

BARBARA DE OLIVEIRA PURETZ

**ASPECTOS BIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Selitrichodes neseri*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) KELLY & LA SALLE E ESTABELECIMENTO
DO PARASITOIDE EM PLANTIOS FLORESTAIS DE EUCALIPTO NO BRASIL**

BOTUCATU

2017

BARBARA DE OLIVEIRA PURETZ

**ASPECTOS BIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Selitrichodes nesi*
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) KELLY & LA SALLE E ESTABELECIMENTO
DO PARASITOIDE EM PLANTIOS FLORESTAIS DE EUCALIPTO NO BRASIL**

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

Orientador: Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken

BOTUCATU

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO -
DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

P985a Puretz, Barbara de Oliveira, 1991-
Aspectos biológicos e reprodutivos de *Selitrichodes neneri* (Hymenoptera: Eulophidae) Kelly & La Salle e estabelecimento do parasitoide em plantios florestais de eucalipto no Brasil / Barbara de Oliveira Puretz.- Botucatu : [s.n.], 2017
77 p.: il., color. , grafs., tabs.

Dissertação(Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2017
Orientador: Carlos Frederico Wilcken
Inclui bibliografia

1. Pragas - Controle biológico. 2. Hymenoptera. 3. Parasitoide. I. Wilcken, Carlos Frederico. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



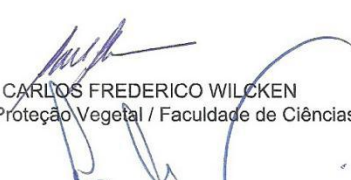
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

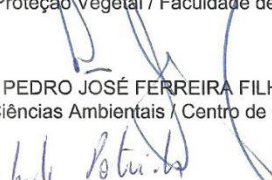
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ASPECTOS BIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Selitrichodes nesi* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) KELLY & LA SALLE E ESTABELECIMENTO DO PARASITOIDE EM PLANTIOS FLORESTAIS DE EUCALIPTO NO BRASIL

AUTORA: BARBARA DE OLIVEIRA PURETZ

ORIENTADOR: CARLOS FREDERICO WILCKEN

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


Prof. Dr. CARLOS FREDERICO WILCKEN
Dep de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas


Prof. Dr. PEDRO JOSÉ FERREIRA FILHO
Depto. Ciências Ambientais / Centro de Ciências e Tecnologia para Sustentabilidade - UFSCar


Prof. Dr. MICHELE POTRICH
Coordenação de Ciências Biológicas / Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Botucatu, 07 de julho de 2017

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por sempre me acompanhar em todos os caminhos e me dar oportunidades maravilhosas, e também aos meus pais, Adriana e Luiz pelo amor, compreensão e incentivo.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agronômicas, e ao programa de Ciência Florestal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken, pela orientação, apoio e conhecimentos compartilhados.

Aos professores Dra. Michele Potrich e Dr. Pedro José Ferreira Filho, componentes da banca examinadora de defesa, pelas contribuições e sugestões para melhoria do trabalho.

Ao Programa Cooperativo de Proteção Florestal (PROTEF) do Instituto de Estudos e Pesquisas Florestais (IPEF), principalmente ao Luís Renato Junqueira.

Ao Departamento de Proteção Vegetal, e todos os funcionários.

Ao Prof. Dr. José Raimundo de Souza pela ajuda nas análises estatísticas.

Ao Prof. José Eduardo Serrão e José Lino Neto pelo apoio nos trabalhos que foram realizados na UFV.

Ao colegas Vitor e Thiago pelo auxílio na formulação dos mapas.

Ao Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais (LCBPF), à Lorena e Fernanda, pela ajuda e amizade. À Luciane, Murici, Dan, Natalia, Maurício, Carolina, Gabriella, Carollyne, Heitor, Thamires, Thaís, Murilo, pelo convívio no laboratório e ajuda nas atividades. À Amanda, Vanessa e Carolina, pela amizade e ajuda nos experimentos.

À Amanda, Mírian, Carla, Mírian, Sílvia Letícia pela amizade e momentos de descontração na República “Vem KBB”.

À Amanda, pela grande amizade que contruímos durante esses anos em Botucatu e pela parceria no LCBPF.

À Andréia e Ana Tereza, amigas que conheci em Botucatu.

Ao meu namorado, Thomas, pelo amor e paciência.

Aos meus irmãos Gabriel e Ana Luiza. Amo vocês.

Às minhas avós Eni e Izidora pelos ensinamentos e educação dados à mim.

RESUMO

Árvores do gênero *Eucalyptus* apresentam alto potencial econômico no setor florestal brasileiro, estão adaptadas às condições edafoclimáticas no Brasil proporcionando crescimento rápido, madeira de qualidade e usos múltiplos. No entanto, esta produção é comprometida por alguns fatores, destacando-se os insetos-praga. Uma das principais pragas exóticas do eucalipto no Brasil é *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae). A fêmea realiza sua oviposição nas nervuras centrais das folhas, pecíolos e ramos, formando galhas, causando redução no crescimento, desfolha e morte da planta. Uma das principais medidas de controle deste inseto é o controle biológico, com o parasitoide exótico *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae). Neste trabalho foram avaliados a longevidade de adultos de *S. neseri* em diferentes concentrações de mel e diferentes temperaturas em laboratório, bem como foi realizado a descrição de ovários e sistema reprodutor masculino, e a recuperação de *S. neseri* em campo. Estes estudos básicos são importantes para analisar o potencial de *S. neseri* para controle de *L. invasa* em laboratório e em campo. Para a avaliação da longevidade de *S. neseri*, fêmeas e machos foram individualizados em tubos de vidro, esses insetos foram coletados recém emergidos, sexados, identificados e colocados nos tubos. Nesse experimento foram oferecidas as seguintes concentrações de mel: mel puro (100%), soluções de mel a 50% e 10% e testemunha (sem alimento). As temperaturas testadas foram 18°C, 22°C, 25°C, 30°C e 34°C. Todos os tratamentos foram conduzidos em câmaras climatizadas com UR de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 h, e avaliados do primeiro dia de emergência até a morte de cada parasitoide. Foi utilizado o teste de Tukey-Kramer ajustado por Sidak. Para descrição dos ovários e sistema reprodutor masculino foram analisadas três amostras, fêmeas acasaladas e virgens de *S. neseri* e machos de *S. neseri*, essas amostras foram emblocadas em historesina e submetidas a cortes histológicos de 2 μm . Esses cortes foram observados em microscópio de luz e fotografados. Para avaliação da recuperação de *S. neseri* em campo, os insetos foram liberados em oito estados brasileiros, em empresas florestais, em plantios de eucalipto infestados por *L. invasa*. Após, aproximadamente, 40 dias as empresas florestais enviaram ramos dos locais de liberação dos parasitoides para avaliação em laboratório, onde foi realizada a identificação e

contagem dos insetos que emergiram dos ramos. Na longevidade de adultos de *S. neseri* a maior sobrevivência foi na temperatura de 22 °C, sendo a temperatura de 34 °C limitante para a longevidade desse inseto. *Selitrichodes neseri* necessita de uma fonte de carboidrato para aumento na sua longevidade. *S. neseri* é uma espécie sinovigênica e possui um ovário meroístico politrófico e os testículos dos machos se degeneram na fase adulta. *S. neseri* foi recuperado em três desses estados brasileiros. Os estudos de longevidade de *S. neseri* em diferentes condições são importantes para a liberação e estabelecimento desse parasitoide em campo.

Palavras-chave: *Leptocybe invasa*, longevidade, controle biológico clássico, sistema reprodutor, *Eucalyptus*.

ABSTRACT

Trees of the genus *Eucalyptus* are economically important to the Brazilian forestry, they have a good adaptation to the edaphoclimatic conditions in Brazil, providing fast growth, quality wood and multiple uses. However, this production is compromised by some factors, especially insect pests. One of the main exotic pest of eucalyptus in Brazil is *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae). The female postures the eggs in the central ridge of the leaves, petioles and branches forming galls, causing growth reduction, defoliation and even plant death. One of the main control measures of this pest is the biological control, with the exotic parasitoid *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae). In this work the longevity of *S. neseri* adults in different concentrations of honey and different temperatures in the laboratory, description of ovaries and male reproductive system, and the recovery of *S. neseri* in the field were evaluated. These basic studies are important to analyze the potential of *S. neseri* for control of *L. invasa* in the laboratory and in the field. For the evaluation of the longevity of *S. neseri*, females and males were individualized in glass tubes, these insects were collected freshly emerged, sexed and identified to this experiment the following concentrations were used: pure honey (100%), 50% honey and 10% honey and control (without food). The temperatures tested were 18, 22, 25, 30 and 34 °C. All treatments were carried out in conditioned chambers with RH 60 ± 10% and of photoperiod 12 h, and evaluated from the first day of emergence until the death of each parasitoid. The Tukey-Kramer test adjusted by Sidak was used. For the description of the ovaries and the male reproductive system, three samples were analyzed, females of *S. neseri* mates, females of *S. neseri* virgins and males of *S. neseri*, these samples were placed in historesin and submitted to 2 µm histological cuts, these cuts were observed in light microscope. To evaluate the recovery of *S. neseri* in the field, the insects were released in eight Brazilian states, in eucalyptus plantations infested with *L. invasa*. After approximately forty days the branches samples were sent of the parasitoid release sites for evaluation in the laboratory, where the insects that emerged from the branches were identified and counted. The longevity of *S. neseri* populations was better was at 22 ° C, the temperature of 34 ° C was limiting for the longevity of this insect. *Selitrichodes neseri* needs a source of carbohydrate to a increase its longevity. *S. neseri* is a sinovigenic species and has a

meroistic polytrophic ovary and the testicle of males degenerate into adul life. *S. nesei* were their field establishment in three of these states. The longevity studies of *S. nesei* in different conditions are important for the release and establishment of this parasitoid in the field.

Keywords: *Leptocybe invasa*, longevity, classical biological control, reproductive system, *Eucalyptus*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	15
CAPÍTULO I - Longevidade de fêmeas e machos de <i>Selitrichodes neseri</i> Kelly & La Salle, 2012 (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes concentrações de mel e temperatura.....	17
Resumo.....	18
Abstract.....	19
Introdução.....	20
Material e Métodos.....	22
Resultados.....	25
Discussão.....	34
Agradecimentos.....	36
Referências.....	37
CAPÍTULO II - Morfologia dos sistemas reprodutores masculino e feminino do parasitoide <i>Selitrichodes neseri</i> Kelly & La Salle (2012) (Hymenoptera: Eulophidae).....	41
Resumo.....	42
Abstract.....	43
Introdução.....	44
Material e Métodos.....	46
Resultados e Discussão.....	47
Conclusões.....	56
Agradecimentos.....	56
Referências.....	56
CAPÍTULO III - Liberação e recuperação de <i>Selitrichodes neseri</i> Kelly & La Salle 2012 (Hymenoptera: Eulophidae) no Brasil.....	59

Resumo.....	60
Abstract.....	61
Introdução.....	62
Material e Métodos.....	63
Resultados e Discussão.....	66
Conclusões.....	71
Agradecimentos.....	71
Referências.....	72
2. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
3. REFERÊNCIAS.....	76

1. INTRODUÇÃO GERAL

A madeira de *Eucalyptus* vem sendo utilizada para diversos fins, como a produção de celulose, papel, energia, estacas, mourões, dormentes, carvão vegetal, painéis de madeira reconstituída e compensados, entre outros (PEREIRA et al., 2000; IBÁ, 2016).

No Brasil, as condições edafoclimáticas são favoráveis para o desenvolvimento do eucalipto, proporcionando crescimento rápido (IBÁ, 2016). O crescimento das plantas deste gênero é mais rápido em relação às espécies nativas, tem boa qualidade de madeira e potencial de usos múltiplos, apresenta características silviculturais desejáveis, tais como forma, incremento, desrama natural, vantagem de multiplicação e de se contornar problemas de heterogeneidade nos plantios florestais (VILAS BÔAS et al., 2009; ROSADO et al., 2012).

Em 2015, os plantios de *Eucalyptus* no Brasil totalizaram 5,6 milhões de ha. Foi observado crescimento dos plantios de *Eucalyptus* em 2015 comparado com os anos anteriores. O principal fator desse crescimento foi o estabelecimento de novos plantios devido à demanda dos projetos industriais de papel e celulose (IBÁ, 2016).

Dessa forma, qualquer fator que ocasione redução na quantidade e qualidade de madeira resultará em impacto na economia florestal, ressaltando que um dos principais fatores é a ocorrência de insetos-praga (SOLIMAN, 2010). Entre os insetos-praga, os considerados pragas exóticas merecem especial atenção, pois são de difícil controle. Estes insetos, por não serem nativos do Brasil, não apresentam seus inimigos naturais específicos no ambiente, como ocorre para os insetos nativos deste país. Assim, não tendo inimigos naturais, elas dominam o meio em que estão e prejudicam parte dos povoamentos florestais (PIMENTEL et al., 2001; QUEIROZ, 2009).

As pragas exóticas do eucalipto mais recentes que foram relatadas no Brasil foram: psílideo-de-concha, *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae) (WILCKEN et al., 2003), *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) conhecido como percevejo bronzeado (NOACK et al., 2011), Gorgulho-do-eucalipto, *Gonipterus platensis* Marelli (Coleoptera: Curculionidae) (SARMENTO, 2015), a broca-do-eucalipto, *Phoracantha semipunctata* Fabricius, e *P. recurva* Newman (Coleoptera: Cerambycidae) (BIEZANKO; BOSQ, 1956; RIBEIRO, 2001).

Neste contexto, outra praga exótica recentemente relatada é *Leptocybe invasa* Fisher & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae), conhecida popularmente como vespa-da-galha. Este inseto é originário da Austrália (MENDEL et al., 2004), e encontra-se distribuído na Ásia, África, América, Oceania e Europa (WILCKEN e BERTI FILHO, 2008; WILCKEN et al., 2015). O primeiro registro de *L. invasa* no Brasil foi no estado da Bahia em 2007. Esse inseto ataca várias espécies de *Eucalyptus* ssp. e em *Corymbia citriodora* formando galhas nas nervuras centrais das folhas, nos pecíolos e ramos finos. Essas galhas causam deformação das folhas, além de desfolha e seca dos ponteiros. Esses danos podem causar redução de crescimento de mudas e árvores (WILCKEN e BERTI FILHO, 2008).

Como forma de amenizar esses danos vem-se estudando medidas de controle da praga, e uma das alternativas é a utilização de parasitoides do gênero *Selitrichodes* Kelly & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) para manejo de *L. invasa* (WILCKEN et al., 2012). O parasitoide *S. neseri* é originário da Austrália e foi importado pelo Brasil em 2015. O objetivo deste trabalho foi avaliar a longevidade de adultos de *S. neseri* em laboratório, descrever os ovários e o sistema reprodutor masculino, e a liberação e recuperação desse parasitoide em campo.

CAPÍTULO I – Longevidade de fêmeas e machos de *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle, 2012 (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes concentrações de mel e temperatura

Revista: Florida Entomologist

Longevidade de *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle, 2012 (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes concentrações de mel e temperatura

Barbara de Oliveira Puretz; Amanda Rodrigues de Souza; Carolina Jorge Gonzales; Vanessa Rafaela Carvalho; Raimundo dos Passos; Carlos Frederico Wilcken

Resumo

Leptocybe invasa Fisher & La Salle (Hym.: Eulophidae), conhecida popularmente como vespa-da-galha, é uma praga exótica do eucalipto e vêm ocasionando danos em plantios de eucalipto. Uma das medidas de manejo mais promissoras dessa praga é o controle biológico com o parasitoide *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle (Hym.: Eulophidae). O objetivo desse trabalho foi avaliar a longevidade de fêmeas e machos de *S. neseri* em diferentes concentrações de mel e diferentes temperaturas. Fêmeas e machos foram individualizados em tubos de vidro e vedados com filme de PVC. Esses insetos foram coletados recém emergidos, sexados e identificados. Nesse experimento foram oferecidas as seguintes concentrações de mel: mel puro (100%), soluções de mel a 50% e 10% e testemunha (sem alimento). As temperaturas testadas foram 18, 22, 25, 30 e 34°C. Todos os tratamentos foram conduzidos em câmaras climatizadas com UR de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 h, e avaliados do primeiro dia de emergência até a morte de cada parasitoide. A longevidade média de fêmeas e machos de *S. neseri* foi maior em 22°C, com 50% de mel como alimento, e menor em 34°C com todas as concentrações de mel. A longevidade foi menor nos tratamentos que não receberam alimento em todas as temperaturas testadas. O período máximo de sobrevivência das fêmeas foi de 65 dias com mel 10% à 22°C, e machos de 73 dias com mel 100% na mesma temperatura. Há efeito da temperatura na longevidade de *S. neseri*, portanto, a

temperatura de 22°C foi a melhor para a sobrevivência de *S. nesei*, e o parasitoide precisa de fonte de mel para aumentar sua longevidade.

