



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



CAROLINA JORGE GONZALEZ

**ECOLOGIA DE *Leptocybe invasa* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SEUS
PARASITOIDES E SIMBIONTES EM *Eucalyptus***

Botucatu

2019

CAROLINA JORGE GONZALEZ

**ECOLOGIA DE *Leptocybe invasa* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SEUS
PARASITOIDES E SIMBIONTES EM *Eucalyptus***

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Ciência Florestal.

Orientador: Dr. Carlos F. Wilcken

Coorientador: Dr. Edson L. Baldin

Botucatu

2019

J82e Jorge Gonzalez, Carolina
Ecologia de *Leptocybe* invasora (Hymenoptera: Eulophidae) e seus
parasitoides e simbiotes em *Eucalyptus* / Carolina Jorge Gonzalez. --
Botucatu, 2019
160 p. : il., tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientador: Carlos F. Wilcken
Coorientador: Edson L.L. Baldin

1. Proteção florestal. 2. Insetos-praga. 3. Entomologia Florestal. I.
Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: "ECOLOGIA DE *Leptocybe invasa* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SEUS PARASITOIDES E SIMBIOTES EM *Eucalyptus*"

AUTORA: CAROLINA JORGE GONZALEZ

ORIENTADOR: CARLOS FREDERICO WILCKEN

COORIENTADOR: EDSON LUIZ LOPES BALDIN

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


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


Prof. Dr. LEONARDO RODRIGUES BARBOSA
Entomologia Florestal / Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária


Professor Adjunto MARCUS VINÍCIUS SAMPAIO
Instituto de Ciências Agrárias / Universidade Federal de Uberlândia


Prof. Dr. EVERTON PIRES SOLIMAN
Tecnologia e Inovação / Suzano S.A.


Pesquisador Dr. MURICI CARLOS CANDELARIA
Pesquisa e Desenvolvimento / FuturaGene Brasil Tecnologia Ltda.

Botucatu, 17 de junho de 2019.

*Dedicado a minha irmã Gabriela e
em memória dos meus pais,
Sonía e Waldemar.*

AGRADECIMENTOS

A meus pais Sonia e Waldemar por me ensinar a superar os obstáculos com dedicação e carinho.

A minha irmã Gabriela, por me acompanhar nas diferentes etapas da vida e pelo apoio.

A Martha Fernandez, Luis Correa e Juan Martínez, primos da minha mãe, que sempre estiveram dando seu carinho e apoio. Obrigada!

Ao Prof. Dr. Carlos F. Wilcken, por ter aceitado o desafio de me orientar, pelos ensinamentos tanto a nível acadêmico como no pessoal, pela humildade de compartilhar seu conhecimento, pela paciência e pela confiança depositada em meu trabalho, com certeza é um exemplo de professor a seguir.

Ao Prof. Dr. Edson L. L. Baldin, por ter aceitado ser meu co-orientador, pela paciência, apoio na elaboração dos experimentos e sugestões para aperfeiçoar a tese, pela qualidade humana e exemplo de professor e, que gostaria ser algum dia.

Aos Professores integrantes da banca por terem aceitado participar e por seus aportes.

Ao Programa de Apoyo a Estudiantes de Doctorado del Extranjero (AUIP-PAEDEX) PAEDEX, de la Asociación Universitaria Iberoamericana de posgraduación pela bolsa do, pelo apoio financeiro, concedido por meio de bolsa de doutorado.

Ao Programa Cooperativo de Pragas Florestais (Protef), em especial ao Mag. Luis Renato Junqueira, pelo apoio financeiro para poder realizar os experimentos da tese e pela colaboração para poder participar de eventos científicos e poder difundir parte do trabalho realizado durante a tese.

A empresa Aperam Bioenergia, pela concessão da área e apoio na instalação e condução dos experimentos de dispersão e flutuação populacional realizado em Itamarandiba, MG. Em especial aos funcionários: Mag. Nivaldo de Souza Martins, Marcelino de Amaral Filho, ao pessoal de campo Zé Vicente, Zé, Zezinho, Anderson, Yofre, Ronaldo, que auxiliaram durante as coletas no campo e pelos ensinamentos, o conhecimento deles do campo é admirável!

A empresa International Paper, pela concessão da área e apoio na instalação e condução do experimento de distribuição vertical de *L. invasa* e de *S. nesi* em Mogi Guaçu, em especial ao Eng. Renato Meulmann, ao Lic. Ramón e o pessoal de campo Batata, pela ajuda no trabalho de campo.

A empresa Lumin (ex-Weyerhaeuser Uruguay S.A.), pela concessão de plantas para os testes, pelo apoio logístico e a disposição de poder colaborar com a pesquisa. Em

especial ao Dr. Juan Pedro Posse e a MCs Agr. Paola Molina, pelos ensinamentos, e apoio. A Juliana Ivanchenco e Gerardo Osorio pelo apoio no campo.

A empresa UPM-Forestal Oriental do Uruguai, pelo apoio, em especial a MCs. Agr. Rossana Reyna, pela disposição e colaboração.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal e em Proteção de Plantas pelos ensinamentos durante a realização das disciplinas.

Aos Professores Dra. Regiane C. de Oliveira Bueno e ao Dr. José Raimundo Passos, pelos aportes realizados durante o exame de qualificação, pelo incentivo a continuar e pelas sugestões realizadas, que melhoraram a proposta da tese.

A Profa. Silvia Renata Siciliano, por poder realizar as análises moleculares no seu laboratório.

Aos funcionários da FCA/UNESP, em especial:

Da Seção de Pós-Graduação, pelo auxílio, paciência e atenção durante essa etapa, em especial, a Taynan e Adriana. Aos funcionários da biblioteca e ao Nivaldo da secretária do Departamento de Proteção vegetal, pela simpatia e colaboração. À Claudia do Escritório de Relações Internacionais (ERI), pelas orientações antes e durante minha estadia no Brasil. A Juliane, da Diretoria, pelo carinho, ajuda e o apoio para conseguir marcar reunião com o Prof. Wilcken.

Aos funcionários da Universidad de la República Sede Tacuarembó, em especial a Esther, Pablo Núñez, Carla Siqueira, Erika Gularte, Pablo Bastos, Mariela; pela ajuda, carinho e apoio facilitando os processos administrativos para poder fazer o doutorado no Brasil.

Aos amigos e companheiros de Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais (LCBPF), durante estes anos foram muitas as pessoas que passaram pelo lab, e teve o gosto de compartilhar. Quero agradecer especial a Luciane K. Becchi, pelo apoio e momentos compartilhados, que fizeram o dia a dia mais leve. Obrigada Lu! A Simone Velozo, Ana Laura Favoretto, Murilo Fonseca, Fábio Araújo, Barbara Puretz, Amanda R. de Souza, Carolina Jordan, Sidinei Dellacort, Thais A. Mota, Caroline Dias, pela ajuda durante os experimentos e pelo tempo compartilhado. As Técnicas Vanessa Carvalho, Lorena Hilário e Fernanda Paes, pelos ensinamentos, apoio, a ajuda durante os experimentos e por fazer o dia a dia mais animado durante estes quase quatro anos em Botucatu!.

A Rita e Marcos, os amigos de Botucatu que sempre vou levar no meu coração!

A Gabriela Villamagua, pela ajuda e orientações quando cheguei no Brasil, lá pelo 2015, pela amizade e por matar a saudade de falar em espanhol!

A meu ex orientador de graduação e mestrado, o Prof. Dr. Miguel Simó, quem me ensino a ser uma boa profissional. Agradeço pelos ensinamentos e pelo apoio pessoal desde meu ingresso na Faculdade.

Aos Professores Carlos M., Bentancourt, Dr. César Basso e Dr. Martín Bollazzi, da Facultad de Agronomía, UdelaR, pela confiança depositada quando concursei e ganhei o cargo de Entomologia Florestal, e pelo apoio durante estes anos. Eu nunca imaginei que minha vida poderia mudar tanto! Obrigada.

Ao Dr. Roberto Scoz, diretor do Programa Florestal de INIA Tacuarembó, pela confiança, apoio e ensinamentos durante estes 10 anos que a produção florestal cruzou nossos caminhos.

A Verónica González Curtina, Pía Romero e Lucio Arbiza, pela ajuda com algumas atividades da tese desenvolvidas em Tacuarembó, obrigada!

Aos meus amigos, que graças a eles estou aqui fechando uma nova etapa!

A Leandro Giuliani, a matemática nos uniu e logo a biologia e aracnologia unificou nossa irmandade e nos fez compartilhar muitos momentos. Sem teu apoio amigo, não teria chegado até aqui!

Aos amigos entomólogos “do piso 8” Lucia Miguel e Manuel Castro, pelo apoio durante esta longa etapa, pelas conversas pelo whats ou pelos mates e cafés compartilhados! São os amigos-irmãos que a entomologia me deu. Gracias!

A Andrea Albin, pelo apoio durante esta longa etapa, pelos bons momentos compartilhados e pelas longas conversas. Gracias!

Aos “ex-FCien” (como nós chamamos), amigos da faculdade que seguiram diferentes rumos, mas que agradeço o poder contar com eles, Eliza Souza, Jorge Olivera, Daniela Lima e Fernanda San Roman.

Al Dr Gonzalo Martínez, pela amizade e ajuda durante estes anos de convívio no Campus interinstitucional de Tacuarembó, e por me deixar trabalhar em seu laboratório e pelas correções idiomáticas obrigada Gonza!

Aos amigos que “el Tacua” me deu: Leonardo Delgado, Estela Baccino, Diana Valle, Lorena Luna, Natalia Nikichuk, Valeria Ferreira. A Mariana Pintos, pela ajuda, os mates compartilhados, as horas de conversa e pelo meu sobrinho Thiago! A Patricia Basile, pelo apoio e amizade desde que cheguei em Tacuarembó, pelas horas de conversas compartilhadas e pelo meu sobrinho Guille! A meus amigos Stephany Lara e Victor Argibai, por terem-me adotado, me apoiando nos momentos bons e nos difíceis, que a distância tem nos unido mais, e pela sobrinha que vem em caminho.

A todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho. Obrigada!

“El arte y la naturaleza siempre estarán luchando hasta que finalmente se conquisten uno al otro para que la victoria sea el mismo trazo y línea”.

MERIAN, M. S. **Metamorphosis insectorum Surinamensium, of the Verandering ser Surinamche der Insecten.** 1.ed. Amsterdam, 1705, 196 p.

RESUMO

O *Eucalyptus* é o gênero florestal mais plantado no hemisfério sul, sendo a base da produção florestal para Brasil e Uruguai. A espécie *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) é uma microvespa de origem Australiana considerada uma das principais pragas de plantios e viveiros de eucaliptos. Esta espécie induz a formação de galhas em folhas e ramos de *Eucalyptus* spp. O uso do controle biológico e a resistência de plantas são as estratégias mais promissoras para o controle de *L. invasa*. Conhecer os fatores bióticos e abióticos que afetam a capacidade de dispersão e estabelecimento da praga é vital para o manejo embora, há ausência de metodologia padrão para seu monitoramento. O presente estudo objetivou-se em conhecer a ecologia, distribuição geográfica e espacial de *L. invasa* e seus parasitoides o controle biológico desta praga em plantios de *Eucalyptus* spp, e estudar a presença de endossimbiontes secundários. O uso de armadilhas adesivas amarelas resultou ser uma boa metodologia para o monitoramento de *L. invasa* e seu parasitoide *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) em plantios de *Eucalyptus* spp. Embora a altura de 4 m tenha sido a que apresentou as maiores capturas, a altura de 1,8 m foi a segunda, sendo considerada uma boa altura para colocar as armadilhas. A modelagem climática de *L. invasa* para Uruguai indicou melhores condições para o estabelecimento da praga na região oeste e norte do país. Relata-se pela primeira vez a presença dos parasitoides *Quadrastichus mendeli* e *Megastigmus zebrinus* e de machos de *L. invasa* no Uruguai. As capturas de *L. invasa* apresentaram uma correlação positiva com o aumento da temperatura. *S. neseri* apresentou uma correlação positiva com o aumento de *L. invasa* e *M. brasiliensis* apresentou uma correlação negativa após a liberação e estabelecimento do *S. neseri*. O parasitoide *S. neseri* apresentou uma relação de dependência populacional espacial e temporal com a praga. Confirmou-se a presença do *S. neseri* até 8 m de altura acompanhando a presença de galhas na copa. Árvores maiores do que três anos apresentaram uma menor infestação do que o plantio de dois anos. Foram encontrados seis gêneros de endossimbiontes associados a *L. invasa*, quatro a *S. neseri*.

Palavras-chave: vespas galhadoras; *Eucalyptus* spp.; distribuição potencial; parasitoides; controle biológico; endossimbiontes.

ABSTRACT

Eucalyptus is the most planted forest genus in the southern hemisphere, being the basis of forest production for Brazil and Uruguay. *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) is a microhymenopteran species native to Australia that is considered one of the major *Eucalyptus* pests in plantations and nurseries. This species induces gall formation in *Eucalyptus* spp. leaves and branches. The use of biological control and plant resistance are the most promising strategies for the management of *L. invasa*. Knowing the biotic and abiotic factors that affect the dispersion and establishment of this pest is necessary for the management, although there is no standard methodology for its monitoring. The present study aimed to know the ecology, real and spatial distribution of *L. invasa* and its parasitoids, the biological control of this pest in *Eucalyptus* spp. plantations, and to study the presence of secondary endosymbionts. The use of yellow sticky traps proved to be a good methodology for monitoring *L. invasa* and its parasitoid *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) in *Eucalyptus* spp. Although the height of 4 m was the one that presented the highest catches, the height of 1.8 m was the second, being considered a good height to place the traps. The climatic modeling of *L. invasa* for Uruguay indicated better conditions for the establishment of the pest in the western and northern regions of the country. The presence of the parasitoids *Quadrastichus mendeli* and *Megastigmus zebrinus* and males of *L. invasa* in Uruguay is reported for the first time. The captures of *L. invasa* showed a positive correlation with the increase in temperature. *S. neseri* showed a positive correlation with the increase of *L. invasa* and *M. brasiliensis* showed a negative correlation after the release and establishment of *S. neseri*. The parasitoid *S. neseri* showed a spatial and temporal population dependence relationship with the pest. The presence of *S. neseri* up to 8 m in height was confirmed by following the presence of galls in the canopy. Trees older than three years had less infestation than two-year-old trees. Six endosymbionts' genera were associated with *L. invasa*, and four with *S. neseri*.

Keywords: gall wasps; *Eucalyptus* spp.; potential; distribution; parasitoids; biological control; endosymbionts.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	21
PLANTAS DE <i>EUCALYPTUS</i> SPP.	22
INSETOS-PRAGA QUE ATACAM O EUCALIPTO	25
INSETOS-PRAGA EXÓTICOS DO EUCALIPTO.....	26
CONTROLE BIOLÓGICO.....	29
DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL.....	29
ENDOSSIMBIONTES:.....	30
OBJETIVO GERAL.....	31
HIPÓTESIS TESTADAS.....	31
CAPÍTULO 1- VESPAS GALHADORAS DO <i>EUCALYPTUS</i> SPP. (MYRTACEAE)	32
1.1. INSETOS GALHADORES	33
1.2. DIVERSIDADE DE INSETOS GALHADORES DE FOLHAS E RAMOS DE <i>EUCALYPTUS</i> SPP.....	34
1.3. VESPAS GALHADORAS DE <i>EUCALYPTUS</i> SPP. E <i>CORYMBIA</i> SP.....	35
1.3.1 VESPAS GALHADORAS DE FRUTOS E SEMENTES	35
1.3.2 VESPAS GALHADORAS ASSOCIADAS A FOLHAS E RAMOS.....	37
1.4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
1.5. REFERÊNCIAS	48
CAPÍTULO 2 - CONTROLE BIOLÓGICO CLÁSSICO DE <i>LEPTOCYBE INVASA</i> COM O PARASITOIDE EXÓTICO <i>SELITRICHODES NESERI</i> (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE): DISPERSÃO, EFICIÊNCIA E COMPETIÇÃO COM O PARASITOIDE NATIVO <i>MEGASTIGMUS BRASILIENSIS</i> (HYMENOPTERA: TORYMIDAE)	56
2.1. INTRODUÇÃO	57
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	59
2.2.1 ÁREA DE ESTUDO.....	59
2.2.2 AMOSTRAGEM	60
2.2.3 ANÁLISE DOS DADOS.....	63
2.2.3.1 DINÂMICA POPULACIONAL	63
2.2.3.2 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E DISPERSÃO	63
2.3. RESULTADOS.....	65
2.3.1 DINÂMICA POPULACIONAL.....	65
2.3.2 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE <i>L. INVASA</i> E DISPERSÃO DO PARASITOIDE <i>S. NESERI</i> ..	70
2.4. DISCUSSÃO.....	74
2.4.1 DINÂMICA POPULACIONAL.....	74
2.4.2 DISPERSÃO DA PRAGA E DOS PARASITÓIDES.	75
2.4.3 MODELAGEM DA DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DE <i>L. INVASA</i> E DO PARASITOIDE <i>S. NESERI</i>	76
2.5. CONCLUSÕES	78
2.6. REFERÊNCIAS	78

CAPÍTULO 3 - DISTRIBUIÇÃO VERTICAL DE *LEPTOCYBE INVASA* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E DO SEU PARASITOIDE *SELITRICHODES NESERI* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) NO PERFIL DAS ÁRVORES DE *EUCALYPTUS* SPP.....86

3.1	INTRODUÇÃO	87
3.2	MATERIAL E METODOS.....	88
3.2.1	ÁREA DE ESTUDO.....	88
3.2.2	DESENHO AMOSTRAL.....	89
3.2.3	ANÁLISE DOS DADOS.....	92
3.3	RESULTADOS.....	92
3.3.1	DISTRIBUIÇÃO VERTICAL DE <i>L. INVASA</i> E DO PARASITOIDE <i>S. NESERI</i> NAS ARMADILHAS.....	92
3.3.2	INFESTAÇÃO DE <i>L. INVASA</i> E EMERGÊNCIAS DO PARASITOIDE <i>S. NESERI</i> Y DA PRAGA NOS RAMOS	94
3.4	DISCUSSÃO.....	95
3.4.1	DISTRIBUIÇÃO VERTICAL DE <i>L. INVASA</i> E DO PARASITOIDE <i>S. NESERI</i> NAS ARMADILHAS.....	95
3.4.2	INFESTAÇÃO DE <i>L. INVASA</i> E EMERGÊNCIAS DO PARASITOIDE <i>S. NESERI</i> Y DA PRAGA NOS RAMOS	96
3.5	CONCLUSÕES.....	97
3.6	REFERÊNCIAS	98

CAPÍTULO 4 - FLUTUAÇÃO POPULACIONAL E MODELAGEM DA DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DA VESPA-DA-GALHA DO EUCALIPTO *LEPTOCYBE INVASA* FISHER & LA SALLE (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) NO URUGUAI.....102

4.1	INTRODUÇÃO	103
4.2	MATERIAL E METODOS.....	105
4.2.1	EFEITO DA TEMPERATURA E PRECIPITAÇÃO NA DINÂMICA POPULACIONAL DE <i>L. INVASA</i>	105
4.2.1.1	ÁREA DE ESTUDO.....	105
4.2.1.2	AMOSTRAGEM	106
4.2.1.3	ANÁLISE DOS DADOS.....	107
4.2.2	DISTRIBUIÇÃO REAL E POTENCIAL DE <i>L. INVASA</i> NO URUGUAI.....	107
4.3	RESULTADOS.....	109
4.3.1	EFEITO DA TEMPERATURA E PRECIPITAÇÃO NA DINÂMICA POPULACIONAL DE <i>L. INVASA</i>	109
4.3.2	DISTRIBUIÇÃO REAL E POTENCIAL DE <i>L. INVASA</i> NO URUGUAI.....	111
4.4	DISCUSSÃO.....	112
4.4.1	EFEITO DA TEMPERATURA E PRECIPITAÇÃO NA DINÂMICA POPULACIONAL DE <i>L. INVASA</i>	112
4.4.2	DISTRIBUIÇÃO REAL E POTENCIAL DE <i>L. INVASA</i> NO URUGUAI.....	113
4.5	REFERÊNCIAS	115

CAPÍTULO 5 - PROSPECÇÃO DE INIMIGOS NATURAIS ASSOCIADOS ÀS GALHAS DE *LEPTOCYBE INVASA* FISHER & LA SALLE (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) NO URUGUAI.....121

5.1	INTRODUÇÃO	122
-----	------------------	-----

5.2	MATERIAL E METODOS.....	124
5.2.1	ÁREA DE ESTUDO.....	124
5.2.2	OBTENÇÃO, PROCESSAMENTO E CONSERVAÇÃO DAS AMOSTRAS	125
5.3	RESULTADOS.....	126
5.4	DISCUSSÃO.....	128
5.5	REFERÊNCIAS.....	131
	CAPÍTULO 6 - PROSPEÇÃO DE ENDOSSIMBIONTES ASSOCIADOS COM LEPTOCYBE INVASA FISHER & LA SALLE, E SEUS PARASITOIDES SELITRICHODES NESERI KELLY & LA SALLE E QUADRASTICHUS MENDELI KIM & LA SALLE (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE).....	137
6.1	INTRODUÇÃO	138
6.2	MATERIAL E METODOS.....	139
6.2.1	ÁREA DE ESTUDO.....	139
6.2.2	COLETA E PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS	140
6.2.3	PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS E EXTRAÇÃO DE DNA.....	141
6.2.4	PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA PCR.....	141
6.3	RESULTADOS.....	142
6.4	DISCUSSÃO.....	145
6.5	CONCLUSÕES.....	147
6.6	REFERÊNCIAS	147
	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	151
	REFERÊNCIAS.....	153

INTRODUÇÃO GERAL

As florestas têm um valor muito importante por fornecerem muitos serviços ecossistêmicos como o refúgio a diferentes espécies de animais, evitam erosão do solo, preservam a qualidade da água, fornecem alimentos e madeira para energia, fonte de compostos medicinais, além de abrigar alta diversidade de plantas e animais (FAO, 2016). Porém, segundo a FAO (2016), as florestas não devem ser consideradas simplesmente árvores isoladas e propõe para o ano de 2030 gerar uma interação entre as florestas e a agricultura, para melhor utilização dos recursos naturais de maneira mais sustentável.

A área coberta por florestas no mundo diminuiu 3,1% (129 milhões de hectares) durante o período de 1990-2015, possuindo pouco menos de quatro bilhões de hectares (FAO, 2015, 2016; PAYN et al., 2015). Em 2010 a proporção da área de terras com florestas no mundo ocupava o segundo lugar, com 30,7%, depois a agricultura com 37%, sendo América do Sul e Europa os continentes com maior área de florestas (FAO, 2016). Na América Latina observa-se mudança no uso da terra nas áreas com florestas pelo avanço da agricultura e pastagens (FAO, 2016).

Dos quase quatro bilhões de hectares de florestas no mundo apenas 7,3% são de florestas plantadas, das quais somente 19% são com espécies exóticas e/ ou introduzidas (FAO, 2015; PAYN et al., 2015). A produção florestal tem aumentado nas últimas décadas, com especial desenvolvimento em vários países de áreas temperadas e tropicais, tornando-se importantes na economia a nível local, regional e internacional (CIESLA, 2011; WILLY e SPEIGHT, 2012; FAO, 2016).

Alguns pesquisadores consideram a madeira como um dos produtos renováveis mais importantes para o ser humano (EATON e HALE, 1993). A madeira pode ser utilizada para serraria, postes, celulose e papel, lâminas (compensado), MDF, lenha, contraplacado (madeira compensada), carvão vegetal e bioenergia, entre outros (FLORES et al., 2016; PAYN et al., 2015).

Também existem os produtos florestais não-madeireiros, como a extração de fungos comestíveis, frutos (pinhões), óleos essenciais, resina, látex, entre outros. A maior parte das florestas plantadas é manejada para produção de celulose ou carvão vegetal e tem uma alta porcentagem destinada na obtenção de madeira para serraria (EATON & HALE, 1993; CIESLA, 2011). Em 2012, 46,3% da madeira roliça para a indústria era de florestas plantadas, sendo os produtores da região tropical e

subtropical os que mais contribuíram, seguido das regiões temperadas e boreal, que por apresentar temperaturas mais frias, a taxa de crescimento por ano é menor (PAYN et al., 2015).

O uso de espécies exóticas em plantações florestais teve efeito positivo no aumento da produção florestal no mundo, devido à adaptação das espécies a novos locais e à relativa ausência de problemas de pragas e doenças, que resultaram em elevadas taxas de crescimento das árvores, quando comparadas com o local de origem (CARLE et al., 2009; EVANS, 2009; GIBSON et al., 1980). Apenas trinta das mais de mil espécies de árvores de interesse florestal no mundo têm sido plantados extensivamente. As mais importantes são *Tectona grandis* L. F. (Verbenaceae) e *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook (Cupressaceae) e as restantes espécies distribuídas nos gêneros *Pinus* Linnaeus 1753 (Pinaceae), *Acacia* Martius (1829) (Fabaceae), *Eucalyptus* L'Hér. (Myrtaceae) e *Populus* L. (Salicaceae) (CARLE et al., 2009).

Os gêneros ou espécies plantadas variam de acordo das regiões climáticas, devido à adaptabilidade dos mesmos às condições ambientais e necessidades produtivas de cada localidade (CARLE et al., 2009). As florestas do Hemisfério Sul, por exemplo, estão caracterizadas pelo uso majoritariamente de espécies dos gêneros exóticos *Eucalyptus* e *Pinus* (PAYN et al., 2015).

Plantações de *Eucalyptus* spp.

O gênero *Eucalyptus* L'Hér (Myrtaceae) conta com mais de 700 espécies descritas, é originário da Austrália e ilhas vizinhas (Filipinas, Indonésia, Timor-Leste e Papua-Nova Guiné) (DOUGHTY, 2000; LADIGES, 1997; WARDELL-JHONSON, et al., 1997; WILLIAMS & BROOKER, 1997). As espécies *Eucalyptus urophylla* e *E. deglupta* são as únicas espécies do gênero que não existem naturalmente na Austrália (BRUSSA, 1994, DOUGHTY, 2002).

A distribuição geográfica natural das diferentes espécies de *Eucalyptus* na Austrália está associada com as condições climáticas, altitude e os tipos de solo presentes no país (FLORES et al., 2016). Porém, uma mesma espécie pode apresentar diferenças morfológicas em especial na altura, dependendo da região da Austrália, onde está se encontra (BRUSSA, 1994; FLORES et al., 2016). Espécies mais tolerantes as variações climáticas e ao tipo de solo como *E. camaldulensis*,

apresentam uma ampla distribuição, podendo ser encontradas em todo o território australiano, embora, outras estão restritas a locais específicos como *E. ficifolia*, sendo altamente suscetível a processos de extinção (BRUSSA, 1994). Por isso, é importante observar a procedência do material a ser utilizado em um plantio florestal, sendo que o ideal é que provenha de uma localidade com características climáticas similares ao local onde vai ser plantado para obter uma boa produtividade.

Desde 1944 há um incremento de área plantada com eucaliptos na América latina, devido a capacidade das diferentes espécies de se adaptarem a variadas condições ambientais, permitindo selecionar as mais adequadas para as localidades de interesse (BRUSSA, 1994). Algumas espécies de *Eucalyptus* apresentam importância econômica, devido ao rápido crescimento, qualidade da madeira e adaptação aos diferentes climas e solos (BROOKER, 2002).

O eucalipto é utilizado industrialmente para produzir madeira, bioenergia, celulose, extrair óleos essenciais e taninos, fabricar carvão vegetal, produzir postes, lenha, cercas de proteção para o gado (DOUGHTY, 2000). Além de serem utilizadas como plantas ornamentais em áreas recreativas (DOUGHTY, 2000; BROOKER, 2002; MENDEL et al., 2004), quebra-ventos para pomares de frutíferas (KUMARI et al, 2010; SANZANA, et al., 2012), e constituem fontes de pólen e néctar para apicultura em estações com poucas floradas (SANTOS et al., 2009; SANTOS et al., 2013), entre outros. Por isso, nos últimos anos a produção florestal tem aumentado a nível mundial, levando espécies de eucaliptos a todos os continentes, principalmente, nas áreas com climas subtropicais e tropicais onde conseguem se desenvolvem melhor (BROOKER, 2002).

A produção florestal no Brasil e no Uruguai é baseada praticamente em espécies exóticas dos gêneros *Eucalyptus* e *Pinus* (JORGE et al., 2016; FLORES et al., 2016). A área ocupada com eucalipto no Brasil totalizou 5,7 milhões de hectares em 2017, representando 72,7% das florestas comerciais (IBÁ, 2017). A situação no Uruguai é similar à do Brasil, onde o *Eucalyptus* é o gênero mais importante ocupando 78% do total da área plantada (DIEA, 2017).

Os primeiros plantios de *Eucalyptus* no Brasil iniciaram-se na década de 1920, e a partir de 1960 o governo brasileiro fomentou a produção florestal com *Eucalyptus* (FOECKEL, 2005; MORA e GARCIA, 2000). Aproximadamente trinta espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia*, e alguns híbridos, apresentam interesse econômico para a produção florestal neste país (FLORES et al., 2016). No Uruguai, foi a partir da criação

da lei florestal em 1984 que se promoveu a inversão na produção florestal, a qual segue crescendo ano a ano no país (PAYSEIRO, 2018; SPF, 2017).

As pragas (insetos e fitopatógenos) são responsáveis pela maior parte das perdas econômicas na produção florestal no mundo (WINGFIELD et al., 2008). A globalização e o aumento no transporte de mercadorias e pessoas no mundo, proporcionaram o incremento da distribuição geográfica de espécies de insetos fitófagos associadas às florestas (HURLEY et al., 2016; NAHRUNG e SWAIN, 2015; PAINE et al., 2011).

As florestas comerciais de eucalipto são as mais importantes no setor florestal do Hemisfério Sul, sendo os países da África e América do Sul os mais afetados pelo ingresso de espécies praga provenientes da Austrália (HURLEY et al., 2016). Ainda, a Austrália tem sofrido invasões biológicas de patógenos exóticos como *Austropuccinia psidii* (G. Winter) Beenken (Uredinales) (nativo do América do Sul) responsável da doença “ferrugem do eucalipto” no ano 2010 e do patógeno asiático *Phytophthora cinnamomi* Rands (Oomycetes: Peronosporales), agente causal do “Jarrah die-back” (NBPG, 2014). Essas invasões no local de origem do eucalipto geram importantes alterações nos ecossistemas naturais e perdas econômicas, aumentando o perigo de extinção das espécies mais suscetíveis (GLEN et al., 2007).

Além disso, existe uma grande preocupação mundial pelo incremento das espécies invasoras no último século que estão gerando desequilíbrios ambientais (ROY et al., 2011). REID e De LITTLE (2013), tem relatado a expansão no limite de distribuição natural de algumas espécies de besouros desfolhadores do eucalipto, ocasionando problemas em países como os Estados Unidos e a Nova Zelândia.

Devido ao material de propagação das espécies vegetais de interesse florestal ser por sementes e mudas, aumenta-se o risco do ingresso de insetos fitófagos e doenças. Portanto, considera-se que as plantas e ou material de origem vegetal são as principais fontes de ingresso e dispersão de insetos-praga (LIEBHOLD et al., 2012). Porém, nem todas as espécies exóticas que ingressam aos países conseguem se estabelecer no primeiro processo de invasão, às vezes, o êxito de um inseto-praga envolve vários processos invasivos, até que haja o estabelecimento com sucesso (GARNAS et al., 2016).

Insetos-praga que atacam o eucalipto

As florestas de eucalipto podem ser o habitat de uma grande diversidade de espécies herbívoras, vertebrados e invertebrados, que se alimentam dos diferentes estádios fisiológicos das plantas, em especial no centro de origem a Austrália, sendo os insetos os mais importantes pela diversidade e abundância (LANDSBERG & CORK, 1997). Embora, das 28 ordens de insetos, só seis (Coleoptera, Hemiptera, Hymenoptera, Isoptera (Blattodea), Lepidoptera e Orthoptera) apresentam espécies consideradas pragas para os plantios de eucaliptos (STRAUSS, 2001). Milhares de espécies de insetos fitófagos nativos foram relatadas associadas a florestas de *Eucalyptus* spp. na Austrália (MAJER et al., 2000; STRAUSS, 2001). Nos plantios de eucaliptos na Austrália foram relatadas até o ano 2000 cerca de 85 espécies de insetos nativos considerados pragas, sendo os besouros os mais diversos, com o 41% (STRAUSS, 2001).

Os insetos fitófagos podem atacar todas as partes das plantas, desde as raízes até os frutos. Portanto, podemos encontrar nos plantios de eucaliptos grupos de insetos rizófitos, desfolhadores, minadores, sugadores, brocas (xilófagos e fleófagos), galhadores e pragas das sementes e flores (BENTANCOURT & SCATONI, 2010; CIESLA, 2011). Além dos insetos prejudiciais, há insetos benéficos, como os polinizadores, os predadores e parasitoides. Os plantios de *Eucalyptus* spp. são muito importantes para os produtores de mel, principalmente nos meses de floração do eucalipto durante o outono, onde os apiários são alocados nos plantios por ser quase a única fonte de néctar para manter as colônias de abelhas nesta estação do ano (SANTOS et al., 2009).

Tanto no Brasil como no Uruguai as formigas cortadeiras dos gêneros *Acromyrmex* e *Atta* (Hymenoptera: Formicidae) são as pragas nativas que geram os maiores prejuízos durante os primeiros estágios das florestas, podendo causar a morte dos eucaliptos jovens e a detenção da atividade florestal na área (BOLAZZI, 2014; WILCKEN et al., 2015 a). Os cupins xilófagos (que vivem no interior da árvore se alimentando de madeira) e os subterrâneos (causam danos às raízes) são outros insetos nativos que podem causar danos aos plantios de *Eucalyptus* spp. (BERTI-FILHO et al., 1993). No Brasil, os cupins podem gerar muitas perdas econômicas aos produtores florestais se as mudas não forem tratadas, prévio a instalação do plantio (SANTOS et al., 1990).

Insetos-praga exóticos do eucalipto

Levando em conta que os eucaliptos são espécies exóticas para nossa região, é esperado que os insetos que se alimentam deles também sejam. Nas últimas três décadas têm duplicado o número de insetos originários da Australasia relatados atacando eucaliptos fora da distribuição natural (HURLEY et al., 2016). WINGFIELD et al. (2008) observaram na África do Sul um aumento das espécies de insetos e doenças associadas com os eucaliptos provenientes da Austrália, provavelmente devido ao aumento na área plantada com eucaliptos neste país. Essa tendência internacional tem se observado nos países da América do Sul como Brasil e Uruguai, onde nos últimos 15 anos o número de pragas exóticas do eucalipto tem aumentado consideravelmente (WILCKEN et al., 2015a). Embora, nesses países as principais perdas econômicas nos plantios de eucalipto sejam geradas por pragas nativas (formigas cortadeiras), estas são seguidas pelas pragas de origem australiano.

Os principais insetos praga exóticos do eucalipto presentes no Brasil e no são o gorgulho-do-eucalipto *Gonipterus* spp. (Coleoptera: Curculionidae); as brocas-do-eucalipto *Phoracantha recurva* Newman, 1842 e *Phoracantha semipunctata* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Cerambycidae); o percevejo bronzeado *Thaumastochoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastochoridae), o psílideo-de-concha *Glycaspis brimblecomblei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae) e a vespa-da-galha do eucalipto *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle, 2004 (Hymenoptera: Eulophidae) (JORGE et al., 2016; WILCKEN et al., 2015a).

Tendo em conta que não existem barreiras geográficas entre Brasil e Uruguai e dadas as semelhanças da produção de eucalipto entre ambos países, as pragas que tem ingressado em um país, em pouco tempo tem sido relatada no outro (Tabela 1). A maior parte destas pragas tem ingressado primeiro no Brasil e depois foram relatadas no Uruguai, com exceção do percevejo bronzeado do eucalipto e de *P. semipunctata* (Tabela 1).

As duas espécies de *Phoracantha* tem reduzida importância na região quando comparadas com as outras pragas exóticas do eucalipto, por serem pragas secundárias que atacam árvores estressadas ou debilitadas e que são facilmente controladas com medidas silviculturais (BALDINI et al., 2006). Porém, como se desenvolvem na madeira, a presença desta praga pode gerar problemas na

exportação de toras a países onde a praga não esteja presente (WILCKEN et al., 2002).

Tabela 1. Espécies de insetos-praga exóticos do eucalipto presentes em Brasil (Br) e Uruguai (Ui), com o ano do primeiro relato para cada país. H.A.= Hábito alimentar, S= sugador, D= desfolhador, F= fleófago, G= galhador, X= xilófago. SD: sem data, *= Atualização taxonômica: *Gonipterus pulverulentus* (ex *Gonipterus gibberus*) e *Gonipterus pratensis* (ex *Gonipterus scutellatus*).

Espécie	Ordem	Família	H. A.	Ano	do	relato
					Br	Ui
<i>Blastopsylla occidentalis</i>	Hemiptera	Aphalaridae	S	1997 (BURCKHART et al., 1999)	2010 (MARTINEZ et al., 2014)	
<i>Glycaspis brimblecombei</i>						
<i>Ctenarytaina eucalypti</i>		Aphalaridae	S	2003 (WILCKEN, 2003)	2006 (BALDINI et al., 2006)	
<i>Ctenarytaina spatulata</i>						
<i>Thaumastocoris peregrinus</i>						
<i>Gonipterus pulverulentus*</i>	Coleoptera	Curculionidae	D	1920 (ANDRADE, 1928)	2006-2008 (MARTÍNEZ e BIANCHI, 2010)	X
<i>Gonipterus platensis *</i>						
<i>Phoracantha recurva</i>		Cerambycidae	F	1979 (FREITAS, 1979)	1998 (MORELLI et al., 2002)	X
<i>Phoracantha semipunctata</i>						
<i>Epychrisocharis burwelli</i>						
<i>Leptocybe invasa</i>	Hymenoptera	Eulophidae	G	1994 (WILCKEN et al., 2002)	1932 (MORELLI et al., 2002)	2015 (JORGE, 2015)
				2003 (BERTI FILHO E. et al., 2004)		2011 (JORGE et al., 2016)
				2007 (COSTA et al., 2008)		

As espécies de *Ctenarytaina* (Hemiptera: Psyllidae) e *Blastopsylla occidentalis* (Hemiptera: Aphalaridae), também não têm gerado muitas perdas e estão controladas pelo parasitoide *Psyllaephagus pilosus* (Hymenoptera: Encyrtidae) e outros

parasitoides. Entretanto, o psíldeo-de-concha, o percevejo-bronzeado, os gorgulhos-do-eucalipto e a vespa-da-galha são considerados os principais responsáveis pelas perdas na produtividade do eucalipto nas últimas décadas no Brasil e no Uruguai (WILCKEN et al., 2015a).

Nos estados do Sul e Sudeste do Brasil *Gonipterus platensis* (Marelli, 1926) é considerada a principal praga em plantios de *Eucalyptus urophylla* e *E. urophylla* x *E. grandis* (SOUZA et al., 2016). No Uruguai o complexo *Gonipterus* spp., vem causando mais problemas na região Sul e Sudeste do país, onde se encontram os plantios de *E. globulus*, a espécie preferida por esta praga (BENTANCOURT e SCATONI, 2010).

O psíldeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore, 1964 (Hemiptera: Aphalaridae) é uma das pragas exóticas que tem gerado muitas perdas na produção florestal brasileira desde o ingresso no país (FERREIRA-FILHO et al., 2008 a,b; 2014), principalmente por ser uma praga de difícil controle, pois o seu parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) é pouco eficiente em algumas regiões, e ainda há dificuldade de criá-lo em laboratório, como é realizado com outros parasitoides de pragas do eucalipto. Embora no Uruguai seja considerada uma praga de menor importância, provavelmente devido os genótipos utilizados no país serem mais resistentes ou tolerantes que os afetados pelo psíldeo-de-concha no Brasil.

No caso do percevejo-bronzeado, ele é considerado uma das três pragas exóticas de maior importância para a produção de *Eucalyptus* no Brasil desde a primeira detecção em 2008 (WILCKEN et al., 2015b). *T. peregrinus* tem gerado no Brasil perdas na produção de madeira de entre 10 a 15%, o equivalente a 330 milhões de dólares durante os anos 2010 a 2015 (WILCKEN et al., 2017).

Em relação às vespas galhadoras do eucalipto, *Epychrisocharis burwelli* Schauff, 2000 e *Leptocybe invasa* Fischer & La Salle, 2004 (Hymenoptera: Eulophidae) são as duas espécies presentes no Brasil e Uruguai. *Epychrisocharis burwelli*, a vespa-da-galha-do-eucalipto-citriodora, é oligófaga sendo encontrada somente atacando árvores ou plantas jovens de *Corymbia citriodora* (SCHAUFF e GARRISON, 2000). A praga ingressou no Brasil em 2003 (BERTI-FILHO et al., 2003) e foi relatada recentemente por JORGE (2015), no Uruguai. Esta espécie pode ocasionar perdas na produção 30 a 80% de óleos essenciais nas árvores de *C. citriodora* (ANJOS e ZACARO, 2005; PEREIRA et al., 2012). Considerando que o hospedeiro é pouco plantado na região é considerada uma praga de menor importância e pouco dispersa quando comparada com *L. invasa* (FRANCO et al., 2016).

Leptocybe invasa, a vespa-da-galha do eucalipto é a última espécie relatada formalmente para Brasil e para Uruguai (COSTA et al., 2008; JORGE et al., 2016). Essa espécie é considerada uma das mais prejudiciais para os plantios e mudas de eucalipto no viveiro no mundo, (WILCKEN et al., 2015a). Ainda não foram quantificadas as perdas geradas por esta praga, mas, no Brasil tem afetado a atividade florestal durante um período de seis meses nos municípios de Turmalina e Itamarandiba, MG, devido à alta susceptibilidade do material genético plantado, tendo que ser substituído por outros materiais de *Eucalyptus* resistentes (WILCKEN et al., 2015 a).

Desde o ingresso de *L. invasa* nestes países, vêm sendo desenvolvidas pesquisas sobre medidas de controle efetivas que possam ser empregadas no manejo das populações desta praga. O uso do controle biológico com a importação do parasitoide de larvas *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) (DITTRICH-SCHRÖDER et al. 2014; WILCKEN et al., 2015a) e o uso de variedades resistentes (DITTRICH-SCHRÖDER et al. 2012; JORGE et al., 2016) são as metodologias com melhores resultados no manejo de *L. invasa*.

Controle biológico

A certificação ambiental dos bosques de produção de madeira tem levado as empresas florestais ao uso de técnicas de controle de pragas e doenças menos prejudiciais ao meio ambiente como o controle biológico (DITTRICH-SCHRÖDER et al., 2012; KENIS et al., 2019). Segundo de DeBACH (1964), o controle biológico é um fenômeno natural no qual um organismo vivo regula a população de outro organismo que é considerado prejudicial (ABROL & UMASHANKAR, 2012). Dentro dos agentes de controle biológico que são mais utilizados para diminuir os níveis populacionais das pragas se encontram os parasitoides, predadores e microrganismos entomopatogênicos como fungos, bactérias, vírus e nematoides (KENIS et al., 2019).

Distribuição espacial

A distribuição de uma espécie é um conceito amplamente discutido é de grande importância para trabalhos na área de ecologia da conservação e do manejo de pragas. A distribuição real é quando se conta com os dados dos locais de ocorrência da espécie. A Distribuição potencial é aquela que é desenvolvida aplicando um modelo de nicho ecológico, baseado nos dados de registros de presença da espécie

comparada com as variáveis climáticas das localidades (PHILIPS et al. 2006; TORRES-OLAVE, 2015).

Os modelos de nicho ecológico podem ser utilizados para estabelecer as condições ambientais favoráveis para predizer o estabelecimento de espécies (BOOTH, 2017; LI et al., 2006; SUTHERST, 2014). Vários autores tem utilizado modelos de distribuição potencial para estimar a probabilidade de dispersão e estabelecimento de espécies-praga (BARREDO et al., 2015; CARNEGUIE et al., 2006; QUEIROZ et al., 2013). OTIENO et al. (2019) utilizaram análises de distribuição potencial para estabelecer as características climáticas favoráveis na Austrália a partir dos dados climáticos nos pontos de presença de *L. invasa* no mundo.

Endossimbiontes:

Os endossimbiontes são microorganismos, em geral, bactérias, micoplasmas, microsporídios, que vivem associados com outros seres vivos aos quais fornecem algum benefício ou podem prejudicá-los (HUNTER e ZCHORI-FEIN 2006). A função dos endossimbiontes é variada, porém o mais comum é que colaborem no processamento e digestão dos nutrientes no sistema digestivo dos insetos hospedeiros (HOSOKAWA et al. 2006). Alguns são responsáveis pelo comportamento de herbivoria (RUSSELL et al. 2009). Em alguns casos o endossimbionte pode ser prejudicial para o inseto, gerando incompatibilidade citoplasmática (MANN et al. 2017), deformações no desenvolvimento e até a morte dos embriões (O'NEILL et al. 1992).

No caso da ordem Hymenoptera, a incompatibilidade citoplasmática está associada com a modificação da razão sexual da espécie, gerando feminização por indução da partenogênese telítoca (NUGNES et al. 2015). Além da função na alimentação e na reprodução, tem sido descrita a incidência dos endossimbiontes na resistência a entomopatogênicos e/ou promoção do parasitismo (FURIHATA et al. 2015) ou do hiperparasitismo (VAN NOHOUYS et al., 2016) entre outros.

NUGNES et al. (2015) confirmaram a presença do endossimbionte *Rickettsia* na vespa-da-galga do eucalipto *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae). GUALTIERI et al. (2017) encontraram a presença deste endossimbionte no seu parasitoide *Quadrastichus mendeli* (Hymenoptera: Eulophidae), propondo que a presença de *Rickettsia* é a responsável pela partenogênese telítoca nestas duas espécies.

Como foi mencionado devido à ausência de barreiras geográficas entre Brasil e Uruguai e as similaridades na produção florestal, é muito provável que as pragas que ingressam a um país podem chegar ao outro em pouco tempo. Por isso, é importante contar com uma boa vigilância sanitária nas fronteiras e o trabalho em parceria entre os pesquisadores da área de proteção florestal do Brasil e Uruguai, para manter as populações de insetos-praga abaixo do nível de dano econômico e melhorar assim a sanidade de nossos plantios florestais.

Por tanto, conhecer os fatores bióticos e abióticos que afetam a capacidade de dispersão e estabelecimento da praga é vital para o manejo embora, há ausência de metodologia padrão para seu monitoramento. O presente estudo objetivou-se em conhecer a ecologia, distribuição geográfica e espacial de *L. invasa* e seus parasitoides o controle biológico desta praga em plantios de *Eucalyptus* spp, e estudar a presença de endossimbiontes secundários. As hipóteses testadas foram:

- 1) A flutuação populacional de *L. invasa* e dos parasitoides *S. nesei* e *M. brasiliensis* vai estar influenciada pela temperatura e precipitação.
- 2) O *Selitrichodes nesei* é um bom parasitoide a ser utilizado no controle de *L. invasa* e vai acompanhar a dispersão da praga.
- 3) As armadilhas adesivas amarelas são uma boa metodologia para o monitoramento da vespa-da-galha e dos seus parasitoides.
- 4) A infestação de *L. invasa* no perfil das árvores e o nível de parasitismo do *S. nesei*, assim como as capturas destes nas armadilhas adesivas amarelas vai ser maior na altura perto das copas.
- 5) A distribuição potencial de *L. invasa* no Uruguai mostrara uma maior área para a dispersão e estabelecimento da praga.
- 6) Se espera encontrar alguns gêneros de endossimbiontes associados com *L. invasa* e seus parasitoides.

