). In Brazil, it may be associated with other species of exotic psyllids, such as *G. brimblecombei* and *P. bliteus*, as well as native species due to its generalist habits.

The hyperparasitism reported in Australia for *P. brachiatus* and *Psyllaephagus* sp. HH (Hall et al. 2017) is similar to that reported for *Coccophagus scutellaris* Dalman (Hymenoptera: Aphelinidae) (Hunter and Woolley 2001) and *Encarsia pergandiella* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae) (Bográn and Heinz 2002), as well as in some species of the families Encyrtidae and Ichneumonidae (Perevaryukha 2020). The high competitiveness of heteronomous hyperparasitoids reduces the efficiency of primary parasitoids in classical biological control programs (Williams 1996, Bográn et al. 2002) in natural and agricultural environments (Tougeron and Tena 2019). On the other hand, heteronomous hyperparasitoids are widely used in classical biological control programs due to their high potential to suppress pest populations when the efficiency of primary parasitoids is not adequate (Zhao et al. 2022).

The phylogenetic analysis indicated a non-intentional introduction of two species of *Psyllaephagus* described as heteronomous hyperparasitoids in Brazil, with their biology not yet fully understood (Hall et al. 2017), increasing the need of assessing their impact in the biological control and their hosts (Penagos and Williams 1995, Loomans et al. 2002). The relationships of *P. brachiatus* and *Psyllaephagus* sp. HH with *Eucalyptus* psyllids and their respective parasitoids in Brazil, especially *G. brimblecombei* and *P. bliteus*, can have important implications for pest management in *Eucalyptus* plantations.

REFERENCES

- Berry JA. 2007. Key to the New Zealand species of *Psyllaephagus* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) with descriptions of three new species and a new record of the psyllid hyperparasitoid *Coccidoctonus psyllae* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae). *Aust. J. Entomol.* 46:99–105.
- Berti-Filho E, Costa VA, Zuparko RL, LaSalle J. 2003. Ocorrência de *Psyllaephagus bliteus/quadricyclus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) no Brasil. *R. Agric.* 78:304–304.
- Bográn CE, Heinz KM. 2002. Host selection by the heteronomous hyperparasitoid *Encarsia pergandiella*: multiple-choice tests using *Bemisia argentifolii* as primary host. *Entomol. Exp. Appl.* 103:11–21.
- Bográn CE, Heinz KM, Ciomperlik MA. 2002. Interspecific competition among insect parasitoids: field experiments with whiteflies as hosts in cotton. *Ecology* 83:653–668.
- Bush SJ, Slippers B, Dittrich-Schröder G, Hurley BP. 2020. Host specificity tests reveals new host of a global biological control agent *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Afr. Entomol.* 28:238–248.
- Cuello EM, Andorno AV, Hernández CM, López SN. 2021. Phenology, parasitism and density dependence of *Psyllaephagus bliteus* on *Eucalyptus camaldulensis*. *Phytoparasitica* 49:561–568.
- Del-Piero FHMO, Wilcken CF, Domingues MM, Favoreto AL, Rodella RA, Pereira AIA, Silva WM, Serrão JE, Zanuncio JC. 2022. Anatomical indicators of *Eucalyptus* spp. resistance to *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae). *PeerJ* 10:e13346.
- Favoreto AL, Domingues MM, Serrão JE, Ribeiro MF, Silva CAD, Zanuncio JC, Wilcken CF. 2021. Courtship, mating behavior, and ovary histology of the nymph parasitoid *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae). *J. Insect Sci.* 21:16.
- Fromont C. 2017. Molecular ecology, geography and species interactions of *Mycopsylla* insects with their bacterial endosymbionts, parasitoids and host fig trees (Doctoral dissertation, Western Sydney University (Australia)).
- Hall AA, Steinbauer MJ, Taylor GS, Johnson SN, Cook JM, Riegler M. 2017. Unravelling mummies: cryptic diversity, host specificity, trophic and coevolutionary interactions in psyllid–parasitoid food webs. *BMC Evol. Biol.* 17:127.
- Harry M, Solignac M, Lachaise D. 1998. Molecular evidence for parallel evolution of adaptive syndromes in fig-breeding *Lissocephala* (Drosophilidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 9:542–551.
- Hollis D. 2004. Australian Psylloidea: Jumping plantlice and lerp insects. Australian Biological Resources Study. 216 p.
- Hunter MS, Kelly SE. 1998. Hyperparasitism by an exotic autoparasitoid: secondary host selection and the window of vulnerability of conspecific and native heterospecific hosts. *Entomol. Exp. Appl.* 89:249–259.
- Hunter MS, Woolley JB. 2001. Evolution and behavioral ecology of heteronomous aphelinid parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.* 46:251–290.
- Jermiin LS, Crozier RH. 1994. The cytochrome b region in the mitochondrial DNA of the ant *Tetraponera rufoniger*: sequence divergence in Hymenoptera may be associated with nucleotide content. *J. Mol. Evol.* 38:282–294.

- Loomans AJM, Huang Y, Bukovinszkiné-Kiss G, Van-Lenteren JC. 2002. Heteronomous hyperparasitoids for biological control of whiteflies: balancing benefits and risks. IOBC WPRS Bulletin 25:143–146.
- Myartseva SN, Ramírez JM, Blanco JC, Cancino ER. 2002. A new species of *Psyllaephagus* Ashmead from Mexico (Hymenoptera: Encyrtidae). Zoosyst. Ross. 11:357–360.
- Nylander JAA. 2004. MrModeltest v2 Program distributed by the author. Evolutionary Biology Center, Uppsala University.
- Penagos DI, Williams T. 1995. Factores clave en la biología de hiperparasitoides heteronomos (Hym.: Aphelinidae): agentes para el control biológico de mosquita blanca y escamas. Acta Zool. Mex. 66:31–57.
- Perevaryukha AY. 2020. A continuous model for oscillating outbreaks of the population of a phytophagous moth, the tent caterpillar, *Malacosoma disstria* (Lepidoptera, Lasiocampidae). Biophysics 65:118–130.
- Riek EF. 1962. The Australian species of *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasites of psyllids (Homoptera). Aust. J. Zool. 10:684–757.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics 19:1572–1574.
- Santos FA, Correa AS, Nanini F, Nascimento DA, Junqueira LR, Wilcken CF. 2020. Genetic diversity of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) and its parasitoid *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in Brazil. Braz. J. Biol. 81:838–841.
- Singh S. 2016. Description of a new species of *Psyllaephagus* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitizing pit gall forming psyllid *Trioza fletcheri* (Hemiptera: Psylloidea: Triozidae) on *Terminalia arjuna* from India. Ann. Zool. 66:393–402.
- Steinbauer MJ, Sinai KM, Anderson A, Taylor GS, Horton BM. 2014. Trophic cascades in bell miner-associated dieback forests: Quantifying relationships between leaf quality, psyllids and *Psyllaephagus* parasitoids. Austral Ecol. 40:77–89.
- Tougeron K, Tena A. 2019. Hyperparasitoids as new targets in biological control in a global change context. Biol. Control 130:164–171.
- Trjapitzin VA. 1981. Key to palaearctic species of the genus *Psyllaephagus* [Hym.: Encyrtidae]. Entomophaga 26:395–399.
- Wilcken CF, Firmino-Wincker DC, Dal-Pogetto MHFA, Dias TKR, Lima ACV, Sá LAN, Ferreira-Filho PJ. 2015. Psilídeo-de-concha-do-eucalipto *Glycaspis brimblecombei* Moore. In: Pragas introduzidas no Brasil insetos e ácaros. Fealq. p. 883–897.
- Williams T. 1996. Invasion and displacement of experimental populations of a conventional parasitoid by a heteronomous hyperparasitoid. Biocontrol Sci. Technol. 6:603–618.
- Wu F, Zhen W, Yang Z, Zu G. 2021. A new species of *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae) from China, parasitoid of *Macrohomotoma sinica* (Hemiptera: Homotomidae) on *Ficus concinna*. Biodivers. Data J. 9:e63253.
- Zhao Y, Zhu L, Ramirez-Romero R, Dai P, Yang X, Ruan CC, Desneux N, Zang L.S. 2022. Mating status of an autoparasitoid and sex of the secondary host impact the outcome of heteronomous hyperparasitism. Entomol. Gen., 42:87.

CAPÍTULO 4

***Psyllaephagus brachiatus* (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE), HIPERPARASITOIDE HETERÔNOMO DE *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: APHALARIDAE) E *Psyllaephagus bliteus* (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE)**

RESUMO

Glycaspis brimblecombei Moore (Hemiptera: Aphalaridae), praga de origem australiana, se dispersou e causa perdas em diferentes espécies do gênero *Eucalyptus* no mundo. O parasitoide *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) é utilizado no controle biológico dessa praga, mas *Psyllaephagus brachiatus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), detectado recentemente em infestações de *G. brimblecombei* no Brasil, pode reduzir sua eficiência. O manejo dessa praga depende do aprimoramento de táticas de criação massal de *P. bliteus*, descoberta de novos inimigos naturais e detecção e conhecimento das relações entre espécies exóticas, do gênero *Psyllaephagus*, com *G. brimblecombei* e *P. bliteus*. O objetivo desse estudo foi determinar hospedeiros e relações entre o hiperparasitoide *P. brachiatus* com *G. brimblecombei* e *P. bliteus*. Ramos do clone AEC0144 (*Eucalyptus urophylla*) foram coletados em áreas com alta incidência das pragas *G. brimblecombei* e *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Hemiptera: Aphalaridae). Fêmeas e machos adultos de *P. brachiatus* foram obtidos, identificados com auxílio de microscópio estereoscópico e utilizados nos bioensaios. Comparação entre *P. brachiatus* e *P. bliteus*, confirmação dos hospedeiros de *P. brachiatus*, exposição de ninfas de *G. brimblecombei* sadias ou parasitadas por *P. bliteus* em placas de Petri e mudas infestadas com *G. brimblecombei* em gaiolas à *P. brachiatus*, proporção de populações no campo e a razão sexual foram avaliados para esses insetos. *Psyllaephagus bliteus* e *P. brachiatus* emergiram, apenas, de ninfas de *G. brimblecombei* parasitadas e não daquelas de *B. occidentalis*. Fêmeas de *P. brachiatus* parasitaram, respectivamente, 78% e 76%, e 84% e 88% das ninfas de *G. brimblecombei* sadias ou parasitadas, respectivamente, por *P. bliteus* com ou sem concha em placas de Petri, estas últimas com emergência de, apenas, machos de *P. brachiatus*. *Psyllaephagus brachiatus* parasitou 3,64% das ninfas de *G. brimblecombei*, nas gaiolas, e emergiu de 89,33% das mesmas com razão sexual de 0,94. A proporção de *P. brachiatus* e *P. bliteus* em campo foi de 4,15 a 25,21%, com média de 10,53%, e razão sexual, desse hiperparasitoide, de 0,50. *Psyllaephagus*

brachiatus é um hiperparasitoide heterônomo de *G. brimblecombei* e *P. bliteus*, com sua fêmea se desenvolvendo na praga e seu macho nesse parasitoide, o que reduz a eficiência do controle biológico em campo e dificulta a criação massal dessa praga.

Palavras-chave: Controle biológico, *Eucalyptus*, parasitoide, psílideo-de-concha

ABSTRACT

Glycaspis brimblecombei Moore (Hemiptera: Aphalaridae), a pest of Australian origin, has spread and damages different species of the genus *Eucalyptus* around the world. The parasitoid *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) is used in the biological control of this pest, but *Psyllaephagus brachiatus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), detected in *G. brimblecombei* infestations in Brazil, can reduce its efficiency. The management of this pest depends on improving *P. bliteus* mass rearing tactics, discovering new natural enemies, and detecting and knowing the relationships between exotic species, of the genus *Psyllaephagus*, with *G. brimblecombei* and *P. bliteus*. The objective was to determine hosts and relationships between the hyperparasitoid *P. brachiatus* with *G. brimblecombei* and *P. bliteus*. Branches of the clone AEC0144 of *Eucalyptus urophylla* were collected in areas with high incidence of the pests *G. brimblecombei* and *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Hemiptera: Aphalaridae). Females and males of *P. brachiatus* adults were obtained, identified with the aid of a stereoscopic microscope, and used in the bioassays. Comparison between *P. brachiatus* and *P. bliteus*, confirmation of *P. brachiatus* hosts, exposure of healthy *G. brimblecombei* nymphs or those parasitized by *P. bliteus* in Petri dishes and saplings infested with *G. brimblecombei* in cages to *P. brachiatus*, proportion of populations in the field and sex ratio were evaluated for these insects. *Psyllaephagus bliteus* and *P. brachiatus* emerged only from parasitized *G. brimblecombei* nymphs and not from those of *B. occidentalis*. *Psyllaephagus brachiatus* females parasitized, respectively, 78% and 76%, and 84% and 88% of healthy or parasitized *G. brimblecombei* nymphs, respectively, by *P. bliteus* with or without lerp in Petri dishes, the latter with emergence of only *P. brachiatus* males. *Psyllaephagus brachiatus* parasitized 3.64% of *G. brimblecombei* nymphs in the cages and emerged from 89.33% of them with a sex ratio of 0.94. The proportion of *P. brachiatus* and *P. bliteus* in the field was 4.15 to 25.21%, with an average of 10.53%, and the sex ratio of this hyperparasitoid was 0.50. *Psyllaephagus*

brachiatus is a heteronomous hyperparasitoid of *G. brimblecombei* and *P. bliteus*, with its female developing into the pest and its male into this parasitoid, which reduces the efficiency of biological control in the field and makes mass breeding of this pest difficult.

Keywords: Biological control, *Eucalyptus*, parasitoid, red gum lerp psyllid

4.1 INTRODUÇÃO

O psíldeo de concha, *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae), praga de origem australiana, se dispersou e danifica plantas de diferentes espécies do gênero *Eucalyptus* no mundo (Del-Piero *et al.*, 2022). O parasitoide *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) é a tática de controle biológico mais utilizada no manejo dessa praga (Cuello *et al.*, 2021), mas problemas relacionados com sua criação massal, partenogênese arrenótoca (Favoreto *et al.*, 2021), preferência por ninfas de terceiro e quarto ínstares de *G. brimblecombei* (Gerovichev *et al.*, 2021) e superparasitismo (Daane *et al.*, 2005) podem limitar sua produção e uso no controle biológico.

