

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

BIOECOLOGIA DE *Leptocybe invasa* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E
OCORRÊNCIA DE PARASITÓIDES EM *Eucalyptus* spp. (MYRTACEAE)

Marina Rauber
Bióloga/UNISC

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Área de Concentração Sanidade Vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil
Julho de 2018

CIP - Catalogação na Publicação

Rauber, Marina

BIOECOLOGIA DE *Leptocybe* invasora (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E OCORRÊNCIA DE PARASITOIDES EM *Eucalyptus* spp. (MYRTACEAE) / Marina Rauber. -- 2018. 82 f.

Orientadora: Simone Mundstock Jahnke.

Coorientador: Andreas Köhler.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Vespa-da-galha. 2. Eucalipto. 3. Ocorrência de parasitoides. 4. Resistência hospedeira. 5. Histologia e morfologia das galhas. I. Jahnke, Simone Mundstock, orient. II. Köhler, Andreas, coorient. III. Título.

MARINA RAUBER
Bióloga - UNISC

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM FITOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 02.07.2018
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 09.10.2018
Por

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE
Orientadora - PPG Fitotecnia
UFRGS

CHRISTIAN BREDEMEIER
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

ANDREAS KÖHLER
Coorientador - UNISC

JOSUÉ SANT'ANA
PPG Fitotecnia/UFRGS

JORGE ANTONIO DE FARIAS
PPG em Engenharia Florestal
UFSM

JAIR PUTZKE
PPG em Ciências Biológicas
UNIPAMPA

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de
Agronomia

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Miguel e Ana, ao meu irmão, Maurício, à Aline e ao meu afilhado, Pedro, por todo o apoio e motivação nesses dois anos de mestrado.

Ao meu namorado, Carlos, por todo carinho, compreensão, apoio e confiança transmitida desde o início dos estudos e que compartilha comigo planos para o futuro. Muito obrigada, meu amor!

Às minhas amigas, Mônia, Natany, Lilian, Bibiana e Luísa, por todo apoio e compreensão nos momentos em que precisei me ausentar para que pudesse dar o melhor de mim durante esta etapa.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Simone Mundstock Jahnke, por toda atenção, auxílio e ensinamentos repassados durante o mestrado.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Andreas Köhler, por me acolher novamente como orientada, por toda ajuda prática e teórica durante a realização do trabalho e, principalmente, por me incentivar a dar continuidade aos meus estudos, aqui ou no exterior. Muito obrigada por tudo!

Aos professores do Departamento de Fitossanidade: Josué Sant'Ana e Luiza Rodrigues Redaelli, que me transmitiram conhecimentos na área da entomologia ao longo das disciplinas.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida e à empresa *Japan Tobacco International* (JTI), pelo suporte financeiro ao projeto.

Um agradecimento especial ao Cleder Pezzini que, além de grande amigo, me ajudou com toda a parte de estatística, análise dos dados e na correção ortográfica deste

trabalho e que também me acalmou quando a vontade era de jogar tudo para o alto.
Muito obrigada!

Aos amigos e colegas do Laboratório de Entomologia da UNISC: Daiana Oliveira, Kássia Zilch, Eduarda Bender, Grazielle Stumm, Samuel Silva, Matheus Halmenschlager, Danieli Breunig, Humberto Lange, José Lemes, Régim Bohn, Mayara Wisniewski, Karine Erath, Paulo Küster, Kethlyn Vojahn, Thais Silva e Sheila Puntel.

Aos colegas do Laboratório de Controle Biológico da UFRGS: Viviane Pretz, Gisele da Silva e Roberta Rohr. Muito obrigada por todo apoio.

Aos ex-colegas de graduação, que ao longo do tempo se tornaram grandes amigos: Daniela Costa, Francine Closs, Eduarda Naujorks e Jonas John. Vocês foram mais do que especiais e com certeza vou levar vocês comigo para sempre.

Por fim, a todos aqueles que de alguma forma me auxiliaram e ajudaram para que este trabalho fosse concluído.

BIOECOLOGIA DE *Leptocybe invasa* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E OCORRÊNCIA DE PARASITOIDES EM *Eucalyptus* spp. (MYRTACEAE)¹

Autora: Marina Rauber

Orientadora: Simone Mundstock Jahnke

Coorientador: Andreas Köhler

RESUMO

No Brasil, o eucalipto foi introduzido para fins comerciais e, com ele, foram incorporadas pragas como *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae), que induz a formação de galhas. Considerando a rápida expansão da vespa pelo país, estudos sobre fatores que restringem sua ocorrência tornam-se essenciais. A seleção de materiais genéticos de eucalipto menos suscetíveis ao desenvolvimento das galhas, bem como o emprego de inimigos naturais, são apontados como estratégias de controle. Os objetivos do trabalho foram: (a) registrar a ocorrência de *L. invasa* e de parasitoides em municípios do Rio Grande do Sul; (b) avaliar a incidência de galhas em espécies, clones e híbridos de eucalipto, indicando resistência à *L. invasa* e o desenvolvimento das mudas na pós-infestação e (c) distinguir diferenças anatômicas externas e internas de galhas em materiais genéticos de eucalipto. As galhas foram armazenadas para registrar-se o número médio de *L. invasa* emergidos por município. Em viveiro experimental, verificou-se a presença de galhas nas folhas e pecíolos de 10 materiais genéticos de eucalipto e mediu-se a altura e circunferência das plantas para acompanhar o efeito no desenvolvimento pós-infestação. Através de cortes histológicos das folhas, avaliou-se a anatomia dos tecidos e os aspectos externos das galhas de cada material genético. Em todos os municípios amostrados constatou-se a presença de *L. invasa*. A quantidade de indivíduos nos municípios pode estar relacionada a fatores como altitude, temperatura, densidade do plantio e entre os materiais genéticos. Foi registrada a primeira ocorrência de *Megastigmus brasiliensis* (Hymenoptera: Torymidae) no Rio Grande do Sul. A análise dos componentes principais indicou Clone Grancam 1277 como o material genético de maior infestação por galhas, entretanto com maior crescimento em circunferência. Os clones 469 PA e 1528 não apresentaram galhas e mantiveram o crescimento adequado. Além disso, Clone Grancam 1277 apresentou menor distância histológica da epiderme ao floema. Nos materiais genéticos em que essa distância foi superior, apesar de se verificarem os sinais de oviposição, não ocorreu o desenvolvimento das galhas. Observou-se que, quanto menor a distância para a vespa inserir o ovipositor no floema da planta, mais acessível será para o ovo se desenvolver e ocorrer a formação das galhas. Mecanismos de resistência de espécies de eucalipto à *L. invasa* podem ocorrer devido a diferentes fatores, como ambientais e genéticos.

¹Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (82 f.) Julho, 2018.

BIOECOLOGY OF *Leptocybe invasa* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) AND PARASITOID OCCURRENCE IN *Eucalyptus* spp. (MYRTACEAE) ¹

Author: Marina Rauber

Advisor: Simone Mundstock Jahnke

Co-advisor: Andreas Köhler

ABSTRACT

In Brazil, eucalyptus was introduced for commercial purposes and with it were incorporated pests such as *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae), which induces the galls formation. Considering the wasp fast expansion in the country, studies on factors that restrict its occurrence become essential. The selection of eucalyptus genetic materials less susceptible to galls development, as well as the use of natural enemies, are pointed out as control strategies. The study objectives were: (a) to record the occurrence of *L. invasa* and parasitoids in cities of Rio Grande do Sul; (b) to evaluate the galls incidence in eucalypt species, clones and hybrids, indicating resistance to *L. invasa* and the seedlings post-infestation development and (c) to distinguish external and internal galls anatomical differences in eucalyptus genetic materials. Galls were stored to record the *L. invasa* mean number emerged per city. In experimental nursery, the galls presence on leaf and petioles was verified in 10 eucalyptus genetic materials and the plants height and circumference were measured to monitor the effect on post-infestation development. Through leaves histological sections, the tissues anatomy and the galls external aspects of each genetic material were evaluated. In all cities sampled, the presence of *L. invasa* was observed. The individuals number in cities may be related to factors such as altitude, temperature, planting density and among eucalyptus genetic materials. The first occurrence of *Megastigmus brasiliensis* (Hymenoptera: Torymidae) in Rio Grande do Sul was recorded. The components principal analysis indicated Clone Grancam 1277 as the genetic material with the highest infestation by galls, but with higher growth in circumference. Clones 469 PA and 1528 did not show galls and maintained adequate growth. In addition, Clone Grancam 1277 showed a lower histological distance from the epidermis to phloem. In the genetic materials which this distance was superior, despite the oviposition signs, the galls development did not occur. It was observed that the smaller the distance for the wasp to insert the ovipositor into plant phloem, the more accessible it will be for the egg to develop and the galls formation will occur. Mechanisms of eucalyptus species resistance to *L. invasa* can occur due to different factors, such as environmental and genetic.

¹Master dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (82 p.) July, 2018.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Eucalipto.....	4
2.1.1 Fins energéticos do eucalipto e a relação com a cultura do tabaco.....	6
2.1.2 Insetos-praga exóticos do eucalipto.....	7
2.2 <i>Leptocybe invasa</i>	9
2.2.1 Distribuição geográfica de <i>L. invasa</i>	11
2.2.2 Caracterização das galhas e danos.....	12
2.2.3 Medidas de controle.....	14
2.3 Referências bibliográficas.....	16
3 ARTIGO 1 – Incidência de <i>Leptocybe invasa</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em <i>Eucalyptus</i> spp. e primeiro registro da ocorrência do parasitoide <i>Megastigmus brasiliensis</i> (Hymenoptera: Torymidae) no Rio Grande do Sul.....	20
Resumo.....	21
Abstract.....	22
Introdução.....	22
Material e métodos.....	24
Resultados e discussão.....	26
Conclusão.....	28
Agradecimentos.....	29
Declaration of Conflicting Interests.....	29
Referências.....	29
4 ARTIGO 2 – Infestação de <i>Leptocybe invasa</i> (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes materiais genéticos de <i>Eucalyptus</i> spp.....	35
Resumo.....	36

	Página
Abstract.....	36
Introdução.....	37
Material e métodos.....	39
Resultados e discussão.....	41
Conclusões.....	48
Referências Bibliográficas.....	49
5 ARTIGO 3 – Análises morfológicas e histológicas de diferentes materiais genéticos de eucalipto sadios e com galhas de <i>Leptocybe invasa</i> (Hymenoptera: Eulophidae).....	52
Resumo.....	53
Abstract.....	54
Agradecimentos.....	55
Introdução.....	55
Material e métodos.....	57
Resultados e discussão.....	59
Conclusões.....	62
Bibliografia.....	63
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
7 APÊNDICE.....	71

RELAÇÃO DE TABELAS

ARTIGO 1	Página
1. Valores médios de altitude e temperatura anual e no verão de cada município.....	32
2. Número de caixas com ramos de eucalipto com galhas, número de insetos emergidos e quantidade média (\pm Erro Padrão) de <i>Leptocybe invasa</i> emergidos por município, no Rio Grande do Sul, Brasil.....	32
ARTIGO 2	
1. Espécies, clones e híbridos de eucalipto nos dois plantios experimentais e abreviatura adotada para o gráfico de resultados.....	39
2. Escala de infestação por galhas registradas nos materiais genéticos de eucalipto. Nulo: 0 galha / folha; Baixo: 1 ou 2 galhas / folha; Moderado: 3 ou 4 galhas / folha; Alto: 5 ou mais galhas / folha (n= 32).....	42
3. Número médio de folhas por ramo e de folhas e pecíolos com galhas (\pm Desvio Padrão) dos materiais genéticos de eucalipto (n= 32).....	44
4. Número médio de galhas presentes nas folhas e nos pecíolos (\pm Desvio Padrão) dos materiais genéticos de eucalipto (n= 32).....	44
ARTIGO 3	
1. Escala de infestação de galhas por folha e relação da média (\pm Erro Padrão) da menor distância abaxial da epiderme ao floema da folha em cada material genético de eucalipto.....	67

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1. Fêmea de <i>Leptocybe invasa</i>	10
2. Galhas de <i>Leptocybe invasa</i> em <i>Eucalyptus</i> spp.....	14
ARTIGO 1	
1. Mapa do Rio Grande do Sul, indicando os municípios onde foram coletados os ramos de eucalipto com galhas e a gradiente de infestação segundo a legenda.....	33
2. Análise dos componentes principais comparando a quantidade de <i>L. invasa</i> entre os municípios e a altitude e a temperatura local. Componente principal 1: quantidade de <i>L. invasa</i> coletada nos municípios. Componente principal 2: altitude dos municípios e média de temperatura anual e no verão.....	34
ARTIGO 2	
1. Frequência de galhas nas folhas dos materiais genéticos de eucalipto. O nível de danos está indicado em um conceito de 0 a 5. 0: 0 galha / folha; 1: 1 galha / folha; 2: 2 galhas / folha; 3: 3 galhas / folha; 4: 4 galhas / folha; 5: 5 ou mais galhas / folha (n= 32).....	43
2. Média da taxa de crescimento (\pm Erro Padrão) em circunferência dos materiais genéticos de eucalipto (n= 32).....	45
3. Análise dos componentes principais. Componente principal 1: quantidade de galhas presentes nas folhas dos materiais genéticos de eucalipto. Componente principal 2: taxa de crescimento em altura e em circunferência. VER: Verão; OUT: Outono; INV: Inverno; PRIM: Primavera (n= 32).....	47

1. Corte histológico da nervura central de uma amostra de eucalipto sem galhas, indicando a localização dos tecidos observados. A e B: menor distância histológica abaxial da epiderme ao floema..... 66
2. Escala de infestação por galhas nos diferentes materiais genéticos de eucalipto, comparando a média (\pm Erro Padrão) da menor distância abaxial da epiderme ao floema. A linha demarcada indica a distância de 0,18 mm, a partir da qual não ocorre o desenvolvimento das galhas..... 67
3. Estágios de desenvolvimento das galhas nas folhas de eucalipto. a: Sinais de oviposição; b: Estágio 1; c: Corte histológico do estágio 1 em Clone Grancam 1277; d: Estágio 2; e: Corte histológico do estágio 2 em *E. grandis*; f: Estágio 3; g: Corte histológico do estágio 3 em Clone Grancam 1277; h: Estágio 4; i: Corte histológico do estágio 4 em *E. grandis*; j: Estágio 5; l: Corte histológico do estágio 5 em *E. grandis*; m: Orifícios de saída das vespas. Escala: (c, e, g, i, l) 1 mm; (b, d, f, h, j e m) 1 cm; (a) 2 cm..... 68

1 INTRODUÇÃO

Espécies de *Eucalyptus* L'Hér (Myrtaceae) são árvores altas e resistentes, nativas da Austrália que foram introduzidas em diversos países do mundo, sendo um dos gêneros mais importantes em termos de silvicultura. Devido a sua fácil adaptação a diferentes condições climáticas, o eucalipto pôde ser plantado em todas as regiões do Brasil, em larga escala, sendo considerado o gênero mais utilizado em reflorestamentos no país.

Apesar dos impactos ambientais que a introdução de espécies exóticas pode trazer, no Brasil o plantio de eucalipto tem grande importância por ser utilizado para produção de madeira, combustível e papel e também destaca-se pelo interesse energético, seja para a produção de carvão e / ou queima direta, o que ocorre, por exemplo, para a cura do tabaco.

O tabaco *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae), cultivado com fins comerciais pelo setor da fumicultura mundial, necessita passar por um processo de secagem das folhas. Para tanto, a energia calorífica, obtida pela combustão da lenha, se apresenta como melhor alternativa para o aquecimento do ar e com menor custo de aquisição.

Com a introdução da monocultura do eucalipto no Brasil, ocorreu o registro de muitas pragas e doenças associadas às espécies plantadas. Muitas destas são originárias da Austrália, o mesmo país de origem da planta e, em território brasileiro, encontraram

um ambiente favorável ao seu desenvolvimento, sem competição e predação e com alimento em abundância, o que propiciou sua rápida explosão e dispersão populacional.

Muitos insetos-praga exóticos são conhecidos por atacar a cultura do eucalipto no Brasil, como por exemplo, a vespa-da-galha *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle, 2004 (Hymenoptera: Eulophidae).

Leptocybe invasa, uma microvespa galícola de origem australiana, deposita seus ovos na epiderme de folhas ou pecíolo de mudas de eucalipto, o que induz a formação de galhas. Essas galhas modificam os tecidos da planta hospedeira para fornecer abrigo e alimento à larva do inseto que se desenvolve no seu interior. As árvores atacadas pela vespa-da-galha apresentam redução da circulação de seiva e conseqüente enrugamento foliar e desfolhamento, o que causa crescimento atrofiado e, eventualmente, a morte da planta.

A espécie tem grande capacidade de dispersão e expansão, podendo atingir grandes dimensões geográficas em pouco tempo, ocorrendo em mais de 30 países do mundo. No Brasil, teve seu primeiro registro no Estado da Bahia em 2008 e, no ano de 2013, seu ataque à mudas de eucalipto já era observado em 14 estados do país.

Para controlar *L. invasa*, várias táticas de controle têm sido estudadas, visto que o controle químico não é considerado efetivo, pois como a vespa completa seu desenvolvimento dentro da galha, estas acabam se tornando uma proteção contra o agente químico externo. Mesmo com a proteção proporcionada pela galha, parasitoides específicos conseguem localizar e parasitar seus hospedeiros no interior das mesmas. Em razão disso, o controle biológico com inimigos naturais da espécie, bem como o uso de materiais genéticos de eucalipto resistentes ou menos suscetíveis ao ataque e desenvolvimento das galhas, são as alternativas mais eficientes.

Ainda não existe um método de manejo bem-sucedido no Brasil, uma vez que estudos sobre a biologia e controladores da espécie estão em desenvolvimento. Portanto, a fim de conter a crescente disseminação da vespa-da-galha no país, são recomendadas medidas como de evitar o transporte de mudas de eucalipto de regiões onde o ataque por *L. invasa* já foi registrado.

Buscando aprofundar os conhecimentos a respeito da vespa-da-galha, nas condições ambientais do Rio Grande do Sul, este trabalho objetivou: (a) registrar a ocorrência de *L. invasa* em diferentes municípios do estado, bem como constatar a presença de parasitoides em campo; (b) avaliar a incidência de galhas em diferentes espécies, clones e híbridos de eucalipto, indicando resistência à *L. invasa* e o desenvolvimento das mudas na pós-infestação e, (c) distinguir diferenças anatômicas externas e internas de galhas em diferentes materiais genéticos de eucalipto.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Eucalipto

O gênero *Eucalyptus* compreende mais de 800 espécies. Seu nome deriva do Grego (*eĩ*, “bem” + *kalyptós*, “coberto”), que significa “bem coberto” ou “bem oculto”, referindo-se ao opérculo que esconde o botão floral (Figueiredo *et al.*, 2013). Ainda, os autores descrevem o eucalipto como árvores altas e resistentes, de odor agradável e balsâmico, dos quais as folhas juvenis e as adultas possuem morfologia diversa.