Palavras-chave: parasitoide; alimento; controle biológico; sobrevivência

Abstract

Leptocybe invasa Fisher & La Salle (Hym.: Eulophidae), popularly known as a gall-wasp is an exotic pest of eucalyptus and has been causing considerable damage to forest plantations. One of the most promising management measures of this pest is the biological control with the parasitoid *Selitrichodes nesei* Kelly & La Salle (Hym.: Eulophidae). The objective of this work was to evaluate the longevity of *S. nesei* females and males in different concentrations of honey and different temperatures. Females and males were individualized in glass tubes and sealed with PVC film. These insects were collected recently emerged, sexed and identified. In this experiment the following concentrations of honey were offered: pure honey (100%), solutions with 50% and 10% of honey, and control (without honey). The temperatures tested were 18, 22, 25, 30 and 34 °C. All treatments were conducted in conditioned chambers with RH of 60 ± 10% and photoperiod of 12 h, and evaluated from the first day of emergence until the death of each parasitoid. The mean longevity of *S. nesei* females and males was higher at 22 °C, with 50% honey as food, and lower at 34 °C with all types of food. Longevity was lower in treatments that did not receive food at all temperatures tested. The maximum survival period of the females was 65 days with 10% honey at 22 °C, and the males were 73 days with 100% honey at the same temperature. There is effect of temperature on the longevity of *S. nesei*. Therefore,

the temperature of 22 ° C was the best for the survival of *S. nesei*, and the parasitoid needs a source of honey to increase its longevity.

Keywords: parasitoid; food; biological control; survival

Leptocybe invasa Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) é originária da Austrália e está distribuída em 29 países na Ásia, Europa, África e América (Nugnes et al. 2015; Zheng et al. 2016). No Brasil a praga foi relatada em 2007, em mudas, em viveiro, e árvores adultas de clones híbridos de *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus grandis* no nordeste da Bahia (Costa et al. 2008). Essa praga do eucalipto é conhecida como vespa-da-galha, na qual a fêmea deposita seus ovos no interior das plantas de eucalipto, na nervura central e pecíolos das folhas, caules, principalmente em brotações e gemas apicais, formando galhas e causando deformações nas plantas (Mendel et al. 2004). Quando as galhas estão maduras, as vespas realizam perfurações para a emergência das mesmas (Mendel et al. 2004; Wilcken et al. 2015).

Uma das principais formas de controle dessa praga é o controle biológico com parasitoides. Na China, *Quadrastichus mendeli* Kim & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), *Aprostocetus causalis* La Salle & Wu (Hymenoptera: Eulophidae), e *Megastigmus viggianii* Narendran & Sureshan (Hymenoptera: Torymidae) tem mostrado potencial para o controle de *L. invasa* (Zheng et al. 2016). Em Israel, tem-se utilizado *Q. mendeli* e *Selitrichodes kryceri* Kim & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) para controle dessa praga (Kim et al. 2008).

Em 2015, o Brasil importou *Selitrichodes nesei* Kelly & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) da África do Sul (Souza et al. 2015). Esse parasitoide é

originário da Austrália e específico de *L. invasa*. A fêmea de *S. nesei* mede de 0,87 a 1,08 mm de comprimento e o macho de 0,65 a 0,73 mm de comprimento (Kelly et al. 2012). Ambos possuem o corpo marrom escuro a preto, e o macho possui manchas amarelas na cabeça (Kelly et al. 2012). O ciclo de vida desse parasitoide na África do Sul é, em média, de 19,3 dias, a longevidade dos adultos com uma fonte de alimento, como mel, varia de 23,3 dias a 26,1 dias (Dittrich-Schröder et al. 2014).

O parasitoide *S. nesei* tem sido considerado potencial agente de controle biológico de *L. invasa*, pela elevada longevidade dos adultos e alta especificidade ao hospedeiro (Dittrich-Schröder et al. 2014).

Para os parasitoides em geral, a alimentação e temperatura são fatores essenciais para melhorar sua reprodução, desenvolvimento, sobrevivência e dispersão (Rodrigues et al. 2004; Salmah et al. 2012). Na natureza, o néctar de plantas é o melhor alimento para o desenvolvimento de parasitoides. Em laboratório, são utilizadas dietas, como a solução de mel, que aumentam a longevidade e o potencial reprodutivo de parasitoides (Salmah et al. 2012). A adaptabilidade dos parasitoides às condições climáticas é um dos principais fatores para o sucesso de parasitoides em programas de controle biológico, sendo que, na temperatura ideal, o desenvolvimento do inseto é mais curto (Rodrigues et al. 2004).

Estudar as exigências térmicas facilita compreender a relação entre temperatura e o desenvolvimento do parasitoide, e também a previsão do número de gerações. No campo e em laboratório, a determinação da temperatura ideal para o inseto, fornece dados para a obtenção do número de parasitoides desejados, duração de desenvolvimento, como também a capacidade reprodutiva de fêmeas (Pastori et al. 2012).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a longevidade de adultos de *S. nesei* em diferentes temperaturas e diferentes concentrações de mel, em laboratório.

Material e Métodos

Obtenção dos insetos e preparação das plantas com galhas

Plantas de clones híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. camaldulensis* foram colocadas em vasos de 1,7 L, com solo esterilizado na mistura solo-areia-esterco (1:1:1) e regadas diariamente. Essas plantas foram mantidas em viveiro localizado no Departamento de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas - Universidade Estadual Paulista (FCA/UNESP). A infestação das plantas por *L. invasa* foi de forma natural. Após, aproximadamente, 90 dias as plantas com galhas foram levadas para uma sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h para a criação dos parasitoides. Duas plantas infestadas por *L. invasa* foram colocadas dentro de uma gaiola de madeira (40 x 45 x 80 cm) e regadas a cada dois dias. As galhas dessas plantas foram quantificadas, e em torno de 10 a 15 casais de parasitoides de *S. nesei* foram liberados no interior de cada gaiola. Os parasitoides foram alimentados com solução de mel. Essas gaiolas foram mantidas no laboratório com iluminação artificial, lâmpadas fluorescentes branca (F20W/T10/5000K) e “plant light” (F20W/T12), para simular as condições de luz necessárias para as plantas. O ciclo de vida de *S. nesei* foi completado após 17 dias da liberação dos parasitoides, e se iniciou a coleta diária dos parasitoides emergidos em cada gaiola. Os parasitoides coletados foram contabilizados e utilizados para o estudo.

Longevidade de adultos de Selitrichodes neseri

Para determinar a longevidade de adultos de *S. neseri*, fêmeas e machos foram individualizados em tubos de vidro de fundo chato (1,5 x 10 cm) e vedados com plástico filme PVC. Os parasitoides recém-emergidos foram coletados e sexados. Os tratamentos foram constituídos de diferentes temperaturas e concentrações de mel (Tabela 1).

As diferentes concentrações de mel natural foram aplicados em filete, com pincel de cerda natural no formato achatado (referência 456, nº 0), na parede do tubo de vidro.

Todos os tratamentos foram conduzidos em câmaras climatizadas, tipo B.O.D., com fotoperíodo de 12 h e avaliados do primeiro dia de emergência até a morte de cada indivíduo de *S. neseri*. As diferentes concentrações de mel foram repostas a cada dois dias e a mortalidade de machos e fêmeas de *S. neseri* foram avaliadas diariamente.

Tabela 1. Diferentes tratamentos testados com *Selitrichodes nesei* (Hymenoptera: Eulophidae).

Tratamento	Temperatura (°C)	Concentração de mel (%)	Número de insetos	
			Fêmeas	Machos
1	18	100	10	10
2	18	50	10	10
3	18	10	10	10
4	18	sem alimento	10	10
5	22	100	9	6
6	22	50	7	7
7	22	10	8	9
8	22	sem alimento	10	10
9	25	100	9	10
10	25	50	10	9
11	25	10	10	10
12	25	sem alimento	10	10
13	30	100	9	10
14	30	50	9	10
15	30	10	9	8
16	30	sem alimento	10	10
17	34	100	10	10
18	34	50	10	10
19	34	10	10	10
20	34	sem alimento	10	10

Análises Estatísticas

Para a análise de sobrevivência do tempo de vida dos insetos foi utilizado o estimador produto-limite de Kaplan-Meier (Lee 1992), para estimar as curvas de sobrevivência. O teste Log-Rank ajustado por Sidak (Westfall et al. 1999) foi utilizado para as comparações entre os tempos médios das curvas de sobrevivência segundo sexo, alimento e temperatura.

Na análise da mortalidade dos insetos foi utilizado modelo linear generalizado com a distribuição binomial e função de ligação logito (Nelder & Wedderburn 1972; Diggle et al. 2002), tendo como fatores sexo, alimento e temperatura. A qualidade dos ajustes foi feita através da análise dos resíduos e a análise de desvios (*deviance*). Nas comparações entre tratamentos foi utilizado o teste de Tukey-Kramer (Westfall et al. 1999). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico SAS University Edition (SAS 2016).

Resultados

Machos e fêmeas de *S. nesei* apresentaram longevidade média maior a 22°C + concentração de mel 50%, diferindo apenas do tratamento sem alimento, nessa temperatura (Tabelas 2 e 3) a menor longevidade de ambos sexos foi observada na temperatura de 34°C (Tabelas 2 e 3).

A longevidade de *S. nesei* nas temperaturas de 22 e 25 °C não diferiram entre si pelo teste de Sidak, apesar da média de longevidade de *S. nesei* em 22 °C ser maior em todos os tratamentos quando comparado as de 25 °C (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Longevidade média ($\pm$ e.p.) (dias) de fêmeas de *S. nesei* alimentadas com diferentes concentrações de mel (100, 50, 10%) e sem alimento e submetidas a diferentes temperaturas (18, 22, 25, 30, 34 °C) (UR = 60 $\pm$ 10% e fotofase = 12 h).

Temperatura (°C)	Concentrações de mel											
	100%			50%			10%			Sem alimento		
18	8,0 (1,97)	bc	AB	12,9 (3,73)	bc	A	6,4 (1,03)	bc	AB	2,1 (0,35)	ab	B
22	47,2 (5,80)	a	A	49,5 (7,92)	a	A	42,2 (7,69)	a	A	3,0 (0,26)	a	B
25	21,3 (2,86)	ab	AB	27,1 (3,65)	ab	A	11,5 (1,27)	ab	BC	2,3 (0,40)	ab	C
30	16,1 (2,46)	bc	A	14,7 (2,65)	abc	AB	13,5 (2,43)	ab	AB	1,9 (0,10)	ab	C
34	2,2 (0,30)	c	AB	2,1 (0,18)	c	AB	2,8 (0,55)	c	A	1,2 (0,13)	b	B

Tempos médios, seguidas de mesma letra minúscula na coluna e alimento seguido de mesma letra maiúscula na linha), não diferem estatisticamente entre si pelo teste Log-Rank ajustado por Sidak ($p < 0,05$).

Tabela 3. Longevidade média ($\pm$ e.p.) (dias) de machos de *S. nesei* alimentadas com diferentes concentrações de mel (100, 50, 10%) e sem alimento e submetidas a diferentes temperaturas (18, 22, 25, 30, 34 °C) (UR = $60 \pm 10\%$ e fotofase = 12 h).

Temperatura (°C)	Concentrações de mel											
	100%			50%			10%			Sem alimento		
18	18,8 (2,00)	ab	A	16,3 (3,58)	b	AB	7,9 (1,35)	bc	ABC	2,1 (0,28)	a	C
22	30,4 (6,79)	a	AB	47,4 (8,83)	a	A	44,5 (7,02)	a	AB	2,3 (0,30)	a	B
25	25,3 (2,34)	a	A	21,9 (3,06)	ab	A	5,8 (2,26)	bc	B	2,0 (0,15)	a	B
30	18,5 (1,98)	ab	A	18,2 (2,03)	b	A	21,3 (2,17)	ab	A	1,9 (0,18)	a	B
34	2,7 (0,30)	b	A	2,9 (0,38)	b	A	2,7 (0,30)	c	A	1,0 (0,00)*	b	B

Tempos médios, seguidas de mesma letra minúscula na coluna e alimento seguido de mesma letra maiúscula na linha), não diferem estatisticamente entre si pelo teste Log-Rank ajustado por Sidak ($p < 0,05$).

*todos os indivíduos morreram no tempo= 1 dia.

Observou-se que a longevidade de *S. nesei* nas diferentes concentrações de mel não diferiram entre si, no entanto, as longevidades nos tratamentos sem alimento mostraram redução (Tabelas 2 e 3). A longevidade média dos machos a 18 °C não diferiu estatisticamente da longevidade dos machos submetidos as temperaturas 25 e 30 °C.

Na longevidade média comparando ambos os sexos de *S. nesei*, nas diferentes concentrações de mel e temperaturas (Figura 1), a longevidade dos machos foi significativamente maior do que das fêmeas na concentração de mel 100% (com médias de 8,0 e 18,8 dias, respectivamente) à 18°C, semelhante ao observado com mel 10% (com médias de 13,5 e 21,3 respectivamente) na temperatura de 30°C (Figura 1).

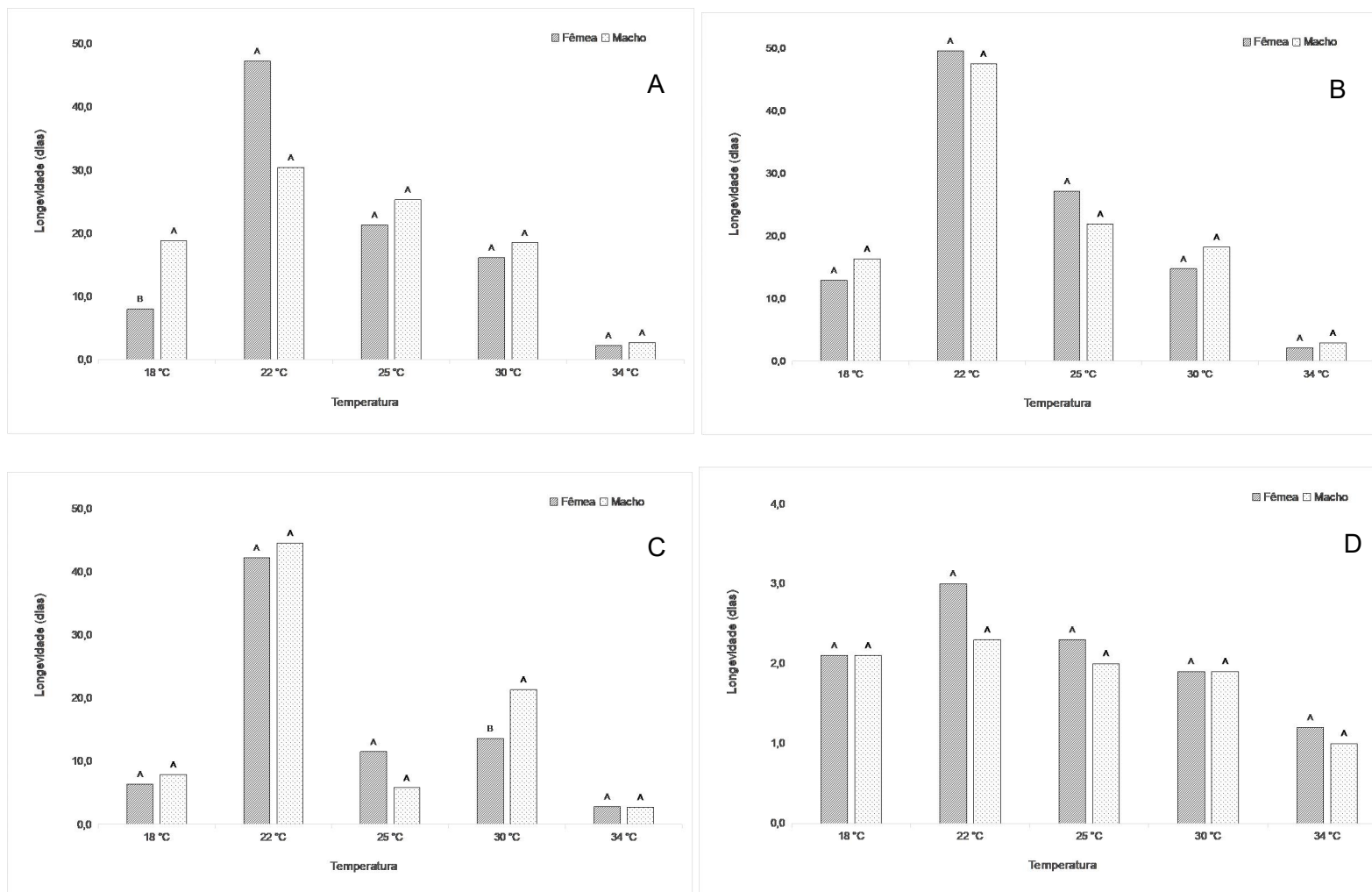


Fig. 1. Comparação da longevidade média ($\pm$ e.p.) (dias) de fêmeas e machos de *S. nesi* segundo diferentes concentrações de mel (100, 50, 10%) e sem alimento submetidas a diferentes temperaturas (18, 22, 25, 30, 34 °C) (UR = $60 \pm 10\%$ e fotofase = 12 h). A – 100% mel; B – 50% mel; C- 10% mel; D – sem alimento.