CAPÍTULO 1

VESPAS GALHADORAS DO *Eucalyptus* spp. (Myrtaceae)¹

Resumo

Recentes ocorrências de insetos-praga em florestas de eucalipto no mundo foram associadas a insetos galhadores, que ocasionaram graves problemas fitossanitários em plantações comerciais, levando até à interrupção da atividade florestal em zonas com alto nível de infestação ou mesmo à exclusão de genótipos suscetíveis. Existem mais de 50 espécies de insetos nativos da Austrália com capacidade de induzir galhas em *Eucalyptus* spp., embora na atualidade não se conheça com exatidão o número atual de espécies de galhadores associadas ao gênero. Esses artrópodes podem induzir a formação de galhas nos órgãos vegetativos e reprodutivos das plantas, sendo as folhas, frutos e sementes os mais atacados. Até o momento, dez espécies de insetos galhadores são consideradas pragas para o eucalipto. Todas elas são micro-himenópteros das famílias Torymidae (*Megastigmus* Dalman, 1820) e Eulophidae (*Aprostocetus* Westwood, 1833; *Quadrastichodella* Girault, 1922; *Epichrysocharis* Girault, 1913; *Selitrichodes* Girault, 1913; *Ophelimus* Haliday, 1844; *Moona* Kim & La Salle, 2005 e *Leptocybe* Fisher & La Salle, 2004). As espécies *Ophelimus maskelli* Ashmead, 1900 e *Leptocybe invasa* Fischer & La Salle, 2004 são as mais importantes, devido a maior gravidade das injúrias causadas nas plantas e pelas significativas perdas econômicas associadas. Esta última espécie de micro-vespa apresenta a maior importância, devido à agressividade de seu ataque e pela rápida dispersão nas plantações, sendo a única destas espécies que conseguiu se estabelecer em todos os continentes onde o eucalipto é plantado. Em função das restrições que envolvem o manejo químico de insetos-praga em plantações de eucalipto, o controle biológico clássico e a resistência de plantas apresentam-se como as principais alternativas utilizadas no manejo desse grupo de pragas.

Palavras-chave: Espécies Invasoras, Insetos-Praga, *Eucalyptus*, *Corymbia*, Espécies quarentenárias.

¹ Capítulo redigido de acordo com as normas do periódico **Biological Invasions**

1.1 Insetos galhadores

Artrópodes galhadores configuram-se como um dos grupos mais evoluídos da classe Insecta, devido à forte interação que desenvolveram com as plantas hospedeiras ao longo da evolução, chegando a uma alta especificidade taxonômica (Rohfritsch e Shorthouse 1982; Csóka et al. 2017). Alguns pesquisadores propõem que o comportamento indutor de galhas teria surgido independentemente em insetos herbívoros de vida livre em insetos minadores e insetos sedentários que se alimentavam dos tecidos externos das plantas e que evoluíram a galhadores (Price et al. 1987).

As galhas oferecem proteção frente às mudanças ambientais, além de representarem fonte de alimento com boa qualidade nutricional, livre de compostos tóxicos, gerando um micro-habitat adequado para o desenvolvimento do artrópode (Mani 1964; Price et al. 1987; Stone e Schonrogge 2003; Shorthouse et al. 2005). Price et al. (1987) propuseram que a relação entre as plantas e os insetos galhadores seria de tipo parasítica, uma vez que os hospedeiros são afetados negativamente durante a interação. Alguns pesquisadores sugerem que o comportamento indutor de galhas também teria surgido como uma estratégia de proteção do inseto frente a inimigos naturais. Price et al. (1987), consideram que não existem evidências que sustentem essa hipótese e que as galhas teriam surgido como um refúgio frente a condições ambientais adversas e como fonte nutricional, sendo a proteção uma consequência secundária desta interação.

A diversidade de insetos formadores de galhas é desconhecida devido à alta complexidade comportamental e morfológica existentes, o que tem levado ao desinteresse no estudo deste grupo, além da falta de taxonomistas que auxiliem nas identificações, em especial na região Neotropical. Mani (1964), estimava que o número de insetos galhadores fosse de 13000 spp., embora estudos posteriores (Espírito-Santo e Fernandes 2007) tenham relatado que o montante estaria entre 21000 e 211000 spp. Estes pesquisadores se basearam na alta especificidade taxonômica dos insetos galhadores e no número de espécies de plantas fanerógamas, que é de aproximadamente 422000 espécies. Além, da falta de estudos que avaliem a diversidade biológica presente na região Neotropical, o que faz que novas espécies estejam ainda por serem descobertas (Prance 1994). Assim, se esperaria que o número de galhadores também fosse superior ao estimado por Mani em 1964.

Similar ao verificado com outros grupos de insetos, os galhadores seriam mais diversos em áreas com temperaturas mais altas que em localidades temperadas (Espírito-Santo e Fernandes 2007). Isso poderia estar correlacionado com a alta especificidade deste grupo de insetos com suas plantas hospedeiras (Mani 1964; Rohfritsch e Shorthouse 1982) e com a maior diversidade de espécies de plantas presentes na região Neotropical (Gentry 1982). Esses artrópodes apresentam comportamento bastante complexo, podendo atacar qualquer órgão das plantas, inclusive frutos, botões florais e sementes (Kim e La Salle 2008).

Embora muitas espécies já tenham sido relatadas em plantas cultivadas, existem poucos estudos de galhadores em espécies florestais de interesse econômico na região Neotropical, em especial na América do Sul, onde *Eucalyptus* e *Pinus* são os gêneros mais plantados comercialmente (Csóka et al. 2017). Contudo, comparando-se os dois gêneros, existem mais estudos com insetos galhadores associados a espécies de *Eucalyptus* que de *Pinus*. Foram relatadas várias espécies de galhadores sobre ramos, caule, folhas e sementes de *Eucalyptus* spp. (Mani 1964; Protasov et al. 2007; Kim and La Salle 2008). Devido ao hábito críptico dos galhadores, muitas vezes passam despercebidos em procedimentos de fiscalização, sendo transportados juntamente com suas plantas hospedeiras e introduzidos em outros países durante a importação e exportação de mudas e sementes, tornando esta via uma das principais causas da dispersão das pragas dos vegetais (Liebhold et al. 2012; Roques et al. 2016; Meurisse et al. 2018).

1.2 Diversidade de insetos galhadores de folhas e ramos de *Eucalyptus* spp.

Blanche e Westoby (1995) basearam-se em um estudo de diversidade de insetos galhadores em espécies de Myrtaceae no estado da Nova Gales do Sul (Austrália) e relataram que os gêneros *Eucalyptus* e *Syncarpia*, conseguem suportar um número maior de espécies de insetos indutores de galhas que outras da mesma família botânica. O gênero *Eucalyptus* é originário da Austrália, país com grande diversidade de insetos formadores de galhas, principalmente das ordens Hemiptera e Hymenoptera (Taylor 1987; Morrow et al. 1994). Em uma das revisões mais relevantes sobre insetos galhadores do *Eucalyptus* na Austrália, Morrow et al. (1994) relatam mais de 25 espécies de insetos galhadores associados a plantas híbridas (*E. obliqua* x *E. baxteri* e *E. calliginosa* x *E. stelullata*) nas regiões de Nova Gales do Sul e Victoria.

Posteriormente, Blanche e Westoby (1995) estudaram a diversidade de insetos galhadores em oito regiões com cultivos de mirtáceas próximos a Sidney (Austrália) e reportaram entre 5 e 29 espécies, sendo que a maioria das plantas eram pertencentes ao gênero *Eucalyptus*. Entretanto, após esses levantamentos, tornaram-se escassos os estudos visando ampliar o conhecimento sobre insetos galhadores em *Eucalyptus* spp. na Australásia.

Os últimos registros de espécies de insetos galhadores associados ao eucalipto causando danos de importância, foram realizados fora da Austrália (Berry e Withers 2002; Protasov et al. 2007). Porém, nem todas as espécies de insetos galhadores dos eucaliptos têm saído da Australásia e causado danos nos plantios, sendo menos de 10 as espécies consideradas pragas para a produção de *Eucalyptus* spp. no mundo (Paine et al. 2011). Embora, se estime que o número seja maior que as 30 espécies registradas por Blanche e Westoby (1995), existe grande dificuldade para novos registros devido à falta de taxonomistas ou interesse pelo tema, além da complexidade morfológica e comportamental destes insetos.

1.3 Vespas galhadoras de *Eucalyptus* spp. e *Corymbia* spp.

No grupo das vespas galhadoras dos eucaliptos, as mais diversas são aquelas que atacam os frutos e as sementes e aquelas que desenvolvem suas galhas em folhas e ramos.

1.3.1 Vespas galhadoras de frutos e sementes

A detecção de sementes de *Eucalyptus* spp. com galhas é muito difícil, aumentando a probabilidade de que espécies de insetos galhadores se dispersem em novos países por meio do comércio internacional de sementes de eucaliptos provenientes da Austrália ou outras regiões (Roques et al. 2016). Adicionalmente, à identificação dos insetos emergidos das galhas esbarra na dificuldade taxonômica e a escassez de taxonomistas especializados no grupo, sugerindo que o número de espécies seja maior.

As microvespas são as mais comuns a emergirem das sementes, embora seja necessário estudar a fundo a relação da espécie emergida com as galhas, uma vez que podem ser inquilinos ou parasitoides e não o organismo indutor da galha. Dentre as espécies de vespas galhadoras em sementes de *Eucalyptus* spp. e *Corymbia* spp.

já foram relatadas *Quadrastichodella nova* Girault, 1922, *Moona spermophaga* Kim & La Salle, 2005, e *Leprosa milga* Kim & La Salle, 2008 (Hymenoptera: Eulophidae), além de espécies do gênero *Megastygmus* (Hymenoptera: Torymidae), como *M. zebrinus* Greisell, 2006 (Kim et al. 2005; Doğanlar e Doğanlar 2008; Kim e La Salle 2008; Klein et al. 2015) (Tabela 1).

O gênero *Leprosa* Kim e La Salle (2008) é o grupo de vespas galhadoras de sementes com detecção e descrição mais recente. É um gênero monotípico, sendo *Leprosa milga* a única espécie (Noyes 2017). Este gênero é considerado muito próximo aos gêneros *Moona* Kim e La Salle, 2005 e *Quadrastichodella* Girault, 1913 (Kim e La Salle 2008). *Leprosa milga* foi relatada na Itália e África do Sul, associada a sementes de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnhardt (Klein et al. 2015). Embora *L. milga* tenha sido identificada pela primeira vez fora da Austrália, assim como a maior parte dos insetos galhadores dos eucaliptos, se presume que aquele país seja seu local de origem (Kim e La Salle 2008). O organismo tipo é proveniente da África do Sul e os exemplares foram coletados nos anos de 2003 e 2004, e na Itália entre os anos 2006 e 2007.

Similar a *Leprosa*, o gênero *Moona* é monotípico e foi descrito em 2005 a partir de exemplares de origem australiana, depositados em coleções de Museus da Austrália, Canadá, Estados Unidos e da Inglaterra, alguns deles com data de coleta de 1940 (Kim et al. 2005). Posteriormente a sua descrição foi encontrada na África do Sul (Kim et al. 2008; Noyes 2017). *Moona spermophaga* é a única espécie do gênero, e tem a capacidade de induzir galhas em sementes de *Corymbia* spp. (Kim et al. 2005).

Segundo Paine et al. (2011) o *M. spermophaga* é considerada uma espécie-praga para a produção de eucaliptos, uma vez que inviabiliza as sementes. Contudo, até o momento não se dispõe de muita informação com relação à frequência das detecções e nem sobre sua distribuição mundial. Dado que é uma espécie que pode passar um período de mais de 10 anos dentro das sementes e emergir as vespas adultas (Kim et al. 2005), deveriam ser intensificadas as inspeções quando sementes de *Corymbia* são importadas a um país onde a espécie está ausente, para evitar sua introdução.

O gênero *Quadrastichodella* é mais diverso, com dez espécies descritas, sendo os gêneros *Quadrastichodes* Girault, 1913 e *Flockiella* Timberlake, 1957 sinônimos deste (Boucek 1977, 1988; Noyes 2017). *Quadrastichodella nova* é uma das espécies

de insetos galhadores de sementes de *Eucalyptus* mais distribuída no mundo, com introduções relatadas na África do Sul, Argentina, Espanha, Estados Unidos, França, Israel, Itália, Nova Zelândia, Portugal e Turquia (Timberlake 1957; Kim e La Salle 2008; Paine et al. 2011; Klein et al. 2015; Noyes 2017; CABI 2018). *Quadrastichodlla nova* apresenta três espécies que foram consideradas sinônimas: *Flockiella eucalypti* Timberlake, 1957; *Quadrastichodella eucalypti* (Timberlake, 1957) e *Quadrastichodella obscurata* De Santis, 1957 (Noyes 2017).

As fêmeas de *Q. nova* depositam seus ovos nos botões florais recentemente formados nas árvores de *Eucalyptus* spp. e depois da eclosão das larvas inicia-se a formação das galhas nas sementes em formação (Timberlake 1957). Outras duas espécies australianas do gênero de menor importância são *Quadrastichodella neglectae* Ikeda, 1999 e *Quadrastichodella pilosa* Ikeda, 1999, as quais foram relatadas em sementes de *Eucalyptus neglecta* Maiden e em *Eucalyptus* spp. da Austrália (Ikeda 1999).

O gênero *Megastigmus* apresenta hábitos alimentares diversos, contendo espécies galhadoras, inquilinos de galhas de outros galhadores, parasitoides de insetos indutores de galhas em *Eucalyptus* spp. e outras espécies de plantas (Doğanlar e Hassan 2010, Roques e Skrzypczyńska 2003). Dentro das espécies galhadoras deste gênero, algumas têm adquirido a capacidade de se desenvolver em sementes de *Eucalyptus* spp. e *Corymbia* spp (Protasov et al. 2008).

Megastigmus zebrinus Grissell (Grissell 2006) é uma das espécies do gênero descritas originalmente como indutoras de galhas em sementes de *E. camaldulensis*, embora, recentemente tenha sido relatada associada a galhas de *Leptocybe invasa* na Argentina (Hernández et al. 2015) e na África do Sul (Doğanlar 2015). A relação de *M. zebrinus* nas galhas de *L. invasa* ainda não está completamente elucidada, porém acredita-se que este possa ser um parasitoide ou inquilino (Doğanlar 2015). Recentemente, *M. zebrinus* foi relatada por Roques et al. (2016) emergindo das sementes de *Syzygium cordatum* (Hochst.), uma espécie de mirtácea nativa da África.

1.3.2 Vespas galhadoras associadas a folhas e ramos.

O gênero *Epichrysocharis* (Girault, 1913) possui quatro espécies descritas, com dois gêneros sinônimos: *Brachychrysocharopsis* Girault, 1922 e *Brachysocharopsis* Girault, 1922 (Boucek 1988; Schauff e Garrison 2000; Noyes

2017). A espécie *Epichrysocharis burwelli* Schauff, 2000 é uma vespa galhadora de origem australiana, descrita pela primeira vez atacando árvores de *Corymbia citriodora* na Califórnia, Estados Unidos (Schauff e Garrison 2000). Trata-se de uma espécie monófaga e que consegue se desenvolver apenas em folhas de *C. citriodora*. Em 2003, *E. burwelli* foi encontrada pela primeira vez na América do Sul, em plantações de *C. citriodora* do Brasil (Santana e Anjos 2007), em 2016 foi feito o primeiro relato na Europa, em Portugal (Franco et al. 2016). Atualmente, a espécie encontra-se distribuída na Austrália (origem), Estados Unidos (2000), Brasil (2003), Argentina (2013), e Portugal (2016) (Schauff e Garrison 2000; Hernandez et al. 2014; Franco et al. 2016) (Tabela 1).

Os adultos de *E. burwelli* são microvespas de 0,5 a 0,6 mm de comprimento e coloração marrom-escura (Schauff e Garrison 2000; Franco et al. 2016). As fêmeas de *E. burwelli* depositam os ovos no limbo foliar das árvores de *C. citriodora*. Após a eclosão, as larvas começam a formar pequenas galhas de forma lenticular que vão aumentando em tamanho conforme o desenvolvimento dos insetos em seu interior (Santana e Anjos 2007). O ciclo de ovo a adulto para *E. burwelli* tem duração média de 75 dias (Pereira 2010). A formação de galhas desta espécie praga provoca reduções na área fotossintética, produção de óleo essencial e crescimento das plantas (Anjos e Zacaro 2005; Pereira et al. 2012).

Santana e Anjos (2007) relatam perdas de 30 a 80% na produção de óleo essencial em plantios de *C. citriodora* afetados por *E. burwelli*. Pereira et al. (2015) afirmam que a redução na produção de óleo essencial é decorrente da queda e necrose das folhas de *C. citriodora* ocasionadas pelo ataque da microvespa galhadora em genótipos suscetíveis. Por se tratar de uma espécie que só ataca árvores de *E. citriodora*, o inseto tem sido considerado como de baixa importância, com estudos ainda incipientes. Assim, as poucas informações acerca de sua biologia e danos associados no Brasil, são àquelas provenientes do estudo de Pereira (2010).

Várias espécies de vespas galhadoras foram encontradas em folhas e ramos de *Eucalyptus* spp. As espécies de Eulophidae, *Ophelimus maskelli* (Ashmead, 1900); *Ophelimus eucalypti* (Gahan, 1922); *Leptocybe invasa* Fischer & La Salle, 2004 e *Selitrichodes globulus* La Salle & Gates, 2009 são consideradas pragas para os plantios de *Eucalyptus* spp. (Tabelas 1 e 2). As espécies dos gêneros *Leptocybe* e *Ophelimus* são as mais importantes e que foram priorizadas a nível internacional para

o desenvolvimento de alianças para o estabelecimento de programas de controle biológico clássico (Kenis et al. 2019).

A espécie *S. globulus* tem sido relatada somente para a Califórnia nos Estados Unidos, atacando ramos em árvores de *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae); porém, acredita-se que seja originária da Austrália (La Salle et al. 2009). Apesar de ser uma espécie de distribuição restrita, é considerada uma praga importante nos Estados Unidos, em decorrência dos danos gerados nos ramos das árvores atacadas na arborização urbana.

Ophelimus Haliday, 1844 é um gênero australiano de microvespas da família Eulophidae, com várias sinonímias: *Chrysoatomus* Ashmead, 1904; *Brachychrysocharella* Girault, 1913; *Cirrospilomyia* Girault, 1913; *Elachertetrastichus* Girault, 1913; *Omphalomorphella* Girault e Dodd, 1913; *Rhcnopeltella* Girault, 1913; *Omphalomorphoides* Dodd, 1915 e *Deciana* Girault, 1925 (Noyes 2017). Este gênero pertence à subfamília Ophelinae e apresenta 51 espécies, sendo *O. maskelli* e *O. eucalypti*, de grande importância para a produção de *Eucalyptus* no mundo (Noyes 2017). Recentemente foi descrita a espécie *Ophelimus mediterraneus* Borowiec & Burks, 2019; atacando *Eucalyptus globulus* na Austrália, Itália, França e Portugal; *E. rudis* em Portugal, e *E. gunnii* na França (Borowiec et al. 2019).

Devido ao baixo número de caracteres taxonômicos disponíveis para a diferenciação das espécies do gênero, assim como a variabilidade intraespecífica em algumas destas, fazem que sua identificação seja bastante trabalhosa. As três espécies mencionadas anteriormente se diferenciam pelo número de setas na base da nervura submarginal da asa anterior e pela coloração do corpo.

Ophelimus maskelli é uma vespa de cor verde com brilho metálico e apresenta apenas uma seta na asa anterior (Protasov et al. 2007; Borowiec et al. 2019). A coloração do corpo de *O. eucalypti* e *O. mediterraneus* é preta e têm duas setas, o mais, na base da nervura submarginal (Borowiec et al. 2019). No caso de *O. eucalypti* observou-se recentemente a presença de dois biótipos o “Maid” e o “Trans”, com duas a quatro setas e de cinco a seis setas respectivamente, já *O. mediterraneus* apresenta de duas a quatro setas, sendo três o mais comum (Borowiec et al. 2019).

Vários registros de *Ophelimus* em eucaliptos na Europa foram associados originalmente com *O. eucalypti*, mas após uma revisão, a maioria se tratava de *O. maskelli* (Withers et al. 2000; Protasov et al. 2007; Branco et al. 2009). Provavelmente, existem mais espécies do gênero e que foram originalmente identificadas como *O.*

eucalypti ou como *O. maskelli*. Segundo Noyes (2017) e Borowiec et al. (2019) *Ophelimus eucalypti* estaria presente na Itália e na Nova Zelândia até o momento. A espécie mais distribuída do gênero é *O. maskelli*, já estabelecida em 13 países no mundo além da Austrália: África do Sul, Argélia, Argentina, Espanha, Estados Unidos, França, Grécia, Indonésia, Israel, Itália, Malta, Nova Zelândia, Portugal, Tunes, Turquia, Inglaterra e Vietnã (Doğanlar e Mendel 2007; Protasov et al. 2007; Aquino et al. 2014; Burks et al. 2015; Mendel et al. 2017; Noyes 2017).

Os adultos de *O. maskelli* são pequenas vespas de 0,8 a 1,07 mm de comprimento, com coloração verde-metálica, que induzem a formação de galhas no limbo foliar, reduzindo a área fotossintética, perda de crescimento e desfolha (Protasov et al. 2007; Mendel et al. 2017). *Eucalyptus globulus* Labill. é considerada a espécie mais suscetível a *O. maskelli*; porém, este galhador pode atacar outras espécies do gênero. As armadilhas adesivas de cor verde são utilizadas para monitorar esta espécie e a efetividade do controle biológico com os parasitoides australianos *Closterocerus chamaeleon* (Girault) (Eulophidae) e *Stethynium ophelimi* Huber, 2006 (Mymaridae) em Israel e Itália (Protasov et al. 2007; Mendel et al. 2017).

O uso de *C. chamaeleon* em Israel é considerado um dos primeiros exemplos de sucesso no uso do controle biológico clássico sobre insetos indutores de galhas, o qual foi reproduzido em outras partes do mundo (Mendel et al. 2007; Kim et al. 2008). *Closterocerus chamaeleon* foi detectado em vários países onde *O. maskelli* foi relatado, tais como: Turquia (Doğanlar e Mendel 2007), Portugal (Branco et al. 2009), Itália (Caleca et al. 2011), Argélia (Caleca 2010), Argentina (Aquino et al. 2014), Estados Unidos (Burks et al. 2015), Austrália, África do Sul, Espanha e Tunísia (CABI 2017) e na França (Borowiec et al. 2019).

Closterocerus chamaeleon conseguiu ovipositar nas galhas de *O. mediterraneus* e completar o ciclo em laboratório, no campo isso não foi observado, dada a assincronia das duas espécies (Garcia et al. 2019). Dado que *O. mediterraneus* é uma espécie de recente descrição, até o momento não foram registrados inimigos naturais emergindo de suas galhas no campo, que possam ser empregados no seu controle (Borowiec et al. 2019; Garcia et al. 2019).

Leptocybe invasa (Hymenoptera: Eulophidae), conhecida como vespa-da-galha-do-eucalipto, é considerada a principal espécie de inseto-praga indutor da formação de galhas em *Eucalyptus* spp. Esse “status” é decorrente do grande número de espécies de eucalipto em que o inseto consegue se desenvolver, além de seu

rápido potencial de dispersão e agressividade do ataque (Tabela 2). O efeito da oviposição e/ou da formação das galhas de *L. invasa* podem ocasionar perda de crescimento das árvores e redução na produtividade dos plantios (Otieno et al. 2019), impedindo a atividade florestal em áreas com alto nível de infestação (Mendel et al. 2004; Wilcken et al. 2015; Kenis et al. 2019). Oito anos após a sua primeira detecção em Israel em 2000, a vespa-da-galha foi detectada em todos os continentes onde o eucalipto é plantado (Jorge et al. 2016).

Leptocybe invasa é uma micro-vespa Australiana de 0,8 e 1,4 mm de comprimento, com coloração marrom-escura e brilho azul-esverdeado metálico (Mendel et al. 2004; Doğanlar 2005). Devido à partenogênese telítoca apresenta uma razão sexual favorável às fêmeas, as quais são mais abundantes, (Doğanlar 2005). As fêmeas ovipositan em folhas (principalmente sobre a nervura central e pecíolos) e ramos de plantas jovens de *Eucalyptus* spp. e *Corymbia citriodora*, os quais, após o desenvolvimento das larvas se dá a formação de galhas (Wilcken et al. 2015; Jorge et al. 2016).

O ciclo de vida de *L. invasa* de ovo a adulto varia conforme a temperatura. Em regiões de clima temperado, o ciclo pode durar 130 dias em média (Mendel et al. 2004; Aquino et al. 2011); já em locais quentes, como na Indonésia, o ciclo se completa em apenas 45 dias (Sangtongpraow et al. 2011), com duas a sete gerações anuais, respectivamente.

Dentre os métodos de controle mais adequados para o manejo de *L. invasa* destacam-se a seleção de variedades resistentes e o uso de controle biológico clássico, por meio de parasitoides de larvas originários da Austrália (Dittrich-Schröder et al. 2012, 2014; Jorge et al. 2016; Mendel et al. 2017). Apesar de *L. invasa* conseguir se desenvolver em várias espécies de eucaliptos e híbridos, as espécies mais atacadas e afetadas pela vespa-da-galha são *E. camaldulensis*, *E. grandis*, *E. saligna*, *E. tereticornis* e seus respectivos híbridos (Jorge et al. 2016; Martinez et al. 2019).

Vários estudos foram realizados para conhecer a resistência dos genótipos mais cultivados em diversos países como Israel (Mendel et al. 2004), Vietnã (Thu et al. 2009), Quênia e Uganda (Nyeko et al. 2010), África do Sul (Dittrich-Schröder et al. 2012), China (Zhu et al. 2012; Luo et al. 2014), Tanzânia (Petro et al. 2014), Brasil (Guerreiro et al. 2015) e Índia (Kumar et al. 2015). As espécies de *Corymbia thorelliana* (C. Jorge (2019) dados não publicados), *Corymbia henryi* (S. T. Blake) K. D. Hill & L. A. S. John e *Eucalyptus resinifera*, *E. punctata*, são consideradas resistentes ao

ataque de *L. invasa* (Nadel et al. 2010; Lin et al. 2014). Dada a grande variabilidade intraespecífica foram observados alguns genótipos de *E. grandis* (Dittrich-Schröder et al. 2012), *E. microcorys*, *E. urophylla* (Lin et al., 2014), de *E. tereticornis* e de *E. grandis* x *E. camaldulensis* (Nadel et al. 2010) que apresentaram resistência o foram tolerantes ao ataque desta praga.

Espécies de parasitoides dos gêneros *Megastigmus* (Hymenoptera: Torymidae), *Selitrichodes*, *Aprostocetus* e *Quadrastichus* (Hymenoptera: Eulophidae), têm sido associadas às galhas de *L. invasa* em diferentes regiões do mundo (Kim e La Salle 2008; Kulkarni et al. 2010; Kelly et al. 2012; Doğanlar et al. 2013; Dittrich-Schröder et al. 2014; Jorge et al. 2016; Zheng et al. 2016; Mendel et al. 2017; Bush et al. 2018; Le et al. 2018; Kenis et al. 2019). Programas de controle biológico da vespa-da-galha têm sido desenvolvidos em Israel desde 2003 (Kim et al. 2008; Mendel et al. 2017; Kenis et al. 2019) e, posteriormente, na África do Sul (Dittrich-Schröder et al. 2014), Chile (SAG 2016), Argentina (Andorno et al. 2017) e Zimbábue (Ndela et al. 2018). Recentemente, Le et al. (2018), realizaram uma revisão sobre os parasitoides associados à essa vespa-da-galha e os programas de controle biológico realizados com a praga em todo o mundo.

Quadrastichus mendeli Kim & La Salle, 2008 e *Selitrichodes kryceri* Kim & La Salle, 2008 (Hymenoptera: Eulophidae) foram as primeiras espécies associadas com galhas de *L. invasa* (Mendel et al. 2009). As espécies de parasitoides também de origem australiana *Megastigmus zvimendeli* Doğanlar & Hassan, 2010 e *M. lawsoni* Doğanlar & Hassan, 2010 (Hymenoptera: Torymidae), foram também introduzidos em Israel junto com o *Q. mendeli* e o *S. kryceri* em 2007 (Doğanlar e Hassan 2010; Kenis et al. 2019). As quatro espécies foram recapturadas, mas *Quadrastichus mendeli* foi o mais efetivo, com taxas de parasitismo de até 73%, embora esta espécie seja de difícil criação e manutenção em laboratório (Kim et al. 2008). O SAG (Servicio Agrícola y Ganadero de Chile) tentou importar esse parasitoide de Israel em 2014 quando *L. invasa* foi detectada no Chile, mas não conseguiram estabelecer uma criação no país (SAG 2014). Recentemente, este parasitoide foi relatado ocorrendo naturalmente em galhas de *L. invasa* na China (Zheng et al. 2016), Argentina (Aquino et al. 2018), África do Sul (Bush et al. 2018), onde a espécie não tinha sido importada (Le et al. 2018). A facilidade de dispersão deste parasitoide tinha sido mencionada por Kim et al. (2008).

O parasitoide *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle, 2012 foi importado para a África do Sul em 2012 a partir da Austrália (Dittrich-Schröder et al. 2014; Kenis et al.

2019). Na África do Sul, foram realizados testes para comprovar a especificidade deste parasitoide sobre galhas de *L. invasa*, obtendo-se porcentagens de parasitismo de 9 e 70% em condições de laboratório (Dittrich-Schröder et al. 2014). Este parasitoide foi importado pelo Brasil em 2015 da quarentena do FABI (Forestry & Agricultural Biotechnology Institute), da África do Sul (Wilcken et al. 2015). *Selitrichodes neseri* permaneceu na quarentena “Costa Lima” da Embrapa meio ambiente em Jaguariúna, SP e depois foi transferido para o Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais (LCBPF), da Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Campus de Botucatu, SP. No LCBPF, vêm sendo estudados aspectos de sua biologia, métodos de criação e parasitismo visando o possível manejo de *L. invasa* em plantações de eucalipto do país. O SAG do Chile importou *S. neseri* do Brasil em setembro de 2015 (SAG 2016); na sequência, a Argentina o importou do Chile em dezembro de 2016, o qual foi liberado em áreas com infestação da praga no país (Andorno et al. 2017), em fevereiro de 2019 foi importado da Argentina pelo Uruguai (Martínez et al. 2019).

Atualmente, acredita-se que o *Q. mendelli* e o *S. neseri* estejam presentes em vários países da América do Sul, África, Europa e Ásia, seja por meio de importação ou por dispersão natural junto com a praga. Estas espécies são consideradas espécies-chave para o desenvolvimento de programas de controle biológico de *L. invasa* no mundo, porém estudos de bioecologia e distribuição devem ser aprimorados para estabelecer os fatores que incidem na adaptação e estabelecimento destes parasitoides para aumentar o sucesso do controle biológico da vespa-da-galha.

Tabela 1. Espécies de vespas galhadoras praga do *Eucalyptus* spp. e *Corymbia* spp. *: Primeira detecção fora da Austrália.

Espécie	Hospedeiros	EA	País	Referências
<i>Epichrysocharis burwelli</i>	<i>Corymbia citriodora</i>	F	Austrália*, Argentina, Brasil, Estados Unidos, Portugal.	Schauff e Garrison 2000; Santana e Anjos 2007; Hernandez et al. 2014; Franco et al. 2016.
<i>Leprosa milga</i>	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> ,	S	África do Sul, Austrália, Itália.	Kim e La Salle 2008; Klein et al. 2015; Noyes 2017.
<i>Megastigmus zebrinus</i>	<i>E. camaldulensis</i> ; <i>Syzygium cordatum</i>	F/S	África do Sul, Argentina, Austrália.	Grissell 2006; Doğanlar and Doğanlar 2008; Doğanlar and Hassan 2010; Hernandez et al. 2015; Klein et al. 2015, Roques et al. 2016.
<i>Moona spermophaga</i>	<i>Corymbia citriodora</i> , <i>C. maculata</i>	S	África do Sul e Austrália.	Kim et al. 2005; Paine et al. 2011; Noyes 2017.
<i>Ophelimus eucalypti</i>	<i>E. camaldulensis</i> , <i>E. globulus</i> , <i>E. saligna</i> ,	F	Austrália, Itália, Nova Zelândia.	Noyes 2017; Borowiec et al. 2019.
<i>Ophelimus maskelli</i>	<i>E. amplifolia</i> , <i>E. camaldulensis</i> , <i>E. cloeziana</i> , <i>E. globulus</i> , <i>E. rudis</i> , <i>E. tereticornis</i>	F	África do Sul, Argélia, Argentina, Austrália*, Espanha, Estados Unidos, França, Grécia, Indonésia, Inglaterra, Israel, Itália, Malta, Nova Zelândia, Portugal, Tunes, Turquia e Vietnã.	Withers et al. 2000; Doğanlar e Mendel 2007; Protasov et al. 2007; Branco et al. 2009; Aytar et al. 2011; Caleca et al. 2011; Aquino et al. 2014; Burks et al. 2015; Noyes et al. 2017; Borowiec et al. 2019.
<i>Ophelimus mediterraneus</i>	<i>E. globulus</i> , <i>E. gunnii</i> , <i>E. rudis</i>	F	Austrália, França, Itália e Portugal.	Borowiec et al. 2019; Garcia et al. 2019.
<i>Quadrastichodella neglectae</i>	<i>Eucalyptus neglecta</i>	S	Austrália.	Ikeda 1999
<i>Quadrastichodella nova</i>	<i>E. camaldulensis</i> , <i>E. resinifera</i> , <i>E. umbellatus</i>	BF/ S	África do Sul, Argentina, Austrália, Espanha, Estados Unidos, França, Israel, Itália, Nova Zelândia, Portugal e Turquia.	Girault 1922; Timberlake 1957; Boucek 1977, 1988; Kim and La Salle 2008; Aytar et al. 2011; Paine et al. 2011; Klein et al. 2015; Noyes 2017; CABI 2018
<i>Quadrastichodella pilosa</i>	<i>E. neglecta</i>	S	Austrália.	Ikeda 1999
<i>Selitrichodes globulus</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	R	Austrália*, Estados Unidos.	La Salle et al. 2009

BF: Botões florais, EA: estrutura atacada, F: folha, Fr: fruto, R: ramo, S: semente.

Tabela 2. Espécies hospedeiras e país de ocorrência de *L. invasa*, baseado na publicação de Jorge et al. (2016). Classificação das espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia* é baseada em Hill (2004) e Sale et al. (2006). N.S.: Não especificado o país.

Espécie hospedeira	País	Referência
Gênero <i>Corymbia</i>		
<i>Corymbia citriodora</i>	Brasil, Taiwan	Lin et al. 2014; Guerreiro et al. 2015; Wilcken et al. 2015
<i>C. maculata</i>	Taiwan	Lin et al. 2014
Gênero <i>Eucalyptus</i>		
Subgênero:	<i>Monocalyptus</i>	
<i>E. pilularis</i>	N.S., Vietnã.	Thu et al. 2009; Nadel e Slippers 2011
Subgênero:	<i>Nothocalyptus</i>	
<i>E. microcorys</i>	China, N.S., Vietnã.	Thu et al. 2009; Nadel e Slippers 2011; Zhu et al. 2012
Subgênero:	<i>Symphyomyrtus</i>	
<i>Eucalyptus alba</i>	N.S	Nadel e Slippers 2011
<i>E. amplifolia</i>	Brasil, Taiwan, Uruguai	Lin et al. 2014
<i>E. benthamii</i>	Brasil, Uruguai	Wilcken et al. 2015; Jorge et al. 2016
<i>E. botryoides</i>	Israel, N.S	Mendel et al. 2004; Nadel e Slippers 2011; Wylie and Speight 2012.
<i>E. bridgesiana</i>	Israel, N.S	Mendel et al. 2004; Nadel e Slippers 2011; Wylie e Speight 2012.
<i>E. camaldulensis</i>	Argentina, Brasil, China, Israel, Mozambique, N.S, Uganda, Uruguai, Taiwan, Vietnã.	Mendel et al. 2004; Nyeko et al. 2009, 2010; Thu et al. 2009; Aquino et al. 2011; Nadel e Slippers 2011; Wylie e Speight 2012; Zhu et al. 2012; Luo et al. 2014; Cegatta e Villegas 2013; Chirinzane et al. 2014; Lin et al. 2014; Jorge et al. 2016; Eskivinski et al. 2018.
<i>E. cinerea</i>	N.S	Wylie e Speight 2012
<i>E. cladocalyx</i>	N.S	Nadel e Slippers 2011
<i>E. coolabah</i>	Vietnam	Thu et al. 2009
<i>E. dunnii</i>	Argentina, China, Kenya, N.S, Taiwan	Nyeko et al. 2010; Nadel e Slippers 2011; Wylie e Speight 2012; Zhu et al. 2012; Lin et al. 2014; Eskivinsky et al. 2018
<i>E. exserta</i>	China	Zhu et al. 2012
<i>E. globulus</i>	Israel, Uganda, N.S, Uruguai.	Mendel et al. 2004; Nyeko et al. 2009; Nadel e Slippers 2011; Wylie e Speight 2012; Jorge et al., 2016
<i>E. gomphocephala</i>	N.S.	Nadel e Slippers 2011

Continuação tabela 2.

Espécie hospedeira	País	Referência
<i>E. grandis</i>	Argentina, Brasil, Israel, Kenya, N.S, África do Sul, Uganda, Uruguai, Taiwan, Vietnã.	Mendel et al. 2004; Nyeko et al. 2009, 2010; Thu et al. 2009; Nadel e Slippers 2011; Dittrich-Schröder et al. 2012; Wylie e Speight 2012; Lin et al. 2014; Guerreiro et al. 2015; Wilcken et al. 2015; Jorge et al. 2016; Eskiviski et al. 2018
<i>E. gunnii</i>	Israel, N.S.	Mendel et al. 2004; Wylie e Speight 2012
<i>E. leucoxydon</i>	N.S.	Nadel e Slippers 2011
<i>E. longirostrata</i>	Argentina	Eskivinsky et al. 2018
<i>E. maidenii</i>	Uganda, Vietnã, N.S	Nyeko et al. 2009; Thu et al. 2009; Nadel e Slippers 2011; Wylie e Speight 2012
<i>Eucalyptus major</i>	Argentina	Eskivisky et al. 2018
<i>E. moluccana</i>	Argentina, Vietnã	Thu et al. 2009; Eskivisky et al. 2018
<i>E. nicholii</i>	N.S.	Wylie e Speight 2012
<i>E. nitens</i>	N.S.	Nadel e Slippers 2011
<i>E. pellita</i>	Vietnã, N.S.	Thu et al. 2009; Nadel e Slippers 2011
<i>E. propinqua</i>	Argentina, China, Taiwan	Zhu et al. 2012; Lin et al. 2014; Eskivisky et al. 2018
<i>E. pulverulenta</i>	N.S.	Wylie e Speight 2012
<i>E. robusta</i>	China, Israel, Taiwan, Uganda, Vietnã, N.S.	Mendel et al. 2004; Nyeko et al. 2009, 2010; Thu et al. 2009; Nadel e Slippers 2011; Wylie e Speight 2012; Zhu et al. 2012 Lin et al. 2014
<i>E. rudis</i>	Austrália, N.S.	Kim et al. 2008; Wylie e Speight 2012; Mendel et al. 2017.
<i>E. saligna</i>	Brasil (*), China, Kenya, Israel, Mozambique, Taiwan, Uganda, Vietnã, N.S.	Mendel et al. 2004; Nyeko et al. 2009, 2010 Thu et al. 2009; Nadel e Slippers 2011; Wylie e Speight 2012; Zhu et al. 2012; Chirinzane et al. 2014; Lin et al. 2014
<i>E. sideroxydon</i>	N.S.	Nadel e Slippers 2011.
<i>E. smithii</i>	N.S, África do Sul, Uruguai (*), Vietnã.	Thu et al. 2009; Nadel e Slippers 2011; Dittrich-Schröder et al. 2012
<i>E. tereticornis</i>	Argentina, China, Israel, Kenya, N.S, Taiwan, Uruguai, Vietnã.	Mendel et al. 2004; Thu et al. 2009; Nyeko et al. 2010; Nadel e Slippers 2011; Wylie e Speight 2012; Zhu et al. 2012; Lin et al. 2014; Luo et al. 2014; Jorge et al. 2016; Eskivinsky et al. 2018.

Continuação de Tabela 2.

Espécie hospedeira	País	Referência
<i>E. urophylla</i>	Argentina, China, Kenya, N.S., África do Sul, Vietnã	Thu et al. 2009; Nyeko et al. 2010; Nadel e Slippers 2011; Dittrich-Schröder et al. 2012; Wylie e Speight 2012; Zhu et al. 2012; Eskivinsky et al. 2018.
<i>E. viminalis</i>	Israel, N.S.	Mendel et al. 2004; Nadel e Slippers 2011; Wylie e Speight 2012.
Híbridos		
<i>E. grandis</i> x <i>E. camaldulensis</i>	Argentina, Brasil, Kenia, N.S., África do Sul, Uganda, Uruguay	Nyeko et al. 2010; Nadel and Slippers 2011; Dittrich-Schröder et al. 2012; Guerreiro et al. 2015; Jorge et al. 2016; Eskivinsky et al. 2018.
<i>E. nitens</i> x <i>E. grandis</i>	África do Sul	Dittrich-Schröder et al. 2012.
<i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>	Brasil	Guerreiro et al. 2015.
<i>E. urophylla</i> x <i>E. grandis</i>	Argentina, Brasil, Uganda	Nyeko et al. 2010; Guerreiro et al. 2015; Eskivinsky et al. 2018.

1.4 Considerações Finais

As vespas galhadoras são um importante grupo dentro dos insetos-praga do eucalipto. Dado o seu comportamento críptico, aumenta a facilidade de sua dispersão com o material vegetal, e por consequente a sua faixa de distribuição natural. Independente do transporte com material vegetal ser legal ou ilegal é considerado a principal via de dispersão destas pragas, devido ao seu pequeno tamanho, também podem ser facilmente dispersas pelas correntes de ar, tráfego de pessoas e mercadorias provenientes de áreas infestadas. Outro aspecto a considerar é a dificuldade de sua identificação, escassez de pesquisadores interessados em estudar estes micro-himenópteros, levando a uma negligência de estudos por parte dos pesquisadores da área florestal.

A procura de metodologias mais promissoras para o manejo de insetos-praga indutores de galhas, como o Controle biológico clássico e a Resistência de plantas a Insetos são as mais promissórias para o manejo destes insetos-praga em plantios de eucaliptos. Portanto, podemos concluir que as vespas galhadoras, são um grupo complexo, de difícil identificação e manejo, que tem chegado para ficar e que vai continuar gerando perdas de importância nos plantios de *Eucalyptus* spp. do mundo.

1.5 Referências

Aytar F, Dağdaş S, Duran C (2011) Australian Insects Affecting Eucalyptus Species in Turkey. *Silva Lusitana* special number: 41-47.

Andorno A, Botto EN, Hernández CM, Cagnotti CL, Viscarret MM, López SN, Méndez M, Meneses C, Huxley E, Benzo C (2017) Avances en el control biológico de la “avispa de la agalla del eucalipto”. https://inta.gob.ar/sites/default/files/avances_en_el_control_biologico_de_la_avispa_de_la_agalla_en_eucalipto.pdf. Accessed 09 May 2018

Anjos N, Zacaro AA (2005) A microvespa *Epichrysocharis burwelli* Schauff (Hym.: Eulophidae): novíssima praga florestal no Brasil. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 75: 90-92.

Aquino DA, Botto EN, Loíacono MS, Pathauer P (2011) “Avispa de la agalla del eucalipto”, *Leptocybe invasa* Fischer & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae), en Argentina. *RIA* 37(2): 159-164.

Aquino DA, Hernández CA, Cuello EM, Andorno AV, Botto EN (2014) First record of *Ophelimus maskelli* (Ashmead) (Hymenoptera: Eulophidae) and its parasitoid, *Closterocerus chamaeleon* (Girault) (Hymenoptera: Eulophidae), in Argentina. *Rev Soc Entomol Arg* 73 (3-4):179-182.

Aquino DA, Andorno AV, Pathauer PS, Botto EN, López SN (2018) Primera cita de *Quadrastichus mendeli* (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae) de Argentina asociado a agallas de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). *Acta zoológica lilloana* 62: 50-52.

Berry JA, Withers TM (2002) New gall-inducing species of Ormocerine pteromalid (Hymenoptera: Pteromalidae: Ormocerinae) described from New Zealand. *Aust J Entomol* 41: 18-22.

Blanche KR, Westoby M (1995) Gall-forming insect diversity is linked to soil fertility via host plant taxon. *Ecology* 76 (7): 2334-2337.

Borowiec N, La Salle J, Brancaccio L, Thaon M, Warot S, Branco M, Ris N, Malausa JC, Burks R (2019) *Ophelimus mediterraneus* sp. n. (Hymenoptera, Eulophidae): a new *Eucalyptus* gall wasp in the Mediterranean region. *Bull Entomol Res*. <https://doi.org/10.1017/S0007485318001037>.

Boucek Z (1977) Descriptions of *Tachinobia* gen.n. and three new species of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae), with a tentative key to genera. *Bull Entomol Res* 67 (1): 17-30.

Boucek Z (1988) Australasian Chalcidoidea (Hymenoptera). A biosystematic revision of genera of fourteen families, with a reclassification of species. CAB International, Wallingford, Oxon.

Branco M, Boavida C, Durand N, Franco JC, Mendel Z (2009) Presence of the *Eucalyptus* gall wasp *Ophelimus maskelli* and its parasitoid *Closterocerus chamaeleon* in Portugal: first record, geographic distribution and host preference. *Phytoparasitica* 37 (1):51-54.

Burks RA, Mottern JL, Waterworth R, Paine TD (2015) First report of the *Eucalyptus* gall wasp, *Ophelimus maskelli* (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive pest on *Eucalyptus*, from the Western Hemisphere. *Zootaxa* 3926 (3): 448-450.

Bush SJ, Dittrich-Schröder G, Naser S, Gevers C, Baffoe KO, Slippers B, Hurley BP (2018) First record of *Quadrastichus mendeli*, a parasitoid of *Leptocybe invasa*, in South Africa. *South For* 80 (3): 275-277.

CABI (2018) *Quadrastichodella nova*, datasheet. Invasive species compendium. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/116649>. Accessed 08 June 2018

CABI (2017) *Ophelimus maskelli*, datasheet. Invasive species compendium. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/116649>. Accessed 08 June 2018

Caleca V (2010) First record in Algeria of two eulophid wasps: *Closterocerus chamaeleon* (Girault) and its host, the eucalyptus gall wasp *Ophelimus maskelli* (Ashmead) (Hymenoptera: Eulophidae). *Naturalista siciliano* 34 (1–2): 201-206.