Originário da Austrália, Tasmânia e outras ilhas da Oceania, tem sido introduzido, desde a década de 1850, em diversos países do mundo, sendo um dos gêneros mais importantes em termos de silvicultura (Foelkel, 2005). Presume-se que na América do Sul, incluindo o Brasil, o eucalipto chegou por volta do ano de 1823 (Vecchio *et al.*, 2016).

Foi no ano de 1904 que Edmundo Navarro de Andrade, considerado pai da silvicultura no Brasil, contratado pela Companhia Paulista de Estradas de Ferro de São Paulo, desenvolveu o projeto de criação de hortos florestais ao longo das ferrovias (Obeidi *et al.*, 2016). Segundo os autores, Navarro estava incumbido de pesquisar sobre qual espécie florestal melhor atenderia à necessidade de reflorestamento das áreas desmatadas, na construção da ferrovia e de fornecimento de madeira e carvão necessários para sua manutenção. Começou, então, a plantar eucaliptos de espécies

diversas e, assim, iniciaram-se as técnicas de melhoramento genético e cruzamento entre espécies de eucalipto.

Presume-se que as primeiras espécies plantadas em território brasileiro tenham sido *Eucalyptus globulus* Labill. e *Eucalyptus gigantea* Hook.f., que no início foram cultivadas com fins decorativos, como quebra-ventos e para obtenção de óleo essencial. Entretanto, em outros países já se destacavam como produtoras de madeira, devido ao seu rápido crescimento e rusticidade (Foelkel, 2005). Isso levou Navarro a considerá-las como potencial recurso madeireiro para a Companhia Paulista de Estradas de Ferro, que necessitava de lenha, dormentes, postes e moirões (Obeidi *et al.*, 2016).

Tratando-se de espécies que se adaptam a diferentes condições climáticas, o eucalipto é plantado em praticamente todas as regiões do Brasil, sendo a árvore mais utilizada em reflorestamentos no país, seguida por *Pinus* spp. L. (Pinaceae), principalmente na Região Sul (Torres *et al.*, 2016). Apesar de críticas de ambientalistas e pesquisadores que avaliam os impactos ambientais da monocultura do eucalipto, como ressecamento do solo e uma maior exposição à erosão, diminuição da biodiversidade e transformação da paisagem, a produção se destaca no país (Cardoso & Pires, 2009).

Baseando-se na sustentabilidade para suprir a demanda da madeira, que aumentou devido ao crescimento das indústrias dos setores de papel, celulose e siderúrgica, a monocultura do eucalipto conquistou grande importância científica e aumento em sua qualidade e produtividade por meio de técnicas de melhoramento genético, tratos silviculturais e manejo florestal, promovendo a notoriedade no Brasil (Silva *et al.*, 2014).

Em território brasileiro, o eucalipto abrange cerca de cinco milhões de hectares, a maior área plantada com florestas comerciais, sendo cultivado para produção de

celulose, carvão e madeira, para o controle de erosão em áreas degradadas, como quebra-ventos em outras culturas, como fornecedoras de néctar e pólen para a apicultura, para artes e artesanato e também tem importância como fonte de óleos essenciais na medicina e cosmética (Vecchio *et al.*, 2016). De acordo com Torres *et al.* (2016), o reflorestamento de eucalipto no Brasil também foi introduzido com propósitos energéticos.

2.1.1 Fins energéticos do eucalipto e a relação com a cultura do tabaco

Dentre os usos do eucalipto, destaca-se o energético, seja para a produção de carvão e / ou queima direta, o que ocorre, por exemplo, na cura das folhas do tabaco (Greff *et al.*, 2015).

O tabaco *N. tabacum* é uma planta cultivada com fins comerciais no mundo todo (Moraes & Köhler, 2012). O Brasil é o maior exportador de tabaco e o segundo maior produtor mundial dessa cultura, sendo o estado do Rio Grande do Sul correspondente à maior área plantada e o município de Santa Cruz do Sul, no Vale do Rio Pardo, um dos maiores polos produtivos (Dorfey, 2011). A cultura apresenta grande importância econômica, devido ao elevado valor comercial e à capacidade de empregar grande número de pessoas, tanto no cultivo como na industrialização (Specht *et al.*, 2006).

As propriedades rurais apresentam uma área média de 18,5 ha, da qual cerca de três são utilizados para o plantio do tabaco (AFUBRA, 2010). A renda do cultivo representa expressivos 53,1% da receita anual e cerca de 70% da renda familiar de pequenos produtores no sul do Brasil. Essa proporção de retorno econômico explica por que 162 mil produtores mantêm-se permanentes à atividade (SINDITABACO, 2011) e também o fato de que nenhuma outra cultura alcança tamanho resultado lucrativo em pequenas propriedades (Carvalho *et al.*, 2014).

Após a colheita, o tabaco passa por um processo de secagem, na qual as folhas são acondicionadas em unidades de cura ou galpões, dependendo do material genético, onde sofrem um processo de cura, que é caracterizado pela perda de água, mudança de cor e uma série de transformações bioquímicas. Posteriormente, é transferido para galpões e paióis onde é classificado, enfardado e armazenado (Souza Cruz, 2010).

O processo de secagem das folhas necessita de energia térmica para o aquecimento do ar e, para tanto, as grandes unidades armazenadoras à lenha têm se apresentado como melhor alternativa e com menor custo de aquisição (Greff *et al.*, 2015). Segundo os autores, o emprego de espécies exóticas de rápido crescimento, especialmente de *Eucalyptus* spp., designou-se como alternativa para fornecimento de lenha.

Além disso, as florestas plantadas para fins energéticos são vistas como provedoras de matéria-prima de origem florestal indispensáveis para atender a demanda de energia calorífica (Greff *et al.*, 2015). No setor da fumicultura, que utiliza a lenha para a cura do tabaco, existe forte incentivo por parte das empresas e sindicatos para alcançar a autossuficiência energética, sendo o *Eucalyptus* spp. a principal fonte (Dessbesell, 2014).

2.1.2 Insetos-praga exóticos do eucalipto

O aumento das viagens e do comércio mundial está levando a um considerável crescimento do número de organismos invasores alcançando novos ambientes. Especialmente na plantação florestal, isto representa uma grande ameaça para a sustentabilidade das espécies plantadas (Dittrich-Schröder *et al.*, 2014).

Com a introdução da monocultura do eucalipto no Brasil, ocorreu o registro de muitas pragas e doenças associadas às espécies plantadas que, em sua maioria

originárias da Austrália, país de origem da monocultura, encontraram no Brasil um ambiente favorável ao seu desenvolvimento, sem competição e predação, causando prejuízos às florestas plantadas (Silva *et al.*, 2014). Além disso, os autores esclarecem que, no caso de insetos, o estabelecimento de grandes monocultivos, com alimento em abundância, aliado a ausência de inimigos naturais e condições ambientais favoráveis, propicia uma rápida explosão populacional e dispersão do organismo invasor.

As principais pragas exóticas do eucalipto no Brasil são: o psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore, 1964 (Hemiptera: Aphalaridae), o percevejo-bronzeado *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae) e a vespa-da-galha *Leptocybe invasa* (Garlet *et al.*, 2013). Além destas, tem-se o registro de *Ctenarytaina spatulata* Taylor, 1997 (Hemiptera: Psyllidae), *Epichrysocharis burwelli* Schauff, 2000 (Hymenoptera: Eulophidae) (Schühli *et al.*, 2016) e *Costalimaita ferruginea* Fabricius, 1801 (Coleoptera: Chrysomelidae), também exóticas (Dias, 2018).

O psilídeo-da-concha, que teve seu primeiro registro para o Brasil em 2003, provoca danos como secamento dos ponteiros, redução da atividade fotossintética e do crescimento da planta e favorecimento à ocorrência de patógenos e a fumagina (Silva *et al.*, 2013). O percevejo-bronzeado, registrado no país em 2008, causa branqueamento nas folhas, seguido por secagem e queda dessas folhas (Wilcken *et al.*, 2010).

A vespa-da-galha, constatada no país também em 2008, é apontada como uma espécie de grande severidade e, embora com apontamentos frequentes em climas quentes, também foi registrada em regiões em que ocorrem épocas de frio, como no Estado do Rio Grande do Sul (Garlet *et al.*, 2013). Seus sintomas caracterizam-se pela formação de galhas que bloqueiam o fluxo normal da seiva com consequente enrugamento foliar, o que causa queda prematura das folhas comprometidas,

superbrotamento dos ponteiros, crescimento atrofiado da planta, perda de vigor e, em casos severos, pode leva-la à morte (Poretz *et al.*, 2015; Wilcken *et al.*, 2015; Souza, 2016).

Danos causados por insetos nas plantas são variáveis, sendo observados em todos os órgãos, incluindo folhas, pecíolos e ramos. O prejuízo quantitativo e qualitativo depende da espécie e densidade populacional da praga, estágio de desenvolvimento, estrutura vegetal atacada e duração do ataque (Masson, 2015).

2.2 Leptocybe invasa

Várias espécies de himenópteros de Eulophidae Westwood (Chalcidoidea) são importantes por induzirem galhas complexas e evoluídas em plantas específicas, sendo que as fêmeas utilizam o ovipositor para dispor seus ovos na planta hospedeira, induzindo a formação de galhas, dentro da qual a larva se desenvolve (Masson, 2015). Ainda, conforme o autor, essa região modificada forma um conjunto de células especializadas e nutritivas, que circundam a câmara larval e fornecem abrigo e alimento ao galhador.

Leptocybe invasa é uma microvespa galícola, as fêmeas adultas medem de 1,1 a 1,4 mm de comprimento (Figura 1) e os machos de 1,21 a 1,37 mm de comprimento (Souza, 2016). Possuem cabeça e corpo de coloração marrom, com brilho metálico azul-esverdeado. As coxas anteriores são amarelas, enquanto que as medianas e posteriores têm a mesma coloração do corpo e, em todas as pernas, apenas no último segmento tarsal distingue-se a cor marrom (Mendel *et al.*, 2004). É uma praga invasora nas plantações de eucalipto em todo o mundo (Zheng *et al.*, 2018).



FIGURA 1. Fêmea de *Leptocybe invasa*. Fonte: Vitanza (2017).

A fêmea de *L. invasa* tem capacidade de depositar de 80 a 100 ovos nas plantas hospedeiras, exclusivamente espécies de *Eucalyptus* (Souza, 2016). Os ovos, de formato oval, brancos e semitransparentes, segundo o autor, são depositados na epiderme de partes específicas da planta em desenvolvimento, como nervura central, pecíolo e ramos jovens, onde se formarão as galhas.

Os adultos emergem de orifícios feitos nas galhas (Souza, 2016). Em experimentos laboratoriais, Wilcken *et al.* (2015) observaram que os adultos sobrevivem em média 6,5 dias com alimento, constituídos de mel e água, e três dias sem alimento. Fêmeas emergem com maior frequência e reproduzem-se por partenogênese telítoca, em que os ovos não fertilizados darão origem a outras fêmeas. Machos do inseto, mesmo raros, foram registrados na China, Índia e Turquia (Masson, 2015).

Após a emergência, as fêmeas voam diretamente para a planta hospedeira e depositam seus ovos na epiderme, onde o processo de formação das galhas se reinicia, com as deformações tornando-se visíveis a partir de algumas semanas. *Leptocybe invasa* pode produzir em média duas ou três gerações sobrepostas anualmente (Santos, 2009).

O período de desenvolvimento, da oviposição ao adulto, é variável; a postura da fêmea ocorre em temporada quente e o ciclo de desenvolvimento é lento no inverno

(Cegatta & Villegas, 2013). Estudos feitos em países de clima temperado indicam que o ciclo total é de aproximadamente 130 dias, diferentemente de regiões de clima tropical, em que o período varia de 46 a 59 dias (Masson, 2015).

2.2.1 Distribuição geográfica de *L. invasa*

Originária da Austrália, *L. invasa* foi registrada pela primeira vez no Oriente Médio em 2000, com grande capacidade de expansão e dispersão, espalhando-se rapidamente pelos demais países da Ásia, África e Europa, em torno da bacia Mediterrânea (Santos, 2009). Em pouco tempo alcançou grandes dimensões geográficas, ocorrendo em mais de 30 países, incluindo o Brasil (Silva *et al.*, 2014).

Na América do Sul, foi registrada pela primeira vez no Brasil, em 2008 na Bahia e, posteriormente, na Argentina (2009) e no Uruguai (2011) (Garlet *et al.*, 2013), sendo considerada uma das pragas do eucalipto de mais rápida disseminação no mundo (Silva *et al.*, 2014). Seu surgimento no Brasil possivelmente ocorreu devido à visita de uma comitiva de asiáticos com mudas contaminadas na Bahia, em agosto de 2007 (Wilcken & Berti Filho, 2008).

Devido à sua rápida dispersão, em 2013 o ataque às mudas de *Eucalyptus* spp. já era observado em 14 estados brasileiros, incluindo a região sul (Cegatta & Villegas, 2013). A forma de introdução da vespa no Rio Grande do Sul, no município de São Borja, é desconhecida e, hipoteticamente, pode ter sido causada pelo uso de mudas contaminadas ou através do transporte do inseto por correntes de ar provenientes da Argentina, que faz fronteira com o Rio Grande do Sul (Garlet *et al.*, 2013).

Garlet *et al.* (2013) destacam ainda a severidade do ataque observado e o fato dessa espécie ser encontrada também em regiões com clima frio, visto que os relatos anteriores no Brasil foram principalmente nas regiões quentes do sudeste e nordeste,

demonstrando a facilidade de adaptação de *L. invasa* ao frio, aumentando, assim, as regiões onde pode causar expressivo dano econômico.

O sucesso da dispersão de *L. invasa*, semelhante a outras pragas do eucalipto, pode ser ocasionado pela falta de inimigos naturais nas regiões invadidas, bem como a abundância do eucalipto em plantios de larga escala. No seu local de origem, existem inimigos naturais da espécie que podem restringir a sua propagação a uma determinada extensão (Santos, 2009).

2.2.2 Caracterização das galhas e danos

Galhas são quaisquer desvios no modelo de crescimento normal da planta, na qual o tecido modificado supre o agente causal (Masson, 2015). Além disso, segundo o autor, o inseto formador da galha é específico em selecionar seu hospedeiro, órgão ou tecido, e também tem controle sobre a forma, estrutura, cor e fisiologia da galha que a planta produz. De acordo com Wilcken *et al.* (2015), as galhas ocorrem por hiperplasia e hipertrofia celular, em que sucede uma multiplicação de células, causada por alguma substância injetada pela fêmea, o que bloqueia o fluxo normal da folha, interrompe o crescimento das mudas e compromete a produtividade.

No interior das galhas são formadas câmaras individuais ou coletivas, onde o inseto se desenvolve até o estágio adulto. As galhas constituem meios de nutrição e proteção aos seus indutores, face às flutuações microclimáticas e também aos seus inimigos naturais (Santos, 2009). No entanto, para Masson (2015), as galhas não representam espaços livres dos inimigos naturais, uma vez que parasitoides específicos podem localizar e parasitar seus hospedeiros no interior destas.

O ataque às espécies de eucalipto ocorre dentro da primeira e segunda semana de brotação e *L. invasa* é capaz de ovipositar do nível do solo até 32,7 metros de altura,

podendo formar até 50 galhas numa única folha, com potencial para destruir brotos inteiros (Wilcken *et al.*, 2015).

Representa uma ameaça à produção de mudas e às culturas de eucalipto, pois seus danos prejudicam o crescimento das plantas e podem causar a mortalidade do povoamento florestal (Ortiz *et al.*, 2017). Esta característica chama a atenção não apenas pela severidade do dano causado às plantas, mas principalmente pelo potencial de dano econômico gerado em extensas áreas com plantios de eucalipto (Silva *et al.*, 2014).

Destaca-se, ainda, que os danos mais severos de *L. invasa* são encontrados principalmente em plantios jovens das espécies *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden e *Eucalyptus tereticornis* Sm. (Yousuf, *et al.*, 2017).

Todos os órgãos da planta podem ser atacados, desde que estejam em um estágio específico de desenvolvimento para a formação da galha, mas em média as folhas são o local de preferência (Masson, 2015). Ainda, segundo o autor, esse estágio está relacionado com o tipo de tecido encontrado no órgão, proveniente de regiões meristemáticas, que deve apresentar a capacidade de responder aos estímulos do indutor.

Mendel *et al.* (2004) descreveram cinco estágios de desenvolvimento das galhas de *L. invasa*. O primeiro inicia-se com a oviposição, que leva a transformação do tecido vegetal a um aspecto de cortiça no ponto de inserção do ovo, podendo já no final desse estágio se reconhecer as galhas esféricas com coloração verde brilhante; o segundo é quando as galhas alcançam seu tamanho máximo, variando de 2,2 a 3,2 mm; no terceiro, a coloração verde na superfície da galha tende a mudar para rosa, mantendo seu brilho típico, o qual é perdido no quarto estágio, quando a coloração muda para

vermelho, variando de claro a escuro e opaco em ambos os casos; o último foi estabelecido com a emergência das vespas, onde os orifícios de saída passam a apresentar uma coloração marrom quando ocorrem nas folhas e marrom avermelhada quando no pecíolo (Figura 2).

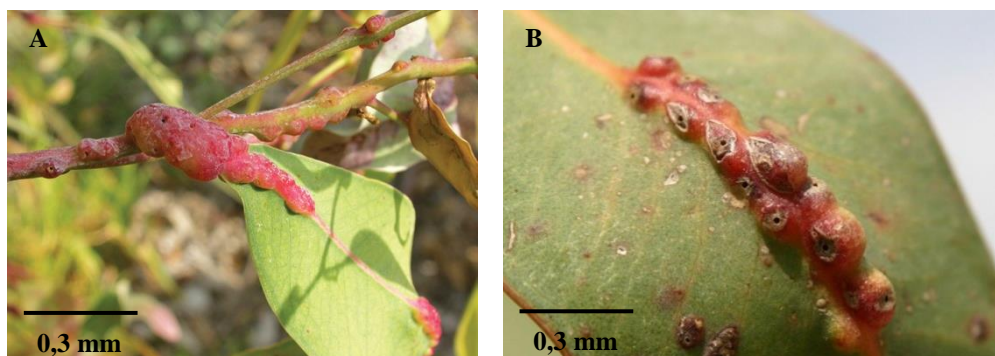


FIGURA 2. A e B: Galhas de *Leptocybe invasa* em *Eucalyptus* spp. Fonte: Bush (2016).