A longevidade de fêmeas de *S. nesei* foi maior quando submetidas a temperatura de 22°C, na qual 80% dos indivíduos alimentados com mel 100% sobreviveram 38 dias, 55 dias com mel 50%, 30 dias com mel 10% e dois dias sem alimento (Figura 2).

A curva de sobrevivência maior de fêmeas de *S. nesei* foi observada na temperatura de 22 °C em todas as concentrações de mel (Figura 2), exceto sem alimento, onde a curva maior foi a 25 °C (Figura 2). Nas curvas de sobrevivência dos machos de *S. nesei* todas foram maiores na temperatura de 22 °C (Figura 3).

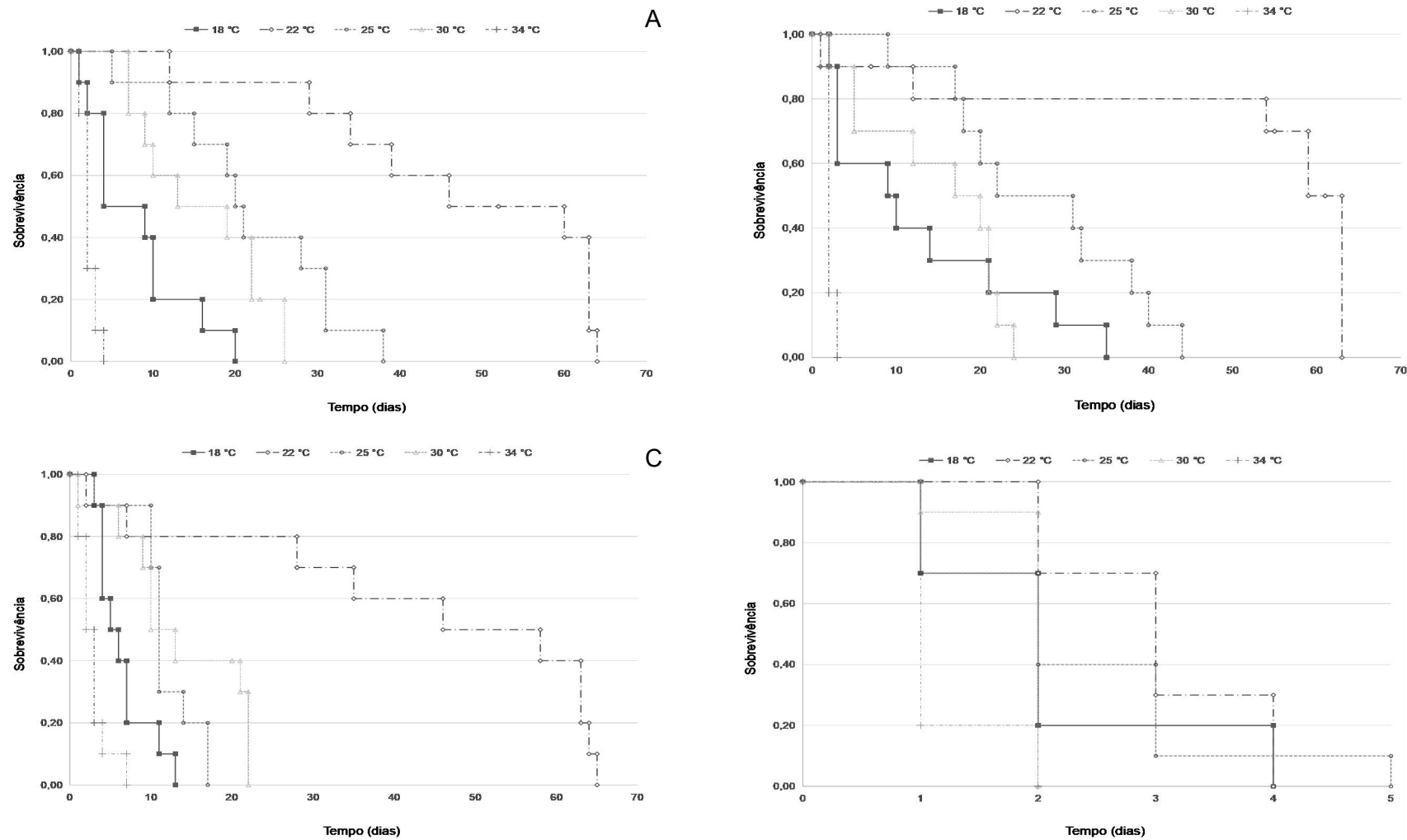
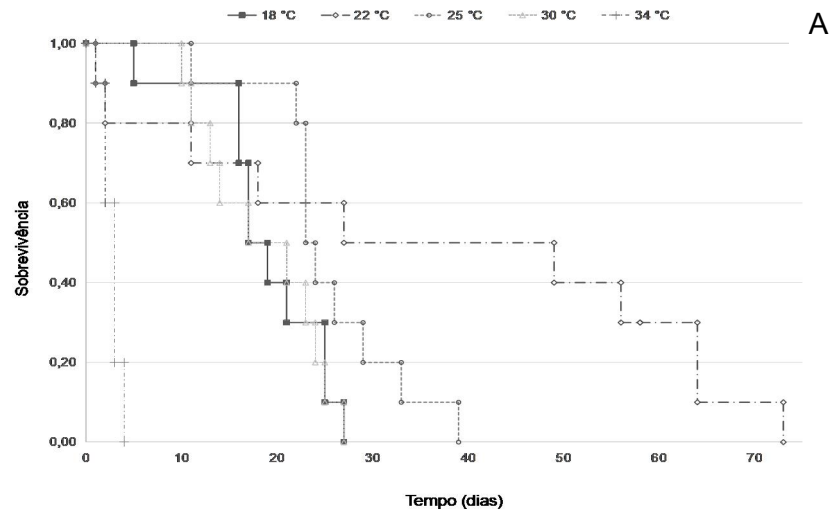
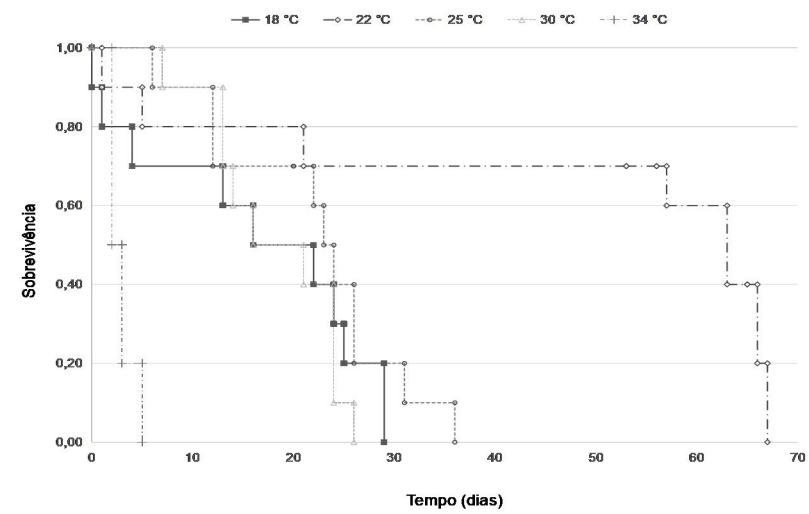


Fig. 2. Sobrevivência (dias) de fêmeas *Selitrichodes nesi* (Hymenoptera: Eulophidae) segundo diferentes concentrações de mel (100, 50, 10%) e sem alimento e submetidas a diferentes temperaturas (18, 22, 25, 30, 34 °C) (UR = $60 \pm 10\%$ e fotofase = 12 h). A - 100% mel; B - 50% mel; C - 10% mel; D - sem alimento.

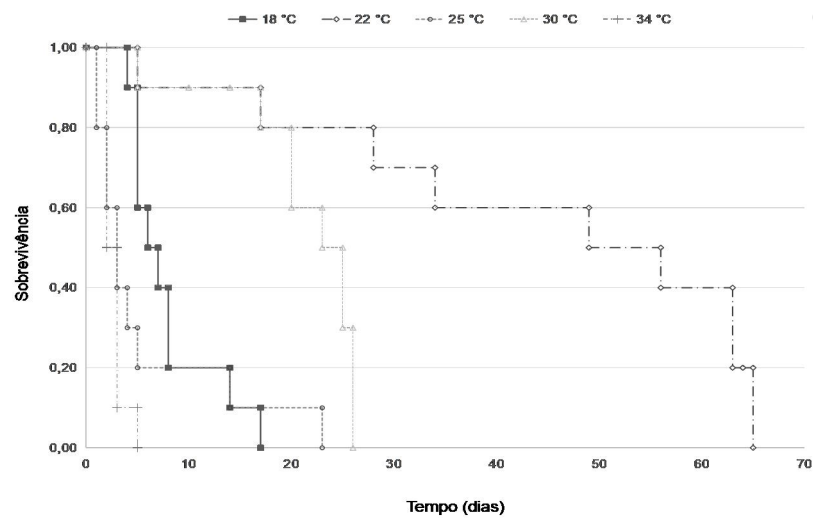
A sobrevivência de machos de *S. nesei* foi maior na temperatura de 22 °C (Figura 3), na qual 80% dos indivíduos sobreviveram até 15 dias alimentados com mel 100%, 25 dias alimentados com mel 50%, 29 dias alimentados com mel 10% e dois dias sem alimento (Figura 3). A sobrevivência dos machos menor que observada para as fêmeas na porcentagem de 80% dos indivíduos. Em todos os tratamentos as curvas de sobrevivência de machos de *S. nesei* foram maiores na temperatura 22 °C (Figura 3).



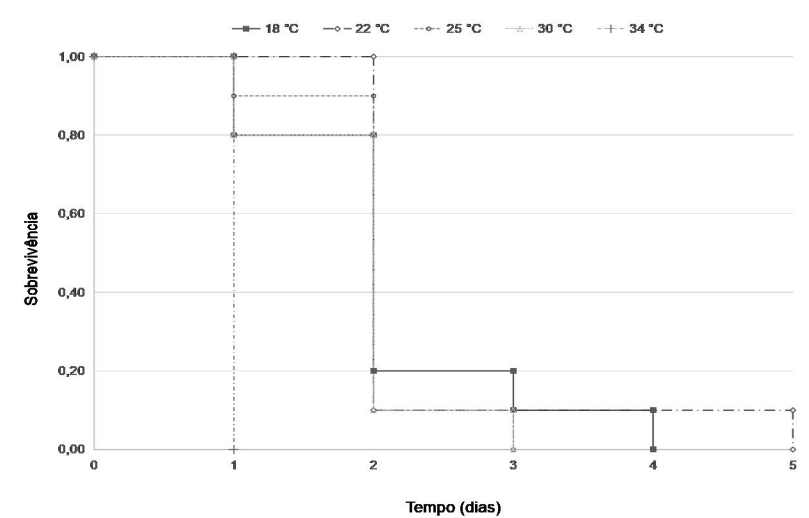
A



B



C



D

Fig. 3. Sobrevivência (dias) de machos *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) segundo diferentes concentrações de mel (100, 50, 10%) e sem alimento e submetidas a diferentes temperaturas (18, 22, 25, 30, 34 °C) (UR = 60 ± 10% e fotofase = 12 h). A - 100% mel; B - 50% mel; C - 10% mel; D - sem mel.

O período máximo de sobrevivência das fêmeas de *S. nesei* foi de 65 dias com mel à 10% em 22 °C, e dos machos foi de 73 dias com mel 100%, na mesma temperatura.

Discussão

As fêmeas de *S. nesei* apresentaram longevidade de um a dois dias em 34 °C, independente da concentração de mel. Considerando assim, essa temperatura é limitante para a sobrevivência de fêmeas de *S. nesei*. A 18 °C as fêmeas de *S. nesei* apresentaram menor longevidade quando comparado com as temperaturas de 22, 25 e 30°C, mas não diferiu estatisticamente das temperaturas de 25 e 30°C, onde 25 °C é pregada para manter as criações de insetos em salas climatizadas. Neste trabalho foi observado que *S. nesei* apresenta maior sobrevivência e longevidade média na temperatura de 22°C em comparação com a de 25°C. Embora não se observe diferenças estatísticas significativas quando comparadas ambas as temperaturas nos quatro tratamentos avaliados. O parasitoide *Cleruchoides noackae* Lin and Huber (Hymenoptera: Mymaridae) apresenta maior longevidade em 15, 18 e 25 °C (Souza et al. 2016). Apesar de *S. nesei* ser de outra família, também apresentou uma das maiores longevidades em 25 °C. Fêmeas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) apresentaram longevidade maior em 16 °C e menor a 28 °C (Rodrigues et al. 2013). As fêmeas de *S. nesei* apresentaram uma maior longevidade em 22 e 25 °C, nos tratamentos com concentração de mel à 100%, 50% e sem alimento.

A temperatura de 22°C foi a mais adequada para aumentar a sobrevivência dos indivíduos de *S. nesei*, sendo importante para determinar um zoneamento

espacial e/ou temporal para um programa de controle biológico empregando este parasitoide no controle da vespa-da-galha no Brasil.

Foi verificado que a falta de alimento foi restrição na longevidade dos indivíduos de *S. nesei*, mostrando sobrevivência de, no máximo, cinco dias. Assim, o fato de não existir uma fonte de carboidrato para o inseto é limitante para sua sobrevivência. Os mesmos resultados foram observados em adultos de *S. nesei* no trabalho de Dittrich-Schröder et al. (2014), na África do Sul, no qual os tratamentos com mel e água, a longevidade para machos e fêmeas variou de 23,3 a 26,1 dias, e o tratamento sem alimento ou água a longevidade média foi de 2,7 dias. Em fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) os tratamentos com uma fonte de carboidrato aumentaram a longevidade do inseto (Dimaté 2007). Em trabalho de Fischbein et al. (2013), mostraram que fêmeas do parasitoide *Ibalia leucospoides* Hochenwarth (Hymenoptera: Ibalidae), apresentou maior longevidade quando alimentados, chegando a uma média de 35 dias de sobrevivência, 10 dias a mais quando comparado as fêmeas não alimentadas.