Caleca V, Lo Verde G, Rizzo MC, Rizzo R (2011) Dispersal rate and parasitism by *Closterocerus chamaeleon* (Girault) after its release in Sicily to control *Ophelimus maskelli* (Ashmead) (Hymenoptera, Eulophidae). *Biol Control* 57: 66-73.

Chirinzane CJ, de Souza MD, Souza NJ, Rezende EH, Alves T, Bandeira RR, Fernandes AM. (2014) First report of *Leptocybe invasa* Fisher and La'Salle (sic) (Hymenoptera: Eulophidae) in Mozambique. *Afr J Agric Res* 9 (49): 3555–3558.

Csóka G, Stone GN, Melika G (2017) Non-native gall-inducing insects on forest trees: a global review. *Biol Invasions* 19 (11): 3161-3181.

Dittrich-Schröder G, Wingfield MJ, Hurley BP, Slippers B (2012) Diversity in *Eucalyptus* susceptibility to the gall-forming wasp *Leptocybe invasa*. *Agric For Entomol* 14: 419-427.

Dittrich-Schröder G, Harney M, Naser S, Joffe T, Bush S, Hurley BP, Wingfield MJ, Slippers B (2014) Biology and host preference of *Selitrachodes neseri*: A potential biological control agent of the *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa*. *Biol Control* 78: 33-41.

Doğanlar O (2005) Occurrence of *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle, 2004 (Hymenoptera: Chalcidoidea) on *Eucalyptus camaldulensis* in Turkey, with a description of the male sex. *Zool Middle East* 35 (1):112-114.

Doğanlar M (2015) Diagnosis of *Megastigmus* spp. (Hymenoptera: Torymidae) reared from galls of *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle, 2004, (Hymenoptera: Eulophidae) on *Eucalyptus* spp. (Myrtaceae), with description of a new species from South Africa. Entomofauna-Zeitschrift für Entomologie 36: 561–580.

Doğanlar M, Mendel Z (2007) First record of the eucalyptus gall wasp *Ophelimus maskelli* and its parasitoid, *Closterocerus chamaeleon*, in Turkey. Phytoparasitica 35(4): 333-335.

Doğanlar O, Doğanlar M (2008) First record of the Eucalyptus seed gall wasp, *Quadrastichodella nova* Girault, 1922, (Eulophidae: Tetrastichinae) from Turkey. Turk J Zool 32: 457-459.

Doğanlar M, Hassan E (2010) Review of Australian species of *Megastigmus* (Hymenoptera: Torymidae) associated with *Eucalyptus*, with descriptions of new species. AJBAS 4 (10): 5059-5120.

Doğanlar M, Zaché B, Wilcken CF (2013) New species of *Megastigmus* (Hymenoptera: Megastigminae) from Brasil. Fla Entomol 96 (1): 196-199.

Espírito-Santo MM, Fernandes GW (2007) How many species of gall-inducing insects are there on earth, and where are they? Ann Entomol Soc Am 100: 95-99.

Eskiviski ER, Schapovaloff ME, Dummel DM, Fernandez MM, Aguirre FL (2018) Susceptibility of eucalyptus species and hybrids to the gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in northern Misiones, Argentina. Forest Systems. <https://doi.org/10.5424/fs/2018271-11573>

Franco JC, Garcia A, Branco M (2016) First report of *Epichrysocharis burwelli* in Europe, a new invasive gall wasp attacking eucalypts. Phytoparasitica 44 (4): 443-446.

Garcia A, Gonçalves H, Borowiec N, Franco JC, Branco M (2019) *Ophelimus* sp., a new invasive gall wasp of *Eucalyptus globulus* in Europe, escapes the parasitism by *Closterocerus chamaeleon* due to an asynchronous life cycle. Biol Control 131: 1-7.

Gentry AH (1982) Patterns of Neotropical Plant Species Diversity. In: Hecht MK, Wallace B, Prance GT (eds) Evolutionary Biology. Springer, Boston, MA faltan las paginas.

Girault AA (1922) New Chalcid flies from eastern Australia II (Hymenoptera, Chalcididae). Insecutor Inscitiae Menstruus. 100-108.

Grissell EE (2006) A new species of *Megastigmus* Dalman (Hymenoptera: Torymidae), galling seed capsules of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnhardt (Myrtaceae) in South Africa and Australia. Afr Entomol 14 (1): 87-94.

Guerreiro JC, Del Quiqui EM, De Oliveira AHM, Maciel JP, Dileli MW, Ferreira-Filho PJ (2015) Susceptibility of *Eucalyptus* spp. (Myrtales: Myrtaceae) and Clones to

Leptocybe invasa (Hymenoptera: Eulophidae) in Paraná, Brazil. Fla Entomol 98 (2): 787-789.

Hernández CM, Aquino DA, Cuello EM, Andorno EV, Botto EN (2015) Primera cita de *Megastigmus zebrinus* Grissell de Argentina (Hymenoptera: Torymidae) asociado a agallas de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae). RSEA 74 (1-2): 75-77.

Hill KD (2004) EUCALINK. A Web Guide to the Eucalypts. <http://plantnet.rbgsyd.nsw.gov.au/cgi-bin/eucclass.pl?gn=Eucalyptus>. Accessed 04 April 2019.

Ikeda E (1999) A revision of the world species of *Quadrastichodella* Girault, with descriptions of four new species (Hymenoptera, Eulophidae). Insecta Matsumurana 55: 13-35.

Jorge C, Martinez G, Gomez D, Bollazzi M (2016) First record of the eucalypt gall-wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) from Uruguay. Bosque (Valdivia) 37 (3): 631-636.

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.

Kenis M, Hurley BP, Colombari F, Lawson S, Sun J, Wilcken C, Weeks R, Sathyapala S (2019) Guide to the classical biological control of insect pests in planted and natural forests, Forestry Paper No. 182. Rome, FAO.

Kim IK, La Salle J (2008) A new genus and species of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) inducing galls in seed capsules of *Eucalyptus*. Zootaxa 1745: 63-68.

Kim IK, McDonald M, La Salle J (2005). *Moona*, a new genus of Tetrastichinae gall inducers (Hymenoptera: Eulophidae) on seeds of *Corymbia* (Myrtaceae) in Australia. Zootaxa 989: 1-10.

Kim IK, Mendel Z, Protasov A, Blumberg A, 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.

Klein H, Hoffmann JH, Naser S, Dittrich-Schröder G (2015) Evidence that *Quadrastichodella nova* (Hymenoptera: Eulophidae) is the only gall inducer among four hymenopteran species associated with seed capsules of *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae) in South Africa. Afr Entomol 23 (1): 207-223.

Kulkarni H, Kavitha NK, Vastrad AS, Basavanagoud K (2010) Release and recovery of parasitoids in eucalyptus against gall wasp, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) under green house. Karnataka J Agr Sci 23 (1): 91-92.

Kumar A, Sangha KS, Dhillon DS (2015) Screening of 19 genotypes of *Eucalyptus* spp. against gall wasp (*Leptocybe invasa*) in North-western India. J For Res 26 (2): 355-359.

La Salle J, Arakelian G, Garrison RW, Gates MW (2009) A new species of invasive gall wasp (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae) on blue gum (*Eucalyptus globulus*) in California. Zootaxa 2121: 35-43.

Le NH, Nahrung HF, Griffiths M, Lawson SA (2018) Invasive *Leptocybe* spp. and their natural enemies: Global movement of an insect fauna on eucalypts. Biol Control 125: 7-14.

Lin YL, Chang TP, Tung GS (2014) Susceptibility Tests of Various Eucalyptus Host Species to *Leptocybe invasa* in Taiwan. Taiwan Journal of Forest Science 29:65-71

Liebholt A, Eckerhard G, Brockerhoff; Lynn J. Garrett; Parke JL (2012) Live plant imports: the major pathway for forest insect and pathogen invasions of the US. Front Ecol Environ 10: 135-143.

Luo J, Arnold R, Lu W, Lin Y (2014) Genetic variation in *Eucalyptus camaldulensis* and *E. tereticornis* for early growth and susceptibility to the gall wasp *Leptocybe invasa* in China. Euphytica 196: 397-411.

Mani MS (1964) The ecology of plant galls. Springer, Netherlands.

Martínez G, Jorge C, Escudero P, Martínez-Haedo J, de los Santos M, Scoz R (2019) Hacia un programa de control biológico de la avispa agalladora del eucalipto. Revista INIA. 56 (1): 75-78.

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 (2): 101-113.

Mendel Z, Protasov A, Blumberg D, Brand D, Saphir N, Madar Z, La Salle J (2007) Release and recovery of parasitoids of the eucalyptus gall wasp *Ophelimus maskelli* in Israel. Phytoparasitica 35 (4): 330-332.

Mendel Z, Protasov A, La Salle J, Blumberg D, Brand D, Branco M (2017) Classical biological control of two eucalyptus gall wasps; main outcome and conclusions. Biol Control 105: 66-78.

Meurisse N, Rassati D, Hurley BP, Brockerhoff EG, Haack RA (2019) Common pathways by which non-native forest insects move internationally and domestically. J Pest Sci. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-0990-0>

Morrow PA, Whitham TG, Potts BM, Ladiges P, Ashton DH, Williams JB (1994) Gall-forming insects concentrate on hybrid phenotypes of *Eucalyptus*. In: Price PW, Mattson WJ, Baranchikov YN (eds) The ecology and evolution of gall-forming insects. St. Paul, MN, pp 121-134.

Nadel RL, Slippers B (2011) *Leptocybe invasa*, the blue gum chalcid wasp. ICFR, South Africa. <http://www.forestry.co.za/uploads/File/home/notices/2011/ICFR%20IS01-2011gallwasp.pdf>. Accessed 20 January 2019.

Ndela S, Manyangadze T, Sachisuko A, van der Lingen S, Makowe IA (2018) The distribution and management of two invasive pests of *Eucalyptus*: the red gum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae), and the blue gum chalcid wasp, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae), in Zimbabwe. *Afr Entomol* 26 (1): 104-115.

Noyes JS (2017) Universal Chalcidoidea Database. World Wide Web electronic publication. <http://www.nhm.ac.uk/our-science/data/chalcidoids/database/index.dsml>. Accessed 24 March 2019.

Nyeko P, Mutitu KE, Otieno BO, Ngae GN, Day RK (2010) Variations in *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) population intensity and infestation on eucalyptus germplasms in Uganda and Kenya. *Int J Pest Manag* 56 (2): 137-144.

Otieno BA, Nahrung HF, Steinbauer MJ (2019) Where Did You Come From? Where Did You Go? Investigating the origin of invasive *Leptocybe* species using distribution modelling. *Forests*. 10: 115. doi:10.3390/f10020115

Paine TD, Steinbauer MJ, Lawson SA (2011) Native and exotic pests of *Eucalyptus*: a worldwide perspective. *Ann Rev Entomol* 56: 181-201.

Pereira RA (2010) Aspectos morfo-bioecológicos de *Epichrysocharis burwelli* (Eulophidae, Hymenoptera), vespa-das-galhas das folhas de *Corymbia citriodora*. Dissertation, Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo.

Pereira RA, Berti-Filho E, Moura RG (2012) Rendimento de óleo essencial de *Corymbia citriodora* Hill & Johnson sob diferentes níveis de infestação de galhas de *Epichrysocharis burwelli* Schauff (Hymenoptera, Eulophidae). *Revista de Agricultura* 87 (1): 10-17.

Pereira RA, Berti-Filho E, Wilcken CF (2015) Vespa-da-galha-do-citriodora, *Epichrysocharis burwelli* Schauff. In: Vilela EF, Zucchi RA (eds.) *Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros*. FEALQ, Piracicaba, pp 827-844

Petro R, Madoffe SS, Iddi S (2014) Infestation density of eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher and La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) on five commercially grown *Eucalyptus* species in Tanzania. *J Sustain Forest* 33 (3): 276-297

Price PW, Fernandes W, Waring GL (1987) Adaptive nature of insect galls. *Env Entomol* 16: 15-24.

Prance GT (1994) A Comparison of the Efficacy of Higher Taxa and Species Numbers in the Assessment of Biodiversity in the Neotropics. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 345 (1311): 89-99.

Protasov A, La Salle J., Blumberg D., Brand D., Saphir N, Assael F, Fisher N, Mendel Z. (2007). Biology, Revised Taxonomy and Impact on Host Plants of *Ophelimus maskeUi*, an Invasive Gall Inducer on *Eucalyptus* spp. in the Mediterranean Area. *Phytoparasitica* 35(1): 50-76.

Protasov A, Doğanlar M, La Salle J, Mendel Z (2008) Occurrence of two local *Megastigmus* species parasitic on the eucalyptus gall wasp *Leptocybe invasa* in Israel and Turkey. *Phytoparasitica* 36 (5): 449-459.

Rohfritsch O, Shorthouse JD (1982) Insect galls. In: Kahl GE, Schell JS (eds) *Molecular biology of plant tumors*. Academic, New York, pp 131–152.

Roques A, Copeland RS, Soldati L, Denux O, Auger-Rozenberg MA (2016) *Megastigmus* seed chalcids (Hymenoptera, Torymidae) radiated much more on Angiosperms than previously considered. I- Description of 8 new species from Kenya, with a key to the females of Eastern and Southern África. *ZooKeys* 585: 51-124.

Roques A, Skrzypczyńska M (2003) Seed-infesting chalcids of the genus *Megastigmus* Dalman, 1820 (Hymenoptera: Torymidae) native and introduced to the West Palearctic region: taxonomy, host specificity and distribution. *Journal of Natural History* 37 (2): 127-239.

SAG, Servicio Agrícola Ganadero (2016) SAG detectó establecimiento en Chile del controlador biológico de la avispa de las agallas de los *Eucalyptus* (*Leptocybe invasa*). <http://www.sag.cl/noticias/sag-detecto-establecimiento-en-chile-del-controlador-biologico-de-la-avispa-de-las-agallas>. Accessed 09 June 2018

Sangtongpraow B, Charernsom K, Siripatanadilok S (2011) Longevity, fecundity and development time of *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in Kanchanaburi Province, Thailand. *Thai Journal of Agricultural Science* 44: 155-163.

Santana DLQ, Anjos ND (2007) Microvespa-do-eucalipto-citriodora (*Corymbia citriodora*) *Epichrysocharis burwelli* SCHAUFF (Hymenoptera, Eulophidae). Colombo: Embrapa Florestas, Comunicado Técnico, 188. 4 p.

Schauff ME, Garrison R (2000) An introduced species of *Epichrysocharis* (Hymenoptera: Eulophidae) producing galls on *Eucalyptus* in California with notes on the described species and placement of the genus. *J Hym Res* 9: 176-181.

Shorthouse JD, Wool D, Anantanarayanan R (2005) Gall-inducing insect –Nature’s most sophisticated herbivores. *Basic Appl Ecol* 6: 407–411.

Sle AV, Brooker MIH, Duffy SM., West JG (2006) *Eucalypts of Southern Australia*. EUCLID Third Edition. <https://www.anbg.gov.au/cpbr/cd-keys/Euclid/sample/html/index.htm>. Accesed 04 April 2019

Stone G, Schonrogge K (2003) The adaptative significance of insect gall morphology. Trends Ecol Evol 18(10): 512-522.

Taylor GS (1987) The gall forming Psylloidea of *Eucalyptus obliqua* in the mount lofty ranges of South Australia. Aust J Entomol 26: 223-228.

Thu PQ, Dell B, Burgess TI (2009) Susceptibility of 18 eucalypt species to the gall wasp *Leptocybe invasa* in the nursery and young plantations in Vietnam. Sci Asia 35: 113-117.

Timberlake PH (1957) A new entedontine chalcid-fly from seed capsules of *Eucalyptus* in California (Hymenoptera: Eulophidae). Pan-Pacific Entomologist 33: 109.

Wilcken CF, Zaché B, Masson MV, Pereira RA, Barbosa LR, Zanuncio JC (2015) A vespa-da-galha-do-eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle. In: Vilela EF, Zucchi RA (eds) Pragas Introduzidas no Brasil. Insetos e ácaros. Fealq, Piracicaba, pp 835-844.

Withers TM, Raman A, Berry JA (2000). Host range and biology of *Ophelimus eucalypti* (Gahan) (Hym.: Eulophidae), a pest of New Zealand eucalypts. N Z Plant Prot 53: 339-344.

Wylie FR, Speight MR (2012) Insect pests in tropical forestry, 2nd edn. CABI. Oxfordshire.

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 (58): 1-7.

Zhu F, Ren S, Qiu B, Huang Z, Peng Z (2012) The abundance and population dynamics of *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) galls on *Eucalyptus* spp. in China. J Integr Agric 11 (12): 2116-2123.

CAPÍTULO 2:

CONTROLE BIOLÓGICO CLÁSSICO DE *Leptocybe invasa* COM O PARASITOIDE EXÓTICO *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae): DISPERSÃO, EFICIÊNCIA E COMPETIÇÃO COM O PARASITOIDE NATIVO *Megastigmus brasiliensis* (Hymenoptera: Torymidae) ¹.

Resumo

A vespa-da-galha *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) é uma das principais pragas que afetam plantios florestais de *Eucalyptus* no mundo, principalmente os do Brasil, desde sua detecção em 2008, registrando perdas econômicas e de produção de madeira nas empresas florestais. O desconhecimento da flutuação populacional da praga e dos fatores ambientais que favorecem a proliferação da vespa-da-galha e a falta de metodologia de monitoramento e manejo adequados têm contribuído no aumento da densidade populacional e perdas econômicas. O controle biológico clássico com o parasitoide australiano *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae), vem sendo avaliado no país. O parasitoide nativo *Megastigmus brasiliensis* (Hymenoptera: Torymidae) está associado às galhas de *L. invasa* nos estados de São Paulo e Minas Gerais. Porém, não conhecemos os fatores ecológicos que afetam a dispersão e o estabelecimento do parasitoide no campo. O objetivo foi avaliar a flutuação populacional e distribuição espacial de *L. invasa* e dos parasitoides *S. neseri* e *M. brasiliensis*, em um plantio comercial de *Eucalyptus* spp. em Itamarandiba, MG, Brasil. Em março de 2016 foram instaladas 138 armadilhas adesivas amarelas e trocadas mensalmente até setembro de 2017. Em maio de 2016 foi liberado o parasitoide *S. neseri* no ponto central da área. *L. invasa* apresentou uma correlação positiva com o aumento da temperatura mínima. Os parasitoides não apresentaram nenhuma correlação com a temperatura. A abundância dos parasitoides e da praga não esteve correlacionada com a precipitação. No entanto, *S. neseri* apresentou uma correlação positiva com o aumento de *L. invasa* e *M. brasiliensis* apresentou uma correlação negativa com o aumento de *S. neseri*. O parasitoide *S. neseri* apresentou uma relação de denso dependente espacial e temporal com a praga.

¹ Capítulo redigido de acordo com as normas do periódico **Biological Control**

Palavras-chave: Modelagem espacial, dispersão, armadilhas adesivas amarelas, *Selitrichodes neseri*, *Megastigmus* sp.

2.1 Introdução

O Brasil é um dos principais produtores de madeira de *Eucalyptus* spp. no mundo, obtendo o primeiro lugar em produtividade em 2016 com uma média de 35,7 m³/ha (IBÁ, 2017). O eucalipto é utilizado no Brasil para diferentes propósitos, como produção de papel e celulose, painéis de madeira, piso laminado, lenha, extração de óleos essenciais, carvão vegetal, entre outros (IBÁ, 2017; Schühli et al., 2016). Em 2016, os plantios de eucaliptos alcançaram uma área de 5,7 milhões de hectares no Brasil, sendo o principal estado do país Minas Geral com 24% do total da área plantada (IBÁ, 2017). Em Minas Gerais, as plantações de eucalipto têm como um dos principais objetivos a produção de carvão, como fonte de energia renovável para manter as empresas siderúrgicas e para a produção de celulose (Rezende e Santos, 2010; Simioni et al., 2017).

A homogeneização dos plantios de eucalipto, principalmente de origem clonal, com baixa variabilidade genética, tem levado ao aumento de área adequada para o estabelecimento de espécies de insetos-praga originários da Austrália (Garnas et al., 2012). Os insetos-praga e doenças são os grandes responsáveis pelas perdas da produtividade dos plantios florestais (Wingfield et al., 2008).

No Brasil, além das pragas nativas (formigas cortadeiras e as lagartas desfolhadoras), as pragas exóticas também são responsáveis pelas perdas geradas nos plantios de *Eucalyptus* spp. (Wilcken et al., 2015a). A vespa-da-galha do eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), é considerada uma das principais pragas exóticas do eucalipto, por ter ocasionado perdas econômicas em viveiro e no campo, além da paralisação da atividade florestal e troca de material genético dos plantios em algumas empresas (Wilcken, 2015b).

A vespa-da-galha é um micro-himenóptero da família Eulophidae que induz a formação de galhas na nervura central e pecíolo das folhas do eucalipto (Mendel et al., 2004; Jorge et al., 2016). As fêmeas de *L. invasa* reproduzem-se principalmente por partenogênese telítoca, o que lhe confere uma grande capacidade reprodutiva e de dispersão (Czóca et al., 2017; Zhu et al., 2014). Além da formação de galhas pode causar deformações em folhas e ramos, desfolha, redução da área fotossintética,

perda de crescimento e até ocasionar a morte (Mendel et al., 2004, Wilcken et al., 2015 a, b; Jorge et al., 2016).

O monitoramento da vespa-da-galha é feito mediante a contagem de ramos com galhas (Wilcken et al., 2015a) ou pelo uso de armadilhas adesivas amarelas (Kumari, 2010; Vastrad et al., 2010). Porém, até o momento não há um protocolo do número ideal de armadilhas por hectare e a posição adequada dentro do talhão.

O ciclo de vida de *L. invasa* é influenciado pelas condições ambientais, podendo observar de duas a sete gerações em regiões temperadas como o Israel (Mendel et al., 2004) ou tropical como na Tailândia e o Taiwan (Santongpraow et al., 2011; Tung et al., 2014). No Brasil estabeleceu-se que *L. invasa* consegue completar o ciclo em 87 dias nas condições climáticas do município de Botucatu, SP (Souza, 2016). Mas, desconhece-se o número de gerações anuais, a duração do ciclo e em quais meses do ano a praga apresenta os picos populacionais em localidades mais quentes e secas como no estado de Minas Gerais.

O descarte de mudas com sintomas de ataque em viveiro e o controle cultural são empregados para diminuir rapidamente a abundância de adultos de *L. invasa* em regiões com altos níveis de infestação (Medel et al., 2004; Wilcken et al., 2015). A resistência de plantas e o controle biológico são consideradas as metodologias mais promissoras para o manejo desta praga (Kim et al., 2008; Mendel et al., 2017). *Quadrastichus mendelli* Kim & La Salle, 2008 e *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle, 2012 (Hymenoptera: Eulophidae), são as espécies mais utilizadas em programas de controle biológico clássico (Dittrich- Schröder et al. 2014; Mendel et al., 2017; Kenis et al., 2019). Algumas espécies de parasitoides nativos, dos países onde *L. invasa* conseguiu se estabelecer, se adaptaram a parasitar as galhas desta praga, como é o caso do *Megastigmus brasiliensis* Dogănlar, Zaché & Wilcken, 2013 (Hymenoptera: Torymidae) no Brasil (Dogănlar et al., 2013).

O parasitoide *S. neseri* foi importado no Brasil em 2015 e vem sendo utilizado para o controle de *L. invasa* no campo (Masson et al., 2017; Kenis et al., 2019). Por ser uma espécie de recente introdução no Brasil, o tempo que demora para se estabelecer nos locais de liberação e a capacidade de dispersão são desconhecidos. Além disso, há pouca informação da história natural do parasitoide *M. brasiliensis*, nativo do Brasil. Assim, a realização de um estudo da flutuação populacional da vespa-da-galha e dos seus parasitoides é essencial para entender os processos

bioecológicos envolvidos na capacidade de adaptação desta praga e do sucesso do controle biológico.

Estudos que avaliem a flutuação populacional e modelagem da dispersão de insetos-praga e parasitoides são imprescindíveis para estabelecer o número de indivíduos e o período temporal adequado para serem liberados. Estes parâmetros são necessários para avaliar a efetividade do uso do controle biológico no manejo de insetos-praga. Existem estudos de avaliação da dispersão e/ou colonização de parasitoides em plantios agrícolas (Langhof et al., 2005; Linhares-Volpe et al., 2014) e de árvores frutíferas (Mcdougall and Mills, 1997; Paranhos et al., 2007; Hegazi et al., 2012; Mundstock et al., 2017), entre outros, porém na área florestal são escassos os estudos visados na capacidade de dispersão de inimigos naturais após sua liberação no campo.

No Brasil tem alguns exemplos do estudo da dispersão de parasitoides de insetos praga do eucalipto. Ferreira-Filho et al. (2008 a) avaliaram a dispersão do *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoide do psílídeo-de-concha *Glycaspis brimblecomblei* Moore (Hemiptera: Aphalaridae), em plantio de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (Myrtaceae) no estado de São Paulo. Zaché (2012) estudou a dispersão do parasitoide de pupas de Lepidoptera *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) no campo. Candelária (2013) estudou a capacidade de parasitismo do endoparasitoide *Palmistichus elaeisis* (Delvare & LaSalle, 1993) (Hymenoptera Eulophidae) encontrando uma dispersão de até 80 m de distância do ponto de liberação. Apesar da importância de *L. invasa*, não existem estudos que avaliem a disseminação dessa praga e de seus parasitoides. O objetivo foi estudar a flutuação populacional e distribuição espacial de *L. invasa* e dos parasitoides *S. neseri* e *Megastigmus* spp., em plantio comercial de *Eucalyptus* spp. em Itamarandiba, MG, Brasil.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Área de estudo

O estudo foi realizado em plantação comercial de *Eucalyptus* spp. no Município de Itamarandiba em MG, Brasil (Fig. 1A). A área apresenta uma temperatura média de 20,9 °C e pluviosidade média anual de 1098 mm. O estudo foi conduzido na área central de um talhão de teste de progênie de *Eucalyptus saligna* de origem seminal

de 2,9 hectares, circundada por três clones de *E. cloeziana* (A, B, C) e um de *E. camaldulensis*.

O talhão de *E. saligna* foi plantado em janeiro de 2015, o clone A foi instalado em 2011 e os talhões dos clones B e C foram plantados em outubro de 2015. O espaçamento das árvores foi de 2 x 3 m em todos os talhões. No talhão de *E. saligna* algumas progênies apresentavam um alto nível de infestação de *L. invasa*, assim como na bordadura com *E. camaldulensis*. Estas espécies são consideradas susceptíveis à praga (Dittrich-Schröder et al., 2012; Petro et al., 2014), enquanto que *E. cloeziana* é resistente ao ataque de *L. invasa* (Thu et al., 2009; Nadel e Slippers, 2011).

2.2.2 Amostragem

Para a avaliação da flutuação populacional e distribuição espacial da vespa-da-galha e dos parasitoides foram utilizadas armadilhas adesivas amarelas, dupla face, de 10 x 12,5 cm, colocadas entre duas árvores com um arame plastificado a uma altura de 1,8 m do solo. O uso de armadilhas adesivas amarelas vem sendo empregado para o monitoramento de pragas exóticas do eucalipto no Brasil (Ferreira-Filho et al., 2008 a, b) e no Uruguai (Jorge C., comunicação pessoal). Esta metodologia também foi testada na Índia por Vastrad et al. (2010) para monitorar a vespa-da-galha e o parasitoide *Megastigmus* spp. em viveiro e no campo, mas utilizando armadilhas de maior tamanho (10,5" a 7,5"). Estes autores propõem que as armadilhas adesivas são uma boa metodologia para monitorar a praga e seus inimigos naturais.

O ensaio foi instalado em oito de março de 2016, as armadilhas foram trocadas mensalmente até setembro de 2017 e uma última coleta de março a abril de 2018 foi realizada. No final do estudo tivemos um total de 19 coletas. Após a troca, cada armadilha foi envolta com filme de PVC para proteger os insetos coletados, facilitar a triagem e a quantificação dos indivíduos.

Foram instaladas 96 armadilhas no talhão de *E. saligna* dispostas em oito linhas de 12 armadilhas cada uma, separadas a uma distância de 22 m x 10 m em média (Figura 1B). Como o talhão de *E. saligna* era mais comprido, as armadilhas nos talhões vizinhos foram colocadas em diferentes distâncias tentando abranger o tamanho deste. Nos talhões dos clones A, B e C foram colocadas 12 armadilhas em duas linhas, nos clones A e C a uma distância de 15 m x 30 m, no clone B a 65 m x

30 m e na bordadura com *E. camaldulensis* 6 armadilhas separadas a uma distância de 65 m entre si (Figura 1B). Cada armadilha foi considerada uma amostra. Ao final do ensaio foram avaliadas 2760 armadilhas, sendo 1920 no talhão de *E. saligna*, 120 no de *E. camaldulensis*, e 240 em cada um dos três talhões de *E. cloeziana*.

As armadilhas adesivas amarelas foram geo-referenciadas com um GPS para poder interpolar os dados das abundâncias do parasitoide e da praga com as coordenadas geográficas de cada ponto amostral (Figura 1B). Os dados de temperatura e precipitação foram obtidos do Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (BDMEP) do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), da estação meteorológica presente no município de Itamarandiba (BDMEP, 2019).

Em maio de 2016 foram liberados 1000 indivíduos adultos do parasitoide *S. nesei* (até o momento ausente na área) no ponto central do talhão, para avaliar a dispersão do parasitoide dentro e entre os talhões vizinhos. A leitura e identificação dos insetos presentes nas armadilhas foi realizado com uma lupa estereoscópica Nikon SMZ645, no Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais, na Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista, Unesp, campus experimental de Botucatu, SP. Os exemplares de *S. nesei* capturados nas armadilhas foram sexados, quantificando o número de machos e fêmeas.

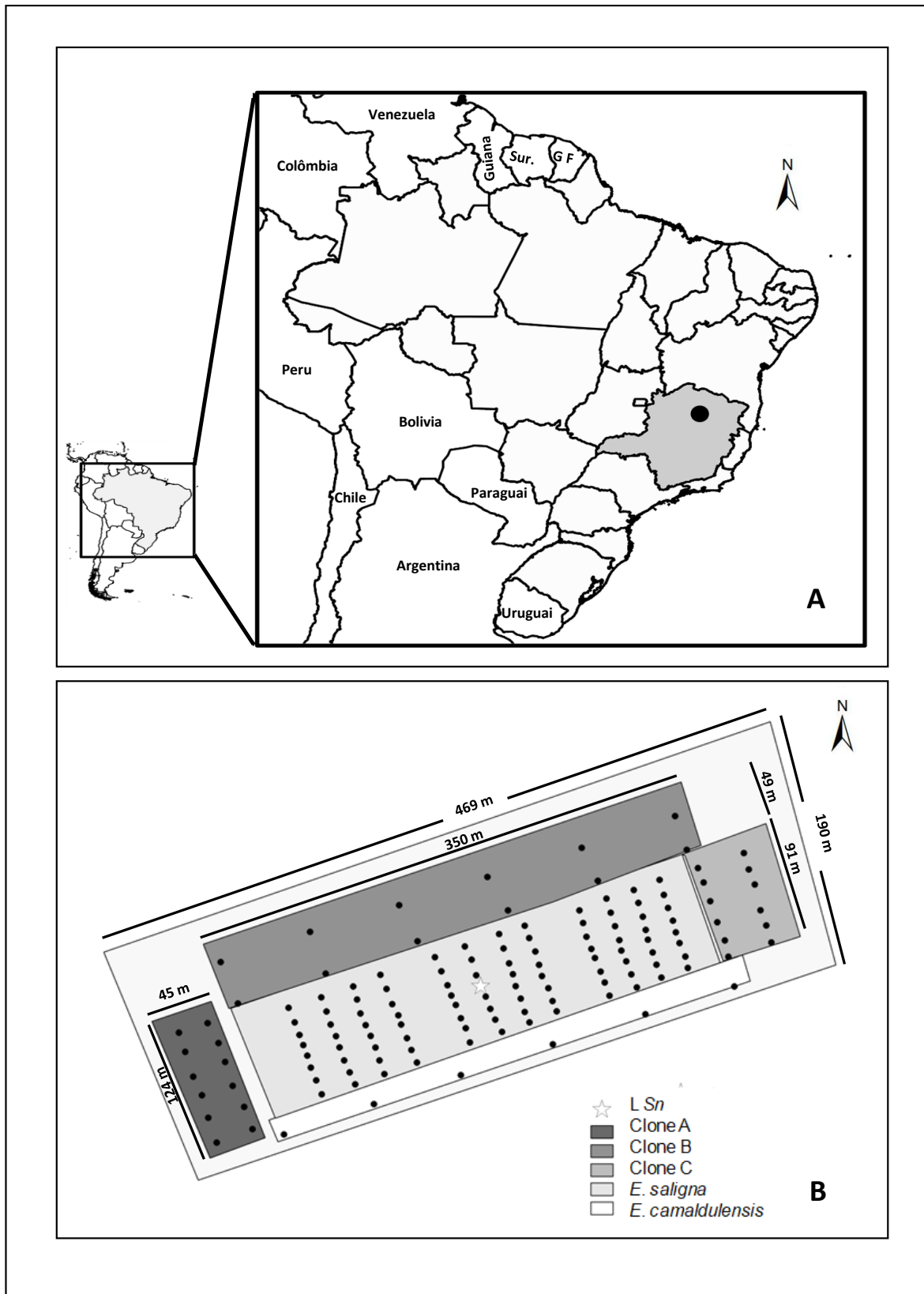


Figura 1. Área de estudo. **A.** Município de Itamarandiba indicado pelo círculo preto. (Sur= Suriname, G. F.= Guiana Francesa). **B.** Disposição das armadilhas adesivas amarelas nos talhões (pontos pretos). L Sn.: ponto de liberação do parasitoide *S. nesei*.

Tabela 1: Precipitação acumulada anual e média mensal para o município de Itamarandiba, MG de 2015 até 2018.

Ano	Precipitação	
	Anual	Média
2015	482,4	40,2
2016	1068,8	89,1
2017	745,9	62,2
2018	1239,7	103,3

2.2.3 Análise dos dados

2.2.3.1 Dinâmica populacional

Foi realizado o gráfico de abundância dos adultos de *L. invasa*, dos parasitoides capturados nas armadilhas e das variáveis climáticas, precipitação mensal, temperatura máxima e mínima de março de 2016 até setembro de 2017 (Figura 2). Devido as grandes diferenças nas capturas de *L. invasa* entre o início e final do ensaio, e com a abundância de seus parasitoides, os dados foram transformados empregando a função $\text{Log}_{10}(x+1)$. Esta transformação foi selecionada porque dados apresentaram uma grande proporção de zeros (Lachin et al. 2011). Esta transformação é comumente empregada em estudos com dados biológicos, para avaliar a dinâmica populacional e em alguns estudos ecológicos (O'Hara e Kotze 2010; Xiao et al., 2011).

O teste de Correlação de Pearson foi utilizado para analisar possíveis relações entre as abundâncias da praga e dos parasitoides entre si. Também foi analisada a influência dos dados climáticos, precipitação, temperatura máxima e mínima, sobre a flutuação de *L. invasa* e dos parasitoides durante o tempo de avaliação.

2.2.3.2 Distribuição espacial e dispersão

A análise espacial pode ser utilizada para interpolar o número de insetos presentes em armadilhas com os dados das coordenadas geográficas para gerar um modelo de distribuição potencial de uma espécie (Ferreira-Filho et al., 2008b). Porém, são poucos os estudos que analisam a distribuição espacial de pragas e seus inimigos naturais, em especial em plantios florestais. Ferreira-Filho et al. (2008a) utilizaram

armadilhas adesivas amarelas para caracterizar a estrutura espacial de adultos do pisilídeo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae)) e do parasitoide *Psyllaephagus blitteus* (Hymenoptera: Eulophidae) para avaliar o nível de parasitismo e a evolução da infestação na área de estudo, mediante o uso de geoestatística. Os dados da avaliação da flutuação populacional foram utilizados para analisar a dispersão do parasitoide da vespa-da-galha e do *S. neseri*.

Na construção dos mapas de dispersão do parasitoide e infestação da praga foi utilizado o estimador não paramétrico de Kernel, que constrói um "raster" a partir de uma camada de pontos (Q-GIS, 2009). O kernel (ou núcleo) é um método estatístico que permite estimar curvas de densidades ("raster"), interpolando os dados de um determinado fenômeno e a intensidade, até mesmo em aquelas regiões em que o evento não esteve realmente presente. Neste método cada uma das observações é ponderada pela distância em relação a um valor central (núcleo), permitindo assim ter uma visão geral da intensidade do fenômeno em todas as regiões do mapa. O estimador Kernel tem sido utilizado para estudar o comportamento geográfico de padrões, em gestão ambiental (Oliveira e Oliveira, 2017), avaliar efeitos ambientais catastróficos, e distribuição de espécies, epidemias, entre outros.

Para a elaboração dos mapas de dispersão foi utilizado o programa Q-GIS 2.2.0 Valmiera (Q-GIS, 2009), empregando a função "mapa de calor". Esta função permite construir uma matriz da soma do empilhamento de "n" raster circulares de raio "h" para cada ponto (Oliveira e Oliveira, 2017). Foi utilizada a função "Quártica (biponderada)", com um raio de 30 m a partir de cada ponto amostral, usando como peso o campo de abundância de *L. invasa* e de *S. neseri*. O resultado da análise gera uma função matemática ("raster") que adquire valores entre 0 a 1. Quando está próxima ao ponto adquire valores de 1, e quando está na fronteira da vizinhança 0, (Oliveira e Oliveira, 2017). Após a construção do mapa os dados "raster" foram reclassificados mediante a renderização da banda da imagem na opção banda simples falsa-cor, invertida, categorizando-a em sete classes.

2.3 Resultados

2.3.1 Dinâmica populacional

Foram capturados 20.581 indivíduos: 77.9% de *Leptocybe invasa*, 3,9% de *Megastigmus brasiliensis* e 18.2% de *Selitrichodes neseri* (Tabela 2). As capturas de *L. invasa* caíram notoriamente de março a agosto de 2016, aumentando novamente em setembro do mesmo ano, diminuindo em fevereiro de 2017 (Tabela 2, Figura 2A). Se compararmos as capturas de *L. invasa* no mês de março nos três anos, 2016 foi o que apresentou um alto nível de infestação (N=7578), e nos anos seguintes 2017(N=91) e 2018 (N=71), as capturas foram baixas apresentando pouca diferença entre eles (Tabela 1). Em 2016 a precipitação na área aumentou 221% em comparação com o ano anterior, e no ano seguinte as precipitações diminuíram 30,2% (Tabela 1).

O número de indivíduos de *Megastigmus brasiliensis* começou a diminuir a partir de junho de 2016, deixando de ser observado em novembro do mesmo ano (Tabela 2, Figura 2A). Esta espécie apresentou dois picos de abundância, sendo um em abril e outro em junho de 2016 (Figura 2A).

O parasitoide *Selitrichodes neseri* começou a ser observado nas armadilhas no talhão de *E. saligna* em maio e junho de 2016 com apenas 1 e 2 indivíduos. A porcentagem deste parasitoide teve um aumento constantemente em relação as capturas de *L. invasa* desde novembro de 2016 estando abaixo da praga somente em abril de 2017 (Tabela 2). Em março de 2018 foi observado um aumento nas capturas de *L. invasa* e de *S. neseri*, em comparação com o registro anterior de setembro de 2017 (Figura 2 A). Se compararmos as capturas dos meses de março houve um detrimento das capturas da praga conforme o *S. neseri* aumentava (Tabela 2). Em setembro de 2016 começou a aumentar a presença do parasitoide nas armadilhas passando de um 16% a 57% em março de 2017, atingindo o 97% em setembro de 2017 (Tabela 2).

Tabela 2. Número de indivíduos de *L. invasa* (*L. i*) e dos parasitoides capturados nas armadilhas amarelas por mês. O mês da liberação de *S. neneri* (*S. n*) na área de estudo em Itamarandiba, MG é indicado pelo asterisco (*).

Datas	<i>L. invasa</i>	<i>M. brasiliensis</i>	<i>S. neneri</i>	% <i>S. n</i> /
				<i>L. i</i>
Mar-16	7.578	78	0	0
Abr-16	2.555	228	0	0
Mai-16(*)	1.256	135	1	0,1
Jun-16	682	277	2	0,3
Jul-16	108	38	0	0
Ago-16	60	28	0	0
Set-16	154	7	31	16,8
Out-16	444	1	32	6,7
Nov-16	886	0	73	7,6
Dez-16	823	0	201	19,6
Jan-17	852	0	542	38,9
Fev-17	289	0	373	56,3
Mar-17	91	0	120	56,9
Abr-17	79	0	46	36,8
Mai-17	55	0	329	85,7
Jun-17	25	1	785	96,9
Jul-17	8	0	777	99,0
Ago-17	14	0	244	94,6
Set-17	2	0	87	97,8
Mar-18	71	0	113	61,4
Total	16.032	793	3.756	

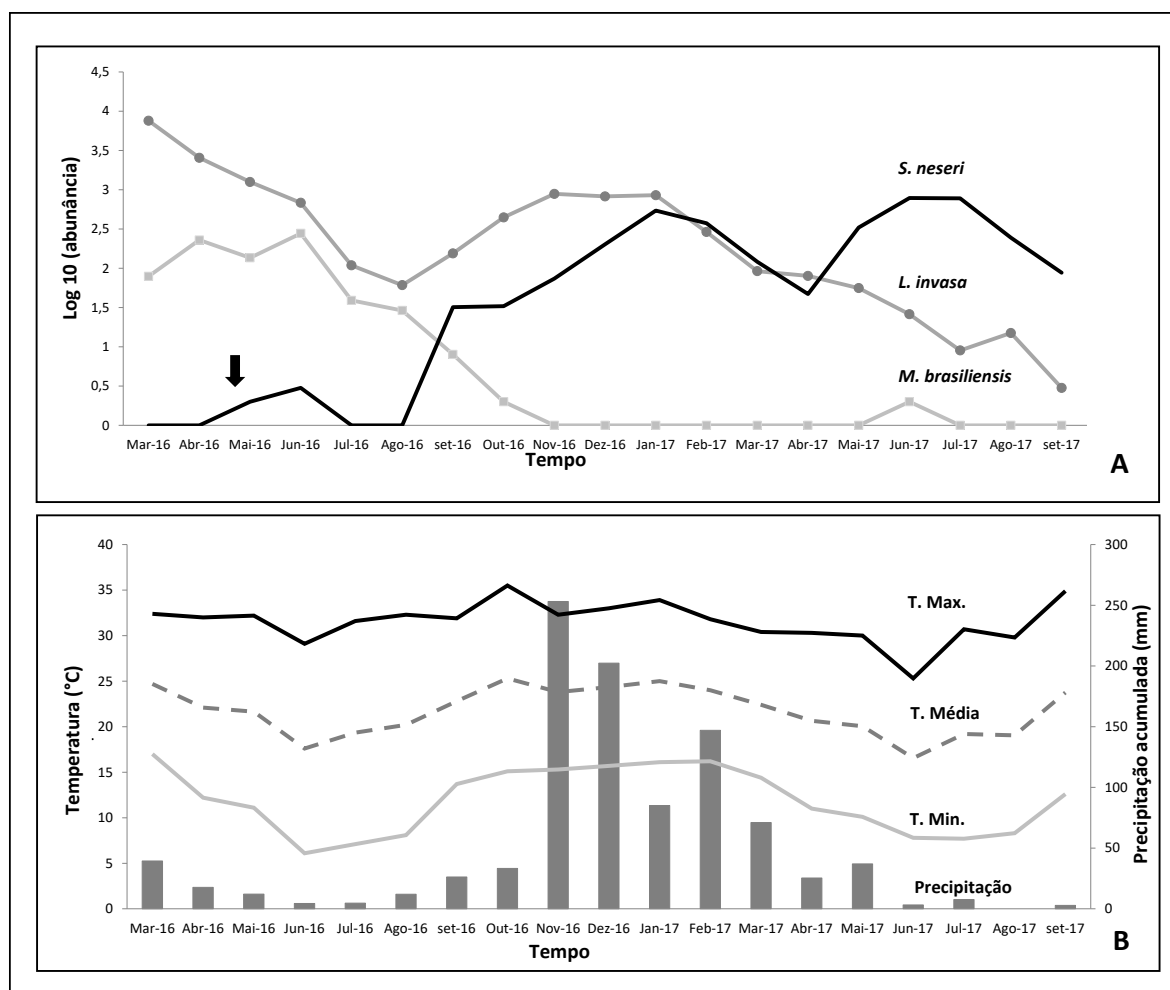


Figura 2. A. Flutuação populacional de indivíduos de *L. invasa*, *S. nesteri* e *M. brasiliensis* capturados nas armadilhas adesivas amarelas com a transformação $\text{Log}_{10}(x+1)$. **B.** Variáveis meteorológicas registradas durante o período de estudo. Seta: mês de liberação de *S. nesteri*.

Na Figura 3 se apresentam os gráficos das correlações que tiveram sustentação estatística ($p < 0,05$). Enquanto foi observada uma correlação negativa entre a abundância de *L. invasa* e do parasitoide *S. nesteri* uma correlação positiva foi encontrada quando foi comparada a abundancia da praga com o *M. brasiliensis* (Figura 3 A-B). O parasitoide *M. brasiliensis* tende a diminuir em correlação com o aumento das capturas do parasitoide *S. nesteri* (Figura 3C). Isto pode indicar uma competição entre eles pelas galhas de *L. invasa*, com desvantagem ao *M. brasiliensis*.

As abundâncias dos parasitoides e da vespa-da-galha não apresentaram nenhuma correlação com a precipitação nem com a temperatura máxima. O aumento da temperatura mínima tem uma correlação positiva com ao aumento das capturas de *L. invasa* nas armadilhas adesivas amarelas (Figura 3 D), mas esta variável não influenciou na abundância dos parasitoides.