A diversidade de espécies do gênero *Psyllaephagus*, parasitoides de psíldeos australianos, é alta (Steinbauer *et al.*, 2014), mas semelhanças entre suas fêmeas dificultam a identificação de espécies desse gênero e, por isso, algumas espécies são descritas, apenas, com os machos (Riek, 1962). Além disso, espécies de *Psyllaephagus* foram relatadas como hiperparasitoides de parasitoides primários do mesmo gênero (Riek, 1962; Berry, 2007; Hall *et al.*, 2017).

A taxa de parasitismo por *P. bliteus* varia em campo (Ferreira-Filho *et al.*, 2015; Cuello *et al.*, 2021), sendo, em muitos casos, baixa devido a hiperparasitoides, inclusive, dificultando a criação desse inimigo natural. O impacto de *Psyllaephagus brachiatus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), relatado na Austrália como hiperparasitoide heterônimo de outras espécies de psíldeos (Hall *et al.*, 2017) e detectado em infestações de *G. brimblecombei* no Brasil, precisa ser avaliado (Domingues *et al.*, in press). O aprimoramento de técnicas de criação massal de *P. bliteus*, uso de novos inimigos naturais e detecção e avaliação de relações entre espécies do gênero *Psyllaephagus* com *G. brimblecombei* e *P. bliteus* são essenciais para o sucesso do manejo integrado dessas pragas. O objetivo deste

trabalho foi avaliar hospedeiros de *P. brachiatus* e sua relação com *G. brimblecombei* e *P. bliteus*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos insetos

Ramos do clone AEC0144 de *E. urophylla* foram coletados em áreas, altamente, infestadas por *G. brimblecombei* e *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Hemiptera: Aphalaridae) no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. Esses ramos foram levados para o laboratório de Controle Biológico da Suzano S.A., colocados em potes com água e acondicionados em gaiolas-padrão de criação (Wilcken *et al.*, 2010) até a emergência dos insetos. Fêmeas e machos adultos de *P. brachiatus* foram identificados em microscópio estereoscópico e coletados para os bioensaios.

Comparação entre *Psyllaephagus bliteus* e *Psyllaephagus brachiatus*

Adultos de *P. bliteus* e de *P. brachiatus* foram coletados das gaiolas, fotografados, e machos e fêmeas dessas espécies, separados por diferenças nas antenas e presença de ovipositor.

Confirmação do hospedeiro de *Psyllaephagus brachiatus*

Ninfas de *B. occidentalis* e *G. brimblecombei* parasitadas foram coletadas em campo e individualizadas em placas de Petri até a emergência de parasitoides para confirmação do hospedeiro (Figura 1). Trinta repetições, cada uma com uma ninfa parasitada, foram avaliadas por hospedeiro e aquelas com emergência de *P. brachiatus* dissecadas. A análise morfológica das espécies de *Psyllaephagus* emergidas foi baseada nas chaves de identificação e artigos específicos para o gênero (Riek, 1962; Tamesse *et al.*, 2014).

Figura 1 - Ninfas de *Blastopsylla occidentalis* (Hemiptera: Aphalaridae) (A) e de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) (C) parasitadas por *Psyllaephagus* sp. e após emergência desse parasitoide (B, D)



Exposição de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* sadias ou parasitadas por *Psyllaephagus bliteus* à *Psyllaephagus brachiatus* em placas de Petri

Os quatro tratamentos foram ninfas de *G. brimblecombei* sadias ou parasitadas por *P. bliteus*, com e sem concha. Cinco ninfas de *G. brimblecombei*, de terceiro e/ou quarto ínstares, sadias ou parasitadas por *P. bliteus*, foram colocadas por placa de Petri com um casal de *P. brachiatus* (repetição) em um total de dez repetições. O parasitismo, emergência e razão sexual de *P. brachiatus* foram avaliados.

Mudas de eucalipto infestadas por ninfas de *Glycaspis brimblecombei* expostas a *Psyllaephagus brachiatus* em gaiolas

Quatro casais de *P. brachiatus* foram liberados por gaiola de criação com uma muda de *E. urophylla*, altamente, infestada por ninfas de *G. brimblecombei* de terceiro ou quarto ínstares para se avaliar o parasitismo, em dez repetições. As conchas das ninfas de *G. brimblecombei* foram levantadas uma a uma com o auxílio de alfinete entomológico, após 10 dias de parasitismo e aquelas parasitadas (múmias) contadas e individualizadas em placas de Petri para a emergência dos parasitoides. O número de ninfas parasitadas, parasitismo, emergência e razão sexual de *P. brachiatus* foram avaliados.

Proporção e razão sexual de *Psyllaephagus bliteus* e *Psyllaephagus brachiatus* no campo

Ramos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, infestados por *G. brimblecombei* e com ninfas parasitadas por *P. bliteus* e *P. brachiatus*, foram coletados em cinco áreas da empresa Suzano S.A. no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil e acondicionados em gaiolas de criação (repetição) com dez repetições por área de coleta. Os insetos emergidos foram contados para se avaliar a proporção entre *P. bliteus* e *P. brachiatus* e a razão sexual deste último.

4.3 RESULTADOS

Comparação entre *Psyllaephagus bliteus* e *Psyllaephagus brachiatus*

O funículo de fêmeas é filiforme (Figura 2 e Figura 3-A) e o dos machos flabelado (Figura 2 e Figura 3-B). Fêmeas de *P. bliteus* e *P. brachiatus* foram muito semelhantes, mas o ovipositor daquelas de *P. brachiatus* foi mais longo (Figura 4). Antena flabelada difere machos de *P. brachiatus* (Figura 5).

Figura 2 - Fêmea (A) e macho (B) de *Psyllaephagus brachiatus* (Hymenoptera: Encyrtidae) emergidos de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) coletadas em plantios do clone AEC0144 de *Eucalyptus urophylla*. Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, Brasil

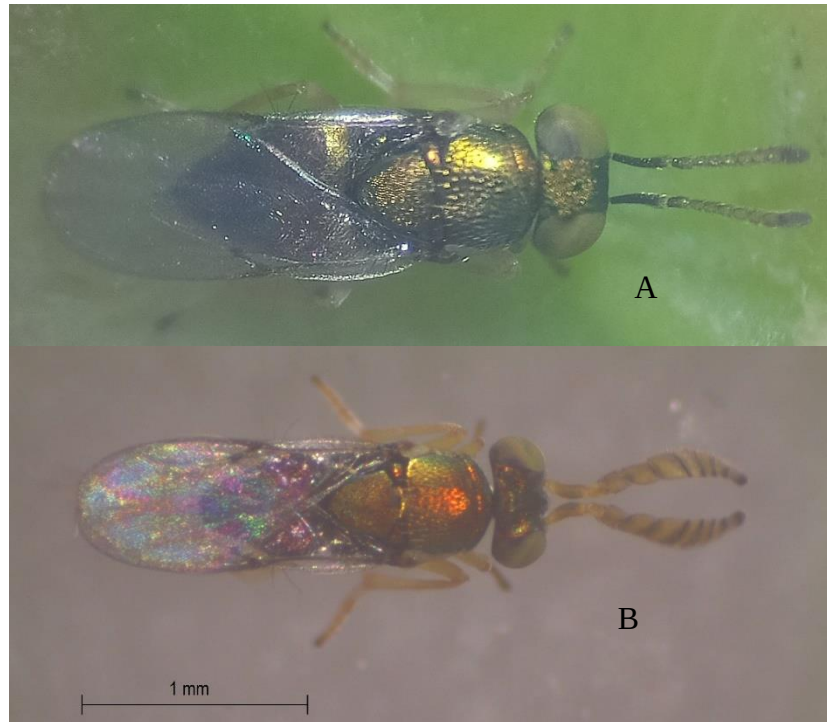


Figura 3 - *Psyllaephagus brachiatus* (Hymenoptera: Encyrtidae), antenas de fêmea (A) e macho (B)

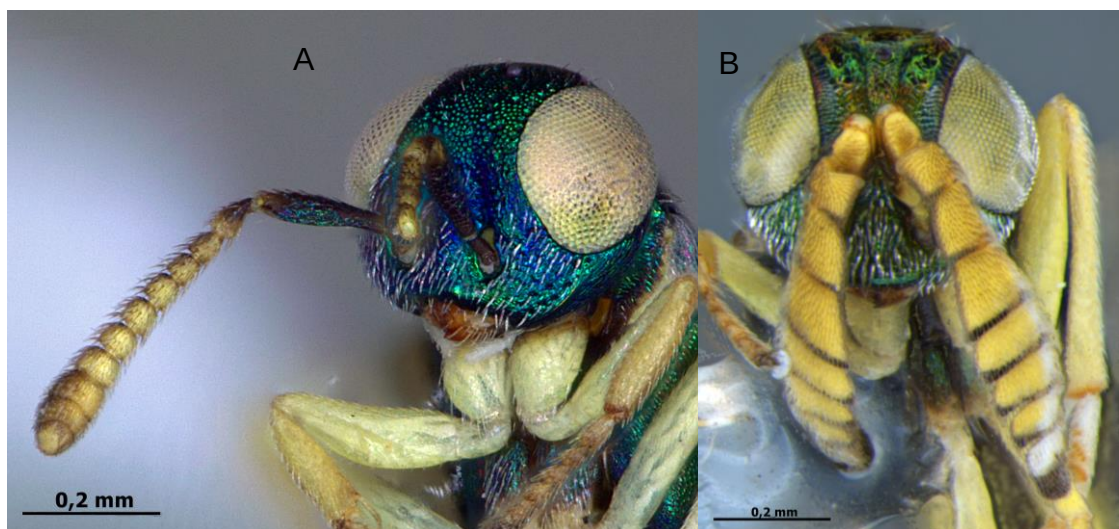


Figura 4 - Fêmea de *Psyllaephagus bliteus* (A e B) e *Psyllaephagus brachiatus* (C e D) (Hymenoptera: Encyrtidae) emergidas de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) em folhas do clone AEC0144 *Eucalyptus urophylla* coletadas em Três Lagoas, estado do Mato Grosso do Sul, Brasil

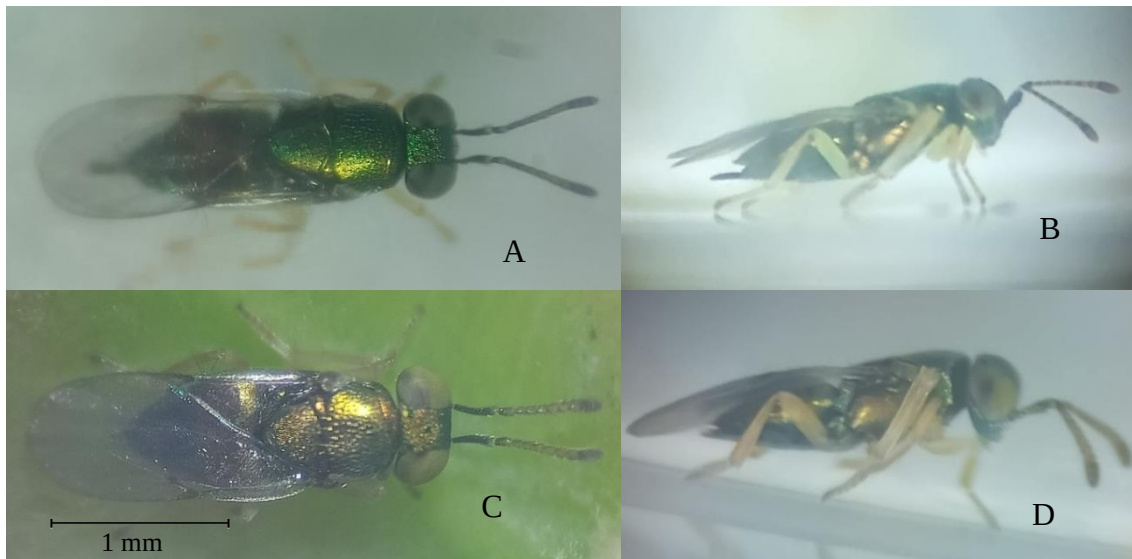
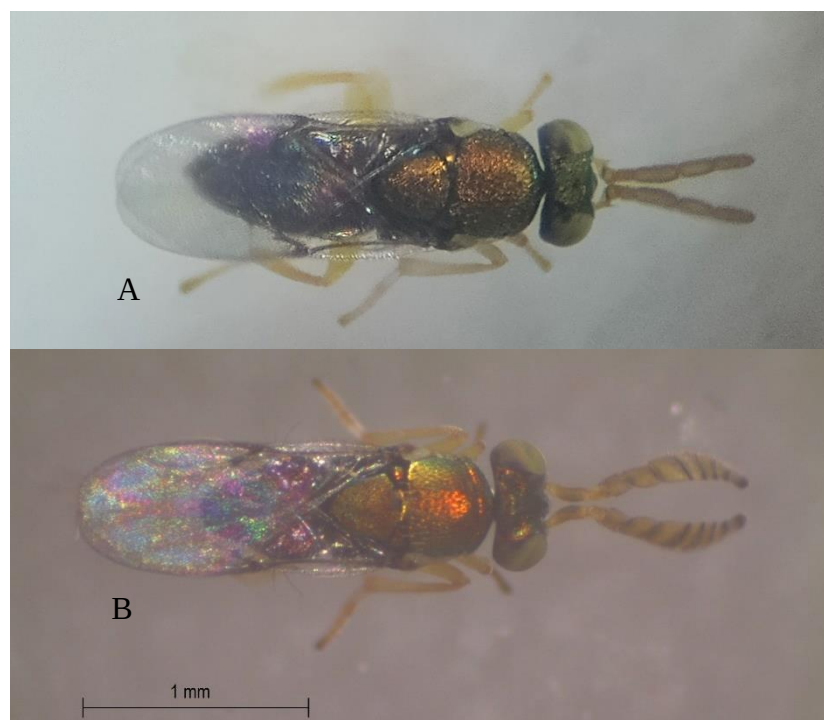