Em trabalho de Souza (2016), para a praga *L. invasa*, as maiores longevidades de fêmeas foram nas temperaturas de 14 e 18 °C, o qual resultado difere do presente trabalho, mostrando que a praga apresenta sobrevivência maior em baixas temperaturas, enquanto seu parasitoide prefere temperaturas um pouco mais elevadas.

Em relação as curvas de sobrevivência, para as fêmeas de *S. nesei*, a temperatura de 22°C nos tratamentos com mel e para os machos nos tratamentos com e sem mel, foi a que apresentou a maior sobrevivência, já as fêmeas sem alimento, a maior a curva de sobrevivência foi na temperatura de 25°C. As curvas de sobrevivência diminuíram para machos e fêmeas mais rápido nos tratamentos com

mel 10% e no tratamento de 100% de mel no caso das fêmeas. Isso poderia indicar que as fêmeas além do mel, precisam uma porcentagem maior de água em relação aos machos (Salmah et al. 2012), onde fêmeas do parasitoide *Apanteles metesae* Nixon (Hymenoptera: Braconidae), apresentaram maior longevidade com mel diluído, provavelmente pelo teor de açúcar e água contida do mel diluído, contendo mais água do que carboidrato.

O comportamento de sobrevivência do parasitoide foi diferente ao observado para a praga que o mesmo controla, *L. invasa*, em trabalho de Souza (2016), em que as maiores curvas de sobrevivência foram observadas em temperaturas menores (14°C e 18°C, em que *L. invasa* sobreviveu 40 e 35 dias respectivamente). A temperatura 34 °C também reduziu a longevidade de *L. invasa* (Zhu et al. 2015; Souza 2016).

O período máximo de sobrevivência das fêmeas de *S. neseri* foi de 65 dias com mel 10% a 22 °C, e dos machos foi de 73 dias com mel 100% também na temperatura de 22 °C.

A fonte de mel aumenta a sobrevivência de adultos de *S. neseri*. Foi observada a existência do efeito da temperatura na longevidade de *S. neseri*, sendo a temperatura ótima para sua conservação em câmara climatizada a 22 °C, e menor em 34 °C, considerando esta última como limitante para a sobrevivência desse parasitoide.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa.

Referências Citadas

- Costa VA, Berti Filho E, Wilcken CF, Stape JL, La Salle J, Teixeira LD. 2008. *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) in Brazil. New forest pest reaches the New World. *Revista de Agricultura* 83: 136-139.
- Diggle, PJ, Heagerty PJ, Liang KY, Zeger SL. 2022. *Analysis of Longitudinal Data*. Oxford University Press, Oxford 2002.
- Dimaté FAR. Fontes de carboidratos para *Palmistichus elaeis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). 2007. 40 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- Dittrich-Schröder G, Harney M, Naser S, Joffe T, Bush S, Hurley BP, Wingfield MJ, Slippers B. 2014. Biology and host preference of *Selitrichodes naseri*: A potential biological control agent of the *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa*. *Biological Control* 78: 33-41.
- Fischbein D, Bernstein C, Corley JC. 2013. Linking reproductive and feeding strategies in the parasitoid *Ibalia leucospoides*: Does feeding always imply profit?. *Evolutionary Ecology* 27: 619-634.
- Kelly J, La Salle J, Harney M, Dittrich-Schröder G, Hurley B. 2012. *Selitrichodes naseri* n. sp., a new parasitoid of the eucalyptus gall wasp *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). *Zootaxa* 3333: 50-57.
- Kim IK, Mendel Z, Protasov A, Blumberg D, La Salle J. 2008. Taxonomy, biology and efficacy of two Australian parasitoids of the eucalyptus gall wasp, *Leptocybe*

invasa Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). Zootaxa 1910: 1-20.

Lee ET. 1992. Statistical Methods for Survival Data Analysis. John Wiley & Sons, New York.

Mendel Z, Protasov A, Fisher N, La Salle, J 2004. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. Australian Journal of Entomology, 43: 101-113.

Nelder, JA, Wedderburn RW. 1972. Generalized linear models. Journal of the Royal Statistical Society, 135: 370-384.

Nugnes F, Gebiola M, Monti MM, Gualtieri L, Giorgini M, Wang J, Bernardo H. 2015. Genetic diversity of the invasive gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) and of its *Rickettsia* endosymbiont, and associated sex-ratio differences. Plos One, 10: 1–19.

Pastori PL, Zanunio JC, Pereira FF, Pratissoli D, Cecon PR, Serrão, JE. 2012. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichospilus diatraeae* Cherian & Margabandhu (Hymenoptera: Eulophidae) criado em pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). R. bras. Bioci, 10: 79-85.

Rodrigues SMM, Bueno VHP, Sampaio MV, Soglia MCM. 2004. Influência da temperatura no desenvolvimento e parasitismo de *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) em *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). Neotropical Entomology, 33: 341-346.

Rodrigues MAT, Pereira FF, Kassab SO, Pastori PL, Glaeser DF, Oliveira HND, Zanuncio JC. 2013. Thermal requirements and generation estimates of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in sugarcane producing regions of Brazil. Florida Entomologist, 96: 154-159.

- Salmah M, Basri MW, Idris AB. 2012. Effects of honey and sucrose on longevity and fecundity of *Apanteles metesae* (Nixon), a major parasitoid of the oil palm bagworm, *Metiaplana* (Walker). *Sains Malaysiana* 41: 1543-1548.
- SAS. Statistical analysis system [online]. University Edition, http://www.sas.com/en_us/software/university-edition.html (last accessed Jan. 2016).
- Souza AR, Puretz BO, Souza NM, Becchi LK, Veloso SGM, Wilcken CF. 2015. Controle biológico de pragas exóticas de *Eucalyptus* spp, pp. 71-84 *In* Baldin ELL, Kronka AZ, Fujihara RT [eds], *Proteção Vegetal*. Fepaf, Botucatu, Brazil.
- Souza AR. 2016. Levantamento populacional e aspectos biológicos de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) e de seu parasitoide *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae). 83 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas.
- Souza AR, Candelaria MC, Barbosa LR, Wilcken CF, Campos JM, Serrão JE, Zanuncio JC. 2016. Longevity of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), with various honey concentrations and at several temperatures. *Florida Entomologist*, 99: 33-37.
- Westfall PH, Tobias RD, Rom D, Wolfinger RD, Hochberg Y. 1999. Multiple comparisons and multiple tests using the SAS system. SAS Institute Inc., Cary, U.S.A.
- Wilcken CF, Zaché B, Masson MV, Pereira RA, Barbosa LR, Zanuncio JC. 2015. Vespa-da-galha-do-eucalipto, *Lepctocybe invasa* Fisher & La Salle, pp. 898-908 *In* Vilela EF, Zucchi RA [eds] *Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros*. Fealq, Piracicaba, Brazil.

- Zheng XL, Huang ZY, Dong D, Guo CH, Li J, Yang ZD, Yang XH, Lu W. 2016. Parasitoids of the eucalyptus gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in China. *Parasite* 23: 1-7.
- Zhu FL, Ren SX, Qiu BL, Wu JH. 2015. Effect of temperature on life table parameters of *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae). *Austral Entomology* 54: 71-78.

**CAPÍTULO II – Morfologia dos sistemas reprodutores masculino e feminino do
parasitoide *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle (2012) (Hymenoptera:
Eulophidae)**

Revista: Neotropical Entomology

**Morfologia dos sistemas reprodutores masculino e feminino do parasitoide
Selitrichodes neseri Kelly & La Salle (2012) (Hymenoptera: Eulophidae)**

Barbara de Oliveira Puretz; Amanda Rodrigues de Souza; José Eduardo Serrão;
José Lino Neto; Carlos Frederico Wilcken

RESUMO

Estudos com parasitoides são cada vez mais visados pela sua importância no controle biológico, pela efetividade em controlar pragas, e por muitas espécies de parasitoides e seus hospedeiros poderem ser criados facilmente em laboratório em condições controladas. Parasitoides Eulophidae podem ser usados para controle biológico em muitas culturas agrícolas. Nesse contexto, encontra-se o parasitoide *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle (Hymenoptera:Eulophidae). Esse parasitoide tem sido estudado para o controle da praga exótica do eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera:Eulophidae). O sistema reprodutivo dos machos de *S. neseri* ainda não foi estudado e das fêmeas há um único trabalho mostrando a anatomia dos ovários. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi descrever a morfologia dos sistemas reprodutores feminino e masculino de *S. neseri*. Os insetos foram colocados em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M pH 7,2 por 24 h., a seguir os parasitoides foram desidratados em série crescente de etanol (70, 80, 90 e 95%). Posteriormente, os insetos foram embebidos em historesina Leica. Seções com 2 µm de espessura foram obtidos em micrótomo rotativo, coradas com hematoxilina e eosina e analisadas em microscópio de luz. *Selitrichodes neseri* é uma espécie sinovigênica e possui um ovário meroístico politrófico. Os ovários de fêmeas copuladas quando comparados com fêmeas virgens de *S. neseri* são mais desenvolvidos, apresentando ovócitos maduros, mostrando que se têm a necessidade da cópula para a maturação dos ovários. O testículo dos machos de *S. neseri* se degeneram na fase adulta.

Palavras-chave: ovários; parasitoide; controle biológico

ABSTRACT

Studies with parasitoids are increasing considering their importance in biological control, due his effectiveness in control pests, and for many species of parasitoids and their hosts can be easily created in the laboratory under controlled conditions. Eulophidae parasitoids can be used for biological control in many agricultural crops. In this context, the parasitoid *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) Kelly & La Salle. This parasitoid has been studied for the control of an exotic eucalyptus pest, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) Fisher & La Salle. The reproductive system of *S. neseri* males has not yet been studied and of the females there is only one work showing the anatomy of the ovaries. In this context, the objective of this study was to describe the morphology of female and male reproductive systems of *S. neseri*. The insects were placed in 2.5% glutaraldehyde in 0,1 M sodium cacodylate buffer pH 7,2 for 24 h, then the parasitoids were dehydrated in increasing series of ethanol (70, 80, 90 and 95%). Subsequently, the insects were embedded in Leica historesin. Sections 2 µm thick were obtained on a rotating microtome, stained with hematoxylin and eosin and analyzed under a light microscope. *Selitrichodes neseri* is a sinovigenic species and has a meroistic polytrophic ovary. The ovaries of females copulated when compared to virgin females of *S. neseri* are more developed, presenting mature oocytes, showing that they need the copulation for the maturation of the ovaries. The testicle of *S. neseri* males degenerate into adult life.

Keywords: ovaries; parasitoid; biological control

Introdução

Estudos com parasitoides são cada vez mais visados pela sua importância no controle biológico, pela efetividade em controlar pragas, e por muitas espécies de parasitoides e seus hospedeiros poderem ser criados facilmente em laboratório, e também sendo utilizados para o desenvolvimento de modelos populacionais e interações com seus hospedeiros (Hassell 2000).

Fatores externos e internos podem ser responsáveis pelo potencial de parasitismo, o que é importante se avaliar para a escolha do agente de controle. O número de ovos que uma fêmea produz durante sua vida é determinado pelo número de hospedeiros adequados, pelo número de ovos que são amadurecidos durante sua vida e pela manipulação comportamental da taxa de oviposição (Jervis *et al* 2001). Além disso, o conhecimento do sistema reprodutor masculino é importante para base de estudos de reprodução de *S. nesei*, e também estudos relacionados com as características de espermatozóides dos machos (Fiorillo 2008).

Parasitoides Eulophidae podem ser usados para controle biológico em muitas culturas agrícolas (Andrade *et al* 2012). Nesse contexto, encontra-se o parasitoide *Selitrichodes nesei* Kelly & La Salle (Hymenoptera:Eulophidae). Esse parasitoide tem sido estudado para o controle de *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), conhecida popularmente como vespa-da-galha-do-eucalipto (Mendel *et al* 2004, Kelly *et al* 2012), atacando principalmente brotações, mas também árvores adultas de eucalipto, formando galhas na nervura central das folhas, pecíolo e haste dos ramos (Wilcken *et al* 2015).

Como forma de controle biológico de *L. invasa*, o parasitoide *S. nesei* foi importado da África do Sul para o Brasil em 2015 (Souza *et al* 2015). Este parasitoide é originário da Austrália e específico de *L. invasa*. As fêmeas medem de

0,87 - 1,08 mm e os machos de 0,65 - 0,73 mm de comprimento. Machos e fêmeas possuem o corpo marrom escuro ao preto, e o macho possui manchas amarelas na cabeça (Kelly *et al* 2012).

O ciclo de vida de *S. nesei* é aproximadamente de 19,3 dias, sendo, a longevidade média dos machos e fêmeas, 19,9 e 19,1 dias, respectivamente, o tempo mínimo de desenvolvimento do inseto foi de 12 dias e o tempo máximo de desenvolvimento foi de 31 dias em laboratório. Em laboratório, a capacidade de parasitismo das fêmeas de *S. nesei* foi de 9,7 a 71,8 %. As fêmeas de *S. nesei* parasitam larvas e prepupas, se desenvolvendo externamente ao corpo de *L. invasa* no interior da galha (Kelly *et al* 2012; Dittrich-Schröder *et al* 2014).

Nas fêmeas dos insetos, o sistema reprodutivo é formado por um par de ovários, conectado a um oviduto comum por um par de ovidutos laterais, estes se unem formando um oviduto mediano que posteriormente se abrem em uma câmara genital, sendo cada ovário composto por vários ovaríolos (Chapman 1998).

O sistema reprodutor masculino dos insetos é geralmente formado por um par de testículos, um par de ductos deferentes, um par de vesículas seminais, um ducto ejaculatório e pode também conter um par de glândulas acessórias (Chapmann 1998).

Os testículos de himenópteros podem variar, sendo bem desenvolvidos nas pupas e nos adultos jovens e, em muitas espécies, eles começam degenerar até a regressão completa no fim da maturidade sexual (Cruz-Landim 2009).

O sistema reprodutivo dos machos de *S. nesei* ainda não foi estudado e das fêmeas há um único trabalho mostrando a anatomia dos ovários (Dittrich-Schröder *et al* 2014). Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi descrever a morfologia dos sistemas reprodutores feminino e masculino de *S. nesei*.

Material e métodos

Obtenção dos insetos e preparo das plantas com galhas

Plantas de clones híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus camaldulensis* foram colocadas em vasos de 1,7 L, com solo esterilizado na mistura solo-areia-esterco (1:1:1) e regadas diariamente. Essas plantas foram mantidas em viveiro localizado no Departamento de Proteção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agronômicas - Universidade Estadual Paulista (FCA/UNESP). A infestação das plantas por *L. invasa* foi de forma natural. Após, aproximadamente, 90 dias as plantas com galhas foram levadas para uma sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h para a criação dos parasitoides. Duas plantas infestadas por *L. invasa* foram colocadas dentro de uma gaiola de madeira (40 x 45 x 80 cm) e regadas a cada dois dias. As galhas dessas plantas foram quantificadas, e em torno de 10 a 15 casais de parasitoides de *S. nesei* foram liberados no interior de cada gaiola. Os parasitoides foram alimentados com solução de mel. Essas gaiolas foram mantidas no laboratório com iluminação artificial, lâmpadas fluorescentes branca (F20W/T10/5000K) e “plant light” (F20W/T12), para simular as condições de luz necessárias para as plantas. O ciclo de vida de *S. nesei* foi completado após 17 dias da liberação dos parasitoides, e se iniciou a coleta diária dos parasitoides emergidos em cada gaiola. Os parasitoides coletados foram contabilizados e utilizados para o estudo.

Para a coleta das fêmeas virgens de *S. nesei*, foram coletadas galhas de *L. invasa* das plantas da criação e foram separadas individualmente em tubos de vidro de fundo chato e tampados com plástico filme PVC, e então se esperou a

emergência das fêmeas de *S. nesei*, cada fêmea que emergia foi retirada do tubo com galhas.

Morfologia

Para descrição de ovários e sistema reprodutor masculino de *S. nesei*, o experimento foi conduzido no laboratório de Ultraestrutura Celular, no Departamento de Biologia Geral e Microbiologia, da Universidade Federal de Viçosa - UFV em Viçosa, Minas Gerais. As amostras analisadas foram: (1) fêmeas de *S. nesei* acasaladas (n=5), (2) fêmeas de *S. nesei* virgens (n=4) e (3) machos de *S. nesei* (n=5). Todos os insetos utilizados foram coletados com até 48 horas de vida.