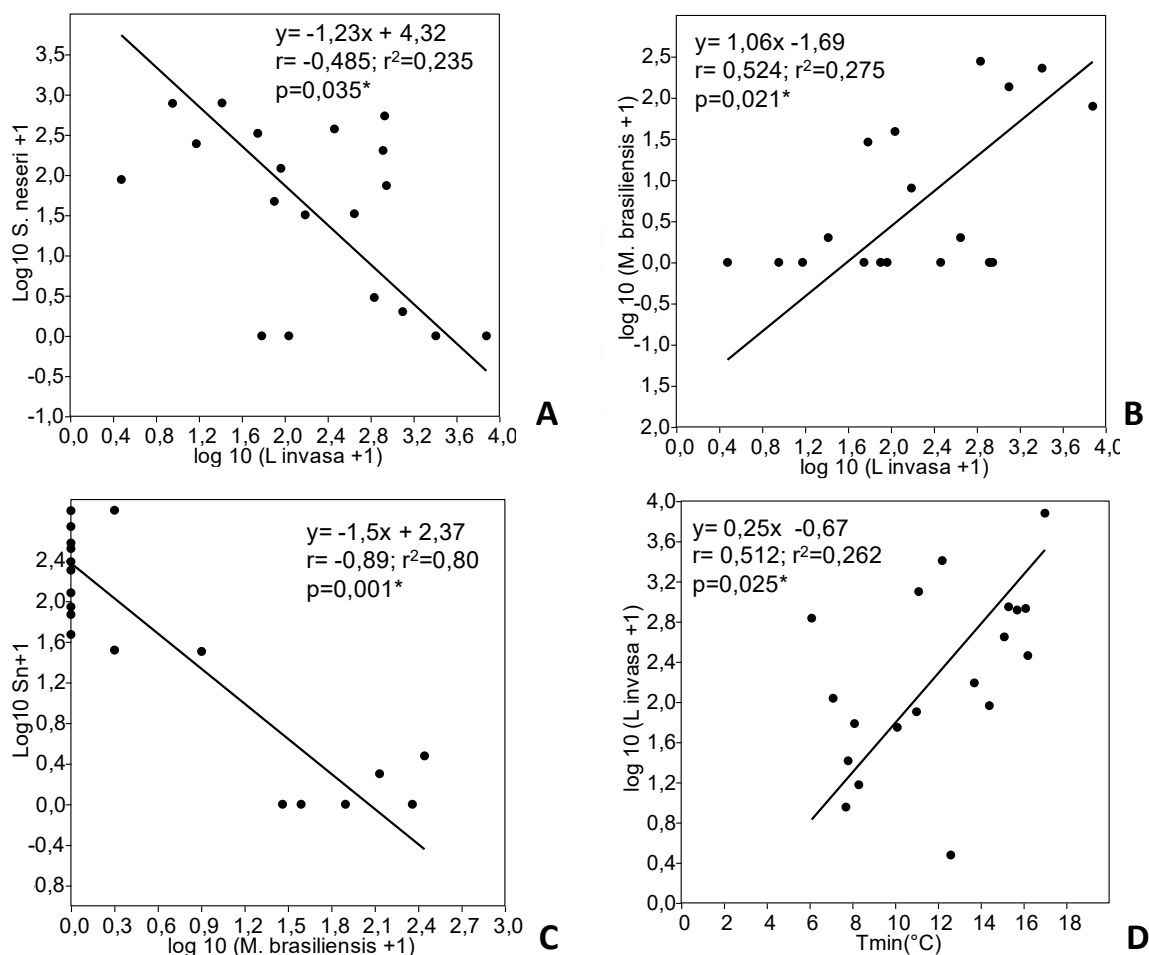


Figura 3. Correlação entre a abundância da praga e os parasitoides, com os dados transformados pela função $\text{Log}_{10}(x+1)$. **A:** *L. invasa* vs *S. nesei*, **B:** *L. invasa* vs *M. cf. brasiliensis*, **C:** *S. nesei* vs *M. brasiliensis*; **D:** Correlação entre a temperatura mínima e da abundância de *L. invasa*

Desde o início das avaliações, o número médio de indivíduos de *L. invasa* por armadilha foi maior no talhão de *E. saligna*, seguido pela área com *E. camaldulensis* e dos clones B e C (Tabela 3). O talhão do clone A, de maior idade foi o que apresentou o menor número de indivíduos nas armadilhas. As capturas médias de *M. brasiliensis* e *S. nesei* apresentaram um padrão similar ao observado em *L. invasa*, mas a diferença entre os talhões B e C foi maior apresentando uma maior proporção destes parasitoides por indivíduos de *L. invasa* (Tabela 3). O parasitoide *S. nesei* foi mais capturado no talhão de *E. saligna* (onde foi liberado), e no talhão do clone B, na direção norte, com 92% e 5,1% dos indivíduos, respectivamente. A área com *E.*

camaldulensis, que também apresentava galhas, teve 1,7% deste parasitoide (Tabela 3).

Tabela 3. Número total de insetos capturados e capturas médias por armadilha para cada talhão. *E. cam*: *E. camaldulensis*, *E. sal*: *E. saligna*. Prop.: proporção, *Li*: *L. invasa*, *Sn*: *S. neseri*, *Mb*: *M. brasiliensis*.

<i>Leptocybe</i> <i>invasa</i>		<i>Megastigmus</i> <i>brasiliensis</i>		<i>Selitrichodes</i> <i>neseri</i>		<i>Li/Sn</i>	<i>Li/Mb</i>
		Médi				Prop.	Prop
Talhões	Total	Média	Total	a	Total	Média	
<i>E. cam.</i>	702	5,85	28	0,23	65	0,54	10,8 25,1
<i>E. sal.</i>	13.539	7,05	677	0,35	3455	1,80	3,92 19,9
Clone A	109	0,45	6	0,03	9	0,04	12,1 18,2
Clone B	866	3,61	70	0,29	192	0,80	4,5 12,4
Clone C	831	3,46	13	0,05	34	0,14	24,4 63,9

Tanto a praga como os parasitoides foram mais capturados na linha de armadilhas da bordadura (a mais próxima do talhão de *E. saligna*), do que na linha de armadilhas interna, para todos os talhões clonais de *E. cloeziana* (Tabela 4). Isto pode indicar um efeito de barreira para a dispersão da praga e de seus inimigos naturais.

Tabela 4. Comparação da abundância da praga e dos parasitoides entre a linha de armadilhas adesivas da bordadura e a interna nos talhões de *E. cloeziana*.

Linha	Clone	<i>L. invasa</i>	<i>S. neseri</i>	<i>M. brasiliensis</i>
Bordadura	A	70	7	2
Bordadura	B	755	182	41
Bordadura	C	665	20	7
Interna	A	37	3	1
Interna	B	108	6	10
Interna	C	163	9	4

2.3.2 Distribuição espacial de *L. invasa* e dispersão do parasitoide *S. nesei*

Nas figuras 4 e 5, *L. invasa* foi mais abundante na área central que corresponde ao talhão de *E. saligna*, e nos talhões vizinhos começaram a aumentar de julho a outubro de 2016. Na figura 6 (A-F), pode ser observado que a distribuição de *L. invasa* ficou restrita a dois pontos no talhão de *E. saligna*. A praga foi diminuindo sua distribuição com o decorrer do tempo (Figuras 4-6). A colonização de *S. nesei* no talhão de *E. saligna* iniciou em setembro de 2016, e se espalhou desde o ponto de liberação (Figura 6H). A dispersão do parasitoide para os talhões do norte e do oeste, começou em setembro e outubro de 2016, respectivamente (Figuras 5H-I). Em março de 2017 o parasitoide tinha colonizado o leste da área, correspondente ao clone C (Figura 5N).

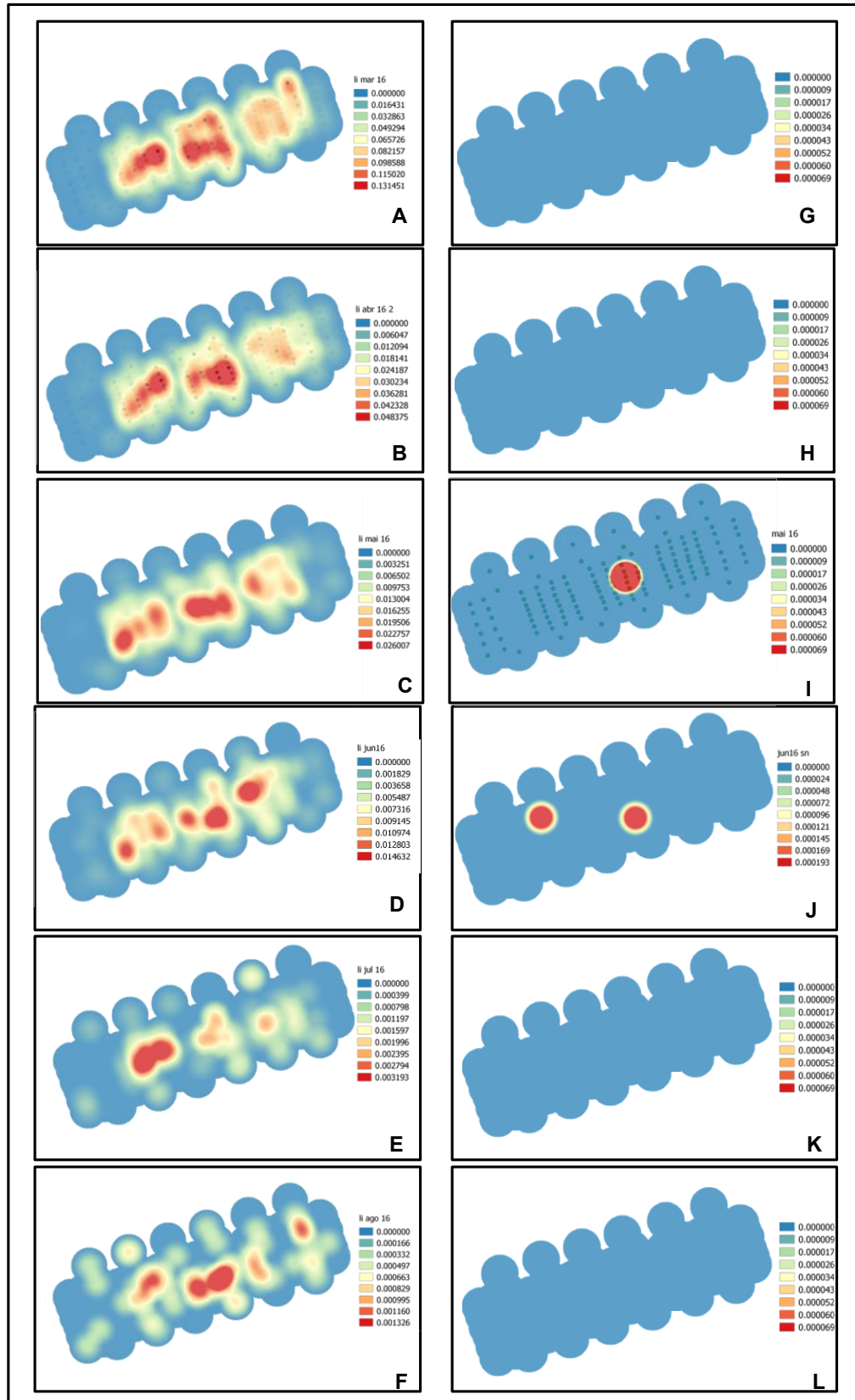


Figura 4. Mapas mensais da distribuição de *L. invasa* (A-F) e do parasitoide *S. neseri* (G-L) e em um plantio de *Eucalyptus* spp. em Itamarandiba, MG. De março de 2016 até agosto de 2016.

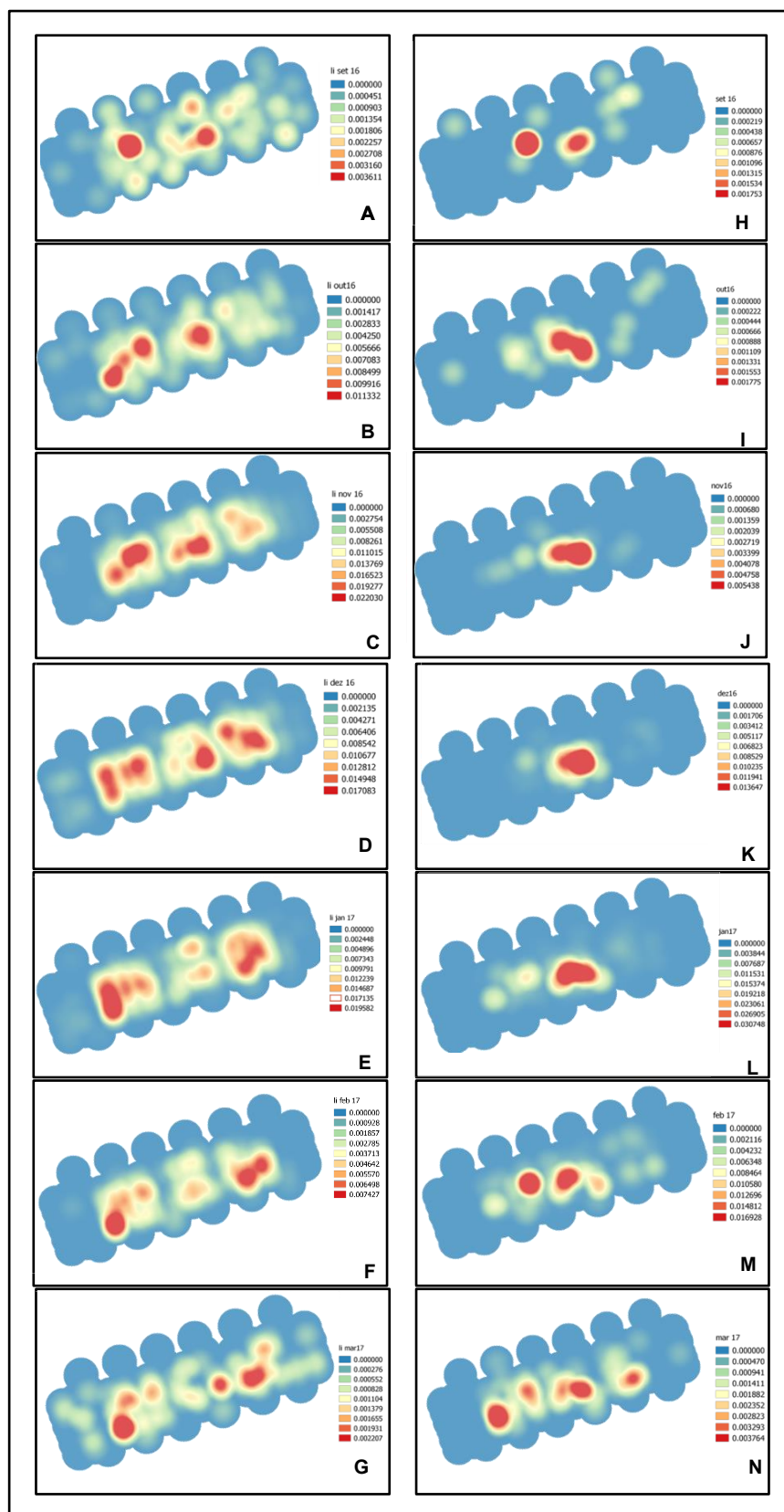


Figura 5. Mapas mensais da distribuição de *L. invasa* (A-G) e do parasitoide *S. nesei* (H-N) em um plantio de *Eucalyptus* spp. em Itamarandiba, MG. De setembro de 2016 até março de 2017.

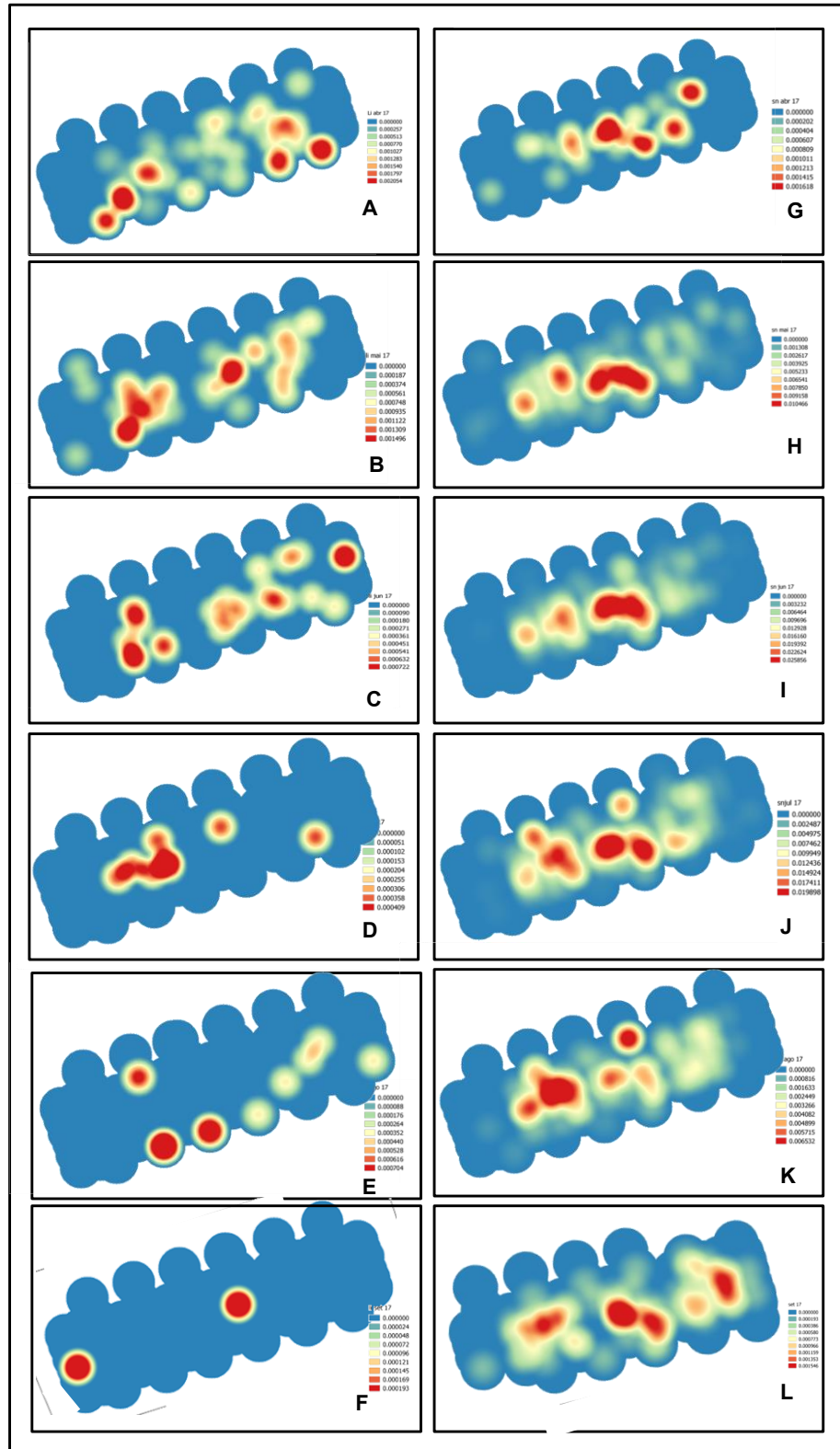


Figura 6. Mapas mensais da distribuição de *L. invasa* (A-F) e do parasitoide *S. neseri* (G-L) em um plantio de *Eucalyptus* spp. em Itamarandiba, MG. De abril até setembro de 2017.

2.4 Discussão

2.4.1 Dinâmica populacional

A flutuação populacional dos organismos e sua distribuição espacial está determinada por fatores bióticos e abióticos (Dajoz, 2000). Dentro deste último, os fatores climáticos, como a temperatura, precipitação, umidade relativa, luminosidade são as principais variáveis ambientais que incidem na sobrevivência e nos aspectos biológicos e fisiológicos dos insetos, como a duração do ciclo de vida (Dajoz, 2000, 2005; Gulan e Cranston, 2017). As espécies de insetos-praga, como *L. invasa*, apresentam uma maior amplitude climática nas quais se conseguem desenvolver, o que lhes confere uma maior adaptação para colonizar novos ambientes (Zhu et al., 2014).

O grande número de indivíduos de *L. invasa* capturados ao início do experimento (N=7578), está correlacionado com o alto nível de infestação observado no talhão de *E. saligna* em março de 2016. A vespa-da-galha apresentou uma diminuição das capturas entre o final do verão e início do inverno de 2016, em correlação com a diminuição das temperaturas propícias da estação seca. A praga voltou a aumentar em setembro de 2016, quando as temperaturas mínimas começaram a aumentar novamente e se manteve até fevereiro de 2017 em que voltou a diminuir. Esses dados concordam com o observado por Masson (2015), em que as capturas de *L. invasa* em armadilhas adesivas amarelas diminuíram durante o inverno em plantios de *Eucalyptus* spp. na Bahia, Brasil. Resultados similares foram observados no Israel (Mendel et al., 2004), na China (Zhu et al., 2012) e no Sri-Lanka (Udagedara e Karunaratne, 2014). No trabalho de Jorge et al. (em preparação), em plantio de *Eucalyptus* spp. em Tacuarembó, Uruguai, o resultado foi mais extremo, não registrando indivíduos de *L. invasa* nas armadilhas adesivas amarelas durante os meses de inverno.

A precipitação também pode incidir na sobrevivência e na duração do ciclo de vida e período de oviposição dos insetos (Gulan e Cranston, 2017). Não houve uma correlação entre a flutuação de *L. invasa* e a precipitação. A presença de *L. invasa* nas armadilhas apresentou uma correlação positiva com o aumento da temperatura mínima. Por tanto, podemos concluir que a população de Itamarandiba apresentou um comportamento similar ao observado em outras regiões do mundo, nas quais há uma diminuição de adultos conforme a diminuição da temperatura.

O parasitoide nativo da vespa-da-galha, *Megastigmus brasiliensis*, começou a diminuir a partir da liberação do *S. nesei* na área. Tendo em conta que é uma espécie de recente descrição, de baixa abundância e com dificuldade para ser criada em laboratório, desconhece-se a duração do ciclo de vida e interações com outros inimigos naturais. Assim, a correlação negativa das capturas de *M. brasiliensis* com o aumento de *S. nesei* observada no presente estudo, sugere uma competição entre eles. Portanto, que existe possível relação antagônica entre ambos parasitoides pelas galhas de *L. invasa*.

Segundo Dittrich-Schröder et al. (2014), *S. nesei* é um parasitoide de larvas maduras específico da vespa-da-galha que apresenta um ciclo de 19 dias, com um intervalo de entre 12 a 31 dias na África do Sul. Nas condições ambientais de Botucatu, São Paulo, Brasil a média do ciclo deste parasitoide foi de 17 dias (Souza, 2015). O mesmo começou a ser registrado com maior frequência nas armadilhas adesivas amarelas na primavera de 2016, quatro meses após a liberação na área de estudo. Embora não tenha sido observada uma correlação das capturas do parasitoide com a temperatura, o aumento da temperatura mínima influenciou no um aumento das capturas de *L. invasa*, e por conseguinte de galhas maduras disponíveis para que as fêmeas do *S. nesei* possam ovipositar. Isto gerou condições ótimas do hospedeiro favorecendo o parasitismo. Portanto, o *S. nesei* conseguiu se estabelecer e se adaptar as condições ambientais da área de liberação em Itamarandiba, MG, acompanhando as flutuações populacionais da praga.

2.4.2 Dispersão da praga e dos parasitoides

Enquanto a vespa-da-galha pode atacar mais de 36 espécies *Eucalyptus* e alguns híbridos, foram identificados genótipos e espécies que são resistentes e/ou tolerantes à praga (Nadel and Slippers, 2011; Dittrich-Schröder et al., 2012; Kumar et al., 2015; Eskiviski et al., 2018). Petro et al. (2014), observaram diferenças no ataque de *L. invasa* em plantios de *Eucalyptus* spp. na Tanzânia, em talhões de *Eucalyptus tereticornis*, *E. camaldulensis* e de *E. saligna*, os quais foram mais afetados, em comparação com os de outras espécies de *Eucalyptus*. O *Eucalyptus cloeziana* é uma das espécies do gênero menos preferidas por *L. invasa*, sendo considerada resistente (Thu et al., 2009; Nadel e Slippers, 2011).

Portanto, o menor número de capturas médias por armadilha de *L. invasa* nos talhões de *E. cloeziana* quando comparado com o de *E. saligna* e o de *E.*

camaldulensis, pode ser explicado à resistência de esta espécie à praga. Além disso, a maior porcentagem de capturas foi observada na linha de armadilhas da bordadura, mais próxima ao talhão de *E. saligna*. Isso confirma que os talhões de *E. cloeziana* atuaram como uma barreira efetiva para interferir na dispersão da praga.

As diferenças nas capturas de *L. invasa* entre os talhões de *E. cloeziana* pode ser devido a idade dos mesmos, já que o talhão do clone A (maior idade), foi o que apresentou o menor número de capturas totais por armadilha e nos clones B e C (de igual idade) foi similar. Os resultados obtidos são concordantes com a literatura em que se menciona que a vespa-da-galha tem preferência por atacar plantios novos, pela maior proporção de folhas novas e brotações presentes em plantas jovens (Mendel et al., 2004; Wilcken et al., 2015). Petro et al. (2014), observaram que plantios de menos de três anos eram mais afetados por *L. invasa* que plantios de quatro a seis anos, na Tanzânia, sustentando os resultados obtidos no presente trabalho.

Em relação aos parasitoides observou-se uma maior abundância do *S. neseri* e do *M. brasiliensis* e uma menor proporção da vespa-da-galha por parasitoide, nas armadilhas do clone B. Tendo em conta que não houve diferenças nos talhões B e C nas capturas da praga e que nestes talhões não foram observadas a presença de galhas que pudessem atrair os parasitoides.

2.4.3 Modelagem da distribuição potencial de *L. invasa* e do parasitoide *S. neseri*

A geoestatística e os sistemas de informação geográfica (SIG) têm sido empregados para tentar explicar a dispersão e distribuição espacial de pragas. Portanto, conhecer a distribuição dos insetos é necessário para determinar os requerimentos ecológicos e estabelecer medidas de manejo (Thomas et al., 2001). Existem vários exemplos do uso desta metodologia para determinar os padrões de distribuição espacial de insetos-praga em cultivos de maçãs e peras (Ribes-Dasi et al., 1998; Farias et al., 2004; Duarte et al., 2015; Calvo et al., 2018), vinhedos (Thomas et al., 2001; Thomson e Hoffmann, 2013), agroecossistemas e pragas florestais (Cocco et al., 2010; Jones et al., 2015; Duque-Lazo e Navarro-Cerrillo, 2017).

Lismar et al. (2012) analisaram a distribuição espacial e nível de infestação de formigas cortadeiras e de seus ninhos em plantios de *Eucalyptus* spp. no Brasil. Santos et al. (2016) utilizaram a geoestatística para modelar a distribuição de cupins subterrâneos do gênero *Syntermes* em plantios de *Eucalyptus* spp. no Brasil. Existem

exemplos do estudo da distribuição espacial de insetos-praga e predadores em vinhedos (Thomas et al., 2001, Thomson e Hoffmann, 2009, 2013).

O uso da geoestatística e do SIG visando o manejo de pragas florestais, em especial para avaliar o uso do controle biológico, é escasso. Ferreira-Filho et al. (2008b), utilizaram a geoestatística para avaliar a distribuição espacial do parasitoide *P. bliteus*, além da distribuição da praga e estudar a eficiência do controle biológico das populações do psílideo-de-concha. Zaché (2012) e Candelária (2013) avaliaram a dispersão e distribuição espacial de parasitoides de pupa de lagartas desfolhadoras em plantios de eucalipto no Brasil. O presente trabalho é o primeiro em avaliar a distribuição espacial da vespa-da-galha do eucalipto e seu parasitoide *S. nesei*.

Os mapas de distribuição espacial de *L. invasa* com o estimador Kernel mostram como a densidade da praga foi diminuindo em todos os talhões com o decorrer do tempo de estudo. O parasitoide *S. nesei* demorou três meses para ser capturado nas armadilhas adesivas amarelas após sua liberação no talhão de *E. saligna*. Isto pode ter ocorrido porque o ponto central onde o parasitoide foi liberado tinha progênie altamente suscetíveis a *L. invasa* com um alto nível de infestação, pelo qual a espécie não precisou se dispersar muito para procurar galhas de *L. invasa* adequadas para parasitar.

A demora na dispersão do parasitoide também pode ter sido influenciada pela queda de temperatura nos meses posteriores à sua liberação (de maio a agosto de 2016). A temperatura incide na duração do ciclo (acelerando ou diminuindo) e na sobrevivência dos insetos (Dajoz, 2005; Gulan e Cranston, 2017). A diminuição da temperatura pode ter afetado o tempo do ciclo de vida do *S. nesei*, e por consequência, demorado para aumentar a progênie e assim poder-se dispersar a uma distância maior. Após setembro de 2016, *S. nesei* dispersou-se nas áreas próximas no qual a praga tinha apresentado uma maior densidade.

Conhecer a dispersão das pragas e de seus inimigos naturais no espaço é necessário para poder estabelecer medidas de monitoramento e controle efetivas. Para isso, é necessário contar com dados precisos e de boa qualidade. Os organismos podem se distribuir de forma uniforme, agregada ou ao acaso, dependendo dos recursos (alimento, refúgio, reprodução, entre outros) e das interações intra e interespecíficas e dos fatores ambientais (Dajoz, 2005, Begon et al., 2006). A distribuição agregada (ou contagiosa) é comum de observar em seres vivos (Dajoz, 2005), em especial nos insetos-praga (Bentancourt e Scatoni, 2009). A dispersão do

S. neseri foi agregada, e coincidiu com as áreas de maior infestação da praga. Ferreira-Filho et al. (2008), observaram um comportamento similar no *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitoide do psilídeo-de-concha, *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae), no Brasil.

2.5 Conclusões

O presente estudo proporciona informação relevante acerca de aspectos ecológicos que incidem na distribuição espacial e temporal da vespa-da-galha e dos seus parasitoides *Megastigmus brasiliensis* e *Selitrichodes neseri*. Contar com esses dados é necessário para o desenvolvimento de protocolos de controle biológico da praga em plantios de eucaliptos. Confirmou-se o estabelecimento e dispersão do parasitoide *S. neseri* nos talhões vizinhos ao local de liberação. O *S. neseri* acompanhou as flutuações de *L. invasa*, e dispersou-se à pontos de maior densidade da praga, pelo que poderia existir uma relação de denso dependência entre eles. O *M. brasiliensis* foi afetado negativamente pela liberação do *S. neseri*, uma possível relação antagônica entre eles é sugerida. Os talhões de *E. cloeziana* auxiliaram na diminuição da dispersão da praga fora da área de infestação do talhão de *E. saligna*. Portanto, sua utilização em áreas com altos níveis de infestação é recomendável.

2.6 Referências:

- BDMEP - Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa, 2019. INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>. (accessed 24 March 2019).
- Begon, I., Colin, R., Townsend, I, Harper J.I., 2006. Ecology: from individuals to ecosystems. fourth ed., Blackwell publishing, New York.
- Calvo,M.V., Duarte, F., Borges, A., Scatoni, I.B., 2018. Analysis of the Spatial Distribution of *Cydia pomonella* (L.) in southern Uruguay using geostatistical tools. Agrociencia Ur. 22,1-11.
- Candelária, M.C., 2013. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) densidade e idade do parasitoide e do hospedeiro alternativo e dispersão em plantação de eucalipto. Tese de Mestrado em Ciência Florestal. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrônômicas de

Botucatu, S.P. Brasil. 84 pp. Disponível em:
<<http://hdl.handle.net/11449/99797>>.

- Canto-Silva C.R., Kolberg R, Romanowski H.P., Redaelli LR., 2006. Dispersal of the egg parasitoid *Gryon gallardoi* (Brethes) (Hymenoptera: Scelionidae) in tobacco crops. Braz. J. of Biol. 66, 9-17.
- Carneiro, E.O., Santos, R.L., 2003. Análise espacial aplicada na determinação de áreas de risco para algumas doenças endêmicas (calazar, dengue, diarreia, DST - Doenças sexualmente transmissíveis e tuberculose), no bairro de Campo Limpo, Feira de Santana (BA). Sitientibus. 28,51-75.
- Cocco, A., Cossu, A.Q., Erre, P., Nieddu, G., Luciano, P., 2010. Spatial analysis of gypsy moth populations in Sardinia using geostatistical and climate models. Agric. Forest Entomol. 12, 417-426.
- De La Riva, J., Pérez-Cabello, F., Lana-Renault, N., Koutsias, N., 2004. Mapping forest fire occurrence at a regional scale. Remote Sens Environ. 92, 363-369.
- Dittrich-Schröder, G., Harney, M., Naser, 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.
- Dogănlâr, O., 2005. Occurrence of *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle, 2004 (Hymenoptera: Chalcidoidea) on *Eucalyptus camaldulensis* in Turkey, with a description of the male sex. Zool Middle East. 35, 112-114.
- Doğanlar, M., Zaché, B., Wilcken, C.F., (2013) New species of *Megastigmus* (Hymenoptera: Megastigminae) from Brasil. Fla Entomol. 96, 196-199.
- Duarte, F., Calvo, M.V., Borges, A., Scatoni, I.B., 2015. Geostatistics and geographic information systems to study the spatial distribution of *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) in peach fields. Neot. Entomol. 44, 319-327.
- Duque-Lazo, J., Navarro-Cerrillo, R.M., 2017. What to save, the host or the pest? The spatial distribution of xylophage insects within the Mediterranean oak woodlands of Southwestern Spain. For. Ecol. Manag. 392, 90–104.
- Eskiviski, E.R., Schapovaloff, M.E., Dummel, D.M., Fernandez, M.M., Aguirre, F.L., 2018. Susceptibility of eucalyptus species and hybrids to the gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in northern Misiones, Argentina. Forest Syst. 27, eSC01, <https://doi.org/10.5424/fs/2018271-11573>

- Farias, O.S., Roberto, R., Lopes, J., Perecin, D., 2004. Geostatistical characterization of the spatial distribution of *Xylella fastidiosa* sharpshooter vectors on citrus. Neot. Entomol. 33,13–20.
- Feng, C., Wang, H., Lu, N., Chen, T., He, H., Lu, Y., Tu, X.M.,2014. Log-transformation and its implications for data analysis. Shanghai Arch Psychiatry. 26, 105-109.
- Ferreira-Filho, P.J.F., Wilcken, C.F., Oliveira, N.C., Ferreira M.H.D.A.P., Vianna-Lima, A.C., 2008a.Caracterização da estrutura espacial do psílídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) e de seu parasitóide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em floresta de *Eucalyptus camaldulensis*. Bol. de San.Veg. Pragas.1, 11-20.
- Ferreira-Filho, P.J.F., Wilcken, C.F., Oliveira, N.C., Ferreira M.H.D.A.P., Vianna-Lima, A.C., 2008b. Dinâmica populacional do psílídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) e de seu parasitóide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em floresta de *Eucalyptus camaldulensis*. Ciência Rural. 38, 2109-2114.
- Ferreira-Filho, P.J.F., Wilcken, C.F., Vianna-Lima L.A., de Sá L.A.N., Guerreiro, J.C., Do Carmo, J.B., Zanuncio, J.C., 2017a. Biological control of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) in eucalyptus plantations. Phytoparasitica. 43, 151-157, 2015.
- Ferreira-Filho, P.J.F., Wilcken, C.F., Masson, M.V., Tavares, W.D.S., Guerreiro, J.C., Do Carmo, J.B., Prado E.P., Zanuncio, J.C., 2017b. Influence of temperature and rainfall on the population dynamics of *Glycaspis brimblecombei* and *Psyllaephagus bliteus* in *Eucalyptus camaldulensis* plantations. Rev. Colomb. Entomol. 43, 1-6.
- Garnas, J.R., Hurley, B.P., Slippers, B., Wingfield, M.J., 2012. Biological control of forest plantation pests in an interconnected world requires greater international focus, International J. Pest Man. 58, 211-223, DOI:10.1080/09670874.2012.698764
- Guimarães, L.S.P., Hirakata, V.N., 2012. Uso do Modelo de Equações de Estimções Generalizadas na análise de dados longitudinais. Revista HCPA. 32, 503-511.
- Gullan, P.J., Cranston, P.S., 2017. Insetos Fundamentos da Entomologia. Fift ed.Editorial ROCA, Rio de Janeiro.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. Palaeontol Electron. 4,1-9.

- Hegazi, E., Khafagi, W., Herz, A., Konstantopoulou, M., Hassan, S., Agamy, E., Atwa, A., Shweil, S. 2012. Dispersal and field progeny production of *Trichogramma* species released in an olive orchard in Egypt. *BioControl*. 57, 481-492.
- Hendricks, D.E., 1967. Effect of Wind on Dispersal of *Trichogramma semifumatum*. *J. Econom. Entomol.* 60, 1367-1373.
- Hernández, C.M., Aquino, D.A., Cuello, E.M., Andorno, E.V., Botto, E.N., 2015. Primera cita de *Megastigmus zebrinus* Grissell de Argentina (Hymenoptera: Torymidae) asociado a agallas de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae). *RSEA* 74 (1-2): 75-77.
- IBÁ. Indústria Brasileira de Árvores, 2017. Anuário estatístico da IBÁ, 2017. Ano base 2016. <http://www.iba.org/pt/>. (Access 10 May 2019).
- Jones C., Song C., Moody A., 2015. Where's woolly? An integrative use of remote sensing to improve predictions of the spatial distribution of an invasive forest pest the Hemlock Woolly Adelgid. *For. Ecol. and Manag.* 358, 222–229.
- Jorge, C., Martinez, G., Gomez, D., Bollazzi, M., 2016. First record of the eucalypt gall-wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) from Uruguay. *Bosque (Valdivia)*. 37, 631-636.
- Kelly, J., La Salle, J., Harney, M., Dittrich-Schröder, G., Hurley, B., 2012. *Selitrichodes nesi* n. sp., a new parasitoid of the eucalyptus gall wasp *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). *Zootaxa*. 3333, 50-57.
- Kenis, M., Hurley, B.P., Colombari, F., Lawson, S., Sun, J., Wilcken, C., Weeks, R., Sathyapala, S., 2019. Guide to the classical biological control of insect pests in planted and natural forests, Forestry Paper No. 182. Rome, FAO.
- Kim, I.K., La Salle, J., 2008. A new genus and species of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) inducing galls in seed capsules of *Eucalyptus*. *Zootaxa*. 1745, 63-68.
- Kulkarni, H., Kavitha, N.K., Vastrad, A.S., Basavanagoud, K., 2010. Release and recovery of parasitoids in eucalyptus against gall wasp, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) under green house. *Karnataka J Agr Sci*. 23, 91-92.
- Kumar, A., Sangha, K.S., Dhillon, D.S., 2015. Screening of 19 genotypes of *Eucalyptus* spp. against gall wasp (*Leptocybe invasa*) in North-western India. *J For Res*. 26, 355-359.

- Kumari, N.K., Vastrad, A.S., Goud, K.B., Viraktamath, S., Krishnaraj, P.U., 2010. Evaluation of sticky traps to manage eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae). *Karnataka J Agr Sci.* 23, 442-444.
- Lachin, J.M., McGee, P.L., Greenbaum, C.J., Palmer, J., Pescovitz, M.D., Gottlieb, P., Skyler, J., 2011. Sample Size Requirements for Studies of Treatment Effects on Beta-Cell Function in Newly Diagnosed Type 1 Diabetes. *PlosOne.* 6, e26471. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026471>
- Lima, A.C.V., Wilcken, C.F., Ferreira-Filho, J.P., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2016. Intra-plant spatial distribution of *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) on *Eucalyptus grandis* plants. *Phytoparasitica.* 44, 411-418.
- Linhares-Volpe, H. X., Barbosa, J.C., Viel, S.R., Goulart, R.M., Vacari, A.M., Salas, C., Veiga, A.C.P., De Bortoli, S.A., 2014. Determination of method to evaluate parasitism and cover area for studies on *Cotesia flavipes* in sugarcane. *Áf. J. Agr. Res.* 9, 436-447.
- Masson, M.V., 2015. Dinâmica populacional e manejo de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em plantações de eucalipto. 86 pp. Thesis Doutor degree, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Brasil.
- Masson, M.V., Tavares, W.S., Lopes F.A., de Souza, A.R., Ferreira-Filho, P.J., Barbosa, L.R., Wilcken, C.F., Zanuncio, J.C., 2017. *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) recovered from *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) galls after initial release on *Eucalyptus* (Myrtaceae) in Brazil, data and biology. *Fla Entomol.* 100, 589-593.
- Mcdougall, S.J., Mills, N.J., 1997. Dispersal of *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hym., Trichogrammatidae) from point-source releases in an apple orchard in California. *J App. Entomol.* 121, 205-209.
- 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 (2): 101-113.
- Mendel, Z., Protasov, A., La Salle, J., Blumberg, D., Brand, D., Branco, M., 2017. Classical biological control of two eucalyptus gall wasps; main outcome and conclusions. *Biol Control.* 105, 66-78.

- Messing, R.H., Klungness, L.M., Jang, E.B. 1997. Effects of wind on movement of *Diachasmimorpha longicaudata*, a parasitoid of tephritid fruit flies, in a laboratory flight tunnel. Entomol. Exp. Appl. 82, 147–152.
- Mundstock, S.J., Del Ponte, E.M., Redaelli, L.R., Pereira-Rego, D.R.P., 2017. Spatial Patterns and Associations of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) and Its Parasitoid *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) in Organic Orchards of *Psidium guajava* and *Acca sellowiana*. Fla Entomol. 97, 744-752.
- Nadel, R., Slippers, B., 2011. *Leptocybe invasa*, the blue gum chalcid wasp. Information Sheet, ICFR. <http://www.forestry.co.za/uploads/File/home/notices/2011/ICFR%20IS01-2011gallwasp.pdf>. (Access 25 Mai 2018).
- O'hara, R.B., Kotze, D.J., 2010. Do not log-transform count data. Methods Ecol Evol. 1, 118-122.
- Osborne, J.L., Loxdale, H.D., Woiwod, I.P., 2001. Monitoring insect dispersal: methods and approaches, in: Bullock, J.M., Kenward, R.E., Hails, R.S. (Eds.), Dispersal Ecology, Blackwell Publishing, Oxford, pp. 24-38.
- Paranhos, B.A.J., Mendes, P.C.D., Papadopoulos, N.T., Walder, J.M.M., 2007. Dispersion patterns of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) in citrus orchards in southeast Brazil. Biocontrol Sci Tech. 17, 375-385.
- Pasek, J.E., 1988. Influence of wind and windbreaks on local dispersal of insects. Agr Ecosyst Environ. 22/23, 539-554.
- Petro, R., Madoffe, S.S., Iddi, S., 2014. Infestation Density of Eucalyptus Gall Wasp, *Leptocybe invasa* Fisher and La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) on Five Commercially Grown *Eucalyptus* Species in Tanzania. J Sustain Forest. 33, 276-297.
- Protasov, A., Doğanlar, M., La Salle, J., Mendel, Z., 2008. Occurrence of two local *Megastigmus* species parasitic on the eucalyptus gall wasp *Leptocybe invasa* in Israel and Turkey. Phytoparasitica. 36, 449-459.
- QGIS Development Team., 2009. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation. <http://qgis.osgeo.org>.
- Rezende, J.B., Santos, A.C., 2010. A cadeia produtiva do carvão vegetal em Minas Gerais: pontos críticos e potencialidades. Viçosa: EPAMIG. 80 p. (Boletim Técnico, 95).

- Ribes-Dasi, M., Avilla, J., Bascuñana, M., 1998. Estudio de la distribución espacial de *Cydia pomonella* (L.) y *Pandemis heparana* (Denis & Schiffermüller) en Torregossa (Lleida) mediante métodos geoestadísticos. Bol San Veg Pragás. 24, 935-948.
- Sangtongpraow, B., Charernsom, K., Siripatanadilok, S., 2011. Longevity, fecundity and development time of *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in Kanchanaburi Province, Thailand. Thai J. Agric. Sci. 44: 155-163.
- Sangtongpraow, B., Charernsom, K., 2013. Evaluation of parasitism capacity of *Megastigmus thitipornae* (Hymenoptera: Torymidae), the Local Parasitoid of eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae). Kasetsart Journal of Natural Science. 47, 191-204.
- Schühli, G.S., Penteado, S.C., Barbosa, L.R., Reis Filho, W., Iede, E.T., 2016. A review of the introduced forest pests in Brazil. Pesq. agropec. bras. 51, 397-406.
- Siminoni, F.J., Paz Moreira, J.M.M.A., Fachinello, A.L., Buschinelli, C.C.A., Matsuura, M.I.S.F., 2017. Evolução e concentração da produção de lenha e carvão vegetal da silvicultura no Brasil. Ciência Florestal. 27, 731-742.
- 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 Agronômicas.
- Thu, P.Q., Dell, B., Burgess, T.I., 2009. Susceptibility of 18 eucalypt species to the gall wasp *Leptocybe invasa* in the nursery and young plantations in Vietnam. ScienceAsia. 35, 113-117.
- Udagedara, U.K.S.K., Karunaratne, W.A.I.P., 2014. Biology, damage and parasitoids of the *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae), infesting *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae) in Maragamuwa plantation, Sri Lanka. Int J Trop Insect Sci. 34, 179-189.
- Vastrad, A.S., Kumari, N.K., Goud, K.B., Viraktamath, S., 2010. Monitoring eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher and La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) using yellow sticky trap in eucalyptus plantation. Karnataka J Agr Sci. 23, 215-216.
- Wikteliuss, S., 1981. Wind dispersal of insects. Grana. 20, 205-207.

- Wilcken, C.F., Zaché, B., Masson, M.V., Pereira, R.A., Barbosa, L.R., Zanuncio, J.C., 2015 a. Vespa-da-galha do eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle. In: Vilela, E.F., Zucchi, R.A. (Eds.), Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros. Fealq, Piracicaba, pp. 835-844.
- Wilcken, C.F., De Souza, A.R., Masson, M.V., Barbosa, L.R., Junqueira, L.R., 2015 b. La avispa de la agalla: estado actual y métodos de control. In: Jornadas Forestales, Entre Rios. Livro de resúmos, INTA, Concordia, p. 1-6.
- Wingfield, M.J., Slippers, B., Hurley, B.P., Coutinho, T.A., Wingfield, B.D., Roux, J., 2008. Eucalypt pests and diseases: Growing threats to plantation productivity. *South Forests*, 70, 139-144.
- Xiao, X., White, EP., Hooten, M.B., Durham, S.L., 2011. On the use of log-transformation vs. nonlinear regression for analyzing biological power laws. *Ecology*. 92, 1887-1894.
- Zaché, B., 2012. Técnicas de criação em laboratório e dispersão do parasitoide de pupas *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) no campo. ix, Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, S.P. Brasil. 112 pp. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/105403>
- 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.
- Zhu, F., Ren, S., Qiu, B., Huang, Z., Peng, Z., 2012. The abundance and population dynamics of *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) galls on *Eucalyptus* spp. in China. *J Integr Agric*. 11, 2116-2123.

CAPÍTULO 3:

DISTRIBUIÇÃO VERTICAL DE *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) E DO SEU PARASITOIDE *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) NO PERFIL DAS ÁRVORES DE *Eucalyptus* spp.¹

Resumo

A vespa-da-do eucalipto *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), é considerada um dos principais insetos-praga do eucalipto tanto em viveiro como em campo. A praga tem preferência em atacar brotações e folhas novas, sendo observado maiores danos em viveiro e em plantios novos de até os dois anos de idade. O uso do controle biológico clássico com o parasitoide australiano *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) é um dos mais utilizados no manejo desta praga. *Leptocybe invasa* também pode atacar plantios de maior idade, dessa forma, a liberação e avaliação da efetividade do controle biológico torna-se dificultada. A distribuição do parasitoide e da praga no perfil das árvores de eucalipto é desconhecida. Por tanto, o objetivo foi estudar a distribuição de *L. invasa* e do parasitoide *S. neseri* nas árvores de *Eucalyptus* spp. Foi avaliado um talhão comercial de *E. grandis* com alto nível de infestação da praga e com presença do parasitoide em Mogi Guaçu, São Paulo, Brasil. Em fevereiro de 2019, foram instaladas armadilhas adesivas amarelas nas alturas de 1.8, 4 e 8 m, em 20 árvores. As armadilhas foram trocadas 55 dias após a instalação. Também foram coletados ramos a cada altura para avaliar as emergências das galhas. Tanto a praga como o parasitoide apresentaram mais capturas na altura de 4 m, seguida na de 1.8 m. Nos ramos foi observada uma maior infestação de galhas e de emergências de *L. invasa* na altura de 8 m, porém, *S. neseri* foi mais abundante a 4 m (N=34) que a 8 m (N=26), sendo as fêmeas mais abundantes (84%). Portanto, confirmou-se a presença do parasitoide até 8 m de altura acompanhando a presença de galhas no ponteiro. Este é o primeiro trabalho em avaliar a distribuição de uma praga do eucalipto e de seus inimigos naturais no perfil vertical das árvores.

