Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aspectos morfo-bioecológicos de *Epichrysocharis burwelli* (Eulophidae, Hymenoptera), vespa-das-galhas das folhas de *Corymbia citriodora*

Rosylaine Aparecida Pereira

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2010

Rosylaine Aparecida Pereira
Engenheiro Agrônomo

Aspectos morfo-bioecológicos de *Epichrysocharis burwelli* (Eulophidae, Hymenoptera), vespa-das-galhas das folhas de *Corymbia citriodora*

Orientador:
Prof. Dr **EVONEO BERTI FILHO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de Concentração: Entomologia

Piracicaba
2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Pereira, Rosylaine Aparecida
Aspectos morfo-bioecológicos de *Epichrysocharis burwelli* (Eulophidae, Hymenoptera), vespa-das-galhas das folhas de *Corymbia citriodora* / Rosylaine Aparecida Pereira. - - Piracicaba, 2010.
71 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.

1. Biologia 2. Ecologia 3. Eucalipto 4. Galha 5. Insetos nocivos 6. Óleos essenciais 7. Vespas I. Título

CDD 632.798
P436a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais, Vaudir e Vera,

ofereço.

Dedico essa pesquisa ao meu avô Benedito Donatoni, que deixou esse mundo recentemente, mas que jamais deixará os corações daqueles que com ele conviveram.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Evoneo Berti Filho, por todos os ensinamentos nesses quatro anos de convívio e pelo exemplo de profissionalismo como professor, orientador e pesquisador;

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

À Dra. Marinéia Haddad, pelo auxílio nas análises estatísticas;

A todos os professores do Setor de Entomologia, que engrandeceram minha formação profissional;

Aos funcionários do Setor de Entomologia, sempre prestativos quando necessário;

Aos funcionários da Estação Experimental de Estudos Florestais de Itatinga, que ajudaram na condução dos trabalhos de campo, em especial a Rildo Moreira e Moreira;

Ao Dr. Valmir Antônio da Costa, que auxiliou na realização de alguns experimentos;

Ao Prof. Dr. José Otávio Brito, por empréstimo de material e permissão do uso do laboratório para as extrações de óleo essencial;

Ao Dr. John LaSalle pelo apoio dado durante a participação no curso sobre vespas galhadoras, ocorrido em Israel em novembro de 2008 e ao Dr. Zvi Mendel e Mr. David Brand, pelo convite para a participação do mesmo;

Ao Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken, por tornar possível minha participação no curso sobre controle biológico de vespas galhadoras em Israel, conseguindo auxílio financeiro das empresas Bahia Pulp (Copener Florestal) e Storaenso, as quais também agradeço;

Aos meus grandes amigos Renata Araújo Simões, Vinícius de Souza Ruys, Giselly Iglesias Coutinho, Maria Áurea da Silveira e Daniela Pinheiro, por me auxiliarem, de forma direta e indireta na execução deste trabalho;

A Fábio Henrique Martinez por sempre me dar muito apoio e encorajamento;

Aos estagiários Fernando, Tadeu, Evandro e Plínio, que ajudaram no andamento da pesquisa ou com discussões que somaram a essa tese;

A todos os amigos de turma da pós-graduação em Entomologia que tornaram esses anos mais agradáveis, Tibério, Fernando, Renata, Eliane, Carol, Tiago, Áurea, Cristiane, Ana Paula, José Wilson, Daiane, Priscila, Sinhá e Jorjão;

Assim como todos os amigos de convívio diário das demais turmas da pós-graduação e ao demais amigos que dividiram o mesmo laboratório comigo e que de alguma forma ajudaram na execução desse trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO..... 9
ABSTRACT..... 11
1 INTRODUÇÃO..... 13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 15
2.1 O que são galhas? 15
2.2 Insetos indutores de galhas 17
2.2.1 Thysanoptera 17
2.2.2 Hemiptera 17
2.2.3 Coleoptera 18
2.2.4 Lepidoptera 18
2.2.5 Diptera 18
2.2.6 Hymenoptera 19
2.3 A formação de galhas em Hymenoptera (Apocrita) 19
2.4 A indução de galhas em Chalcidoidea 21
2.5 A indução de galhas em Eulophidae 21
2.5.1 *Onchastichus goughi* 22
2.5.2 *Quadrastichus erythrinae* 22
2.5.3 *Ophelimus eucalypti* 23
2.5.4 *Ophelimus maskelli* 24
2.5.5 *Leptocybe invasa* 24
2.5.6 *Selitrichodes globulus* 25
2.5.7 *Epichrysocharis burwelli* 26
3 MATERIAL E MÉTODOS.....27
3.1 Descrição das áreas experimentais 27
3.2 Aspectos biológicos.....27
3.2.1 Porcentagem de infestação 27
3.2.2 Horário de emergência de adultos 28
3.2.3 Longevidade de adultos em diferentes dietas e sem alimento 29
3.2.4 Razão sexual e caracterização do macho de *E. buwelli* 30

3.2.5 Duração do período ovo-adulto e desenvolvimento da galha 31
3.3 Aspectos ecológicos 32
3.3.1 Sazonalidade de adultos no campo 32
3.3.2 Nível de infestação em campo e influência da pilosidade 32
3.4 Redução no rendimento de óleo essencial 33
3.5 Análises estatísticas 33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 35
4.1 Porcentagem de infestação 35
4.2 Horário de emergência de adultos 40
4.3 Longevidade de adultos 45
4.4 Razão sexual e caracterização do macho 46
4.5 Duração do período ovo-adulto 50
4.6 Sazonalidade de adultos em campo 55
4.7 Nível de infestação em campo e influência da pilosidade 58
4.8 Redução no rendimento de óleo essencial 59
5 CONCLUSÕES 63
REFERÊNCIAS 65

RESUMO

Aspectos morfo-bioecológicos de *Epichrysocharis burwelli* (Eulophidae, Hymenoptera), vespa-das-galhas das folhas de *Corymbia citriodora*

Este trabalho teve como objetivos estudar aspectos da morfologia, biologia e ecologia de *Epichrysocharis burwelli*, uma micro-vespa recentemente introduzida no Brasil e que induz galhas em folhas de *Corymbia citriodora*. Foram verificados neste trabalho, porcentagem média de infestação de galhas em folhas, horário de emergência e longevidade de adultos, razão sexual e caracterização do macho, duração do período de desenvolvimento, sazonalidade de adultos, nível de infestação no campo e influência da pilosidade de folhas sobre a ocorrência de galhas e adultos. Além disso, a influência da formação de galhas sobre o rendimento de óleo essencial de *C. citriodora* foi verificada. 65% das folhas avaliadas apresentaram algum grau de infestação de galhas de *E. burwelli*, com uma densidade média de sete galhas/cm^2, variando entre 0,04 e 44,10 galhas/cm^2. Foram encontradas diferenças significativas entre as árvores avaliadas quanto ao nível de infestação de galhas nas folhas. O período da manhã foi o preferencial para a emergência de adultos, com um pico às 9:00 horas. A longevidade da espécie foi significativamente maior quando o mel foi incorporado à dieta, tanto com água como com folhas jovens de *C. citriodora*. A razão sexual encontrada foi de 165 fêmeas para cada macho e não foram encontradas diferenças entre os sexos além dos caracteres sexuais da genitália e uma pequena estrutura na antena do macho, visível apenas sob microscópio. A duração total do ciclo, de ovo a adulto é de aproximadamente 75 dias em condições de campo. As galhas passam por cinco estágios de crescimento, que provavelmente são acompanhados por mudanças no estágio de vida do inseto. Os adultos ocorrem durante todo o ano e sua ocorrência está relacionada com a liberação de ramos novos pela planta. A espécie é multivoltina e ocorre sobreposição de gerações. A pilosidade das folhas quando a planta se encontra no estágio juvenil funciona como uma barreira mecânica para a oviposição do adulto e teve influência significativamente negativa sobre a ocorrência desses e a formação de galhas. Altos níveis de galhas nas folhas causam efeito significativamente negativo sobre o rendimento de óleo essencial das folhas de *C. citriodora*, que ainda é potencializado devido à queda prematura de folhas, quando estas estão sob altas infestações. A pesquisa permitiu ter um maior conhecimento sobre aspectos da biologia e ecologia da espécie que podem auxiliar no manejo desta em condições de campo, além de quantificar a redução de óleo causada pela presença das galhas.

Palavras-chave: *Epichrysocharis burwelli*; Tetrastichinae; Vespas Galhadoras; *Corymbia citriodora*; Óleo Essencial; Biologia; Ecologia

ABSTRACT

Morphological and bioecological aspects of *Epichrysocaris burwelli* (Hymenoptera, Eulophidae) the gall wasp of *Corymbia citriodora* (Myrtaceae) leaves

This research deals with aspects of morphology, biology and ecology of *Epichrysocaris burwelli* a micro-wasp inducing galls on leaves of *Corymbia citriodora*, and recently introduced in Brazil. The following parameters were studied: percentage of galls on the leaf, time of adult emergence, adult longevity, sex ratio and characterization of the male, duration of the developmental period, seasonal occurrence of adults, level of infestation in the field and the influence of leaf hairs on the occurrence of galls and adults. The influence of galls on the yield of *C.citriodora* oil was studied as well. From the total of leaves evaluated, 65% presented galls ranging between 0.04 and 44.10 galls/cm^2, with a mean density of 7 galls per square centimeter. One also observed significant differences among the evaluated trees as to the number of galls on the leaves. Adult emergence occurred during the morning hours, with a peak at 9 am and adult longevity was longer when honey solution was available. The sex ratio was 165 females: 1 male. The external morphology of the genitalia and a microscopic structure in the male antenna were the only differences between the sexes. The life cycle, from egg to adult, lasted 75 days in field conditions. The galls presented five growing stages which probably are related to the changes in the immature insect periods. The adults are seen all year round and such occurrence is related to the continuous flushing of sprouts by the plant. This insect species is multivoltine and thus present overlapping generations. Young plants present hairy leaves acting as a mechanical barrier to oviposition, preventing the occurrence of adults and galls. The yield of *C.corymbia* oil leaves is negatively affected not only by the high levels of gall infestation but also by the following premature defoliation.

Keywords: *Epichrysocharis burwelli*; Tetrastichinae; Gall-wasps; *Corymbia citriodora*; Essencial Oil; Biology; Ecology

1 INTRODUÇÃO

No Brasil são cultivadas várias espécies de plantas aromáticas produtoras de óleo essencial, dentre as quais, as espécies dos gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia*, conhecidas vulgarmente como eucaliptos, destacam-se pela excelente qualidade do óleo produzido e pela facilidade de produção (ANDRADE; GOMES, 2000; VITTI; BRITO, 1999).

Corymbia citriodora, até recentemente conhecida como *Eucalyptus citriodora*, é considerada a espécie de maior produção de óleo essencial no mundo, sendo bastante disseminada no Brasil, principalmente em pequenas e médias propriedades rurais, apresentando múltiplas finalidades, como matéria-prima para construção rural, para cercas e postes e para a produção de carvão e lenha. No entanto, nenhum destes fins apresenta-se tão viável financeira e operacionalmente como a extração de óleo essencial (VITTI; BRITO, 1999).