2.2.3 Medidas de controle

Várias estratégias têm sido estudadas para controlar *L. invasa* (Dittrich-Schröder *et al.*, 2014). Como a espécie completa o seu desenvolvimento dentro da galha, medidas de controle químico não são consideradas eficazes, além de haver o risco de interferir no controle biológico aplicado a outras pragas do eucalipto (Cegatta & Villegas, 2013). Portanto, as principais estratégias para o manejo dessa praga incluem a seleção de espécies de eucalipto resistentes ou menos suscetíveis a formação de galhas, bem como o controle biológico, através de himenópteros parasitoides encontrados constantemente nos levantamentos populacionais de *L. invasa* nos diferentes países onde foi introduzida (Garlet *et al.*, 2013).

Embora existam riscos na introdução de inimigos naturais exóticos para o controle biológico, pois podem apresentar-se como pragas de outras culturas, este é

considerado uma alternativa eficaz devido aos seus benefícios ambientais, uma vez que não prejudica os inimigos naturais de outras pragas (Dittrich-Schröder *et al.*, 2014). Souza (2016) relata que, para *L. invasa*, já se encontram várias espécies de parasitoides em estudo, mas ainda não existem meios de controle disponíveis no Brasil.

Na Austrália, foram relatados os himenópteros ectoparasitoides *Quadrastichus mendeli* Kim & La Salle, 2008 (Hymenoptera: Eulophidae), *Selitrichodes kryceri* Kim & La Salle, 2008 (Hymenoptera: Eulophidae) e espécies de *Megastigmus* Dalman, 1820 (Hymenoptera: Torymidae) atuando como inimigos naturais de *L. invasa* (Kelly *et al.*, 2012). As porcentagens de parasitismos estão relacionadas com o estágio de desenvolvimento da galha, podendo chegar a 73% para *Q. mendeli* e 52% para *S. kryceri* (Silva *et al.*, 2014).

Na tentativa de encontrar agentes de controle biológico adicionais para *L. invasa*, amostras de eucalipto com grande incidência de galhas foram coletadas na Austrália em 2010 e os artrópodes emergentes foram identificados para determinar parasitoides em potencial (Kelly *et al.*, 2012). Os autores registraram fêmeas de *Selitrichodes neseri* Kelly & La Salle, 2012 (Hymenoptera: Eulophidae) com comportamento de oviposição em galhas de *L. invasa*. Em outro estudo realizado na África do Sul, *S. neseri* foi encontrado parasitando larvas de *L. invasa* e, no Brasil, *Megastigmus brasiliensis* Doğanlar, Zache & Wilcken, 2013 foi descrita associada às galhas em *E. camaldulensis* (Masson, 2015).

Da mesma forma que o controle biológico, o melhoramento genético é uma estratégia favorável para a redução do potencial estrago induzido pelas pragas invasoras, o qual consiste na seleção de materiais genéticos resistentes ou tolerantes aos inimigos das plantas (Santos, 2009). Para o autor, esta característica de resistência /

tolerância é hereditária e, no entanto, específica para um dado organismo, podendo a planta vir a ser atacada por outros organismos aos quais é suscetível.

Espécies e clones de eucalipto apresentam diferentes níveis de resistência ou suscetibilidade ao ataque e desenvolvimento das galhas (Eskiviski et al., 2018). Estes níveis, segundo Wilcken et al. (2015), podem estar relacionados a fatores ambientais e, principalmente, a fatores genéticos. A suscetibilidade pode ser fortemente influenciada por fatores ambientais locais e, portanto, são necessários mais testes de suscetibilidade em locais onde os eucaliptos são cultivados (Eskiviski et al., 2018).

No Brasil os métodos de controle de *L. invasa* estão em estudo, o que torna este inseto um importante alvo de trabalhos de pesquisa com ênfase em sua biologia e táticas de controle (Silva et al., 2014). A recomendação, segundo o autor, enquanto não existir meios de controle biológico bem-sucedidos no Brasil, é de evitar o transporte de mudas de regiões onde o ataque da vespa-da-galha já foi identificado e buscar a implantação de materiais genéticos resistentes para plantios em áreas acometidas.

2.3 Referências bibliográficas

AFUBRA – ASSOCIAÇÃO DOS FUMICULTORES DO BRASIL. **Fumicultura Brasil e perfil do fumicultor**. 2010. Disponível em: < http://www.afubra.com.br/principal.php?acao=conteúdo&u_id=1&i_id=1&menus_site_id=23/>. Acesso em: 18 abr. 2016.

CARDOSO, R. S. B.; PIRES, L. V. Algumas considerações sobre a monocultura do eucalipto e suas implicações. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GEOGRAFIA AGRÁRIA, 4., 2009, Niterói. **Anais ...** Niterói: UFF, 2009. p. 114-182.

CARVALHO, C. et al. **Anuário brasileiro do tabaco**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2014. 128 p.

CEGATTA, I. R.; VILLEGAS, C. Eficiência de dois inseticidas sistêmicos no controle de *Leptocybe invasa* em mudas de *Eucalyptus camaldulensis*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 215-221, 2013.

- DESSBESELL, L. **Viabilidade econômica do aproveitamento energético da serragem na bacia hidrográfica do Rio Pardo**. 2014. 77 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.
- DIAS, T. K. R. et al. The beetle *Costalimaita ferruginea* (Coleoptera: Chysomelidae) in *Eucalyptus* plantations in transition area of Amazon and Cerrado Biomes. **Brazilian Journal Biological**, São Carlos, v. 78, n. 1, p. 47-52, 2018.
- DITTRICH-SCHRÖDER, G. et al. Biology and host preference of *Selitrichodes neseri*: A potential biological control agent of the Eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa*. **Biological Control**, Dordrecht, v. 78, n. 1, p. 33-41, 2014.
- DORFEY, C. **Himenópteros parasitoides associados a cultivos orgânico e convencional de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) em Santa Cruz do Sul, RS, Brasil**. 2011. 127 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.
- ESKIVISKI, E. R. et al. Susceptibility of eucalyptus species and hybrids to the gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in northern Misiones, Argentina. **Forest Systems**, Madrid, v. 27, n. 1, p. 1-4, 2018.
- FIGUEIREDO, C. A. et al. Óleos essenciais de espécies de *Eucalyptus*. **Agrotec: Revista Técnico-Científica Agrícola**, Porto, v. 8, n. 1, p. 96-100, 2013.
- FOELKEL, C. E. B. Eucalipto no Brasil, história de pioneirismo. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 2, n. 4, p. 66-69, 2005.
- GARLET, J. et al. *Leptocybe invasa* em *Eucalyptus* sp. no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, n. 2, p. 215-221, 2013.
- GREFF, H. P.; FARIAS, J. A.; SCHULTE, T. F. Mercado de lenha voltado ao beneficiamento de grãos e tabaco na região central do Rio Grande do Sul. **Caderno de Pesquisa, Série Biologia**, Santa Cruz do Sul, v. 27, n. 1, p. 22-37, 2015.
- KELLY, K. et al. *Selitrichodes neseri* n. sp., a new parasitoid of the eucalyptus gall wasp *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). **Zootaxa**, Auckland, v. 3333, n. 1, p. 50-57, 2012.
- MASSON, M. V. **Dinâmica populacional e manejo de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em plantações de eucalipto**. 2015. 92 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2015.
- MENDEL, Z. et al. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. **Australian Journal of Entomology**, Singapore, v. 43, n. 1, p. 101–113, 2004.

- MORAES, J.; KÖHLER, A. Flutuação populacional e distribuição espacial de *Diabrotica speciosa* Gemar, 1824 (Coleoptera: Chrysomelidae) em cultivo orgânico de tabaco. **Bioikos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 87-94, 2012.
- OBEIDI, B. M.; D'AGOSTINI, S.; VITIELLO, N. Edmundo Navarro de Andrade e a eucaliptocultura no Brasil. **Páginas do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 1-6, 2016.
- ORTIZ, A. G. et al. Registro de *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) em eucalipto no estado de Mato Grosso, Brasil. **Espacios**, Caracas, v. 38, n. 28, p. 14-18, 2017.
- PURETZ, B. O. et al. Distribuição da vespa da galha do eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 35, n. 83, p. 329-334, 2015.
- SANTOS, M. S. R. **Estudo da susceptibilidade de *Eucalyptus* sp. a *Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli* (Hymenoptera: Eulophidae)**. 2009. 77 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.
- SCHÜHLI, G. S. E et al. A review of the introduced forest pests in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 5, p. 397-406, 2016.
- SILVA, A. L. et al. Dinâmica populacional de *Glycaspis brimblecombei* e inimigos naturais em *Eucalyptus* spp., Cuiabá-MT. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 20, n. 1, p. 80-90, 2013.
- SILVA, L. H. et al. *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae): nova praga do eucalipto no Brasil. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 10, n. 18, p. 2083-2098, 2014.
- SINDITABACO – SINDICATO DA INDÚSTRIA DO TABACO. **Perfis do Produtor e da Indústria**. 2011. Disponível em: <<http://sinditabaco.com.br/sobre-o-setor/exportacoes/>>. Acesso em: 18 ago. 2016.
- SOUZA, A. R. **Aspectos biológicos de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) e de seu parasitoide *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) e levantamento de vespas galhadoras em florestas de eucalipto na Austrália**. 2016. 85 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.
- SOUZA CRUZ. **Fases da plantação de fumo**. 2010. Disponível em: <http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_7UUVF24.nsf/vwPagesWebLive/DO7V9KLC?opendocument>. Acesso em: 18 ago. 2016.
- SPECHT, A. et al. Ocorrência de *Rachiplusia nu* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) em fumo (*Nicotiana tabacum* L.) no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 5, p. 705-706, 2006.

TORRES, P. M. A. et al. Caracterização físico-mecânica da madeira jovem de *Eucalyptus camaldulensis* para aplicação na arquitetura rural. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 23, n. 1, p. 109-117, 2016.

VECCHIO, M. G.; LOGANES, C.; MINTO, C. Beneficial and healthy properties of *Eucalyptus* plants: a great potential use. **The Open Agriculture Journal**, Sharjah, v. 10, n. 1, p. 52-57, 2016.

WILCKEN, C. F.; BERTI FILHO, E. **Alerta**: Vespa-da-galha do eucalipto (*Leptocybe invasa*) (Hymenoptera: Eulophidae): nova praga de florestas de eucalipto no Brasil. Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais, Programa de Proteção Florestal - PROTEF / IPEF. Botucatu, SP, 2008. 11 p. Disponível em: <<http://www.ipef.br/protacao/alerta-leptocybe.invasa.pdf>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

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**, Poznan, v. 50, n. 2, p. 201-205, 2010.

WILCKEN, C. F. et al. Vespa-da-galha-do-eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle. In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros**. Piracicaba: Fealq, 2015. p. 898-908.

YOUSUF, M. et al. An overview on outbreak of Eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in Northern India. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, Rohini, v. 5, n. 5, p. 469-501, 2017.

ZHENG, X. L. et al. Reproductive biology of *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 47, n. 1, p. 19-25, 2018.

3 ARTIGO 1

**Incidência de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em *Eucalyptus* spp. e
primeiro registro da ocorrência do parasitoide *Megastigmus brasiliensis*
(Hymenoptera: Torymidae) no Rio Grande do Sul***

* Artigo configurado segundo as normas da Revista Ciência Rural

Incidência de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em *Eucalyptus* spp. e primeiro registro da ocorrência do parasitoide *Megastigmus brasiliensis*

(Hymenoptera: Torymidae) no Rio Grande do Sul

Incidence of *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in *Eucalyptus* spp. and first record of *Megastigmus brasiliensis* (Hymenoptera: Torymidae) occurrence in Rio Grande do Sul

Marina Rauber^{I*} Simone Mundstock Jahnke^I Andreas Köhler^{II}

RESUMO

Leptocybe invasa (Hymenoptera: Eulophidae) induz a formação de galhas em eucalipto e foi introduzida no Brasil, causando danos à cultura. Os objetivos do trabalho foram registrar a distribuição e a incidência de *L. invasa* na região central do Estado do Rio Grande do Sul, em municípios com produção de tabaco e constatar a presença de parasitoides. Ramos de eucalipto com galhas foram coletados em 12 municípios do estado para registrar-se o número médio de *L. invasa* e de parasitoides emergidos em cada. Em todos os municípios amostrados houve presença da vespa-da-galha. O número médio de *L. invasa*/g foi de 6,5. Santa Cruz do Sul e Venâncio Aires apresentaram maior média de indivíduos. Esse resultado pode estar relacionado a fatores como altitude, temperatura, densidade do plantio e entre os materiais genéticos de eucalipto. Este trabalho apresenta o primeiro registro da ocorrência de *Megastigmus brasiliensis* (Hymenoptera: Torymidae) para o Rio Grande do Sul.

Palavras-chave: Vespa-da-galha, eucalipto, parasitoide, Brasil.

^{I*}Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: marina_rauber@hotmail.com. Autor para correspondência.

^{II}Departamento de Biologia, Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), 96815-900, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

ABSTRACT

Leptocybe invasa (Hymenoptera: Eulophidae) induces the galls formation in eucalyptus and was introduced in Brazil, causing damage to the culture. The study objectives were to record the distribution and incidence of *L. invasa* in the central region of Rio Grande do Sul State, in cities with tobacco production and to verify the parasitoids presence. Eucalyptus branches with galls were collected in 12 cities of the state to record the average number of *L. invasa* and parasitoids emerged in each. In all cities sampled there was the wasp presence. The mean number of *L. invasa*/g was 6.5. Santa Cruz do Sul and Venâncio Aires had the highest individuals average number. This result may be related to factors such as altitude, temperature, planting density and among eucalyptus genetic materials. This work presents the first record of *Megastigmus brasiliensis* (Hymenoptera: Torymidae) occurrence in Rio Grande do Sul.

Key words: Blue gum chalcid, eucalyptus, parasitoid, Brazil.

INTRODUÇÃO

Espécies de *Eucalyptus* L'Hér (Myrtaceae), nativas da Austrália, foram introduzidas em diversos países, inclusive o Brasil, devido a sua fácil adaptação a diferentes condições climáticas, sendo utilizadas principalmente como fonte madeireira (LARCOMBE et al., 2016). Apresentam-se também como alternativa para produção de calor no processo de secagem do tabaco *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae) (GREFF, FARIAS & SCHULTE, 2015). Desta forma, municípios com produção de tabaco na região central do Rio Grande Sul têm tido áreas cada vez maiores ocupadas com florestas de eucalipto para este fim (DESSBESELL, 2014).

Leptocybe invasa Fisher & La Salle, 2004 (Hymenoptera: Eulophidae), conhecida como vespa-da-galha do eucalipto, é uma microvespa australiana introduzida

acidentalmente com o eucalipto. Esta vespa tem grande capacidade de expansão e dispersão e espalhou-se rapidamente pelo mundo todo (DITTRICH-SCHRÖDER, et al., 2014). No Brasil, foi primeiramente encontrada em mudas de eucalipto na Bahia em 2008 e, posteriormente, registrada em outros estados brasileiros, incluindo o Rio Grande do Sul em 2013, mostrando a facilidade de adaptação da espécie a regiões com clima frio, podendo aumentar os locais onde causa prejuízos (GARLET et al., 2013).

Leptocybe invasa causa danos econômicos sérios aos plantios de eucalipto, induzindo a formação de galhas nas folhas e ramos de mudas e em brotos novos de árvores adultas (WILCKEN et al. 2015). As galhas constituem meios de nutrição e proteção à larva do inseto que desenvolve no seu interior até o estágio adulto (SANTOS, 2009). Afetam o crescimento da planta atacada podendo, em casos severos, levá-la à morte, chamando a atenção principalmente pelo dano econômico gerado em extensas áreas de florestas de eucalipto (SILVA et al., 2014).

As galhas, embora sejam estruturas que protegem os insetos, não representam espaços livres dos inimigos naturais, uma vez que parasitoides específicos podem localizar e parasitar seus hospedeiros no interior destas (GARLET et al., 2013). Como parasitoides de *L. invasa* são citados os australianos *Quadrastichus mendeli* Kim & La Salle, 2008 (Hymenoptera: Eulophidae), *Selitrichodes kryceri* Kim & La Salle, 2008 (Hymenoptera: Eulophidae), *S. neseri* Kelly & La Salle, 2012 e *Megastigmus brasiliensis* Doğanlar, Zaché & Wilcken, 2013 (Hymenoptera: Torymidae) (SILVA et al., 2014), este último encontrado também no Brasil (DOĞANLAR, ZACHÉ & WILCKEN, 2013).

Considerando a introdução da vespa-da-galha do eucalipto no Rio Grande do Sul e sua capacidade de rápida expansão, monitoramentos destas populações tornam-se essenciais. A busca por conhecimentos dos aspectos da biologia da praga e a sua

distribuição, bem como de parasitoides, são fundamentais para se alcançar medidas de controle eficientes (SILVA et al. 2014). Dessa forma, o trabalho teve como objetivos registrar a distribuição e a incidência de *L. invasa* na região central do Rio Grande do Sul, em municípios com produção de tabaco e constatar a presença de parasitoides.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas nos seguintes municípios com produção de tabaco na região central do Estado do Rio Grande do Sul: Arroio do Tigre, Candelária, General Câmara, Novo Cabrais, Paraíso do Sul, Passa Sete, Santa Cruz do Sul, Segredo, Sobradinho, Vale do Sol, Venâncio Aires e Vera Cruz. Foi feita uma coleta ao ano em cada um dos municípios entre os meses de dezembro de 2015 e março de 2016 e no mesmo período nos anos seguintes (2016-2017).

Plantações de eucalipto em cada localidade foram vistoriadas procurando-se a presença de galhas de *L. invasa*. Ramos de eucalipto com galhas foram coletados e acondicionados em sacos plásticos, identificados por data e local e levados ao Laboratório de Entomologia da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC). Não foram registradas a fenologia das plantas ou as espécies de *Eucalyptus* coletadas.

Em laboratório, os ramos de eucalipto com folhas atacadas foram dispostos em caixas de plástico de 11 litros e vedadas com tecido. As caixas foram pesadas em balança comercial para obter-se o peso médio de material vegetal coletado em cada município. A quantidade de caixas foi diferente entre os municípios de acordo com o volume de material coletado e o peso médio variou entre 180 e 200 g/caixa.

O material foi mantido no laboratório em condições controladas de temperatura ($28 \pm 2^\circ\text{C}$). Após dois meses, as caixas foram abertas para triagem e identificação do material coletado. Os himenópteros foram triados em nível de família pela chave de

identificação de RAFAEL et al. (2012). Indivíduos de *L. invasa* foram identificados através das descrições de MENDEL et al. (2004) e com base em amostras da espécie armazenadas na Coleção Entomológica de Santa Cruz do Sul (CESC). O parasitoide *M. brasiliensis*, foi identificado com o auxílio do trabalho de DOĞANLAR, ZACHÉ & WILCKEN (2013).