¹ Capítulo redigido de acordo com as normas do periódico **Forest Ecology and Management**

Palavras-chave: controle biológico, altura de voo, eucaliptos, pragas florestais.

3.1 Introdução

Os plantios de *Eucalyptus* spp. são caracterizados por apresentar uma baixa diversidade genética (origem clonal), grandes extensões com um mesmo material genético, aumentando a área adequada para o estabelecimento de espécies de insetos fitófagos exóticos (Garnas et al., 2012; Hurley et al. 2016). Os insetos-praga exóticos como a vespa-da-galha do eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) tem ocasionado importantes perdas na produtividade nos plantios de *Eucalyptus* spp. no mundo (Mendel et al., 2004; Czóca et al., 2017; Otieno et al., 2019). No Brasil, *L. invasa* ingressou e se estabeleceu em 2008 (Costa et al., 2008; Wilcken, 2015), os danos gerados pela praga têm aumentado nos últimos anos tanto em viveiros como no campo.

A vespa-da-galha do eucalipto tem se transformado em uma espécie altamente invasora devido a reproduzir-se por partenogênese telítica (Jorge et al., 2016; Czóca et al., 2017; Otieno et al., 2019) e a grande adaptação às diferentes condições climáticas (Lu et al., 2014; Yang et al., 2015; Zhu et al., 2015). Os danos gerados por *L. invasa* estão associados com a formação de galhas em folhas e ramos, desfolha, deformação da copa, perda de crescimento e morte em genótipos altamente suscetíveis (Mendel et al., 2004; Wilcken et al., 2015; Martinez et al., 2019). As plantas jovens são as mais afetadas e genótipos muito suscetíveis podem apresentar deformações no tronco e nos ramos alterando a topografia normal do material, tornando-as produtivamente inviáveis (Jorge et al., 2016; Wilcken et al., 2015). No Brasil e Uruguai clones comerciais tiveram que ser retirados da produção devido à alta suscetibilidade a *L. invasa* (Wilcken C.F., 2018 e Jorge C., 2019, comunicações pessoais).

Devido à complexidade comportamental de *L. invasa* e por estar protegida dentro dos tecidos da planta, não existe uma metodologia eficiente de manejo, além do controle cultural. Porém, o uso do controle biológico clássico com parasitoides de larva e pre-pupa tem sido recomendado (Dittrich-Schröder et al., 2014; Kenis et al., 2019). Os parasitoides *Selitrichodes neneri* Kelly & La Salle 2012 e *Quadrastichus mendeli* Kim & La Salle, 2008 (Hymenoptera: Eulophidae) tem sido os mais estudados e

empregados em programas de controle biológico clássico de *L. invasa* no mundo (Kim et al., 2008; Mendel et al., 2017; Kenis et al., 2019).

No Brasil, *S. nesei* foi importado em 2015 da África do Sul (Kenis et al., 2019), e o mesmo foi enviado ao Chile e deste país foi importado para a Argentina. Em fevereiro de 2019 foi importado e liberado no Uruguai proveniente da Argentina (Martinez et al., 2019). Os parasitoides são liberados manualmente sobre ramos com galhas maduras em materiais suscetíveis a praga. Este procedimento é relativamente fácil em plantios novos de até um ano de idade, mas, em plantios de mais de um ano afetados por *L. invasa*, é logisticamente difícil, sendo liberados a uma altura máxima de 1,8 m em brotações baixas. A dispersão espacial de *S. nesei* vem sendo estudada no Brasil (Jorge C., dados não publicados), mas, desconhece-se a capacidade do parasitoide de se movimentar no perfil das árvores em procura das galhas de *L. invasa*.

Estudos de bioecologia, e em especial que avaliem a distribuição vertical de inimigos naturais em florestas comerciais são escassos. Lima et al. (2016) estudou a distribuição do percevejo bronzeado do eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae) a diferentes alturas em um plantio comercial no estado de São Paulo, mas, não existem estudos com inimigos naturais e sua distribuição no perfil das árvores. *Leptocybe invasa* tem gerado importantes perdas econômicas em plantios de *Eucalyptus* spp., é uma espécie de difícil manejo, e o nível de infestação nas copas em plantios de mais de dois anos e desconhecido. A efetividade do controle biológico e a capacidade de altura de voo do *S. nesei* são desconhecidas. O objetivo foi estudar a distribuição de *Leptocybe invasa* e do parasitoide *Selitrichodes nesei* no perfil das árvores de *Eucalyptus* spp.

Hipóteses propostas:

- (1) As maiores capturas serão nas armadilhas de maior altura.
- (2) Como *S. nesei* é bi parental, não existirão diferenças nas capturas entre os sexos.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Área de estudo

A distribuição de *L. invasa* e do parasitoide *Selitrichodes neseri* no perfil das árvores de *Eucalyptus* spp. (Myrtaceae) foi avaliada na localidade de Mogi Guaçu, São Paulo, Brasil (Fig. 1A). O local em Mogi Guaçu consistiu em um plantio de dois anos de idade, de um clone comercial de *E. grandis* altamente suscetível a *L. invasa*. Foi selecionada uma parcela de 19 hectares de dois anos, com árvores com uma altura média de 11 a 13 m (Fig. 1B). O plantio estava rodeado por talhões do mesmo clone susceptível à praga. A localidade apresenta uma temperatura de 20,3 °C e 1344 mm de pluviosidade média anuais. Durante o período de instalação do experimento a precipitação foi de 368,3 mm e uma temperatura média de 22,5 °C.

3.2.2 Desenho amostral

Cada ponto consistiu de uma árvore no qual foram instaladas três armadilhas adesivas amarelas dupla face, de 10 x 12,5 cm, nas alturas de 1,8; 4 e 8 m do solo. A distribuição das armadilhas foi uniforme com uma separação de 10 x 15 m entre elas (Fig. 1B). Foram selecionados vinte pontos amostrais, totalizando 60 armadilhas. As mesmas foram dispostas em uma estrutura de cano onde foram fixadas (Fig. 2 A). O experimento foi instalado dia 1º de fevereiro de 2019 e as armadilhas foram trocadas aos 55 dias.

Após a coleta cada armadilha foi coberta com filme de PVC plástico para proteger os insetos que foram capturados e para facilitar a identificação (Fig. 2 B). A identificação dos insetos presentes nas armadilhas foi realizada com uma lupa estereoscópica Nikon SMZ645, no Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais, na Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, SP.

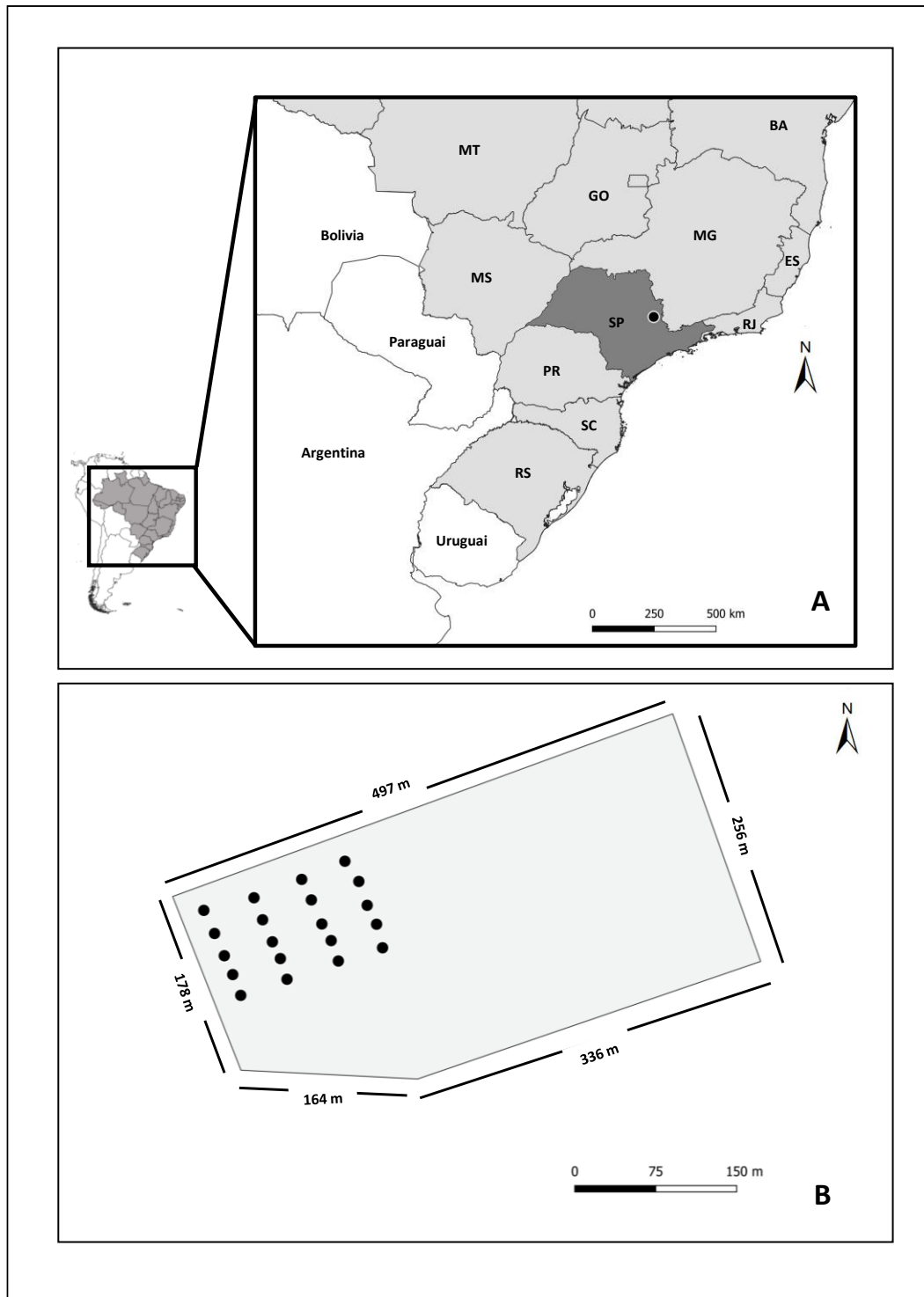


Fig. 1. Área de estudo. A. Localização do Município de Mogi Guaçu, SP, Brasil (Ponto preto). B. Distribuição das armadilhas no talhão comercial de *E. grandis*.

Além das armadilhas, foram coletados dois ramos de 50 cm de comprimento (ou equivalente) por ponto, nas alturas de 4 e 8 m para a contagem do número de galhas e nível de infestação (Fig. 2. C). Em 1,8 m não foi possível coletar devido a que o

plantio tinha dois anos de plantado e as árvores não contavam com ramos nessa altura. Os ramos foram identificados e guardados em sacolas Ziploc® de 25 x 35 cm para contabilizar a emergências de adultos das galhas (Fig. 2 D). As sacolas foram mantidas em uma sala climatizada a 25°C, 70% UR e com fotoperíodo 12:12 h, até a emergência dos insetos. As avaliações foram realizadas até não observar emergências durante quatro dias corridos. Os insetos foram conservados em álcool 70% sendo depositados na coleção do Departamento de Proteção vegetal da FCA Unesp

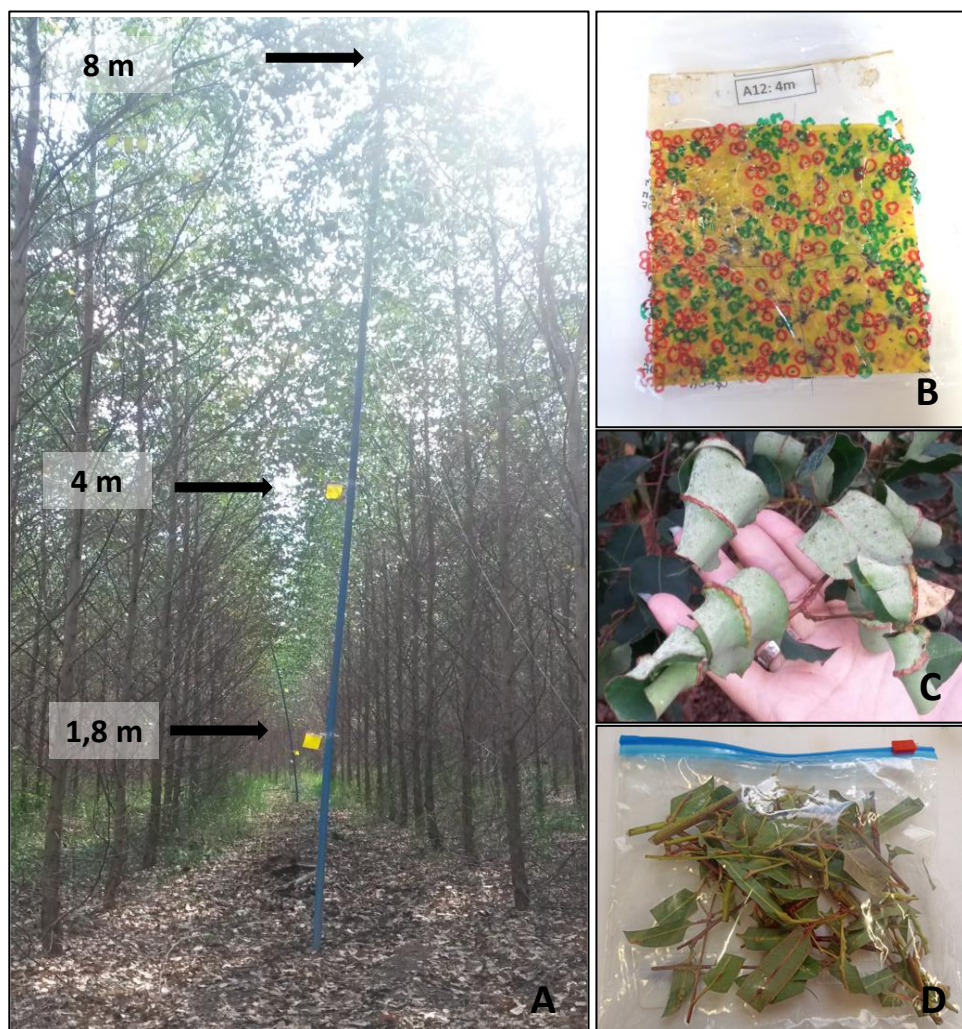


Fig. 2. A. Disposição das armadilhas a três alturas. B. Armadilha adesiva amarela avaliada. C. Coleta de ramos. D. Conservação das amostras de folhas.

3.2.3 Análises de dados

O teste não paramétrico Kruskal-Wallis (KW), ou teste H de Kruskal-Wallis, foi utilizado para avaliar a existência de diferenças no número de indivíduos de *L. invasa* e seus parasitoides capturados nas armadilhas adesivas amarelas dispostas em diferentes alturas. O Kruskal-Wallis é um dos testes não paramétricos mais utilizados para analisar variáveis de contagens de dados biológicos, quando os dados não cumprem com as pressuposições de normalidade e homoscedasticidade (Hammer et al., 2001).

Também foi realizado o teste de correlação de Pearson para estudar possíveis relações entre as capturas de *L. invasa* e do parasitoide *S. nesei*, para as capturas totais e em cada altura avaliada. A significância estatística foi considerada para $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas com o software livre: PAST 2.17c (Hammer et al., 2001). Para a elaboração dos mapas da área de estudo foi utilizado o software QGIS 2.2.0-Valmiera (QGIS, 2009).

3.3 Resultados

3.3.1 Distribuição vertical de *L. invasa* e do parasitoide *S. nesei* nas armadilhas

Foram registrados 6772 indivíduos de *L. invasa*, e 5019 de *S. nesei*. Tanto a praga como o parasitoide apresentaram as maiores capturas na altura de 4 m, seguida na de 1,8 m (Tabela 1). A proporção de indivíduos de *S. nesei* por indivíduos de *L. invasa* capturados nas armadilhas variou de 0,66 na altura de 4 m a 0,95 aos 8 m de altura, com um valor de 0,74 para o total das capturas (Tabela 1). A proporção diminuiu ao analisar a porcentagem de fêmeas de *S. nesei* por fêmeas de *L. invasa*, sendo a altura de 1,8 m a que apresentou o melhor valor com 0,31 fêmeas de *S. nesei* por fêmeas da praga (Tabela 1).

Observou-se uma predominância de machos do parasitoide em todas as alturas (62%, das capturas da espécie), com uma razão sexual de 1,63 machos por fêmea (Tabela 1). O número de machos capturados diferiu estatisticamente nas alturas de 1,8 e 4 com a de 8 m (Tabela 2). Tanto para as capturas de *L. invasa* como as de *S. nesei* e de machos e fêmeas do parasitoide diferiram

estatisticamente as alturas de 1,8 e 4 com a de 8 m, sendo ranqueado primeiro a altura de 4 m seguida da de 1,8 e por último a de 8 m (Tabela 2)

Tabela 1.

Abundância de *L. invasa* (Li) e *S. nesi* (Sn) capturados nas armadilhas adesivas amarelas nas diferentes alturas. Total (os valores das três alturas, N=60). M= macho, F: fêmea. RZ=razão sexual (número de machos por fêmea).

<i>L. invasa</i>		<i>S. nesi</i>		Proporção		Proporção
Altura (m)	Total	M	F	RZ	Sn/Li	♀Sn/♀Li
1,8	2318	1788	1070	718	1,49	0,77
4	3456	2279	1368	911	1,50	0,66
8	998	952	675	277	2,44	0,95
Total	6772	5019	3113	1906	1,63	0,74

A análise de correlação de Pearson mostrou uma tendência positiva ($r= 0,72$) entre o aumento das capturas de *L. invasa* e *S. nesi* nas armadilhas ao analisar o total das capturas (Fig. 3 A). A altura de 4 m apresentou um comportamento similar ao total, com uma leve tendência positiva das capturas de *S. nesi* com o aumento de *L. invasa* ($r= 0,65$; $p= 0,020$) (Fig. 3 C).

Tabela 2.

Prova de Kruskal-Wallis para as capturas de *L. invasa* e *S. nesi* nas armadilhas colocadas a diferentes alturas. H: valor de K-W. Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes ($p > 0,05^*$). N=20 (número de amostras). F= fêmeas, M= machos

Variável	Altura (m)	Média	"Rank"	H	p
<i>L. invasa</i>	1,8	116	A 34	34,15	<0,0001*
	4	173	A 44,6		
	8	49,9	B 12,9		
<i>S. nesi</i>	1,8	89,4	A 29,9	13,41	0,0012*
	4	114	A 32,48		
	8	47,6	B 16,33		
<i>S. nesi F</i>	1,8	35,9	A 36,65	25,46	<0,0001*
	4	45,6	A 40,30		
	8	13,9	B 14,55		
<i>S. nesi M</i>	1,8	53,5	A 33,65	9,37	0,0092*
	4	68,4	A 36,93		
	8	33,8	B 20,93		

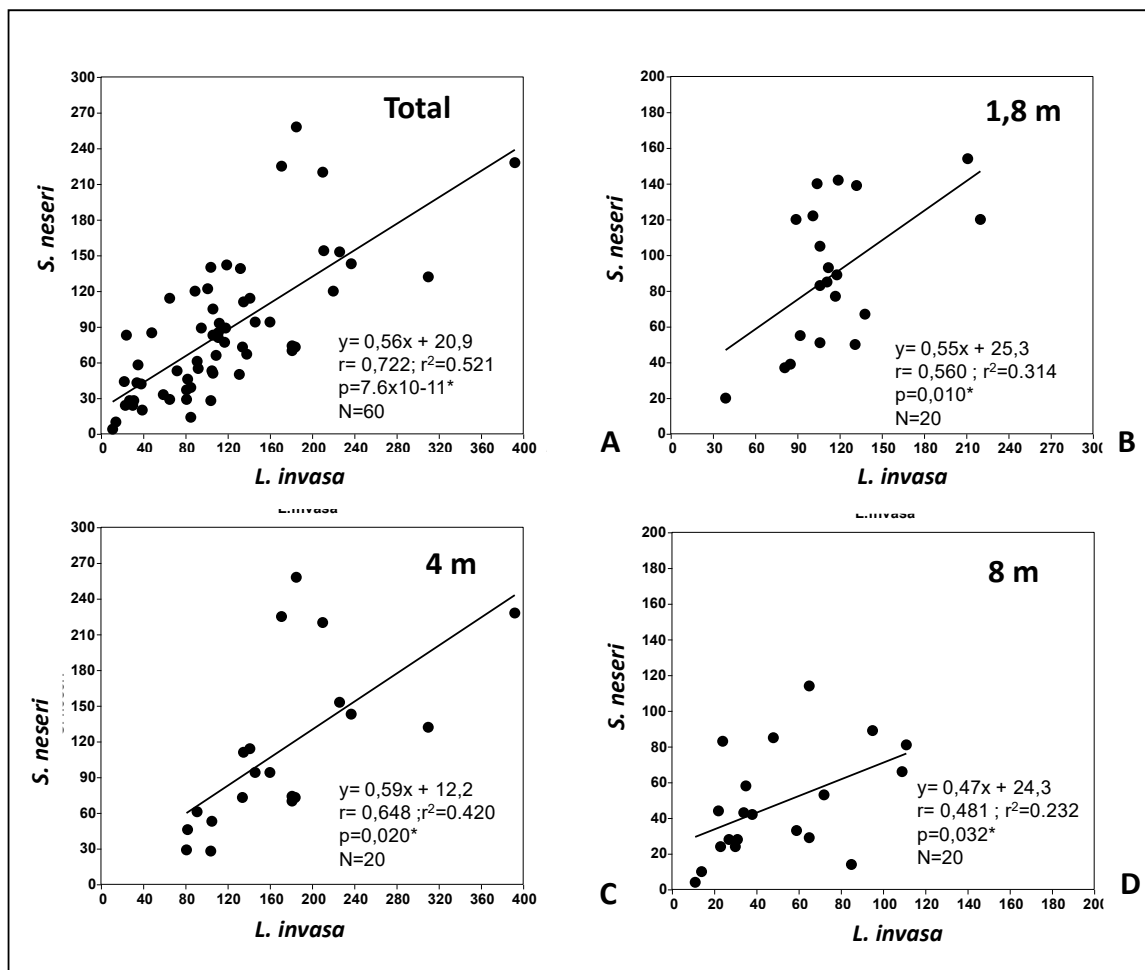


Fig. 3. Correlação entre a abundância de *L. invasa* e *S. neseri* observadas nas armadilhas adesivas amarelas, no total das capturas e para cada altura estudada.

3.3.2 Infestação de *L. invasa* e emergências do parasitoide *S. neseri* y da praga nos ramos

Na avaliação dos ramos coletados observou-se uma média de 20 folhas por amostra na altura de 4 m e de 24 folhas a 8 m. O clone avaliado apresentou maiores ataques de *L. invasa* na nervura central das folhas que no pecíolo para ambas alturas avaliadas (Tabela 3). O dobro no número de galhas nos ramos foi registrado aos 8 m de altura. Por tanto, foi observada uma maior infestação de *L. invasa* na altura de 8 m, por apresentar um maior número de galhas e de folhas com galha nos ramos coletados (Tabela 3).

Tabela 3

Nível de infestação das amostras de ramos com galhas. NC= nervura central, Pec= pecíolo.

Altura	Média NC	Nº Galhas Pec.	Ramo	Média de Total	folhas por C/galhas	amostra S/galhas
4 m	104,1	19,7	0,9	20,3	12,2	7,8
8 m	175	31,7	1,8	23,7	19,9	4

A emergência de *L. invasa* dos ramos foi maior na altura de 8m (427 fêmeas e 1 macho) do que quando comparado com as emergências a 4 m (229 fêmeas). As emergências coincidem com a maior presença de galhas observada na maior altura avaliada. Em relação as emergências do parasitoide *S. neseri* foi levemente maior na altura de 4 m (Tabela 4). Observou-se uma maior porcentagem emergências de fêmeas das galhas coletadas (84%) (Tabela 4). A razão sexual de *S. neseri* foi de 1,7 fêmeas /macho a 4 m e de 1,8 fêmeas /macho a 8 m. A porcentagem *S. neseri* por indivíduos de *L. invasa* assim como a proporção de fêmeas do parasitoide por fêmeas da praga foi muito baixa (Tabela 4).

Tabela 4:

Indivíduos de *L. invasa* (*L. i*) e *S. neseri* (*S. n*) emergidos das amostras de ramos coletadas em um talhão clonal de *E. grandis* suscetível à praga nas alturas de 4 e 8 m.

Altura	Total	<i>L. invasa</i>		Total	<i>S. Neseri</i>		% <i>S. n/ L. i</i>	Proporção ♀Sn/♀Li
		M	F		M	F		
4 m	229	0	229	34	5	29	15	0,13
8 m	428	1	427	26	4	22	6	0,05

3.4 Discussão

3.4.1 Distribuição vertical de *L. invasa* e do parasitoide *S. neseri* nas armadilhas

O maior número de indivíduos de *L. invasa* foram capturados nas armadilhas adesivas amarelas a 4 m, seguido pelas armadilhas na altura de 1,8 m. Estudos

realizados por Cividanes et al. (2004) e Santos e Silva (2013) em percevejos praga da Seringueira (*Hevea brasiliensis*) observaram que esses insetos apresentavam preferência pelo estrato meio e superior das árvores. Lima et al. (2016) avaliaram a distribuição vertical do percevejo bronzeado do eucalipto em árvores de *E. grandis* no estado de São Paulo, Brasil. Neste trabalho encontraram uma preferência de *T. peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) pelo estrato meio e superior das árvores avaliadas, concordante com a preferência desta praga por atacar folhas maduras e árvores de mais de dois anos de idade.

Selitrichodes neseri apresentou um comportamento semelhante ao seu hospedeiro, sendo mais abundante nas armadilhas a 4 m e 1,8 m. Além disso, a proporção de indivíduos do parasitoide por indivíduos de *L. invasa* foi alta estando sempre acima de 0,66. A altura de 8 metros apresentou a melhor proporção sendo capturados 0,95 parasitoides por indivíduo da praga. O resultado foi concordante com o observado por Dittrich-Schröder (2014) em que observaram que o *S. neseri* apresenta um nível de parasitismo acima do 70% em condições de laboratório.

Compton et al. (2000) avaliaram a distribuição vertical de parasitoides num bosque tropical com armadilhas adesivas amarelas. Eles observaram que várias espécies de Chalcidoidea, conseguem voar até as copas das árvores e utilizar o vento para se dispersar a maiores distâncias na procura de seus hospedeiros. Se bem se conta com estudos que avaliaram a dispersão espacial de insetos praga do eucalipto e seus parasitoides (Zaché, 2012; Candelária, 2013) o presente estudo é o primeiro que visou caracterizar a distribuição de um inseto-praga do eucalipto e do seu parasitoide no perfil das árvores de *Eucalyptus* spp.

Os machos de *S. neseri* foram mais capturados que as fêmeas nas armadilhas adesivas amarelas se observando uma razão sexual de 1,5 a 2,4 machos por fêmea. Segundo Dittrich-Schröder (2014) o parasitoide *S. neseri* apresentaria uma razão sexual de 1: 3,43 machos por fêmea. Essa diferença com o trabalho de Dittrich-Schröder (2014) poderia ser explicada pelo fato de as fêmeas serem mais estimuladas a procurar galhas da praga do que pela coloração das armadilhas.

3.4.2. Infestação de *L. invasa* e emergências do parasitoide *S. neseri* y da praga nos ramos

Se tomarmos em conta que *L. invasa* tem preferência por atacar brotações e folhas novas (Mendel et al., 2004; Wilcken et al., 2015), era esperado que as alturas

de 4 e de 8 m iriam apresentar as maiores capturas. Isto foi corroborado com a coleta dos ramos no qual a altura de 8 m apresentou um maior nível de infestação e emergência de adultos da praga. Nas armadilhas o maior número de indivíduos observou-se na altura de 4 m.

As emergências do parasitoide *S. neseri* foi similar entre as duas alturas avaliadas sendo levemente maior na altura de 4 m. A diferença das capturas nas armadilhas adesivas amarelas as fêmeas foram mais abundantes que os machos. A razão sexual de machos por fêmea de *S. neseri* foi de 0,17:1 nos ramos coletados a 4 m de altura e de 0,18: 1 a 8 m.

A porcentagem *S. neseri* por indivíduos de *L. invasa* foi muito baixa de 15% a 6% nas alturas de 4 e 8 m respectivamente a diferença do parasitismo acima do 70% observado por Dittrich-Schröder (2014) em condições de laboratório. Isto poderia ser explicado em que as galhas coletadas não foram adequadas para o parasitoide ou que o período de avaliação das galhas foi menor ao ciclo do parasitoide.

Agaonidae é uma das famílias de Chalcidoidea que consegue voar até as copas das árvores para procurar os hospedeiros (Compton et al., 2000). A emergência de indivíduos do parasitoide *S. neseri* das galhas nas alturas de 4 e 8 m no local de estudo sugere que o parasitoide consegue acompanhar a colonização da praga no estrato superior das árvores. Isto também foi observado na avaliação com as armadilhas adesivas amarelas.

3.5 Conclusões

A nossa hipótese 1 foi rechaçada em parte devido ao fato de que as maiores capturas tanto de *L. invasa* como do *S. neseri* foram observadas na altura de 4 m e a 1,8 m e não na de maior altura (8 m). Foi observada diferença nas capturas das armadilhas adesivas entre os sexos do parasitoide sendo os machos os mais capturados em comparação com as fêmeas. Portanto, a nossa segunda hipótese também foi rechaçada. O presente estudo é o primeiro que visou caracterizar a distribuição de um inseto-praga do eucalipto e do seu parasitoide no perfil das árvores de *Eucalyptus* spp. Aportam-se dados comportamentais e ecológicos de *L. invasa* e do seu parasitoide *S. neseri* de grande importância, que permitirão aos tomadores de decisões optarem por medidas mais adequadas de manejo desta praga. A altura de

1,8 m e boa para ser utilizada no monitoramento da praga e de seus inimigos naturais devido ao grande número de indivíduos coletados. Confirmou-se o acompanhamento do parasitoide nas novas infestações da praga em maiores alturas conforme o crescimento das árvores.

Agradecimentos:

Financiamento: Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais (IPEF), do Brasil. A Asociación Universitaria Iberoamericana de posgraduación pela bolsa DO Programa de Apoyo a Estudiantes de Doctorado del Extranjero (AUIP-PAEDEX), para realizar o doutorado na Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista (Unesp).

Agradecimento à empresa International Paper, Brasil.

3.6 Referências:

- Candelária, M.C., 2013. *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) densidade e idade do parasitoide e do hospedeiro alternativo e dispersão em plantação de eucalipto. Tese de Mestrado em Ciência Florestal. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu, S.P. Brasil. 84 pp. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/99797>>.
- Cividanes, F.J., Fonseca, F.S., Santos, T.M., 2004. Distribuição de *Leptopharsa heveae* em seringal no Estado de São Paulo. Pesq. agropec. bras 39, 1053–1056.
- Chung, A.Y.C., Eggleton, P., Speight, M.R., Hammond, P.M. & Chey, V.K., 2001. Variation in beetle (Coleoptera) diversity at different heights of the tree canopy in a forest and forest plantation in Sabah, Malaysia. J Trop For Sci, 13(2), 369-385.
- Compton, S.G., Ellwood, M.D.F., Davis, A.J., Welch, K., 2000. The flight heights of chalcid wasps (Hymenoptera: Chalcidoidea) in a lowland Bornean rainforest: fig wasps are the high fliers. Biotropica 32, 515–522
- Costa, V.A., Filho, E.B., Wilcken, C.F., Stape, J.L., La Sale, J., Teixeira, L., 2008. *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) in Brazil. New forest pest reaches the new world. Revista Agricultura 83, 136-139.
- Costa, M.G., Barbosa, J.C., Yamamoto, P.T., Leal, R.M., 2010. Spatial distribution of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in *citrus* orchards. Scientific Agriculture, 67, 546–554.

- Csóka, G., Stone, G.N., Melika, G., 2017. Non-native gall-inducing insects on forest trees: a global review. *Biol Invasions* 19 (11), 3161-3181.
- De Souza, A.R. 2016. Levantamento populacional e aspectos biológicos de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) e de seu parasitoide *Selitrichodes nesi* (Hymenoptera: Eulophidae). 83 pp. Thesis Doctor degree. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas.
- DIEA (Dirección de Estadísticas Agropecuaria). 2018. Anuario Estadístico 2018. In: <http://www.mgap.gub.uy>. Access on: 2 May 2019.
- Dittrich-Schröder, G., Harney, M., Nesi, S., Joffe, T., Bush, S., Hurley, B.P., Wingfield, M.J., Slippers, B., 2014. Biology and host preference of *Selitrichodes nesi*: A potential biological control agent of the *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa*. *Biol. Control* 78, 33-41.
- Garnas, J.R., Hurley, B.P., Slippers, B., Wingfield, M.J., 2012. Biological control of forest plantation pests in an interconnected world requires greater international focus, *International J. Pest Man.* 58, 211-223, DOI:10.1080/09670874.2012.698764
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. Past: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol Electron*, 4 (1), 9 pp.
- Hurley, B.P., Garnas, J., Wingfield, M.J., Branco, M., Richardson, D.M., Slippers, B., 2016. Increasing numbers and intercontinental spread of invasive insects on eucalypts. *Biol Invasions*, 18, 921-933.
- IBÁ. Indústria Brasileira de Árvores, 2018. Anuário estatístico da IBÁ, 2018. Ano base 2017. <http://www.iba.org/pt/>. (Access 10 May 2019).
- Jorge, C., Martinez, G., Gomez, D., Bollazzi, M., 2016. First record of the eucalypt gall-wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) from Uruguay. *Bosque (Valdivia)* 37 (3), 631-636.
- Kenis, M., Hurley, B.P., Colombari, F., Lawson, S., Sun, J., Wilcken, C., Weeks, R., Sathiyapala, S., 2019. Guide to the classical biological control of insect pests in planted and natural forests, FAO, Forestry Paper No. 182. Rome.
- Kim, I.K., La Salle, J., 2008. A new genus and species of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) inducing galls in seed capsules of *Eucalyptus*. *Zootaxa* 1745, 63-68.
- Lima, A.C.V., Wilcken, C.F., Ferreira-Filho, J.P., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2016. Intra-plant spatial distribution of *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) on *Eucalyptus grandis* plants. *Phytoparasitica*. 44, 411-418.

- Lu, T., Zhang, Y., Huang, Z, Huang J., 2014. The effect on the longevity of *Leptocybe invasa* Fisher & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) studied by microcalorimetry and traditional methods. J. Therm. Anal. Calorim 116 (1), 461-467.
- Martínez, G., Jorge, C., Escudero, P., Martínez-Haedo, J., de los Santos, M., Scoz, R., 2019. Até un programa de control biológico de la avispa agalladora del eucalipto. Revista INIA 56(1), 75-78.
- Masson, M.V., 2015. Dinâmica populacional e manejo de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em plantações de eucalipto. Thesis Doctor degree. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas. 86 pp.
- 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 (2), 101-113.
- Mendel, Z., Protasov, A., La Salle, J., Blumberg, D., Brand, D., Branco, M., 2017. Classical biological control of two eucalyptus gall wasps; main outcome and conclusions. Biol Control 105, 66-78.
- QGIS Development Team. 2009. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation. <http://qgis.osgeo.org>.
- Sangtongpraow, B., Charernsom, K., Siripatanadilok, S., 2011. Longevity, fecundity and development time of *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in Kanchanaburi Province, Thailand. Thai J. Agric. Sci. 44, 155-163.
- Santos, R.S., Silva, J.M., 2013. Dinâmica populacional do parasitoide de ovos *Erythmelus tingitiphagus* (Hymenoptera: Mymaridae) em clone de seringueira, em Itiquira, MT. Rev. Árvore, 37, 237–244.
- Tung, G.S., Chang, T.P., Lin, Y.L., Liao, G.I., 2014. The life cycle of *Leptocybe invasa*, an invasive species in Taiwan. Formosan Entomology 34, 199-209
- Wilcken, C.F., Zaché, B., Masson, M.V., Pereira, R.A., Barbosa, L.R., Zanuncio, J.C., 2015. A vespa-da-galha-do-eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle. In: Vilela, E.F., Zucchi, R.A. (eds), Pragas Introduzidas no Brasil. Insetos e ácaros. Fealq, Piracicaba, pp. 835-844.
- Yang, Z.D., Zhao Y.Y., Yu S.Z., Zheng X.L., Xu L., 2015. Rapid Cold-Hardening Response of Adult *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). Afr. Entomol. 23(1), 139-146.

- Zaché, B., 2012. Técnicas de criação em laboratório e dispersão do parasitoide de pupas *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) no campo. ix, Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, S.P. Brasil. 112 pp. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/105403>
- Zhu, F.L., Ren, S.X., Qiu, B.L., Wu, J.H., 2014. Effect of temperature on life table parameters of *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae). Austral Entomol. 54,71–78.

CAPÍTULO 4.

FLUTUAÇÃO POPULACIONAL E MODELAGEM DA DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DA VESPA-DA-GALHA DO EUCALIPTO *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) NO URUGUAI ¹

Resumo

A produção florestal no Uruguai tem se tornado a principal atividade produtiva para o país. Os plantios de *Eucalyptus* spp. são os predominantes com o 78% da área de plantios florestais. Na última década têm aumentado os relatos de introdução de pragas exóticas do eucalipto originárias da Austrália, sendo *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), o ultimo relato oficial. A praga gerou importantes perdas econômicas nos países onde conseguiu se estabelecer. Dado seu recente ingresso no país, desconhecem-se os fatores bioecológicos, assim como, a distribuição geográfica atual. Por tanto, o objetivo do presente trabalho foi estabelecer o efeito da temperatura e precipitação na flutuação populacional de *L. invasa* e o potencial das regiões climáticas do Uruguai para a ocorrência da praga. A flutuação populacional de *L. invasa* foi realizada numa área com *Eucalyptus* spp. na cidade de Tacuarembó, com 4 armadilhas adesivas amarelas, trocadas mensalmente de dezembro de 2015 a dezembro de 2018. O mapa de distribuição potencial foi realizado com o programa MaxEnt baseado nos registros de presença da praga. A vespa-da-galha apresentou três picos de emergência em 2016, já em 2017 e 2018 foram dois picos, sendo o de menor importância em 2017. A modelagem climática indicou melhores condições para o estabelecimento da praga na região oeste e norte do país, sendo as variáveis associadas à temperatura as que mais contribuíram com o modelo de distribuição potencial. Futuros esforços de manejo deveriam ser direcionados nas regiões de condições climáticas favoráveis, visando diminuir o nível populacional da praga e no leste do país aumentar as prospecções para a sua detecção precoce evitando perdas econômicas.

Palavras-chave: Modelo de nicho, vespa-da-galha, dinâmica populacional, MaxEnt, insetos-praga, distribuição potencial.

¹ Capítulo redigido de acordo com as normas do periódico **Agricultural and Forest Entomology**

4.1 Introdução

Nos últimos 20 anos a produção florestal no Uruguai tem se tornado uma das atividades produtivas mais importantes (Payseiro, 2018), se posicionando em 2018 no primeiro lugar com aproximadamente 2000 milhões de dólares em exportações (Ligrone, 2018). A área com plantios florestais no Uruguai está próxima a 1,2 milhões de hectares em 2015 (SPF, 2017) sendo ocupadas por espécies dos gêneros exóticos *Eucalyptus* (78%) e *Pinus* (18%), sendo o restante plantado com salicáceas (*Populus* spp.) (DIEA, 2018). O nordeste (Tacuarembó e Rivera), litoral oeste (Río Negro e Paysandú) e o Sudeste (departamento de Lavalleja), são as principais regiões com plantios florestais do Uruguai (SPF, 2017; DIEA, 2018). As espécies mais plantadas de eucaliptos no Uruguai são *Eucalyptus globulus* Labill., *E. maidenii* F. Muell., *E. grandis* W. Hill ex Maiden e *E. dunnii* Maiden (SPF, 2017).

As pragas (insetos e doenças) são consideradas o principal fator biótico responsável pela redução da produção florestal, ocasionando perdas econômicas para as empresas florestais (Wingfield *et al.*, 2008), assim como o fechamento de mercados internacionais, caso medidas fitossanitárias não sejam respeitadas. Com a globalização e o aumento na frequência do transporte e número de pessoas e mercadorias no mundo, tem intensificado a distribuição geográfica de espécies de insetos fitófagos associados às florestas comerciais, com acréscimo no número de relatos de pragas florestais (Paine *et al.*, 2011; Hurley *et al.*, 2016). Um exemplo são os insetos-praga indutores de galhas, consideradas espécies altamente invasoras de difícil manejo (Csóka *et al.*, 2017). *Leptocybe invasa* Fischer & La Salle, 2004 (Hymenoptera: Eulophidae) (a vespa-da-galha do eucalipto) é considerado o principal inseto galhador praga do eucalipto no mundo.

Devido à agressividade do seu ataque, rápida dispersão, colonização e adaptação a novos ambientes (Wilcken *et al.*, 2015; Jorge *et al.*, 2016; Csóka *et al.*, 2017), nos países onde *L. invasa* se estabeleceu vem gerando vários problemas entre eles a limitação da atividade florestal em locais de alta infestação (Mendel *et al.*, 2004; Wilcken *et al.*, 2015), assim como a descontinuidade do uso de clones produtivos que sejam altamente suscetíveis a esta praga (Jorge C., 2018 comunicação pessoal).

As mudas nos viveiros e plantios jovens de até dois anos são as etapas mais suscetíveis ao ataque de *L. invasa* na cadeia florestal (Wilcken *et al.*, 2015). Esta

espécie conseguiu se dispersar e estabelecer em menos de dez anos (2000-2008) em todos os continentes onde o *Eucalyptus* é plantado. Na América do Sul foi detectada pela primeira vez no Brasil em 2008 em plantios de *Eucalyptus* spp. na Bahia (Costa *et al.*, 2008). No Uruguai foi detectada em 2011 em árvores urbanas de *E. tereticornis* na cidade de Montevideu (Jorge *et al.*, 2016).

A oviposição e o posterior desenvolvimento das larvas de *L. invasa* dentro das galhas são responsáveis pelas deformações em folhas e ramos, desfolha, redução da área fotossintética, perda de crescimento e até a morte em materiais muito suscetíveis (Mendel *et al.*, 2004, 2017; Wilcken *et al.*, 2015). Quando o nível populacional de *L. invasa* é muito alto ou se o genótipo de *Eucalyptus* afetado é muito suscetível, podem causar injúrias no caule e nos ramos em mudas ou plantas jovens de eucalipto, tornando as produtivamente inviáveis (Jorge *et al.*, 2016; Wilcken *et al.*, 2015). A duração do ciclo de vida (ovo-adulto) de *L. invasa* é afetada pela temperatura e pela espécie de *Eucalyptus* hospedeira, sendo de 130 dias em média em climas temperados (Mendel *et al.*, 2004) e de apenas 46 dias em locais com climas tropicais (Santongpraow *et al.*, 2011), com duas a sete gerações anuais respectivamente. Até o momento não se conhece no Uruguai a duração do ciclo de *L. invasa*, nem quantas gerações no ano a espécie consegue ter nas condições climáticas presentes no país.

Embora existam estudos sobre o uso de variedades resistentes (Dittrich-Schröder *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2015; Nyeko *et al.*, 2010; Thu *et al.*, 2009), controle químico (Cegatta & Villegas, 2013; Kulkarni, 2010; Ramos, 2015) e controle biológico (Dittrich-Schröder *et al.*, 2014; Mendel *et al.*, 2017) não se conta com uma metodologia de manejo adequada para o controle de *L. invasa*. Além disso, existem escassos estudos que analisam a influência de fatores bióticos e abióticos sobre a flutuação populacional da vespa da galha e da distribuição, em especial com enfoque ecológico.

Segundo Philips *et al.* (2006), a distribuição pode ser referida à distribuição real de uma espécie (locais de ocorrência) ou a potencial que é determinada através de um modelo de nicho ecológico, baseado em dados de registros de presença da espécie e das variáveis climáticas associadas com as localidades. Os modelos podem ser utilizados para prever o comportamento de uma espécie em função das variáveis climáticas presentes nas localidades de ocorrência da espécie estudada e da

probabilidade de encontrar áreas geográficas com características similares onde a espécie possa se estabelecer (Torres-Olave, 2015).

Os modelos de nicho ecológico têm sido utilizados para estabelecer quais são as condições ambientais favoráveis para predizer o estabelecimento de espécies invasoras (Booth, 2017a; Li *et al.*, 2006; Sutherst, 2014), espécies-praga (Barredo *et al.*, 2015; Carneguié *et al.*, 2006; Evangelista *et al.*, 2011; Ireland *et al.*, 2018; Montemayor *et al.*, 2014; Queiroz *et al.*, 2013; Saavedra *et al.*, 2015; Venet *et al.*, 2017), conservação de espécies (Park *et al.*, 2018) e planejamento de plantios florestais em locais de maior aptidão climática (Ashraf *et al.*, 2017; Flores *et al.*, 2016), entre outras. Recentemente Otieno *et al.* (2019) realizaram a análise de modelo de nicho ecológico inverso para estabelecer as características climáticas favoráveis na Austrália a partir dos dados climáticos nos pontos de presença de *L. invasa* no mundo. Portanto, esses modelos são úteis para otimizar o uso de recursos humanos e econômicos na escolha de locais para realizar a prospecção de uma espécie-praga e/ou definir o seu status, além da silvicultura poder planejar quais são os melhores locais para estabelecer cada tipo de plantio.

Considerando que *L. invasa* é uma espécie com alta capacidade reprodutiva, de difícil controle e de rápida dispersão, o desenvolvimento de medidas efetivas para a detecção e manejo são fundamentais. O desenvolvimento da presente pesquisa é fundamental para aumentar o conhecimento da biologia e requerimentos ambientais da vespa-da-galha no Uruguai, para definir os fatores que afetam a distribuição. Essa informação é vital para o entendimento do processo invasivo desta praga para poder estabelecer medidas de manejo adequadas, ecologicamente sustentáveis e adaptadas às condições climáticas do Uruguai. O presente trabalho teve como objetivo geral conhecer o efeito da temperatura e da precipitação na dinâmica populacional de *L. invasa* e o potencial das regiões Climáticas do Uruguai para seu estabelecimento.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Efeito da temperatura e precipitação na dinâmica populacional de *L. invasa*

4.2.1.2 Área de estudo:

O experimento foi instalado em um talhão com diferentes espécies de eucalipto, com predominância de *Eucalyptus tereticornis* e *Eucalyptus camaldulensis* (espécies altamente suscetíveis ao ataque da vespa-da-galha (Jorge *et al.*, 2016)), localizada no Campus Interinstitucional INIA-Udelar-MGAP, em Tacuarembó, no Departamento de Tacuarembó no nordeste do Uruguai (31°44'26.19"S; 55°58'48.43"W). (Fig. 1). O talhão tem uma área de 0,5 hectare. A localidade apresenta uma temperatura média anual de 17,9 °C e pluviosidade média anual de 1280 mm.