Figura 5 - Machos de *Psyllaephagus bliteus* (A) e de *Psyllaephagus brachiatus* (B) (Hymenoptera: Encyrtidae) emergidos de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) em clone AEC0144 de *Eucalyptus urophylla*. Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, Brasil



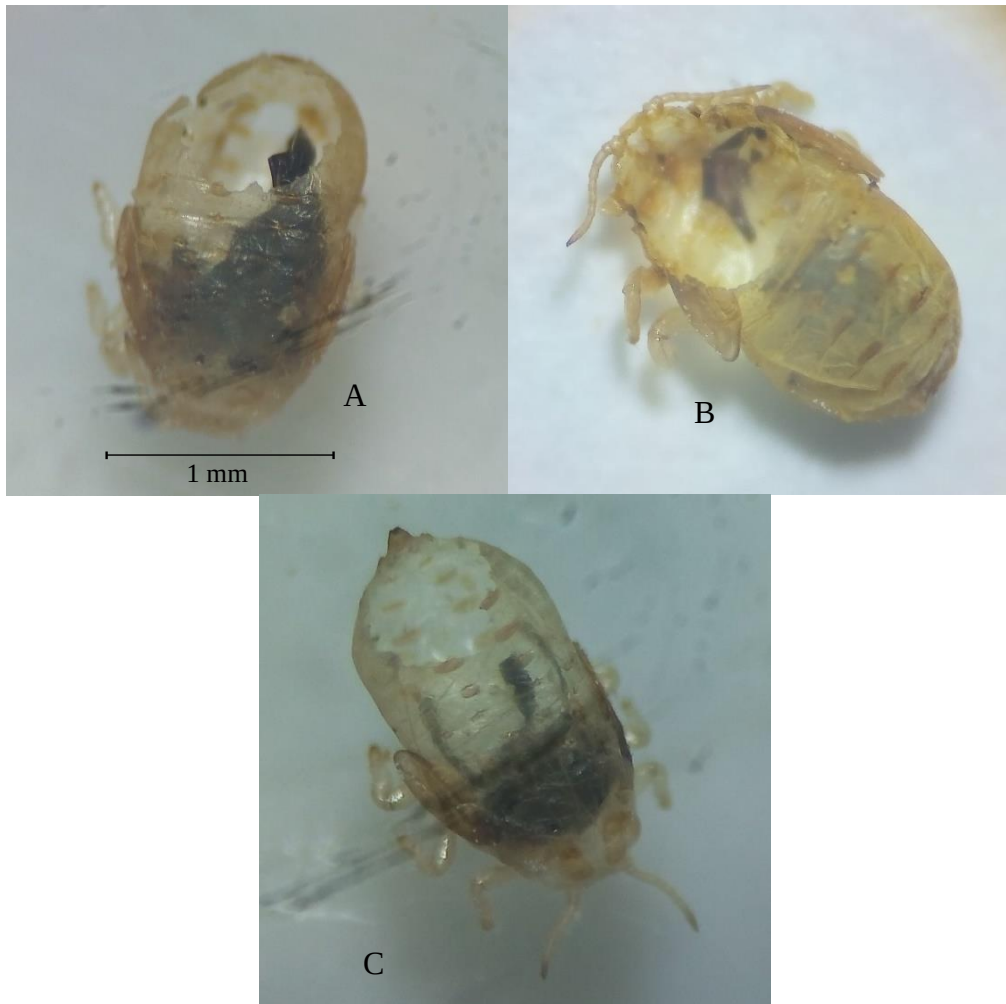
Confirmação do hospedeiro de *Psyllaephagus brachiatus*

Psyllaephagus bliteus e *P. brachiatus* emergiram, respectivamente, de 83,33% e de 16,66% das ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) parasitadas. *Psyllaephagus blastopsyllae* Tamesse, Soufo, Tchanatame, Dzokou, Gumovsky & De Coninck (Hymenoptera: Encyrtidae) (Figura 6) emergiu de 100% das ninfas de *B. occidentalis* parasitadas e de nenhuma de *P. bliteus* e de *P. brachiatus*. *Psyllaephagus brachiatus* emergiu pela cabeça e pelo abdômen e *P. bliteus* pelo abdômen de ninfas de *G. brimblecombei* (Figura 7).

Figura 6 - Fêmea (A) e macho (B) de *Psyllaephagus blastopsyllae* (Hymenoptera: Encyrtidae) emergidos de ninfas de *Blastopsylla occidentalis* (Hemiptera: Aphalaridae) em folhas do clone AEC0144 de *Eucalyptus urophylla*. Três Lagoas, estado do Mato Grosso do Sul, Brasil



Figura 7 - Sinais de emergência de *Psyllaephagus brachiatus* (Hymenoptera: Encyrtidae), pelo abdômen (A) e pela cabeça (B), e de *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae), pelo abdômen (C), de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae)

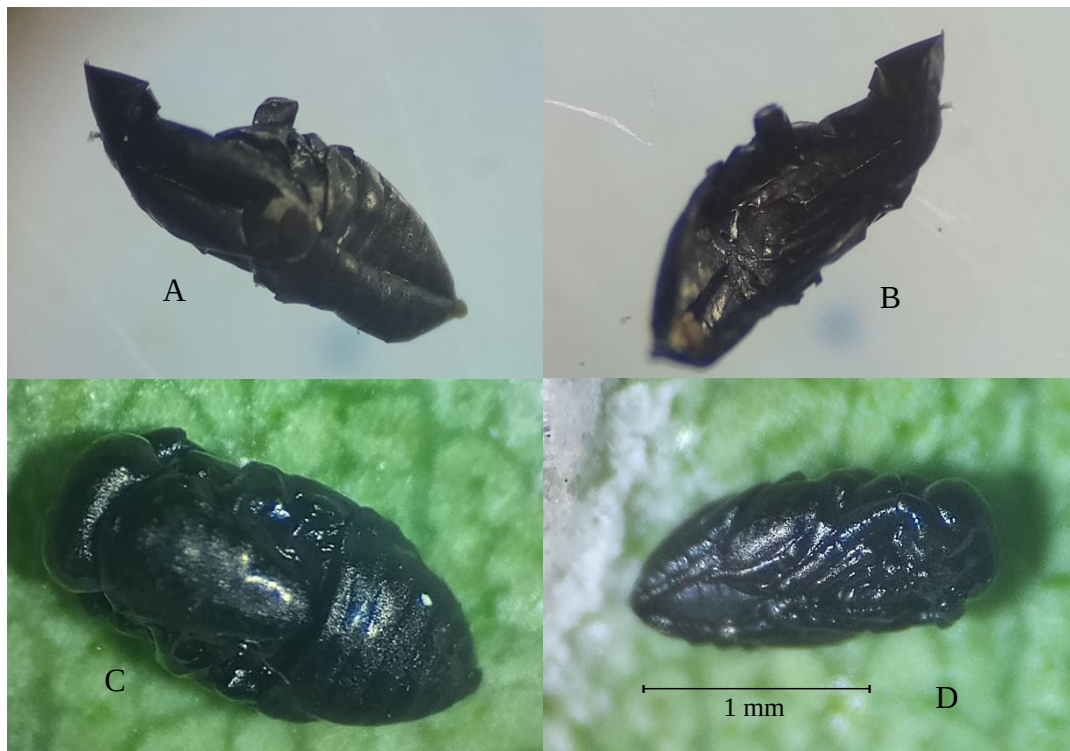


Pupas de *P. bliteus* foram observadas em ninfas de *G. brimblecombei*, com emergência de *P. brachiatus* (Figuras 8 e 9). O orifício de emergência de *P. brachiatus* foi maior que o do *P. bliteus*, mas com formato e local semelhantes para esses parasitoides. O orifício de emergência, desse parasitoide, na ninfa de *G. brimblecombei* é um pouco maior que o daquele em *P. brachiatus* (Figura 8a,b,c,d).

Figura 8 - Orifício de emergência de *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) (esquerda) e de *Psyllaephagus brachiatus* (Hymenoptera: Encyrtidae) macho (direita) na concha (A e B) e na ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) parasitada (C e D) e resíduo de emergência (E e F)



Figura 9 - Pupa de *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) após emergência de macho (A e B) de *Psyllaephagus brachiatus* (Hymenoptera: Encyrtidae) e pupa sadia (C e D) desse hospedeiro



Exposição de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* sadias ou parasitadas por *Psyllaephagus bliteus* a *Psyllaephagus brachiatus*

Machos de *P. brachiatus* bateram e vibraram as antenas sobre conchas e ninfas de *G. brimblecombei* e se alimentaram das conchas em todas as situações, mas não das ninfas de *G. brimblecombei* sadias ou parasitadas por *P. bliteus* (Figura 10).

Figura 10 - Alimentação de machos de *Psyllaephagus brachiatus* (Hymenoptera: Encyrtidae) após exposição às ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) com (A) ou sem (B) a concha e ninfa, dessa praga com concha (C), parasitada por *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae)



Fêmeas de *P. brachiatus* parasitaram, respectivamente, 78% e 76% e 84% e 88% das ninfas de *G. brimblecombei* sadias ou parasitadas por *P. bliteus* com ou sem a concha (Tabela 1 e Figura 11). Ninfas de *G. brimblecombei* parasitadas por *P. brachiatus* morreram nas placas de Petri, impossibilitando a observação do resultado do parasitismo. Machos de *P. brachiatus* emergiram de 77,5% e 63,7%, respectivamente, das pupas de *P. bliteus* parasitadas, com ou sem concha, e nenhuma fêmea emergiu das mesmas (Tabela 1).

Figura 11 - Fêmea de *Psyllaephagus brachiatus* (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitando ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) sadias (A e B) ou parasitadas por *Psyllaephagus bliteus* (C e D) (Hymenoptera: Encyrtidae)



Tabela 1 - Parasitismo (%), emergência (%) e razão sexual de *Psyllaephagus brachiatus* (Hymenoptera: Encyrtidae) nos tratamentos (Trat.) com ninfas sadias de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) com (NC) ou sem concha (NS) e parasitadas por *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) com (PC) ou sem concha (PS) em placas de Petri

Trat.	Parasitismo (%)	Emergência (%)	Razão sexual
NC	78,0±6,29a (40-100)	0,0±0,00 (0-0)	-
NS	76,0±6,53a (40-100)	0,0±0,00 (0-0)	-
PC	84,0±4,99a (60-100)	77,5±24,51a (50-100)	0,0±0,00 (0-0)
PS	88,0±4,42a (60-100)	63,7±20,13a (40-80)	0,0±0,00 (0-0)

Médias seguidas de mesma letra minúscula, por coluna, não diferem pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Mudas de eucalipto infestadas por ninfas de *Glycaspis brimblecombei* expostas à *Psyllaephagus brachiatus* em gaiolas

Psyllaephagus brachiatus parasitou 7,4 ninfas de *G. brimblecombei* nas gaiolas, com parasitismo, emergência e razão sexual de, respectivamente, $3,6 \pm 0.34\%$, $89,3 \pm 2.82\%$ e $0,94 \pm 0.04$.

Proporção e razão sexual de *Psyllaephagus bliteus* e *Psyllaephagus brachiatus* em campo

O número médio de adultos de *P. bliteus* e *P. brachiatus* foi de 22,04 e 3,06, respectivamente, com variação na proporção de campo de 4,15 a 25,21%, com média de 10,53% e razão sexual de 0,46 a 0,56 e média de 0,50 para o primeiro parasitoide (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de adultos de *Psyllaephagus bliteus* (*P. bliteus*) e *Psyllaephagus brachiatus* (*P. brachiatus*) emergidos e proporção (%) e razão sexual (RS) de *P. brachiatus* em diferentes talhões (P) de eucalipto

P	<i>P. bliteus</i>	<i>P. brachiatus</i>	<i>P. brachiatus</i> (%)	RS
1	15,20 ^{1,08} (14-20)	0,80 ^{0,25} (0-2)	5,00 ^{1,43} (0,0-11,8)	0,50 ^{0,14} (0,00-1,00)
2	23,00 ^{2,01} (15-32)	1,60 ^{0,43} (0-4)	6,50 ^{1,61} (0,0-13,0)	0,56 ^{0,10} (0,00-1,00)
3	15,90 ^{1,24} (10-24)	2,80 ^{0,61} (0-6)	14,97 ^{2,41} (0,0-23,8)	0,50 ^{0,11} (0,00-1,00)
4	26,10 ^{1,60} (21-33)	8,80 ^{1,49} (3-17)	25,21 ^{2,92} (10,7-35,1)	0,48 ^{0,03} (0,33-0,67)
5	30,00 ^{1,19} (23-37)	1,30 ^{0,45} (0-4)	4,15 ^{1,35} (0,0-11,4)	0,46 ^{0,12} (0,00-1,00)
Média	22,04 ^{1,03}	3,06 ^{0,54}	10,53 ^{1,40}	0,50 ^{0,04}

Valores em sobrescrito são o erro padrão da média.

4.4 DISCUSSÃO

A semelhança entre fêmeas de *P. bliteus* e *P. brachiatus* confirma o relatado para espécies do gênero *Psyllaephagus*, como *P. bliteus* comparado à *P. blandus* Riek e *P. basileus* Riek (Riek, 1962), dificultando a distinção das mesmas em criação massal e liberação de *P. bliteus* no campo. No entanto, o comprimento do ovipositor é útil para se identificar, a olho nu, *P. bliteus* e *P. brachiatus*, sendo mais curto na primeira (Riek, 1962). A identificação de machos destas espécies é mais fácil devido a estrutura diversificada de suas antenas, com diferentes formatos, tamanhos e número de segmentos, e da cabeça dos mesmos, com projeções variadas do clípeo (Riek, 1962).

A emergência de *P. blastopsyllae* de ninfas de *B. occidentalis* é semelhante a relatada no Brasil (Künast *et al.*, 2020) e a de *P. brachiatus* de ninfas de *G. brimblecombei* parasitadas confirma sua relação com a praga e seu parasitoide *P. bliteus*. Isto está relacionado à sua característica generalista, com relatos em diferentes espécies e gêneros de psílídeos (Fromont, 2017; Hall *et al.*, 2017) e, por isso, podendo estar associado a outras espécies desse grupo no Brasil.