Análise dos dados

Para obter-se a média de indivíduos emergidos em cada município, o número médio de *L. invasa* emergidos nos municípios foi transformado (Log+1) e testado quanto à normalidade por Shapiro-Wilk. Posteriormente foram submetidos a uma ANOVA e analisados pelo teste Duncan. As análises foram efetuadas pelo *software* BioEstat 5.0 (*AnalystSoft*) (AYRES et al., 2007).

Os dados médios da emergência das vespas por caixa foram utilizados para confeccionar um mapa dos municípios da região central do Rio Grande do Sul em que foi feita a coleta dos ramos com galhas, indicando a média de emergência de *L. invasa*, na forma de um gradiente de infestação, destacando-se ainda a presença de *M. brasiliensis*. O mapa foi feito pelo *software* de design gráfico CoreIDRAW.

Além disso, foi possível a confecção de um gráfico da Análise dos Componentes Principais (ACP), comparando a quantidade de indivíduos coletada em cada município e a altitude e a temperatura local através do *software* SAS versão 9.0 (*Statistical Analysis System*) (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Para cada município, os valores de altitude foram obtidos por meio do *website* Google Earth (GOOGLE, 2018) e a temperatura média anual e no verão adquirida da base de dados do *website* climate-data.org (CLIMATE DATA, 2018) (Tabela 1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todos os municípios amostrados houve presença da vespa-da-galha. O número médio \pm EP de *L. invasa*/g foi de $6,5 \pm 2,4$. Comparando a média de indivíduos emergidos nas caixas, os municípios Santa Cruz do Sul e Venâncio Aires tiveram uma média de *L. invasa*/g significativamente maior que os outros (Tabela 2).

Santa Cruz do Sul apresentou a maior média de emergência de *L. invasa*/g, ficando próxima apenas de Venâncio Aires. Apesar de apresentar-se como o segundo município com maior média de emergência da vespa-da-galha, Venâncio Aires não foi significativamente diferente de Candelária, General Câmara e Novo Cabrais que, por outro lado, não diferiram do restante dos municípios, com média menor.

Foi possível observar diferenças na quantidade de indivíduos entre os municípios através de um gradiente de infestação, que variou entre valores menores que 60 e maiores que 260 (Figura 1).

A ocorrência de *L. invasa* no Rio Grande do Sul já havia sido registrada por GARLET et al. (2013). PURETZ et al. (2015) assinalam que a espécie pode persistir tanto em estados com temperaturas mais amenas ($18-23^{\circ}\text{C}$) quanto os com temperaturas mais elevadas ($22-30^{\circ}\text{C}$). As diferenças nas infestações, entretanto, podem ocorrer devido às diferentes condições microclimáticas dos municípios onde foram feitas as coletas de galhas. Este fato pôde ser evidenciado através do gráfico da análise dos componentes principais, em que foi comparada a quantidade de indivíduos nos municípios amostrados com a altitude e a temperatura local (Figura 2).

Santa Cruz do Sul e Venâncio Aires se distanciaram dos demais municípios no gráfico por apresentar quantidade de indivíduos, altitude e temperatura semelhantes. Passa Sete diferiu de todos os municípios por apresentar grande altitude e baixa quantidade de indivíduos. Arroio do Tigre, Segredo e Sobradinho assemelham-se pela

altitude e quantidade de indivíduos, assim como Candelária, General Câmara e Novo Cabrais. Paraíso do Sul, Vale do Sol e Vera Cruz, que além do baixo número de *L. invasa* emergidos, estão localizados em altitudes similares.

Além das condições microclimáticas da região, os fatores que podem ter influência para a diferenciação do número médio de emergência de *L. invasa*/g entre os municípios são a coleta de ramos de diferentes espécies e clones de eucalipto e a densidade das árvores no local.

Apesar de não se ter identificado as espécies de eucalipto avaliadas, sabe-se que em Santa Cruz do Sul e Venâncio Aires as coletas de ramos foram feitas em plantios de *Eucalyptus saligna* Sm., *Eucalyptus grandis* W. Hill. e *Eucalyptus camaldulensis* Dehn., diferente dos outros municípios em que os ramos foram coletados em árvores isoladas. GARLET et al. (2013) afirmaram que estas três espécies são consideradas suscetíveis ao ataque de *L. invasa* e ao desenvolvimento das galhas e que os danos mais severos são encontrados principalmente em plantios jovens destas e de seus híbridos. Além disso, em maiores extensões também é esperada maior abundância da vespa-da-galha, já que há mais recurso disponível e acessível, fato registrado por PURETZ et al. (2015) em levantamento da vespa-da-galha em diferentes estados brasileiros.

Houve somente uma espécie de parasitoide da vespa-da-galha registrada, pertencente a Torymidae. Este trabalho apresenta o primeiro registro da ocorrência de *M. brasiliensis* no Estado do Rio Grande do Sul.

No Brasil, a espécie foi anteriormente registrada apenas no município de Paulínia em São Paulo, a partir de coletas de folhas e ramos de eucalipto com galhas e descrita por DOĞANLAR, ZACHÉ & WILCKEN (2013) como um microhimenóptero de aproximadamente dois milímetros, de cor amarela com manchas escuras. A fêmea

difere do macho pela presença do ovipositor de cor preta e do corpo de cor amarelo escuro, enquanto que o macho apresenta uma coloração amarela pálida.

O parasitoide emergiu das amostras coletadas em três dos municípios avaliados, Arroio do Tigre, com 25 indivíduos, Santa Cruz do Sul, com 14 e General Câmara, com somente um indivíduo (Figura 1). Pelo fato de *M. brasiliensis* ocorrer tanto nos dois extremos da região central do Rio Grande do Sul, em Arroio do Tigre e em General Câmara, quanto em um município no centro, Santa Cruz do Sul, presume-se que o parasitoide ocorra em toda a região central. Contudo, neste trabalho não foi registrado nos outros municípios, por possível baixa incidência do mesmo na época da amostragem.

Estudos sobre a bioecologia, distribuição e abundância do parasitoide no Brasil, bem como de suas adaptações às diferentes condições climáticas e sua eficiência como controlador biológico de *L. invasa* no país serão necessários anteriormente a um projeto de manejo biológico utilizando *M. brasiliensis* como alternativa.

CONCLUSÃO

Registrou-se a distribuição e a incidência da vespa-da-galha do eucalipto em diferentes municípios da região central do Rio Grande do Sul. O maior número de *L. invasa*/g foi registrado em municípios cuja área de amostragem era exclusivamente de plantio de eucalipto e também com altitudes baixas e temperaturas médias anuais em torno de 23°C. Este trabalho traz o primeiro registro da ocorrência de *M. brasiliensis* no Rio Grande do Sul como parasitoide de *L. invasa*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao doutorando Cleder Pezzini, pela ajuda nas coletas do material em campo e nas análises estatísticas e à empresa *Japan Tobacco International* (JTI), pelo fornecimento dos materiais de coleta. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida ao primeiro autor e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida à segunda autora (306435/2015-2).

DECLARATION OF CONFLICTING INTERESTS

We have no conflict of interest to declare.

REFERÊNCIAS

AYRES M. et al. BioEstat 5.0 aplicações estatísticas na área da ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá/CNPq, 324 p. 2007.

DESSBESELL, L. **Viabilidade econômica do aproveitamento energético da serragem na Bacia Hidrográfica do Rio Pardo**. 2014. 77f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria.

DITTRICH-SCHRÖDER, G. et al. Biology and host preference of *Selitrichodes neseri*: A potential biological control agent of the Eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa*. **Biological Control**, v.78, p.33-41, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964414001431>>. Acesso em: 13 jul. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.07.004>.

DOĞANLAR, M. et al. A New Species of *Megastigmus* (Hymenoptera: Torymidae: Megastigminae) from Brazil. **Florida Entomologist**, v.96, p.196-199, 2013. Disponível

em: <<http://www.bioone.org/doi/pdf/10.1653/024.096.0126>>. Acesso em: 21 abr. 2017.

DOI: <https://doi.org/10.1653/024.096.0126>.

GARLET, J. et al. *Leptocybe invasa* em *Eucalyptus* sp. no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.25, p.215-221, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782013001200009>.

Acesso em: 23 mar. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782013001200009>.

GREFF, H.P. et al. Mercado de lenha voltado ao beneficiamento de grãos e tabaco na região central do Rio Grande do Sul. **Caderno de Pesquisa, Série Biologia**, v.27, p.22-37, 2015. Disponível em:

<<https://online.unisc.br/seer/index.php/cadpesquisa/article/download/5785/4284>>.

Acesso em: 25 jun. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.17058/cp.v27i1.5785>.

LARCOMBE, M.J. et al. Managing Australia's eucalypt gene pools: assessing the risk of exotic gene flow. **The Royal Society of Victoria**, v.128, p.25-39, 2016. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20163303548>>. Acesso em: 31 de mai. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1071/RS16003>.

MENDEL, Z. et al. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. **Australian Journal of Entomology**, v.43, p.101–113, 2004. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1440-6055.2003.00393.x>>. Acesso em: 21 jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.2003.00393.x>

PURETZ, B.O. et al. Distribuição da vespa da galha do eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v.35, p.329-334, 2015. Disponível em: <https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/776>. Acesso em: 25 de jan. 2016. DOI: <https://doi.org/10.4336/2015.pfb.35.83.776> .

RAFAEL, J.A. et al. **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos, 2012. 1v.

SANTOS, M.S.R. dos. **Estudo da susceptibilidade de *Eucalyptus* sp. a *Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli* (Hymenoptera: Eulophidae)**. 2009. 77f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal e Recursos Naturais) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.

SAS Institute. SAS language and procedures: usage. Version 9.0. [CD-ROM]. Cary: SAS Institute; 2002.

SILVA, L.H. da. et al. ***Leptocybe invasa*** (Hymenoptera: Eulophidae): nova praga do eucalipto no Brasil. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.10, p.2083-2098, 2014. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014a/AGRARIAS/Leptocybe.pdf>>. Acesso em: 13 de jan. 2016.

Vespa-da-galha-do-eucalipto, ***Leptocybe invasa*** Fisher & La Salle. In: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Pragas introduzidas no Brasil: Insetos e Ácaros**. Piracicaba: Fealq, 2015. Cap.50, p. 898-908.

Tabela 1 – Valores médios de altitude e temperatura anual e no verão de cada município.

Município	Altitude (m)	Temperatura anual (°C)	Temperatura verão (°C)
Arroio do Tigre	383	18,6	22,5
Candelária	45	19,7	23,5
General Câmara	24	19,6	23,4
Novo Cabrais	55	19,6	23,4
Paraíso do Sul	46	19,6	23,4
Passa Sete	560	17,4	21,2
Santa Cruz do Sul	102	19,6	23,3
Segredo	380	18,6	22,5
Sobradinho	373	18,5	22,4
Vale do Sol	68	19,5	23,3
Venâncio Aires	37	19,7	23,4
Vera Cruz	41	19,6	23,4

Tabela 2 – Número de caixas com ramos de eucalipto com galhas, número de insetos emergidos e quantidade média (\pm Erro Padrão) de *Leptocybe invasa* emergidos por município, no Rio Grande do Sul, Brasil.

Município	Número de caixas	Número de insetos	Média \pm EP
Arroio do Tigre	10	441	44,1 \pm 14,0 c
Candelária	7	1.258	179,7 \pm 68,0 bc
General Câmara	7	1.619	231,2 \pm 116,6 bc
Novo Cabrais	4	786	196,5 \pm 78,3 bc
Paraíso do Sul	5	43	8,6 \pm 4,9 c
Passa Sete	3	60	20,0 \pm 9,6 c
Santa Cruz do Sul	6	4.489	748,2 \pm 200,9 a
Segredo	5	404	80,8 \pm 75,3 c
Sobradinho	4	147	36,7 \pm 12,6 c
Vale do Sol	6	557	92,8 \pm 32,3 c
Venâncio Aires	6	3.639	606,5 \pm 163,7 ab
Vera Cruz	4	323	80,8 \pm 23,1 c

Letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

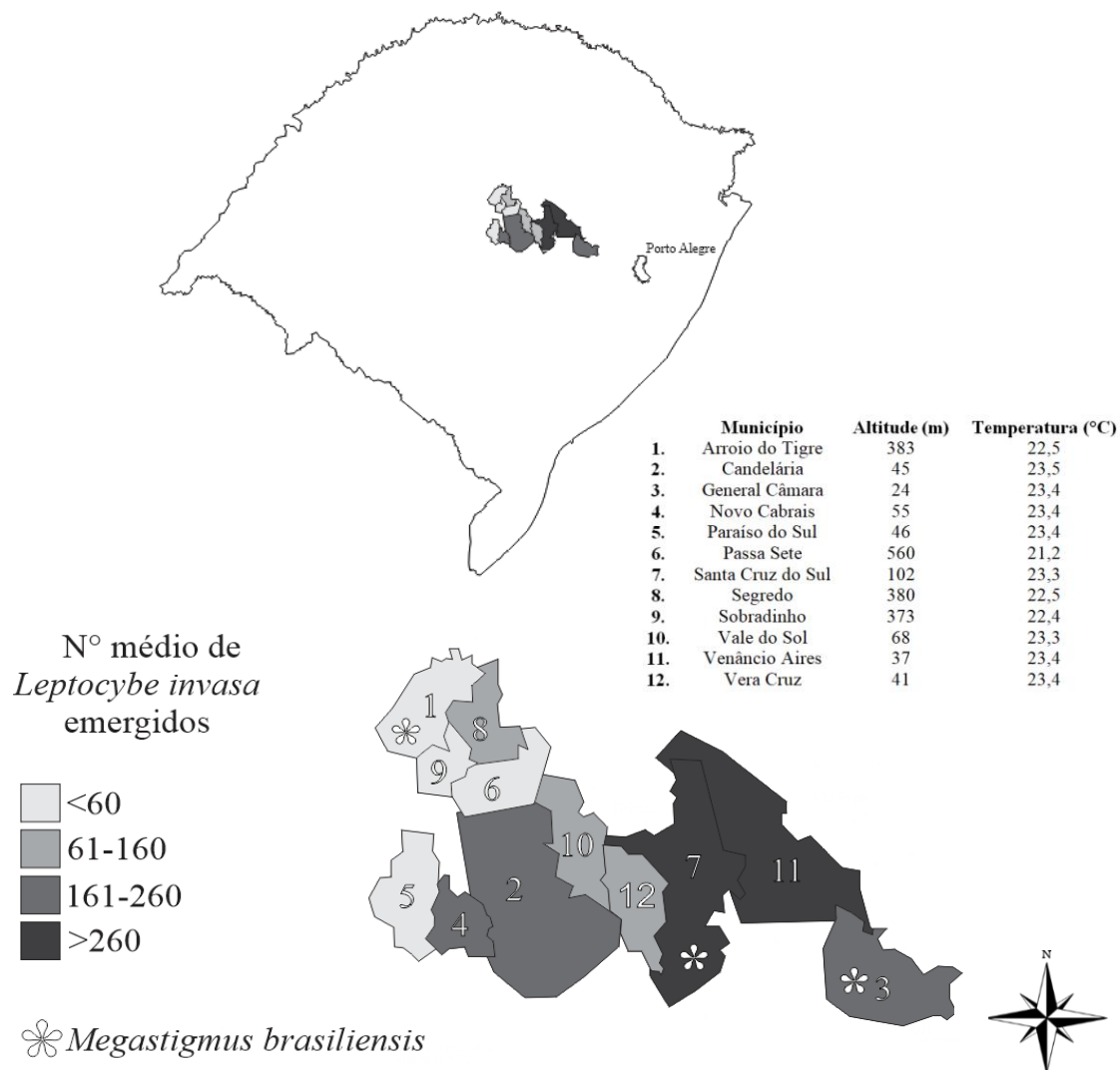


Figura 1 – Mapa do Rio Grande do Sul, indicando os municípios onde foram coletados os ramos de eucalipto com galhas e a gradiente de infestação segundo a legenda.

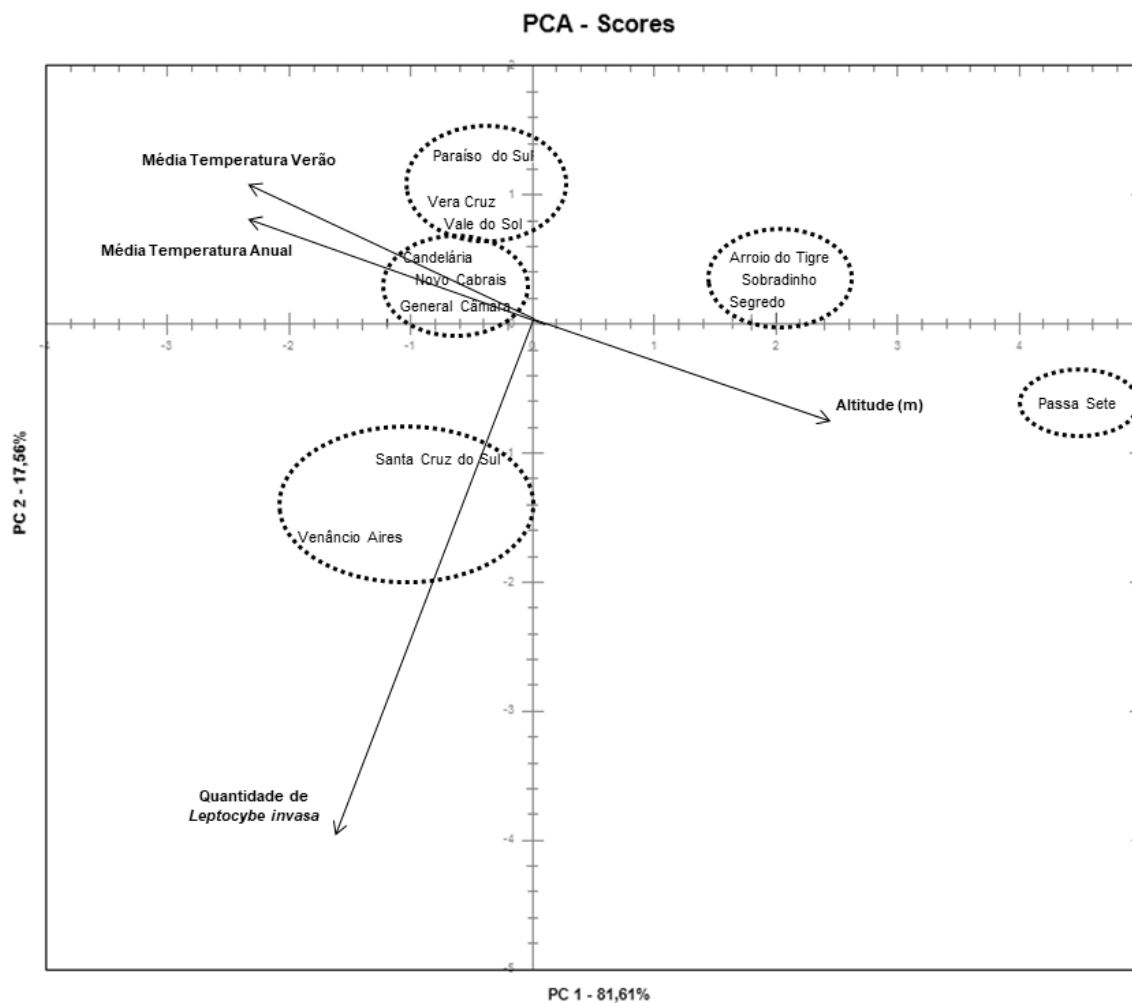


Figura 2 – Análise dos componentes principais comparando a quantidade de *L. invasa* entre os municípios e a altitude e a temperatura local. Componente principal 1: quantidade de *L. invasa* coletada nos municípios. Componente principal 2: altitude dos municípios e média de temperatura anual e no verão.