A produção e qualidade do óleo essencial podem ser influenciadas por fatores genéticos e fisiológicos da planta, pelas técnicas de extração utilizadas e também por fatores ambientais, bióticos e abióticos. Dentre os fatores bióticos, a ocorrência de pragas pode ser um fator limitante ao cultivo desta essência, dependendo da densidade populacional em que estas se encontram (BOLAND; BROPHY; HOUSE, 1991).

C. citriodora é tida como uma das espécies de eucalipto mais atacadas por insetos, sendo os maiores danos ocasionados por representantes das ordens Hymenoptera (formigas-cortadeiras), Lepidoptera (lagartas-desfolhadoras) e Coleoptera (besouros-desfolhadores) (BERTI FILHO, 1984). Além destas, uma nova praga recém-introduzida, *Epichrysocharis burwelli* (Hymenoptera: Eulophidae), vêm ocasionando redução na quantidade de óleo essencial extraído das folhas e, por isso, foi recentemente incluída no grupo de pragas importantes para esta cultura (BERTI FILHO; COSTA; LASALLE, 2004; ANJOS; ZACARO, 2005).

E. burwelli, a microvespa do eucalipto, foi registrada pela primeira vez no Brasil no estado de Minas Gerais no primeiro semestre de 2003. Atualmente encontra-se amplamente distribuída em vários estados brasileiros, principalmente naqueles da região sul e sudeste (BERTI FILHO; COSTA; LASALLE, 2004).

Os danos ocasionados por este inseto são decorrentes de galhas induzidas na epiderme foliar, que diminuem a produção de óleo essencial devido ao necrosamento produzido, além de provocarem a queda prematura das folhas, reduzindo tanto a quantidade, como provavelmente a

qualidade do óleo essencial extraído (BERTI FILHO; COSTA; LASALLE, 2004; ANJOS; ZACARO, 2005; DOWNER, 1999).

Apesar da rápida disseminação de *E. burwelli* no Brasil e dos prejuízos ocasionados, nenhum estudo sobre a biologia, comportamento, ecologia ou manejo desta espécie foi realizado. Diante desta carência de estudos e da importância apresentada pelo inseto, é fundamental a realização de trabalhos que contribuam para maior conhecimento sobre a espécie e que possam futuramente auxiliar no manejo da mesma. Desta forma, essa pesquisa objetiva estudar aspectos da morfologia externa, biologia e ecologia de *E. burwelli* e avaliar sua influência sobre a produção de óleo essencial em *C. citriodora*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O que são galhas?

Galhas são consideradas qualquer desvio no modelo de crescimento normal da planta, produzido por uma reação específica à presença e atividade de um organismo externo. O tecido modificado supre o agente causal tanto com abrigo como com alimento nutritivo (DREGER-JAUFFRET; SHORTHOUSE, 1992; MANI, 1964).

Uma das características mais importante na biologia das galhas é que cada uma das centenas de espécies dentro dessa guilda é responsável por "crescimentos" que são estruturalmente e morfologicamente únicos àquela espécie de indutor, que pode ser tanto um fungo, um vírus, uma bactéria, um nematóide, um ácaro ou um inseto (DREGER-JAUFFRET; SHORTHOUSE, 1992).

De acordo com o grupo de organismo indutor, as galhas podem ser divididas em fitocecídeas (aquelas induzidas por vírus, fungos ou bactérias) e zoocecídeas (induzidas por protozoários, nematóides e artrópodes). Os artrópodes, em particular os insetos, formam o grupo mais importante de cecidozoas, devido à grande diversidade e complexidade das galhas formadas (MANI, 1992; MANI, 1964).

As galhas de insetos representam uma série complexa de interações entre os tecidos das plantas e o agente causal e ocorrem através de três processos-chave, hiperplasia; hipertrofia e diferenciação, que são dependentes da presença contínua e atividade alimentar do indutor (MANI, 1992; REY, 1992).

A indução da galha nesse grupo pode ocorrer através de diferentes estímulos, sendo os principais aqueles de origem química (SOPOW et al. 2003). Estes estímulos químicos podem ser provenientes de fluidos de oviposição e de secreções salivares. Os fluidos da oviposição dão início ao processo de formação da galha, mas esta somente termina seu desenvolvimento com a atividade alimentar do agente causal (MANI, 1992; ROHFRITSCH, 1992).

Insetos capazes de induzir galhas são comedores de folhas altamente especializados, sendo mais relacionados, em uma escala evolutiva, com minadores e broqueadores (DREGER-JAUFFRET; SHORTHOUSE, 1992). A planta produz a galha a princípio não para benefício do organismo indutor, mas para isolar o inseto no tempo e no espaço, forçando-o à especialização

extrema. O fato de a cecidozoa parecer se beneficiar é puramente incidental e irrelevante, e pode ser atribuído à estreita abordagem antropocêntrica (MANI, 1992).

A grande especificidade dos insetos galhadores não ocorre somente em relação à espécie da planta, mas também ao órgão atacado. Muitos galhadores induzem suas galhas somente em regiões específicas de seus hospedeiros, e existem casos, como em algumas espécies que apresentam alternância de gerações, em que a geração sexuada induz galha em um órgão específico da planta e a assexuada em outro, com galhas estruturalmente e morfologicamente distintas, tendo sido por isso, muitas vezes erroneamente identificadas como espécies diferentes por muitos pesquisadores (MANI, 1992; ROHFRITSCH, 1992).

Todos os órgãos da planta estão sujeitos ao ataque das galhas, e todas as partes são utilizadas por algum tipo de inseto, mas as folhas são o órgão preferido, correspondendo à cerca de 80% do total das galhas (MANI, 1964). No entanto, todos esses órgãos precisam estar em um estágio específico de desenvolvimento para que a galha seja formada. Esse estágio está relacionado com o tipo de tecido que pode ser encontrado no órgão, que deve apresentar a capacidade de responder aos estímulos do indutor. Esses tecidos são encontrados em regiões meristemáticas da planta ou em locais que apresentam células totipotentes (ROHFRITSCH, 1992).

O inseto formador da galha não é somente específico em selecionar seu hospedeiro, órgão ou tecido, mas também tem controle sobre a forma, estrutura, cor e fisiologia da galha que a planta produz. A planta é manipulada para fornecer ao galhador abrigo e alimento de alta qualidade nutricional. O indutor cria uma nova região ativada, acompanhada pelo aparecimento de um novo gradiente, com células que exibem mudanças no pH, polaridade, hipertrofia nuclear, grande quantidade de aminoácidos e açúcares livres e a presença de enzimas hidrolíticas, tais como amilase e protease (MANI, 1992). Em alguns grupos de insetos, tais como Diptera e Hymenoptera, essa região ativada é bastante delimitada, formando um conjunto de células especializadas que circundam a câmara larval, chamadas células nutritivas, ou tecido nutritivo (BRONNER, 1992).

A formação de galhas representa um dos mais elaborados, evoluídos e complexos relacionamentos entre plantas e insetos que se conhece. As galhas não somente ilustram a plasticidade dos tecidos da planta em se desenvolver, mas também que, com o estímulo correto, elas podem ser reprogramadas a produzirem estruturas atípicas e a acumular substâncias

geralmente não associadas com o órgão atacado. Por isso, algumas vezes na literatura os indivíduos galhadores foram chamados de engenheiros genéticos no mundo dos insetos (SHORTHOUSE; ROHFRITSCH, 1992).

2.2 Insetos indutores de galhas

Aproximadamente 13000 espécies de insetos foram registradas induzindo galhas em plantas, o que representa cerca de 2% do total de espécies dentro da classe. Estes representantes são encontrados principalmente nas ordens Thysanoptera, Hemiptera, Lepidoptera, Coleoptera, Diptera e Hymenoptera (DREGER-JAUFFRET; SHORTHOUSE, 1992; MANI, 1964).

2.2.1 Thysanoptera

Aproximadamente 300 espécies de tripes são associadas com galhas sobre várias espécies de plantas. Os seus representantes vivem em colônias compostas por numerosos indivíduos de diferentes espécies ou de diferentes idades, sendo muitas vezes difícil até mesmo de identificar qual espécie foi responsável pela iniciação da galha, qual contribui para a sua expansão e quais são inquilinas. As espécies de tripes indutoras de galhas são particularmente abundantes em regiões tropicais e especialmente na Ásia. A maioria se desenvolve sobre folhas e uns poucos são encontrados sobre flores e brotações (DREGER-JAUFFRET; SHORTHOUSE, 1992; MANI, 1964).

2.2.2 Hemiptera

Esta ordem inclui um grande número de indutores de galhas e são notáveis pela grande diversidade de formas destas, que vão desde simples crescimentos até estruturas bastante complexas, com várias câmaras e agregadas. Possuem geralmente um complexo ciclo de vida, alguns apresentam forte dimorfismo sexual e algumas vezes alternância de gerações. Muitas famílias dentro da ordem, pertencentes às três subordens, apresentam a capacidade de induzirem galhas, como Eriosomatidae, Coccidae, Tingidae, Psyllidae, Adelgidae, Phylloxeridae e Eriococcidae (DREGER-JAUFFRET; SHORTHOUSE, 1992, MANI, 1964).

2.2.3 Coleoptera

Considerando o tamanho da ordem, poucas espécies têm a habilidade de induzir galhas. A maioria das espécies pertence à família Curculionidae, mas algumas galhas interessantes são causadas por Buprestidae e umas poucas espécies de Cerambycidae também apresentam a capacidade de induzirem galhas. As larvas e adultos de besouros apresentam aparelho bucal mastigador e infringem muitos danos estruturais dentro de suas galhas. Camadas de tecido nutritivo não são encontradas, provavelmente pela voracidade destes insetos ao se alimentar (DREGER-JAUFFRET; SHORTHOUSE, 1992).

2.2.4 Lepidoptera

A despeito do pequeno número de galhas induzidas por lepidópteros (cerca de 100 no mundo todo), muitas são de grande interesse biológico, sendo a maioria induzida por microlepidópteros, principalmente da família Tortricidae. O hábito alimentar e o tipo de aparelho bucal causam uma rápida destruição dos tecidos que circundam a câmara larval e aqui também não há formação de tecido nutritivo. A diferenciação celular básica envolve hipertrofia cortical e cambial e hiperplasia medular. As galhas de lepidópteros apresentam uma grande variedade de formas e podem ser reconhecidas, quando dissecadas, pela grande quantidade de restos alimentares deixados pela larva (DREGER-JAUFFRET; SHORTHOUSE, 1992).