A emergência de *P. brachiatus*, pela cabeça e pelo abdômen, e de *P. bliteus*, pelo abdômen, das ninfas de *G. brimblecombei* confirma ser uma característica que pode ser utilizada para detectar esse parasitoide no campo, especialmente *P. bliteus* (Plascencia-González *et al.*, 2005).

A observação de pupas de *P. bliteus* em ninfas de *G. brimblecombei*, com emergência de *P. brachiatus* confirma o comportamento do primeiro inseto em induzir mudanças comportamentais no segundo após o parasitismo, com suas ninfas excretando carboidratos e proteínas adicionais para formar uma concha com paredes basais espessadas (Sullivan *et al.*, 2006). Isto aumenta a proteção contra o hiperparasitoide que utiliza falhas ou frestas sob a borda inferior da concha para parasitar a pupa de *P. bliteus* (Sullivan *et al.*, 2006) ou ninfas de *G. brimblecombei*. O local de emergência e orifício da concha, semelhante entre *P. bliteus* e *P. brachiatus*, se resume a um orifício na ninfa mumificada de *G. brimblecombei* e outro na parte lateral da concha feito com sua mandíbula para emergência (Plascencia-González *et al.*, 2005).

O comportamento de machos de *P. brachiatus*, batendo e vibrando as antenas sobre conchas e ninfas de *G. brimblecombei*, se deve ao seu sistema olfativo para localizar parceiros e detectar alimento (Wang *et al.*, 2014). A alimentação de *P. brachiatus* está relacionada com a composição da concha de *G. brimblecombei*, principalmente açúcares, sugerindo ser esse alimento importante para aumentar a longevidade de adultos desse parasitoide (Daane *et al.*, 2005).

O elevado parasitismo das ninfas de *G. brimblecombei* sadias, com ou sem concha, é semelhante ao observado para *Psyllaephagus arenarius* Trjapitzin (Hymenoptera: Encyrtidae) em ninfas de *Paratrioza sinica* Yang & Li (Hemiptera: Psyllidae) (Wu *et al.*, 2018), e aquelas parasitadas por *P. bliteus* com ou sem concha por fêmeas de *P. brachiatus* a alta adaptação de hiperparasitoides no ambiente e aproveitamento de recursos de acordo com a disponibilidade de hospedeiros (Poelman *et al.*, 2022). A morte de ninfas de *G. brimblecombei*, parasitadas por *P. brachiatus*, nas placas de Petri impossibilitando a observação do resultado do parasitismo e a alta emergência de *P. brachiatus* das ninfas parasitadas de *G. brimblecombei* nas gaiolas, confirmam a necessidade da ninfa recém parasitada se alimentar de seiva durante seu desenvolvimento e preparo do local de pupação do parasitoide, semelhante ao relatado para *P. bliteus* (Sullivan *et al.*, 2006).

A emergência de machos de *P. brachiatus* de 77,50% e 63,67%, respectivamente, das pupas de *P. bliteus* parasitadas, com ou sem concha e nenhuma fêmea emergindo das mesmas confirma relato deste ser um hiperparasitoide heterônomo com hospedeiros diferentes para machos e fêmeas (Hall *et al.*, 2017). Isto é semelhante ao observado para *Encarsia pergandiella*

Howard (Hymenoptera: Aphelinidae) com suas fêmeas se desenvolvendo como parasitoide primário obrigatório de um hospedeiro hemíptero, e o macho como secundário daqueles primários (Bogran; Heinz, 2002). Isto confirma serem as relações entre hospedeiros e hiperparasitoides heterônomo complexos, principalmente no desenvolvimento de machos e no efeito de hospedeiros (Zhao *et al.*, 2022).

O elevado número de ninfas de *G. brimblecombei*, parasitadas por *P. brachiatus* em placas de Petri e o reduzido parasitismo nas gaiolas pode estar relacionado com a resposta funcional Holling tipo II, onde o número de hospedeiros parasitados aumenta com a densidade dos mesmos até uma taxa máxima, semelhante ao relatado para *P. bliteus* (Cuello *et al.*, 2021) e *Psyllaephagus* sp. (Qin *et al.*, 2023). A emergência de poucos machos de *P. brachiatus*, das ninfas de *G. brimblecombei*, pode ser devida a partenogênese arrenótoca, originando indivíduos machos, em ausência de cópulas, semelhante ao relatado para *P. bliteus* (Favoreto *et al.*, 2021).

A variação da proporção em campo, de *P. brachiatus* e *P. bliteus*, entre talhões de eucalipto indica possível efeito, na população deste último parasitoide devido ao hiperparasitismo e competição pelos mesmos ínstares das ninfas de *G. brimblecombei*, semelhante ao relatado entre *Tamarixia lyciumi* Yang (Hymenoptera: Eulophidae) e *P. arenarius*, parasitoides de ninfas solitários competindo por aquelas de quarto ínstar de *Paratrioza sinica* Yang & Li (Hemiptera: Psyllidae) (Wu *et al.*, 2018). A razão sexual de *P. brachiatus*, em campo, de 0,50 indica proporção semelhante de parasitismo de ninfas de *G. brimblecombei* e de pupas de *P. bliteus* por *P. brachiatus* como relatado para o hiperparasitoide heterônomo *Encarsia tricolor* Forster (Hymenoptera: Aphelinidae), mas a proporção entre machos e fêmeas pode variar com a disponibilidade dos hospedeiros no ecossistema (Williams, 1991). O conhecimento do impacto positivo ou negativo da presença de *P. brachiatus* é fundamental para táticas de manejo integrado de *G. brimblecombei*, pois hiperparasitoides heterônomo podem dificultar a criação massal e reduzir o parasitismo por *P. bliteus* em campo. Isto aumenta a importância de se pesquisar e introduzir novos inimigos naturais, além de se aprimorar técnicas de criação e produção dos inimigos naturais para o manejo de *G. brimblecombei*.

4.5 CONCLUSÃO

Psyllaephagus brachiatus é um hiperparasitoide heterônomo de *G. brimblecombei* e *P. bliteus*, com sua fêmea se desenvolvendo na praga e seu macho no parasitoide.

REFERÊNCIAS

- BERRY, J. A. Key to the New Zealand species of *Psyllaephagus* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) with descriptions of three new species and a new record of the psyllid hyperparasitoid *Coccidoctonus psyllae* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae). **Australian Journal of Entomology**, v. 46, n. 2, p. 99-105, 2007.
- BOGRÁN, C. E.; HEINZ, K. M. Host selection by the heteronomous hyperparasitoid *Encarsia pergandiella*: multiple-choice tests using *Bemisia argentifolii* as primary host. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 103, n. 1, p. 11-21, 2002.
- CUELLO, E. M. *et al.* Phenology, parasitism and density dependence of *Psyllaephagus bliteus* on *Eucalyptus camaldulensis*. **Phytoparasitica**, v. 49, p. 561-568, 2021.
- DAANE, K. M. *et al.* The biology of *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the red gum lerp psyllid (Hemiptera: Psylloidea). **Biological Control**, v. 32, n. 2, p. 228-235, 2005.
- DEL-PIERO, F. H. M. O. *et al.* Anatomical indicators of *Eucalyptus* spp. resistance to *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae). **PeerJ**, 10, e13346. 2022.
- DOMINGUES, M. M. *et al.* ***Psyllaephagus brachiatus* and *Psyllaephagus* sp. HH (Hymenoptera: Encyrtidae) in infestations of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) in Brazil.** (In Press).
- FAVORETO, A. L. *et al.* Courtship, mating behavior, and ovary histology of the nymph parasitoid *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: encyrtidae). **Journal of Insect Science**, v. 21, n. 2, p. 16, 2021.
- FERREIRA-FILHO, P. J. *et al.* Biological control of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) in eucalyptus plantations. **Phytoparasitica**, v. 43, p. 151-157, 2015.
- FROMONT, C. **Molecular ecology, geography and species interactions of *Mycopsylla* insects with their bacterial endosymbionts, parasitoids and host fig trees.** 2017. Tese de Doutorado. Western Sydney University (Australia).
- GEROVICHEV, A. *et al.* High throughput data acquisition and deep learning for insect ecoinformatics. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 9, p. 600931, 2021.
- HALL, A. A. *et al.* Unravelling mummies: cryptic diversity, host specificity, trophic and coevolutionary interactions in psyllid–parasitoid food webs. **BMC Evolutionary Biology**, v. 17, p. 1-15, 2017.
- KÜNST, T. B. S. *et al.* Primeiro registro de *Psyllaephagus blastopsyllae* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoide de *Blastopsylla occidentalis* (Hemiptera: Aphalaridae), no Mato Grosso, Brasil. **Boletín de la SEA**, n. 66, p. 259-260, 2020.

PLASCENCIA-GONZÁLEZ, A. *et al.* Biología del parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae). **Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente**, v. 11, n. 1, p. 11-17, 2005.

POELMAN, E. H.; CUSUMANO, A.; DE-BOER, J. G. The ecology of hyperparasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 67, n. 1, p. 143-161, 2022.

QIN, Z. *et al.* Parasitism potential and laboratory rearing of *Psyllaephagus* sp., a newly discovered parasitoid of *Cacopsylla chinensis*. **Agronomy**, v. 13, n. 3, p. 943, 2023.

RIEK, E. F. The Australian species of *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasites of Psyllids (Homoptera). **Australian Journal of Zoology**, v. 10, n. 4, p. 684-757, 1962.

STEINBAUER, M. J. *et al.* Trophic cascades in bell miner-associated dieback forests: Quantifying relationships between leaf quality, psyllids and *Psyllaephagus* parasitoids. **Austral Ecology**, v. 40, n. 1, p. 77-89, 2015.

SULLIVAN, D. J. *et al.* Protective mechanisms for pupae of *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the red-gum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psylloidea). **Australian Journal of Entomology**, v. 45, n. 1, p. 101-105, 2006.

TAMESSE, J. L. *et al.* Description of *Psyllaephagus blastopsyllae* sp. n. (Encyrtidae), new species, endoparasitoid of *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Psyllidae, Spondyliaspidae) in Cameroon. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences**, v. 5, n. 2, p. 228-236, 2014.

WANG, J. *et al.* Analysis of chemosensory gene families in the beetle *Monochamus alternatus* and its parasitoid *Dastarcus helophoroides*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics**, v. 11, p. 1-8, 2014.

WILCKEN C. F. *et al.* Sistema de criação do psílideo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) e de seu parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) para programa de controle biológico em plantações de eucalipto. **Documentos Técnicos IPEF**, 2: 1-23, 2010.

WILLIAMS, T. Host selection and sex ratio in a heteronomous hyperparasitoid. **Ecological Entomology**, v. 16, n. 3, p. 377-386, 1991.

WU, P. *et al.* The hyperparasitoid *Marietta picta* (Hymenoptera: Aphelinidae) mediates competitive interactions between two parasitoids of *Paratrioza sinica* (Hemiptera: Psyllidae): *Tamarixia lyciumi* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Psyllaephagus arenarius* (Hymenoptera: Encyrtidae). **Biological Control**, v. 126, p. 169-176, 2018.

ZHAO, Y. *et al.* Mating status of an autoparasitoid and sex of the secondary host impact the outcome of heteronomous hyperparasitism. **Entomologia Generalis**, v. 42, n. 1, 87, 2022.

CAPÍTULO 5

DIVERSIDADE DE INIMIGOS NATURAIS EM INFESTAÇÕES DE *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: APHALARIDAE) EM CULTIVOS DE EUCALIPTO

RESUMO

O psílídeo de concha *Glycaspis brimblecombei* Moore, 1964 (Hemiptera: Aphalaridae), originário da Austrália, foi introduzido e reduz a produtividade de plantações de eucalipto no Brasil, importantes na economia brasileira. A identificação de inimigos naturais contribui para estratégias de manejo sustentável de *G. brimblecombei*. O objetivo deste trabalho foi identificar inimigos naturais associados a infestações de *G. brimblecombei* no Mato Grosso do Sul, Brasil. Ramos infestados foram coletados em plantas do clone de *Eucalyptus urophylla*, entre maio e setembro de 2022 e os insetos, obtidos dos mesmos, identificados e divididos em classes de abundância, constância, dominância e frequência. Um total de 1838 inimigos naturais, de 18 espécies, sete famílias e cinco ordens, foi coletado. Espécies de *Allograpta* (Diptera: Syrphidae) e *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae), além de *Atopozelus opsimus* Elkins, 1954 (Hemiptera: Reduviidae), *Chrysoperla* sp. (Neuroptera: Chrysopidae), *Harmonia axyridis* Pallas, 1773, *Jaguarita conjugata* Mulsant, 1850 e *Olla v-nigrum* Mulsant, 1866 (Coleoptera: Coccinellidae) foram dominantes. *Psyllaephagus bliteus* e *Psyllaephagus brachiatus* foram muito abundantes, *Allograpta* sp., *A. opsimus* e *Chrysoperla* sp., *H. axyridis*, *O. v-nigrum* e *Psyllaephagus blastopsyllae* Tamesse et al., 2014 (Hymenoptera: Encyrtidae) dispersas e as demais espécies raras. *Psyllaephagus bliteus* Riek, 1962 (Hymenoptera: Encyrtidae) foi dominante, altamente frequente e abundante. A presença desses inimigos naturais reforça a importância dos mesmos para o manejo integrado de *G. brimblecombei* e a necessidade de se estudar suas interações e impacto em infestações dessa praga.

Palavras-chave: Controle biológico, monitoramento, parasitoides, predadores, psílídeo-de-concha.