4 ARTIGO 2

**Infestação de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes
materiais genéticos de *Eucalyptus* spp.***

* Artigo configurado segundo as normas da Revista Floresta e Ambiente

Infestação de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes materiais genéticos de *Eucalyptus* spp.

RESUMO

A ocorrência de *Leptocybe invasa* (vespa-da-galha) em *Eucalyptus* spp. foi registrada no Brasil em 2008. Considerando sua rápida expansão pelo país, estudos sobre fatores que restringem sua ocorrência tornam-se essenciais. O objetivo deste trabalho foi comparar o nível de infestação por galhas em diferentes espécies, clones e híbridos de eucalipto e o desenvolvimento das mudas na pós-infestação. Avaliou-se a presença de galhas nas folhas e pecíolos de 10 materiais genéticos de eucalipto em dois viveiros experimentais. A altura e a circunferência das plantas de cada material genético foi medida para acompanhar o seu desenvolvimento na pós-infestação. A análise dos componentes principais indicou Clone Grancam 1277 como o material genético com maior infestação por galhas, entretanto com maior crescimento em circunferência. Os clones 469 PA e 1528 não apresentaram galhas e mantiveram bom desenvolvimento. Mecanismos de resistência de *Eucalyptus* spp. à *L. invasa* podem ocorrer devido a diferentes fatores, como genéticos.

Palavras-chave: Vespa-da-galha; Rio Grande do Sul; Resistência.

Infestation of *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in different varieties of *Eucalyptus* spp.

ABSTRACT

Leptocybe invasa (eucalyptus gall wasp) occurrence in *Eucalyptus* spp. was registered in Brazil in 2008. Considering its rapid expansion around the country, studies on factors

that restrict its occurrence become essential. The objective of this work was to compare the galls infestation level in different eucalyptus species, clones and hybrids, and the seedlings post-infestation development. The presence of galls in the leaves and petioles of 10 different eucalyptus genetic materials were evaluated in two experimental nurseries. The height and circumference of each genetic material was measured to monitor the effect on post-infestation development. The components principal analysis indicated Clone Grancam 1277 as the genetic material with the highest infestation by galls, but with greater growth in circumference. Clones 469 PA and 1528 did not show galls and maintained good development. Mechanisms of *Eucalyptus* spp. resistance to *L. invasa* may occur due to different factors, such as genetic.

Keywords: Eucalyptus gall wasp; Rio Grande do Sul; Resistance.

INTRODUÇÃO

Para obtenção de plantios florestais que atendam às exigências do mercado, é importante considerar, além do desenvolvimento de novas técnicas de controle de insetos-praga, os aspectos genéticos, uma vez que a floresta é o resultado das ações e interações de seus genótipos com o ambiente (Rosado et al., 2009). A disciplina de melhoramento genético tem contribuído para o melhoramento florestal, possibilitando, através de critérios de seleção do material genético ideal para a utilização de uma determinada madeira, obter ganhos máximos para características desejáveis (Golle et al., 2009).

O gênero *Eucalyptus* L'Hér (Myrtaceae) é composto por mais de 800 espécies nativas da Austrália que, devido a sua fácil adaptação a diferentes condições climáticas, foram introduzidas em diversos países do mundo (Larcombe et al., 2016). No Brasil a planta é utilizada na silvicultura, produzindo madeira, combustível e celulose, devido ao

alto valor comercial e ao rápido crescimento das espécies resistentes (Torres et al., 2016; Vecchio et al., 2016).

Entretanto, muitas perdas são registradas na cultura do eucalipto, decorrentes principalmente do ataque de insetos-praga que, na sua maioria, foram introduzidos juntamente com a cultura e tiveram grande dispersão no país (Silva et al., 2014). Essas pragas são também decorrentes do aumento do transporte de pessoas e produtos, o que propicia um crescimento expressivo no número de espécies invasoras em novos ambientes, como é o caso da vespa-da-galha do eucalipto *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle, 2004 (Hymenoptera: Eulophidae) (Wilcken et al., 2015).

Leptocybe invasa é uma microvespa galícola que, através da oviposição endofítica, induz a formação de galhas nas folhas e pecíolos de algumas espécies e clones de eucalipto (Guerreiro et al., 2015). No interior das galhas, são formadas câmaras de alimento e proteção, onde a larva da vespa se desenvolve até o estágio adulto (Cegatta & Villegas, 2013). As plantas atacadas apresentam enrugamento foliar, o que causa queda prematura das folhas comprometidas, podendo levar a planta à morte (Wilcken et al., 2015).

Várias estratégias têm sido estudadas para controlar *L. invasa* (Dittrich-Schröder et al., 2014). Como a larva do inseto completa o seu desenvolvimento dentro da galha, sendo protegida por ela, medidas de controle químico não são consideradas eficientes (Cegatta & Villegas, 2013).

Uma das principais estratégias para o manejo dessa praga inclui a seleção de clones de *Eucalyptus* spp. resistentes ou menos suscetíveis ao ataque e desenvolvimento das galhas, uma vez que apresentam diferentes níveis de resistência e suscetibilidade, com *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus camaldulensis* consideradas muito suscetíveis (Zheng et al., 2014). Para Wilcken et al. (2015), estes níveis podem

estar relacionados tanto a fatores ambientais quanto a fatores genéticos. Portanto, são necessários testes de suscetibilidade em diferentes regiões onde os eucaliptos são cultivados (Eskiviski et al., 2018).

O trabalho teve como objetivos comparar o nível de infestação por galhas em diferentes materiais genéticos de eucalipto em uma área experimental no Sul do Brasil e avaliar o desenvolvimento das mudas mesmo pós-infestação.

MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo localiza-se no ADET (*Development, Extension and Training Center*) da JTI (*Japan Tobacco Internacional*), Santa Cruz do Sul, no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (29°47'52.45"S, 52°21'20.57"O), onde foram implantadas duas coleções experimentais com mudas de diferentes espécies, clones e híbridos de eucalipto, uma em setembro de 2015 e outra em setembro de 2016 (Tabela 1). Neste trabalho, espécies, clones e híbridos de eucalipto passarão a ser referidos como materiais genéticos.

Tabela 1. Espécies, clones e híbridos de eucalipto nos dois plantios experimentais e abreviatura adotada para o gráfico de resultados.

Table 1. Eucalyptus species, clones and hybrids in the two experimental plantations and abbreviation adopted for the graph of results.

Material genético	Cruzamento entre espécies	Abreviatura para o gráfico
Clone 1528	<i>E. grandis</i> x <i>Eucalyptus urophylla</i> S. T. Blake	C1528
Clone 2864	<i>Eucalyptus saligna</i> Sm.	C2864
Clone 469 PA	<i>E. grandis</i>	C469PA
Clone Grancam 1277	<i>E. grandis</i> x <i>E. camaldulensis</i> Dehnh.	GG1277
Clone Grandis 1071	<i>E. grandis</i>	CG1071
Clone Grandis Flosul 3013	<i>E. grandis</i>	CGF3013
Clone I-144	<i>E. urophylla</i> x <i>E. grandis</i>	CI144
<i>Eucalyptus benthamii</i> Maiden et Cabbage	-	EBENTHA
<i>Eucalyptus dunnii</i> Maiden	-	EDUNNII
<i>Eucalyptus grandis</i> W. Hill ex Maiden.	-	EGRAND

Cada coleção experimental, de 810 m², foi delineada em blocos ao acaso, com 10 blocos e uma repetição, totalizando 160 mudas instaladas. Nos blocos, oito plantas de cada material genético foram aleatoriamente estabelecidas, com uma distância de três metros entre elas (Apêndice 1). As mudas foram disponibilizadas pela JTI e encontram-se presentes na área experimental do ADET. Todas as árvores dos blocos foram analisadas quanto ao nível de infestação por galhas de *L. invasa*.

Um mês após o transplante das mudas para a área experimental, estas já apresentavam sintomas por galhas, o que ocorreu naturalmente. Quinzenalmente, foi registrada a presença e a quantidade de galhas em todas as mudas. Em cada ocasião amostral, escolheu-se um ramo de eucalipto de cada planta e quantificou-se o número médio de galhas por folhas deste ramo. O ramo escolhido estava presente em uma altura de aproximadamente 1,50 metros e apresentava entre cinco e dez folhas. Para classificar a infestação por galhas, adotou-se a seguinte escala, adaptada de Fernandes et al. (2014): nulo (0 galha / folha), baixo (1 ou 2 galhas / folha), moderado (3 ou 4 galhas / folha) e alto (5 ou mais galhas / folha).

Foi também avaliada a frequência de galhas nas folhas do ramo, calculando-se a porcentagem média de galhas em cada nível da escala anteriormente descrita e para cada material genético. Os materiais genéticos cujos valores de galhas eram nulos foram desconsiderados. Neste mesmo ramo foi contabilizado o número médio de folhas e a quantidade de galhas presentes tanto nas folhas quanto nos pecíolos.

Em cada ocasião amostral as plantas tiveram a sua altura e circunferência medidas, para acompanhar o desenvolvimento diferencial dos materiais genéticos em relação ao nível de infestação por galhas e desenvolvimento das mudas na pós-infestação. Enquanto mudas, a altura das plantas foi medida com auxílio de trena

métrica e, quando atingiram dois metros de altura, com Clinômetro Digital EC2. A partir deste porte, foi medida, também, a Circunferência a Altura do Peito (CAP).

Os plantios foram acompanhados durante 12 meses, nas quatro estações do ano, desde o transplante das mudas para a área experimental. Os resultados dos plantios de 2015 e de 2016 foram agrupados para a análise dos dados.

Análise dos dados

Os dados da quantidade de galhas por folha e pecíolo foram testados quanto a normalidade por Shapiro-Wilk, sendo posteriormente submetidos à ANOVA e analisados pelo teste Duncan. As análises foram efetuadas pelo *software* BioEstat 5.0 (*AnalystSoft*) (Ayres, 2007).

As seguintes variáveis foram utilizadas na Análise dos Componentes Principais (ACP): valores de linha e taxa de crescimento em altura e em circunferência, ou seja, o crescimento progressivo e o quanto cada material genético cresceu quinzenalmente; número de galhas nas folhas de cada material genético; e estação do ano em que ocorreu a amostragem. O gráfico de ACP foi confeccionado pelo *software* SAS versão 9.0 (*Statistical Analysis System*) (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram registradas diferenças na escala de infestação por galhas entre os materiais genéticos de eucalipto amostrados (Tabela 2).

Embora *E. benthamii*, *E. dunnii* e *E. grandis* sejam listadas por Wilcken et al. (2015) como hospedeiros adequados ao desenvolvimento de galhas de *L. invasa*, estas apresentaram infestação baixa ou moderada. Por outro lado, o híbrido *E. grandis* x *E. camaldulensis*, que neste estudo foi representado pelo Clone Grancam 1277, foi o que

apresentou alta infestação, corroborando o trabalho de Wilcken et al. (2015). Quatro materiais genéticos testados não apresentaram galhas, indicando alguma resistência destes à *L. invasa*, considerando o conceito clássico de Rossetto (1973) de que uma planta resistente é aquela que, devido à sua constituição genotípica, é menos danificada que outra, em igualdade de condições.

Tabela 2. Escala de infestação por galhas registradas nos materiais genéticos de eucalipto. Nulo: 0 galha / folha; Baixo: 1 ou 2 galhas / folha; Moderado: 3 ou 4 galhas / folha; Alto: 5 ou mais galhas / folha (n= 32).

Table 2. Galls infestation scale registered in eucalyptus genetic materials. Null: 0 gall / leaf; Low: 1 or 2 galls / leaf; Moderate: 3 or 4 galls / leaf; High: 5 or more galls / leaf (n= 32).

Materiais genéticos	Escala de infestação por galhas na planta
Clone 1528	Nulo
Clone 2864	Moderado
Clone 469 PA	Nulo
Clone Grancam 1277	Alto
Clone Grandis 1071	Baixo
Clone Grandis Flosul 3013	Nulo
Clone I-144	Nulo
<i>Eucalyptus benthamii</i>	Baixo
<i>Eucalyptus dunnii</i>	Baixo
<i>Eucalyptus grandis</i>	Moderado

Observa-se que mesmo nos materiais genéticos considerados, na média, com alta infestação por galhas, a frequência de folhas com presença de cinco galhas ou mais não chega a 30% (Figura 1). Sendo assim, nestes materiais, cogita-se a possibilidade ou não de aplicação de medidas de controle. Embora não haja registro de nível de dano econômico de *L. invasa* no Brasil, principalmente em viveiros, são indicadas como medidas de controle a eliminação das mudas contaminadas em viveiros e a aplicação de inseticidas sistêmicos em situações de emergência (Wilcken & Berti Filho, 2008).

Clone Grancam 1277 destacou-se dos demais materiais genéticos por apresentar maior frequência de galhas nas folhas, seguido por *E. grandis*, em uma escala que

variou de zero a cinco. Os clones 2864 e 1071 e *E. benthamii* e *E. dunnii*, apresentaram frequência de danos mais baixos, com poucas ou nenhuma galha por ocasião amostral.

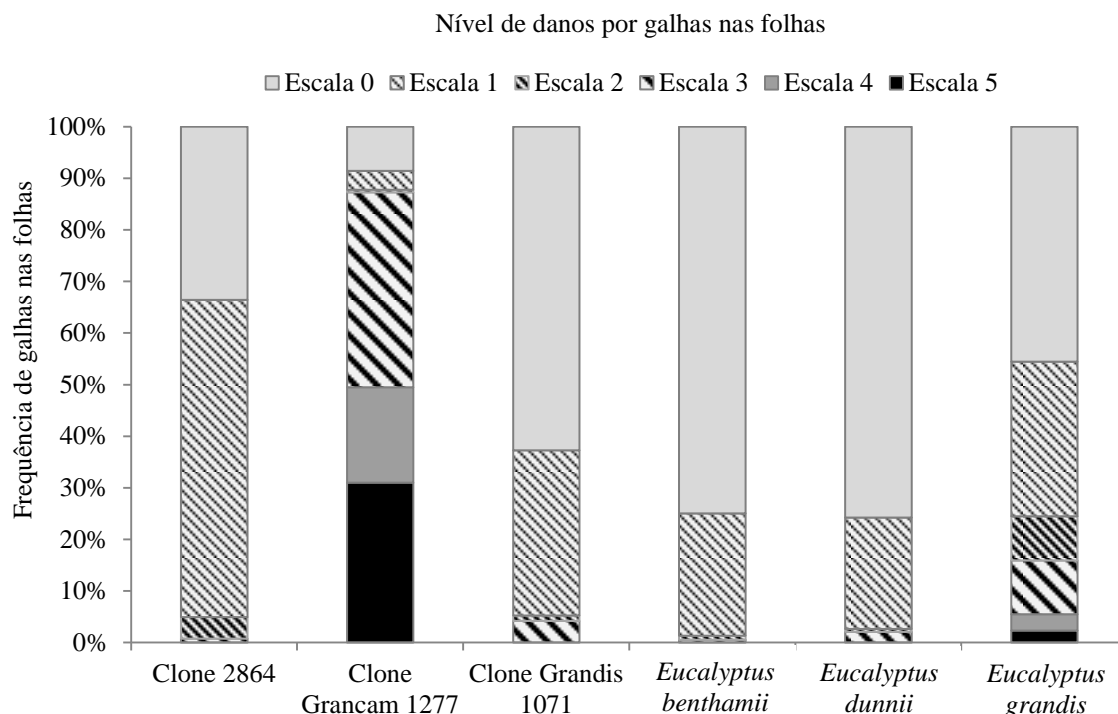


Figura 1. Frequência de galhas nas folhas dos materiais genéticos de eucalipto. O nível de danos está indicado em um conceito de 0 a 5. 0: 0 galha / folha; 1: 1 galha / folha; 2: 2 galhas / folha; 3: 3 galhas / folha; 4: 4 galhas / folha; 5: 5 ou mais galhas / folha (n= 32).

Figure 1. Frequency of galls on the leaves of the eucalyptus genetic materials. The level of damage is indicated in a concept from 0 to 5. 0: 0 gall / leaf; 1: 1 gall / leaf; 2: 2 galls / leaf; 3: 3 galls / leaf; 4: 4 galls / leaf; 5: 5 or more galls / leaf (n= 32).

Além de se verificar diferenças na variação de galhas entre as plantas, observaram-se diferenças na média de folhas e de pecíolos com galhas (Tabela 3) e também entre a quantidade de galhas nas folhas e nos pecíolos (Tabela 4).

Todas as amostras de Clone Grancam 1277 apresentaram galhas tanto nas folhas como nos pecíolos, sendo diferente dos demais materiais genéticos. Guerreiro et al. (2015), também constataram valores médios de porcentagem de galhas em Clone Grancam 1277 maiores que em outros materiais genéticos, chegando a 19,4% nas folhas

e 25% nos pecíolos, tendo os autores registrado diferenças nestas proporções entre os períodos do ano avaliado.

Tabela 3. Número médio de folhas por ramo e de folhas e pecíolos com galhas (\pm Desvio Padrão) dos materiais genéticos de eucalipto (n= 32).

Table 3. Average number of leaves per branch and leaves and petioles with galls (\pm Standard Deviation) of eucalyptus genetic material (n= 32).