2.2.5 Diptera

A ordem Diptera é a que contém mais insetos indutores de galhas que qualquer outra ordem. Diferente das anteriormente mencionadas apresenta a capacidade de induzir galhas em Monocotiledôneas e especialmente Graminae. Freqüentemente induzem galhas em folhas, mas também podem atacar outras partes da planta, como flores, brotos e raízes. Mostram fantástica diversidade de formas de suas galhas, que são quase sempre caracterizadas pelo alto nível de especialização de seus tecidos, estruturas e mecanismos de abertura. A indução de galhas em Diptera ocorre nas duas subordens, Nematocera e Cyclorrapha. Em Nematocera somente uma família é encontrada apresentando esse hábito, Cecidomyiidae, que é a principal família indutora

de galhas em número de espécies dentre todas as ordens e cujos representantes mostram grande complexidade em seu ciclo biológico, podendo produzir várias gerações no ano e sucessivas gerações do mesmo inseto sobre diferentes partes da mesma planta. Já nos ciclorrafos a indução ocorre principalmente em Tephritidae, que são intimamente ligados com plantas da família Compositae e utilizados inclusive no controle biológico destas (DREGER-JAUFFRET; SHORTHOUSE, 1992).

2.2.6 Hymenoptera

Essa ordem contém as mais complexas e altamente evoluídas galhas e indutores de toda a guilda. A indução de galhas é encontrada nas duas subordens, Symphyta e Apocrita. Dentro de Symphyta ocorre nos Tenthredinidae e em Apocrita, nas superfamílias Chalcidoidea e Cynipoidea. As galhas de Hymenoptera são encontradas em todo o mundo sobre as ordens superiores de dicotiledôneas e mesmo sobre monocotiledôneas, incluindo Graminae. A maioria é altamente específica quanto ao hospedeiro e ao órgão atacado. Em Symphyta (Tenthredinidae) as fêmeas utilizam seu longo ovipositor para introduzir seus ovos e fluidos da oviposição, que induzem uma pré-cecídia. A galha continua a se desenvolver sob a influência da larva. As galhas desse grupo não são muito complexas e não ocorre a formação de tecido nutritivo. Já em Apocrita as galhas apresentam um alto grau de complexidade e ocorre a formação do tecido nutritivo bastante diferenciado (DREGER-JAUFFRET; SHORTHOUSE, 1992; MANI, 1964).

2.3 A formação de galhas em Hymenoptera (Apocrita)

As galhas induzidas por himenópteros são, talvez, as mais conhecidas galhas prosoplásmicas (galhas mais complexas, com diferenciação de tecidos, tais como o tecido nutritivo), tanto na Europa quanto na América do Norte. A maioria tem somente uma câmara larval, são esféricas e têm uma simetria axial. A mais proeminente característica estrutural dessas galhas é a presença de camadas concêntricas de células diferenciadas ao redor da câmara larval. A presença de tecidos de planta altamente nutritivos nessas galhas atrai numerosos insetos fitófagos e estes, por sua vez, atraem espécies entomófagas. Assim, galhas de himenópteros comumente abrigam uma pequena microcomunidade. O desenvolvimento das galhas em

Hymenoptera é dividido em três fases distintas, iniciação, crescimento e maturação. A iniciação da galha começa com a ação de oviposição e cada espécie deposita seu ovo de uma maneira e local, específicos. O órgão do hospedeiro deve estar em um estágio particular de desenvolvimento no momento da oviposição. Os ovos são introduzidos dentro dos tecidos da planta geralmente próximos ao câmbio vascular, que apresenta células capazes de se dividirem mesmo se as folhas ou ramos estiverem maduros. A iniciação das galhas de himenópteros envolve vários fatores, incluindo ferimento dos tecidos com o ovipositor, aplicação de fluidos de oviposição, atividade do ovo e atividade da larva recém eclodida. Os ovos são conhecidos por exercerem ação proteolítica, celulolítica e pectinolítica. O fluido de oviposição parece ser usado para fixar os ovos aos tecidos da planta e também para permitir trocas de água e substâncias entre o ovo e os tecidos da planta durante a embriogênese e iniciação da galha. Apesar da importância do fluido de oviposição, o ovo é, em si, o componente mais importante na iniciação das galhas de Hymenoptera, e para que sua ação ocorra, o tecido ao redor dele deve ser ferido durante a oviposição para que diferenciação celular e metaplasia ocorram. Uma vez que o ovo se rompe, a larva migra para uma região da galha cercada por tecidos jovens, dando início à fase de crescimento. A larva cresce lentamente durante este período e todas as células que circundam a cavidade larval e que são estimuladas a proteosíntese, formam a camada de tecido nutritivo. Aquelas células que estão próximas à larva são maiores e altamente estimuladas através do contínuo ferimento com as mandíbulas quitinosas, da presença de enzimas salivares, tais como amilases e proteases, e das várias substâncias de plantas que são liberadas dentro da cavidade larval. O tecido nutritivo não é bem estruturado durante os estágios iniciais do desenvolvimento da galha. Apenas manchas de células nutritivas estão geralmente presentes ao redor da câmara larval. Entretanto, quando a alimentação da larva aumenta, os tecidos tornam-se mais homogêneos e freqüentemente cobrem a câmara larval inteira. No final do desenvolvimento (fase de maturação da galha) a larva consome grandes quantidades de tecido nutritivo e no momento em que o inseto completa seu estágio pupal, praticamente nada é deixado da zona nutritiva, que não uma linha de poucas células parcialmente comidas. Insetos dessa ordem geralmente vivem seu estágio larval e pupal dentro das galhas e quando o adulto emerge, escava um orifício de saída com suas mandíbulas (CSÓKA; STONE; MELIKA, 2005; REY, 1992; ROHFRITSCH, 1992).

2.4 A indução de galhas em Chalcidoidea

Chalcidoidea é uma grande superfamília de Hymenoptera, com aproximadamente 22000 espécies descritas, dentro de 2000 gêneros e 19 famílias. Seus representantes são na maioria vespas parasitóides que atacam uma ampla variedade de hospedeiros, no entanto a indução de galhas ocorre em seis famílias, Agaonidae, Eulophidae, Eurytomidae, Pteromalidae, Tanaostiagmatidae e Torymidae (NOYES, 2002), que provavelmente evoluíram de espécies entomófagas (como parasitóides de indutores de galhas) e secundariamente de formas fitófagas (LASALLE, 2005; MANI, 1964; NOYES, 2002). Pouco é conhecido sobre a biologia e ecologia desses galhadores (ROHFRITSCH, 1992), mas a maioria ocorre sobre brotos ou pontos de crescimento nos ápices de seus hospedeiros, e alguns são encontrados sobre folhas, raízes e flores. As galhas são caracterizadas por sua estrutura sólida, dura e lenhosa, com numerosas câmaras larvais isoladas (MANI, 1992).

2.5 A indução de galhas em Eulophidae

A indução de galhas surgiu muitas vezes dentro da família Eulophidae; entretanto, parece estar restrita a dois grupos principais: Ophelimini (todos associados com galhas, talvez principalmente como indutores de suas próprias galhas), e Tetrastichinae (que apresentam uma grande variedade de biologias) (LASALLE, 2005). Ophelimini é uma pequena tribo pertencente à subfamília Eulophinae, encontrada somente na Austrália, e que contém apenas dois gêneros, *Ophelimus* (talvez o maior gênero de indutores de galha em Eulophidae) e *Australsecodes*, compreendendo apenas umas poucas espécies (GAUTHIER et al. 2000). Já Tetrastichinae provavelmente apresenta a maior variação em hospedeiros que qualquer grupo equivalente de vespas parasitas. Esta subfamília apresenta espécies parasitóides de mais de 100 famílias de insetos (dentro de dez ordens), tanto como aquelas que predam sacos de ovos de aranhas, e ácaros e nematóides dentro de galhas (LASALLE, 1994). A fitofagia, incluindo a indução de galhas, surgiu em diversas ocasiões nesta subfamília (LASALLE, 2005). Os Tetrastichinae que induzem galhas caem em duas categorias principais. A primeira categoria inclui indutores de galhas australianos associados com gêneros da família Myrtaceae (geralmente *Eucalyptus* e *Corymbia*), como *Oncastichus*, *Epichrysocharis* e *Quadrastichodella*. A segunda categoria é principalmente

neotropical e contém uma variedade de formas, que são geralmente maiores e mais esclerotizadas que outros Tetrastichinae, e são inquilinos de outras galhas ou parasitóides de indutores de galhas. Este grupo inclui gêneros como, *Galeopsomyia* e *Cirrospilopsis* (parasitóides), e *Ceratoneura*, *Paragaleopsomyia* e *Exurus*, que podem incluir espécies indutoras de suas próprias galhas (LASALLE, 1994). Dentro dos vários gêneros de Eulophidae onde a indução de galhas é conhecida, existem algumas espécies que se tornaram particularmente importantes por terem sido introduzidas em outros países, onde ocasionam muitos prejuízos. Dentre elas encontram-se *Onchastichus goughi*, *Quadrastichus erythrinae*, *Ophelimus eucalypti*, *O. maskelli*, *Leptocybe invasa*, *Selitrichodes globulus* e *Epichrysocharis burwelli* (KIM ; DELVARE; LASALLE, 2004; LASALLE et al. 2009).

2.5.1 *Onchastichus goughi*

Onchastichus goughi é o primeiro exemplo de um Tetrastichinae a se tornar uma praga introduzida importante. No estado da Califórnia (Estados Unidos), por exemplo, a espécie foi introduzida e em poucos anos se encontrava disseminada em várias regiões, induzindo galhas em *Chamelaucium uncinatum* (uma espécie de flor bastante comercializada neste estado), tendo se tornado a principal praga da cultura (REDAK, BETHKE, 1994), devido às sérias deformações ocasionadas (HEADRICK; LASALLE; REDAK, 1995). As fêmeas adultas de *O. goughi* depositam seus ovos dentro das folhas jovens e ramos de sua planta hospedeira. Quando as larvas eclodem, começam a se alimentar dos tecidos da planta e uma galha é formada ao redor da área de oviposição inicial e do ponto de alimentação da larva, aumentando com a continuação da alimentação (REDAK; BETHKE, 1994). A pupação ocorre dentro da galha, de onde os adultos emergem. O ciclo de vida de *O. goughi* na Austrália dura cerca de três meses e há várias gerações por ano (HEADRICK; LASALLE; REDAK, 1995).

2.5.2 *Quadrastichus erythrinae*

Quadrastichus erythrinae foi descrita pela primeira vez em 2004 danificando plantas de *Erythrina* (utilizada como planta ornamental e para a produção de pranchas de surf) em Singapura (KIM; DELVARE; LASALLE, 2004). Embora sua origem exata permaneça

desconhecida, ela causa sérios problemas nas áreas afetadas, e sua velocidade de disseminação é incrível, sendo encontrada em vários países da Ásia (UECHI; UESATO; YUKAWA, 2007; YANG et al. 2004). A espécie apresenta potencial de disseminação para outras regiões do mundo, principalmente naquelas de clima tropical e subtropical, com áreas úmidas e quentes, onde a sua planta hospedeira esteja disponível (espécies do gênero *Erythrina*), como é o caso da África do Sul, Himalaia, algumas regiões da Argentina, sul dos Estados Unidos e Brasil (onde *E. cristagalli* é nativa) (LI et al. 2006). *Q. erythrinae* induz galhas em folhas, brotações, pecíolos e ramos de sua planta hospedeira. Em folhas, cada galha contém uma única vespa. Nas demais partes, podem-se encontrar mais indivíduos, já tendo sido observada a presença de cinco vespas em uma única galha (KIM; DELVARE; LASALLE, 2004). A espécie apresenta dimorfismo sexual, sendo a fêmea marrom amarelada e o macho branco, e ambos apresentam marcas marrom-escuras. Ocorre sobreposição de gerações (YANG et al. 2004).