Os insetos foram colocadas em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M pH 7,2 por 24 h., na sequência os parasitoides foram desidratados em série crescente de etanol (70, 80, 90 e 95%) por 10 minutos em cada álcool. Posteriormente, os insetos foram embebidos em historesina Leica®. Seções com 2 µm de espessura foram obtidos em micrótomo rotativo, coradas com hematoxilina e eosina e analisadas em microscópio de luz.

Resultados e Discussão

O sistema reprodutor de fêmeas de *S. nesei* é formado por um par de ovários com número de ovaríolos variando de 4 a 6, como em trabalho de Dittrich-Schröder *et al* (2014) que também encontrou 6 ovaríolos. Os ovaríolos apresentam um curto filamento terminal seguido por um curto germário e um longo vitelário onde foram encontrados ovócitos em diferentes fases do desenvolvimento (Fig 1). Em todos os

ovariolos foi encontrado pelo menos um ovócito maduro de forma alongada (Fig 1). Os ovariolos apresentaram a porção basal formada por um cálice de ovos que se mostrou alargado (Fig 1) e abriu-se em um curto oviduto lateral.

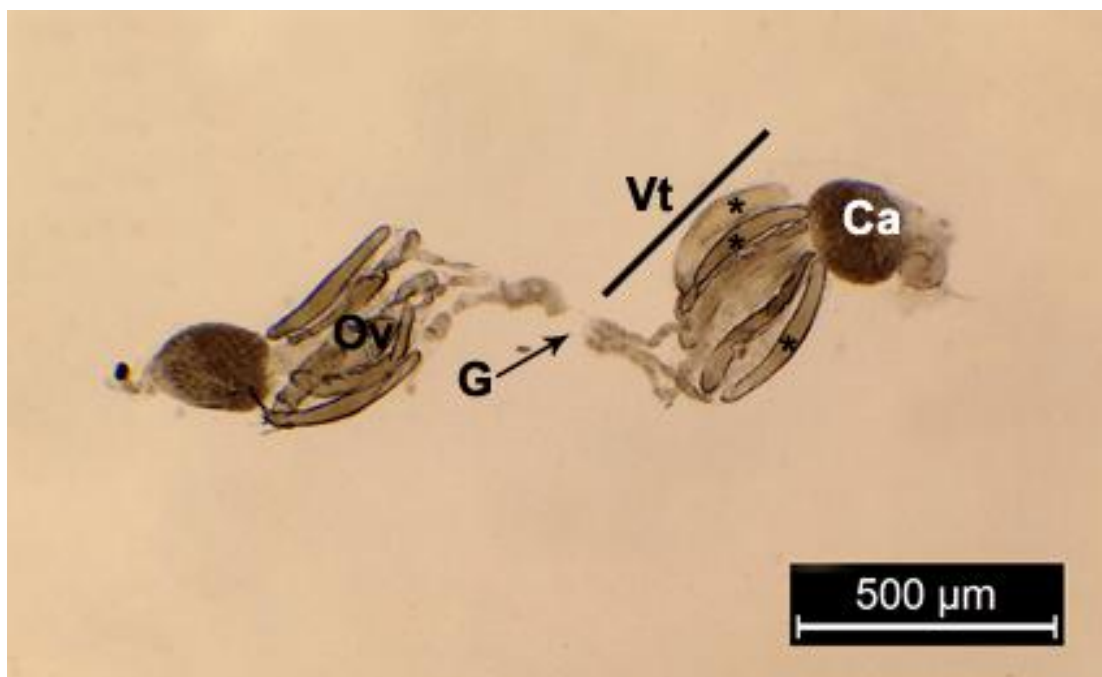


Fig 1 Fotomicrografia de ovários de *Selitrichodes nesi* (Hymenoptera: Eulophidae) mostrando ovariolos formados por um curto germário seguido de um longo vitelário, os quais se abrem em um cálice de ovos dilatado. Note a presença de ovócitos maduros (asteriscos) na base dos ovariolos. Abreviações: Ov ovaríolo, G germário, Vt vitelário, Ca cálice.

As análises histológicas dos ovários das fêmeas de *S. nesi* apresenta o germário formado por grande quantidade de células indiferenciadas com núcleos pequenos (Fig 2). Logo abaixo do germário tem início o vitelário onde foram encontradas a câmara nutridora maior que a câmara ovocítica (Fig 3). Nesta fase os núcleos das células nutridoras é grande e com predomínio de cromatina descondensada (Fig 3). Cada uma das câmaras foi delimitada por uma camada única de células foliculares (Fig 3).

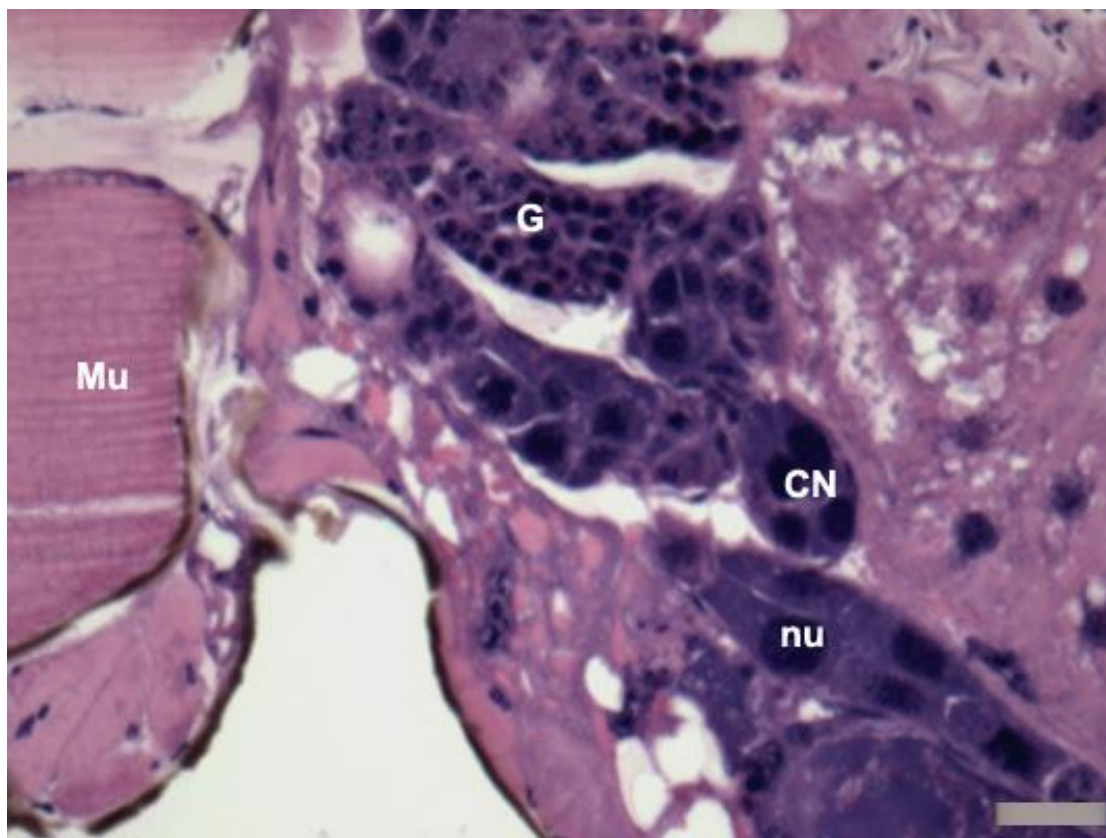


Fig 2 Fotomicrografia da transição tórax abdômen de *Selitrichodes nesi* (Hymenoptera: Eulophidae), mostrando o germário dos ovaríolos contendo células indiferenciadas e o início da diferenciação das células nutridoras com núcleos grandes. Abreviações: G germário, CN célula nutridora, nu núcleo, Mu – músculos torácico. Escala: 40µm.



Fig 3 Fotomicrografia do abdômen de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) mostrando o início do vitelário de dois ovaríolos contendo a câmara nutridora mais desenvolvida que a câmara ovocítica onde está o ovócito. Note núcleos das células nutridoras grandes e com predomínio de cromatina descondensada e a camada de células foliculares revestindo as câmaras nutridora e ovocítica. Abreviações: CN célula nutridora, Oo ovócito, nu núcleo, Cf célula folicular, Mu músculo abdominal. Escala: 40µm.

Ao longo do vitelário os ovócitos aumentaram de tamanho, mas as células nutridoras ainda possuem forma bem desenvolvida com núcleos esféricos e com predomínio de cromatina descondensada (Fig 4). Na porção mais basal dos ovaríolos os ovócitos se encontram em fase adiantada do desenvolvimento, contendo muitos grânulos de vitelo e a presença do cório (Fig 5). Neste estágio as células nutridoras estão em processo de degeneração, caracterizado pela condensação da cromatina com consequente diminuição do tamanho do núcleo (Fig 5).

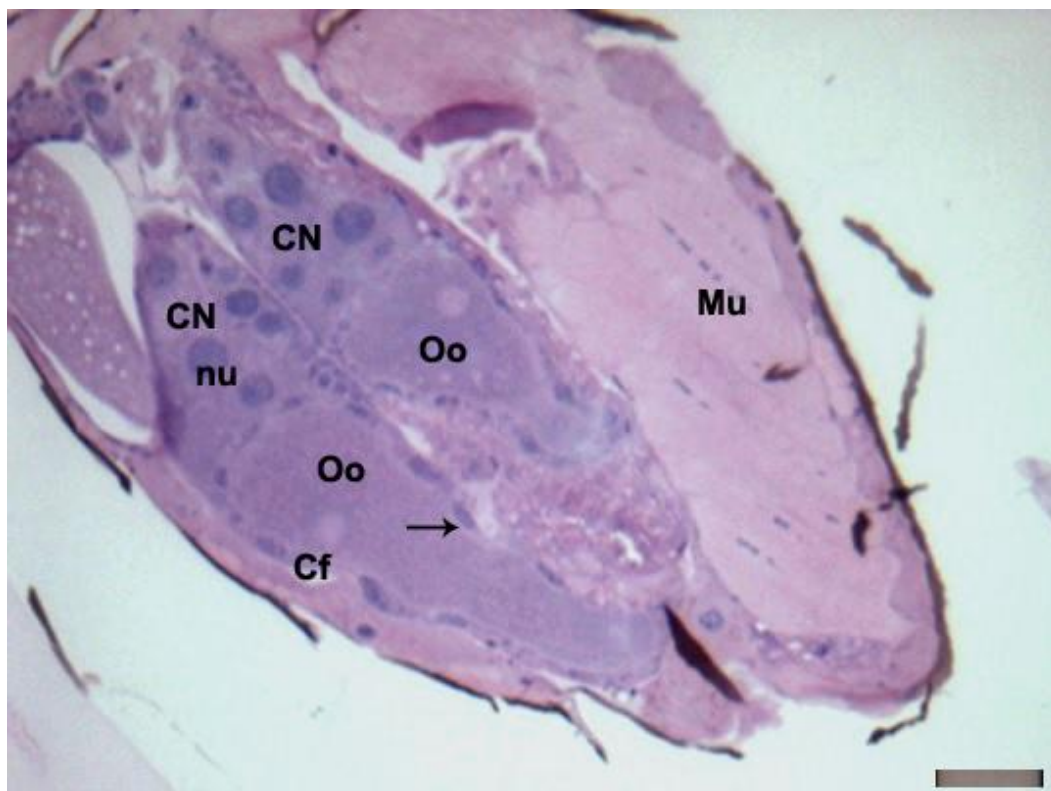


Fig 4 Fotomicrografia do abdômen de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) virgem mostrando dois ovaríolos com o desenvolvimento dos ovócitos (Oo) que estão maiores que a câmara nutridora (CN). Abreviações: Oo ovócito, CN célula nutridora, Mu músculo, nu – núcleo da célula nutridora, seta núcleo das células foliculares. Escala: 40µm.

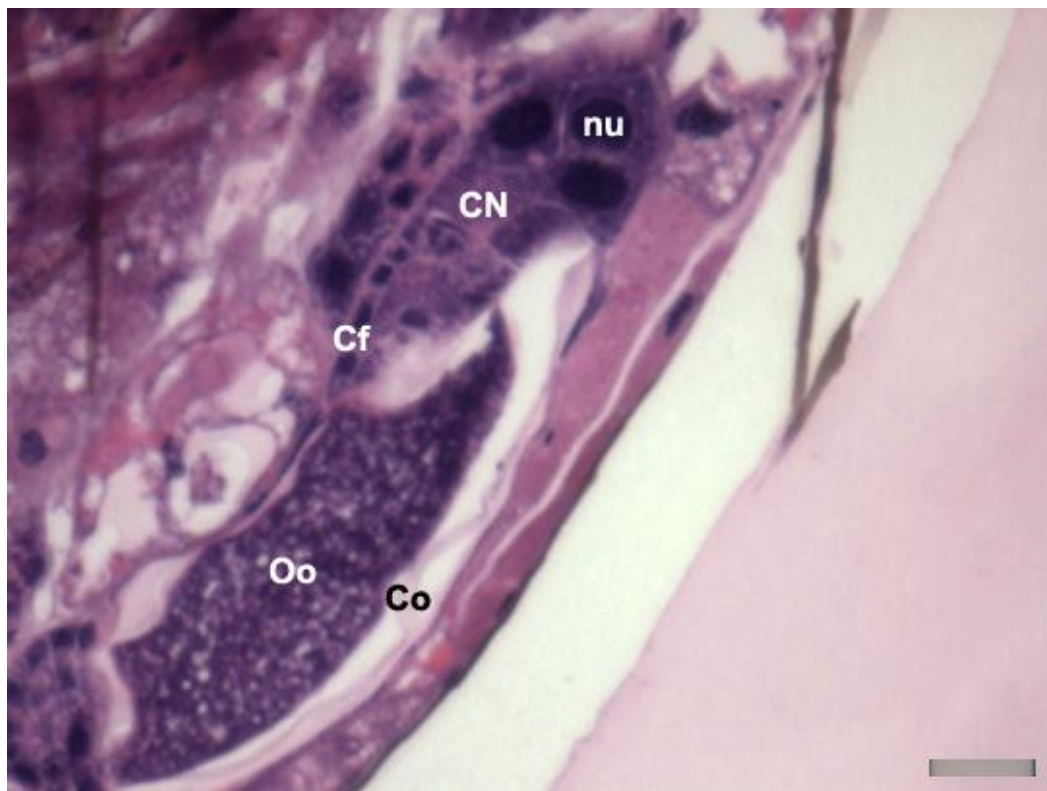


Fig 5 Fotomicrografia do abdômen de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) mostrando a porção basal do ovaríolo com ovócito rico em grânulos de vitelo e com a formação do cório. Note os núcleos das células nutritivas com cromatina condensada. Abreviações: Cf – célula folicular, Oo ovócito, Co cório, CN célula nutridora. Escala: 40µm.

O macho de *S. neseri* apresenta o sistema reprodutor formado por uma par de testículos, cada um seguido de um ducto deferente estreito que em sua porção inicial apresenta uma dilatação, formando a vesícula seminal, depois da qual abre-se uma glândula acessória em forma de saco bem desenvolvido, com ambos os ductos deferentes conectados a um ducto ejaculatório (Fig 6).

Verificou-se nas análises histológicas que os testículos estavam degenerados caracterizados por folículos testiculares e cistos desorganizados com núcleos fragmentados (Fig 7). Nestes indivíduos as vesículas seminais estavam cheias de espermatozóides arranjados em feixes (Fig 8).

A glândula acessória se mostrou bastante dilatada revestida por um epitélio achatado e lúmen com conteúdo acidófilo (Fig 9).