ABSTRACT

The red gum lerp psyllid *Glycaspis brimblecombei* Moore 1964 (Hemiptera: Aphalaridae), originally from Australia, was introduced and reduces the productivity of *Eucalyptus* plantations in Brazil, important in the Brazilian economy. The identification of natural enemies contributes to sustainable management strategies for *G. brimblecombei*. The objective of this work was to identify natural enemies associated with *G. brimblecombei* infestations in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. Infested branches were collected from plants of the clone of *Eucalyptus urophylla*, between May and September 2022 and the insects obtained from them were identified and divided into classes of abundance, constancy, dominance and frequency. A total of 1838 natural enemies, from 18 species, seven families and five orders, were collected. Species of the genera *Allograpta* (Diptera: Syrphidae) and *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae), in addition to *Atopozelus opsimus* Elkins 1954 (Hemiptera: Reduviidae), *Chrysoperla* sp. (Neuroptera: Chrysopidae), *Harmonia axyridis* Pallas 1773, *Jaguarita conjugata* Mulsant 1850 and *Olla v-nigrum* Mulsant 1866 (Coleoptera: Coccinellidae) were dominant. *Psyllaephagus bliteus* and *Psyllaephagus brachiatus* were very abundant, *Allograpta* sp., *A. opsimus* and *Chrysoperla* sp., *H. axyridis*, *O. v-nigrum* and *Psyllaephagus blastopsyllae* Tamesse et al. 2014 (Hymenoptera: Encyrtidae) dispersed and the other rare species. *Psyllaephagus bliteus* Riek 1962 (Hymenoptera: Encyrtidae) was dominant, highly frequent and abundant. The presence of these natural enemies reinforces their importance for the integrated management of *G. brimblecombei* and the need to study their interactions and impact on infestations of this pest.

Keywords: Biological control, parasitoids, predators, red gum lerp psyllid.

5.1 INTRODUÇÃO

Espécies do gênero *Eucalyptus* são importantes na economia brasileira para a produção de matéria prima para uma ampla variedade de aplicações como produção de celulose e uso da madeira na construção civil e indústria de móveis (Hua et al., 2022). O psílídeo de concha *Glycaspis brimblecombei* Moore, 1964 (Hemiptera: Aphalaridae) (Barbosa et al., 2023), originário da Austrália, se alimenta

em folhas novas e brotações causando a seca de ponteiros e reduzindo a produtividade em plantações de eucalipto (Del-Piero *et al.*, 2022). A rápida disseminação e adaptação de *G. brimblecombei* e os desafios associados ao seu manejo preocupam produtores e pesquisadores (Dittrich-Schröder *et al.*, 2021; Dal-Pogetto *et al.*, 2022).

O controle de *G. brimblecombei* é realizado por meio de métodos químicos e biológicos. No entanto, a eficácia dos inseticidas pode ser limitada em casos de alta infestação ou quando a aplicação ocorre fora do momento ideal para o controle (Tuller *et al.*, 2017). Além disso, a produção massal de inimigos naturais, dessa praga, incluindo o parasitoide *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) (Namuyanja *et al.*, 2023) e o percevejo predador *Atopozelus opsimus* Elkins (Hemiptera: Reduviidae) (Dias *et al.*, 2012) é difícil.

A identificação de novos inimigos naturais contribui para o manejo sustentável de *G. brimblecombei*. O objetivo deste trabalho foi identificar inimigos naturais associados a infestações de *G. brimblecombei* no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Ramos infestados por *G. brimblecombei* foram coletados em plantas do clone AEC0144 (*Eucalyptus urophylla*), com um ano de idade, na Suzano S.A. em Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, Brasil (21°01'50"S 51°57'33"W, 368 m) de maio a agosto de 2022. Esses ramos foram transportados para o laboratório e colocados em recipientes com água dentro de gaiolas de criação onde os insetos, emergidos, foram coletados em quatro coletas, uma em cada mês, cada um com 10 gaiolas com ramos infestados pela praga.

Os insetos coletados, diariamente, com o auxílio de sugadores foram individualizados em frascos com álcool 70% e os inimigos naturais identificados com o auxílio de microscópio estereoscópico baseado em chaves de identificação e artigos específicos para os gêneros das ordens Coleoptera (Watt, 1974; Vandenberg 2002; Celli *et al.* 2021), Diptera (Thompson, 1981; Mengual *et al.*, 2009), Hemiptera (Hart, 1986; Zanuncio *et al.*, 1994), Hymenoptera (Riek, 1962; Tamesse *et al.*, 2014) e Neuroptera (Brooks, 1994; Freitas *et al.*, 2009).

A abundância, constância, frequência e dominância, por espécie de inimigo natural, foram calculadas com dados do número de indivíduos de cada uma (Cominetti; Andreotti, 2021).

A abundância, família, gênero e espécie de inimigos naturais, foi dividida em muito abundante, abundante, comum, dispersa ou rara, respectivamente, com número de indivíduos entre os limites superiores do IC em 5% e 1%, dentro do IC em 5%, entre os limites inferiores do IC em 5% e 1%, e abaixo do limite inferior do IC em 1% (Ghiotto *et al.*, 2023). Espécies dominantes foram aquelas com frequência superior ao limite estabelecido do índice de dominância de Simpson (Thomazini; Thomazini, 2002; Nelson *et al.*, 2024). A frequência foi calculada por família, gênero e espécie em relação ao número total de indivíduos e dividida em muito frequente, frequente e pouco frequente de acordo com o intervalo de confiança (IC) em 5%, com uma porcentagem de indivíduos maior que o limite superior do IC, dentro do IC e abaixo do limite inferior do IC, respectivamente (Garcia *et al.*, 2003). O índice de constância (C) onde: $C = (P \times 100) \div N$, sendo P = número de coletas com determinada espécie, gênero ou família capturada, N = número de coletas, foi usado para definir as espécies como constante, acessória ou acidental (Isaia *et al.*, 2022).

5.3 RESULTADOS

Um total de 1838 indivíduos de inimigos naturais de 18 espécies, sete famílias e cinco ordens, foi coletado em plantações de eucalipto infestadas por *G. brimblecombei* (Tabela 1). Espécies de Hymenoptera foram dominantes com maior frequência entre os indivíduos coletados, totalizando 84,77%, destacando-se *P. bliteus*, *P. brachiatus* e *P. blastopsyllae* com frequência de 73,83, 7,24 e 3,70%, respectivamente (Tabela 1 e Figura 1).

Figura 1. *Psyllaephagus bliteus* (A), *Psyllaephagus brachiatus* (B) e *Psyllaephagus blastopsyllae* (C) (Hymenoptera: Encyrtidae) coletados em plantação do clone AEC0144 de *Eucalyptus urophylla* infestadas por *Glycaspis brimblecombei* no Mato Grosso do Sul, Brasil

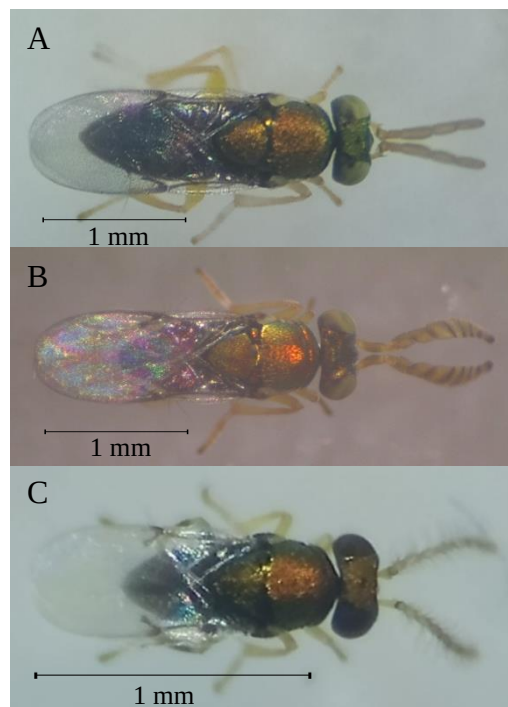


Tabela 1 - Ordem: família, gênero/espécie, número (N) e porcentagem (%) de indivíduos, dominância (D), abundância (A), frequência (F) e constância (C) de inimigos naturais de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) coletados em plantação de eucalipto em Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, Brasil, de maio a setembro de 2022

Ordem: Família	Gênero/espécie	N	%	D	A	F	C
Coleoptera: Coccinellidae	<i>Cycloneda sanguinea</i>	2	0,11	nd	r	u	z
	<i>Eriopis connexa</i>	3	0,16	nd	r	u	z
	<i>Harmonia axyridis</i>	58	3,16	d	d	u	y
	<i>Hyppodamia convergens</i>	12	0,65	nd	r	u	z
	<i>Jaguarita conjugata</i>	38	2,07	d	r	u	z
	<i>Olla v-nigrum</i>	25	1,36	d	d	u	y
Coleoptera: Alleculidae	Não identificada	2	0,11	nd	r	u	z
Diptera: Syrphidae	<i>Allograpta</i> sp.	46	2,5	d	d	u	y
	<i>Ocyptamus</i> sp.	6	0,33	nd	r	u	z
Hemiptera: Reduviidae	<i>Arilus</i> sp.	1	0,05	nd	r	u	z
	<i>Atopozelus opsimus</i>	20	1,09	d	d	u	y
	<i>Zelus</i> sp.	3	0,16	nd	r	u	z
Hemiptera: Pentatomidae	<i>Podisus</i> sp.	12	0,65	nd	r	u	z
	<i>Psyllaephagus</i>						u
Hymenoptera: Encyrtidae	<i>blastopsyllae</i>	68	3,7	d	d		w
	<i>Psyllaephagus bliteus</i>	1357	73,83	d	va	vf	w
	<i>Psyllaephagus brachiatus</i>	133	7,24	d	va	u	w
Neuroptera: Chrysopidae	<i>Ceraeochrysa</i> sp.	11	0,6	nd	r	i	z
	<i>Chrysoperla</i> sp.	41	2,23	d	d	i	y

D: d= dominante, nd= não dominante; A: va= muito abundante, a= abundante, d= disperso, r= raro; F: vf= muito frequente, u= pouco frequente; C: w= constante, y= acessório, z= acidental.

Os besouros predadores *Cycloneda sanguinea* Linnaeus 1763, *Eriopis connexa* Germar 1824, *Harmonia axyridis* Pallas 1773, *Hyppodamia convergens* Guérin-Ménéville 1842, *Jaguarita conjugata* Mulsant 1850 e *Olla v-nigrum* Mulsant 1866 (Coleoptera: Coccinellidae) e uma espécie não identificada da família Alleculidae, foram coletadas (Figura 2).

Figura 2. Inimigos naturais Alleculidae (Coleoptera) (A), *Harmonia axyridis* (B) e *Olla v-nigrum* (C) (Coleoptera: Coccinellidae); *Allograpta* sp. (D) e *Ocyptamus* sp. (E) (Diptera: Syrphidae), *Podisus* sp. (F) (Hemiptera: Pentatomidae) e *Zelus* sp. (G) (Hemiptera: Reduviidae); e *Chrysoperla* sp. (H) e *Ceraeochrysa* sp. (I) (Neuroptera: Chrysopidae) coletados no clone AEC0144 de *Eucalyptus urophylla* infestadas por *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) em Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, Brazil de maio a setembro de 2022



Um total de 2,83, 2,83 e 1,96%, respectivamente, dos indivíduos coletados foram dos gêneros *Chrysoperla* e *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Allograpta* e *Ocyptamus* (Diptera: Syrphidae) e *Atopozelus opsimus*, *Arilus* sp. e *Zelus* sp. (Hemiptera: Reduviidae) e *Podisus* sp. (Hemiptera: Pentatomidae) (Tabela 1, Figura 2).

Espécies do gênero *Psyllaephagus* e *Allograpta* sp. e *A. opsimus*, *Chrysoperla* sp., *H. axyridis*, *J. conjugata* e *O. v-nigrum* foram dominantes.

Psyllaephagus bliteus e *P. brachiatus* foram muito abundantes, *Allograpta* sp., *A. opsimus*, *Chrysoperla* sp., *P. blastopsyllae*, *H. axyridis* e *O. v-nigrum*, dispersas e as demais raras (Tabela 1).

Psyllaephagus bliteus foi muito frequente, e presente em todas as parcelas e com maior número de indivíduos que as demais espécies, todas pouco frequentes. As espécies de *Psyllaephagus* foram constantes, *Allograpta* sp., *A. opsimus*, *Chrysoperla* sp. e *H. axyridis*, acessórias e as demais acidentais (Tabela 1).

5.4 DISCUSSÃO

O total de 1838 inimigos naturais de *G. brimblecombei* em plantações de eucalipto no Brasil reflete a diversidade desses organismos associados com essa praga no Brasil e, possivelmente, a riqueza e a complexidade das interações ecológicas envolvidas (Gonzaga *et al.*, 2021). A diversidade de inimigos naturais de *G. brimblecombei* no Brasil é maior que a relatada na Europa (Valente; Hodkinson, 2009; Karaca *et al.*, 2015), Ásia (Kaf; Mohamed, 2020), Estados Unidos (Erbilgin *et al.*, 2004) e Colômbia (Rodas-Ávalos *et al.*, 2021), ampliando estratégias para o controle biológico no manejo integrado dessa praga no Brasil (Tooker *et al.*, 2020).

A dominância de espécies de Hymenoptera, particularmente, do gênero *Psyllaephagus* confirma a importância das mesmas no manejo de populações de *G. brimblecombei* como relatado na Austrália (Ferreira-Filho *et al.*, 2015). A coleta de *P. bliteus*, *P. brachiatus* e *P. blastopsyllae* confirma relatos de ocorrência simultânea entre espécies desse gênero, como *P. gemitus* Riek, 1962 e *P. richardhenryi* Berry, 2006 (Hymenoptera: Encyrtidae) na Nova Zelândia (Berry, 2007), e a elevada diversidade desse grupo taxonômico (Riek, 1962). Diferenças na estratégia de parasitismo entre *P. bliteus*, *P. brachiatus* e *P. blastopsyllae* podem ser complementares no manejo de *G. brimblecombei* (Riek, 1962, Hall *et al.*, 2017). O primeiro parasitoide deposita, diretamente, seus ovos em ninfas de *G. brimblecombei* (Favoreto *et al.*, 2021), o segundo, um hiperparasitoide heterônimo, parasita larvas de *P. bliteus* e ninfas de *G. brimblecombei*, regulando, indiretamente, populações desta praga e daqueles inimigos naturais (Hall *et al.*, 2017) e o último parasita *B. occidentalis* Taylor, 1985 (Hemiptera: Aphalaridae) (Bush *et al.*, 2016), eventualmente, *G. brimblecombei* (Makunde *et al.*, 2022). No entanto, a plasticidade

comportamental e adaptação de *P. blastopsyllae* pode contribuir para o controle biológico de *G. brimblecombei* (Benoist et al., 2020).