Figura 1. Localização da área de instalação das armadilhas adesivas amarelas, no departamento de Tacuarembó, Uruguai (ponto preto).

4.2.1.2 Amostragem:

Para a avaliação da flutuação populacional foram utilizadas armadilhas adesivas amarelas, dupla face (Biotrap®) de 10 x 12,5 cm. A medida das armadilhas foi escolhida por ser o tamanho padrão utilizado para o monitoramento de *L. invasa* e outras pragas-chave do eucalipto no Uruguai e no Brasil (Jorge C. comunicação pessoal). Essa metodologia foi testada na Índia e demonstrada sua efetividade para ser utilizada no monitoramento de *L. invasa*, embora com armadilhas de maior tamanho (27 x 19 cm) (Kumari 2010; Vastrad *et al.* 2010). No Brasil o uso de armadilhas adesivas amarelas foi testado por Masson (2015) para avaliar a infestação de um talhão de eucalipto afetado pela vespa-da-galha.

Quatro armadilhas amarelas foram instaladas em 15 de dezembro de 2015 em uma área de 0,5 ha de *Eucalyptus* spp., e foram avaliadas durante um período de três anos (até dezembro de 2018). As armadilhas foram trocadas mensalmente, exceto em junho a julho de 2016 e de março a maio de 2016, devido a problemas climáticos que impediram a troca das armadilhas durante estes períodos. Após a coleta, as mesmas foram cobertas com sacos plásticos de PVC transparente (policloreto de polivinil), para proteção e facilitar a identificação dos insetos capturados. A avaliação das armadilhas foi realizada com microscópio estereoscópico ZEISS Stemi DV4 +/- 0,8-4,5 aumentos, no laboratório de Entomologia do Campus Interinstitucional INIA-Udelar-MGAP, Tacuarembó, Uruguai.

A área de estudo tem uma estação climática automática DAVIS AVENTAGE VUE, da qual se utilizaram os dados meteorológicos de temperatura máxima e mínima e precipitação acumulada por período de troca das armadilhas. Porém, devido a que as armadilhas nem sempre foram trocadas na mesma data, foram considerados os valores dos intervalos entre cada coleta. Com isso, foi possível estudar a possível existência de correlação entre a flutuação da vespa-da-galha com os dados climáticos.

4.2.1.3 Análise dos dados:

Foi realizada a curva da abundância de adultos de *L. invasa* capturados nas armadilhas adesivas amarelas no tempo e se comparou com as curvas de temperatura (máximas, mínimas, média) e precipitação mensal, para ver se no gráfico observava-se alguma tendência.

A influência das variáveis climáticas na flutuação de *L. invasa* foi analisada mediante o coeficiente de correlação de Pearson (r). A significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$. Esta análise é comumente utilizada para estudar possíveis relações e/ou o efeito das variáveis climáticas na dinâmica populacional de insetos (Ferreira-Filho et al. 2017). As análises foram realizadas no programa PAST (Hammer et al. 2001).

4.2.2 Distribuição real e potencial de *L. invasa* no Uruguai

Existem vários programas que podem ser utilizados para a construção de modelos de nicho ecológico ou de distribuição potencial de espécies. Os mais utilizados são o Climax e o MaxEnt. A análise de nicho ecológico do MaxEnt foi

calculada com as seguintes condições: quadrantes de 5×5 km (25×25 km). O ajuste estatístico do modelo foi avaliado com o AUC (área abaixo da curva) com a curva característica operativa do receptor (ROC) (Peterson et al., 2011). Foi considerado que valores de AUC superiores a 0,95 apresentavam bom grau de confiabilidade estatística, portanto, valores mais perto de 1 indicam um ajuste perfeito da curva e, porém, uma boa predição.

Parte dos dados de presença/ausência de galhas no país de agosto de 2013 até julho de 2015 foram obtidos do trabalho de Jorge et al. (2016) e parte de relevamentos pontuais da praga. A partir desses dados foi realizada uma modelagem da distribuição potencial de *L. invasa* para seleccionar áreas com alta probabilidade de ocorrência sem dados de registros da vespa galhadora do eucalipto (Figura 3A). Baseados nesta predição foram realizadas algumas visitas em procura da presença de *L. invasa* em áreas de quebra-ventos e plantios de *Eucalyptus* spp. em diferentes regiões do país.

Para a modelagem da distribuição potencial foram empregados os softwares livres DIVA-GIS, e o Maxent. 3.3.1. (Maximum Entropy based program) (Philips et al., 2006). As curvas de resposta foram construídas com o Jackknife, a equação logística, "Random test percentage", com 25% para o "test" e o 75% "training". Para as interações máximas $N = 1500$. Os pontos duplicados foram removidos. O "Maximum trainin sensitivity plus specificity" foi seleccionado para aplicar no "threshold rule". Para ambos programas foi utilizada a base climática WorldClim 2.0, resolução de 30 sec. (1 km^2), e o Bioclim (19 variáveis climáticas) (Fick e Hijmans, 2017).

Para avaliar as condições climáticas do Uruguai para o estabelecimento da vespa-da-galha, classificamos os valores de probabilidade logística obtidos na modelagem do MaxEnt em seis níveis. Os valores estão entre 0 (inadequado) e 1 (ótimo), os quais podem ser interpretados como a probabilidade de ocorrência da espécie em relação as variáveis bioclimáticas do BIOCLIM. Os níveis são: habitat inadequado (< 0.15); habitat poco adequado ($\leq 0.15 < 0.30$); hábitat moderadamente adequado ($\leq 0.30 < 0.45$); habitat adequado ($\leq 0.45 < 0.60$); habitat muito adequado ($< 0.60 \geq 0.76$) e habitat óptimo (< 0.75). No mapa as cores cálidas mostram as áreas que o modelo considera que apresentam as melhores condições ambientais para o estabelecimento de *L. invasa*.

4.3 Resultados

4.3.1 Efeito da temperatura e precipitação na dinâmica populacional de *L. invasa*:

Durante os três anos de avaliação foram capturadas 234 fêmeas de *Leptocybe invasa* com três picos de emergências em 2016: em fevereiro (N=21), maio (N= 16) e novembro (N= 17); e dois picos para 2017 (fevereiro N=8, novembro-dezembro N= 8) e 2018 (abril N=32, dezembro N= 2) (Figuras 2-3). Em 2017 foi o ano que apresentou os menores valores de capturas.

O número de indivíduos de *L. invasa* capturados nas armadilhas amarelas tem tendência a diminuir quando a precipitação aumenta (Figura 2). As baixas precipitações observadas de novembro de 2017 até abril de 2018 poderiam ter contribuído para o crescimento constante dos registros da praga, passando a apresentar um só grande pico durante esse período (Figura 2). A precipitação anual acumulada foi variável durante os anos de estudo (Tabela 1), isso poderia ter influenciado na captura das vespas nos cartões adesivos amarelos.

A precipitação anual do primeiro ano de avaliação foi 2060 mm, decrescendo em 2017 e 2018 (Tabela 1), com o consequente aumento das capturas da praga em 2018 (Figura 2 A). A média da precipitação anual em 2018 foi a menor dos três anos de estudo, (Tabela 1).

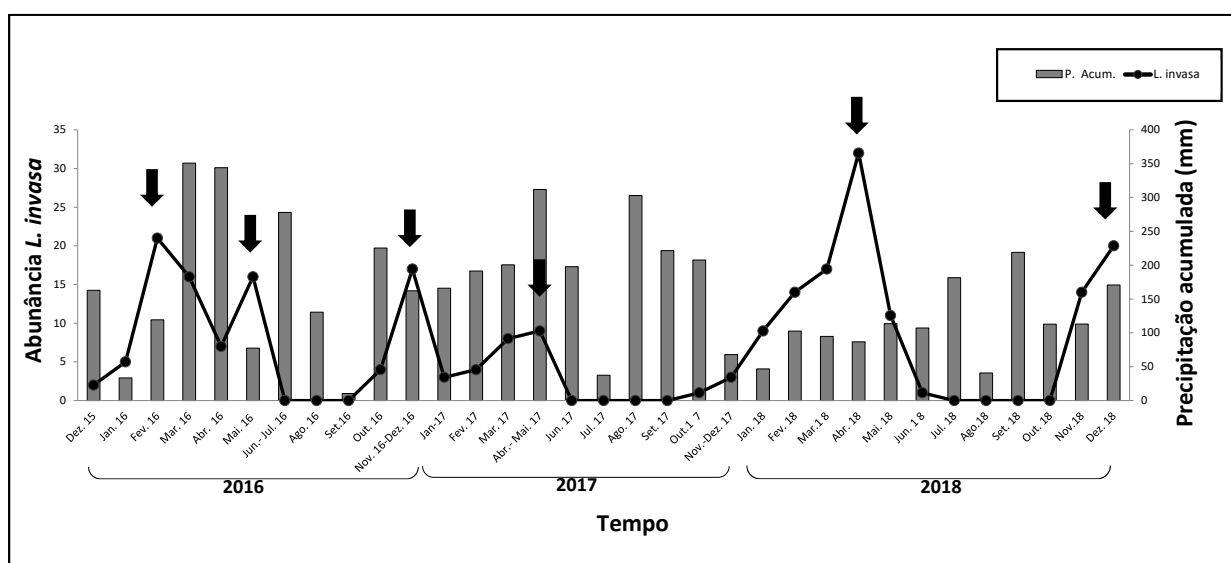


Figura 2. Flutuação populacional de *L. invasa* e Precipitação acumulada (ml) por período de troca das armadilhas, em Tacuarembó Uruguai. As setas indicam os picos de emergências.

O gráfico das capturas de *L. invasa* em comparação com a temperatura não mostra um padrão (Figura 3). A temperatura média máxima por período de troca das armadilhas anual teve um aumento no decorrer do tempo de estudo (Tabela 1). O período de estudo teve uma variação na temperatura média mínima, tendo o menor valor em 2018 (Tabela 1).

Tabela 1: Precipitação acumulada anual e média mensal e as temperaturas máximas e mínimas anuais médias na área de estudo, Tacuarembó (Dez/2015-Dez/2018).

Ano	Precipitação	Média(mm)	Temperatura	(°C)
	Anual	Mensual	Máxima	Mínima
2016	2060,3	171,7	30,6	3,7
2017	1739,3	144	31,8	4,1
2018	1389,8	115,8	33,0	3,4

A análise de correlação de Pearson indica que existe uma leve tendência positiva das capturas de *L. invasa* e o aumento da temperatura mínima ($p=0,011$) e da temperatura máxima ($p=0,0063$) (Figura 4 A-B, Tabela 2). A regressão mostrou que não houve efeito da precipitação nas capturas de *L. invasa* ($p>0,05$) (Figura 4 C, Tabela 2).

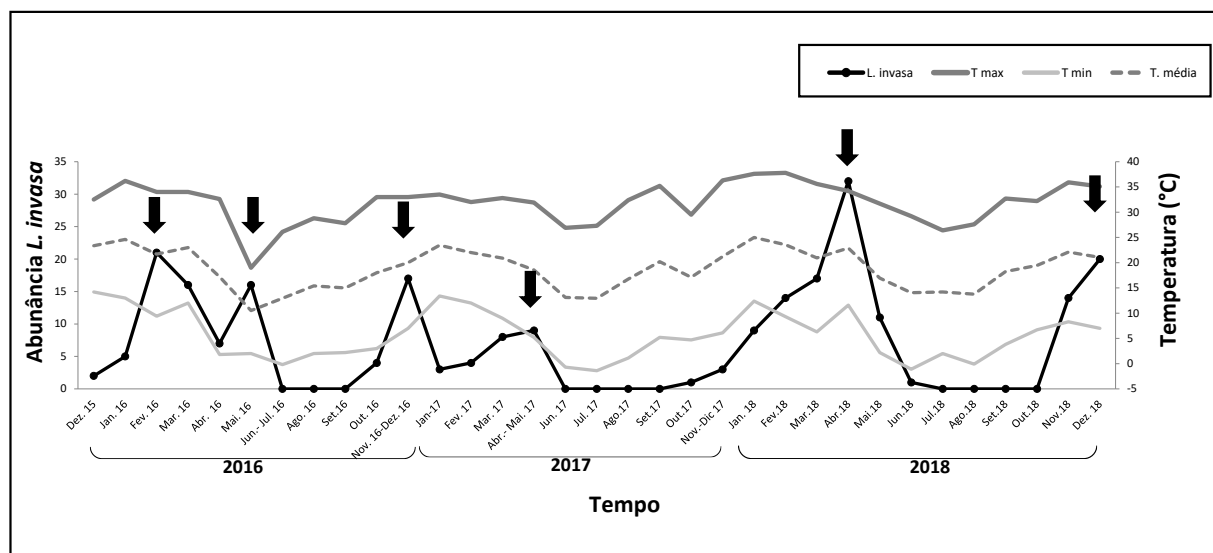


Figura 3. Flutuação populacional de Temperatura (°C) por período de troca das armadilhas. As setas indicam os picos de emergências.

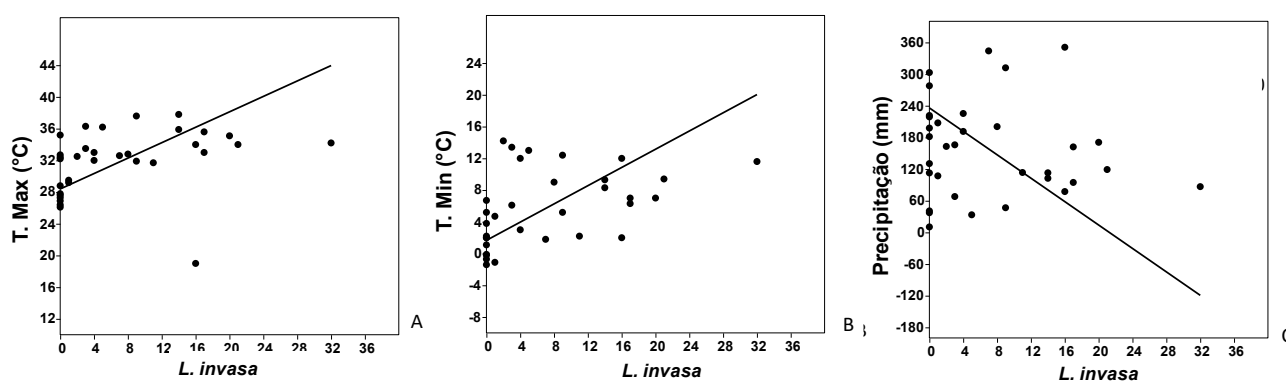


Figura 4. Gráfico da correlação de Pearson da abundância de *L. invasa* nas armadilhas e as variáveis meteorológicas. **A.** Temperatura máxima, **B.** Temperatura mínima, **C.** Precipitação.

Tabela 2: Resultados da análise da Correlação de Pearson da abundância de *L. invasa* nas armadilhas e as variáveis meteorológicas. * indica significância estatística ($p < 0,05$).

Variável	r	r ²	P
Temperatura Máxima (°C)	0,0327	0,107	0,0063*
Temperatura Mínima (°C)	0,438	0,192	0,011*
Precipitação (mm)	-0,091	0,008	0,0613

4.3.2 Distribuição real e potencial de *L. invasa* no Uruguai

Com os dados de presença de *L. invasa* até dezembro de 2015, foi verificado que o oeste do país apresentou os maiores valores enquanto o leste do país tem baixa probabilidade de encontrar o inseto-praga, coincidindo com os dados observados no campo (Figura 5). O modelo apresentou alta significância estatística com valores de AUC de 0.98. As variáveis que incidem no modelo até 2015 são a temperatura do trimestre mais seco (23,7%), a sazonalidade da temperatura (20,3%) e a temperatura média do trimestre mais quente (19,4%) também foram importantes.

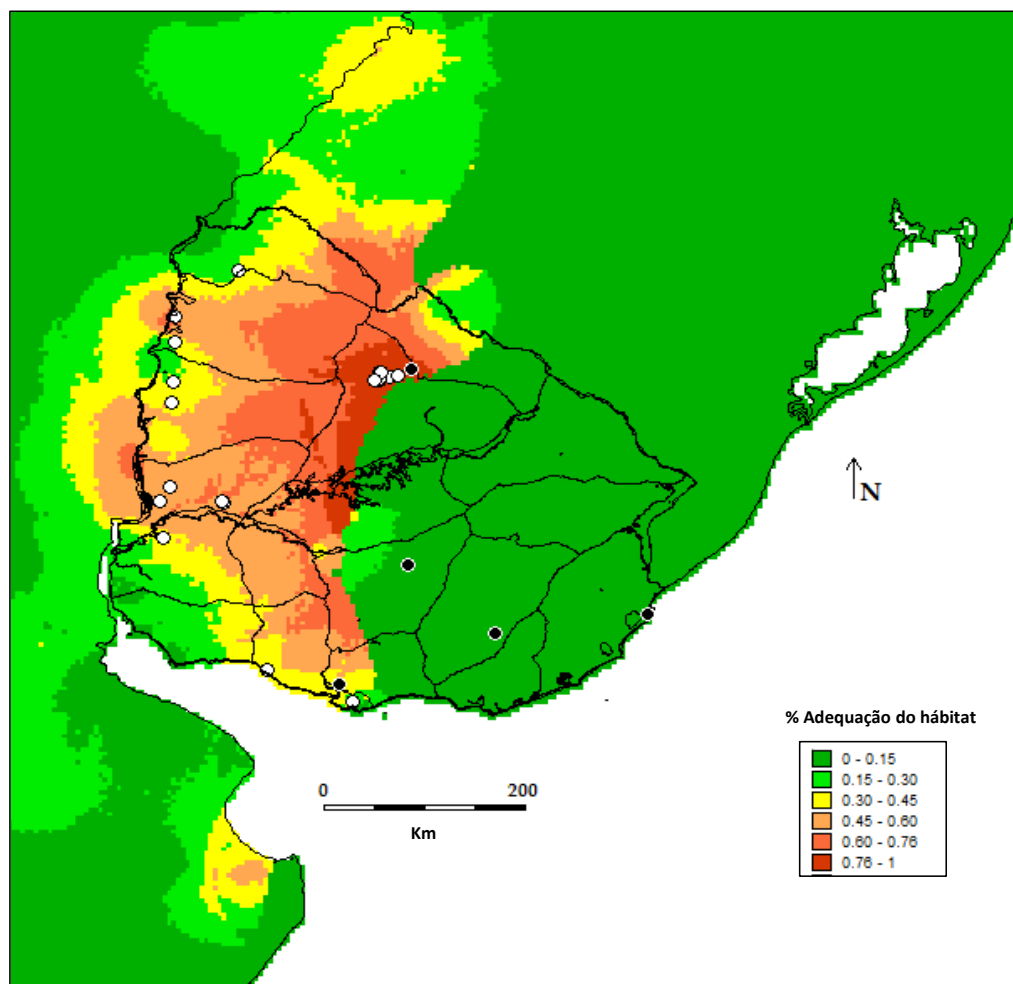


Figura 5. Modelagem da distribuição potencial de *L. invasa* para Uruguai no programa MaxEnt. Pontos brancos: presença; preto: não encontrada.

4.4 Discussão:

4.4.1 Efeito da temperatura e precipitação na dinâmica populacional de *L. invasa*:

Os registros de *L. invasa* nas armadilhas adesivas amarelas para Tacuarembó, foram mais altos nos meses com temperaturas quentes a temperadas. O resultado obtido foi concordante com trabalhos realizados no Brasil (Masson, 2015), Sri-Lanka (Udagedara e Karunaratne 2014) e em Israel (Mendel *et al.* 2004). Na China encontraram menor captura de *L. invasa* nas armadilhas adesivas amarelas durante o inverno (Zhu *et al.*, 2012), nos meses de fevereiro, maio e novembro.

A temperatura é um dos principais fatores ambientais que incidem nos aspectos fisiológicos e na sobrevivência dos insetos (Gulan e Cranston, 2017). Em nosso

estudo o aumento da temperatura teve uma influência positiva nas capturas de *L. invasa*. Zhu *et al.* (2014) relatam que a temperatura tem uma grande influência sobre a biologia de *L. invasa*, afetando a longevidade dos adultos, a duração do ciclo de vida e do número de ovos a serem depositados pelas fêmeas. O metabolismo da praga também é afetado com o aumento da temperatura com longevidade de apenas 18 h quando os adultos são expostos a uma temperatura constante de 41°C (Lu *et al.*, 2014). De Souza *et al.* (2018), encontraram resultados similares onde as temperaturas extremas (10°C e 34°C) em condições controladas afetavam negativamente a sobrevivência da praga no Brasil.

A duração do ciclo de vida é de 130 dias, em média, para áreas temperadas como Israel (Mendel *et al.*, 2004) e Argentina (Aquino *et al.*, 2011) e de 45 dias em média em localidades com clima tropical, como a Tailândia (Santongpraow *et al.*, 2011) e Taiwan (Tung *et al.*, 2014). Zhu *et al.* (2014), encontraram que o ciclo de ovo a adulto na China é mais longo a temperaturas abaixo de 23°C. Portanto, as escassas ou nulas emergências observadas de *L. invasa* durante o inverno poderiam também ser explicadas pelas baixas temperaturas (médias de 17°C a 7°C durante o dia) em Tacuarembó durante este período do ano. Além disso, a temperatura média anual na cidade de Tacuarembó é de 17,8°C, sendo esperado que o ciclo de *L. invasa* seja mais longo quando comparado com o observado em climas tropicais.

L. invasa apresenta um limiar amplo de temperaturas nas quais consegue se desenvolver com ótimas entre 25°C - 29°C e temperaturas de congelamento de -10°C para larvas e adultos (Lu *et al.*, 2014). Yang *et al.* (2015) observaram que *L. invasa* consegue se recuperar e adaptar frente a mudanças drásticas de temperatura. Portanto, a rápida adaptação desta espécie a temperaturas baixas e às mudanças na temperatura tem contribuído na rápida dispersão e o sucesso na colonização de novos ambientes.

4.4.2 Distribuição real e potencial de *L. invasa* no Uruguai

A primeira modelagem realizada com o software MaxEnt indicou que a região leste do país é a região com condições ambientais menos favoráveis para o estabelecimento da vespa-da-galha no Uruguai. A temperatura é a variável meteorológica que mais influenciaria na distribuição de *L. invasa*, sendo a temperatura

do trimestre mais seco, a sazonalidade da temperatura (20,3%) e a temperatura média do trimestre mais quente as que mais contribuiriam na construção do modelo.

O software MaxEnt tem sido utilizado para a modelização da distribuição potencial de outras pragas florestais como o percevejo bronzeado do eucalipto *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae) (Montemajor *et al.*, 2014). Recentemente, Oquieno *et al.* (2019) realizaram a modelagem inversa de *L. invasa* utilizando os softwares MaxEnt e CLIMEX (NCAR, 2017) com boa sustentabilidade estatística.

Os resultados obtidos permitiram aumentar o conhecimento disponível dos parâmetros meteorológicos que incidem na dinâmica populacional de *L. invasa*. Sendo a temperatura o principal fator climático que mais afeta a praga. Esta informação permite prever aos responsáveis de manter a sanidade tanto em viveiro como a campo, os meses do ano com picos de emergência de adultos e aumentar as medidas de proteção evitando assim perdas econômicas de importância e o aproveitamento dos recursos humanos e econômicos. O modelo de distribuição potencial permitiu definir as regiões do Uruguai com maior adequação ambiental para o estabelecimento da praga. Portanto, a informação obtida no presente estudo aporta ferramentas para a toma de decisões silviculturais.

Agradecimentos:

Ao Programa Nacional de Producción Forestal de INIA, Tacuarembó, pela colaboração durante o período de estudo. Em especial a os Técnicos Pablo Núñez, Federico Rodríguez, Wilfredo González, Sebastián Inthamoussu. Ao Tec. Gest. Forestal Marcelo Alfonso encargado de Agroclimatología de INIA Tacuarembó, pelo fornecimento dos dados climáticos durante o período de estudo. Ao Dr. Gustavo Balmelli de INIA Tacuarembó, às Ing. Agr. Mariana Pintos e Patricia Basile, Pia Romero e a Tec. Verónica Gonzalez–Curtina da Universidad de la República, sede Tacuarembó, pela colaboração na troca das armadilhas.

Contribuição dos autores:

C.J. (Carolina Jorge), E.B (Edson L.L. Baldin), e C.W (Carlos F. Wilcken) em conjunto planificaram de desenharam o estudo; C.J. escreveu a versão inicial do artigo, realizou os relevamentos, as análises estatísticas e preparou os dados finais; C.J., C.F. e E.B.

escreveram em conjunto a versão final do manuscrito. todos os autores leram e concordam com a versão enviada do manuscrito.

Financiamiento:

A Asociación Universitaria Iberoamericana de posgraduación pela bolsa DO Programa de Apoyo a Estudiantes de Doctorado del Extranjero (AUIP-PAEDEX), para realizar o doutorado na FCA-Unesp. O trabalho foi sustentado em parte pelo Programa de Proteção Florestal (PROTEF) do Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF)", Piracicaba, SP, Brasi.

Declaración de consentimiento informado:

O consentimento informado foi obtido de todas as pessoas envolvidas no estudo.

4.5 Referências:

- Aquino, D.A., Botto, E.N., Loiácono, M.S., Pathauer, P. (2011) "Avispa de la agalla del eucalipto", *Leptocybe invasa* Fischer & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae), en Argentina. *Revista de Investigación Agropecuária (RIA)*, **37**, 159-164.
- Ashraf, U., Peterson, A.T., Chaudhry, M. N., Ashraf, I., Saqib, Z., Rashid Ahmad, S. & Ali, H. (2017) Ecological niche model comparison under different climate scenarios: a case study of *Olea* spp. in Asia. *Ecosphere*, **8**, e01825. 10.1002/ecs2.1825.
- Barredo, J.I., Strona, G., de Rigo, D., Caudullo, G., Stancanelli, G. & San-Miguel-Ayanz J. (2015) Assessing the potential distribution of insect pests: case studies on large pine weevil (*Hylobius abietis* L) and horse-chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella*) under present and future climate conditions in European forests. *Bulletin OEPP/EPPO*, *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, **45**, 273–281.
- Booth, T. H. (2017) Assessing species climatic requirements beyond the realized niche: some lessons mainly from tree species distribution modeling. *Climatic change*, **145**, 259-271.
- Carnegie, A., Matsuki M., Haugen, D.A., Hurley, B.P., Ahumada, R., Klasmer, P., Sun, J. & Iede, E.T. (2006) Predicting the potential distribution of *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae), a significant exotic pest of *Pinus* plantations. *Annals of Forestry Sciences*, **63**, 119-128.
- Cegatta, I.R. & Villegas, C. (2013) Eficiência de dois inseticidas sistêmicos no controle de *Leptocybe invasa* em mudas de *Eucalyptus camaldulensis*. *Revista Instituto Florestal*, **25**, 215-221.

- Costa, V.A., Filho, E.B., Wilcken, C.F., Stape, J.L., La Sale, J. & Teixeira, L. (2008) *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) in Brazil. New forest pest reaches the new world. *Revista Agricultura*, **83**, 136-139.
- Csóka, G., Stone, G.N., Melika, G. (2017) Non-native gall-inducing insects on forest trees: a global review. *Biological Invasions*, **19**, 3161-3181.
- De Souza, A.R., Barbosa, L.R., de Souza Passos, J.R., Monteiro de Castro e Castro, B., Zanuncio, J.C. & Wilcken, C.F. (2018) Longevity and survival of *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*, with different diets and temperatures. *PeerJ* **6**, e5265; DOI 10.7717/peerj.5265
- DIEA (Dirección de Estadísticas Agropecuaria). (2018) Anuario Estadístico 2018. In: <http://www.mgap.gub.uy>. Access on: 2 May 2019.
- Dittrich-Schröder, G., Wingfield, M.J., Hurley, B.P. & Slippers, B. (2012) Diversity in *Eucalyptus* susceptibility to the gall-forming wasp *Leptocybe invasa*. *Agricultural and Forest Entomology*, **14**, 419-427.
- 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 *Selitrachodes neseri*: A potential biological control agent of the *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa*. *Biological Control*, **78**, 33-41.
- El-Gabbas, A. & Dormann, C.F. (2018) Wrong, but useful: regional species distribution models may not be improved by range-wide data under biased sampling. *Ecology and Evolution*, **8**, 2196–2206.
- Evangelista, P.H., Kumar, S., Stohlgren, T.J. & Young, N.E. (2011) Assessing Forest vulnerability and the potential distribution of pine beetles under current and future climate scenarios in the Interior West of the US. *Forest Ecology and Management*, **262**, 307–316.
- Ferreira-Filho, P.J.F., Wilcken, C.F., Masson, M.V., Tavares, W.D.S., Guerreiro, J.C., Do Carmo, J.B., Prado E.P. & Zanuncio, J.C. (2017) Influence of temperature and rainfall on the population dynamics of *Glycaspis brimblecombei* and *Psyllaephagus bliteus* in *Eucalyptus camaldulensis* plantations. *Revista Colombiana de Entomología*, **43**, 1-6.
- Fick, S.E. & Hijmans, R.J. (2017) Worldclim 2: New 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, **37**, 4302-4315.
- Flores, T.B., Alvares, C.A., Souza, V.C. & Stape, J.L. (2016) *Eucalyptus* no Brasil: zoneamento climático e guia para identificação. IPEF, Piracicaba.
- Gómez, V.H.F. et al. (2018) Species Distribution Modelling: Contrasting presence-only models with plot abundance data. *Scientific Reports*, **8**, 1-12.
- Gullan, P.J. & Cranston, P.S. (2017) *Insetos Fundamentos da Entomologia*. Editorial ROCA, 5ª Ed., Barcelona.

- Huang, M., Ge, X., Shi, H., Tong, Y. & Shi, J. (2019) Prediction of Current and Future Potential Distributions of the Eucalyptus Pest *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in China Using the CLIMEX Model. *Pest Management Science*, doi: 10.1002/ps.5408.
- Hurley, B.P., Garnas, J., Wingfield, M.J., Branco, M., Richardson, D.M. & Slippers, B. (2016) Increasing numbers and intercontinental spread of invasive insects on eucalypts. *Biological Invasions*, 18, 921-933.
- Ireland, K.B., Bulman, L., Hoskins, A.J., Pinkard, E.A., Mohammed, C. & Kriticos, D.J. (2018) Estimating the potential geographical range of *Sirex noctilio*: comparison with an existing model and relationship with field severity. *Biological Invasions*, **20**: 2599.
- Jorge, C., Martinez, G., Gomez, D. & Bollazzi, M. (2016) First record of the eucalypt gall-wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) from Uruguay. *Bosque (Valdivia)*, **37**, 631-636.
- Kulkarni, H.D. (2010). Screening eucalyptus clones against *Leptocybe invasa* Fisher and La Salle (Hymenoptera: Eulophidae). *Karnataka Journal of Agriculture Sciences*, **23**, 87-90.
- Kumar, A., Sangha, K.S. & Dhillon, D.S. (2015) Screening of 19 genotypes of *Eucalyptus* spp. against gall wasp (*Leptocybe invasa*) in North-western India. *Journal of Forest Research*, **26**, 355-359.
- Kumari, N.K., Vastrad, A.S., Goud, K.B., Viraktamath, S. & Krishnaraj, P.U. (2010) Evaluation of sticky traps to manage eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae). *Karnataka Journal of Agriculture Science*, **23**, 442-444.
- LI, H., Xiao, H., Peng, H., Han, H. & Xue, D. (2006) Potential global range expansion of a new invasive species, The erythrina gall wasp, *Quadrastrichus erythrinae* Kim (Insecta: Hymenoptera: Eulophidae). *The Raffles Bulletin of Zoology*, **54**, 229-234.
- Ligrone, A. (2018) La ley primera: A 50 años de la primera Ley Forestal y en el cierre de un año particular para el sector, es tiempo de balances. Pasado, presente y futuro de la forestación en Uruguay. *Forestal*, **8**, 2-3.
- Lu, T., Zhang, Y., Huang, Z. & Huang, J. (2014) The effect on the longevity of *Leptocybe invasa* Fisher & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) studied by microcalorimetry and traditional methods. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **116**, 461-467.
- Massson, M.V. (2015) Dinâmica populacional e manejo de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em plantações de eucalipto. 86pp. Thesis of Doctor degree, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas.
- 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.

- Mendel, Z., Protasov, A., La Salle, J., Blumberg, D., Brand, D. & Branco, M. (2017) Classical biological control of two eucalyptus gall wasps; main outcome and conclusions. *Biological Control*, **105**, 66-78.
- Montemayor, S.I., Dellapé, P.M. & Melo, M.C. (2014) Geographical distribution modelling of the bronze bug: a worldwide invasion. *Agricultural and Forest Entomology*, **17**, 129-137.
- NCAR. National Center for Atmospheric Research Staff (Eds), (2017) "The Climate Data Guide: Climate Data Processing Software." In: <https://climatedataguide.ucar.edu/climate-data-tools-and-analysis/climate-data-processing-software>. Accessed on 28 May 2018.
- Nyeko, P., Mutitu, K.E., Otieno, B.O., Ngae, G.N. & Day, R.K. (2010) Variations in *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) population intensity and infestation on eucalyptus germplasms in Uganda and Kenya. *International Journal of Pest Management*, **56**, 137-144.
- Otieno, B.A., Nahrung, H.F., Steinbauer, M.J. (2019) Where Did You Come From? Where Did You Go? Investigating the origin of invasive *Leptocybe* species using distribution modelling. *Forests*. **10**, 115. doi:10.3390/f10020115
- Paine, T.D., Steinbauer, M.J. & Lawson, S.A. (2011) Native and exotic pests of *Eucalyptus*: a worldwide perspective. *Annual Review of Entomology*, **56**, 181-201.
- Park, J., Kim, D.S., Song, K.H., Jeong, T.J. & Park, S.J. (2018) Mapping potential habitats for the management of exportable insects in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, **11**, 11-20.
- Payseiro, J. (2018) Crecer en cadena. *Forestal*, **20**, 6-17.
- Peterson, A.T., Soberón, J., Pearson, R.G., Anderson, R.P., Martínez-Meyer, E., Nakamura, M. & Araújo, M.B. (2011) Ecological niches and geographic distributions. Princeton University Press, New Jersey.
- Phillips, S., Anderson, R.P. & Schapire, R.E. (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, **190**, 231-259.
- Queiroz, D.L., Majer, J., Burckhardt, D., Zanetti, D., Fernandez, J.I.R., de Queiroz, E.C., Garrastazu, M., Fernandes, B.V. & dos Anjos, N. (2013) Predicting the geographical distribution of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psylloidea) in Brazil. *Australian Journal of Entomology*, **52**, 20-30.
- Ramos, S.O. (2015) Efecto de insecticidas sobre la formación y desarrollo de las agallas de *Leptocybe invasa* en eucaliptos. *Revista FAVE - Ciencias Agrarias*, **14**, 1-7.
- Saavedra, M.C., Avila, G.A., Withers, T. & Holwell, G.I. (2015) The potential global distribution of the Bronze bug *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero and Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae). *Agricultural and Forest Entomology*, **17**, 375-388.

- Sangtongpraow, B., Charernsom, K. & Siripatanadilok, S. (2011) Longevity, fecundity and development time of *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in Kanchanaburi Province, Thailand. *Thai Journal of Agricultural Science*, **44**, 155-163.
- SPF. (2017) Uruguay Forestal. Sociedad de Productores Forestales. In: <http://www.spf.com.uy/uruguayforestal>. Accessed on 2 May 2018.
- Sutherst, R.W. (2014) Pest species distribution modelling: origins and lessons from history. *Biological Invasions*, **16**, 239-256.
- Thu, P.Q., Bell, B. & Burgess, T.I. (2009) Susceptibility of 18 eucalypt species to the gall wasp *Leptocybe invasa* in the nursery and young plantations in Vietnam. *Science Asia*, **35**, 113-117.
- Torres-Olave, M.E. (2015) Geoinformática aplicada al estudio de la distribución potencial de especies. In: Geoinformática aplicada a procesos geoambientales en el contexto local y regional: teledetección y sistemas de información geográfica. Alatorre L.C. et al. editores. Universidad Autónoma de Ciudad de Juárez, Juárez, México, pp, 337- 341.
- Tung, G.S., Chang, T.P., Lin, Y.L. & Liao, G.I. (2014) The life cycle of *Leptocybe invasa*, an invasive species in Taiwan. *Formosan Entomology*, **34**, 199-209
- Udagedara, U.K.S.K. & Karunaratne, W.A.I.P. (2014) Biology, damage and parasitoids of the *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae), infesting *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae) in Maragamuwa plantation, Sri Lanka. *International Journal of Tropical Insect Science*, **34**, 179-189.
- Vastrad, A.S., Kumari, N.K., Goud, K.B. & Viraktamath, S. (2010) Monitoring eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher and La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) using yellow sticky trap in eucalyptus plantation. *Karnataka Journal of Agriculture Science*, **23**, 215-216.
- Venette, R.C. (2017) Climate Analyses to Assess Risks from Invasive Forest Insects: Simple Matching to Advanced Models. *Current Forestry Reports*, **3**, 255-268.
- Wilcken, C.F., Zaché, B., Masson, M.V., Pereira, R.A., Barbosa, L.R. & Zanuncio, J.C. (2015) A vespa-da-galha-do-eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle. In: Vilela EF, Zucchi RA (eds) Pragas Introduzidas no Brasil. Insetos e ácaros. Fealq, Piracicaba.
- Wingfield, M.J., Slippers, B., Hurley, B.P., Coutinho, T.A., Wingfield, B.D. & Roux, J. (2008) Eucalypt pests and diseases: Growing threats to plantation productivity. *Southern Forests*, **70**, 139-144.
- Yang, Z.D., Zhao, Y.Y., Yu, S.Z., Zheng, X.L. & Xu L. (2015) Rapid Cold-Hardening Response of Adult *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). *African Entomology*, **23**, 139-146.

- Zhu, F., Ren, S., Qiu, B., Huang, Z. & Peng, Z. (2012) The abundance and population dynamics of *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) galls on *Eucalyptus* spp. in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 11, 2116-2123.
- Zhu, F.L., Ren, S.X., Qiu, B.L. & Wu, J.H. (2014) Effect of temperature on life table parameters of *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae). *Austral Entomology*, **54**, 71–78.

CAPÍTULO 5:

PROSPECÇÃO DE INIMIGOS NATURAIS ASSOCIADOS ÀS GALHAS DE *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) NO URUGUAI¹

Resumo

A vespa-da-galha do eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), é o último registro de um inseto-praga australiano em invadir o Uruguai. O controle biológico (CB) clássico com parasitoides provenientes da Austrália e a resistência de plantas a insetos, são as estratégias mais empregadas na atualidade para o manejo desta praga. Brasil e Argentina vêm desenvolvendo estudos do uso do CB, assim como o estudo de espécies associadas às galhas de *L. invasa*. Porém, no Uruguai estes estudos não foram realizados. Em fevereiro de 2019 se realizou a importação do parasitoide *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) da Argentina e foi liberado numa plantação afetada por *L. invasa* perto da cidade de Paysandú. Por tanto, o objetivo do presente estudo foi estudar a presença de inimigos naturais associados com as galhas de *L. invasa* em diferentes áreas com *Eucalyptus* spp. no Uruguai. De março de 2018 até fevereiro de 2019 foram realizadas amostragens de ramos com galhas de *L. invasa* em 13 pontos do norte do país com presença conhecida da praga. Dos ramos foi observada a emergência de exemplares de *Quadrastichus mendeli* em um ponto em Paysandú e de *Megastigmus* cf. *zebrinus* em um ponto de Tacuarembó, além de machos de *L. invasa* em Tacuarembó. Não foi registrada a emergência de *S. neseri*, pelo qual se conclui que o mesmo não conseguiu se estabelecer em nosso país.

Palabras-chave: Controle biológico, *Eucalyptus* spp., parasitoides, vespas galhadoras, *Megastigmus*, *Quadrastichus*.

¹ Capítulo redigido de acordo com as normas do periódico **Ecological Entomology**

5.1 Introdução

A atividade florestal no Uruguai se converteu na primeira atividade produtiva do país com perto de 2000 milhões de dólares em exportações superando a produção de carne e soja, em 2018 (Ligrone, 2018). O gênero *Eucalyptus* é o mais plantado com 78% das 1,2 milhões de hectares as espécies mais plantadas comercialmente no Uruguai são *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden no Norte e litoral oeste, *Eucalyptus dunnii* Maiden no litoral (SPF, 2018; DIEA, 2018). Os eucaliptos vermelhos *Eucalyptus camaldulensis* e *E. tereticornis* são preferidos pelos produtores de gado como quebra-ventos e em áreas para sombra e refúgio, em especial próximos às rodovias (Payseiro, 2018).

Os plantios de eucaliptos vêm se prejudicados pela ação de pragas e doenças que diminuem a produção e ocasionando perdas econômicas (Wingfield *et al.*, 2008). Nas últimas décadas tem se aumentado os relatos de pragas exóticas nos países produtores de eucaliptos. Isso pode estar correlacionado com o aumento da área plantada com *Eucalyptus*, com baixa diversidade genética pelo uso de material clonal, somado ao aumento no transporte de pessoas e mercadorias (Gibson *et al.*, 1980; Paine *et al.*, 2011). Os últimos grupos de insetos-praga exóticos do eucalipto foram os insetos galhadores, sendo a espécie de micro-vespa *Leptocybe invasa* Fischer & La Salle, 2004 (Hymenoptera: Eulophidae) a de maior importância (Hurley *et al.*, 2016; Paine *et al.*, 2011).

A vespa-da-galha do eucalipto (*Leptocybe invasa*) é considerada o principal inseto-praga indutor de galhas em viveiro e em plantios de *Eucalyptus* spp. no mundo, dada a agressividade do seu ataque e alta capacidade de colonizar novos ambientes (Csóka *et al.*, 2017; Otieno *et al.*, 2019). *L. invasa* conseguiu se estabelecer em todos os continentes onde o *Eucalyptus* é plantado para uso comercial e ou ornamental (Jorge *et al.*, 2016). Ingressou na América do Sul em 2008 no Brasil (Costa *et al.*, 2008), em 2011 foi detectada na Argentina (Aquino *et al.*, 2011), chegando a Uruguai em 2011 (Jorge *et al.*, 2016). Até o momento não existe metodologia efetiva para o controle de *L. invasa*, porém o controle biológico com parasitoides de larva e/ou pupa é uma das estratégias mais aceitas a nível internacional (Mendel *et al.* 2017; Kienis *et al.* 2019).

Dado que *L. invasa* é uma espécie australiana o controle biológico clássico (CBC) com a procura de inimigos naturais no local de origem da praga foi o primeiro realizado. O Israel foi o primeiro país em testar o CBC da vespa-da-galha com parasitoides de larva (Kim *et al.*, 2008; Mendel *et al.*, 2017). O uso do controle biológico aplicado mediante o uso de parasitoides nativos encontrados nos países aonde *L. invasa* conseguiu se estabelecer (fora do local de origem da praga) foi estudado (Dogănlar *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2016).

Até o momento, foram relatadas várias espécies dos gêneros *Megastigmus* Dalman, 1820 (Hymenoptera: Torimidae); *Selitrichodes* Girault, 1913 e *Quadrastichus* Girault, 1913 (Hymenoptera: Eulophidae) entre outros, associadas com galhas de *L. invasa* (Kim *et al.*, 2008; Mendel *et al.*, 2017; Le *et al.*, 2018). Para alguns deles confirmou-se que são parasitoides de larvas e ou de pupas de *L. invasa*, e outros vem sendo estudado qual é sua função nas galhas desta praga.

No Brasil foi relatado o parasitoide nativo *Megastigmus brasiliensis* Dogănlar *et al.*, 2013 (Hymenoptera: Torymidae) associado às galhas de *L. invasa* (Dogănlar *et al.*, 2013). Recentemente na Argentina foi relatada a espécie *Megastigmus zebrinus* Grissell, 2006 emergindo de galhas de *L. invasa* (Hernández *et al.*, 2015), embora esta espécie era conhecida por induzir galhas em sementes de *Eucalyptus* spp. (Grissell, 2006), sendo considerada uma espécie-praga quarentenária (Roques *et al.*, 2016).

O parasitoide uniparental *Quadrastichus mendeli* (Hymenoptera: Eulophidae) também foi relatado na Argentina (Aquino *et al.*, 2018). Uruguai realizou a importação do parasitoide *Selitrichodes nesei* (Hymenoptera: Eulophidae) da Argentina em fevereiro de 2019 (Martinez *et al.*, 2019), mas o mesmo não se estabeleceu. Portanto, conhecer as relações dos insetos associados às galhas de *L. invasa* no Uruguai é necessário para poder estabelecer medidas de manejo adequadas, sobre todo no uso do controle biológico. O objetivo do presente trabalho foi determinar a presença de inimigos naturais associados com as galhas *L. invasa* em áreas com *Eucalyptus* spp. em Uruguai. Tendo como hipótese que o *Quadrastichus mendeli* e alguma das espécies de *Megastigmus* citadas para a região estariam presentes no Uruguai.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Área de estudo

Com base nos dados de distribuição da vespa-da-galha no Uruguai publicado em Jorge *et al.* (2016), foram escolhidos locais com a presença da vespa-da-galha. Os locais foram selecionados visando as principais regiões produtoras florestais no litoral oeste no departamento Paysandú; no Nordeste nos departamentos de Tacuarembó e Cerro Largo, e no Sudeste no departamento de Maldonado. Locais com eucaliptos perto da fronteira com Argentina e Brasil, foram priorizadas, dada a liberação do parasitoide *Selitrichodes neseri* (Kenis *et al.*, 2019; Andorno *et al.*, 2017) e ao relato de espécies do gênero *Megastigmus* (Dogănlar *et al.*, 2013; Hernandez *et al.*, 2015) em ambos países e a presença do *Quadrastichus mendeli* na Argentina (Aquino *et al.*, 2018).

Foram avaliados cinco departamentos de Uruguai, com diferente intensidade amostral dependendo do nível de infestação, totalizando 13 pontos de amostragem (Fig. 1). As coletas foram realizadas de março de 2018 até fevereiro de 2019. Cada ponto amostral foi avaliado uma vez. Durante 2016 e 2017 tinham sido realizadas coletas eventuais em Tacuarembó, Montevideu, Canelones e somente foi observada a emergência de *L. invasa* das galhas.