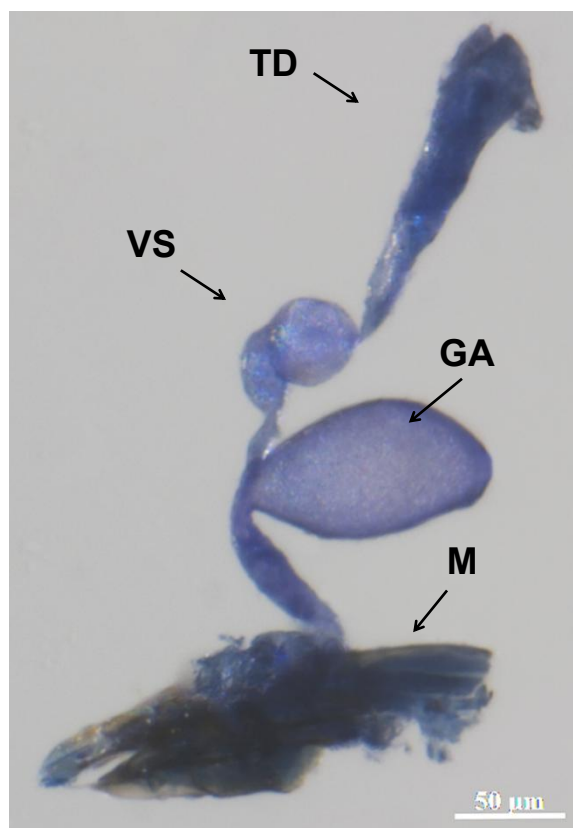


Fig 6 Sistema reprodutor masculino de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae). Abreviações: TD - testículo; VS - vesícula seminal; GA - glândula acessória; M - músculo.

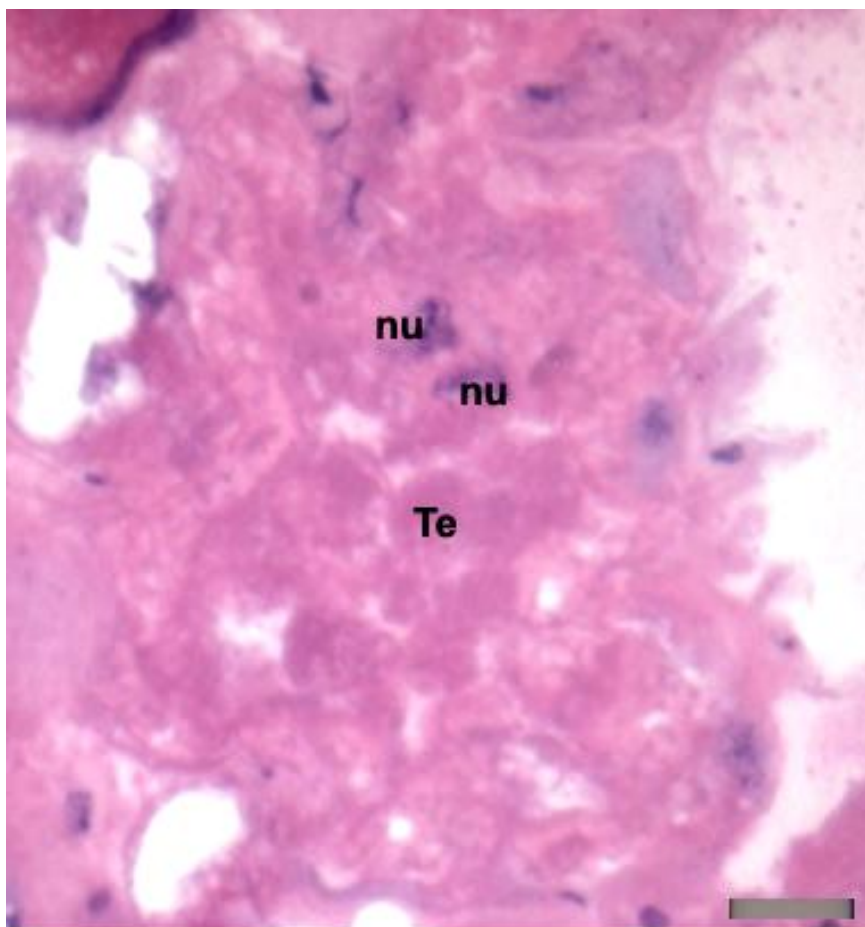


Fig 7 Fotomicrografia do testículo de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) mostrando folículos e cistos desorganizados e alguns núcleos celulares fragmentados. Abreviações: Te testículo, nu núcleo. Escala: 40µm.

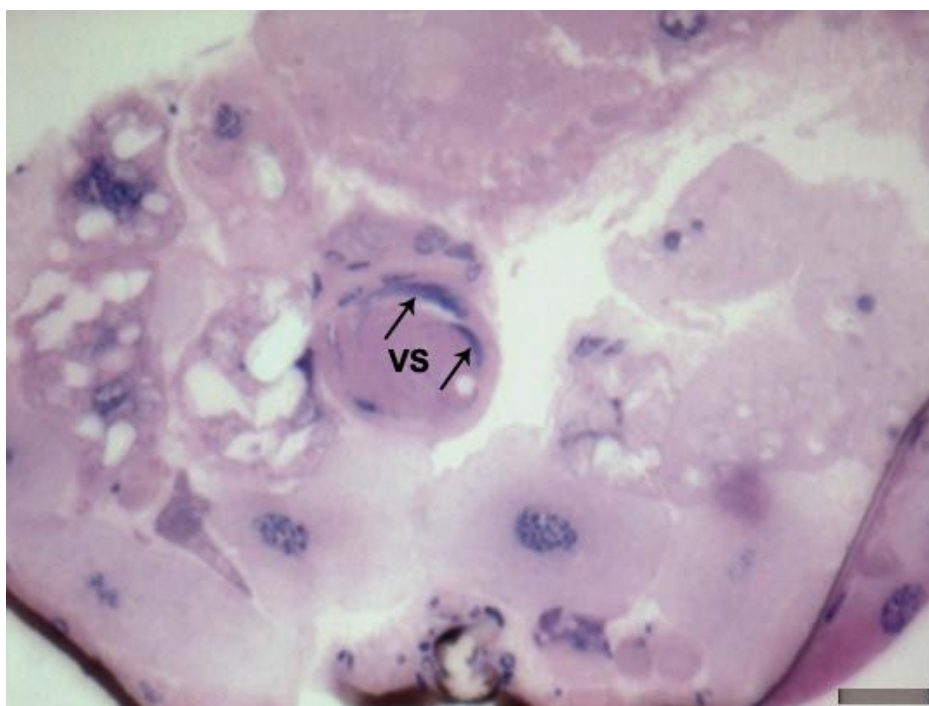


Fig 8 Fotomicrografia da vesícula seminal de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) com o lúmen contendo feixes de espermatozoides (setas). Abreviações: VS vesícula seminal. Escala: 40µm.



Fig 9 Fotomicrografia da glândula acessória de machos pós-cópula de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) com epitélio achatado e lúmen com conteúdo acidófilo. Abreviações: GA glândula acessória, Ep epitélio, Lu lúmen. Escala: 40µm.

Insetos pró-sinovigênicos são aqueles que emergem com uma quantidade completa de óvulos maduros, já nos insetos sinovigênicos, a maturação dos óvulos é realizado ao longo da vida da fêmea, dependendo de muitos fatores, como alimentação, temperatura do ambiente, capacidade de armazenar o ovo, idade, entre outros (Sperandio 2001). Espécies sinovigênicas possuem ovos ricos em gema, apresentando uma grande quantidade de gordura corporal e e um tempo longo de vida (Andrade *et al* 2012).

Como é observado em fêmeas de *S. neseri*, a matrução dos ovócitos acontece após a emergência da fêmea, podendo-se observar que em fêmeas virgens (Fig 4) ainda não aconteceu essa maturação, a qual nas outras fêmeas foi ocorrendo aos poucos.

Essa diferença na maturação dos ovócitos comparando fêmeas virgens e fêmeas copuladas de *S. neseri*, demonstra a necessidade da cópula para a

formação dos ovos para as fêmeas de *S. nesei*. Através da cópula se tem a transferência de fluídos da vesícula seminal do macho, apresentando uma fonte de nutrientes que podem ser essenciais para o desenvolvimento embrionário das fêmeas (Dossi & Cônsoli 2010).

As fêmeas de *S. nesei* apresentaram uma maturação dos ovócitos apenas após a cópula, mostrando a necessidade de estudos para se observar seu desenvolvimento em diferentes horas após a cópula (Andrade *et al* 2012).

Selitrichodes nesei possui um ovário meroístico politrófico, o qual nos ovaríolos possui três regiões distintas do ápice para a base, filamento terminal, germário e vitelário. O vitelário de ovários politróficos é caracterizado por seus folículos possuírem ovócitos e células nutridoras (Chapman 1998, Santos & Cruz-Landim 2002).

Em machos de *S. nesei*, observou-se o testículo degenerado, o que é comum em alguns himenópteros, onde os espermatozóides se desenvolvem na fase de pupa e se degeneram na fase adulta, não ocorrendo a produção de esperma nessa fase (Damiens & Boivin 2005, Fiorillo 2008).

A vesícula seminal foi encontrada apresentando um tamanho pequeno, provavelmente porque o macho já havia copulado, pois os machos de *S. nesei* utilizados para dissecação e cortes histológicos estiveram em contato com fêmeas de *S. nesei*. Após a cópula a vesícula seminal diminui seu volume (Damiens & Boivin 2005).

Esse estudo demonstra a necessidade de realizar análises do sistema reprodutor masculino de *S. nesei* virgem e em fase de pupa, principalmente para detectar possíveis problemas na criação desse inseto, que podem estar ligados com a reprodução sexual do parasitoide.

Conclusões

Selitrichodes neseri é uma espécie sinovigênica e possui ovário meroístico politrófico. Os ovários de fêmeas de *S. neseri* copuladas são mais desenvolvidos do que os ovários de fêmeas virgens, apresentando ovócitos maduros, mostrando que se têm a necessidade da cópula para a maturação dos ovários. O testículo dos machos de *S. neseri* se degeneram na fase adulta.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa.

Ao Laboratório de Ultraestrutura Celular, Departamento de Biologia Geral e Microbiologia, da Universidade Federal de Viçosa - UFV pela análise das amostras.

Referências

- Andrade GS, Sousa AH, Santos JC, Gama FC, Serrão, JE, Zanuncio, JC (2012) Oogenesis pattern and type of ovariole of the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). An Acad Bras Cienc 84: 767-774.
- Chapman RF. (1998) The insects: Structure and function. Cambridge, Cambridge University Press, 788p.
- Costa VA, Berti Filho E, Wilcken CF, Stape JL, La Salle J, Teixeira LD (2008) *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) in Brazil. New forest pest reaches the new world. Rev Agric 83: 136-139.

- Cruz-Landim CC (2009) Abelhas :morfologia e função de sistemas. São Paulo, Unesp, 407 p.
- Damiens D, Boivin G (2005) Male reproductive strategy in *Trichogramma evanescens*: sperm production and allocation to females. *Physiol Entomol* 30: 241-247.
- Dossi FCA, Cônsoli FL (2010) Desenvolvimento ovariano e influência da cópula na maturação dos ovários de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Neotrop Entomol* 39: 414-419.
- Dittrich-Schröder G, Harney M, Naser S, Joffe T, Bush S, Hurley BP, Wingfield MJ, Slippers B (2014) Biology and host preference of *Selitrichodes naseri*: A potential biological control agent of the *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa*. *Biol Control* 78: 33-41.
- Fiorillo BS; Lino-Neto J., Baó, SN (2008) Structural and ultrastructural characterization of male reproductive tracts and spermatozoa in fig wasps of the genus *Pegoscapus* (Hymenoptera, Chalcidoidea). *Micron* 39: 1271-1280.
- Hassell MP (2000) Host-parasitoid dynamics. *J Anim Ecol* 69: 543-566.
- Jervis MA, Heimpel GE, Ferns PN, Harvey JA, Kidd NAC (2001) Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. *J Anim Ecol* 70: 442-458.
- Kavitha-Kumai N, Kulkarni H, Vastrad AS, Goud KB (2010) Biology of eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher and La Salle (Hymenoptera: Eulophidae). *Karnataka J Agric Sci* 23: 211–212.
- Kelly J, La Salle J, Harney M, Dittrich-Schröder G, Hurley B (2012) *Selitrichodes naseri* n. sp., a new parasitoid of the eucalyptus gall wasp *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). *Zootaxa* 3333: 50-57.

- Mendel Z, Protasov A, Fisher N, La Salle, J (2004) Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. Aust. J. Entomol 43: 101-113.
- Santos TCA, Cruz-Landim C (2002) Determinação das castas em *Scaptotrigona postica* (Latreille) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): diferenciação do ovário. Revta bras Zool 19: 703-714.
- Souza AR, Puretz BO, Souza NM, Becchi LK, Veloso SGM, Wilcken CF (2015) Controle biológico de pragas exóticas de *Eucalyptus* spp, p. 71-84 In Baldin ELL, Kronka AZ, Fujihara RT (eds) Proteção Vegetal. Botucatu, Fepaf.
- Sperandio LAA (2001) Alguns aspectos do comportamento de oviposição de fêmeas selvagens *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera, Bruchidae) em condições de privação do hospedeiro. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo.
- Wilcken CF, Zaché B, Masson MV, Pereira RA, Barbosa LR, Zanuncio JC (2015) Vespa-da-galha-do-eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle, p. 898-908 In Vilela EF, Zucchi RA (eds) Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros. Piracicaba, Fealq.

CAPÍTULO III – Liberação e recuperação de *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle, 2012 (Hymenoptera: Eulophidae) no Brasil

Revista: Biological Control

Liberação e recuperação de *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle, 2012 (Hymenoptera: Eulophidae) no Brasil

Barbara de Oliveira Puretz; Amanda Rodrigues de Souza; Carolina Jorge Gonzales;
Carlos Frederico Wilcken

Resumo

Uma das pragas exóticas relatada no Brasil e que vem causando danos em plantios de *Eucalyptus* é *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae). As fêmeas desse inseto formam galhas em plantas de *Eucalyptus* em viveiro e campo, preferindo brotações. Uma das alternativas de controle de *L. invasa* que vem sendo estudada é o controle biológico clássico, realizando liberações inoculativas em campo com o parasitoide *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), importado pelo Brasil em 2015. O objetivo desse trabalho foi realizar liberações inoculativas do parasitoide *S. neseri* em áreas florestais com plantio de *Eucalyptus* com infestação por *L. invasa*, e verificar o estabelecimento desse parasitoide nesses locais. As liberações de *S. neseri* foram realizadas em áreas das empresas florestais com infestação de *L. invasa*, os ramos escolhidos para a liberação do parasitoide foram aqueles com maior infestação e com galhas maduras. A quantidade de parasitoides liberados variou de 22 a 1100 parasitoides por ponto. A recuperação dos ramos foi realizada entre 17 e 175 dias após as liberações de *S. neseri*. Foi solicitado a cada empresa que enviasse ramos de cada ponto de liberação, os insetos que emergiam das galhas desses ramos eram contabilizadas, identificados e acondicionados em álcool. As liberações de *S. neseri* foram realizadas nos estados Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Tocantins e Maranhão. Os estados que tiveram o estabelecimento de *S. neseri* foram Bahia, Minas Gerais e São Paulo.

Palavras-chave: inimigo natural, controle biológico clássico, estabelecimento em campo, monitoramento.

Abstract

One of the exotic pests recently reported in Brazil that has been causing damage to *Eucalyptus* plantations is *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae). The females of this insect form galls in *Eucalyptus* plants in nursery and field, with preference by sprouts. One of the alternatives of control of *L. invasa* that has been studied is the classical biological control, performing inoculative releases in the field with the parasitoid *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), imported to Brazil in 2015. The objective of this study was to carry out inoculative releases of the *S. neseri* parasitoid in forest areas with *Eucalyptus* planting with infestation by *L. invasa*, and verify the establishment of this parasitoid in these sites. The releases of *S. neseri* were carried out in areas of forest companies with infestation of *L. invasa*, the branches chosen for the release of the parasitoid were those with higher infestation and with mature galls. The amount of parasitoids released ranged from 22 to 1100 parasitoids per release point. The recovery of branches was carried out between 17 and 175 days after the releases of *S. neseri*. Each company was asked to send branches from each release point, insects emerging from the galls of these branches were counted, identified and packaged in alcohol. The releases of *S. neseri* were carried out in the states of Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Tocantins and Maranhão. The states that had the establishment of *S. neseri* were Bahia, Minas Gerais and São Paulo.