A coleta de sete espécies de besouros predadores, sendo seis de Coccinellidae, destaca a diversidade desse grupo de inimigos naturais para o controle biológico de *G. brimblecombei*, com eficácia demonstrada no manejo de pragas agrícolas (Muley; Chavan, 2023). Esse número de espécies foi maior que o relatado em infestações de *G. brimblecombei* na Colômbia e Síria, com três e duas espécies, respectivamente, aumentando a complementaridade no manejo integrado dessa praga no Brasil (Udiarto et al., 2023). No entanto, esses predadores são generalistas podendo impactar outros organismos, incluindo inimigos naturais (Koch; Galvan, 2008), como relatado para *Harmonia axyridis* Pallas, 1773 (Coleoptera: Coccinellidae), espécie exótica e com alta voracidade no manejo de pragas agrícolas, mas reduzindo populações de espécies nativas de Coccinellidae (Castro-Guedes et al., 2020). A coleta de indivíduos de uma espécie de Alleculidae, se alimentando de ovos de *G. brimblecombei*, é o primeiro relato de um inseto dessa família como inimigo natural desta praga, aumentando a necessidade de se estudar a mesma para o controle biológico. Além disso, isto aumenta a diversidade de alimento, relatada para espécies de Alleculidae, geralmente, se alimentando de matéria orgânica em decomposição, como detritos vegetais, restos de plantas, fungos e microrganismos associados a esses substratos (Watt, 1974).

A coleta de poucos indivíduos de *Chrysoperla* e *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Allograpta* e *Ocyptamus* (Diptera: Syrphidae) e de *A. opsimus*, *Arilus* sp. e *Zelus* sp. (Hemiptera: Reduviidae) e *Podisus* sp. (Hemiptera: Pentatomidae) pode ser explicada pela ampla variedade de presas e hábitos alimentares destes grupos de predadores (Ghiotto et al., 2023). Espécies de Neuroptera, Diptera e Hemiptera são predadores generalistas de diferentes pragas, incluindo pulgões e ovos de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), além de ácaros (Dunn et al., 2020; Ghongade; Sangha, 2023). A observação de gêneros específicos dessas ordens confirma relatos de associação de espécies desses gêneros em infestações de *G. brimblecombei* (Ferreira-Filho et al., 2015; Kök et al., 2020).

A coleta de espécies de diferentes gêneros, como dominantes, é importante na regulação populacional de *G. brimblecombei* (Bielza et al., 2020). A dominância de espécies de *Psyllaephagus* destaca a importância das mesmas no controle biológico de *G. brimblecombei*, com estratégias de parasitismo variando com a

disponibilidade e a dinâmica das populações da praga (Sokame *et al.*, 2021). *Allograpta* sp., *A. opsimus*, *Chrysoperla* sp., *H. axyridis*, *J. conjugata* e *O. v-nigrum*, entre as espécies dominantes, confirmam relatos destes inimigos naturais em infestações de *G. brimblecombei* em Minas Gerais e Paraná (Oliveira *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2010).

A determinação de *P. bliteus* e *P. brachiatus* como muito abundantes confirma a importância dessas espécies na regulação das populações de *G. brimblecombei* como relatado para *Psyllaephagus* em Madagascar e nas ilhas Mascarenhas (Fraser *et al.*, 2007; Vinot *et al.*, 2023). *Allograpta* sp., *A. opsimus*, *Chrysoperla* sp., *P. blastopsyllae*, *H. axyridis*, *O. v-nigrum*, como dispersas e com menor número de indivíduos, se deve ao fato de colonizarem diferentes habitats, mas mesmo assim, poderem ser importantes no equilíbrio populacional de *G. brimblecombei* (Thomazini; Thomazini, 2002; Gardiner *et al.*, 2009). Além disso, espécies raras, com número reduzido de indivíduos e distribuição limitada, podem, eventualmente, serem importantes no controle biológico de *G. brimblecombei*, semelhante ao relatado para *Ceraeochrysa valida* Banks, 1895 (Neuroptera: Chrysopidae) em infestações de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) no México (Ulrich, 2001; Palomares-Pérez *et al.*, 2016).

A determinação de *P. bliteus* como muito frequente confirma sua ampla distribuição em todas as áreas com ocorrência de *G. brimblecombei* no Brasil, com elevada adaptação e colonização (Santos *et al.*, 2020) e o principal regulador das populações dessa praga. Isto é semelhante ao relatado na Espanha, Estados Unidos e Portugal, onde *P. bliteus* se adaptou e se tornou o principal parasitoide regulando populações de *G. brimblecombei* (Daane *et al.*, 2005; Valente; Hodkinson, 2009).

Espécies de *Psyllaephagus* como constantes é semelhante ao relatado em países do Mediterrâneo, como *P. bliteus* na Itália reduzindo a densidade populacional de *G. brimblecombei* (Margiotta *et al.*, 2017). *Allograpta* sp., *A. opsimus*, *Chrysoperla* sp. e *H. axyridis*, como acessórias, indica presença irregular, possivelmente, devida a fatores ambientais ou sazonais (Welch; Harwood, 2014). Espécies acidentais são, normalmente, de ocorrência esporádica e imprevisível devido à fatores como predação, competição ou mudanças ambientais (Thomson *et al.*, 2010) e com menor efeito no controle biológico de *G. brimblecombei*. A presença

de inimigos naturais como constantes, acessórios e acidentais revela diferentes níveis populacionais ao longo do tempo e espaço (Freitas *et al.*, 2005).

5.5 CONCLUSÃO

A identificação de inimigos naturais é importante para o manejo integrado de *G. brimblecombei*. *Psyllaephagus bliteus*, como dominante, constante, muito abundante e frequente, confirma sua adaptação a *G. brimblecombei* e às condições ambientais do Mato Grosso do Sul, Brasil, mas o impacto de outras espécies desse gênero, nas infestações dessa praga, deve ser mais bem estudado.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, L. R. *et al.* *Eucalyptus* pests. In: **Forest Microbiology**. Academic Press, 2023. p. 227-249.
- BIELZA, P. *et al.* Challenges facing arthropod biological control: identifying traits for genetic improvement of predators in protected crops. **Pest Management Science**, v. 76, n. 11, p. 3517-3526, 2020.
- BERRY, J. A. Key to the New Zealand species of *Psyllaephagus* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) with descriptions of three new species and a new record of the psyllid hyperparasitoid *Coccidoctonus psyllae* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae). **Australian Journal of Entomology**, v. 46, n. 2, p. 99-105, 2007.
- BENOIST, R. *et al.* Role of egg-laying behavior, virulence and local adaptation in a parasitoid's chances of reproducing in a new host. **Journal of Insect Physiology**, v. 120, 103987, 2020.
- BROOKS, S. J. A taxonomic review of the common green lacewing genus *Chrysoperla* (Neuroptera: Chrysopidae). **Bulletin of the British Museum of Natural History (Entomology)**, v. 63, n. 2, p. 137-210, 1994.
- BUSH, S. J. *et al.* Six recently recorded Australian insects associated with *Eucalyptus* in South Africa. **African Entomology**, v. 24, n. 2, p. 539-544, 2016.
- CASTRO-GUEDES, C. F.; ALMEIDA, L. M.; MOURA, M. O. Asymmetric intraguild predation of *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) (Coleoptera: Coccinellidae) on a native Coccinellidae guild. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 64, n. 1, e201969, 2020.
- CELLI, N. D. G. R. *et al.* The way to maturity: taxonomic study on immatures of Southern Brazilian Coccinellini (Coleoptera: Coccinellidae) species important in biological control. **Zoologia (Curitiba)**, v. 38, e64154, 2021.
- COMINETTI, M. C.; ANDREOTTI, R. Triatominae fauna (Hemiptera: Reduviidae) in Mato Grosso do Sul, Brazil, and the influence of climatic elements on their populations. **Medical Research Archives**, v. 9, n. 2, 1-15, 2021.
- DAANE, K. M. *et al.* The biology of *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the red gum lerp psyllid (Hemiptera: Psylloidea). **Biological Control**, v. 32, n. 2, p. 228-235, 2005.
- DAL-POGETTO, M. H. F. A. *et al.* High population levels lead *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) to unrecorded feeding and oviposition behaviors on *Eucalyptus urograndis* plants. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, e250931, 2022.
- DEL-PIERO, F. H. M. O. *et al.* Anatomical indicators of *Eucalyptus* spp. resistance to *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae). **PeerJ**, v. 10, e13346, 2022.
- DIAS, T. K. R. *et al.* Occurrence of *Atopozelus opsimus* preying on nymphs and adults of *Glycaspis brimblecombei*. **Phytoparasitica**, v. 40, p. 137-141, 2012.

DITTRICH-SCHRÖDER, G. *et al.* Diversity and introduction history of *Glycaspis brimblecombei* reflects a history of bridgeheads and distinct invasions. **Frontiers in Forests and Global Change**, v. 4, 783603, 2021.

DUNN, L. *et al.* Dual ecosystem services of syrphid flies (Diptera: Syrphidae): pollinators and biological control agents. **Pest Management Science**, v. 76, n. 6, p. 1973-1979, 2020.

ERBILGIN, N.; DAHLSTEN, D. L.; CHEN, P. Intraguild interactions between generalist predators and an introduced parasitoid of *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera: Psylloidea). **Biological Control**, v. 31, n. 3, p. 329-337, 2004.

FAVORETO, A. L. *et al.* Courtship, mating behavior, and ovary histology of the nymph parasitoid *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: encyrtidae). **Journal of Insect Science**, v. 21, n. 2, 16, 2021.

FERREIRA-FILHO, P. J. *et al.* Biological control of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) in eucalyptus plantations. **Phytoparasitica**, v. 43, p. 151-157, 2015.

FRASER, S. E.; DYTHAM, C.; MAYHEW, P. J. Determinants of parasitoid abundance and diversity in woodland habitats. **Journal of Applied Ecology**, v. 44, n. 2, p. 352-361, 2007.

FREITAS, F. A. *et al.* Effect of plant age, temperature and rainfall on Lepidoptera insect pests collected with light traps in a *Eucalyptus grandis* plantation in Brazil. **Annals of Forest Science**, v. 62, n. 1, p. 85-90, 2005.

FREITAS, S., PENNY, N. D., ADAMS, P. A. A revision of the new world genus *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae). **Proceedings of the California Academy of Sciences**, v. 60, n. 15, p. 503, 2009.

GARCIA, F. R., CAMPOS, J. V., CORSEUIL, E. Faunistic analyses of fruit fly species (Diptera: Tephritidae) in the West Region of Santa Catarina State, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 421-426, 2003.

GHIOTTO, T. C. *et al.* Ecological importance of lepidopteran defoliators on eucalyptus plantations based in faunistic and natural enemy analyses. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, e268747, 2023.

GHONGADE, D. S., SANGHA, K. S. Biological control potentials of *Chrysoperla zastrowi sillemi* (Neuroptera: Chrysopidae) against *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) on polyhouse grown parthenocarpic cucumber in North-Western India. **International Journal of Pest Management**, p. 1-11, 2023.

GONZAGA, E. P. *et al.* Diversidade inicial da entomofauna em povoamento florestal de eucalipto, no município de Rio Largo, Alagoas. **Diversitas Journal**, v. 6, n. 3, p. 2931-2945, 2021.

HALL, A. A. et al. Unravelling mummies: cryptic diversity, host specificity, trophic and coevolutionary interactions in psyllid–parasitoid food webs. **BMC Evolutionary Biology**, v. 17, p. 1-15, 2017.

HART, E. R. Genus *Zelus* Fabricius in the United States, Canada, and Northern Mexico (Hemiptera: Reduviidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 79, n. 3, p. 535-548, 1986.

HUA, L. S. et al. Engineering wood products from *Eucalyptus* spp. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2022, n. 1, 8000780, 2022.

ISAIA, G., DRAGOMIR, I. M., DUDUMAN, M. L. Diversity of beetles captured in pitfall traps in the sinca old-growth forest, Braşov County, Romania: Forest reserve versus managed forest. **Forests**, v. 14, n. 1, 60, 2022.

KAF, N. A., MOHAMED, E. Red gum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei* Moore, 1964 and its natural enemies in the province of Lattakia, Syria. **Arab Journal of Plant Protection**, v. 38, p. 172-179, 2020.

KARACA, İ. et al. First record of *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae), in Turkey. **Phytoparasitica**, v. 43, p. 171-175, 2015.

KOCH, R. L., GALVAN, T. L. Bad side of a good beetle: the North American experience with *Harmonia axyridis*. In: ROY, H. E., WAJNBERG, E., (eds) **From biological control to invasion: the ladybird *Harmonia axyridis* as a model species**, pp. 23-35, 2008. Springer, Dordrecht.

KÖK, Ş. et al. Biodiversity of the natural enemies of aphids (Hemiptera: Aphididae) in Northwest Turkey. **Phytoparasitica**, v. 48, n. 1, p. 51-61, 2020.

MAKUNDE, P. T., SLIPPERS, B., HURLEY, B. P. Host specificity of *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae) towards invasive eucalypt psyllids (Hemiptera: Aphalaridae). **International Union of Forest Research Organizations Conference Division 7 – Forest Health Pathology and Entomology (IUFRO)**, Lisbon, Portugal, 2022.

MARGIOTTA, M. et al. Modeling environmental influences in the *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae)–*Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) parasitoid–host system. **Journal of Economic Entomology**, v. 110, n. 2, p. 491-501, 2017.

MENGUAL, X. et al. A conspectus of the flower fly genus *Allograpta* (Diptera: Syrphidae) with description of a new subgenus and species. **Zootaxa**, v. 2214, 31, 2009.

MULEY, E. D.; CHAVAN, R. J. Review on diversity of predaceous coccinellid beetles (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 1, n. 2, p. 128-32, 2023.

NAMUYANJA, V. M. *et al.* Establishment of *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) as a bio-control agent for controlling eucalyptus pest *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae) in Uganda. **GSC Biological and Pharmaceutical Sciences**, v. 24, n. 3, p. 291-301, 2023.

NELSON, S. G., MEYS, E. L., HUTCHISON, W. D. Non-target impacts of hail netting and insecticides on natural enemy abundance and diversity in a Midwestern US commercial apple orchard. **Crop Protection**, v. 180, 106643, 2024.