2.5.3 *Ophelimus eucalypti*

Ophelimus eucalypti é uma espécie proveniente da Austrália e foi descrita pela primeira vez em 1922 como *Rhicnopeltella eucalypti*, sendo transferida posteriormente para o gênero *Ophelimus* por Boücek (1988). Esta é uma espécie que ocasiona graves danos aos eucaliptais da Nova Zelândia (WITHERS; RAMAN; BERRY, 2000), do Irã, Marrocos, Itália, Quênia, Uganda (ARZONE; ALMA, 2000) e Península Ibérica (PUJADE-VILLAR; RIBA-FLINCH, 2004), atacando várias espécies de eucaliptos (RAMAN; WITHERS, 2003). Os adultos depositam seus ovos nos ramos terminais, no pecíolo das folhas e no limbo foliar abaixo da epiderme. Os ovos são ovóides, brancos e semitransparentes. As larvas são pequenas e ápodas e pupam dentro da galha. Quando os ovos são depositados na superfície foliar, as galhas resultantes ficam umas separadas das outras, e tanto estas como os adultos que emergem, são sempre menores. Nos ramos as galhas podem causar destruição do câmbio. As galhas de *O. eucalypti* são lenticulares, pequenas e aparecem em ambas as superfícies foliares. Os insetos são pequenos (pouco mais de um (1) mm de comprimento), escuros e com reflexos metálicos. Cada fêmea é capaz de depositar 100 ovos e ocorre uma única geração por ano (WITHERS, 2003). Em *E. saligna* e *E. globulus* infestações deste inseto causam intenso desfolhamento e, consequentemente, redução na qualidade da madeira (WALSH, 1996). Intensa indução de galhas em folhas novas pode

ocasionar abscisão destas dentro de poucas semanas, embora folhas com uma densidade menor de galhas permaneçam sobre os ramos por muitos meses. Queda contínua das folhas resulta na morte de plantas jovens e declínio no crescimento de árvores velhas. Depois de ataques repetidos ocorre a diminuição da capacidade de crescimento dos ramos devido à perda das folhas e dos ramos terminais; morte dos ramos atacados e das folhas de maior tamanho e por fim a morte da planta (RAMAN; WITHERS, 2003).

2.5.4 *Ophelimus maskelli*

Ophelimus maskelli é uma espécie indutora de galhas nativa da Austrália, que causa danos em espécies de eucaliptos. Ela induz numerosas galhas lenticulares, visíveis em ambos os lados da folha. Em Israel sua população produz três gerações por ano entre a primavera e o final do outono, sendo a duração do desenvolvimento total de 80-90 dias. *O. maskelli* apresenta uma preferência por ovipositar em folhas imaturas em desenvolvimento, na região do limbo foliar próxima ao pecíolo. As fêmeas depositam uma média de 109 ovos quando mantidas com água e preferem atacar árvores de porte baixo. As galhas apresentam um diâmetro médio de 1,2 a 0,9 mm, com uma densidade de 11,5 a 36,0 galhas/cm^2, respectivamente, e apresentam uma coloração que varia de verde a avermelhada. Ataque pesado resulta em queda prematura da folha, logo depois da emergência dos adultos. Catorze espécies de eucaliptos se mostraram suscetíveis ao ataque da vespa (PROTASOV et al. 2007). Na Europa a espécie foi registrada pela primeira vez na Itália em 2000, erroneamente identificada como *O. eucalypti* (ARZONE; ALMA, 2000; VIGGIANI; NICOTINA, 2001). Depois foi detectada no sul da Espanha em 2003 (SÁNCHES, 2003), no noroeste em 2004 (PUJADE-VILLAR; RIBA-FLINCH, 2004), e no sul da França em 2005 (EPPO, 2006). Em Portugal foi registrada pela primeira vez em 2006 e 2007 (BRANCO et al. 2009) e na Turquia também em 2006 e 2007 (DOGANLAR; MENDEL, 2007).

2.5.5 *Leptocybe invasa*

Leptocybe invasa é uma espécie de Eulophidae que induz galhas em várias espécies de *Eucalyptus* (*E. bothryoides*, *E. bridgesiana*, *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. gunii*, *E. robusta*, *E. saligna*, *E. tereticomis* e *E. viminalis*), sendo encontrada em várias regiões do mundo, onde

causa danos tanto em plantios no campo como em viveiros. As galhas são produzidas nas nervuras centrais das folhas, nos pecíolos e ramos de plantas de eucalipto. Intensa infestação pode levar à deformação das folhas e redução do tamanho da árvore. Sérios danos às plantações jovens e às mudas já foram observados, no entanto, nenhum deles ocasionando mortalidade. Fêmeas inserem seus ovos na epiderme de folhas jovens, em ambos os lados das folhas e no parênquima dos pecíolos. As larvas se desenvolvem dentro das galhas, de onde os adultos emergem deixando o orifício de saída. A espécie se reproduz por partenogênese telítoca e, eventualmente produzem algum macho. Ocorrem duas a três gerações por ano em Israel. *E. camaldulensis* é particularmente suscetível ao ataque de *L. invasa*, devido à produção de novas brotações durante toda a estação quente, a qual corresponde à época de maior atividade reprodutiva da vespa. Em Israel, por exemplo, a plantação desta espécie de eucalipto foi interrompida devido ao ataque desta vespa. A espécie apresenta um crescimento populacional bastante rápido, o que deve ser resultado da reprodução telítoca, do desenvolvimento multivoltino e talvez da ausência de inimigos naturais. *L. invasa* é originária da Austrália e foi registrada pela primeira vez no Oriente Médio e na região do Mediterrâneo em 2000. Após esse primeiro relato a espécie se distribuiu com grande velocidade por vários países de África (Argéria, Etiópia, Marrocos, Tanzânia, Quênia, Uganda e África do Sul), Ásia (Índia, Irã, China, Tailândia, Israel, Jordânia, Síria, Turquia e Vietnã), Europa (Espanha, França, Grécia, Itália e Portugal) e Oceania (Nova Zelândia). No Brasil a espécie foi detectada pela primeira vez no ano de 2008 no estado da Bahia, ocasionando galhas em híbridos de *E. camaldulensis* x *E. grandis* e em São Paulo, sobre *E. grandis*. Atualmente foi encontrada no estado do Maranhão, ocorrendo sobre *E. propingua*, *E. saligna*, *E. tereticornis*, *E. robusta*, e em híbridos conhecidos de *E. urophylla* x *E. grandis*, *E. pellita* x *E. tereticornis* e de outros híbridos à base de *E. brassiana*, *E. dunnii*, *E. propinqua* e *E. pellita* (ANJOS; MAGISTRALI, 2010; COSTA et al. 2008; CABI/EPPO, 2007; FAO, 2007; MENDEL et al. 2004).

2.5.6 *Seletrichodes globulus*

Em novembro de 2008, uma nova espécie de Eulophidae, *Seletrichodes globulus*, foi descoberta formando galhas sobre ramos e pecíolos de *Eucalyptus globulus* na Califórnia (EUA). A espécie provavelmente apresenta origem australiana e vem aumentar o número de eulofídeos

indutores de galhas sobre plantas de eucaliptos e que se tornaram invasores em várias partes do mundo durante os últimos anos. *S. globulus* induz galhas com múltiplas câmaras sobre ramos e pecíolos, com ataques bastante intensos, chegando a se encontrar números acima de 20 espécimes em cerca de cinco mm de ramo. Nos Estados Unidos, *E. globulus* é considerada uma planta invasora e *S. globulus* poderia agir como agente de controle biológico. No entanto, em países onde *E. globulus* é plantado comercialmente o galhador pode se tornar uma importante praga (LASALLE et al. 2009).

2.5.7 *Epichrysocharis burwelli*

Epichrysocharis burwelli é uma microvespa com 0,5-0,6 mm de comprimento, que induz galhas em folhas de *Corymbia citriodora*. A espécie é originária da Austrália e foi registrada na Califórnia (Estados Unidos) em 2000, ocasionando danos a *C. citriodora* em áreas da cidade de Los Angeles (SCHAUFF; GARRISON, 2000). No Brasil, a primeira ocorrência deste inseto foi registrada na região de São João do Paraíso, MG, em plantios de *C. citriodora* de uma empresa produtora de óleo essencial, no primeiro semestre de 2003 (BERTI FILHO; COSTA; LASALLE, 2004). O inseto já foi encontrado também em vários outros estados das regiões sudeste e sul do país. A infestação desta microvespa nas folhas de *C. citriodora* promove o necrosamento e queda prematura destas, o que reduz a quantidade e provavelmente a qualidade do óleo essencial produzido (MÁCIAS et al. 2005). A infestação ocorre nas folhas novas, enquanto ainda estão bastante tenras e os sintomas das galhas evoluem juntamente com o crescimento da folha (SCHAUFF; GARRISON, 2000). Densidades acima de 40 galhas/cm^2 já foram registradas. As galhas de *E. burwelli* são pequenas e parecidas com bolhas, expressas em ambas as superfícies foliares e a vespa não parece mostrar preferência por uma das superfícies para emergência (LASALLE, 2005). É devido à importância apresentada por *E. burwelli* e a possibilidade de introdução de outras espécies galhadoras da família Eulophidae nocivas ao cultivo de plantas de eucalipto no Brasil, que trabalhos relacionados ao assunto são fundamentais para se manterem os reflorestamentos destas espécies em boas condições para uma produção satisfatória.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Descrição das áreas experimentais

Os experimentos ou coleta de material para realização dos mesmos foram realizados em dois locais distintos, ambos pertencentes à ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"/ESALQ/USP. A primeira área (Fazenda Areão) é localizada no município de Piracicaba/ São Paulo (latitude de 22º42'30"S; longitude de 47º38'30"W e altitude de 576 m). O clima segundo a classificação de Köeppen, é do tipo Cwa - Tropical Úmido (com chuvas de verão e três meses mais secos: junho, julho e agosto). A precipitação e temperatura média anual são de 1270 mm e 21,5ºC, respectivamente. Nessa área não foi montado nenhum experimento, pois não havia plantios de *Corymbia citriodora*, apenas quatro plantas que apresentavam uma densidade bastante elevada de galhas, e das quais material foi retirado para realização de experimentos de laboratório. A segunda área (Estação Experimental de Estudos Florestais de Itatinga) é localizada no município de Itatinga/São Paulo (latitude de 23º10'S; longitude de 48º40'W e altitude de 850m). O clima segundo a classificação de Köeppen é o mesmo da Fazenda Areão, Cwa – Tropical Úmido. A precipitação e temperatura média anual são de 1350mm e 20ºC, respectivamente. Os experimentos e coletas de material nesse local foram realizados no talhão 29, dividido em duas áreas. A área I possuía 0,3 há e a área II, 0,5 há, ambas plantadas com *C. citriodora* no ano de 1996. Para o experimento de sazonalidade, as plantas da área I foram cortadas no final de 2007, para a condução das rebrotas e início do experimento em janeiro de 2009, em plantas livres de pêlos e com altura menor.