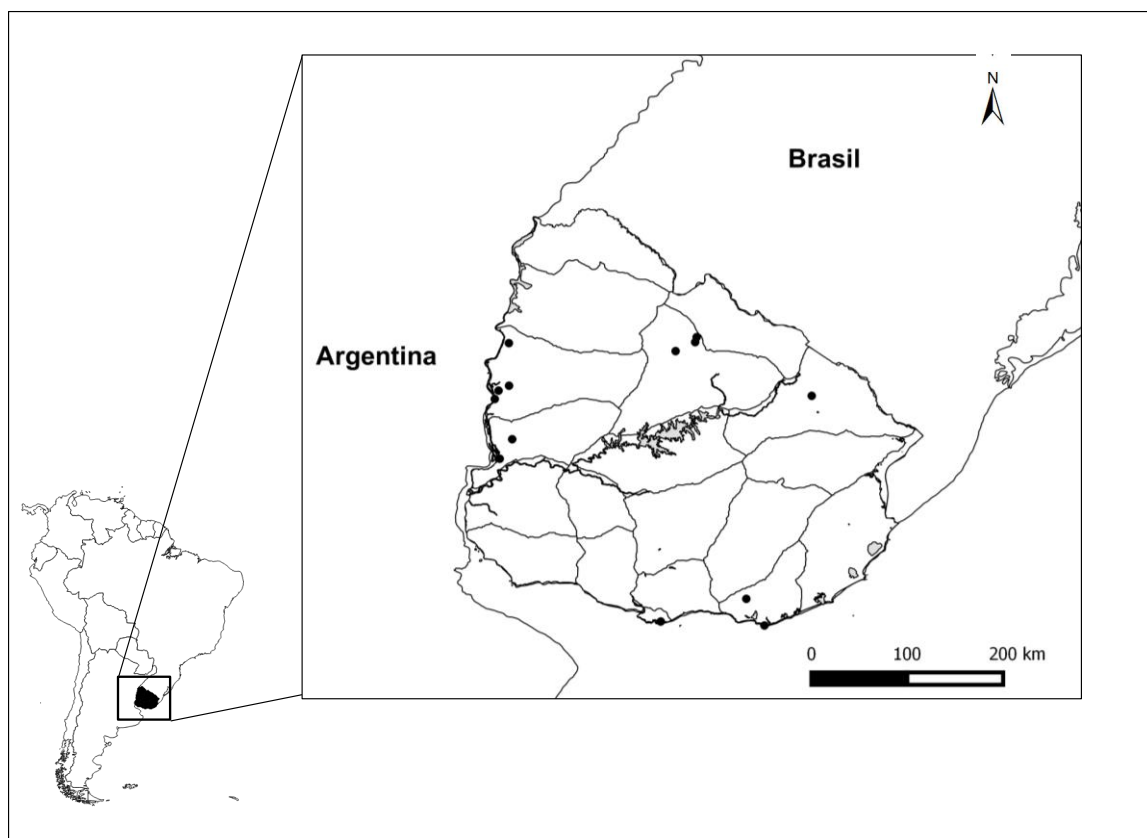


Fig. 1. Pontos de coleta de amostras de ramos com galhas de *L. invasa* no Uruguai.

5.2.2 Obtenção, processamento e conservação das amostras

Em cada ponto foram coletados de duas a cinco amostras de ramos com galhas de *L. invasa* maduras (sempre que foi possível). As amostras foram coletadas de diferentes árvores escolhidos ao acaso. Os ramos foram colocados em sacolas Ziplock® de 24 x 35 cm (quando a infestação foi baixa) ou de nylon transparente de 60 cm x 80 cm (alta infestação), onde foi coletado um número maior de ramos.

Todas as mostras foram etiquetadas com os dados de coleta e os locais amostrados foram georreferenciados e levadas ao laboratório para avaliar a emergência dos indivíduos das galhas. As amostras com uma maior quantidade de ramos foram colocadas em frascos com água dentro de gaiolas para aumentar a probabilidade de emergência dos insetos dentro das galhas. Depois do seu acondicionamento, as amostras foram colocadas numa sala climatizada com temperatura e umidade controladas, a 25°C com 60% de umidade, com fotoperíodo 12:12 h.

As amostras foram avaliadas diariamente para a coleta dos exemplares emergidos das galhas até que deixou de observar-se emergência de indivíduos. Os exemplares foram conservados em parte em álcool 70% para identificação morfológica e em álcool absoluto, para se fosse necessário a realização de análises moleculares para conferir a identificação dos mesmos. Todas as vespas que emergiram das galhas foram contabilizadas, sexadas e identificadas. Para a identificação dos exemplares diferentes a *L. invasa*, procedeu-se a bibliografia de referência (Grisell, 2006; Kim et al., 2008; Kelly et al., 2012; Doğanlar et al., 2013). Alguns “vouchers” foram depositados na coleção de Entomologia Florestal do Campus Interinstitucional INIA-Udelar-MGAP, em Tacuarembó, Uruguai.

5.3 Resultados

Somente no ponto de Maldonado não emergiram indivíduos de *L. invasa*. Isso poderia estar relacionado com o pouco desenvolvimento das galhas observado nesta área de amostragem. Nos outros locais observou-se a emergência de *L. invasa*, e em um local de Paysandú e de Tacuarembó emergiu uma espécie de Eulophidae e outra de Torymidae (Figs. 2, 3). Além da presença das duas espécies de micro himenópteros foi registrada pela primeira vez para Uruguai, a emergência de machos de *L. invasa* em três dos pontos avaliados no departamento de Tacuarembó.

Em um plantio de *E. grandis* perto da cidade de Tacuarembó observou-se a emergência de 19 indivíduos (8 machos e 11 fêmeas) de uma espécie do gênero *Megastigmus* (Hymenoptera: Torymidae) (Fig. 3C-D). Nesse ponto houve alta emergência de *L. invasa* (N=846), e as emergências de *Megastigmus* representaram apenas 2,2 % do total de indivíduos. Dado que o gênero apresenta dificuldade para a identificação a nível específico associada à alta similaridade morfológica (Doğanlar & Hasan 2010; Doğanlar, 2015), os mesmos foram identificados primariamente como *Megastigmus* cf. *zebrinus*.

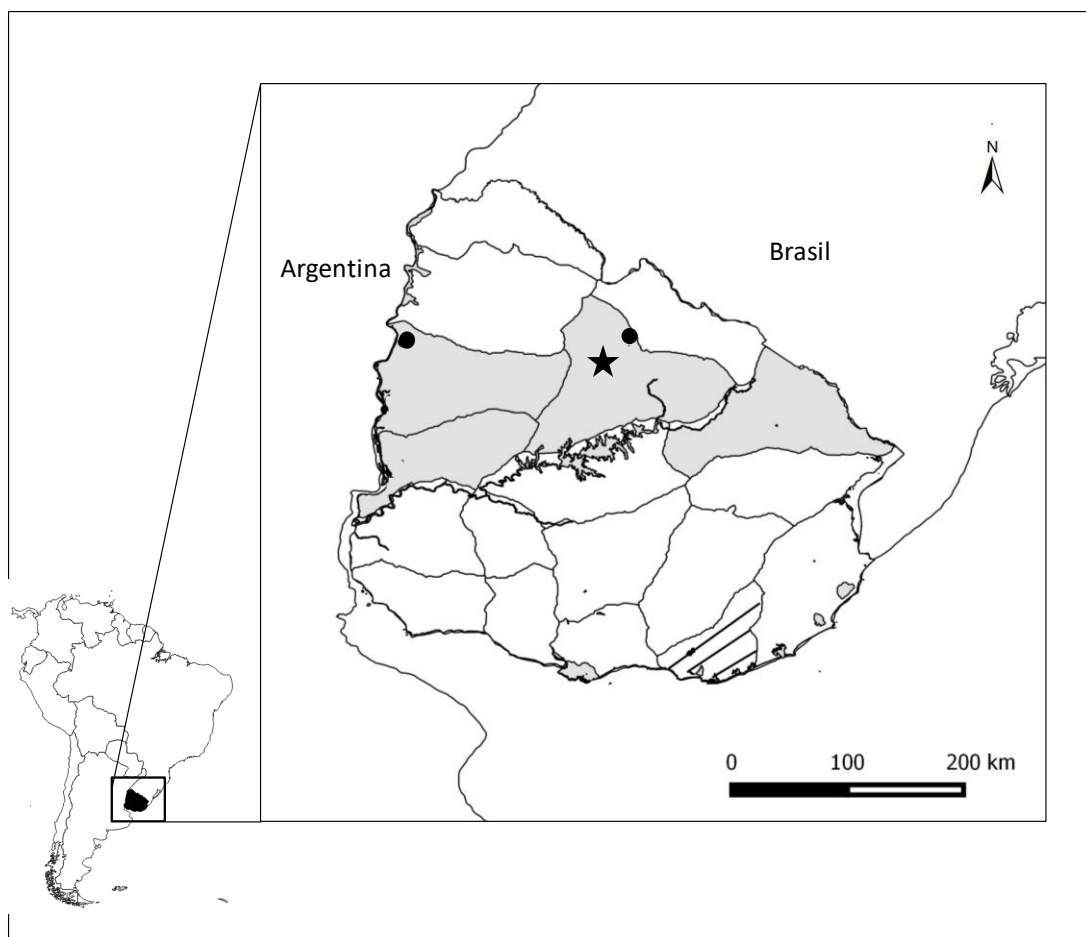


Fig. 2. Locais onde foram observadas emergências de: macho *L. invasa* (estrela), parasitoides (círculo preto), somente indivíduos de *L. invasa* (cinza) e sem emergências (franjas).

Das amostras de um talhão clonal *E. grandis* perto da cidade de Quebracho em Paysandú (próxima do Rio Uruguay e da fronteira com Argentina), emergiram indivíduos do parasitoide *Quadrastichus mendeli* (Fig. 3B). Em 20 dias de avaliação das amostras emergiram 25 fêmeas de *Q. mendeli* e mais de 94 fêmeas de *L. invasa*, representando 21% do total de indivíduos que emergiram das galhas coletadas neste local.

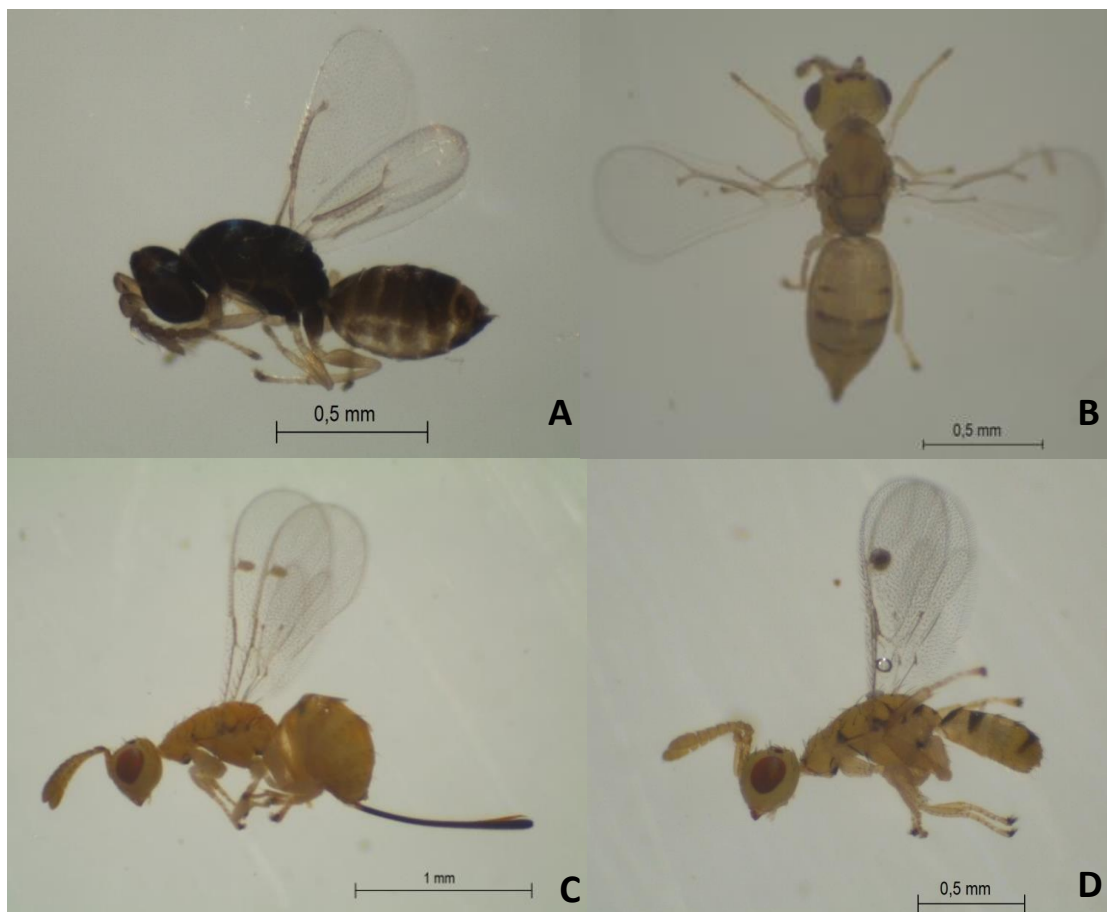


Fig. 3. Novos registros para Uruguai: A. Macho de *L. invasa*, B. *Quadrastichus mendeli*, C-D: *Megastigmus zebrinus*, C. Fêmea, D. Macho.

5.4 Discussão

O controle biológico clássico é uma das principais metodologias para o manejo dos insetos-praga em florestas comerciais com espécies exóticas (Kenis *et al.*, 2019). Israel foi o primeiro país afetado pela vespa-da-galha e que utilizou parasitoides importados da Austrália para o manejo da praga (Kim *et al.*, 2008; Mendel *et al.* 2017; Kenis *et al.*, 2019). Em alguns casos espécies de parasitoides foram encontradas acidentalmente durante as avaliações do estabelecimento de outros inimigos naturais após sua liberação no campo. A detecção de *Quadrastichus mendeli* no Uruguai é concordante com isso, dado que o plantio onde foi encontrada a espécie, foi selecionado para avaliar o estabelecimento do *S. nesei* previamente liberado. O mesmo aconteceu com a detecção do *Q. mendeli* na Argentina (Aquino *et al.*, 2018) e na Itália (Nugnes *et al.*, 2016).

A capacidade de dispersão dos parasitoides é um fator não menos importante considerando no sucesso do controle biológico. Algumas espécies podem se dispersar junto com seus hospedeiros (Branco *et al.*, 2009; Derocles *et al.*, 2014; Burks *et al.*, 2015) ou demorar um tempo depois que o inseto-praga se instalou numa nova região. Devido a maior parte das espécies de parasitoides apresenta um pequeno tamanho, o vento colabora passivamente ou ativamente na sua dispersão (Hernández & Manzano, 2016). Dada a rápida dispersão observada em outros países onde *Q. mendeli* fora relatado, e que não foram encontrados parasitoides em áreas com distancia menor a 50 km do ponto onde foi registado este parasitoide, poderia estar indicando uma recente invasão desta espécie a partir da Argentina.

A hipótese da possível presença de espécies do gênero *Megastigmus* associadas com galhas de *L. invasa* no Uruguai devido ao relato de *M. brasiliensis* no Brasil (Doğanlar *et al.*, 2013) e de *M. zebrinus* na Argentina (Hernandez *et al.*, 2015), foi comprovada, com a emergência de *M. zebrinus* em um dos locais avaliados em Tacuarembó. O gênero é um dos mais frequentemente associados com as galhas de *L. invasa*, sendo o que apresenta um maior número de espécies, além de se encontrar amplamente distribuído (Doğanlar, 2015; Huang *et al.*, 2018; Le *et al.*, 2018). Se bem se conhece pouco acerca da biologia e de seus hospedeiros, mas, dado que já foi registrado na Argentina e na África do Sul, é provável que *M. zebrinus* tenha ingressado no Uruguai há pouco tempo.

No presente estudo apenas em dois de 13 pontos de coleta de ramos com galhas de *L. invasa* foi observada a emergência de parasitoides. As fêmeas dos parasitoides têm a capacidade de selecionar o seu hospedeiro baseado em fatores bióticos e abióticos do ecossistema (Vinson, 1976). Também podem escolher hospedeiro pelo tamanho (Krimmel e Morse, 2019), idade (Mutittu *et al.*, 2013), evitando assim a competição e favorecendo o fitness da espécie (Mohamad *et al.*, 2013; Marrec *et al.*, 2018).

A maior parte dos parasitoides da vespa-da-galha parasitam larvas maduras ou pre-pupa (galhas de maior tamanho, em geral), com exceção de *Q. mendeli* que consegue se desenvolver também em larvas novas (Kim *et al.*, 2008; Dittrich-Schröder *et al.*, 2014; Doğanlar, 2015; Huang *et al.*, 2019). Alguns dos locais onde não foram registrados parasitoides foram verificadas galhas de pequeno tamanho e baixo nível de infestação, podendo estar indicando que a qualidade das galhas presentes nestes locais poderia não ser as adequadas para o estabelecimento dos parasitoides.

A reprodução assexual por partenogênese é muito comum em insetos (Vershina & Kuznetsov, 2016), sendo a telítoca a mais estendida na ordem Hymenoptera, muitas vezes associado com a presença de endossimbiontes (Stouthamer *et al.*, 2010; Gualtieri *et al.*, 2017). Apesar de *L. invasa* reproduzir-se por partenogênese telítoca (proporção sexual favorável as fêmeas) (Mendel *et al.*, 2004), alguns machos foram relatados.

O primeiro relato da presença de machos de *L. invasa* no Uruguai é realizado neste trabalho. A presença de machos da praga foi relatada no Brasil (Souza, 2016), China (Chen *et al.*, 2009 in Zheng *et al.*, 2014, 2018), Gana (Le *et al.*, 2018), Índia (Kumari *et al.*, 2010), Laos (Thu *et al.*, 2009; Le *et al.*, 2018), Malásia (Le *et al.*, 2018), Sri Lanka (Udagedara & Karunaratne, 2014), Tailândia (Sangtongpraow *et al.*, 2011), Taiwan (Tung & La Salle, 2010) e Turquia (Doğanlar, 2005).

Segundo as análises moleculares realizadas por Nugnes *et al.* (2015) e Ditttrich-Schröder *et al.* (2018) *L. invasa* apresentaria baixa diversidade genética, provavelmente devido à reprodução nessa espécie ser por partenogênese telítoca. Embora, a função dos machos de *L. invasa* ainda ser desconhecida (Doğanlar, 2005), a presença destes poderia estar associada com a presença de reprodução sexual na espécie (Zheng *et al.*, 2014; 2018).

Considerando que a reprodução sexual é uma fonte de aumento de variabilidade para as espécies (Felsenstein, 1974; Vershinina & Kuznetsov, 2016), assim como, de interferência na arquitetura genética (Misevic *et al.*, 2006), que resulta na evolução e adaptação das espécies. Portanto, a presença dos machos da praga aumenta as chances de que *L. invasa* se reproduza sexualmente (Zheng *et al.*, 2014), podendo facilitar deste modo a adaptação da praga a se desenvolver em novas espécies e/ou genótipos de *Eucalyptus* até o momento pouco ou não atacados pela praga.

As espécies-praga do eucalipto *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) e *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) que se reproduzem sexualmente tem se adaptado rapidamente a se desenvolver em várias espécies de eucaliptos (Saavedra *et al.* 2015; Wilcken *et al.*, 2015b). Por exemplo o *T. peregrinus* tem 42 espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia* e ao menos sete híbridos (Saavedra *et al.*, 2015) e *G. brimblecombei* ao menos 22 espécies e alguns híbridos como hospedeiras (Wilcken *et al.*, 2015b). Nadel e Slippers (2011) relatavam a susceptibilidade ou tolerância a *L. invasa* em 21 espécies e cinco híbridos. Na

atualidade foram relatadas ao menos 36 espécies e alguns híbridos de *Eucalyptus* em que a vespa-da-galha consegue se desenvolver (Jorge 2019 não publicado).

O presente trabalho denota a importância do estudo de espécies associadas com as galhas de *L. invasa*, visando no controle biológico desse importante inseto-praga florestal. A definição do status da espécie de *Megastigmus* encontrada será essencial para a toma de decisões silviculturais no manejo de *L. invasa*. A presença de *Q. mendeli* no Uruguai, um parasitoide uniparental, pode se tornar uma espécie chave para o controle da vespa-da-galha em plantios comerciais de *Eucalyptus* no país e no mundo.

Agradecimentos:

A AUIP-PAEDEX, pela bolsa de estudo de doutorado. Ao engenheiro Andrés Berruti do viveiro florestal Santa Maria pela colaboração de amostras com galhas de *L. invasa*. A Sociedade de Produtores do Uruguai (SPF), em especial ao Dr. Juan Pedro Posse, a Mag. Paola Molina, a os Tecs. Juliana Ivanchenco e Gerardo Osorio da empresa Lumin de Uruguai, e Mag. Rossana Reyna da empresa UPM-Forestal Oriental, por deixarmos relevar as áreas das empresas com infestação da praga. A Ing. Agr. Pia Romero e ao Bach. Lucio Arbiza da UdelaR sede Tacuarembó, pela colaboração na coleta do material. Parte do financiamento do trabalho proveio do Projeto “Bosque 30” do INIA Uruguay e da sede Tacuarembó da Universidad de la República, Uruguai.

Referências

- Andorno, A., Botto, E.N., Hernández, C.M., Cagnotti, C.L., Viscarret, M.M., López, S.N., Méndez, M., Meneses, C., Huxley, E. & Benzo, C. (2017) Avances en el control biológico de la “avispa de la agalla del eucalipto”. https://inta.gob.ar/sites/default/files/avances_en_el_control_biologico_de_la_visapa_de_la_agalla_en_eucalipto.pdf. Accessed 09 May 2019.
- Aquino, D.A., Botto, E.N., Loíacono, M.S. & Pathauer, P. (2011) “Avispa de la agalla del eucalipto”, *Leptocybe invasa* Fischer & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae), en Argentina. *Revista de Investigación Agropecuária (RIA)*, **37**, 2, 159-164.
- Aquino, D.A., Andorno, A.V., Pathauer, P.S., Botto, E.N., López, S.N. (2018) Primera cita de *Quadrastichus mendeli* (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae) de Argentina asociado a agallas de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). *Acta zoológica lilloana*, **62**, 50-52.
- Branco, M., Boavida, C., Durand, N., Franco, J.C. & Mendel, Z. (2009). Presence of the *Eucalyptus* gall wasp *Ophelimus maskelli* and its parasitoid *Closterocerus*

chamaeleon in Portugal: first record, geographic distribution and host preference. *Phytoparasitica*, **37**, 51-54.

- Burks, R.A., Mottern, J.L., Waterworth, R. & Paine, T.D. (2015). First report of the *Eucalyptus* gall wasp, *Ophelimus maskelli* (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive pest on *Eucalyptus*, from the Western Hemisphere. *Zootaxa*, **3926**, 448-450.
- Costa, V.A., Berti Filho, E., Wilcken, C.F., Stape, J.L., LaSalle, J. & Teixeira, L.D. (2008). *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) in Brazil. New forest pest reaches the new world. *Revista Agricultura*, **83**, 136-139.
- Csóka, G., Stone, G.N. & Melika, G. (2017) Non-native gall-inducing insects on forest trees: a global review. *Biological Invasions*, **19**, 3161-3181.
- Derocles, S.A.P., Plantegenest, M., Ait-Ighil, E.E.T., Chaubet, B., Dedryver, C.A. & Le Ralec, A. (2014). Larval hitch-hiking and adult flight are two ways of Aphidiinae parasitoids long-range dispersal. *Environmental Entomology*, **43**, 1327-1332.
- DIEA (Dirección de Estadísticas Agropecuaria). 2018. Anuario Estadístico 2018. In: <http://www.mgap.gub.uy>. Accessed on 2 may 2019.
- Dittrich-Schröder, G., Harney, M., Naser, S., Joffe, T., Bush, S., Hurley, B.P., Wingfield, M.J. & 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.
- Dittrich-Schröder, G., Hoareau, T.B., Hurley, B.P., Wingfield, M.J., Lawson, S., Nahrung, H.F. & Slippers, B. (2018). Population genetic analyses of complex global insect invasions in managed landscapes: a *Leptocybe invasa* (Hymenoptera) case study. *Biological Invasions*, **20**, 2395–2420.
- Doğanlar, O (2005) Occurrence of *Leptocybe invasa* Fisher & LaSalle, 2004 (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eulophidae) on *Eucalyptus camaldulensis* in Turkey, with description of the male sex. *Zoology in the Middle East* 35: 112–114.
- Doğanlar, M. (2015). Diagnosis of *Megastigmus* spp. (Hymenoptera: Torymidae) reared from galls of *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle, 2004, (Hymenoptera: Eulophidae) on *Eucalyptus* spp. (Myrtaceae), with description of a new species from South Africa. *Entomofauna-Zeitschrift für Entomologie*, **36**, 561-580.
- Dogánlar, M., Zaché, B. & Wilcken, C.F. (2013) New species of *Megastigmus* (Hymenoptera: Megastigminae) from Brazil. *Florida Entomologist*, **96**, 196-199.
- Felsenstein, J. (1976). The evolutionary advantage of recombination. *Genetics*, **78**, 737-756.

- Grissell, E.E. (2006). A new species of *Megastigmus* Dalman (Hymenoptera: Torymidae), galling seed capsules of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnhardt (Myrtaceae) in South África and Australia. *Áfrican Entomology*, **14**, 87-94.
- Gualtieri, L., Nugnes, F., Nappo, A.G., Gebiola, M. & Bernardo, U. (2017). Life inside a gall: closeness does not favour horizontal transmission of *Rickettsia* between a gall wasp and its parasitoid. *FEMS Microbiology Ecology*, **93**, 1-11.
- Hernández, C.M., Aquino, D.A., Cuello, E.M., Andorno, A.V. & Botto, E.M. (2015). Primera cita de *Megastigmus zebrinus* Grissell de Argentina (Hymenoptera: Torymidae) asociado a agallas de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, **74**, 75-77.
- Hernandez-Mahecha, L.M. & Manzano, M.R. (2016). Wind effect on the short dispersion of the parasitoid *Amitus fuscipennis* MacGown & Nebeker (Hymenoptera: Platygasteridae) on bean and snap bean crops. *Acta Agronómica*, **65**, 80-86.
- Huang, Z.Y., Li, J., Lu, W., Zheng, X.L. & Yang, Z.D. (2018). Parasitoids of the eucalyptus gall wasp *Leptocybe* spp.: a global review. *Environmental Science and Pollution Research*. **25**, 29983-29995.
- Huang, Z.Y., Li, S.Y., Lu, W. & Zheng, X.L. (2019). Structure and Sense Organs of Ovipositors of an Endoparasitoid *Aprostocetus causalis* and an Ectoparasitoid *Quadrastichus mendeli* in *Leptocybe* spp. *Microscopy and Microanalysis*, 1–7. doi:10.1017/S1431927618015647
- Hurley, B.P., Garnas, J., Wingfield, M.J., Branco, M., Richardson, D.M. & Slippers, B. (2016). Increasing numbers and intercontinental spread of invasive insects on eucalypts. *Biological Invasions*, **18**, 921-933.
- Jorge, C., Martinez, G., Gomez, D. & Bollazzi, M. (2016). First record of the eucalypt gall-wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) from Uruguay. *Bosque (Valdivia)*, **37**, 631-636.
- Kelly, J., La Salle, J., Harney, M., Dittrich-Schröder, G. & Hurley, B. (2012). *Selitrichodes nesi* n. sp., a new parasitoid of the eucalyptus gall wasp *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). *Zootaxa*, **3333**, 50-57.
- Kenis, M., Hurley, B.P., Colombari, F., Lawson, S., Sun, J., Wilcken, C., Weeks, R. & Sathiyapala, S. (2019). *Guide to the classical biological control of insect pests in planted and natural forests*, FAO, Forestry Paper No. 182. Rome.
- Kim, I.K., Mendel, Z., Protasov, A., Blumberg, A. & 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.

- Krimmel, B.A. & Morse, D.H. (2019). Host-size decisions of female parasitoid wasps seeking hidden hosts. *Ecological Entomology* DOI: 10.1111/een.12733
- Jorge C, Martinez G, Gomez D, Bollazzi M (2016) First record of the eucalypt gall-wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) from Uruguay. Bosque (Valdivia), **37**, 3, 631-636.
- Le, N.H., Nahrung, H.F., Griffiths, M. & Lawson, S.A. (2018). Invasive *Leptocybe* spp. and their natural enemies: Global movement of an insect fauna on eucalypts. *Biological Control*, **125**, 7-14.
- Marrec, R., Pontbriand-Pare, O., Legault, S., & James, P.M.A. (2018). Spatiotemporal variation in drivers of parasitoid metacommunity structure in continuous forest landscapes. *Ecosphere*. **9**, e02075.
- Martínez, G., Jorge, C., Escudero, P., Martínez-Haedo, J., de los Santos, M. & Scoz, R. (2019). Hacia un programa de control biológico de la avispa agalladora del eucalipto. *Revista INIA*, **56**, 75-78.
- 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.
- Mendel, Z., Protasov, A., La Salle, J., Blumberg, D., Brand, D. & Branco, M. (2017). Classical biological control of two eucalyptus gall wasps; main outcome and conclusions. *Biological Control*, **105**, 66-78.
- Misevic, D., Ofria, C. & Lenski, R.E. (2006). Sexual reproduction reshapes the genetic architecture of digital organisms. *Proceedings of the Royal Society B*. **273**: 457-464.
- Mohamad, R., Monge, J.P. & Goubault, M. (2013). Do resource value and ownership status affect intensity and resolution of contests in a parasitoid wasp? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **147**, 99-109.
- Mutitu, E.K., Garnas, J.R., Hurley, B.P., Wingfield, M.J., Harney, M. & Bush, S.J. (2013). Biology and rearing of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid for the biological control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). *Journal of Economic Entomology*, **106**, 1979-1985.
- Nadel, R.L. & Slippers, B. (2011). *Leptocybe invasa*, the blue gum chalcid wasp. ICFR, South Africa. In: <http://www.forestry.co.za/uploads/File/home/notices/2011/ICFR%20IS01-2011gallwasp.pdf>. Accessed 15 May 2019.
- Nugnes, F., Gebiola, M., Monti, M.M., Gualtieri, L., Giorgini, M., Wang, J. & Bernardo, U. (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**, 1-20.

- Nugnes, F., Gebiola, M., Gualtieri, L., Russo, E., Sasso, R. & Bernardo, U. (2016). When exotic biocontrol agents travel without passport: First record of *Quadrastichus mendeli*, parasitoid of the blue-gum chalcid *Leptocybe invasa*, in Italy. *Bulletin of Insectology*, **69**, 85-91.
- Otieno, B.A., Nahrung, H.F. & Steinbauer, M.J. (2019). Where Did You Come From? Where Did You Go? Investigating the origin of invasive *Leptocybe* species using distribution modelling. *Forests*, **10**, 115. doi:10.3390/f10020115
- Paine, T.D., Steinbauer, M.J. & Lawson, S.A. (2011). Native and Exotic Pests of *Eucalyptus*: A Worldwide Perspective. *Annual Review of Entomology*, **56**, 181-201.
- Payseiro, J. (2018). Crecer en cadena. *Forestal*, **20**, 6-17.
- Roques, A., Copeland, R.S., Soldati, L., Denux, O. & Auger-Rozenberg, M.A. (2016) *Megastigmus* seed chalcids (Hymenoptera, Torymidae) radiated much more on Angiosperms than previously considered. I- Description of 8 new species from Kenya, with a key to the females of Eastern and Southern África. *ZooKeys*, **585**, 51-124.
- Saavedra, M.C., Withers, T.M. & Holwell, G.I. (2015) Susceptibility of four *Eucalyptus* host species for the development of *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero and Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae). *Forest Ecology and Management*, **336**, 210–216.
- Sangtongpraow, B., Charernsom, K. & Siripatanadilok, S. (2011). Longevity, fecundity and development time of *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher and La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) in Kanchanaburi province, Thailand. *Thai Journal of Agriculture Science*, **44**, 155-163.
- SPF. (2018). Uruguay Forestal. Sociedad de Productores Forestales. In: <http://www.spf.com.uy/uruguayforestal>. Accessed 02 may 2019.
- Stouthamer, R., Russell, J.E., Vavre, F. & Nunney, L. (2010). Intragenomic conflict in populations infected by Parthenogenesis Inducing Wolbachia ends with irreversible loss of sexual reproduction. *BMC Evolutionary Biology*, **10**, 229. Doi: <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/10/229>
- Thu, P.Q., Bell, B. & Burgess, T.I. (2009). Susceptibility of 18 eucalypt species to the gall wasp *Leptocybe invasa* in the nursery and young plantations in Vietnam. *Science Asia*, **35**, 113-117.
- Tung, G.S. & LaSalle, J. (2010). Pest Alert-a Newly Discovered Invasion of Gallforming Wasps, *Leptocybe invasa* (Fisher & LaSalle), on *Eucalyptus* Trees in Taiwan. *Formosan Entomology*, **30**, 241-245.
- Udagedara, U. & Karunaratne, W. (2014). Biology, damage and parasitoids of the *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae), infesting *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae) in Maragamuwa plantation, Sri Lanka. *International Journal of Tropical Insect Science*, **34**, 179-189.

- Vershinina, A.O. & Kuznetsov, V.G. (2016). Parthenogenesis in Hexapoda: Entognatha and non-holometabolous insects. *Journal of Zoological Systematics & Evolutionary Research*, **54**, 257-268.
- Vinson, S.B. (1976). Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, **21**, 109–133.
- Wilcken, C.F., Zaché, B., Masson, M.V., Pereira, R.A., Barbosa, L.R. & Zanuncio, J.C. (2015a) A vespa-da-galha-do-eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle. Em: Vilela, E.F., Zucchi, R.A. (eds) *Pragas Introduzidas no Brasil. Insetos e ácaros*. Fealq, Piracicaba, pp 835-844.
- Wilcken C.F., Firmino-Winckler, D.C., Dal Pogetto, M.H.F.A., Dias, T.K.R., Lima, A.C.V., de Sá, L.A.N. & Ferreira-Filho, P.J. (2015b) Psilídeo-de-concha-do-eucalipto, *Glycaspis brimblecombei* Moore. Em: Vilela, E.F., Zucchi, R.A. (eds) *Pragas Introduzidas no Brasil. Insetos e ácaros*. Fealq, Piracicaba, pp 883-897.
- Wingfield M.J., Slippers B., Hurley B.P., Coutinho T.A., Wingfield B.D. & Roux J. (2008) Eucalypt pests and diseases: Growing threats to plantation productivity. *Southern Forests*, **70**, 139-144.
- Zheng, X.L., Li, J., Yang, Z.D., Xian, Z.H., Wei, J.G., Lei, C.L., Wang, X.P. & Lu, W. (2014). A review of invasive biology, prevalence and management of *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). *African Entomology*, **22**, 68-79.
- 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.
- Zheng, X., Lin, K., Huang, Z., Li, J., Yang, Z., Yang, X. & Lu, W. (2018). Offspring sex ratio and reproductive tactics of *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae): Testing the effect of environmental characteristics. *International Journal of Tropical Insect Science*, **38**, 394-399.

CAPÍTULO 6:

PROSPECÇÃO DE ENDOSSIMBIONTES ASSOCIADOS COM *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle, E SEUS PARASITOIDES *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle E *Quadrastichus mendeli* Kim & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae)¹

RESUMO

A Vespa-da-galha do eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), é uma das principais pragas do eucalipto no mundo. O controle biológico com os parasitoides nativos da Austrália *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle e *Quadrastichus mendelli* Kim & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) vem sendo realizado. A presença de endossimbiontes em insetos é comum, alguns gêneros como *Wolbachia* e *Rickettsia* são conhecidos por ocasionar incompatibilidade citoplasmática e causar feminização, sendo responsáveis pela partenogênese telítoca em muitas espécies de Hymenoptera. Porém, o efeito que eles causam nos hospedeiros é desconhecido na grande maioria das espécies. Uma diferença nas capturas do parasitoide *S. neseri* com maior proporção de machos, em armadilhas adesivas amarelas na localidade de Mogi Guaçu no estado São Paulo no Brasil, nos faz pensar em um possível efeito de endossimbiontes na proporção sexual no campo. Portanto, o objetivo foi a prospecção de endossimbiontes associados a *L. invasa* e seus parasitoides *S. neseri* e *Q. mendeli*. Para isso foi realizada a extração de DNA genômico de quatro populações de *L. invasa*, três de *S. neseri* e uma de *Q. mendeli*. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada para testar a presença de onze gêneros de endossimbiontes secundários por meio do uso de primers específicos. A leitura dos produtos das PCR's foi realizada em gel de agarose com marcador molecular. Foram encontrados seis gêneros de endossimbiontes associados a *L. invasa*, quatro a *S. neseri*. Os resultados obtidos são a base para futuros estudos que avaliem o efeito dos endossimbiontes no controle biológico de *L. invasa*.

Palavras-Chave: Controle biológico, *Rickettsia*, *Wolbachia*, Vespa-da-galha, insetos-praga.

¹ Capítulo redigido de acordo com as normas do periódico **FEMS Microbiology Ecology**

6.1 INTRODUÇÃO

Os endossimbiontes são microorganismos, em geral, bactérias, micoplasmas, microsporídios, que vivem associados com outros seres vivos aos quais fornecem algum benefício ou podem prejudicá-los (Hunter e Zchori-Fein 2006; Giorgini et al. 2009, 2019). A função dos endossimbiontes é variada, porém o mais comum é que colaborem no processamento e digestão dos nutrientes no sistema digestivo dos insetos hospedeiros (Hosokawa et al. 2006).

Os insetos xilófagos que se alimentam de celulose, apresentam endossimbiontes para colaborar na digestão, mas algumas espécies utilizariam suas próprias enzimas para digerir a celulose (Lewis 2008). Exemplos comuns é a presença de endossimbiontes no trato digestivo de cupins (Eaton e Hale 1993), e em insetos sugadores de seiva (Nugnes et al. 2015). Também foram registrados em parasitoides (Coppeland et al. 2008; Gualtieri et al. 2017). Alguns são responsáveis pelo comportamento de herbivoria (Russell et al. 2009). Em alguns casos os endossimbiontes podem ser prejudiciais para o inseto, gerando incompatibilidade citoplasmática (Mann et al. 2017; O'Neill et al. 1992; Rousset et al. 1992), deformações no desenvolvimento e até a morte dos embriões (O'Neill et al. 1992; Ryan et al. 1968).

No caso da ordem Hymenoptera, a incompatibilidade citoplasmática está associada com a modificação da razão sexual da espécie, gerando feminização por indução da partenogênese telítoca (Nugnes et al. 2015; Giorgini et al. 2009, 2010). Além da função na alimentação e na reprodução, tem sido descrita a incidência dos endossimbiontes na resistência a entomopatogênicos e/ou promoção do parasitismo (Furihata et al. 2015) ou do hiperparasitismo (van Nohouys et al., 2016) entre outros.

Na área florestal o efeito dos endossimbiontes associados com os insetos-praga e seus inimigos naturais (predadores e parasitoides) foi pouco explorado. O estudo de Pistone et al. (2014) sobre a presença de *Wolwachia* sp. em duas pragas de *Pinus*: *Diprion pini* e *Neodiprion sertifer* (Hymenoptera: Diprionidae), e do parasitoide *Dahlbominus fuscipennis* (Hymenoptera: Eulophidae) é um dos poucos trabalhos com insetos de interesse florestal.

Leptocybe invasa (Hymenoptera Eulophidae) é um dos principais insetos-praga em plantios de *Eucalyptus* no mundo (Mendel et al. 2004; Jorge et al. 2016). Esta praga induz a formação de galhas nas nervuras centrais e pecíolo de várias espécies de eucalipto, ocasionando desfolha, perda de dominância apical e de crescimento, podendo ocasionar a morte em genótipos altamente suscetíveis (Mendel et al. 2004; Wilcken et al. 2015; Jorge et al. 2016). São poucos os estudos que visaram a procura de endossimbiontes associados a *L. invasa*.

Nugnes et al. (2015) confirmaram a presença do endossimbionte *Rickettsia* na praga e Gualtieri et al. (2017) para o parasitoide *Q. mendeli*. Neste último trabalho, propuseram que a presença de *Rickettsia* foi a responsável pela partenogênese telítica nestas duas espécies. O conhecimento dos endossimbiontes associados com *L. invasa* e de seus inimigos naturais e seu efeito na fisiologia, desenvolvimento e interações ecológicas é vital para o seu manejo. O presente trabalho teve como objetivo a prospecção de gêneros de microorganismos endossimbiontes associados a *L. invasa* e a seus parasitoides *S. neseri* e *Q. mendeli*.

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

6.2.1 Área de estudo

Com base nos dados de distribuição de *L. invasa* no Brasil (Wilcken et al. 2015) e no Uruguai (Jorge et al. 2016), e da liberação de *S. neseri* e da recente detecção de *Q. mendeli* no Brasil (Wilcken, CF, 2019 dados não publicados), foram escolhidos locais com alto nível de infestação e principais regiões produtoras de eucalipto de ambos países. No total foram avaliados talhões de duas localidades e da criação de *L. invasa* e do *S. neseri* do Laboratório de Controle biológico de Pragas Florestais no Brasil e uma no Uruguai (Fig. 1).

Foram avaliadas populações de *L. invasa* dos municípios de Botucatu (B) e Luiz Antônio (LA) no estado de São Paulo e Itamarandiba (I) no estado de Minas Gerais (Fig. 1). No Uruguai foi escolhida a cidade de Tacuarembó (T) (Fig. 1). Populações do parasitoide *S. neseri* foram analisadas para os municípios de Botucatu e Itamarandiba, e a população do *Q. mendeli* do município de Luiz Antônio onde foi detectada pela primeira vez no país.

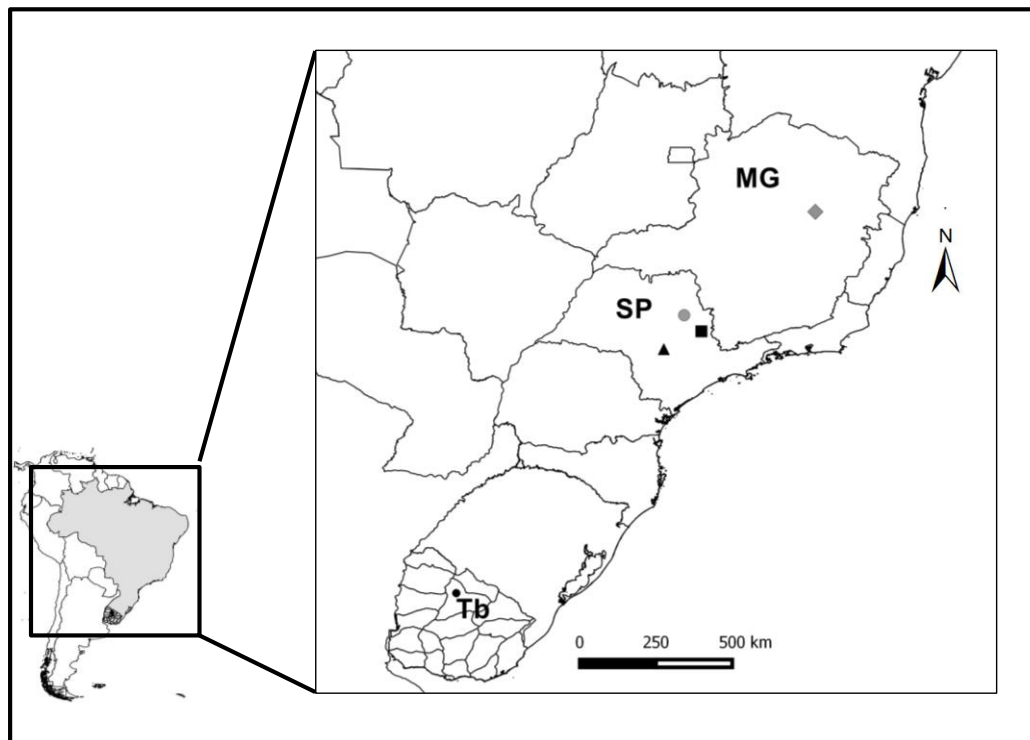


Figura 1. Pontos de coleta das populações de *L. invasa* e dos parasitoides *S. neseri* e *Q. mendeli*, no Brasil e Uruguai. Círculo preto: Tacuarembó; Rombo cinza: Itamarandiba, Triângulo: Botucatu e Quadrado: Mogi Guaçu; Círculo cinza: Luiz Antônio

6.2.2 Coleta e preservação das amostras

As amostras de ramos foram coletadas entre agosto de 2018 e janeiro de 2019. Em cada ponto foram coletados ramos com galhas maduras de *L. invasa* de árvores selecionados ao acaso. As amostras de Itamarandiba foram de um talhão de teste de progênies de *E. tereticornis*, em Luiz Antônio de um talhão de um clone suscetível de *E. grandis*, em Botucatu de mudas do clone 3025 (híbrido de *E. grandis* por *E. camaldulensis*) e em Tacuarembó de um talhão seminal de *E. camaldulensis* e *E. tereticornis*.

Os ramos foram colocados em sacolas de nylon transparente de 60 cm x 80 cm. Todas as mostras foram etiquetadas com os dados de coleta e os locais amostrados foram georreferenciados e levadas ao laboratório até a emergência dos indivíduos das galhas.

As amostras dos ramos coletados no campo foram colocadas em frascos com água dentro de gaiolas de madeira, com as laterais de voal, teto e frente de vidro. As gaiolas foram mantidas em sala climatizada com temperatura e umidade controladas, a 25°C com 60% de UR, com fotoperíodo 12:12 h. As mesmas foram avaliadas diariamente para a coleta dos exemplares, que foram identificados, sexados e colocados em tubos Eppendorf de 1,5 ml em álcool absoluto de uso molecular.

6.2.3 Processamento das amostras e extração de DNA

Para cada população de *L. invasa* e dos parasitoides foi extraído DNA genômico de 15 indivíduos adultos. Os exemplares foram colocados sobre um papel toalha para a evaporação do álcool e inseridos em tubo Eppendorf de PCR. Os mesmos foram macerados e homogeneizados em solução de 50 µl de resina Chelex100 (Bio-Rad Laboratories) a 10%, diluído em água estéril e 5µl de proteinase K (20 µg/ml) em tubos de 200µl. As amostras foram agitadas por alguns segundos em Vortex Biomixer MOD QL901 e mini centrífuga de bancada Ministar a 6200 rpm e depois transferidos para termociclador Infinigen (modelo TC-96CG) e incubados a 95°C durante 20 minutos.

Após extração de DNA genômico das populações foi realizada a técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) para detecção dos gêneros de endossimbiontes secundários: *Arsenophonus*; *Cardinium*; *Hamiltonella*; *Regiella*; *Rickettsia*; *Serratia*; *Sodalis*; *Spiroplasma* e *Wolbachia*. A presença de microsporídeo também foi investigada (Tabela 1). Somente foi realizada a prospecção dos endossimbiontes *Wolbachia*, *Rickettsia* *Cardinium* e *Sodalis* em *Q. mendeli*, (e na população de *L. invasa* de Luiz Antônio), pois este último foi detectado no Brasil em dezembro de 2018 (Jorge, 2019 informação não publicada).

6.2.4 Processamento das amostras para PCR

As reações de PCR foram executadas seguindo as condições específicas para cada primer apresentadas na Tabela 1. Foi utilizado mix de PCR contendo 12,5µl de Taq DNA Polimerase (NeoBio); 7,5µl água miliQ; 1,0µl de cada primer e 3,0µl de DNA da amostra, totalizando um volume de 25µl. Para leitura dos produtos das PCRs foi empregado o marcador molecular 100pb (Norgen) e gel de agarose 1%, contendo 80 ml de solução tampão TBE; 0,8g de agarose (Neo3Bio) e 0,4µl de intercalam-te de

DNA GelRed (NeoBio), sendo visualizados em transiluminador de luz UV (Major Science). Todos os procedimentos de extração de DNA foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular (Nematologia) na Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista (FCA/UNESP).

Tabela 1. Lista de primers utilizados na prospecção de endossimbiontes secundários nas diferentes populações estudadas de *L. invasa*, *S. nesei* e *Q. mendeli*.