Materiais genéticos	Média de folhas / ramo (\pm DP)	Média de folhas com galhas (\pm DP)	Média de pecíolos com galhas (\pm DP)
Clone 1528	06,6 \pm 00,2 b	00,0 \pm 0,0 cA	00,0 \pm 00,0 cA
Clone 2864	07,1 \pm 00,2 cd	00,4 \pm 0,4 bcB	01,5 \pm 01,8 bA
Clone 469 PA	06,6 \pm 00,2 b	00,0 \pm 0,0 cA	00,0 \pm 00,0 cA
Clone Grancam 1277	06,7 \pm 00,1 b	01,9 \pm 1,3 aB	03,0 \pm 01,7 aA
Clone Grandis 1071	07,1 \pm 00,2 cd	00,1 \pm 0,3 cA	00,4 \pm 00,4 cA
Clone Grandis Flosul 3013	07,4 \pm 00,2 c	00,0 \pm 0,0 cA	00,0 \pm 00,0 cA
Clone I-144	06,7 \pm 00,2 b	00,0 \pm 0,0 cA	00,0 \pm 00,0 cA
<i>Eucalyptus benthamii</i>	12,2 \pm 00,2 a	00,8 \pm 0,8 bA	00,1 \pm 00,3 cB
<i>Eucalyptus dunnii</i>	09,2 \pm 00,1 b	00,5 \pm 0,5 bcA	00,1 \pm 00,2 cB
<i>Eucalyptus grandis</i>	07,2 \pm 00,1 cd	00,4 \pm 0,4 bcB	01,0 \pm 01,0 bcA
Total	07,6 \pm 00,1	00,4 \pm 00,3	00,6 \pm 00,5

Letras minúsculas diferentes na coluna e maiúsculas na linha diferem significativamente pelo teste Duncan ($p < 0,05$).

Tabela 4. Número médio de galhas presentes nas folhas e nos pecíolos (\pm Desvio Padrão) dos materiais genéticos de eucalipto (n= 32).

Table 4. Average number of galls present on leaves and petioles (\pm Standard Deviation) of eucalyptus genetic material (n= 32).

Materiais genéticos	Média de galhas / folhas (\pm DP)	Média de galhas / pecíolos (\pm DP)
Clone 1528	00,0 \pm 00,0 bA	00,0 \pm 00,0 cA
Clone 2864	06,5 \pm 02,4 bB	15,2 \pm 04,4 bA
Clone 469 PA	00,0 \pm 00,0 bA	00,0 \pm 00,0 cA
Clone Grancam 1277	28,9 \pm 07,4 aB	43,0 \pm 10,3 aA
Clone Grandis 1071	01,3 \pm 01,3 bA	5,0 \pm 02,0 bcA
Clone Grandis Flosul 3013	00,0 \pm 00,0 bA	00,0 \pm 00,0 cA
Clone I-144	00,0 \pm 00,0 bA	00,0 \pm 00,0 cA
<i>Eucalyptus benthamii</i>	06,3 \pm 02,2 bA	00,9 \pm 00,9 cB
<i>Eucalyptus dunnii</i>	05,2 \pm 01,7 bA	01,3 \pm 01,3 cB
<i>Eucalyptus grandis</i>	05,5 \pm 02,4 bB	13,2 \pm 04,9 bA
Total	05,3 \pm 01,7	07,8 \pm 02,3

Letras minúsculas diferentes na coluna e maiúsculas na linha diferem significativamente pelo teste Duncan ($p < 0,05$).

Além disso, observa-se que o maior número de galhas esteve presente nos pecíolos, indicando certa preferência para a vespa ovipositar neste local, dependendo do material genético. Segundo Reis et al. (2004), o pecíolo apresenta um arco de xilema

completamente envolvido pelo floema, podendo também ocorrer feixes vasculares acessórios. É possível, portanto, que insetos galhadores tenham preferência por ovipositar nessas áreas de maior concentração de recursos alimentares, visto que é mais vantajoso para o desenvolvimento de suas larvas.

Houve diferença no crescimento em circunferência entre os materiais genéticos de eucalipto (Figura 2).

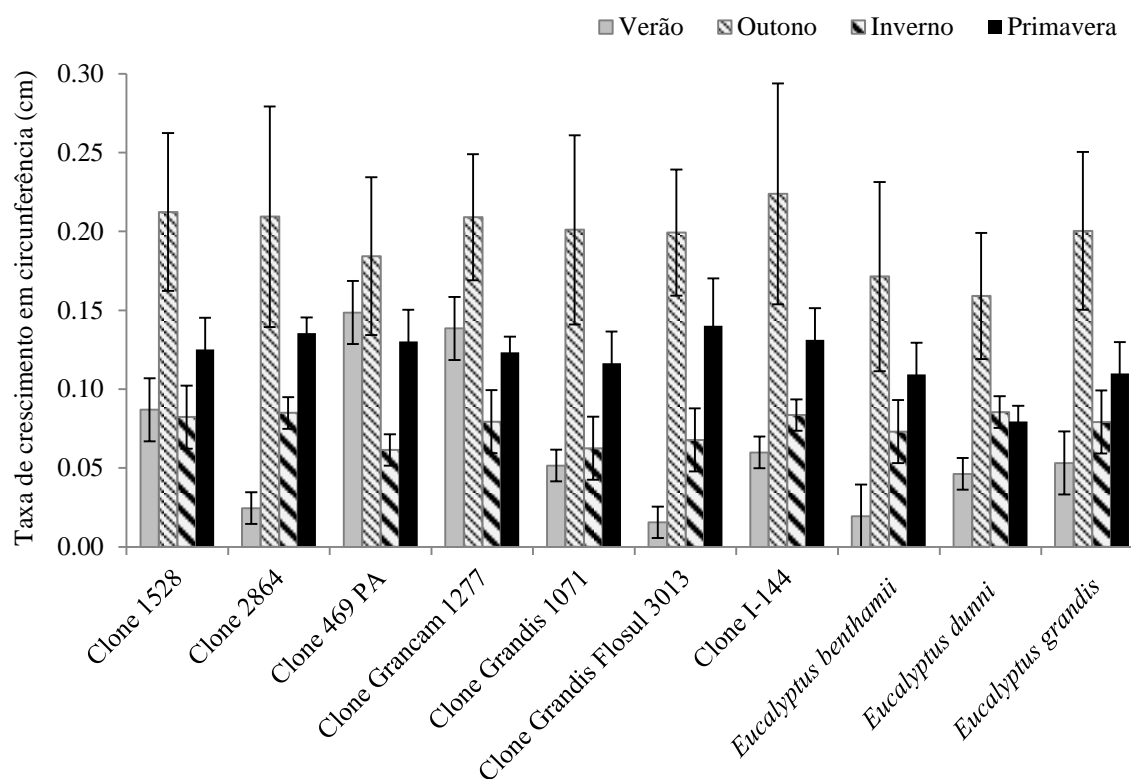


Figura 2. Média da taxa de crescimento (\pm Erro Padrão) em circunferência dos materiais genéticos de eucalipto (n= 32).

Figure 2. Average growth rate (\pm Standard Error) in circumference of eucalyptus genetic material (n= 32).

Clone Grancam 1277 apresentou maior crescimento em circunferência em todas as estações do ano, mostrando ser uma árvore de rápido crescimento, seguido pelos clones 469 PA e 1528. Oliveira et al. (2013) também registraram que Grancam apresentou crescimento superior ao Urograndis (*E. urophylla* x *E. grandis*) até 180 dias depois do plantio. Além disso, Sampaio et al. (2016) verificaram que Clone 1528

apresentou crescimento significativo, sendo o maior de todos os clones avaliados corroborando os resultados do presente estudo.

Segundo Brisola e Demarco (2011), o híbrido Urograndis é mais utilizado em reflorestamentos brasileiros, pois possui melhores características da madeira, devido a seu rápido crescimento em altura e volume, além de ser mais produtivo e se adaptar a diferentes sítios florestais, características que levaram ao cruzamento de suas espécies e o tornam uma das principais fontes de matéria-prima para a indústria nacional de celulose.

A análise de componentes principais permitiu visualizar a relação entre as características das plantas avaliadas e identificar as variáveis que tiveram maior influência na flutuação, sendo a quantidade de galhas nas folhas o componente que explica aproximadamente 71% da variação dos dados, enquanto as taxas de crescimento em altura e circunferência compõem em torno de 26% da variação total (Figura 3).

As mudas de Clone Grancam 1277 apresentaram o maior desenvolvimento em circunferência, apesar da grande infestação por galhas. Rinaldi et al. (2013) também observaram um maior número de galhas presentes em árvores de rápido crescimento. Observa-se que no inverno ocorreu o maior distanciamento deste clone em relação aos demais (Figura 3).

Segundo Santos et al. (2013), o híbrido de *E. grandis* e *E. camaldulensis* são plantas com grande adaptação ao frio e ao déficit hídrico. Sendo assim, no inverno Rio-Grandense, quando os demais materiais genéticos retardam o seu desenvolvimento devido ao frio, este continua a se desenvolver. Apesar desta característica, considerando que materiais genéticos suscetíveis à vespa-da-galha podem atuar na sua dispersão, este clone pode ser considerado impróprio para implantação (Silva et al., 2014).

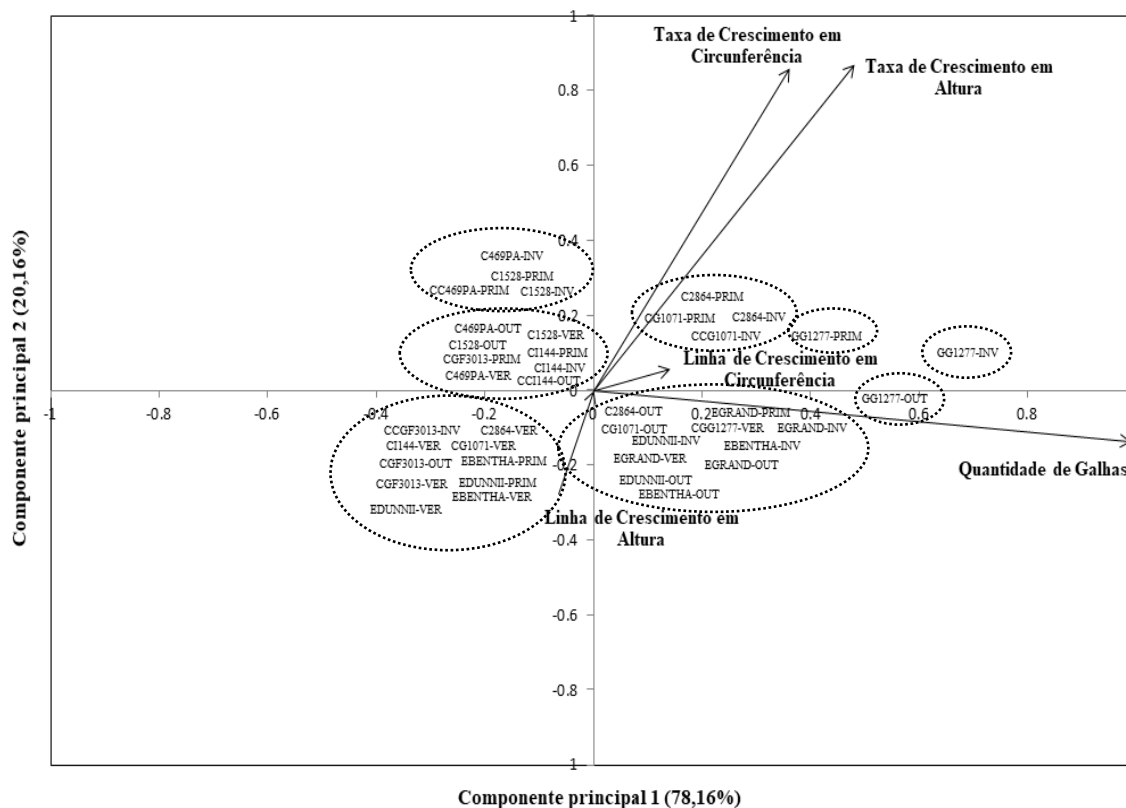


Figura 3. Análise dos componentes principais. Componente principal 1: quantidade de galhas presentes nas folhas dos materiais genéticos de eucalipto. Componente principal 2: taxa de crescimento em altura e em circunferência. VER: Verão; OUT: Outono; INV: Inverno; PRIM: Primavera (n= 32).

Figure 3. Principal components analysis. Principal component 1: quantity of galls present on the leaves of eucalyptus genetic material. Principal component 2: growth rate in height and in circumference. VER: Summer; OUT: Autumn; INV: Winter; PRIM: Spring (n= 32).

Com base nos dados levantados neste trabalho, os clones 469 PA e 1528 foram considerados os melhores materiais genéticos para implantação, pois apresentaram maior crescimento em circunferência, em todas as estações do ano (Figura 2) e não apresentaram galhas em nenhuma ocasião amostral (Tabela 2).

Em seguida, verificou-se Clone Grandis Flosul 3013 e Clone I-144, também sem galhas. Este último já havia sido referido com possível resistência ao ataque de *L. invasa* por Guerreiro et al. (2015). Por fim, os clones 2864 e Grandis 1071, além de *E.*

grandis, *E. dunnii* e *E. benthamii* apresentaram baixa quantidade de galhas, entretanto, o crescimento foi menor.

Neste trabalho, foi possível registrar diferenças na infestação de *L. invasa* entre os materiais genéticos de eucalipto, o que pode ser decorrente da resistência destas plantas. Entretanto, pouco se sabe sobre os mecanismos que regem a resistência ou a suscetibilidade de *Eucalyptus* spp. à *L. invasa* (Dittrich-Schröder et al., 2012).

Segundo Wilcken et al. (2015), os mecanismos de resistência ou suscetibilidade variam na maioria dos países onde o inseto está presente, podendo ocorrer devido a fatores ambientais, o que depende das condições microclimáticas da região de estudo e, principalmente, a fatores genéticos, sujeitos a seleção de espécies e clones resistentes ou suscetíveis. Outro fator predominante, de acordo com Guerreiro et al. (2015), é a sincronização do galhador com a fenologia da planta hospedeira, ou seja, o estágio de desenvolvimento da planta deve ser propício ao desenvolvimento das galhas.

Além disso, para Kumar et al. (2015), a suscetibilidade e a dinâmica populacional dos diferentes materiais genéticos de eucalipto à *L. invasa* podem diferir devido ao tempo de desenvolvimento da larva da vespa dentro da galha.

Este trabalho poderá complementar outras pesquisas de avaliação da resistência de espécies e clones de eucalipto à *L. invasa*, visando aspectos genéticos e climáticos, seguindo a ideia de moderar a implantação de materiais genéticos suscetíveis à vespa-da-galha, para limitar a sua dispersão, proposta por Silva et al. (2014).

CONCLUSÕES

Clone Grancam 1277 foi o material genético que apresentou maior infestação por galhas, entretanto, foi o que mais se desenvolveu comparado aos outros. Os clones 469 PA e 1528 mostraram-se os melhores materiais genéticos de eucalipto para plantio,

pois tiveram um bom desenvolvimento e não apresentaram galhas em nenhuma ocasião amostral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ayres M, Ayres M Jr, Ayres DL, Santos AS dos. BioEstat 5.0 aplicações estatísticas na área da ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá/CNPq, 324 p. 2007.

Brisola SH, Demarco D. Análise anatômica do caule de *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* e *E. grandis* x *urophylla*: desenvolvimento da madeira e sua importância para a indústria. Scientia Forestalis, 2011; 39(91): 317-330.

Cegatta IR, Villegas C. Eficiência de dois inseticidas sistêmicos no controle de *Leptocybe invasa* em mudas de *Eucalyptus camaldulensis*. Revista do Instituto Florestal, 2013; 25(2): 215-221.

Dittrich-Schröder G, Harney M, Naser S, Joffe T, Bush S, Hurley BP et al. Biology and host preference of *Selitrichodes neseri*: A potential biological control agent of the Eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa*. Biological Control, 2014; 78: 33-41.

Dittrich-Schröder G, Wingfield MJ, Hurley BP, Slippers B. Diversity in *Eucalyptus* susceptibility to the gall-forming wasp *Leptocybe invasa*. Agricultural and Forest Entomology, 2012; 14(4): 419-427.

Eskiviski ER, Schapovaloff ME, Dummel DM, Fernandez MM, Aguierre FL. Susceptibility of eucalyptus species and hybrids to the gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in northern Misiones, Argentina. Forest Systems, 2018; 27(1): 1-4.

Fernandes BV, Barcelos JAV, Andrade HB, Zanuncio JC. *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae), an exotic pest of *Eucalyptus*, in Minas Gerais State, Brazil. Florida Entomologist, 2014; 97(2): 824-826.

Golle DP, Reiniger LRS, Curti AR, Bevilacqua CB. Melhoramento florestal: ênfase na aplicação da biotecnologia. Ciência Florestal, 2009; 39(5): 1606-1613.

Guerreiro JC, Quiqui EMD, Oliveira AHM de, Maciel JP, Dileli MW, Ferreira-Filho PJ. Susceptibility of *Eucalyptus* spp. (Myrtales: Myrtaceae) and clones to *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in Paraná, Brazil. Florida Entomologist, 2015; 98(2): 787-789.

Kumar A, Sangha KS, Dhillon GPS. Screening of 19 genotypes of *Eucalyptus* spp. against gall wasp (*Leptocybe invasa*) in North-western India. Journal of Forest Research, 2015; 26(2): 355-359.

Larcombe MJ, Potts BM, Jones RC, Steane DA, Silva JCE, Vaillancourt RE. Managing Australia's eucalypt gene pools: assessing the risk of exotic gene flow. *The Royal Society of Victoria*, 2016; 128(1): 25-39.

Oliveira GQ de, Lopes AS, Jung LH, Rego NH, Oliveira JCL de. Desenvolvimento inicial de dois híbridos de eucalipto submetidos à irrigação. *Engenharia Agrícola*, 2013; 34(6): 1099-1109.

Reis C dos, Proença SL, Sajo M das G. Vascularização foliar e anatomia do pecíolo de Melastomataceae do cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 2004; 18(4): 987-999.

Rinaldi DAM da F, Barbora LR, Wilcken CF, Zaché B, Araújo MM, Carvalho RCZ de. Ocorrência de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) em mudas de eucalipto no estado do Paraná. *Pesquisa Florestal Brasileira*, 2013; 33(75): 327-330.

Rosado AM, Rosado TB, Resende Júnior MFR, Bhering LL, Cruz CD. Ganhos genéticos preditos por diferentes métodos de seleção em progênies de *Eucalyptus urophylla*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2009; 44(12): 1653-1659.

Rossetto CJ. Resistência de plantas a insetos. 2nd ed. Piracicaba: ESALQ-USP; 1973.

Sampaio TF, Dalcin TE, Bogiani JC, Mori ES, Guerrini IA. Selection of eucalyptus clones and adjustment of potassium doses for extended drought in bahia savanna. *Revista Árvore*, 2016; 40(6): 1031-1039.

Santos GA, Resende MDV, Silva LD, Higa A, Assis TF. Adaptabilidade de híbridos multiespécies de *Eucalyptus* ao Estado do Rio Grande do Sul. *Revista Árvore*, 2013; 37(4): 759-769.

SAS Institute. SAS language and procedures: usage. Version 9.0. [CD-ROM]. Cary: SAS Institute; 2002.

Silva LH da, Ukan D, Managó BL, Miranda L. *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae): nova praga do eucalipto no Brasil. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*, 2014; 10(18): 2083-2098.