3.2. Aspectos biológicos

3.2.1 Porcentagem de Infestação

A porcentagem de infestação de *E. burwelli* em folhas de *Corymbia citriodora* foi verificada coletando-se aleatoriamente folhas localizadas no terço médio de dez plantas diferentes, em uma área de plantio da Estação Experimental de Estudos Florestais de Itatinga. Em cada planta foram realizadas coletas em quatro posições (leste, oeste, norte e sul) e para cada uma

dessas quatro folhas foram coletadas, totalizando 160. Após a coleta cada folha foi colocada imediatamente em saco plástico devidamente rotulado, dentro do qual um pouco de água foi borrifada para que a folha se mantivesse túrgida. Uma vez no laboratório, todas as amostras foram mantidas em geladeira até o momento das análises. Para o cálculo da área foliar foi primeiramente necessário capturar a imagem de cada folha com o auxílio de um "scanner" e depois transformar cada uma dessas em escala de cinza para que fosse possível a utilização do programa SIARC, versão 3.0, para o cálculo da área em cm^2. Antes de serem descartadas, as folhas foram medidas com o auxílio de uma régua, tanto no comprimento quanto na largura, sendo esta última efetuada em três posições (proximal, mediana e distal). A folha foi então igualmente dividida em três partes, utilizando-se caneta de ponta fina, e as galhas presentes foram contadas em cada uma dessas partes, tanto na face adaxial quanto na abaxial. Foram verificados neste experimento: a porcentagem média de infestação (número de galhas/cm^2 de folha); a diferença no número de galhas considerando-se a posição da folha na planta; a diferença na infestação entre uma planta e outra; a correlação entre o comprimento e largura da folha com a porcentagem de infestação; os níveis de infestação; a diferença de infestação dependendo da posição dentro da folha e se a galha observada na face abaxial era a mesma observada na face adaxial. Além disso, foram realizadas medidas da área média ocupada por uma galha, através do programa LEICA APPLICATION SUÍTE, versão 3.4.1. Foram realizadas medidas em cinco folhas por árvore, num total de dez árvores. Para cada folha 30 medidas em cm^2 foram anotadas. Dessa forma, para cada um dos níveis de infestação constatados em número de galhas, pôde-se verificar a perda em área correspondente.

3.2.2 Horário de emergência de adultos

Para verificar o horário de emergência de adultos de *E. burwelli*, folhas de *Corymbia citriodora* foram colocadas em 25 placas de Petri de 14 cm de diâmetro, vedadas com parafilme, para que os adultos emergidos não escapassem, e mantidas em BOD, regulada para fotoperíodo: 12:12 horas; temperatura de 25º C e umidade relativa de 60%. As folhas (uma ou duas por placa) tiveram seu pecíolo coberto com algodão que era umedecido uma vez ao dia, para manter a turgescência da folha por maior período de tempo. As avaliações foram realizadas a cada uma hora por um período de 12 dias. Os adultos de *E. burwelli* que emergiram a cada intervalo de

coleta foram retirados e contados. Depois de cada observação, todas as placas das quais os adultos foram retirados, eram novamente vedadas. Nas análises foram considerados quatro períodos, madrugada (00:00–05:59), manhã (06:00–11:59), tarde (12:00-17:59) e noite (18:00-23:59). Durante as avaliações também se verificou se outros artrópodes, além da espécie estudada, emergiam das galhas, indicando um possível inimigo natural, uma outra espécie de galhador ou mesmo uma espécie inquilina. Nesse caso, estes foram coletados e conservados em álcool 70% para posterior envio para especialista no grupo em questão e identificação da espécie. Também foram feitas observações da forma de abertura da galha pelo adulto e do seu comportamento após sair desta.

3.2.3 Longevidade de adultos em diferentes dietas e sem alimento

A longevidade de adultos foi determinada por meio de quatro tratamentos: (1) sem alimento; (2) solução de mel (água destilada + mel, 1:1); (3) folhas novas de *C. citriodora*; (4) combinação dos tratamentos 2 + 3. As vespas foram colocadas em tubos de dieta de 10 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro, dentro dos quais uma placa de isopor do mesmo diâmetro do tubo e de espessura bastante fina foi colocada sobre uma porção de algodão, que era umedecido diariamente, tanto para manter a umidade dentro do tubo como para manter a folha túrgida (no caso dos tratamentos 3 e 4). Os tubos foram cobertos com tecido do tipo "voil" preso com elástico, para que os adultos não escapassem (Figura 1). A solução de mel + água foi oferecida nas paredes do tubo em três filetes bastante estreitos, feitos com o auxílio de palito de ponta fina. A folha jovem de *C. citriodora* recém coletada foi colocada no tubo em contato com o algodão embebido em água, através de um pequeno orifício feito no isopor. Todos os suprimentos alimentares foram renovados diariamente.

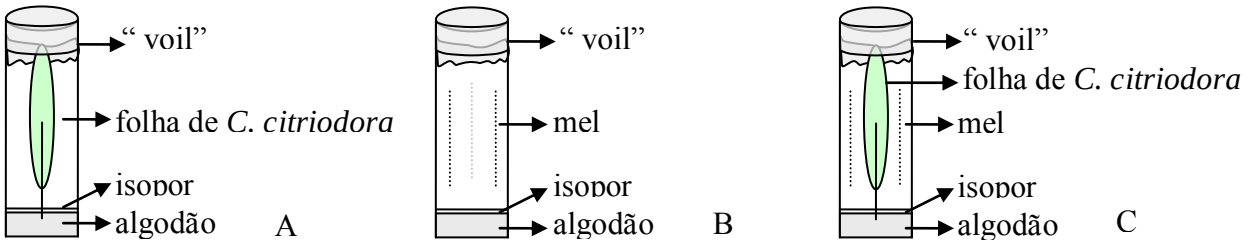


Figura 1- A) esquema do tubo de dieta com a folha jovem de *C. citriodora*; B) esquema do tubo com três filetes de mel passados na parede; C) esquema do tubo com os filetes de mel e folha jovem de *C. citriodora*

Foram utilizadas apenas vespas recém-emergidas (no máximo 1 hora após a emergência), que foram colocadas nos tubos sem nenhum contato manual, para evitar que os adultos utilizados pudessem ser comprometidos, já que são muito pequenos e bastante frágeis. Cada tratamento teve 25 repetições, mantidas em BOD, regulada para uma temperatura de 25°C, 60% de umidade e fotoperíodo de 14:10 h. A mortalidade foi verificada a cada duas horas.

3.2.4 Razão sexual e caracterização do macho de *E. burwelli*

A razão sexual de *E. burwelli* foi verificada observando-se a região terminal de 1152 exemplares em posição ventral com o auxílio de microscópio estereoscópio. Para facilitar o manuseio dos indivíduos, estes foram colocados em vidro de relógio contendo uma solução de álcool 70% e uma pequena quantia de álcool gel. Os indivíduos utilizados foram coletados em diferentes épocas entre os anos de 2007 e 2009 e em dois locais distintos. Uma parte foi coletada na Estação Experimental de Itatinga e, a outra, na Fazenda Areão (Piracicaba).

A caracterização do macho de *E. burwelli* foi realizada através de dois métodos: preparo de lâminas para visualização em microscópio ótico, com posterior realização de desenhos e microscopia eletrônica de varredura. O preparo das lâminas foi realizado no Instituto Biológico de Campinas e seguiu a metodologia proposta por Platner; Planoutene e Pinto (1999), com os seguintes passos:

- clarificação com NaOH (10%) à quente por alguns segundos, evitando-se a fervura do material (para que não se formem bolhas no corpo do espécime). A clarificação serve para digerir os tecidos internos, mantendo somente partes quitinizadas;
- desidratação com concentrações crescentes de etanol, sendo o primeiro banho composto de etanol (10%) + triton, que serve para limpar o NaOH. O segundo banho será com etanol a 20%, e daí por diante as concentrações crescerão 20% a cada banho, até atingir a concentração de 100%, na qual os insetos passarão por dois banhos. Cada banho terá uma duração de 25 minutos;
- imersão em óleo de cravo, para retirar o restante da água presente no corpo do inseto e aumentar a clarificação do exemplar;
- montagem de lâminas com bálsamo do Canadá.

Após a montagem das lâminas estas foram observadas em microscópio de luz com câmara clara acoplada, onde desenhos foram realizados, principalmente no sentido de demonstrar quaisquer características que diferenciassem os sexos. A caracterização da genitália dos machos através de microscopia eletrônica de varredura foi realizada no NAP/MEPA-ESALQ/USP utilizando-se o microscópio modelo Zeiss DMS 940 A. O protocolo para o preparo das amostras foi o padrão utilizado pelo NAP/MEPA-ESALQ/USP, seguindo-se os seguintes passos: fixação com aldeído, pós-fixação com tetróxido de ósmio, desidratação e metalização.

3.2.5 Duração de período ovo-adulto

O período de desenvolvimento de *E. burwelli* foi determinado em campo, devido à impossibilidade da realização em condições controladas de laboratório e em estufa. Foram utilizadas no experimento oito plantas, que apresentavam cerca de dois a três metros de altura. Em cada uma delas foram escolhidos apenas ramos que apresentavam brotações contendo adultos ovipositando. Para cada planta foram utilizados entre dois e três ramos. Foram realizadas observações prévias, nas quais se verificou que o segundo par de folhas da brotação, era preferido para oviposição. Portanto, nessas brotações, o segundo par de folhas foi marcado com uma linha, de forma que essa ficasse presa ao pecíolo, mas sem estrangulá-lo (Figura 2, A). Cada árvore foi marcada com uma fita fluorescente, assim como cada um dos ramos, contendo as anotações devidas (Figura 2, B).