Endossimbionte	Gene Alvo	Sequência do Primer 5'>3'	Tamanho da banda (pb)	Referência
<i>Arsenophonus</i>	23S	F-CGTTTGATGAATTCATAGTCAAA	600	(Thao and Baumann 2004)
	rRNA	R-GGTCCTCCAGTTAGTGTTACCCAAC		
<i>Cardinium</i>	16S	F-TACTGTAAGAATAAGCACCGGC	900	(Zchori-Fein and Pearlman 2004)
	rRNA	R-GTGGATCACTTAACGCTTTTCG		
<i>Hamiltonella</i>	16S	F-TGAGTAAAGTCTGGAATCTGG	700	(Zchori-Fein and Brown 2002)
	rRNA	R-AGTTCAAGACCGCAACCTC		
<i>Regiella</i>	16S	F-ATCGGGGAGTAGCTTGCTAC	1000	(Sandström et al. 2001) (Fukatsu and Nikoh 1998)
	rRNA	R-TACGGYTACCTTGTTACGACTT		
<i>Rickettsia</i>	16S	F-GCTCAGAACGAACGCTATC	900	(Gottlieb et al. 2006)
	rRNA	R-GAAGGAAAGCATCTCTGC		
<i>Serratia</i>	16S	F- CGCAGGCGGTTTGTAAAGTC	268	(Ribeiro 2019)
	rRNA	R- CTTCAAGGGCACAACCTCCA		
<i>Sodalis</i>	16S	F-ACCGCATAACGTCGCAAGACC	1000	(Nováková and Hypša 2007)
	rRNA	R-CTTAACCCAACATTTCTCAACACGAG		
<i>Spiroplasma</i>	16S	F-GCTTAACTCCAGTTTCGCC	800	(Montenegro et al. 2005)
	rRNA	R-CCTGTCTCAATGTAAACCTC		
<i>Wolbachia</i>	16S	F-CGGGGGAAAAATTTATTGCT	700	(Heddi et al. 1999)
	rRNA			

6.3 RESULTADOS

Foram detectados a presença de Seis gêneros de endossimbiontes secundários associados com as populações de *L. invasa* e quatro gêneros com *S. nesei*. A detecção dos endossimbiontes *Carsonella*, *Spiroplasma* e *Regiella* não foi consistente em todas as amostras. Os gêneros *Wolbachia* e *Rickettsia* não foram consistentes nas populações de *Q. mendeli* e *L. invasa* de Luiz Antônio (Fig.3).

Os gêneros *Sodalis*, *Wolbachia* e *Serratia* apresentaram banda positiva para as populações de *L. invasa* de Tacuarembó, Botucatu e Itamarandiba. Os mesmos

gêneros de endossimbiontes foram encontrados no parasitoide *S. neseri*, não observando diferenças entre os machos e fêmeas (Fig. 2-3; Tabela 2).

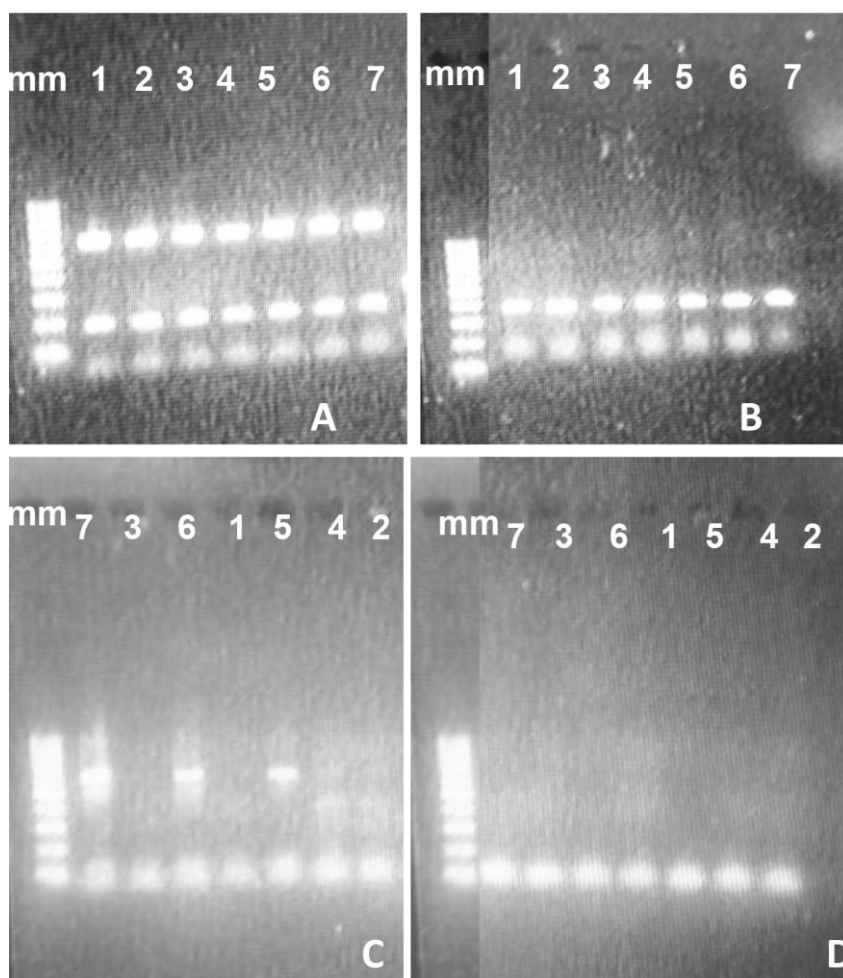


Figura 2. Imagens dos géis de agarose do produto da PCR para detecção dos gêneros de endossimbiontes: A. *Wolbachia* B. *Serratia*, C. *Hamiltonella* e D. *Arsenophonus*. Numeração: 1-2 *S. neseri* Itamarandiba: 1= m, 2 = f; 3-4 *S. neseri* Botucatu: 3= m, 4= f; 5-7 *L. invasa*: 5= Botucatu, 6= Itamarandiba, 7= Tacuarembó. mm: marcador molecular (pb), m= macho, f= fêmea.

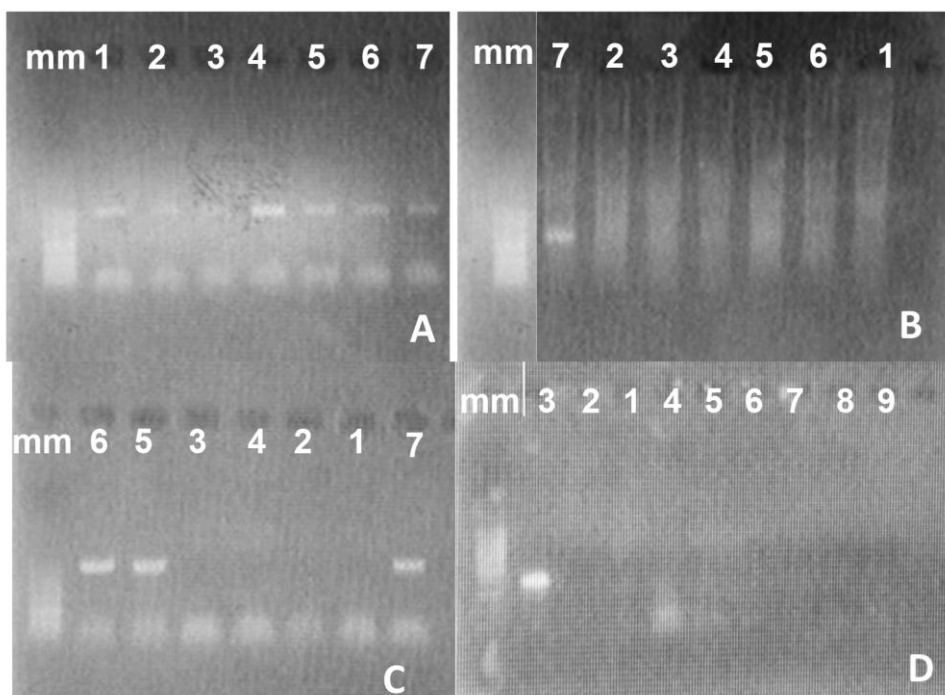


Figura 3. Imagens dos géis de agarose do produto da PCR para detecção dos gêneros de endossimbiontes: **A.** *Sodallis*, **B.** *Microsporidia*, **C.** *Rickettsia* e **D.** *Cardinum*. Numeração: 1-2 *S. neseri* Itamarandiba: 1= M, 2 = F; 3-4 *S. neseri* Botucatu: 3= M, 4= F; 5-8 *L. invasa*: 5= Botucatu, 6= Itamarandiba, 7= Tacuarembó e 8= Luiz Antônio; 9= *Q. mendeli* Luiz Antônio. mm: marcador molecular (pb), M= macho, F= fêmea.

Tabela 2. Lista de gêneros de endossimbiontes secundários, encontrados para cada população estudada. Li= *Leptocybe invasa*, Sn= *Selitrichodes neseri*, Qm= *Quadrastichus mendeli*. B= Botucatu, I= Itamarandiba, LA= Luiz Antônio T= Tacuarembó. “+”= presença; “-”: negativo; “+/-”: bandas pouco definidas. M= macho, F= fêmea.

	Li	Li	Li	Li	Sn F	Sn M	Sn F	Sn M	Qm
Endossimbionte	B	I	T	LA	I	I	B	B	LA
<i>Wolbachia</i>	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+/-
<i>Serratia</i>	+	+	+		+	+	+	+	
<i>Hamiltonella</i>	+	+	+		-	-	-	-	
<i>Arsenophonus</i>	-	-	-		-	-	-	-	
<i>Sodallis</i>	+	+	+		+	+	+	+	-
<i>Microsporidia</i>	-	-	+		-	-	-	-	
<i>Rickettsia</i>	+	+	+	+/-	-	-	-	-	+/-
<i>Cardinum</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	

O microsporídio somente apresentou banda positiva na população de Tacuarembó. *Hamiltonella* e *Rickettsia* foram registradas para as três populações de *L. invasa* não sendo registradas nos parasitoides. O gênero *Cardinum* exibiu banda positiva somente para a população do *S. neseri* de Botucatu. (Tabela 2., Fig. 2-3).

6.4 DISCUSSÃO

A presença de endossimbiontes secundários em Hymenoptera é conhecida em várias famílias como em Eulophidae (Coppeland et al. 2008, Georgini et al. 2009, 2010; Gualtieri et al. 2017). Segundo Wang et al. (2018), *L. invasa* apresenta uma grande diversidade de bactérias cultiváveis, sendo identificados oito gêneros bacterianos, no qual *Bacillus* foi o predominante. Segundo Nugnes et al. (2015) e Gualtieri et al. (2017), a diversidade destes microorganismos simbiotes é baixa, tendo como único representante ao gênero *Rickettsia*. Porém, são poucos estudos visados na prospecção de endossimbiontes na vespa-da-galha e em seus parasitoides.

As espécies do gênero *Rickettsia* são bactérias endossimbiontes intracelulares obrigatórias, comuns de encontrar em insetos e em ácaros (Weinert 2009; Giorgini et al. 2010). As espécies deste gênero podem ocasionar doenças em vertebrados (Weinert et al. 2009) e em artrópodes até causar a morte em algumas espécies de insetos pelas alterações fisiológicas de sua infecção (Werren et al. 1994). Mas, em muitas espécies de insetos o efeito da infecção por *Rickettsia* é desconhecido (Giorgini et al. 2009).

Nugnes et al. (2015) relataram a presença do gênero *Rickettsia* em populações de *L. invasa* da Argentina, China, Itália, Tunes e da Turquia, sendo o único endossimbionte encontrado nesta espécie praga, encontrando diferenças nas espécies de *Rickettsia* entre os países estudados. Em nosso estudo as populações de *L. invasa* de Botucatu, Itamarandiba e Tacuarembó apresentaram bandas positivas para *Rickettsia* sendo concordante com esses autores. Gualtieri et al. (2017), relataram a presença de *Rickettsia* no parasitoide da vespa-da-galha *Q. mendeli* em amostras da Itália, utilizando os primers específicos 16S e *gltA*. Estes autores propuseram a hipótese de que esse endossimbionte é o responsável pela partenogênese telítica observada na praga e no seu parasitoide.

Wolbachia é o gênero de endossimbionte mais estendido em animais (Rodriguero 2013). No presente estudo *Wolbachia* foi detectado nas populações de da praga e no seu parasitoide *S. nesi*. Este gênero é conhecido pela sua capacidade de manipular a reprodução dos insetos hospedeiros, atuando na determinação do sexo, alterando o ciclo celular e modificando o seu comportamento (O'Neill et al. 1997; Hunter e Zchori-Fein 2006; Rodriguero 2013). O uso de *Wolbachia* no manejo de insetos e nematoides-praga vêm sendo explorado, devido a rápida transmissão

vertical dentro da população e do seu efeito inibitório contra várias espécies de microorganismos em endossimbiontes benéficos (Rodríguez 2013). Portanto, a detecção de *Wolbachia* nas amostras de *L. invasa* e de *S. nesi* nas populações será analisada posteriormente para estabelecer as consequências sobre a fisiologia e reprodução da praga e do seu parasitoide e a influência na eficiência do controle biológico da vespa-da-galha.

Os microsporídios são conhecidos por ocasionar doenças em animais (Stentford et al. 2013), e têm sido explorados para o manejo de insetos-praga em plantios (Bauer e Pankratz 1993). A presença de espécies de microsporídios é variável de uma geração a outra nas espécies de insetos. No presente trabalho foi encontrada a presença de microsporídios apenas na população do Uruguai. Tendo em conta o efeito negativo dos microsporídios, que são utilizados no manejo de insetos praga, estudos que avaliem o seu efeito sobre as populações de *L. invasa* para ver se é apropriada sua utilização no manejo desta praga.

O efeito protetor de algumas espécies do gênero *Hamiltonella* como a espécie *Hamiltonella defensa* sobre pulgões e outros insetos fleópagos praga, prejudicando o desenvolvimento de vespas parasitoides e/ou evitando infecções por outros microorganismos é amplamente documentado (Degnan et al. 2009; Oliver et al. 2019). A identificação da espécie ou espécies de *Hamiltonella* associadas com as populações de *L. invasa* estudadas vai determinar se esse endossimbionte pode interferir ou não no controle biológico da praga.

O gênero *Cardinium* tem sido associado com a alteração no fenótipo reprodutivo dos insetos, manipulando a reprodução, similar ao ocasionado por espécies de *Rickettsia* (Hunter e Zchori-Fein 2006; Giorgini et al. 2009), que causam incompatibilidade citoplasmática (Mann et al. 2017). Tendo em conta o efeito negativo deste endossimbionte em outras espécies de insetos em especial em parasitoides, a incidência da presença de *Cardinium* nas amostras de *S. nesi* na população de Botucatu, deverá ser estudada em profundidade.

Existem poucos estudos sobre o gênero *Sodalis*, que também é uma enterobactéria endossimbionte próxima aos gêneros de patógenos entéricos *Shigella* e *Salmonella*, e, portanto, de ter evoluído da patogenicidade ao mutualismo em insetos (Dale et al. 2001). A espécie *Sodalis glossinidius* vem sendo estudada por sua associação com as moscas vetores do tse-tse *Glossina* spp. Wiedemann, 1830

(Diptera: Glossinidae). Mas, seu efeito em insetos fitófagos e em parasitoides tem sido pouco explorado e por tanto deverá ser estudado nas populações de *L. invasa*.

O gênero *Serratia* apresenta espécies associadas com doenças em vertebrados e algumas são consideradas benéficas para os insetos. Por exemplo, a espécie *Serratia marcescens* (uma das espécies mais conhecidas do gênero) é associada com doenças intra-hospitalares (Dossi et al. 2002) e foi relatado um efeito protetor deste endossimbionte no gorgulho *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera: Curculionidae) ao ataque de entomopatogênicos dos gêneros *Bacillus*, *Paenibacillus* e *Lysinibacillus* (Scascia et al. 2016). Porém a interação deste gênero de endossimbionte com *L. invasa* e no seu parasitoide *S. neneri* necessita ser estudado.

6.5 CONCLUSÕES

O presente trabalho é o primeiro visado na prospecção de endossimbiontes associados ao parasitoide da vespa-da-galha, *S. neneri* e o segundo para o *Q. mendeli*. *Leptocybe invasa* apresenta uma maior diversidade de endossimbiontes secundários que o relatado na literatura. A identificação destes endossimbiontes até o nível de espécie permitirá aumentar o conhecimento sobre a função destes microrganismos na fisiologia de *L. invasa* e seus parasitoides, assim como sua utilização e/ou interferência no manejo da vespa-da-galha em plantios e viveiros de *Eucalyptus* spp.

6.6 REFERÊNCIAS

- Bauer LS, Pankratz. *Nosema scripta* n. sp. (Microsporida: Nosematidae), a microsporidian parasite of the cottonwood leaf beetle, *Chrysomela scripta* (Coleoptera: Chrysomelidae). *J Eukaryot Microbiol* 1993.; **40**: 135-141.
- Copeland CS, Matthews RW, González JM, Aluja M, Sivinski, J. *Wolbachia* in Two Populations of *Melittobia digitata* Dahms (Hymenoptera: Eulophidae). *Neotrop Entomol* 2008; **37**:633-640.
- Dale C, Young SA, Haydon DT, Welburn SC. The insect endosymbiont *Sodalis glossinidius* utilizes a type III secretion system for cell invasion. *PNAS* **2001**; **98**: 1883–1888.
- Degnan PH, Yub Y, Sisneros N, Wing RA, Moran NA. *Hamiltonella defensa*, genome evolution of protective bacterial endosymbiont from pathogenic ancestors. *PNAS* 2009; **106**: 9063–9068.
- Dossi CMT, Escalona UM, Serrano AC, Silva DMA, Julia LC, Fernández VA, Leiva CV, Fernández OJ. *Serratia marcescens*: Descripción de un brote de infección intrahospitalaria. *Rev Chil Infect* 2002; **19**: 262-266.

- Eaton RA, Hale MDC. *Wood decay, pests and protection*. Chapman & Hall, London, UK. 1993; 546 pp.
- Fukatsu T, Nikoh N. Two intracellular symbiotic bacteria from the mulberry psyllid *Anomoneura mori* (Insecta, Homoptera). *App Environ Microbiol* 1998; 64: 3599-3606.
- Furihata S, Hirata M, Matsumoto H, Hayakawa Y. Bacteria endosymbiont, *Wolbachia*, promotes parasitism of parasitoid wasp *Asobara japônica*. *PLoS ONE* 2015; **10**: e0140914.
- Giorgini M, Monti MM, Caprio E, Stouthamer R, Hunter MS. Feminization and the collapse of haplodiploidy in an asexual parasitoid wasp harboring the bacterial symbiont *Cardinium*. *Heredity* 2009; **102**: 365–371.
- Giorgini M, Bernardo U, Monti MM, Nappo AG, Gebiola M. *Rickettsia* symbionts cause parthenogenetic reproduction in the parasitoid wasp *Pnigalio soemius* (Hymenoptera: Eulophidae). *App Environ Microbiol* 2010; 2589-2599.
- Gottlieb Y, Ghanim M, Chiel E, Gerling D, Portnoy V, Steinberg S, Tzuri G, Horowitz AR, Belausov E, Mozes-Daube N, Kontsedalov S, Gershon M, Gal S, Katzir N, Zchori-Fein E. Identification and localization of a *Rickettsia* sp in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *App Environ Microbiol* 2006; **72**: 3646–3652.
- Gualtieri L, Nugnes F, Nappo AG, Gebiola M, Bernardo U. Life inside a gall: closeness does not favour horizontal transmission of *Rickettsia* between a gall wasp and its parasitoid. *FEMS Microbiol Ecol* 2017; **93**: 1-11.
- Hosokawa T, Kikuchi Y, Nikoh N, Shimada M, Fukatsu T. Strict host-symbiont cospeciation and reductive genome evolution in insect gut bacteria. *PLoS Biol* 2006; **4**: e337.
- Hunter MS, Zchori-Fein E. Inherited *Bacteroidetes* symbionts in arthropods, p. 39–56. In Bourtzis K, Miller TA (ed.), *Insect symbiosis*, vol. 2. CRC Press, Boca Raton, FL 2006.
- Jorge C, Martinez G, Gomez D, Bollazzi M. First record of the eucalypt gall-wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) from Uruguay. *Bosque (Valdivia)* 2016; **37**: 631-636.
- Lewis VR. Isoptera: Termites. In: *Encyclopedia of Entomology*. 2nd edition. Vol. 1-4. Capinera (ed.). Springer, Dordrecht, The Netherlands 2008; 535-538.
- Mann E, Stouthamer CM, Kelly SE, Dzieciol M, Hunter M S, Schmitz-Esser S. Transcriptome Sequencing Reveals Novel Candidate Genes for *Cardinium hertigii*-Caused Cytoplasmic Incompatibility and Host-Cell Interaction. *mSystems*. 2017; **2**: e00141-17
- Mendel Z, Protasov A, Fisher N, La Salle J. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. *Aust J Entomol* 2004; **43**: 101-113.
- Nedoluzhko AV, Kadnikov VV, Beletsky AV, Sharko FS, Tsygankova SV, Mardanov AV, Ravin NV, Skryabin KG. Microorganisms associated with microscopic insects *Megaphragma amalphantum* and *Scydosella musawasensis*. *Microbiology* 2017; **86**: 533-535.
- Nováková E, Hypša V, Moran NA. *Arsenophonus*, an emerging clade of intracellular symbionts with a broad host distribution. *BMC Microbiol* 2009; **9**: 143-152.
- Nugnes F, Gebiola M, Monti MM, Gualtieri L, Giorgini M, Wang JG, Bernardo U. Genetic diversity of the invasive gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) and of its *Rickettsia* endosymbiont, and associated sex-ratio differences. *PLoS ONE*, 2015. **10**: e0124660.

- Oliver KM, Higashi CH. Variations on a protective theme: *Hamiltonella defensa* infections in aphids variably impact parasitoid success. *Curr Opin Insect Science* 2019; **32**: 1-7.
- O'Neill SL, Giordano TS, Colbert AME, Karrf TL, Robertson HM. Microbiology 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects (*Wolbachia pipientis/rickettsia/a-Proteobacteria*/PCR). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992; **89**: 2699-2702.
- O'Neill SL, Hoffmann AA, Werren J H. *Influential Passengers: Inherited Microorganisms and Arthropod Reproduction*. Oxford, UK: Oxford University Press, 1997.
- Pistone D, Bione A, Epis S, Pajoro M, Gaiarsa S, Bandi C, Sassera D. Presence of *Wolbachia* in three hymenopteran species: *Diprion pini* (Hymenoptera: Diprionidae), *Neodiprion sertifer* (Hymenoptera: Diprionidae), and *Dahlbominus fuscipennis* (Hymenoptera: Eulophidae). *J Insect Science* 2014; **14**: 23-28.
- Ribeiro MF. Parasitismo de populações de *Anaphes nitens* (Hymenoptera: Mymaridae) em *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae) e endossimbiontes associados. Master thesis degree of Forest Sciences of the Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas. 2019, 74pp.
- Rodriguero MS. *Wolbachia*, una pandemia con posibilidades. *Revista SEA* 2013; **72**: 117-137.
- Rousset F, Vautrin D, Solignac M. Molecular identification of *Wolbachia*, the agent of cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans*, and variability in relation with host mitochondrial types. *Proc Royal Soc. Series B: Biol Sciences* 1992; **247**: DOI: <http://doi.org/10.1098/rspb.1992.0023>
- Russell JA, Moreau CS, Goldman-Huertasa B, Fujiwara M, Lohman DJ, Pierce NE. Bacterial gut symbionts are tightly linked with the evolution of herbivory in ants. *PNAS* 2009; **106**: 21236–21241
- Ryan SL, Saul GB. Post-fertilization effect of incompatibility factors in *Mormoniella*. *MGG* 1968; **103**: 29-36.
- Sandström JP, Russell JA, White JP, Moran NA. Independent origins and horizontal transfer of bacterial symbionts of aphids. *Molec Ecol* 2001; **10**: 217-228
- Scrascia M, Pazzani C, Valentini F, Oliva M, Russo V, D'Addabbo P, Porcelli F. Identification of pigmented *Serratia marcescens* symbiotically associated with *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera: Curculionidae). *MicrobiologyOpen*, 2016; **5**: 883–890.
- Stentiford GD, Feist SW, Stone DM, Bateman KS, Dunn AM. Microsporidia: diverse, dynamic, and emergent pathogens in aquatic systems. *Trends Parasitol* 2013; **29**:567-78.
- Thao ML, Baumann P. Evolutionary relationships of primary prokaryotic endosymbionts of whiteflies and their hosts. *Applied Environmental Microbiology* 2004; **70**: 3401– 3406.
- van Nouhuys S, Kohonen M, Duploux A. *Wolbachia* increases the susceptibility of a parasitoid wasp to hyperparasitism. *Journal of Experimental Biology* 2016; **219**: 2984-2990.
- Wang RR, Hu Y, Yang ZD, Guo CH, Zhu LH, Zheng XL, Yu SZ. Isolation, identification and diversity of culturable bacteria in female adults of *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle. *J Southern Agric* 2018; **49**: 2432-2439.
- Weinert LA, Werren JH, Aebi A, Stone GN, Jiggins FM. Evolution and diversity of *Rickettsia* bacteria. *BMC Biol.* 2009. **7**:6-16.

- Werren JH, Hurst GDD, Zhang W, Breeuwer JAJ, Stouthamer R, Majerus MEN. Rickettsial relative associated with male killing in the ladybird beetle (*Adalia bipunctata*). *J Bacteriol* 1994; **176**: 388-394.
- Wilcken CF, Zaché B, Masson MV, Pereira RA, Barbosa LR, Zanuncio JC A vespa-da-galha-do-eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle. In: Vilela EF, Zucchi RA (eds) *Pragas Introduzidas no Brasil. Insetos e ácaros*. Fealq, Piracicaba, 2015: 835-844.
- Zchori-Fein E, Brown JK. Diversity of prokaryotes associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Ann Entomol Soc Am* 2002; **95**: 711–718.
- Zchori-Fein E, Perlman SJ. Distribution of the bacterial symbiont *Cardinium* in arthropods. *Molec Ecol* 2004;**13**: 2009-2016.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho aporta informações acerca da ecologia de *L. invasa* e seus parasitoides, assim como das interações entre eles e a influência da temperatura mínima na flutuação das populações da praga. O conhecer a influência das variáveis meteorológicas é necessário para o planejamento de protocolos de manejo da vespa-da-galha em plantios e viveiros de eucaliptos. A modelagem de nicho ecológico realizada com o MaxEnt, mostrou ser uma boa ferramenta para predizer a distribuição potencial da praga.

As armadilhas adesivas amarelas resultaram uma boa ferramenta para utilização no monitoramento de *L. invasa* e seus parasitoides *S. nesei* e *M. brasiliensis* em plantios de *Eucalyptus* spp.

O parasitoide *S. nesei*, resultou ser um bom agente de controle biológico em todas as localidades estudadas. A capacidade de dispersão do parasitoide em procura de galhas de *L. invasa* foi confirmada ao longo do tempo a nível espacial e no perfil das árvores de *Eucalyptus* spp.

Foi relatado pela primeira vez o macho de *L. invasa* para Uruguai, assim como a presença dos parasitoides *Q. mendeli* e *M. zebrinus*.

Também foram obtidos dados da distribuição no perfil das árvores de *L. invasa* e seu parasitoide *S. nesei* e em plantios de *E. grandis* no Brasil. Um maior nível de infestação de galhas *L. invasa* foi observado nas amostras de ramos de coletadas a 8 m em Mogi Guaçu.

A prospecção de endossimbiontes secundários de *L. invasa* e de seus parasitoides permitirá entender e desenvolver estratégias que melhorem o uso do controle biológico para o manejo desta praga.

Por tanto, os resultados obtidos na tese são muito importantes para aumentar a informação sobre a *L. invasa* e sua interação com os seus parasitoides e endossimbiontes para assim poder estabelecer uma boa metodologia para o manejo integrado da vespa-da-galha.

REFERÊNCIAS

- ABROL, D. P.; SHANKAR, U. Integrated pest management: principles and practice. CABI, 2012.
- ANDRADE, E. N. Uma praga do eucalipto. **Chácaras e Quintais**, v.37, n.5, p.463-465, 1928.
- ANJOS, N.; ZACARO, A. A. A microvespa *Epichrysocharis burwelli* Schauff (Hym.: Eulophidae): novíssima praga florestal no Brasil. In: ZANUNCIO, J.C., PEREIRA, J.M.M., ZANUNCIO, T.V. (Eds). **Plagas Forestales Neotropicales**, Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia, n. 75, p. 90-92, 2005.
- BALDINI, A. et al. **Plagas y enfermedades de eucaliptos y Pinos en el Uruguay**. (FAO y Ministerio de Ganadería agricultura y Pesca), 167 pp., 2006.
- BARREDO, J. I., et al. Assessing the potential distribution of insect pests: case studies on large pine weevil (*Hylobius abietis* L) and horse-chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella*) under present and future climate conditions in European forests. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, 45, p. 273–281, 2015.
- BENTANCOURT, C. M.; SCATONI, I. B.; MORELLI, E. **Insectos del Uruguay**. Universidad de la República. Facultad de Agronomía -Facultad de Ciencias. Montevideo. 658 pp., 2009.
- BENTANCOURT, C. M.; SCATONI, I. B. **Guía de Insectos y Ácaros de Importancia Agrícola y Forestal en el Uruguay**. Universidad de la República Oriental del Uruguay, Facultad de Agronomía, Montevideo, 2010.
- BERTI-FILHO, E. **Manual de pragas florestais: cupins ou térmitas**. IPEF. v.3, 56 pp., 1993.
- BERTI FILHO E. et al. Primeiro registro da vespa-da-galha, *Epichrysocharis burwelli* (Hymenoptera: Eulophidae) em *Corymbia (Eucalyptus) citriodora* (Myrtaceae) no Brasil. **Revista de Agricultura**, v. 79, n. 3, p. 363-363, 2004.
- BIEZANKO, C. M.; BOSQ, J. M. Cerambycidae de Pelotas e seus arredores. **Agros**, v. 9, p. 3-15, 1956.
- BOLLAZZI, M. **Hormigas cortadoras de hojas *Acromyrmex* spp.** Reconocimiento a campo de plagas y enfermedades forestales, INIA, 2014. 2p.
- BOOTH, T. H. Assessing species climatic requirements beyond the realized niche: some lessons mainly from tree species distribution modeling. **Climatic change**, v. 145, p. 259-271, 2017.
- BROOKER, M. I. H. A new classification of the genus *Eucalyptus* L'Hér. (Myrtaceae). **Australian Systematic Botany**, v. 13, n. 1, p. 79-148, 2000.

BRUSSA, C. ***Eucalyptus***. Editorial Hemisferio Sur, Montevideo-Uruguay. 328 pp. 1994,

BURCKHARDT, D. et al. Psyllid pests (Hemiptera, Psylloidea): in South American eucalypt plantations. **Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft**, v. 72, p. 1-10, 1999.

CARLE, J. B. et al. **The Global Thematic Study of Planted Forests**. Em: Planted Forests: Uses, Impacts and Sustainability. CABI e FAO. 33-46 pp., 2009.

CARNEGUIE, A. et al. Predicting the potential distribution of *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae), a significant exotic pest of *Pinus* plantations. **Annals of Forestry Sciences**, v. 63, p. 119-128, 2006.

CIESLA, W. Forest Entomology A global perspective. Black-Well. pp., 2011.

COSTA, V.A. et al. *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) in Brazil. New forest pest reaches the new world. **Revista Agricultura**, v. 83, p. 136-139, 2008.

De BACH, P. The scope of biological control. In: De Bach P (ed) Biological control of insect pests and weeds. Chapman and Hall, London, pp 3–20, 1964.

DIEA (Dirección de Estadísticas Agropecuaria). 2017. **Anuário Estadístico 2017**. Disponível em: <http://www.mgap.gub.uy>. Acesso em: 2 de maio de 2018.

DITTRICH-SCHRÖDER G. et al. 2012. Diversity in *Eucalyptus* susceptibility to the gall-forming wasp *Leptocybe invasa*. **Agricultural & Forest Entomology**, v. 14, n. 1, p. 419-427.

DITTRICH-SCHRÖDER, G. et al. 2014. Biology and host preference of *Selitrichodes nesi*: A potential biological control agent of the *Eucalyptus* gall wasp, *Leptocybe invasa*. **Biological Control**, v.78, n.1, p.33-41, 2014.

DOUGHTY, R. W. The *Eucalyptus* a natural and commercial history of the gum tree. The Johns Hopkins University Press, 237 pp. 2000.

EATON, R. A.; HALE, M. D. C. Wood decay, pests and protection. Chapman & Hall, London UK. 546 pp., 1993.

EVANS, J. **The History of Tree Planting and Planted Forests**. Em: Planted Forests: Uses, Impacts and Sustainability. CABI e FAO. 5-22 pp., 2009.

FAO. 2015. **Global Forest Resources Assessment 2015: How are the world's forests changing?** Second edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2016. 54pp.

FAO. 2016. **State of the World's forest 2016: Forests and agriculture: land-use challenges and opportunities**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 126 pp.

FERREIRA-FILHO, P. J. et al. Dinâmica populacional do psíldeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Moore, 1964) (Hemiptera: Psyllidae) e de seu parasitóide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em florestas de *Eucalyptus camaldulensis*. **Ciência Rural**, v.38, n.8, p. 2109-2114, 2008 a.

FERREIRA-FILHO, P. J. et al. Caracterização da estrutura espacial do psíldeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) e de seu parasitóide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em floresta de *Eucalyptus camaldulensis*. **Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas**, v.1, p.11-20, 2008 b.

FERREIRA-FILHO, P. J. et al. Biological control of *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae) in *Eucalyptus* plantations. **Phytoparasitica**, v.43, p.151-157, 2014.

FLORES, T. B. et al. ***Eucalyptus no Brasil: zoneamento climático e guia para identificação***. Piracicaba, IPEF, 2016. 448 p.

FOELKEL, C. E. B. Eucalipto no Brasil história de pioneirismo. Revista Visão Agrícola, Piracicaba, n. 4, 2005. Disponível em: [HTTP://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va04-florestas-plantadas03.pdf](http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va04-florestas-plantadas03.pdf). Acesso em: 11 de abril de 2018.

FRANCO, J. C. et al. First report of *Epichrysocharis burwelli* in Europe, a new invasive gall wasp attacking eucalypts. **Phytoparasitica**, v. 44, n. 4, p. 443–446, 2016.

FREITAS S. 1979. Contribuição ao estudo da morfologia e biologia de *Gonipteris gibberus* (Boisduval, 1835) (Coleoptera: Curculionidae) e levantamento dos danos causados por esta espécie em eucaliptos dos arredores de Curitiba. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

FURIHATA, S. et al. Bacteria endosymbiont, Wolbachia, promotes parasitism of parasitoid wasp *Asobara* japônica. **PLoS ONE**, v. 10, p. e0140914, 2015.

GARNAS, J. R. et al. Complex patterns of global spread in invasive insects: eco-evolutionary and management consequences. **Biological Invasions**, v. 18, p. 935-952, 2016

GIBSON, I. A. S. et al. The adoption of agricultural practices for the development of heritable resistance to pests and pathogens in forest crops. In: Resistance to diseases and pests in forest trees. Proceedings of the Third International Workshop on the Genetics of Host-Parasite Interactions in Forestry, Wageningen, Holanda, HEYBROEK, H. M.; STEPHAN, B.R.; VON WEISSENBERG, K., editors, p. 9-21, 1980.

GLEN, M.; ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; WINGFIELD, M. J.; MOHAMMED, C. *Puccinia psidii*: a threat to the Australian environment and economy-a review. **Australasian Plant Pathology**, v. 36, p.1-16, 2007.

GUALTIERI, L. et al. Life inside a gall: closeness does not favour horizontal transmission of *Rickettsia* between a gall wasp and its parasitoid. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, p. 1-11, 2017.

HILL, K. D. **EukaLink: A Web Guide to the Eucalypts, 2004**. Disponível em: <http://plantnet.rbgsyd.nsw.gov.au/PlantNet/Euc/class.html>. Acesso em: 20 de maio 2018.

HOSOKAWA, T. et al. Strict host-symbiont cospeciation and reductive genome evolution in insect gut bacteria. **PLoS biol**, v. 4. e337, 2006.

HUNTER, M. S.; ZCHORI-FEIN, E. Inherited Bacteroidetes symbionts in arthropods, In Bourtzis K, Miller TA (ed.), *Insect symbiosis*, v. 2. CRC Press, Boca Raton, FL p. 39–56, 2006.

HURLEY, B. P. et al. Increasing numbers and intercontinental spread of invasive insects on eucalypts. **Biological Invasions**, v. 18, p. 921-933, 2016.

IBÁ. Anuário estatístico da IBÁ 2017 – Ano base 2016. Indústria Brasileira de Árvores. 2017. Disponível em: <http://www.iba.org/pt/>. Acesso em: 10-mai-2018

JORGE, C. Memorandum: Reporte de *Epichrysocharis burwelli* Schauff & Garrison (Hymenoptera: Eulophidae) en plantaciones de *Corymbia citriodora* (Hook) en Uruguay. Informe técnico DGSA.-MGAP, 2015. 3 pp.

JORGE, C. et al. First record of the eucalypt gall-wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) from Uruguay. **Bosque (Valdivia)**, v. 37, n. 3, p. 631-636, 2016.

KENIS, M. et al. Guide to the classical biological control of insect pests in planted and natural forests, Forestry Paper No. 182. Rome, FAO, 2019

KUMARI, N. K.; KULKARNI, H. D.; GOUD, K. B. Biology of eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher and La Salle (Hymenoptera: Eulophidae). **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v.23, n.1, p.211-212, 2010.

LADIGES, P. Y.; UDOVICIC, F. Comment on a New Classification of the Eucalypts. **Australian Systematic Botany**, v. 13, p. 149-152, 2000.

LI, H. et al. Potential global range expansion of a new invasive species, The erythrina gall wasp, *Quadrastrichus erythrinae* Kim (Insecta: Hymenoptera: Eulophidae). **The Raffles Bulletin of Zoology**, v. 54, p. 229-234, 2006.

LIEBHOLD, A. M. et al. Live plant imports: the major pathway for forest insect and pathogen invasions of the US. **Frontiers in Ecology and Environment**, v. 10, n. 3, p. 135-43, 2012.

LANDSBERG, J. J.; CORK, S. J. **Herbivory: interactions between eucalypts and the vertebrates and invertebrates that feed on them**. In: *Eucalypt ecology*:

individuals to ecosystems. WILLIAMS, J.; WOINARSKI, J. (Eds). Cambridge University Press, 1997. p.342-372.

MAJER, J. D. et al. Diversity patterns of eucalypt canopy arthropods in Eastern and western Australia. **Ecological Entomology**, v. 25, p. 295-306, 2000.

MANN, E. et al. Transcriptome Sequencing Reveals Novel Candidate Genes for *Cardinium hertigii*-Caused Cytoplasmic Incompatibility and Host-Cell Interaction. **mSystems**. V. 2, p. e00141-17, 2017.

MARTÍNEZ, G.; BIANCHI, M. Primer registro para Uruguay de la chinche del eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellappé, 2006 (Heteroptera: Thaumastocoridae). **Agrociencia**, v. 14, n. 1, p. 15-18, 2010.

MARTÍNEZ, G. et al. First Record of the Australian Psyllid *Blastopsylla Occidentalis* Taylor (Hemiptera, Psylloidea) from Uruguay. **Transactions of the Royal Society of South Australia**, v. 138, n. 2, p. 231-236, 2014.

MENDEL, Z., et al. 2004. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. **Australian Journal of Entomology**, v. 43, n. 2, p. 101-113.

MORA, A. L.; GARCIA, C. H. **A cultura do Eucalipto no Brasil**. Primeira edição. São Paulo: SBS, 2000. 114 p.

MORELLI, E. et al. The immature stages of *Phoracantha recurva* Newman, 1842 and *Phoracantha semipunctata* Fabricius, 1775 (Coleoptera, Cerambycidae) and a key to larvae of these species. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4B, p. 853-860, 2002.

NAHRUNG, H. F.; SWAIN, A. J. Strangers in a strange land: do life history traits differ for alien and native colonisers of novel environments? **Biological Invasions**, v. 17, p. 699-709, 2015.

NUGNES, F. et al. Genetic diversity of the invasive gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) and of its *Rickettsia* endosymbiont, and associated sex-ratio differences. **PLoS ONE**, v. 10, p. e0124660, 2015.

O'NEILL, S. L. et al. Microbiology 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects (*Wolbachia pipientis/rickettsia*/a-Proteobacteria/PCR). **Proceedings of National Academy of Sciences**, v. 89., p. 2699-2702, 1992.

OTIENO, B. A.; NAHRUNG, H. F.; STEINBAUER, M. J. Where Did You Come From? Where Did You Go? Investigating the origin of invasive *Leptocybe* species using distribution modelling. **Forests**, v.10, p.115-126, 2019

PAINE, T. D., STEINBAUER, M. J., LAWSON S.A. Native and exotic pests of Eucalyptus: a worldwide perspective. **Annual Review of Entomology**, v. 56, p. 181-201, 2011.

PAYN, T. et al. Changes in planted forest and future global implications. **Forest Ecology and Management**, v. 352, p. 57-67, 2015

PAYSEIRO, J. Crecer en cadena. **Forestal**, n. 20, p. 6-17, 2018.

PEREIRA, R. A., et al. Rendimento de óleo essencial de *Corymbia citriodora* Hill & Johnson sob diferentes níveis de infestação de galhas de *Epichrysocharis burwelli* Schauff (Hymenoptera, Eulophidae). **Revista de Agricultura**, v. 87, n. 1, p. 10-17, 2012.

PHILLIPS, S., ANDERSON, R. P. & SCHAPIRE, R. E. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. **Ecological Modelling**, v. 190, p. 231-259, 2006.

REID, C. A. M.; DE LITTLE, D. W. A new species of *Paropsisterna* Motschulsky, 1860, a significant pest of plantation eucalypts in Tasmania and Ireland (Coleoptera: Chrysomelidae: Chrysomelinae). **Zootaxa**, v. 3681, n. 4, p., 395-404, 2013.

ROY, H. E. et al. Alien arthropod predators and parasitoids: an ecological approach. **Biological Control**, v.56, p.375–382, 2011

SANTANA, D.L.Q.; ANJOS, N. DOS. **Microvespa-do-eucalipto-citriodora (*Corymbia citriodora*) *Epichrysocharis burwelli* SCHAUFF (Hymenoptera, Eulophidae)**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 4p. (Embrapa Floretas. Comunicado técnico, 188).

SANTOS, G. P. et al. Danos em povoamentos de *Eucalyptus grandis* pelo cupim do ceme *Coptotermes testaceus* Linnée, 1758 (Isoptera: Termitidae). **Revista Árvore**, v.14, n.2, p.155-163, 1990.

SANTOS, E. et al. Contenido de proteína cruda del polen de las principales especies botánicas utilizadas por las abejas melíferas en Uruguay. **Agrociencia**, v.13, n.2, p.9-13, 2009.

SANTOS, E. et al. Aumento en la producción de semillas de soja (*Glycine max*) empleando abejas melíferas (*Apis mellifera*). **Agrociencia Uruguay**, v.17, n.1, p.81-90, 2013.

SANZANA, M. J. et al. Entomofauna polinizadora de *Eucalyptus nitens* en huertos semilleros del centro sur de Chile. **Bosque**, v.33, n.1, p. 25-31, 2012.

SCHAUFF, M.E.; GARRISON, R. An introduced species of *Epichrysocharis* (Hymenoptera: Eulophidae) producing galls on *Eucalyptus* in California with notes on the described species and placement of the genus. **Journal of Hymenopteran Research**, v. 9, p. 176-181, 2000.

SOUZA, N. M. et al. Ressurgência de uma antiga ameaça: Gorgulho-do-eucalipto *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae). **Circular Técnica 209**. Piracicaba: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, 2016. 20 p.

SPF. Uruguay Forestal: Plantaciones. Sociedad de Productores Forestales. Disponível em: <http://www.spf.com.uy/uruguay-forestal-plantaciones>. Acesso em: 02 maio-18.

STRAUSS, S. Y. Benefits and risks of biotic exchange between *Eucalyptus* plantations and native Australian forests. **Austral Ecology**, v. 26, p. 447-457, 2001.

SUTHERST, R.W. Pest species distribution modelling: origins and lessons from history. **Biological Invasions**, v. 16, p. 239-256, 2014.

TAYLOR, K. L. A new Australian species of *Ctenarytaina* Ferris and Klyver (Hemiptera: Psyllidae: Spondyliaspidae) established in three other countries. **Australian Journal of Entomology**, v. 36, n. 2, p. 113-115, 1997.

TORRES-OLAVE, M. E. **Geoinformática aplicada al estudio de la distribución potencial de especies**. In: **Geoinformática aplicada a procesos geoambientales en el contexto local y regional: teledetección y sistemas de información geográfica**. Alatorre L.C. et al. editores. Universidad Autónoma de Ciudad de Juárez, México, p., 337- 341, 2015.

WARDELL-JHONSON G.W., WILLIAMS J.E., HILL K.D. & CUMMING R. **Evolutionary biogeography and contemporary distribution of eucalypts**. In: *Eucalypt ecology: individuals to ecosystems*. WILLIAMS, J.; WOINARSKI, J. (Eds). Cambridge university press, 1997. p.92-128.

WILCKEN, C. F. et al. Ocorrência de *Phoracantha recurva* Newman (Coleoptera: Cerambycidae) em eucalipto no Estado de São Paulo, Brasil. **Scientia Forestalis**, n. 62, p. 149-153, 2002.

WILCKEN, C. F. et al. **Ocorrência do psilídeo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) (Hemiptera: Psyllidae) em florestas de eucalipto no Brasil**. Piracicaba: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, 2003. 11p. (Circular técnica, 201).

WILCKEN, C. F. et al. Bronze bug *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero and Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) on *Eucalyptus* in Brazil and its distribution. **Journal of Plant Protection Research**, v. 50, n. 2, p. 201-205, 2010.

WILCKEN C. F. et al. **A vespa-da-galha-do-eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle**. Em: VILELA E. F. & ZUCCHI R. A. *Pragas Introduzidas no Brasil*. Insetos e ácaros. Piracicaba: Fealq.1: 50: 835–844, 2015a.

WILCKEN, C. F. et al. **Percevejo-bronzeado-do-eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro & Dellapé**. In: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R. A. (eds.) *Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros*. Fealq, Piracicaba, SP, Brazil, pp. 898–908, 2015 b.

WILCKEN, C.F. **Biological Control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) in Eucalyptus Plantations in Brazil: An Update**.

Proceedings of the 5th International Symposium on Biological Control of Arthropods (eds. P.G. MASON, D.R. GILLESPIE; C. VINCENT), CABI, pp. 105-107, 2017.

WILLIAMS, J. E.; BROOKER, I. H. ***Eucalyptus: an introduction***. In: Eucalypt ecology: individuals to ecosystems. WILLIAMS, J.; WOINARSKI, J. (Eds). Cambridge University Press, 1997. p.1-15.

WINGFIELD, M. J. et al. Eucalypt pests and diseases: Growing threats to plantation productivity. **Southern Forests**, v. 70, p. 139-144, 2008.

WYLLIE, F. R.; SPEIGHT, M. R. **Insect pests in Tropical Forestry**. Second edition. CABI. 365 pp., 2012.