Keywords: natural enemy, classical biological control, establishment in field, monitoring.

1. Introdução

Uma das pragas exóticas relatada no Brasil e que vem causando danos em plantios de *Eucalyptus* é *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), conhecida como vespa-da-galha-do-eucalipto. As fêmeas desse inseto formam galhas em plantas de *Eucalyptus* em viveiro e campo, sendo sua preferência por brotações (Kavitha-Kumari et al., 2010; Wilcken et al., 2015). As fêmeas de *L. invasa* medem de 1,1 a 1,4 mm e os machos de 1,21 a 1,37 mm de comprimento, com coloração marrom escuro com brilho metálico azul-esverdeado, principalmente na cabeça e no tórax, as antenas possuem a junta basal amarelada, e as pernas são marrons (Mendel et al., 2004). O ciclo biológico de *L. invasa* no Brasil é de, aproximadamente, 87 dias, em *E. grandis* x *E. camaldulensis* (Souza, 2016).

Leptocybe invasa é de origem australiana e está distribuída em países da Ásia, Europa, África e América (Nugnes et al., 2015; Zheng et al., 2016). No Brasil, essa praga foi detectada em 2007, no nordeste da Bahia (Mendel et al. 2004; Costa et al. 2008). Esse inseto foi detectado em 16 estados brasileiros, sendo esses, Bahia, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Rio Grande do Sul, São Paulo, Sergipe e Tocantins (Rinaldi et al., 2013; Garlet, 2013; Pereira et al., 2014; Fernandes et al., 2014; Poretz et al., 2015; Wilcken et al., 2015), Santa Catarina (dados não publicados), Alagoas e Pará (comunicação pessoal).

O monitoramento de *L. invasa* em plantios florestais é realizado com armadilhas adesivas amarelas ou pela contagem de galhas presentes nas árvores de eucalipto. Como controle cultural, em viveiros, é recomendado o corte e a queima das mudas infestadas por *L. invasa*, no campo também recomenda-se o corte e a queima dos ramos infestados e enterro. Alguns inseticidas são utilizados para controle em viveiros, sendo os neonicotinoides imidacloprid, thiamethoxam, e o piretroide. Clones resistentes também vêm sendo testados (Masson, 2015; Wilcken et al., 2015).

Outra alternativa de controle de *L. invasa* que vem sendo estudada é o controle biológico clássico, realizando liberações inoculativas em campo com o parasitoide *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), importado pelo Brasil em 2015 (Souza et al., 2015).

O controle biológico clássico é a introdução de inimigos naturais de um país para outro ou de uma região para outra. Na área florestal se têm utilizado muito essa

forma de controle, para evitar que o controle de insetos nas áreas florestais atinja o nível do manejo de pragas na agricultura, onde a utilização de agrotóxicos é constante (Moraes & Berti Filho, 2005).

O parasitoide *S. nesei* também é de origem australiana, com sua fêmea medindo de 0,87 a 1,08 mm e machos de 0,65 a 0,73 mm de comprimento. Ambos possuem o corpo marrom escuro ao preto (Kelly et al., 2012). O ciclo biológico de *S. nesei* é em média de 19,3 dias, com razão sexual de machos para fêmeas de 1:3, capacidade de parasitismo das fêmeas de *S. nesei* de 9,7 % a 71,8 %, em laboratório. As fêmeas de *S. nesei* parasitam larvas e prepupas, se desenvolvendo externamente ao corpo de *L. invasa*, no interior da galha (Dittrich-Schröder et al., 2014).

Com isso, o objetivo desse trabalho foi realizar liberações inoculativas do parasitoide *S. nesei* em áreas florestais com plantio de *Eucalyptus* com infestação por *L. invasa*, e confirmar o estabelecimento desse parasitoide nos estados onde ocorreu a liberação desse parasitoide.

2. Material e Métodos

2.1. Obtenção dos insetos e preparo das plantas com galhas

Plantas de clones híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus camaldulensis* foram colocadas em vasos de 1,7 L, com solo esterilizado na mistura solo-areia-esterco (1:1:1) e regadas diariamente. Essas plantas foram mantidas em viveiro localizado no Departamento de Proteção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agrônomicas - Universidade Estadual Paulista (FCA/UNESP). A infestação das plantas por *L. invasa* foi de forma natural. Após, aproximadamente, 90 dias as plantas com galhas foram levadas para uma sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h para a criação dos parasitoides. Duas plantas infestadas por *L. invasa* foram colocadas dentro de uma gaiola de madeira (40 x 45 x 80 cm) e regadas a cada dois dias. As galhas dessas plantas foram quantificadas, e em torno de 10 a 15 casais de parasitoides de *S. nesei* foram liberados no interior de cada gaiola. Os parasitoides foram alimentados com solução de mel. Essas gaiolas foram mantidas no laboratório com iluminação artificial, lâmpadas fluorescentes branca (F20W/T10/5000K) e “plant light”

(F20W/T12), para simular as condições de luz necessárias para as plantas. O ciclo de vida de *S. neseri* foi completado após 17 dias da liberação dos parasitoides, e se iniciou a coleta diária dos parasitoides emergidos em cada gaiola.

2.2 Liberações de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae)

Após a introdução de *S. neseri* no Brasil em 2015 e permanecer em quarentena, começou a ser criado pelo Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais (LCBPF), o qual é associado ao Programa Cooperativo de Proteção Florestal/ Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (PROTEF/IPEF) e realiza as liberações desse parasitoide em plantios florestais com ataque de *L. invasa*.

As liberações de *S. neseri* (Figura 1) foram realizadas em áreas das empresas florestais com infestação de *L. invasa* e sem aplicação de químicos. Os ramos escolhidos para a liberação do parasitoide foram aqueles com maior infestação e com galhas maduras, que é quando a galha muda de coloração, passam de verdes para rosa-avermelhadas ou vermelho-escura, e galhas com orifícios foram evitadas (Figura 2). Os parasitoides foram armazenados em tubos de poliestileno e alimentados com mel, esses tubos foram colocados em caixa térmica e transportados até o campo. A quantidade de insetos liberados variou de 22 a 1100 parasitoides por ponto de liberação.



Fig. 1. Macho e fêmea de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae).



Fig. 2. Galhas causadas por *Leptocybe invasa* (Hym.: Eulophidae). **A:** Galhas com coloração verde; **B:** Galhas no último estágio de desenvolvimento.

A recuperação dos ramos foi realizado entre 17 e 175 dias após as liberações de *S. neneri*. Foi solicitado a cada empresa que enviasse ramos de cada ponto de liberação, os ramos foram coletados, armazenados em sacos plásticos e identificados por cada ponto de liberação e enviados ao LCBPF. Após a chegada desses ramos ao laboratório os mesmos foram colocados dentro de potes plásticos contendo água e acondicionados em gaiolas de madeira. Diariamente insetos de *S. neneri* e *L. invasa* emergidos dos ramos foram contabilizados, coletados, identificados e armazenados em álcool.

Foram realizadas planilhas com os dados de liberação do parasitoide e também confeccionados mapas temáticos com os locais de liberação e recuperação de *S. neneri*. Um gráfico de correlação entre os parasitoides liberados e recuperados foi realizado no Microsoft Excel®.

3. Resultados e Discussão

As liberações de *S. nesei* foram realizadas nos estados Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Tocantins e Maranhão (Fig. 3). Os estados que tiveram o estabelecimento de *S. nesei* foram Bahia, Minas Gerais e São Paulo (Tabela 1).

O número médio de parasitoides *S. nesei* liberados foi de 173,2 indivíduos por local, com o mínimo de 22 e o máximo de 1100 parasitoides liberados. O número total de parasitoides liberados no Brasil foi de 11255 indivíduos até abril de 2017.

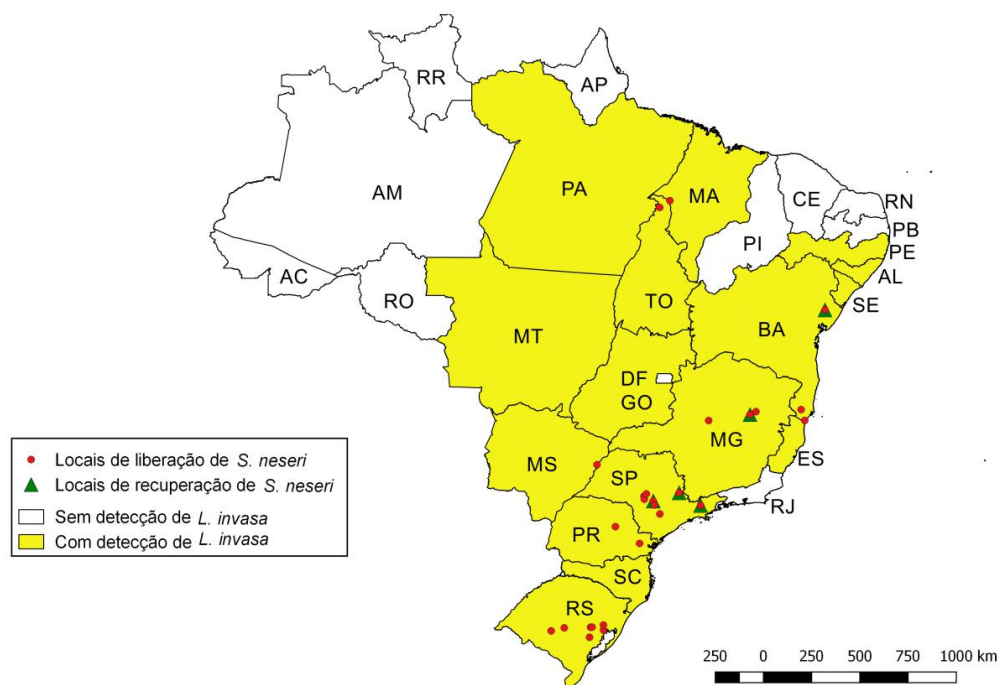


Fig. 3. Liberações de *S. nesei* em plantações de eucalipto no Brasil e sua recuperação (2015 - 2017).

Observou-se a distribuição dos pontos de liberação de *S. nesei* no Brasil, os locais em que os ramos de eucalipto foram recuperados para confirmação do estabelecimento de *S. nesei*, e os locais de confirmação do estabelecimento do inseto (Fig. 3). O parasitoide *S. nesei* foi liberado em um total de 65 locais, distribuídos em 27 municípios. Os municípios com liberação do parasitoide foram Inhambupe, Caravelas e Mucuri (BA), Imperatriz (MA), Três Lagoas (MS),

Itamarandiba, Capelinha e Três Marias (MG), Telêmaco Borba e Colombo (PR), Barra do Ribeiro, São Sepé, Dom Feliciano, Minas do Leão, Butiá, São Gabriel e Eldorado do Sul (RS), Borebi, Caçapava, Itapetininga, Lençóis Paulista, Agudos, Botucatu, Pardinho, Mogi Guaçu e Espírito Santo do Pinhal (SP), São Bento do Tocantins (TO) (Tabela 1).

Os locais com estabelecimento de *S. nesei* foram Inhambupe (BA), Itamarandiba (MG), Botucatu, Caçapava e Mogi-Guaçu (SP) (Fig. 3, Tabela 1), sendo que esses locais provavelmente apresentaram condições favoráveis ao desenvolvimento do parasitoide. A idade das galhas nesses locais influenciam diretamente para o estabelecimento de *S. nesei*, pois o parasitoide tem preferência por galhas maduras, nos últimos estágios de desenvolvimento ((Dittrich-Schröder et al., 2014). Outro fator envolvido são as diferentes espécies e/ou clones de eucalipto em cada local de liberação, pois há pouca informação sobre o tamanho/idade das galhas para toda a variabilidade genética do eucalipto.

Selitrichodes nesei mostrou ser um potencial para controle de *L. invasa* em campo, com liberações inoculativas desse parasitoide.

O parasitoide *Trichogramma ostrinae* Pang et Chen (Hym.: Trichogrammatidae) reduziu até 50% de infestações de *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lep.: Crambidae) em milho doce com liberações inoculativas em casa de vegetação (Wright et al., 2002). Em trabalho de Corrêa-Ferreira & Moscardi (1996) liberações inoculativas em campo do parasitoide *Trissolcus basal* Wolaston (Hym.: Scelionidae) em soja contra o ataque de percevejos, *Nezara viridula* L., *Piezodorus guildinii* Westwood e *Euschistus heros* Fabr., reduziu a densidade dos percevejos em uma média de 54% a 58%.

Modelo 1

dos, regiões e municípios de liberações e recuperações de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) no Brasil.

Estado	Região	Município	Material genético	Liberação	Parasit. liberados	Recuperação	Parasit. recuperados		
BA	Nordeste	Inhambupe	<i>Eucalyptus</i> sp.	01/07/2015	32	171 dias	3		
	Sul	Caravelas	<i>Eucalyptus</i> spp.	13/06/2016	200	-	-		
		Mucuri	Híbrido <i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	13/06/2016	300	-	-		
MA	Oeste	Imperatriz	<i>Eucalyptus</i> sp.	21/01/2016	100	-	-		
MS	Leste	Três Lagoas	<i>E. grandis</i>	23/06/2016	100	42 dias	0		
					50	42 dias	0		
					50	42 dias	0		
					100	42 dias	0		
					100	42 dias	0		
					100	42 dias	0		
					50	42 dias	0		
				12/08/2016	100	42 dias	0		
					100	46 dias	0		
					100	46 dias	0		
					100	46 dias	0		
					100	46 dias	0		
					50	46 dias	0		
					100	46 dias	0		
MG	Nordeste	Itamarandiba	<i>Eucalyptus</i> sp.	25/10/2016	200	-	-		
					65	-	-		
				16/07/2015	300	-	-		
					Progênie de <i>E. tereticornis</i>	07/03/2016	140	59 dias	12
					<i>E. camaldulensis</i>	07/03/2016	100	59 dias	1
					<i>E. camaldulensis</i> x <i>E. grandis</i>	07/03/2016	150	59 dias	0
					Progênie de <i>E. saligna</i>	05/05/2016	1100	41 dias	11
					<i>E. tereticornis</i>	06/05/2016	800	41 dias	0
PR	Centro-Leste	Telêmaco Borba	<i>Eucalyptus</i> sp.	06/09/2016	100	-	-		
					22	-	-		
	Leste	Colombo	<i>Eucalyptus</i> sp.	08/08/2016	120	-	-		

Continuação Tabela 1

Estados, regiões e municípios de liberações e recuperações de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) no Brasil.

Estado	Região	Município	Material genético	Liberação	Parasit. liberados	Recuperação	Parasit. recuperados
RS	Central	São Sepé	<i>E. dunnii</i>	03/02/2016	130	78 dias	0
			<i>Eucalyptus</i> sp.	18/05/2016	50	-	-
		Barra do Ribeiro	Híbridos de <i>E. globulus</i>	03/02/2016	180	78 dias	0
	Leste	Butiá	<i>Eucalyptus</i> sp.	29/04/2016	200	-	-
					200	-	-
		Dom Feliciano	<i>E. dunnii</i>	04/02/2016	80	78 dias	0
			<i>Eucalyptus</i> spp.	17/05/2016	100	-	-
		Eldorado do Sul	<i>Eucalyptus</i> sp.	17/05/2016	50	-	-
				29/04/2016	200	-	-
				29/04/2016	200	-	-
		Minas do Leão	<i>Eucalyptus</i> sp.	11/01/2017	40	-	-
	Sudoeste	São Gabriel	<i>Eucalyptus</i> sp.	30/04/2016	200	-	-
				18/05/2016	100	-	-
SP	Centro-Oeste	Agudos	<i>E. camaldulensis</i>	28/04/2016	300	-	-
			<i>E. grandis</i>	28/04/2016	400	-	-
		Borebi	<i>Eucalyptus</i> sp.	04/08/2015	105	-	-
					300	-	-
		Lençóis Paulista	<i>E. grandis</i>	28/04/2016	300	-	-
					400	-	-
	Centro-Sul	Botucatu	<i>E. grandis</i> x <i>E. camaldulensis</i>	02/06/2015	151	17 dias	358
			<i>E. urophylla</i> x <i>E. grandis</i>	28/10/2015	25	17 dias	62
			<i>Eucalyptus</i> spp.	20/04/2016	200	-	-
					60	175 dias	0
				22/04/2016	100	79 dias	14
					120	81 dias	4
		Pardinho	<i>E. saligna</i>	08/09/2016	200	-	-
	Leste	Espírito Santo do Pinhal	<i>E. grandis</i> clonal	20/01/2017	100	58 dias	0
					50	58 dias	0
		Mogi Guaçu	<i>E. grandis</i> clonal	20/01/2017	50	58 dias	47
	Sudoeste	Itapetininga	<i>Eucalyptus</i> sp.	01/03/2016	40	-	-
					40	-	-
					80	-	-
					620	-	-
	Sudeste	Caçapava	Progênes de <i>E. grandis</i>	18/02/2016	505	48 dias	5
TO	Norte	São Bento do Tocantins	<i>E. camaldulensis</i> x <i>Eucalyptus</i> spp.	14/06/2016	350	-	-
				21/01/2016	100	-	-

Quanto aos parasitoides liberados e recuperados em todos os locais de liberação não apresentaram uma correlação (Fig. 3).