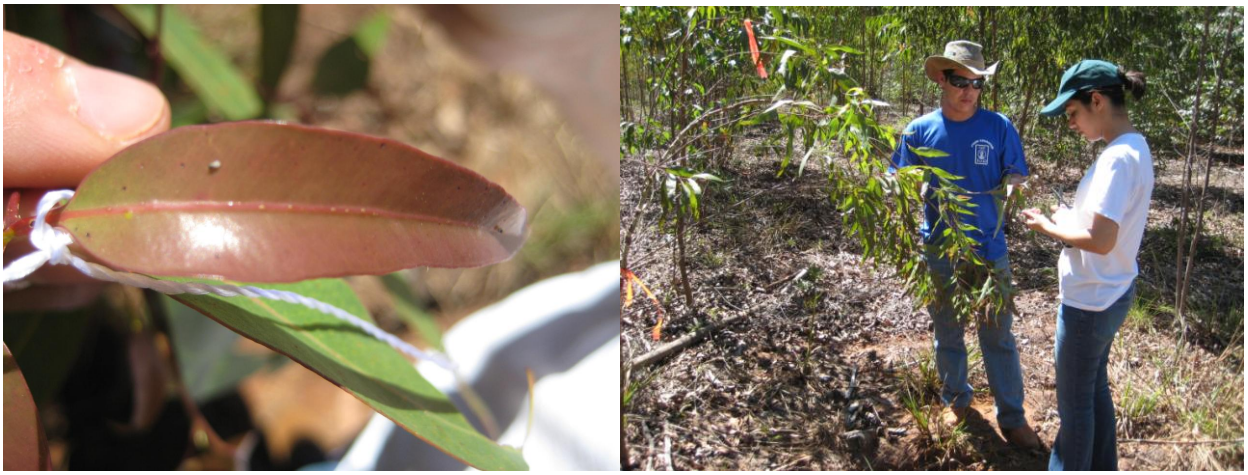


Figura 2- Marcação de plantas para estudo do ciclo de *Epichrysocharis burwelli* em área da Estação Experimental de Estudos Florestais de Itatinga/SP. (A) Folha utilizada demonstrando a forma de marcação com linha do pecíolo e, (B) Árvores e ramos marcados com fita fluorescente

O número da linha dentro do talhão em que se encontravam as árvores utilizadas foi anotado, para facilitar a localização das plantas nas observações posteriores. Semanalmente as folhas marcadas foram observadas e a progressão dos sintomas das galhas fotografadas e descritas. O período total (da oviposição a emergência dos adultos), foi registrado, assim como a variação no desenvolvimento da galha. Este experimento foi realizado no segundo semestre de 2009, entre os meses de setembro de dezembro.

3.3 Aspectos ecológicos

3.3.1 Sazonalidade de adultos no campo

Para verificar a sazonalidade de adultos de *E. burwelli* foram realizadas coletas mensais de folhas de brotações de *C. citriodora* na Estação Experimental de Itatinga durante o ano de 2009. A cada coleta 20 plantas foram tomadas ao acaso e para cada uma delas dez folhas de brotação foram coletadas e colocadas em sacos plásticos. Durante o decorrer do ano, com o crescimento das plantas, os galhos contendo brotações precisaram ser abaixados para a realização das coletas. Isso foi realizado tomando-se o cuidado para que os adultos ali presentes não fugissem. A sazonalidade do adulto foi verificada durante esse período principalmente no sentido de verificar se havia uma única ou mais épocas de ocorrência do adulto. Também foram realizadas observações dos demais estágios de desenvolvimento da galha, para saber se estavam presentes.

3.3.2 Nível de infestação em campo e influência da pilosidade

O nível de infestação de galhas e a influência da pilosidade foram verificados em uma área da Estação Experimental de Estudos Florestais de Itatinga, durante os meses de junho e julho de 2008. As plantas haviam sido recentemente cortadas e a rebrota estava sendo conduzida havia três meses. Como a rebrota ainda estava bastante nova, várias plantas apresentavam a característica de juvenilidade de *C. citriodora*, que é uma intensa pilosidade das folhas, que aparentemente, era um fator que afetava a ocorrência de *Epichrysocharis burwelli*. A avaliação foi realizada observando-se todas as plantas e em cada uma delas todas as folhas. Para cada

planta foi verificada a presença de adultos de *E. burwelli* ovipositando e também foi anotado se a planta apresentava pilosidade ou não.

3.4 Redução no rendimento de óleo essencial

Para verificar a redução no rendimento de óleo essencial ocasionado pelas galhas, foram utilizados os dados do experimento de Porcentagem de Infestação, no qual foram definidos quatro níveis de infestação: alto, médio e baixo. Para cada um destes níveis, o rendimento de óleo foi avaliado e comparado com aquele de folhas sem a presença de galhas. Para cada intervalo (tratamento) e para a testemunha (folha sem galhas), foram utilizadas cinco repetições, com 150 g de folhas frescas para cada uma. Para verificar o rendimento de óleo foram coletadas amostras de 1,5 Kg de folhas para cada um dos tratamentos, as quais foram embaladas em sacos plásticos e armazenadas em câmara fria (-20°C) até o momento da destilação, que ocorreu em menos de 24 horas após a coleta, para não prejudicar os resultados. O rendimento de óleo foi verificado através de hidrodestilação das folhas durante 50 minutos. O óleo coletado foi pesado em balança analítica para posterior cálculo do rendimento e foi realizada uma correção de peso para volume utilizando-se a densidade do óleo (aproximadamente 0,86). A cada hidrodestilação toda a vidraria foi limpa com álcool 92% e água corrente. O material vegetal utilizado nesse experimento era proveniente de plantas conduzidas em sistema de rebrota com ramos de aproximadamente um ano de idade.

3.5 Análises estatísticas

Foram realizadas as análises estatísticas pertinentes dependendo dos dados obtidos. Foram realizados testes de homogeneidade de variância e homocedasticidade, para verificar a necessidade de transformação dos dados ou emprego de estatística não-paramétrica. Para o experimento de porcentagem de infestação de galhas em folhas, de longevidade de adultos, de local da folha e período de emergência foram encontradas discrepâncias entre os dados e, portanto, esses foram transformados em $\sqrt{(x + 9)}$ e $\sqrt{(x)}$, $\sqrt{(x + 8)}$ e $\log (x + 10)$, respectivamente. Foram realizadas análises de comparação de médias e no caso em que se encontraram diferenças significativas, testes de separação de médias foram empregados. No experimento de nível de

infestação, foram realizadas anotações apenas de presença e ausência. Por questões de análise estatística, foram formados grupos de 11 plantas e a abundância foi verificada. O teste-*t* foi aplicado aos dados. Gráficos foram feitos com os resultados apresentados. O programa estatístico SAS foi utilizado.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Porcentagem de Infestação

As galhas de *Epichrysocharis burwelli* são pequenas, lenticulares, e expressas em ambas as superfícies foliares (Tabela 1). Os orifícios de emergência são encontrados tanto na superfície superior quanto na inferior, não havendo uma preferência para a emergência do adulto (P>0,005). As galhas de *E. burwelli* foram encontradas em 65,4% das folhas avaliadas, com densidades bastante variáveis, desde 0,04 até 44,10 galhas/cm^2. Em valores totais, chegou-se a contar em uma única folha 1400 galhas. O valor médio de galhas em todas as folhas avaliadas foi de sete galhas/cm^2. Também foi observada uma grande variação entre árvores em relação ao nível de infestação (F=63,41; P<0,001) (Figura 3).

Tabela 1– Número médio de galhas de *Epichrysocharis burwelli* encontrado na superfície adaxial e abaxial de folhas de *Corymbia citriodora* em três posições diferentes da folha coletadas na Estação Experimental de Estudos Florestais de Itatinga/SP[1]

Posição na folha	Superfície da folha	Número médio de galhas
Proximal	Adaxial	164,34 **a**
	Abaxial	166,90 **a**
Mediana	Adaxial	182,97 **a**
	Abaxial	180,31 **a**
Distal	Adaxial	60,12 **a**
	Abaxial	61,12 **a**

[1] Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste *t* (P <0,01).

Os resultados obtidos nesse estudo são coerentes aos observados na literatura para a mesma espécie de galhador e para outras espécies da subfamília Tetrastichinae que também induzem galhas em folhas de eucaliptos. La Salle (2005) cita densidades de galhas de *E. burwelli* em folhas de *C. citriodora*, sob alta infestação, superiores a 40galhas/cm^2. Protasov et al. (2007) avaliando a correlação entre densidade e tamanho das galhas de *Ophelimus eucalypti* em folhas de *Eucalyptus camaldulensis*, verificaram um claro relacionamento entre esses dois parâmetros. As densidades observadas variaram de 11,5 a 36,0 galhas/cm^2, com diâmetros das galhas variando entre 1,2 a 0,9 mm, respectivamente. Withers; Raman e Berry (2000) encontraram

diferenças entre o número médio de galhas dessa mesma espécie de galhador em folhas dependendo da espécie de eucalipto avaliada; em *E. botryoides*, *E. saligna* e *E. deanei* os números médios de galhas nas folhas infestadas foram de 10,7, 11,7 e 1,8, respectivamente, indicando uma diferença na densidade de galhas dependendo da suscetibilidade da espécie de hospedeiro utilizada.

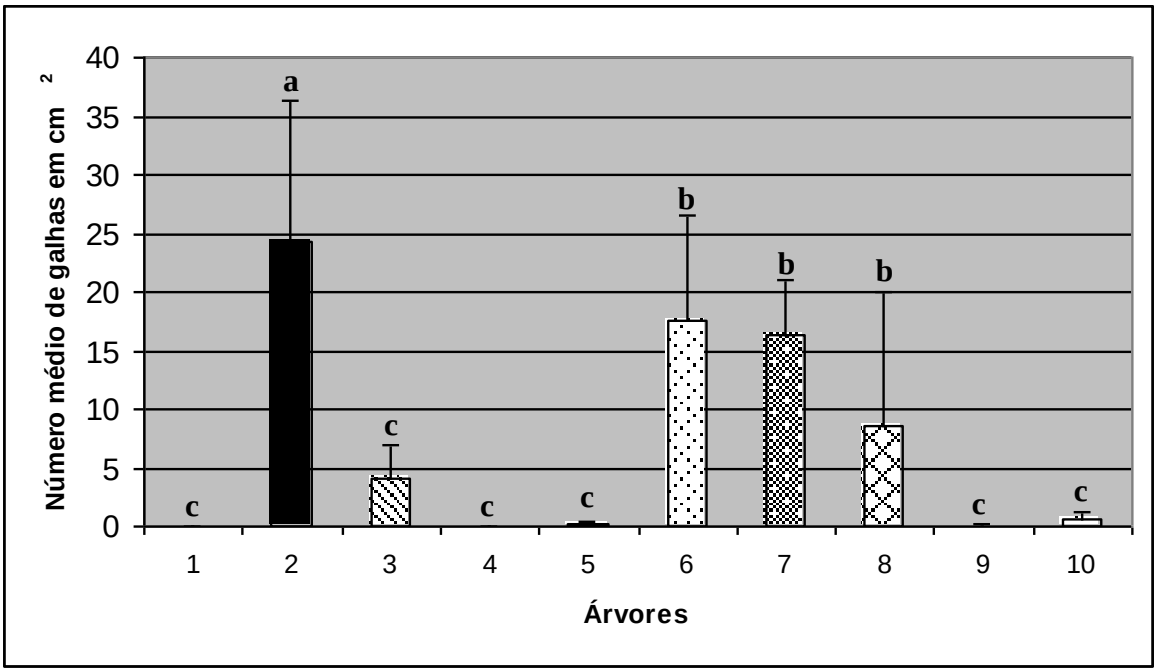


Figura 3- Número médio (+ desvio padrão) de galhas de *Epichrysocharis burwelli* encontradas em folhas de dez árvores de *Corymbia citriodora*. Itatinga/SP, Estação de Estudos Florestais. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05)