Torres PM de A, Paes JB, Nascimento JWB do, Brito FMS. Caracterização físico-mecânica da madeira jovem de *Eucalyptus camaldulensis* para aplicação na arquitetura rural. *Floresta e Ambiente*, 2016; 23(1): 109-117.

Vecchio MG, Loganes C, Minto C. Beneficial and healthy properties of *Eucalyptus* plants: a great potential use. *The Open Agriculture Journal*, 2016; 10(1): 52-57.

Wilcken CF, Berti Filho E. Vespa-da-galha do eucalipto (*Leptocybe invasa*) (Hymenoptera: Eulophidae): Nova praga de florestas de eucalipto no Brasil. *Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais*, 2008; 1: 1-11.

Wilcken CF, Zaché B, Masson MV, Pereira RA, Barbosa LR, Zanuncio JC. Vespa-da-galha-do-eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle. In: Vilela EF, Zucchi RA. Pragas introduzidas no Brasil: Insetos e Ácaros. Piracicaba: Fealq; 2015.

Zheng XL, Li J, Yang ZD, Xian ZH, Wei JG, Lei CL et al. A Review of invasive biology, prevalence and management of *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). African Entomology, 2014; 22(1): 68-79.

5 ARTIGO 3

Análises morfológicas e histológicas de diferentes materiais genéticos de eucalipto sadios e com galhas de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae)*

* Artigo configurado segundo as normas da Revista Phytoparasitica

Marina Rauber¹; Simone Mundstock Jahnke¹; Andreas Köhler²

Análises morfológicas e histológicas de diferentes materiais genéticos de eucalipto sadios e com galhas de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae)

¹Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves n. 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: marina_rauber@hotmail.com; +55(51)996642714; ORCID: 0000-0003-4145-7931; 0000-0002-0731-5000; 0000-0002-8033-7740.

²Departamento de Biologia, Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), Av. Independência n. 2293, CEP 96815-900, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil

Resumo

A vespa-da-galha *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) é originária da Austrália e ocorre em plantações de eucalipto no Brasil. A fêmea ovíparas no tecido foliar, onde inicia-se o processo de formação da galha, que torna-se visível após algumas semanas. Os objetivos do trabalho foram: (a) avaliar o nível de infestação por galhas em diferentes espécies, clones e híbridos de eucalipto, constatando quais apresentam galhas após a oviposição; (b) registrar as distâncias abaxiais entre a epiderme e o floema nos diferentes materiais genéticos de eucalipto, através de cortes histológicos e (c) diferenciar morfológica e histologicamente os estágios de desenvolvimento das galhas nos materiais genéticos atacados. Para determinar o nível de infestação em cada material genético, foi quantificado o número de galhas por folhas de um ramo. Através de lâminas histológicas das folhas, definiu-se a anatomia dos

tecidos vegetais e classificaram-se as galhas em estágios de desenvolvimento conforme características morfológicas e histológicas. Clone Grancam 1277, com alta infestação por galhas, apresentou menor distância entre epiderme e floema. Nos materiais genéticos em que a distância foi superior a 0,18 mm, apesar de se verificarem os sinais de oviposição, não ocorreu o desenvolvimento das galhas, pois o ovipositor não alcança o floema da folha e os ovos não se desenvolvem. Foram definidos cinco estágios de desenvolvimento das galhas, desde a oviposição até a emergência da vespa. A suscetibilidade à *L. invasa* foi diferente entre os materiais genéticos de eucalipto, sendo diretamente proporcional à distância entre a epiderme e o floema.

Palavras-chave: Vespa-da-galha; Suscetibilidade; Rio Grande do Sul; Manejo.

Morphological and histological analyzes of different eucalyptus genetic material healthy and with *Leptocybe invasa* galls (Hymenoptera: Eulophidae)

Abstract

The gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) from Australia attacks eucalypt plantations in Brazil. The female lays the eggs in the foliar tissue, where the process of gall formation begins, which becomes visible after a few weeks. The study objectives were: (a) to evaluate the galls infestation level in different eucalyptus species, clones and hybrids, verifying which have galls after oviposition; (b) to record the abaxial distances between epidermis and phloem in different eucalyptus genetic materials, through histological sections and (c) to differentiate morphologically and histologically the galls development stages in genetic materials attacked. To determine the galls infestation level in each genetic material, the number of galls per leaves of a branch was quantified. Plant tissues histology was defined through histological slides of

leaves and galls were classified in development stages according to morphological and histological characteristics. Clone Grancam 1277, with high galls infestation, had a shorter distance between epidermis and phloem. In genetic materials where the distance was higher than 0.18 mm, despite the oviposition signs, the galls development did not occur, because the ovipositor does not reach the leaf phloem and the eggs do not develop. Five galls development stages were defined, from oviposition to wasp emergency. Susceptibility to *L. invasa* was different among eucalyptus genetic materials, being directly proportional to the distance between epidermis and phloem. However, it is necessary to improve studies on the wasp and the hosts resistance.

Keywords: Blue-gum chalcid; Susceptibility; Rio Grande do Sul; Management.

Agradecimentos

Os autores agradecem à empresa da JTI (*Japan Tobacco Internacional*), pela área experimental de eucalipto para o estudo, aos funcionários do Laboratório de Histologia e Patologia da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), pelo auxílio na confecção das lâminas histológicas e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida à primeira autora. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida à segunda autora (306435/2015-2).

Introdução

Os insetos galhadores são capazes de induzir estruturas compostas por tecidos vegetais, as galhas, dentro das quais se alimentam e buscam abrigo, alterando a morfogênese das plantas (Shorthouse & Rohfritsch 1992). Segundo Stone & Schonrögge (2003), a pressão seletiva imposta pelos inimigos naturais é a principal

força que modula a diversidade de galhas, sendo que os tecidos destas podem possuir características que protegem o galhador.

O gênero *Eucalyptus* L'Hér (Myrtaceae) compreende mais de 800 espécies, compostas por árvores altas e resistentes, originárias da Austrália (Larcombe et al. 2016). Foi introduzido no Brasil pelo uso de sua madeira e, com ele, ocorreu o registro de pragas australianas associadas às suas espécies, como a vespa-da-galha *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle, 2004 (Hymenoptera: Eulophidae) (Silva et al. 2014).

No Brasil, *L. invasa* foi registrada pela primeira vez em 2008, no estado da Bahia (Wilcken et al. 2015). Desde então, tem se dispersado e danificado mudas de *Eucalyptus* spp. suscetíveis à indução das galhas, atacando principalmente mudas de “Grancam” (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden X *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), comumente cultivadas no Brasil (Nugnes et al. 2015).

Uma das principais estratégias para o manejo da vespa-da-galha inclui a seleção de clones de *Eucalyptus* spp. resistentes ou menos suscetíveis ao ataque e desenvolvimento das galhas (Zheng et al. 2014). Espécies de *Eucalyptus* e seus clones apresentam níveis diferentes de resistência e suscetibilidade, o que pode estar relacionado a fatores ambientais e, principalmente, aos fatores genéticos transcritos em estruturas histológicas específicas dos tecidos foliares (Wilcken et al. 2015).

O sinal da oviposição de *L. invasa* sem o desenvolvimento da galha pode definir a planta como resistente (Wilcken et al. 2015). Segundo os autores, os materiais genéticos de eucalipto resistentes sofrem ataque pela vespa-da-galha, mas mostram apenas a formação de galhas reduzidas, nas quais não há emergência de novas vespas, do contrário dos materiais genéticos suscetíveis, que são infestados com mais facilidade e que se torna perceptível o desenvolvimento no tamanho e no número de galhas.

Estudos sobre a estrutura das galhas, utilizando como ferramentas a anatomia vegetal e a citologia, permitem verificar gradientes citológicos e histoquímicos nas galhas e que podem indicar o gatilho inicial para a resistência das plantas (Oliveira e Isaias 2010). Além disso, segundo Silva et al. (2005), em monocultivos com expressiva produção, tornam-se importantes estudos sobre o comportamento do corpo vegetal como forma de resistência aos insetos, através de análises morfológicas e histológicas dos tecidos vegetais.

Dessa forma, o trabalho teve como objetivos: (a) avaliar o nível de infestação por galhas de *L. invasa* em diferentes espécies, clones e híbridos de eucalipto em área experimental, constatando quais materiais genéticos apresentam galhas após a oviposição; (b) registrar as distâncias abaxiais entre a epiderme e o floema nos diferentes materiais genéticos, através de cortes histológicos e (c) diferenciar morfológica e histologicamente os estágios de desenvolvimento das galhas nos materiais genéticos atacados.

Material e Métodos

No ADET (*Development, Extension and Training Center*) da JTI (*Japan Tobacco Internacional*), localizada em Cerro Alegre Baixo, Santa Cruz do Sul, no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (29°47'52.45"S, 52°21'20.57"O), foi criada uma área experimental com mudas de diferentes espécies, clones e híbridos de eucalipto, referidos neste trabalho como materiais genéticos: *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage, *Eucalyptus dunnii* Maiden e *E. grandis*, Clone 1528 (*E. grandis* x *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake), Clone 2864 (*Eucalyptus saligna* Sm.), Clone 469 PA (*E. grandis*), Clone Grancam 1277 (*E. grandis* x *E. camaldulensis*), Clone Grandis 1071 (*E. grandis*), Clone Grandis Flosul 3013 (*E. grandis*), Clone I-144 (*E. urophylla* x *E.*

grandis), Toreliodora (*Corymbia torelliana* (F.Muell.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson x *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson) e Tricloss (*E. grandis* x *E. urophylla* x *E. camaldulensis*). Todas as mudas foram fornecidas pela JTI e encontram-se presentes na área experimental do ADET.

A área experimental, de 960 m², foi delineada em blocos distribuídos ao acaso, com 12 blocos e uma repetição. Cada bloco constava de oito plantas de um determinado material genético, com uma distância de três metros entre elas. Todas as árvores dos blocos foram analisadas nas ocasiões amostrais.

Para determinar o nível de infestação por galhas em cada material genético, escolheu-se um ramo de eucalipto de cada planta, localizado a aproximadamente 1,50 metros de altura e apresentando entre cinco e dez folhas. Neste quantificou-se o número médio de galhas por folha. Foram adotados os seguintes conceitos de escala de infestação, adaptados de Fernandes et al. (2014): nulo (0 galha / folha), baixo (1 ou 2 galhas / folha), moderado (3 ou 4 galhas / folha) e alto (5 ou mais galhas / folha). As avaliações ocorreram quinzenalmente, de fevereiro de 2016 a outubro de 2017.

Foram feitas lâminas histológicas de folhas sem galhas de cada material genético de eucalipto, para obterem-se as medições dos seus tecidos. Mediu-se, também, a menor distância histológica abaxial da epiderme ao floema da nervura central da folha, somando-se os valores de A e B para obtenção da média. As medições foram feitas através de microscópio estereoscópico binocular Motic®, em aumento de 400x e com auxílio de ocular com escalímetro (Figura 1).

De acordo com características morfológicas, as galhas foram classificadas em estágios de desenvolvimento, adaptados de Mendel et al. (2004). Com o intuito de descrever as diferenças histológicas entre os estágios, foram feitos cortes histológicos para análises dos tecidos em microscópio estereoscópico. Folhas com galhas de cada

estágio e de cada material genético de eucalipto foram coletadas para a confecção das lâminas histológicas. Para ilustrar os estágios de desenvolvimento, foram utilizados os cortes de Clone Grancam 1277 e *E. grandis*.

Para a elaboração das lâminas histológicas, as galhas e a nervura central das folhas sadias foram cortadas em pequenos pedaços e fixadas em FAA (álcool etílico, ácido acético e formalina em proporção 3:1:1, respectivamente) entre 12 e 24 horas. Para a formação de blocos de parafina (emblocamento), foi feita a desidratação dos tecidos, utilizando-se quatro porcentagens de álcool etílico (70, 80, 90 e 100%), 2 horas em cada porcentagem, repetindo a porcentagem 100 em três banhos. Posteriormente, diafanizou-se a amostra tecidual com dois banhos de 15 minutos em xilol.

O tecido vegetal permaneceu fixado na parafina emblocada após 2 horas e 30 minutos. Cortes em fitas da parafina emblocada foram feitos em micrótomo manual Leica RM2125RT, com 10 µm de espessura. Para cada material genético foram feitas quatro repetições de cortes de folhas sadias e com galhas. A montagem do tecido vegetal em lâmina foi feita com fixação em Entellan® e terminada com lamínula e a coloração das lâminas sucedeu-se com azul de astra e fucsina básica. As lâminas foram observadas com microscópio estereoscópico binocular Motic®. Imagens digitais de cada corte foram obtidas através de câmera digital Canon EOS 1100D.

Resultados e Discussão

As avaliações feitas na área experimental de eucalipto revelaram diferenças na infestação por galhas de acordo com o material genético de eucalipto (Tabela 1), como visto também por Eskiviski et al. (2018). A menor distância abaxial da epiderme ao floema apresentou variações entre as plantas sadias avaliadas, medindo de 0,12 a 0,24 mm (Tabela 1).

É interessante perceber que as plantas que apresentavam menor distância abaxial da epiderme ao floema (de 0,12 a 0,14 mm) foram as que tiveram maiores infestações por galhas (Figura 2).

Clone Grancam 1277 foi o material genético mais atacado, com nível alto de infestação por galhas e foi o segundo material genético que apresentou menor distância da epiderme ao floema (0,13 mm). Em seguida, observa-se *E. grandis* e Clone 2864, com 0,12 e 0,14 mm, respectivamente e que apresentaram nível moderado de infestação por galhas. Nos clones 1528, 469 PA, Grandis Flosul 3013, I-144 e em Tricloss e Toreliora, materiais genéticos em que a distância da epiderme ao floema foi igual ou superior a 0,18 mm, apesar de se verificarem os sinais de oviposição, não ocorreu o desenvolvimento das galhas.

Este resultado pode explicar que, quanto menor a distância necessária para a vespa inserir o ovipositor no floema da planta, mais acessível será para o ovo se desenvolver e ocorrer a formação das galhas. Sabendo-se que o ovipositor da vespa tem aproximadamente 0,17 mm de tamanho (Kumari et al. 2010), quando a distância entre a epiderme e o floema é maior do que este comprimento, seus ovos são inseridos no parênquima lacunoso ou de preenchimento, onde não haverá nutrientes para a larva se desenvolver.

A câmara larval é revestida com células nutritivas e envolvida externamente por camadas de esclerênquima, onde se desenvolve uma rede de feixes vasculares que nutrem a larva hospedeira, sendo esta a sua única fonte de alimento durante o seu desenvolvimento (Stone et al. 2002). Portanto, uma vez que os ovos são inseridos fora do floema, a larva galhadora não se desenvolve por falta de nutrientes e, mesmo que ocorra a oviposição na folha, não sucede a formação das galhas.

Neste trabalho registraram-se sinais de oviposição por *L. invasa* em todos os materiais genéticos de eucalipto, excetuando Toreliodora. Isto pode ter ocorrido devido à presença de tricomas observados apenas nas amostras deste material genético, que auxiliam na defesa da planta contra insetos e, no caso do presente estudo, impedem a oviposição (Aoyama e Labinas, 2012).

Além da distância entre os tecidos averiguada neste estudo, outros fatores podem influenciar nas diferenças de suscetibilidade dos materiais genéticos de eucalipto à vespa-da-galha como os genéticos, tanto para atratividade à *L. invasa* quanto para oviposição e adequação ao desenvolvimento larval da vespa (Guerreiro et al. 2015). A suscetibilidade também está relacionada a diferenças nas características físicas, nutricionais e nas defesas bioquímicas do hospedeiro, além de elementos climáticos (Kumar et al. 2015).

Em relação à descrição morfológica e histológica dos danos causados por *L. invasa*, foram distinguidos cinco estágios de desenvolvimento das galhas entre os materiais genéticos de eucalipto avaliados, baseados em Mendel et al. (2004). Observam-se primeiramente os sinais de oviposição, que leva a transformação do tecido vegetal a um aspecto de cortiça no ponto de inserção do ovo (Figura 3, a); no estágio 1, é possível reconhecer as primeiras formações da galha (Figura 3, b-c); no estágio 2, as galhas passam a apresentar-se esféricas e com coloração verde brilhante (Figura 3, d-e); no estágio 3, alcançam seu tamanho máximo, variando de 2,2 a 3,2 mm, perdendo o brilho do verde (Figura 3, f-g); no estágio 4, a coloração verde na superfície da galha tende a mudar para rosa (Figura 3, h-i); no estágio 5, a coloração rosa muda para vermelho, variando de claro a escuro e opaco (Figura 3, j-l) e, por último, ocorre a emergência das vespas, em que os orifícios de saída passam a apresentar uma coloração marrom avermelhada na superfície da folha (Figura 3, m).

Foram observadas diversas formas e cores das galhas nos diferentes estágios de desenvolvimento. Esta observação corrobora os resultados do trabalho de Mendel et al. (2004), que descreveram as galhas de *L. invasa* com uma coloração que varia de verde brilhante, quando recém-formada, passando a rosa avermelhada brilhante, numa fase intermediária, e chegando a vermelho-escuro sem brilho, quando ocorre a emergência do adulto.

O presente estudo demonstra que a suscetibilidade à *L. invasa* é diferente entre materiais genéticos de eucalipto, como já registrado para outros materiais por Kumar et al. (2015). De acordo com os resultados de Li et al. (2017), a diferença na infestação por galhas de *L. invasa* depende, não só da suscetibilidade da planta infestada, como também de compostos químicos e fito-hormônios que podem interagir e apresentar sinergia, afetando o processo de formação de galhas e o desenvolvimento do inseto.

A implantação de materiais genéticos resistentes, portanto, pode proporcionar maior facilidade no controle dessa praga, como alternativa aos meios químicos (Guerreiro et al. 2015). De qualquer forma, para a determinação definitiva de como o genótipo da árvore e outros fatores afetam a suscetibilidade à *L. invasa*, é necessário aprimorar os estudos sobre bioecologia, sintomatologia e sazonalidade da vespa-da-galha, além de estudos relativos aos hospedeiros que apresentam maior resistência (Kumar et al. 2015).

Conclusões

Clone Grancam 1277 foi o material genético mais atacado por *L. invasa*, com nível alto de infestação por galhas, sendo considerado o mais suscetível à vespa-da-galha. Apesar de se constatarem sinais de oviposição em todos os materiais genéticos, excetuando Toreliodora, não houve desenvolvimento de galhas em Clone 1528, Clone

469 PA, Clone Grandis Flosul 3013, Clone I-144 e Tricloss. Associou-se o desenvolvimento das galhas à distância abaxial entre a epiderme e o floema, sendo que as plantas que tiveram distâncias maiores que 0,18 mm, foram menos afetadas pela vespa-da-galha. Identificaram-se cinco estágios de desenvolvimento das galhas, desde a oviposição até a emergência da vespa.