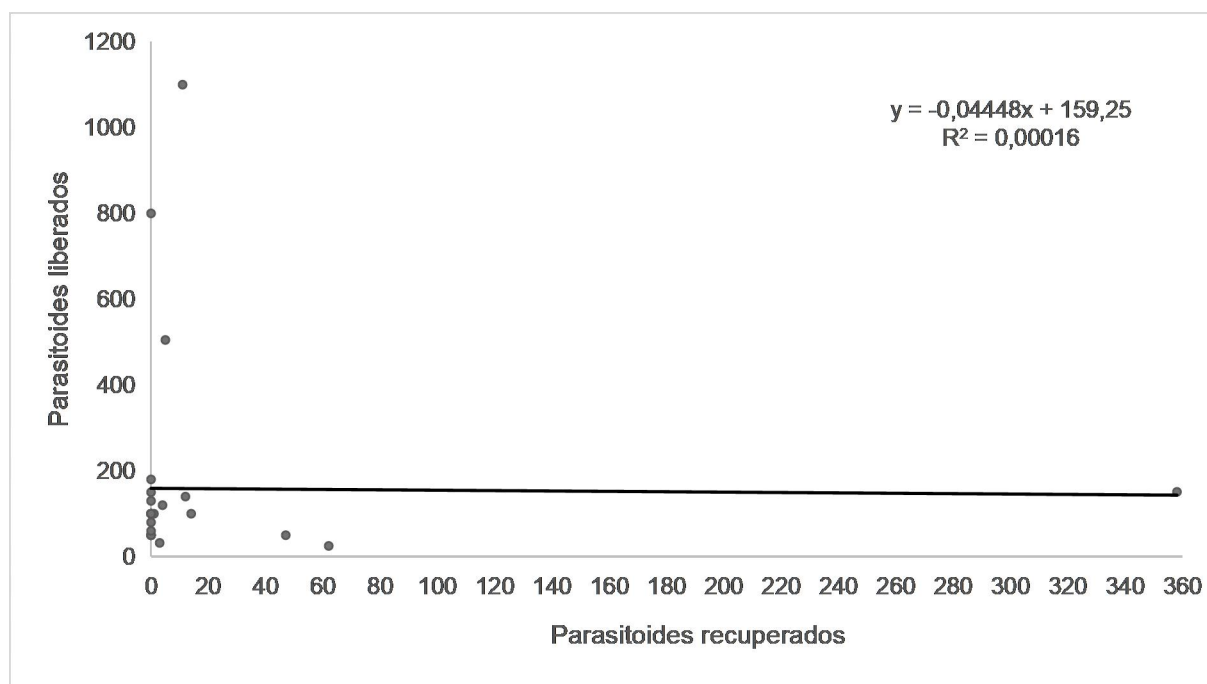


Fig. 3. Correlação entre o número de parasitoides liberados e recuperados de *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae).

A maioria dos locais de liberação onde *S. neseri* se estabeleceu, foi onde a coleta dos ramos foi realizada com um número menor de dias desde a liberação, mostrando que é preciso mais liberações nos outros locais em que o parasitoide não apresentou estabelecimento. Foi observado que os locais de estabelecimento de *S. neseri* foram aqueles que apresentaram menor número de parasitoides liberados, sendo, 32, 140, 100, 151, 25, 100, 120, 50 indivíduos liberados, com recuperação de 3, 12, 1, 258, 62, 14, 4, 47 indivíduos respectivamente, exceto as liberações de 505 e 1100 insetos, as quais foram elevadas e apresentaram recuperação de 5 e 11 insetos respectivamente (Tabela 1).

Onde foram realizadas liberações de 151 e 25 insetos, e recuperados 358 e 62 parasitoides respectivamente. Nesses locais as liberações foram realizadas utilizando sacos de “voil” em volta dos ramos, assim, forçando o parasitismo de *S. neseri*.

Dos 32 locais em que os parasitoides foram liberados e foi realizada a coleta de ramos e não apresentaram o estabelecimento de *S. neseri* foram 22 locais, onde pode-se dar ao fato de temperatura e umidade relativa não adequadas, como

também o estágio em que as galhas de *L. invasa* se encontravam no local de liberação, sendo que as fêmeas de *S. neneri* parasitam larvas e prepupas, ou seja galhas já no último estágio de desenvolvimento (Dittrich-Schröder et al., 2014).

Nesses locais que apresentaram estabelecimento de *S. neneri*, as liberações foram mais controladas, coletando ramos das mesmas árvores que foram realizadas as liberações dos insetos e em plantios baixos. Já os locais onde não ocorreu o estabelecimento, muitas vezes foram em plantios altos, onde não se tinha controle da fase das galhas de *L. invasa*, e os ramos eram recuperados de árvores próximas ao local de liberação.

Quanto aos dados dos parasitoides liberados e recuperados nos locais que tiveram a recuperação dos ramos de eucalipto, os mesmos não apresentaram uma correlação, com a curva não apresentando uma tendência, sendo que a maioria dos locais que os ramos foram coletados, não apresentaram recuperação de *S. neneri*.

A recuperação de *S. neneri* em alguns locais demonstra que esse parasitoide é um potencial para o controle de *L. invasa* e é preciso aprimorar a metodologia de liberação desse inseto.

Conclusões

O parasitoide *S. neneri* foi liberado em 64 locais, distribuídos entre 27 municípios. *S. neneri* se estabeleceu em campo em três estados brasileiros, sendo 5 municípios, Inhambupe (BA), Itamarandiba (MG), Caçapava, Botucatu e Mogi-Guaçu (SP).

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa.

Às empresas florestais Copener Florestal, Aperam BioEnergia, Klabin, Suzano Papel e Celulose, Gerdau, International Paper, Lwarcel Celulose, Fibria Celulose S.A., CMPC - Celulose Riograndense, Duratex S.A., associadas ao PROTEF/IPEF, pela disponibilidade dos dados.

Referências

Corrêa-Ferreira, B. S., Moscardi, F., 1996. Biological control of soybean stink bugs by inoculative releases of *Trissolcus basal*s. Entomol Exp Appl. 79, 1-7.

Costa, V.A., Berti Filho, E., Wilcken, C.F., Stape, J.L., La Salle, J., Teixeira L.D. 2008. *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) in Brazil. New Forest pest reaches the new world. Rev. Agric. 83, 136-139.

Dittrich-schröder, G., Harney, M., Neser, S., Joffe, T., Bush, S., Hurley, B.P., Wingfield, M.J., Slippers, B. 2014. Biology and host preference of *Selitrichodes neseri*: A potential biological control agent of the *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa*. Biol. Control. 78, 33-41.

Fernandes, B.V., Barcelos, J.A.V., Andrade, H.B., Zanuncio, J.C. 2014. *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae), an exotic pest of *Eucalyptus*, in Minas Gerais State, Brazil. Fla. Entomol. 97, 824-826.

Garlet, J., Costa, E.C., Boscardin, J., Deponti, G., Shwengber, C.R., Machado, L.M. 2013. *Leptocybe invasa* em *Eucalyptus* sp. no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Ciênc. Rural. 43, 2175-2177.

Kavitha-kumari, N., Kulkarni, H., Vastrad, A.S., Goud, K.B. 2010. Biology of eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher and La Salle (Hymenoptera: Eulophidae). Karnataka J. Agric. Sci. 23, 211–212.

Kelly, J., La Salle, J., Harney, M., Dittrich-Schröder, G., Hurley, B. 2012. *Selitrichodes neseri* n. sp., a new parasitoid of the eucalyptus gall wasp *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). Zootaxa. 3333, 50-57.

Mackauer, M., Chau, A., 2001. Adaptive self superparasitism in a solitary parasitoid wasp: the influence of clutch size on offspring size. Funct Ecol. 15, 335-343.

- Masson, M.V. 2015. Dinâmica populacional e manejo de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em plantações de eucalipto. 86 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas.
- Moraes, G.J., Berti Filho, E. Controle biológico de pragas no Brasil. 2005. Revista USP. 64,144-155.
- Mendel, Z., Protasov, A., Fisher, N., La Salle, J. 2004. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. Aust. J. Entomol. 43, 101-113.
- Nugnes, F., Gebiola, M., Monti, M.M., Gualtieri, L., Giorgini, M., Wang, J., Bernardo, H. 2015. Genetic diversity of the invasive gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) and of its *Rickettsia* endosymbiont, and associated sex-ratio differences. Plos One. 10, 1–19.
- Pereira, J.M., Melo, A.P.C., Rodrigues, O.D., Dias, T.K.R., Wilcken, C.F. Registro de *Leptocybe invasa* no estado de Goiás. 2014. Ciênc. Rural. 44, 1721-1724.
- Puretz, B.O., Potrich, M., Miranda, F.D.A., Lozano, E.R., Freddo, A. 2015. Distribuição da vespa da galha do eucalipto. Pesq. Flor. Bras. 35, 329-334.
- Rinaldi, D.A.M.F., Barbosa, L.R., Wilcken, C.F., Zaché, B., Araújo, M.M., Carvalho, R.C.Z. 2013. Ocorrência de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em mudas de eucalipto no estado do Paraná. Pesq. Flor. Bras. 33, 327-330.
- Souza, A.R. 2016. Levantamento populacional e aspectos biológicos de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) e de seu parasitoide *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae). 83 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas.
- Souza, A.R., Puretz, B.O., Souza, N.M., Becchi, L.K., Veloso, S.G.M., Wilcken, C.F. 2015. Controle biológico de pragas exóticas de *Eucalyptus* spp, in: Baldin, E.L.L.,

Kronka, A.Z., Fujihara, R.T. (Eds.), Proteção Vegetal. Fepaf, Botucatu, Brazil, pp. 71-84.

Wilcken, C.F., Zaché, B., Masson, M.V., Pereira, R.A., Barbosa, L.R., Zanuncio, J.C. 2015. Vespa-da-galha-do-eucalipto, *Lepctocybe invasa* Fisher & La Salle, in: Vilela, E.F., Zucchi, R.A. (Eds.) Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros. Fealq, Piracicaba, Brazil, pp. 898-908.

Wright, M. G., Kuhar, T. P., Hoffmann, M. P., Chenus, S. A., 2002. Effect of inoculative releases of *Trichogramma ostrinae* on populations of *Ostrinia nubilalis* and damage to sweet corn and field corn. Biol. Control. 23, 149-155.

Zheng, X.L., Huang, Z.Y., Dong, D., Guo, C.H., Li, J., Yang, Z.D., Yang, X.H., Lu, W. 2016. Parasitoids of the eucalyptus gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in China. Parasite. 23, 1-7.

2. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Uma fonte de mel em diferentes concentrações aumenta a sobrevivência de adultos de *S. nesei*.

- A maior longevidade de *S. nesei* foi a 22 °C, e menor a 34 °C, com esses dados auxiliando na criação desse parasitoide em laboratório.

- Fêmeas de *Selitrichodes nesei* são sinovigênicas e possuem ovários meroísticos politrófico e nos machos ocorre degeneração dos testículos após a cópula.

- O estabelecimento de *S. nesei* foi observado em campo em 5 municípios brasileiros, Inhambupe (BA), Itamarandiba (MG), Caçapava, Botucatu e Mogi-Guaçu (SP). Com isso pode-se observar o potencial desse parasitoide para o controle de *L. invasa*.

3. REFERÊNCIAS

BIEZANKO, C.M.; BOSQ, J.M. Cerambycidae de Pelotas e seus arredores. **Agros**, v. 9, p.3-15, 1956.

MENDEL, Z. et al. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. **Australian Journal of Entomology**, Israel, p. 101–113, 2004.

NOACK A. E. et al. Systematic revision of Thaumastocoris Kirkaldy (Hemiptera: Heteroptera: Thaumastocoridae). **Zootaxa**, v. 3121, p. 1-60. 2011.

QUEIROZ, D, L. Pragas Exóticas e Potenciais a Eucaliptocultura no Brasil. **9º Simpósio de Manejo de Doenças de Plantas**, manejo fitossanitário de cultivos agroenergéticos. p. 239-249. 2009.

IBÁ. **Industria Brasileira de Árvores**. Relatório anual 2016, ano base 2015. 100 p. Disponível em: <<http://iba.org/pt/biblioteca-iba/publicacoes>>. Acesso em: 02 de dez. 2016.

PEREIRA, J. C. D. et al. **Características da madeira de algumas espécies de eucalipto plantadas no Brasil**. Colombo: Embrapa Florestas. 113 p. 2000.

PIMENTEL, D. et al. Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 84, p. 1–20. 2001.

ROSADO, A. M. et al. Seleção simultânea de clones de eucalipto de acordo com produtividade, estabilidade e adaptabilidade. **Pesq. agropec. bras.**, v.47, n.7, p.964-971. Brasília. 2012.

RIBEIRO, G. T. **Ocorrência, caracterização e inimigos naturais do broqueador *Phoracantha semipunctata* (Coleoptera: Cerambycidae) em eucalipto no Brasil**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 84 p. 2001.

SARMENTO, A. M. P. **A first approach to the development of an innovative trapping system for *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae, Gonipterini).** 2015. 40 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Gestão Ambiental) - Universidade de Lisboa, 2015.

VILAS BÔAS, O.; MAX, J. C. M.; MELO, A. C. G. de. Crescimento comparativo de espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia* no município de Marília, SP. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v.21, n.1, p.63-72, jun. 2009. Disponível em: <http://www.iflorestal.sp.gov.br/publicacoes/revista_if/RIF-21-1/63-72.pdf>. Acesso em 17 de junho de 2013.

WILCKEN, C. F.; BERTI FILHO, E. Vespa-da-galha do eucalipto (*Leptocybe invasa*) (Hymenoptera: Eulophidae): nova praga de florestas de eucalipto no Brasil. 11 p. **IPEF**, Botucatu, mai. 2008. Disponível em: <<http://www.ipef.br/protecao/alerta-leptocybe.invasa.pdf>>. Acesso em: 17 de junho de 2013.

WILCKEN, C.F.; COUTO, E.B.; ORLATO, C.; FERREIRA-FILHO, P.J.; FIRMINO, D.C. Ocorrência do psilídeo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) em florestas de eucalipto no Brasil. Circular técnica IPEF, Piracicaba, v.201, p. 1-11, 2003.

WILCKEN, C. F. et al. Introdução de *Glycaspis brimblecombei* e *Leptocybe invasa* em eucalipto no Brasil. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PRAGAS QUARENTENÁRIAS FLORESTAIS. Colombo, 2012, p. 30-33. **Anais**. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/951683>>. Acesso em 16 de mar. 2014.

WILCKEN, C. F.; ZACHÉ, B.; MASSON, M. V.; PEREIRA, R. A.; BARBOSA, L. R.; ZANUNCIO, J. C. A vespa-da-galha-do-eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle. In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A. **Pragas Introduzidas no Brasil. Insetos e ácaros**. Piracicaba: Fealq, 2015. v.1, cap. 50, p.835–844. 2015.