É difícil determinar exatamente qual o fator responsável pela variação tão grande na densidade de galhas observada tanto para *E. burwelli* como para outras espécies de galhadores, uma vez que em algumas folhas, as galhas mesmo em quantidades bastante baixas, ainda estavam presentes. Isso provavelmente indica uma variação no grau de resistência ou de suscetibilidade das plantas ao ataque das vespas galhadoras. Skuhravá e Skuhravý (1992) estudando a biologia de quatro espécies de galhadores sobre *Phragmites commmunis*, uma espécie de capim muito comum na Tchecoslováquia, verificaram uma grande variação no grau de infestação das galhas sobre a planta hospedeira e comentam sobre a dificuldade em se determinar a real causa da mortalidade da fase de ovo e larva dentro da planta, que podem ser afetados por condições de umidade e seca excessivas, pelo sol, temperaturas muito altas ou baixas ou pela resistência da planta hospedeira. No caso de *E. burwelli* sobre *C. citriodora*, os fatores abióticos não

explicariam uma variação tão grande na densidade de galhas, já que as folhas foram coletadas em uma mesma época do ano, e apresentavam a mesma idade. Nesse caso, a resistência de algumas plantas hospedeiras seria provavelmente o fator responsável pela grande variação encontrada. Um outro resultado que reforça essa hipótese é a grande diferença encontrada entre árvores em relação à ocorrência das galhas nesse experimento. Algumas árvores apresentaram estatisticamente mais galhas que outras ($F=63,77$; $P<0,001$), em detrimento de algumas em que nenhuma galha foi observada dentre as folhas coletadas, mesmo observando-se adultos ovipositando nessas plantas (Figura 3). Westphal (1992) comenta sobre o comportamento compatível ou não compatível que comumente ocorre entre ácaros galhadores e suas plantas hospedeiras. Relacionamentos compatíveis sobre plantas suscetíveis levam a cecidogênese típica, enquanto um relacionamento incompatível sobre plantas resistentes é caracterizado pela ausência de desenvolvimento da galha e a formação de lesões necróticas no local. Fernandes (1998) descreve uma resposta de resistência a ovos de cecidomiídeos que envolve necrose localizada de células e a morte da larva. Respostas induzidas de plantas a herbívoros podem ser físicas, nutricionais, ou aleloquímicas, quando estas sofrem algum dano ou estresse. Defesas induzidas são benéficas para as plantas elicitoras, uma vez que estas reduzem o sucesso e/ou a preferência dos insetos herbívoros. Um tipo especial de defesa induzida, a reação de hipersensibilidade, é muito comum contra insetos sésseis, e ocorre através de uma resistência localizada e que pode ser detectada na área imediatamente adjacente ao local de oviposição. As respostas do hospedeiro incluem mudanças fisiológicas e histológicas que causam a morte do tecido atacado e consequentemente da larva ou do ovo ali presentes (FERNANDES et al. 2000). Fernandes, Duarte e Lüittge (2003) estudando a reação de hipersensibilidade de *Fagus sylvanica* sobre a formação de galhas de duas espécies de Cecidomyiidae, verificaram que esta reação foi o fator de mortalidade mais importante agindo sobre a população dos galhadores estudados. Mais de 77% das tentativas em induzir galhas sobre *F. sylvanica* falharam. Nas dez plantas estudadas, 214 galhas foram induzidas com sucesso sobre 200 brotos amostrados. Se, entretanto, a reação de hipersensibilidade (falha em induzir a galha) fosse considerada, o número subiria para 1285. Estes autores também encontraram uma grande variação na porcentagem média de folhas atacadas entre árvores (3% a 92,3%) e também dentro da mesma planta. A reação de hipersensibilidade é caracterizada pelo aparecimento de um halo marrom ao redor do ponto de indução da galha e pela enorme variação na frequência entre genótipos hospedeiros e dentro do

mesmo genótipo. Esse possivelmente pode ser o mesmo caso que ocorreu com *E. burwelli* sobre *C. citriodora*, já que em muitas folhas pôde-se observar uma mancha marrom no local que possivelmente seria a tentativa do inseto em induzir uma galha.

Houve uma correlação significativamente positiva entre largura e comprimento de folhas com a porcentagem de infestação ($P<0,001$), com um coeficiente de correlação (r) de 0,249. Este resultado sugere uma provável preferência do adulto em ovipositar e se desenvolver em folhas maiores (mais largas e mais compridas). É difícil saber, entretanto, qual a causa dessa preferência; se química (por alguma substância diferenciada presente nesse tipo de folha) ou se puramente visual. Essa informação é bastante interessante no momento de se selecionar plantas com folhas mais estreitas para cultivo, desde que estas não tenham rendimentos de óleo inferiores. Portanto, mais estudos são necessários para se tentar entender melhor esse relacionamento e tentar utilizá-lo para um melhor manejo da espécie.

Não foram encontradas diferenças no grau de infestação de folhas entre os locais da planta, norte, sul, leste e oeste ($F=0,24$, $P>0,05$) (Figura 4) e entre as diferentes partes da folha (proximal, mediana e distal) ($F=2,00$, $P>0,05$), o que indica que o inseto não apresenta um local preferencial na folha para oviposição. (Figura 5). Estes resultados diferem daqueles encontrados por Protasov et al. (2007), que encontraram densidades de galhas de *Ophelimus maskelli* sobre *Eucalyptus camaldulensis* significativamente superiores próximas ao pecíolo, havendo um gradiente de densidade ao longo da superfície foliar, que foi maior próxima ao pecíolo e menor na seção distal da folha. Estes mesmos autores também verificaram a influência do posicionamento das folhas na planta sobre a coloração das galhas, e encontraram um efeito significativo. Aquelas folhas que se encontravam na posição norte apresentaram uma maior proporção de galhas verdes que aquelas que se encontravam na posição sul, onde uma maior proporção de galhas vermelhas foram encontradas. As posições leste e oeste tiveram proporções intermediárias. Esta influência é explicada pela exposição maior das folhas que se encontravam na posição norte ao sol. Maunders; Brown e Woolhouse (1983) e Raman e Withers (2003) sugerem que a coloração vermelha é o resultado da conversão de flavonóides em antocianinas, e essa reação é dependente da exposição das folhas ao sol. No caso de *E. buwelli* as galhas não apresentam essa variação na coloração, a não ser nos estágios iniciais logo após a oviposição, entretanto, essa característica logo é perdida, assim que a galha inicia seu processo de intumescimento.

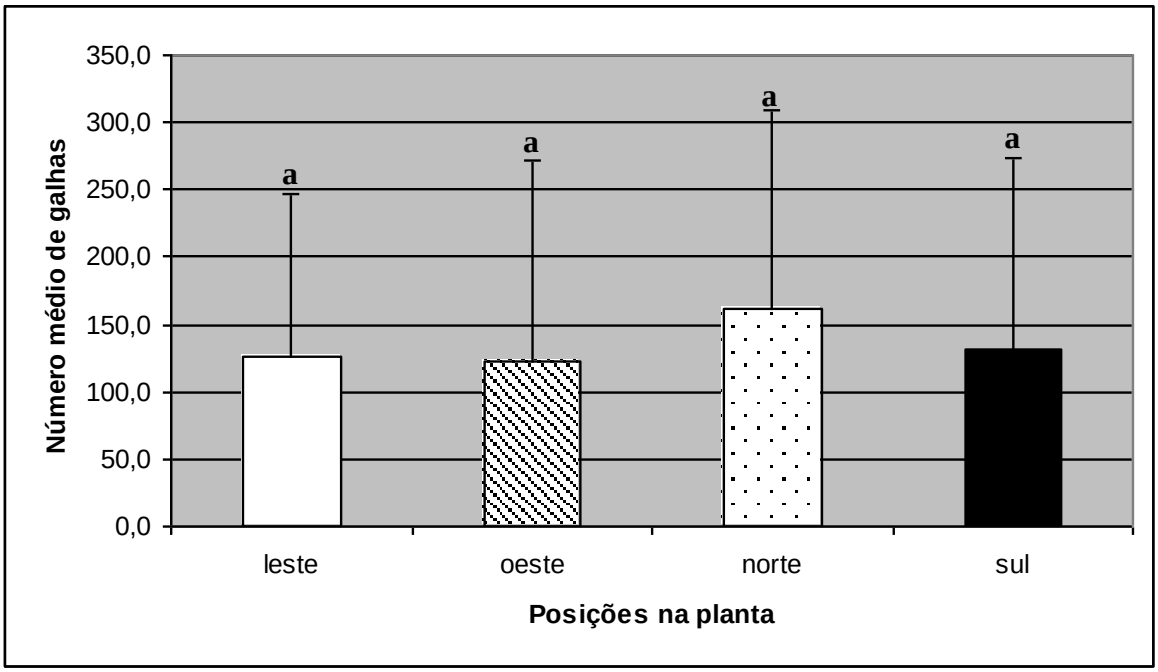


Figura 4- Número médio (+ desvio padrão) de galhas encontradas em folhas de *Corymbia citriodora* em quatro posições da planta, leste, oeste, norte e sul. Itatinga/SP, Estação Experimental de Estudos Florestais/ESALQ/USP. Médias seguidas de mesma letra não são estatisticamente diferentes (P>0,05, teste de Tukey)

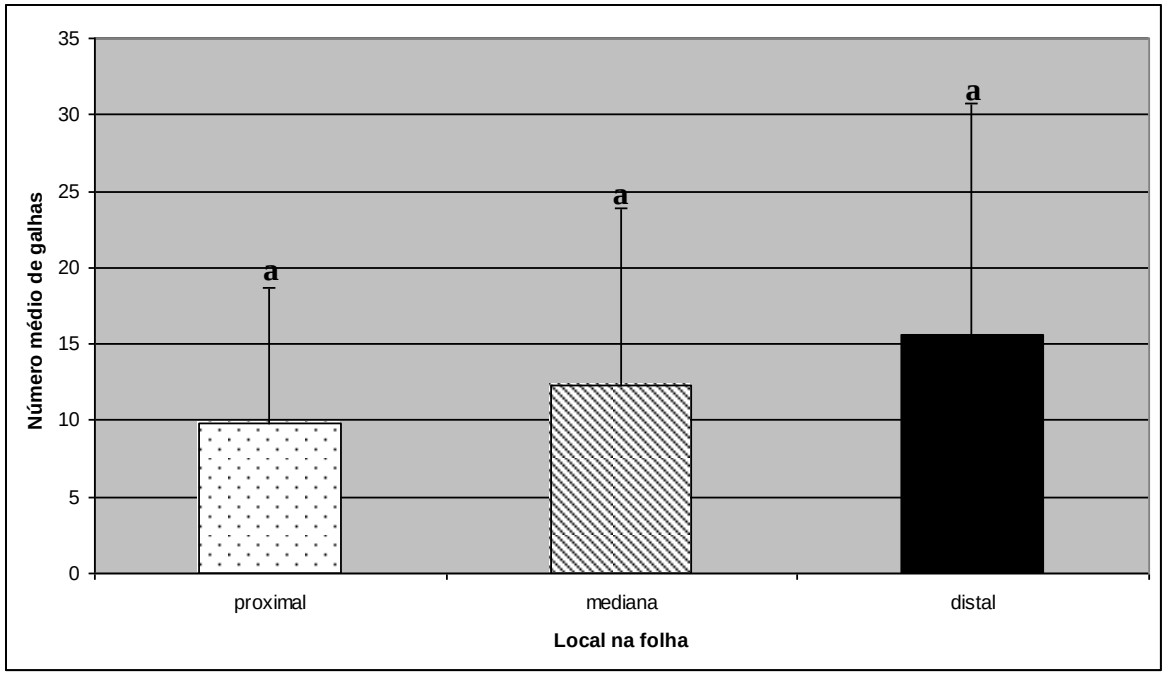


Figura 5- Número médio (+ desvio padrão) de galhas encontradas em diferentes locais das folhas de *Corymbia citriodora*. Itatinga/SP, Estação Experimental de Estudos Florestais/ESALQ/USP. Médias seguidas de mesma letra não são estatisticamente diferentes (P>0,05, teste de Tukey)