Bibliografia

Aoyama, E. M., & Labinas, A. M. (2012). Características estruturais das plantas contra a herbivoria por insetos. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*, 8(15), 365-386.

Eskiviski, E. R., Schapovaloff, M. E., Dummel, D. M., Fernandez, M. M., Aguierre, F. L. (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>.

Fernandes, B. V., Barcelos, J. A. V., Andrade, H. B., & Zanuncio, J. C. (2014). *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae), an exotic pest of *Eucalyptus*, in Minas Gerais State, Brazil. *Florida Entomologist*, <https://doi.org/10.1653/024.097.0270>.

Guerreiro, J. C., Del Quiqui, E. M., Oliveira, A. H. M. de, Dileli, M. W., & Ferreira-Filho, P. J. (2015). Susceptibility of *Eucalyptus* spp. (Myrtales: Myrtaceae) and clones to *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) in Paraná, Brazil. *BioOne*, <https://doi.org/10.1653/024.098.0260>.

Kumar, A., Sangha, K. S., & Dhillon, G. P. S. (2015). Screening of 19 genotypes of *Eucalyptus* spp. against gall wasp (*Leptocybe invasa*) in North-western India. *Journal of Forest Research*, <https://doi.org/10.1007/s11676-015-0052-x>.

- Kumari, N. K., Kulkarni, H., Vastrad, A. S., & Goud, K. B. (2010). Biology of eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher and La Salle (Hymenoptera: Eulophidae). *Karnataka Journal of Agricultural Science*, 23(1), 211-212.
- Larcombe, M. J., Potts, B. M., Jones, R. C., Steane, D. A., Silva, J. C. E., & Vaillancourt, R. E. (2016). Managing Australia's eucalypt gene pools: assessing the risk of exotic gene flow. *The Royal Society of Victoria*, <https://doi.org/10.1071/RS16003>.
- Li, X. Q., Liu, Y. Z., Guo, W. F., Solanki, M. K., Yang, Z. D., Xiang, Y., Ma, Z. C., Wen, Y. G. (2017). The gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) stimulates different chemical and phytohormone responses in two *Eucalyptus* varieties that vary in susceptibility to galling. *Tree Physiology*, <https://doi.org/10.1093/treephys/tpx098>.
- 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*, <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.2003.00393.x>.
- Nugnes, F., Gebiola, M., Monti, M. M., Gualtieri, L., Giorgini, M., Wang, J., et al. (2015). Genetic diversity of the invasive gall wasp *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) and of its *Rickettsia* endosymbiont, and associated sex-ratio differences. *Plos One*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124660>.
- Oliveira, D. C., & Isaias, R. M. dos S. (2010). Cytological and histochemical gradients induced by a sucking insect in galls of *Aspidosperma australe* Arg. Muell (Apocynaceae). *Plant Science*, <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.02.002>.
- Shorthouse, J., & Rohfritsch, O. (1992). *Biology of Insect-induced galls*, Oxford University Press, <http://dx.doi.org/10.1093/aesa/86.1.122>.

Silva, L. H. da, Ukan, D., Managó, B. L., & Miranda, L. (2014). *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae): nova praga do eucalipto no Brasil. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*, 10(18), 2083-2098.

Silva, L. M., Alquini Y., & Cavallet, V. J. (2005). Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. *Acta Botanica Brasilica*, <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062005000100018>.

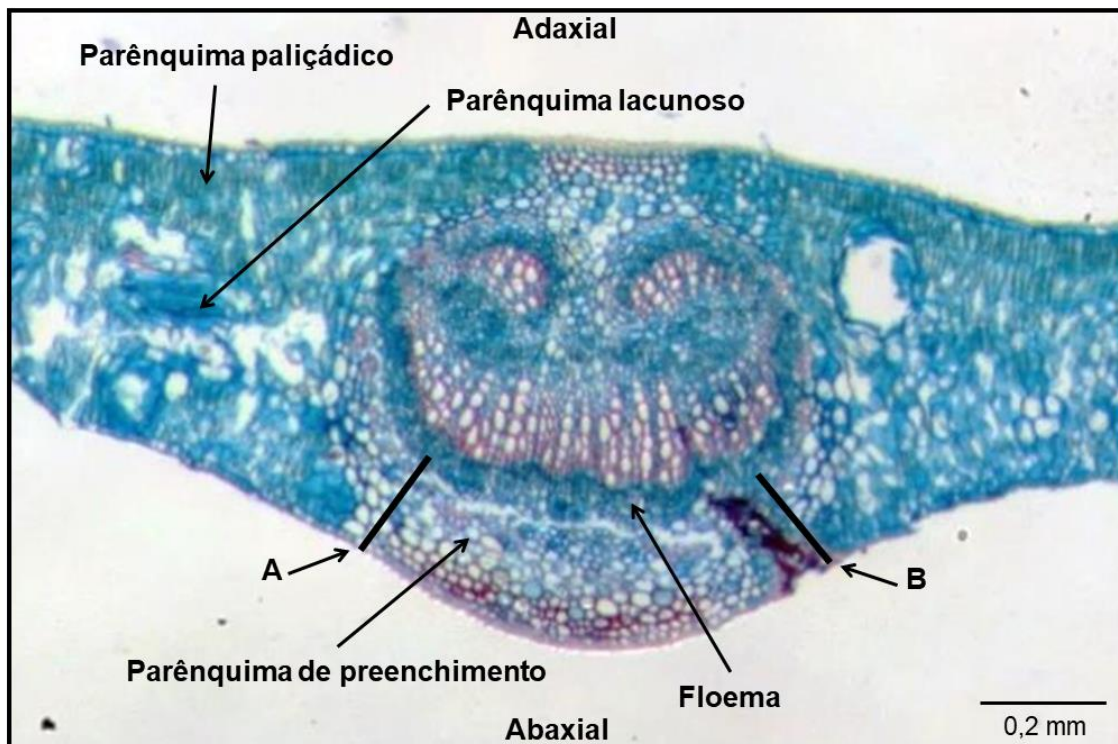
Stone, G. N., & Schönrogge K. (2003). The adaptive significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology and Evolution*, [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00247-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00247-7).

Stone, G. N., Schönrogge, K., Atkinson, R. J., Bellido, D., & Pujade-Villar, J. (2002). The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae). *Annual Review of Entomology*, <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145247>.

Wilcken, C. F., Zaché, B., Masson, M. V., Pereira, R. A., Barbosa, L. R., & Zanuncio, J. C. (2015). Vespa-da-galha-do-eucalipto, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle. In: E. F. Vilela, & R. A. Zucchi, *Pragas introduzidas no Brasil: Insetos e Ácaros* (pp. 835-844). Piracicaba: Fealq.

Zheng, X. L., Li, J., Yang, Z. D., Xian, Z. H., Wei, J. G., Lei, C. L., et al. (2014). A Review of invasive biology, prevalence and management of *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). *African Entomology*, <https://doi.org/10.4001/003.022.0133>.

Fig. 1 Corte histológico da nervura central de uma amostra de eucalipto sem galhas, indicando a localização dos tecidos observados. A e B: menor distância histológica abaxial da epiderme ao floema



Tab 1 Escala de infestação de galhas por folha e relação da média (\pm Erro Padrão) da menor distância abaxial da epiderme ao floema da folha em cada material genético de eucalipto

Material genético	Escala de infestação de galhas	Média (\pm EP) da menor distância abaxial (mm)
Clone 1528	Nulo	0,18 \pm 0,02
Clone 2864	Moderado	0,14 \pm 0,01
Clone 469 PA	Nulo	0,22 \pm 0,02
Clone Grancam 1277	Alto	0,13 \pm 0,01
Clone Grandis 1071	Baixo	0,18 \pm 0,02
Clone Grandis Flosul 3013	Nulo	0,18 \pm 0,01
Clone I-144	Nulo	0,24 \pm 0,02
<i>Eucalyptus benthamii</i>	Baixo	0,17 \pm 0,02
<i>Eucalyptus dunnii</i>	Baixo	0,17 \pm 0,02
<i>Eucalyptus grandis</i>	Moderado	0,12 \pm 0,01
Toreliodora	Nulo	0,21 \pm 0,02
Tricloss	Nulo	0,21 \pm 0,03

Fig. 2 Escala de infestação por galhas nos diferentes materiais genéticos de eucalipto, comparando a média (\pm Erro Padrão) da menor distância abaxial da epiderme ao floema. A linha demarcada indica a distância de 0,18 mm, a partir da qual não ocorre o desenvolvimento das galhas

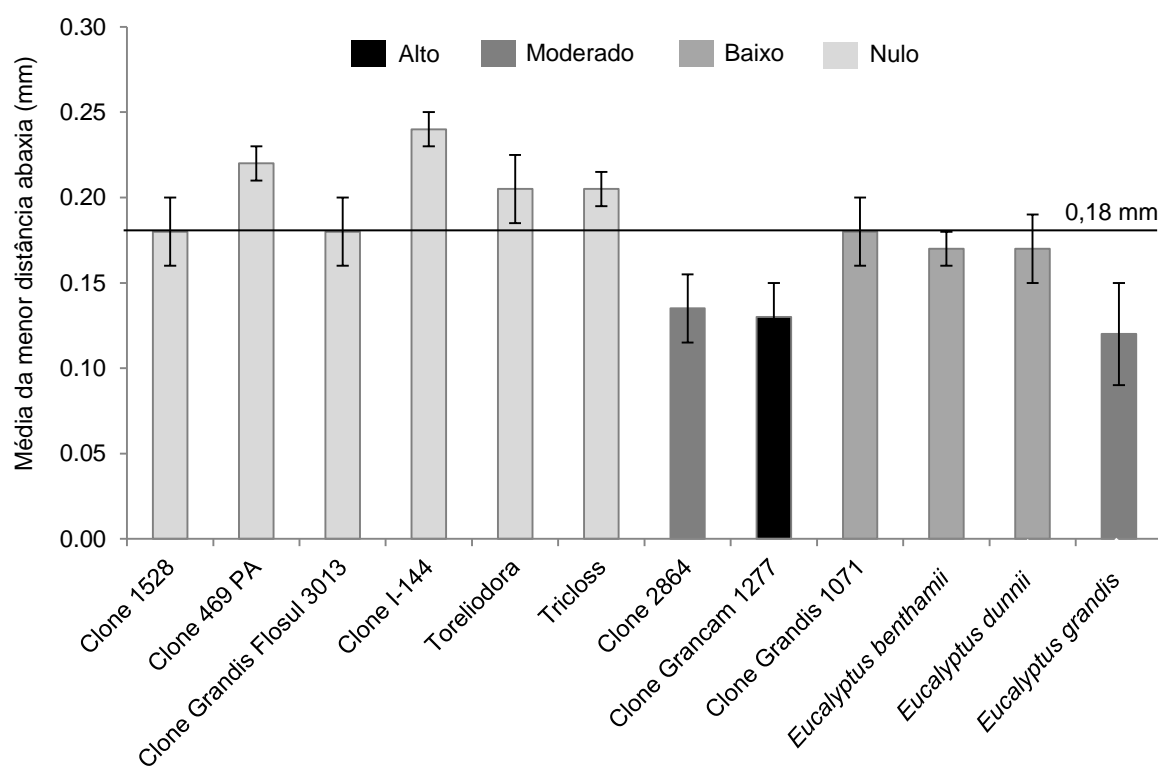
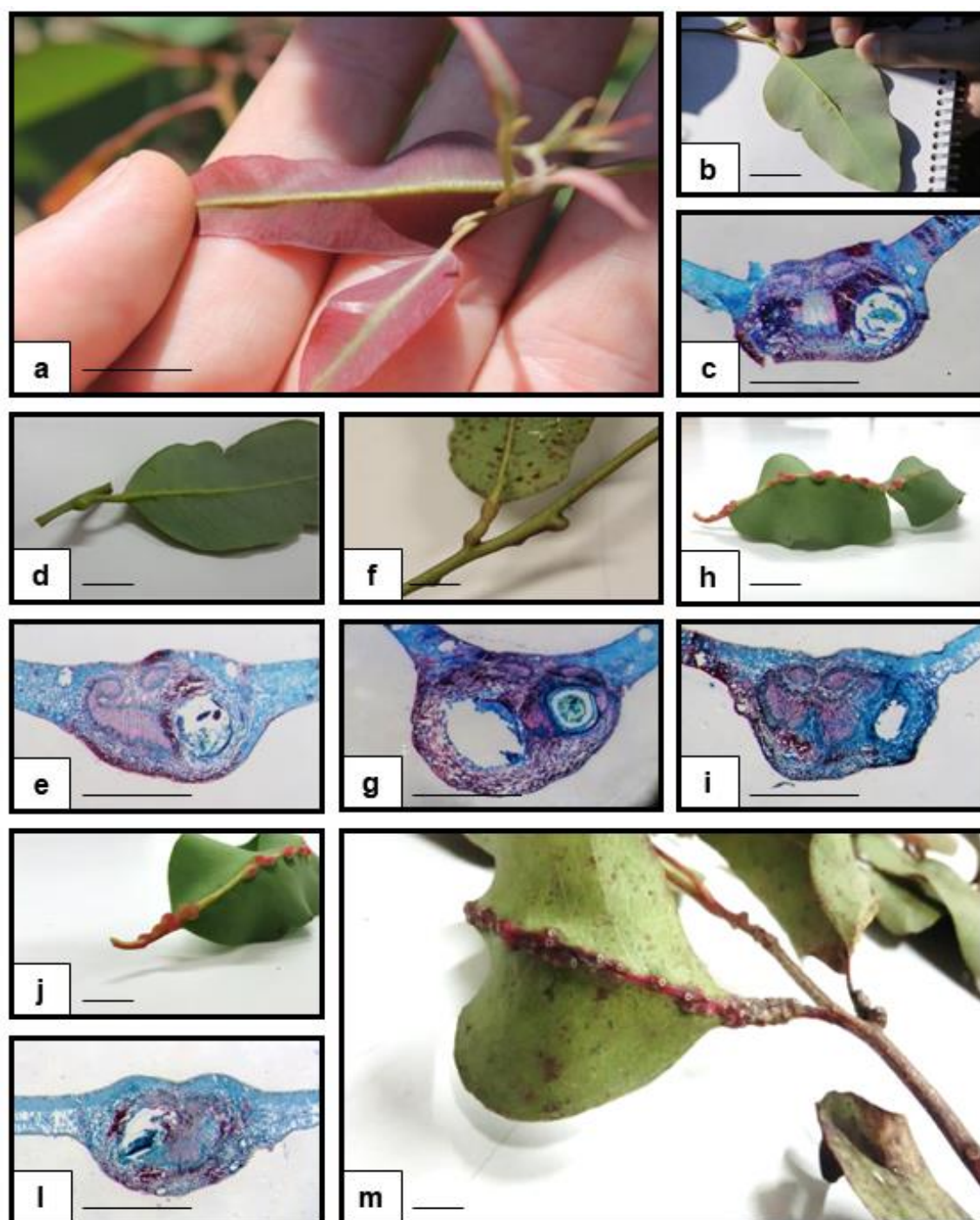


Fig. 3 Estágios de desenvolvimento das galhas nas folhas de eucalipto. a: Sinais de oviposição; b: Estágio 1; c: Corte histológico do estágio 1 em Clone Grancam 1277; d: Estágio 2; e: Corte histológico do estágio 2 em *E. grandis*; f: Estágio 3; g: Corte histológico do estágio 3 em Clone Grancam 1277; h: Estágio 4; i: Corte histológico do estágio 4 em *E. grandis*; j: Estágio 5; l: Corte histológico do estágio 5 em *E. grandis*; m: Orifícios de saída das vespas. Escala: (c, e, g, i, l) 1 mm; (b, d, f, h, j e m) 1 cm; (a) 2 cm



6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em todos os municípios vistoriados foi constatada a presença de *L. invasa*. Constatou-se que o maior número de indivíduos foi registrado em municípios onde existiam plantios de eucalipto, com abundância de recursos para a vespa, diferente dos municípios em que as árvores de eucalipto estavam isoladas.

Pôde-se concluir, também, que a altitude dos municípios influencia na abundância de *L. invasa*. Em municípios de menores altitudes e de regiões mais quentes (temperatura média anual em torno de 23°C) houve maior média de emergência da vespa-da-galha. Isso indica que a abundância de *L. invasa* depende, não somente da densidade do plantio de eucalipto ou de suas espécies, mas também das condições microclimáticas da região.

Este trabalho traz o primeiro registro da ocorrência de *M. brasiliensis* para o Rio Grande do Sul. Entretanto, são necessários estudos sobre a bioecologia, distribuição e abundância da espécie no estado, bem como de suas adaptações às diferentes condições climáticas e sua eficiência no controle de *L. invasa* no país.

Houve diferenças na escala de infestação por galhas entre os materiais genéticos de eucalipto amostrados, sendo Clone Grancam 1277 o de maior nível de danos por galhas. Apesar disso, suas mudas apresentaram o maior desenvolvimento em circunferência, pois possuem grande adaptação ao frio e ao déficit hídrico. Entretanto,

considerando que materiais genéticos suscetíveis à vespa-da-galha, podem atuar na sua dispersão, esse clone pode ser considerado impróprio para implantação.

Os clones 469 PA e 1528 foram considerados os melhores materiais genéticos para implantação, pois apresentaram bom crescimento em circunferência, em todas as estações do ano e não apresentaram galhas em nenhuma ocasião amostral.

Apesar de se verificar sinais de oviposição em todos os materiais genéticos observados, excetuando Toreliodora, seis apresentaram o desenvolvimento de galhas. Nas análises histológicas, constatou-se que, quanto menor a distância entre a epiderme e o floema da planta, mais acessível será para a vespa inserir seus ovos no floema e ocorrer a formação das galhas. Foi possível distinguir morfologicamente e histologicamente cinco estágios de desenvolvimento e maturação das galhas.

Diversos fatores podem influenciar nas diferenças de resistência dos materiais genéticos de eucalipto à vespa-da-galha como os genéticos, tanto para atratividade à *L. invasa* quanto para oviposição e adequação ao desenvolvimento larval da vespa, e também condições microclimáticas locais.

A implantação de materiais genéticos resistentes pode proporcionar maior facilidade no controle da vespa-da-galha, como alternativa aos meios químicos. Mas, para a determinação definitiva de como o genótipo da árvore e outros fatores afetam a suscetibilidade à *L. invasa*, é necessário aprimorar os estudos sobre bioecologia, sintomatologia e sazonalidade da vespa-da-galha, além de estudos relativos aos hospedeiros que apresentam maior resistência. Este trabalho poderá complementar outras pesquisas de avaliação da resistência de espécies e clones de eucalipto à *L. invasa*.

7 APÊNDICE

APÊNDICE 1. Croqui da área experimental de *Eucalyptus* spp. localizada no ADET da JTI.