OLIVEIRA, L. D. S. *et al.* Ocorrência de *Glycaspis brimblecombei* (Moore, 1964)(Hemiptera: Psyllidae) em *Eucalyptus* spp. no Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Florestal**, v. 16, n. 3, p. 353-355, 2006.

PALOMARES-PÉREZ, M. *et al.* Abundancia y depredación de *Ceraeochrysa valida* (Neuroptera: Chrysopidae) sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) en Colima, México. **Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences**, v. 32, n. 3, p. 234-243, 2016.

RIEK, E. F. The Australian species of *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasites of Psyllids (Homoptera). **Australian Journal of Zoology**, v. 10, n. 4, p. 684-757, 1962.

RODAS-ÁVALOS, M. *et al.* Life cycle and natural enemies of *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae) in a *Eucalyptus camaldulensis* Dehnhardt forest plantation (Jericó, Colombia). **Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural**, v. 25, n. 1, p. 40-52, 2021.

SANTOS, F. A. *et al.* Genetic diversity of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) and its parasitoid *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, p. 838-841, 2020.

SILVA, J. O. *et al.* Effects of landscape structure and *Eucalyptus* genotype on the abundance and biological control of *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 91-96, 2010.

SOKAME, B. M. *et al.* A system dynamics model for pests and natural enemies interactions. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1401, 2021.

TAMESSE, J. L. *et al.* Description of *Psyllaephagus blastopsyllae* sp. n. (Encyrtidae), new species, endoparasitoid of *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Psyllidae, Spondyliaspidae) in Cameroon. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences**, v. 5, n. 2, p. 228-236, 2014.

THOMAZINI, M. J., THOMAZINI, A. P. Diversidade de abelhas (Hymenoptera: Apoidea) em inflorescências de *Piper hispidinervum* (C. DC.). **Neotropical Entomology**, v. 31, p. 27-34, 2002.

THOMPSON, F. C. The flower flies of the West Indies (Diptera: Syrphidae). **Memories of the Entomological Society of Washington** 9: 1–200, 1981.

THOMSON, L. J., MACFADYEN, S., HOFFMANN, A. A. Predicting the effects of climate change on natural enemies of agricultural pests. **Biological Control**, v. 52, n. 3, p. 296-306, 2010.

TOOKER, J. F., O'NEAL, M. E., RODRIGUEZ-SAONA, C. Balancing disturbance and conservation in agroecosystems to improve biological control. **Annual Review of Entomology**, v. 65, n. 1, p. 81-100, 2020.

TULLER, J. *et al.* *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) attack patterns on different *Eucalyptus* genotypes. **PeerJ**, v. 5, e3864, 2017.

UDIARTO, B. K. *et al.* Preferences and functional response of Coccinellidae to *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 83, n. 6, p. 715-724, 2023.

ULRICH, W. Ecological characteristics of rare species: the case of parasitic Hymenoptera. **Polish Journal of Ecology**, v. 49, n. 4, p. 379-389, 2001.

VALENTE, C., HODKINSON, I. First record of the red gum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hem.: Psyllidae), in Europe. **Journal of Applied Entomology**, v. 133, n. 4, p. 315-317, 2009.

VANDENBERG, N. J. Coccinellidae Latreille 1807. In: Arnett-Jr, R.H. *et al.* (Eds.). **American Beetles: Vol. II: Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea**, 2002. Boca Raton: CRC Press.

VINOT, M. *et al.* Main *Eucalyptus* pests and their associated parasitoids with a focus on Madagascar and the Mascarene islands. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 43, n. 6, p. 2263-2285, 2023.

WATT, J. C. A revised subfamily classification of Tenebrionidae (Coleoptera). **New Zealand Journal of Zoology**, v. 1, n. 4, p. 381-452, 1974.

WELCH, K. D., HARWOOD, J. D. Temporal dynamics of natural enemy–pest interactions in a changing environment. **Biological Control**, v. 75, p. 18-27, 2014.

ZANUNCIO, J. C. *et al.* Hemipterous predators of eucalypt defoliator caterpillars. **Forest Ecology and Management**, v. 65, n. 1, p. 65-73, 1994.

CAPÍTULO 6

PREDATION ACTIVITY OF DIFFERENT SPECIES OF COCCINELLIDAE ON *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: APHALARIDAE) EGGS

ABSTRACT

High productivity *Eucalyptus* spp., exotic trees, are the most planted in forestry in Brazil. The red gum lerp psyllid *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae), an invasive exotic, reduces the development and wood production of these *Eucalyptus* spp. plantations. The search for natural enemies targeting the egg lifestage is essential for the integrated pest management of *G. brimblecombei*. The objective of this work was to test a range of Coccinellidae species that potentially prey on *G. brimblecombei* eggs. *Cycloneda sanguinea* Linnaeus, *Eriopsis conexa* Germar, *Harmonia axyridis* Pallas, *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville, *Jaguarita conjugata* Mulsant and *Olla v-nigrum* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), associated with *G. brimblecombei* infestations, were evaluated. Newly emerged adults of *J. conjugata* and *O. v-nigrum* preyed on *G. brimblecombei* eggs, unlike *C. sanguinea*, *E. conexa*, *H. axyridis* and *H. convergens*. Predation of eggs by *O. v-nigrum* was highest, with a mean of 1,016 in 24 hours. These results, evaluating a range of Coccinellidae as predators of *G. brimblecombei* eggs, confirm the high predation rate of *G. brimblecombei* eggs by *O. v-nigrum* and that this ladybug may be important in the integrated management of this pest.

KEYWORDS: Biological control, ladybugs, *Olla v-nigrum*, red gum lerp psyllid.

6.1 INTRODUCTION

The planted area, with species of the *Eucalyptus* genus, is the largest in Brazil and with high productivity (Duarte & Ribeiro, 2023). The red gum lerp psyllid *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae), an exotic pest with great invasive potential, has been reported in different countries, in high infestations, reducing the productivity of these plantations (Barbosa et al., 2023). This sap-sucking

insect reduces the photosynthetic area and causes dryness of pointers and reduction of the development and wood production of these plants (Del Piero et al., 2022).

The integrated management of third and fourth instar *G. brimblecombei* nymphs is carried out using the parasitoid *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) (Favoreto et al., 2021), and for nymphs and adults of this insect, the predator bug *Atopozelus opsimus* Elkins (Hemiptera: Reduviidae) (Dias et al., 2012), entomopathogenic fungi (Domingues et al., 2022), and chemical control (AGROFIT, 2023) are employed. The search for egg predators is important to complement the integrated management of *G. brimblecombei*.

Coccinellidae are natural enemies of insect pests, especially aphids and mealybugs (Li et al., 2021). Species of this family have been reported associated to native psyllids such as *Triozoida* sp. (Barbosa et al., 2003) and *Psylla* sp. (Hemiptera: Psyllidae) (Ferreira & Almeida, 2000), as well as to exotic species like *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) (Michaud, 2001) and *G. brimblecombei* (Rodas-Ávalos et al., 2021). The objective of this study was to prospect Coccinellidae with the potential to prey on eggs of *G. brimblecombei*.

6.2 MATERIALS AND METHODS

The predation of *G. brimblecombei* eggs by *Cycloneda sanguinea* Linnaeus, *Eriopsis conexas* Germar, *Harmonia axyridis* Pallas, *Hippodamia convergens* Guérin-Meneville, *Jaguarita conjugata* Mulsant and *Olla v-nigrum* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), reported in infestations of this pest was evaluated (Figure 1).



Figure 1. Adults of *Cycloneda sanguinea* (a), *Eriopsis connexa* (b), *Harmonia axyridis* (c), *Hippodamia convergens* (d), *Jaguarita conjugata* (e), *Olla v-nigrum* (f) (Coleoptera: Coccinellidae) evaluated for predation on *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) eggs.

Branches of *Eucalyptus urophylla*, infested by *G. brimblecombei* and with coccinellid pupae, were collected from Suzano plantations in the Mato Grosso do Sul state, Brazil, and placed in standard rearing cages. The ladybug species were identified using identification keys (Vandenberg, 2002; Celli et al., 2021). Adults of these Coccinellidae were collected immediately after emergence, identified, and individually placed in Petri dishes with ten replications. *Eucalyptus urophylla* leaves, cut into disks with a diameter of 4 cm and containing a known number of *G. brimblecombei* eggs collected from a laboratory rearing, were provided in each dish, and the eggs counted using a stereoscopic microscope.

Glycaspis brimblecombei was reared on *Eucalyptus urophylla* saplings planted in 1-liter pots, housed in standardized cages with two plants each (40 cm × 45 cm × 80 cm) under a controlled temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$, relative humidity of $60 \pm 10\%$, and a 13-hour photophase. Each cage received 80 to 100 *G. brimblecombei* adults,

and seedlings were replaced in each cycle of this insect. Daily irrigation was performed using a 500 ml laboratory wash bottle (Domingues et al., 2022 adapted).

The leaves were replaced according to the predation by these insects. The number of eggs preyed was counted after one, two, three, four, five, six, seven, and 24 hours. The data were subjected to ANOVA using the F-test and the means compared using Tukey's test ($P \leq 0.05$), all performed with the Minitab software (version 19) (Minitab, 2010).

6.3 RESULTS

Newly emerged adults of *J. conjugata* and *O. v-nigrum* preyed on eggs of *G. brimblecombei*, unlike *C. sanguinea*, *E. conexa*, *H. axyridis*, and *H. convergens*. The predation of *G. brimblecombei* eggs by *O. v-nigrum* was higher in all evaluations, with an average of 1,016 eggs after 24 hours, while predation by *J. conjugata* started after four hours of evaluation (Table 1, Figure 2).

Table 1. Number of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) eggs preyed by *Cycloneda sanguinea* (Cs), *Eriopsis conexa* (Ec), *Harmonia axyridis* (Ha), *Hippodamia convergens* (Hc), *Jaguarita conjugata* (Jc) and *Olla v-nigrum* (Ov) (Coleoptera: Coccinellidae) during 24 hours after the emergence of these adults

Period (h)	Ov	Jc	Cs	Ec	Ha	Hc
1	39.0 ± 7.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
2	86.2 ± 11.5	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
3	131.1 ± 9.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
4	182.5 ± 12.6a	1.9 ± 1.3b	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
5	257.0 ± 14.6a	6.9 ± 4.6b	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
6	352.5 ± 21.0a	12.2 ± 8.1b	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
7	428.3 ± 26.6a	33.2 ± 14.4b	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
24	1016.0 ± 29.4a	167.7 ± 32.4b	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Means followed by the same lower-case letter, per line, do not differ by the Tukey test ($p \leq 0.05$).

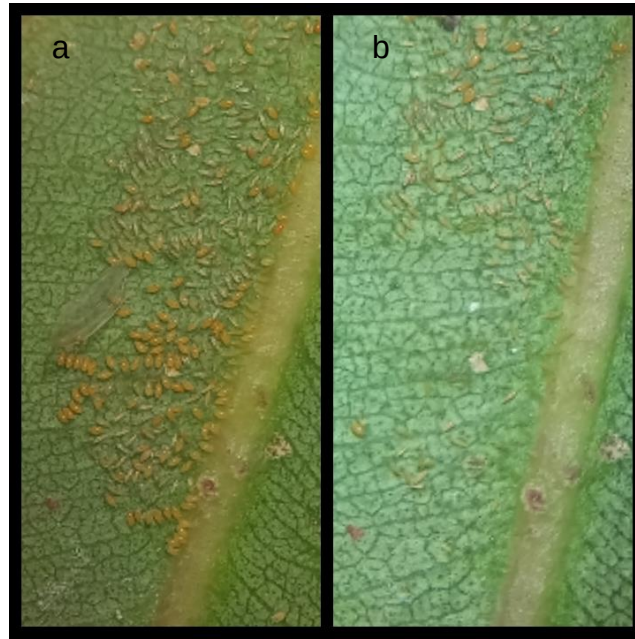


Figure 2. *Eucalyptus* leaf before (a) and after (b) predation of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) eggs by *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae).

6.4 DISCUSSION

The reproductive system of newly emerged adults of Coccinellidae is not fully mature (Osawa, 2005). This increases the importance of feeding for the ovarian development of these natural enemies, which do not oviposit without prey of suitable quality (Hatt & Osawa, 2021).

The predation of *G. brimblecombei* eggs by *J. conjugata* and *O. v-nigrum* confirms reports of these natural enemies in infestations of native psyllids on *Caesalpinia peltophoroides* plants in Brazil (Machado, 1982) and eggs of these pests may be part of their diet in the field. Furthermore, *O. v-nigrum* has been reported in several South American regions, including some in Brazil (Silva et al., 2013), and even North American (Maffei et al., 2004). This is important and demonstrates the presence of these insects naturally in different regions, making it possible to breed and release them in forest areas, as a biological control strategy, within Integrated Pest Management.

The lack of predation by *C. sanguinea*, *E. conexa*, *H. axyridis*, and *H. convergens* on *G. brimblecombei* eggs is related to these natural enemies preferring

other prey, such as mites and aphids (Sarmiento et al., 2007; Milléo et al., 2019; Rodríguez-Palomera et al., 2019). Their presence in *G. brimblecombei* infestations may be associated with other stages of this insect or other pests in the same area (Evans & England, 1996).

The reduced predation of *G. brimblecombei* eggs by *J. conjugata*, starting after four hours of evaluation, may be related to this food source not being ideal for the ovarian development of this natural enemy (Lima et al., 2020), and this resource may be secondary to maintaining the survival of this predator until finding suitable prey (Mercer et al., 2020).

The higher predation of *G. brimblecombei* eggs by adults of *O. v-nigrum* explains the frequent presence of this natural enemy in infestations of this pest (Sanchez-Martinez et al., 2005; Oliveira et al., 2010; Rodas-Ávalos et al., 2021), and this resource may be primary for the development of this predator (Lundgren, 2009). Therefore, this natural enemy is important to reduce *G. brimblecombei* populations (Hoy, 2019).

6.5 CONCLUSION

The results obtained are pioneering in the use of Coccinellidae for eucalyptus pest management. The development, oviposition, and viability of these natural enemies vary with the quality of prey, making them potential secondary sources for the maintenance of some Coccinellidae species. The high predation of *G. brimblecombei* eggs by *O. v-nigrum* indicates that this natural enemy is a promising alternative to complement the integrated management of this pest.

REFERENCES

- AGROFIT (2023) Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura. Available at https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons (accessed 29 July 2023).
- Barbosa FR, Ferreira RG, Kiill LHP, Souza EAD, Moreira WA, Alencar JAD & Haji FNP (2003) Nível de dano, plantas invasoras hospedeiras, inimigos naturais e controle do psíldeo da goiabeira (*Triozeida* sp.) no submédio São Francisco. *Revista Brasileira de Fruticultura* 25: 425-428 DOI:10.1590/S0100-29452003000300016
- Barbosa LR, Domingues MM, Wilcken CF & Zanuncio JC (2023) *Eucalyptus* pests. In: Asiegbu, FO & Kovalchuk A (eds) *Forest Microbiology*, Academic Press, pp. 227-249 DOI:10.1016/B978-0-443-18694-3.00020-1
- Celli NDGR, Almeida LM, Basílio DS & Castro CF (2021) The way to maturity: taxonomic study on immatures of Southern Brazilian Coccinellini (Coleoptera: Coccinellidae) species important in biological control. *Zoologia* 38: e64154 DOI:10.3897/zoologia.38.e64154
- Del Piero FHMO, Wilcken CF, Domingues MM, Favoreto AL, Rodella RA, Pereira AIA, Silva WM, Serrão JE & Zanuncio, JC (2022) Anatomical indicators of *Eucalyptus* spp. resistance to *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae). *PeerJ* 10: e13346 DOI:10.7717/peerj.13346
- Dias TKR, Wilcken CF, Soliman EP, Gil-Santana HR & Zaché B (2012) Occurrence of *Atopozelus opsimus* preying on nymphs and adults of *Glycaspis brimblecombei*. *Phytoparasitica* 40: 137-141 DOI:10.1007/s12600-011-0213-1
- Domingues MM, Santos PL, Gêa BCC, Carvalho VR, Oliveira FN, Soliman, EP, Serrão JE, Zanuncio JC, Zanetti R & Wilcken CF (2022) Entomopathogenic fungi, isolated from soils and *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) adults, to manage the eucalyptus red gum lerp psyllid *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae). *Journal of Economic Entomology* 115: 1886-1893 DOI:10.1093/jee/toac165
- Duarte, ML & Ribeiro, A (2023) Influence of El Niño and La Niña on the productivity of *Eucalyptus* plantations in different regions in Brazil. *Ciência Florestal* 33: e61334 DOI:10.5902/1980509861334
- Evans EW & England S (1996) Indirect interactions in biological control of insects: pests and natural enemies in alfalfa. *Ecological Applications* 6: 920-930 DOI:10.2307/2269495
- Favoreto AL, Domingues MM, Serrão JE, Ribeiro MF, Silva CAD, Zanuncio JC & Wilcken CF (2021) Courtship, mating behavior, and ovary histology of the nymph parasitoid *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Journal of Insect Science* 21: 16 DOI:10.1093/jisesa/ieab020
- Ferreira FDAS & Almeida LMD (2000) Morfologia dos estágios imaturos de *Eupalea reinhardti* Crotch (Coleoptera, Coccinellidae) e alguns dados biológicos. *Revista Brasileira de Zoologia* 17: 315-322 DOI:10.1590/S0101-81752000000200002

- Hatt S & Osawa N (2021) High variability in pre-oviposition time independent of diet available at eclosion: A key reproductive trait in the ladybird beetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) in its native range. *Insects* 12: 382 DOI:10.3390/insects12050382
- Hoy C (2019) Advances in understanding agroecosystems ecology and its applications in integrated pest management. In: Kogan M & Higley L (eds) *Integrated management of insect pests*, pp. 131-160 DOI:10.19103/AS.2019.0047.05
- Li H, Li B, Lövei GL, Kring TJ & Obrycki JJ (2021) Interactions among native and non-native predatory Coccinellidae influence biological control and biodiversity. *Annals of the Entomological Society of America* 114: 119-136 DOI:10.1093/aesa/saaa047
- Lima MS, Pontes WJT & Nóbrega RL (2020) Pollen did not provide suitable nutrients for ovary development in a ladybird *Brumoides foudrasii* (Coleoptera: Coccinellidae). *Diversitas Journal* 5: 1486-1494 DOI:10.17648/diversitas-journal-v5i3-877
- Lundgren JG (2009) Nutritional aspects of non-prey foods in the life histories of predaceous Coccinellidae. *Biological Control* 51: 294-305 DOI:10.1016/j.biocontrol.2009.05.016
- Machado VLR (1982) Morfologia e aspectos biológicos de *Cycloneda conjugata*, Mulsant, 1866 e *Olla v-nigrum* (Mulsant, 1866) (Col., Coccinellidae) predadores de *Psylla* sp. (Homoptera, Psyllidae) em sibipiruna (*Caesalpinia pelthophoroides* Benth.). Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo.
- Mafei EM, Pompolo SG, Campos LAO & Petitpierre E (2004) Sequential FISH Analysis with rDNA Genes and Ag-NOR Banding in the Lady Beetle *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae). *Hereditas* 135: 13-18 DOI:10.1111/j.1601-5223.2001.00013.x
- Mercer NH, Teets NM, Bessin RT & Obrycki JJ (2020) Supplemental foods affect energetic reserves, survival, and spring reproduction in overwintering adult *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae). *Environmental Entomology* 49: 1-9 DOI:10.1093/ee/nvz137
- Michaud JP (2001) Numerical response of *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) to infestations of Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae) in Florida. *Florida Entomologist* 84: 608-612 DOI:10.2307/3496392
- Milléo J, Moral RA, Fernandes FS & Godoy WAC (2019) Resposta funcional comparada entre *Harmonia axyridis* (Pallas), *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) e *Hippodamia convergens* Guérin Meneville (Coleoptera: Coccinellidae) alimentadas com *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus) (Hemiptera: Aphididae). *EntomoBrasilis* 12: 70-76 DOI:10.12741/ebrasilis.v12i2.796
- Minitab (2010) Minitab 17 Statistical Computer Software. Minitab Inc., State College, PA.

- Oliveira LS, Costa EC, Grellmann M, Cantarelli EB & Perrando ER (2010) Occurrence of *Glycaspis brimblecombei* (Moore, 1964) (Hemiptera: Psyllidae) in *Eucalyptus* spp. in Rio Grande do Sul, Brazil. *Ciência Florestal* 16: 324-341 DOI: 10.5902/198050981914
- Osawa N (2005) The effect of prey availability on ovarian development and oosorption in the ladybird beetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology* 102: 503 DOI:10.14411/eje.2005.072
- Rodas-Ávalos M, Betancur CA, Guevara G, Bacca T & Gaviria-Rivera A (2021) Life cycle and natural enemies of *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae) in a *Eucalyptus camaldulensis* Dehnhardt forest plantation (Jericó, Colombia). *Boletín Científico Museo de Historia Natural Universidad de Caldas* 25: 40-52 DOI:10.17151/bccm.2021.25.1.3
- Rodríguez-Palomera M, Luna-Esquivel G, Robles-Bermúdez A, Coronado-Blanco JM, Cambero-Nava KG & Cambero-Campos OJ (2019) Aspectos biológicos y parámetros poblacionales de *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinellidae) sobre *Aphis aurantii* boyer de fonscolombe (Hemiptera: Aphididae). *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences* 35: 196-204 DOI:10.4067/S0719-38902019005000305
- Sanchez-Martinez G, Iniguez-Herrera G, Gonzalez-Gaona E, Equihua-Martinez A & Villa-Castillo J (2005) Biological control of the redgum lerp psyllid in Mexico. *Proceedings of the Second International Symposium on Biological Control of Arthropods* 9: 27-28.
- Silva RB, Cruz I, Figueiredo MLC, Tavares WS, Serrão JE & Zanuncio JC (2013) Development and reproduction of *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) fed *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) eggs supplemented with an artificial diet. *Florida Entomologist* 96: 850-858 DOI:10.1653/024.096.0319
- Vandenberg NJ (2002) Coccinellidae Latreille 1807. In: Arnett Jr, RH, Thomas MC, Skelley PE & Frank JH (Eds.). *American Beetles: Vol. II: Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea*. Boca Raton: CRC Press DOI:10.1201/9781420041231

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A rápida disseminação e danos causados pelo psíldeo de concha *Glycaspis brimblecombei* em plantios de eucalipto são desafios para o manejo dessa praga. Nesse contexto, o controle biológico, especialmente com inimigos naturais como o parasitoide *Psyllaephagus bliteus*, é uma solução sustentável. Essa estratégia reduz o uso de agroquímicos e preserva o equilíbrio ambiental, destacando a importância de políticas públicas no manejo integrado de pragas.

Desafios relacionados à biologia do inseto e hiperparasitoides dificultam a criação massal de *P. bliteus*, tornando necessário melhorar os processos de criação e desenvolver métodos mais eficazes para a liberação desses inimigos naturais em campo. Além disso, interações entre espécies exóticas, como *P. brachiatus*, *G. brimblecombei* e *P. bliteus*, podem causar riscos ecológicos alterando o manejo da praga e exigindo novas pesquisas.

Pesquisas para aprimorar a criação massal de parasitoides e o entendimento da biologia e comportamento de *P. bliteus* e *P. brachiatus* são essenciais. Além disso, explorar novas alternativas de controle biológico, como o uso de *Olla v-nigrum*, com alto potencial na predação de ovos de *G. brimblecombei*, pode complementar o manejo dessa praga.

Parcerias entre universidades, centros de pesquisa e o setor produtivo permitem impulsionar avanços tecnológicos e inovações para tornar o controle biológico mais eficaz e acessível.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Ministério da Agricultura. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>, Acesso em: 28 set. 2024.
- BARBOSA, L. R. *et al.* *Eucalyptus* pests. In: **Forest Microbiology**. Academic Press, 2023. p. 227-249.
- BRISOLA, S. H.; DEMARCO, D. Análise anatômica do caule de *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* e *E. grandis* x *urophylla*: desenvolvimento da madeira e sua importância para a indústria. **Scientia Forestalis**, v. 39, n. 91, p. 317-330, 2011.
- CUELLO, E. M. *et al.* Phenology, parasitism and density dependence of *Psyllaephagus bliteus* on *Eucalyptus camaldulensis*. **Phytoparasitica**, v. 49, p. 561-568, 2021.
- DAANE, K. M. *et al.* The biology of *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the red gum lerp psyllid (Hemiptera: Psylloidea). **Biological Control**, v. 32, n. 2, p. 228-235, 2005.
- DIAS, T. K. *et al.* Occurrence of *Atopozelus opsimus* preying on nymphs and adults of *Glycaspis brimblecombei*. **Phytoparasitica**, v. 10, p. 137-141, 2012.
- DEL-PIERO, F. H. M. O. *et al.* Anatomical indicators of *Eucalyptus* spp. resistance to *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae). **PeerJ**, v. 10, e13346, 2022.
- DOMINGUES, M. M. *et al.* Entomopathogenic fungi, isolated from soils and *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) adults, to manage the eucalyptus red gum lerp psyllid *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 6, p. 1886-1893, 2022.
- DREISTADT, S. H.; GARRISON, R. W.; GILL, R. J. *Eucalyptus* red gum lerp psyllid integrated pest management for home gardeners and professional landscapers, 1999. Disponível em: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/selectnew_pest.home.html>. Acesso em: 25 set. 2024.
- FAVORETO, A. L. *et al.* Courtship, mating behavior, and ovary histology of the nymph parasitoid *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae). **Journal of Insect Science**, v. 21, n. 2, 16, 2021.
- FERREIRA-FILHO, P. J. *et al.* Biological control of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) in eucalyptus plantations. **Phytoparasitica**, v. 43, p. 151-157, 2015.
- FIRMINO-WINCKLER, D. C. *et al.* Biologia do psíldeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera, Psyllidae) em *Eucalyptus* spp. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p. 144-146, 2009.

GILL, R. J. New state records: Redgum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei*, **California Plant Pest and Disease Report**, v. 17, p. 7-8, 1998.

HALL, A. A. *et al.* Unravelling mummies: cryptic diversity, host specificity, trophic and coevolutionary interactions in psyllid–parasitoid food webs. **BMC Evolutionary Biology**, v. 17, n. 1, p. 1-15, 2017.

INDUSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES (IBÁ). **Relatório Anual 2024**. Disponível em: < <https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio2024.pdf> > Acesso em: 27 out. 2024.

JUNK, J. *et al.* Re-Visiting the incidence of environmental factors on a pre-imaginal population of the red gum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei* Moore. **Insects**, v. 11, n. 12, p. 860, 2020.

MANNU, R. *et al.* Preliminary results on the spatio-temporal variability of *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera: Psyllidae) populations from a three-year monitoring program in Sardinia (Italy). **Redia**, v. 101, n. 1, p. 107-114, 2018.

MOORE, K. M. Four new species of *Glycaspis* (Homoptera: Psyllidae) from Queensland. **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales**, v. 89, n. 1, p. 163-166, 1964.

PLASCENCIA-GONZÁLEZ, A. *et al.* Biología del parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae). **Revista Chapingo**. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, v. 11, n. 1, p. 11-17, 2005.

RIEK, E. F. The Australian species of *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasites of Psyllids (Homoptera). **Australian Journal of Zoology**, v. 10, n. 4, p. 684-757, 1962.

SANTOS, F. A. *et al.* Genetic diversity of *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera: Aphalaridae) and its parasitoid *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, p. 838-841, 2020.

WILCKEN, C. F. *et al.* Psilídeo-de-concha-do-eucalipto *Glycaspis brimblecombei* Moore. In: **Pragas introduzidas no Brasil insetos e ácaros**, Piracicaba. Fealq, pp. 883-897, 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Pj-Filho/publication/280807903_Red_Gum_Lerp_Psyllid_Glycaspis_brimblecombei_Moore/links/55d3a15908ae7fb244f58d41/Red-Gum-Lerp-Psyllid-Glycaspis-brimblecombei-Moore.pdf>. Acesso em: 28 set. 2024.