Em relação à distribuição da densidade de galhas nas folhas verificou-se uma maior freqüência de densidades menores (0-100 galhas/folha, representando 63% do total). 55 folhas (34,38% do total) não apresentaram nenhuma galha e os níveis mais altos de densidade ocorreram com freqüências bastante baixas nas folhas avaliadas. De acordo com essa densidade, a infestação de galhas em folhas foi dividida em quatro classes: sem infestação, infestação baixa (1-468 galhas/folha), infestação média (469-947 galhas/folha) e infestação alta (948-1433 galhas/folha). Como a área média de folhas observada foi de 29,28 cm^2, e das galhas de 0,04 cm^2, as infestações, baixa, média e alta tiveram em média uma perda em área ocasionada pelas galhas de 9,34% (± 0,04-18,72%), 28,32% (±18,76-37,88%) e 47,62% (±37,92-57,32%), respectivamente. Estes valores foram utilizados no experimento de rendimento de óleo essencial. Para cada uma das classes, a porcentagem de folhas foi de 34,38% (sem infestação), 43% (infestação baixa), 16% (infestação média) e 6,62% (infestação alta).

4.2 Horário de emergência de adultos

Durante o período do experimento, um total de 7350 adultos emergiram das folhas utilizadas. A emergência de *E. burwelli* ocorreu durante todo o dia, no entanto, foi durante os períodos da manhã e madrugada que ocorreram estatisticamente os maiores valores ($F= 76,36$; $P<0,001$), com 60% (4189 adultos) e 32% (2347 adultos), respectivamente. Nos períodos da tarde e noite houve apenas 8% do total de emergência, com significativamente menos adultos emergindo no período da noite. Considerando-se todos os períodos, os valores máximos ocorreram entre 06:00 e 10:00 horas, com um total de 4082 adultos (55,5%). Em valores médios emergiram 340 adultos durante esse período, com o pico ocorrendo às 09:00 horas, com uma média de 105 insetos (Figura 6 e 7).

Em relação ao comportamento durante a emergência pode-se dizer que o inseto assim que atinge o estágio adulto começa a fazer um orifício de emergência com suas mandíbulas. Essa atividade demora vários minutos e assim que o inseto consegue abrir um orifício de tamanho suficientemente grande para que sua cabeça passe, ele sai da galha. Após sair o inseto demora alguns segundos para que suas asas se estiquem. Os adultos geralmente se limpavam bastante após a emergência e somente depois disso começavam a andar pela folha.

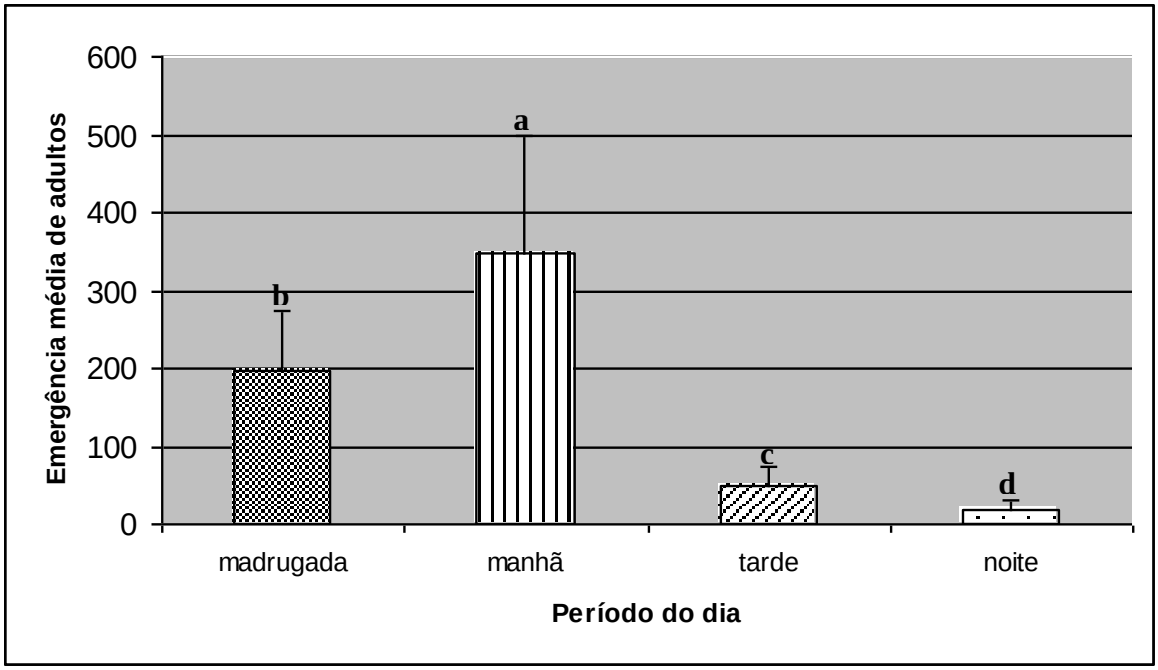


Figura 6- Número médio (+ desvio padrão) de emergência de adultos de *Epichrysocharis burwelli* em placas de Petri, mantidas em BOD (T = 25°C, UR ± 60% e fotofase de 12 h) nos diferentes períodos do dia. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05)

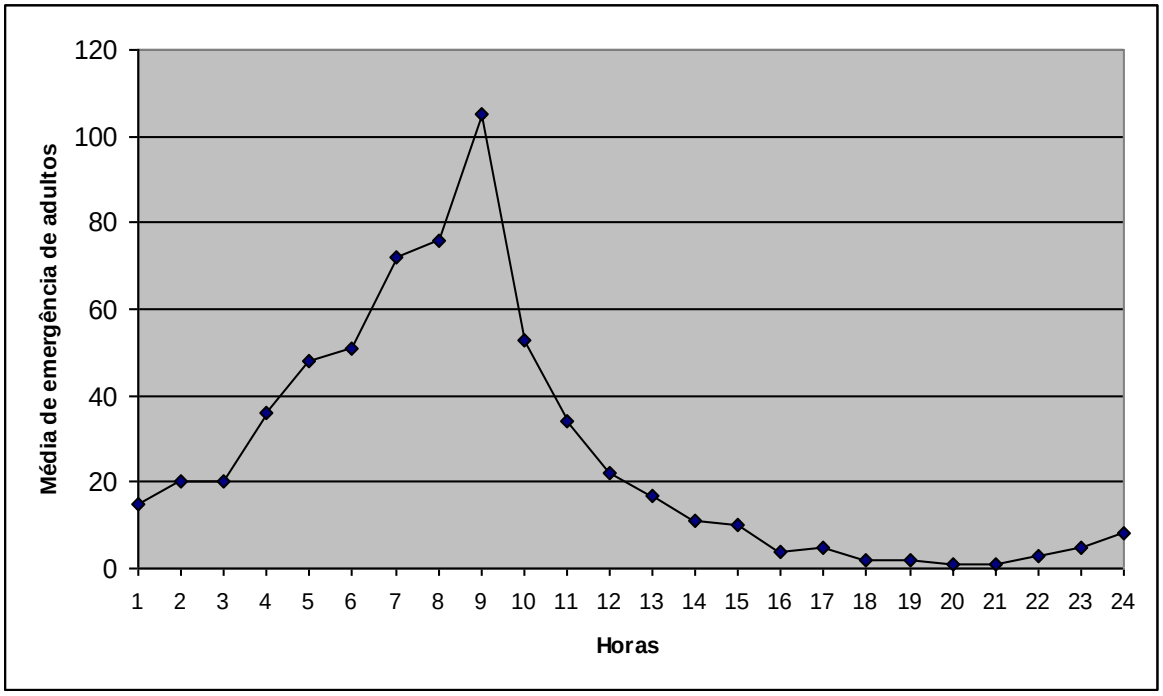


Figura 7- Número médio de emergência de adultos de *Epichrysocharis burwelli* em placas de Petri, mantidas em BOD (T = 25°C, UR ± 60% e fotofase de 12 h) durante um intervalo de 24 horas

Muitos insetos são listados na literatura por apresentarem horários definidos de emergência ou de atividade. Esse ciclo constante que ocorre durante as 24 horas do dia, pode ser controlado por fatores exógenos (respostas diretas às mudanças ambientais) ou endógenos (controlados por oscilações circadianas, que são parte da constituição fisiológica do organismo), ocorrendo na maioria das vezes como resposta a ambos componentes. Embora os ritmos de atividade sejam controlados por oscilações endógenas, estes são continuamente modulados por efeitos diretos dos ciclos ambientais de luz e temperatura, particularmente mudanças abruptas na intensidade luminosa durante o crepúsculo e amanhecer (SAUNDERS et al. 2002). Morgan e Waddell (1960) estudando a variação diurna na emergência de insetos aquáticos encontraram relação entre esta e a luminosidade e a temperatura da água. O período entre 02:00 e 08:00 horas foi geralmente aquele que obteve emergência mínima para todos os grupos de insetos estudados. As temperaturas da água e do ar são mínimas durante este período e estas condições são citadas pelos autores como podendo ser desfavoráveis para a emergência dos insetos estudados. Brumannavar et al. (2004) estudaram o ciclo diário de emergência do galhador *Cecidochares connexa* (Diptera: Tephritidae) em condições controladas de temperatura e luminosidade, e verificaram um pico de emergência de adultos (70,4%) às 10:00 horas, com atividade de adultos entre 08:00 e 14:00 horas. Cross e Ridout (2001) estudando o ácaro galhador *Cecidophyopsis ribis* verificaram um forte ritmo de emergência diurna, controlado por luz e temperatura, com virtualmente nenhuma emergência ocorrendo entre 23:00 e 09:30 horas. Omoloye e Odebiyi (2001) em estudos do ciclo de emergência e oviposição do galhador *Orscolia oryzivora* (Diptera: Cecidomyiidae) verificaram a ocorrência de um ritmo circadiano governado endogenamente. A emergência dos adultos e comportamento de oviposição apresentou um ciclo bem definido de seis horas que se iniciava às 18:00 e terminava às 24:00 horas, todos os dias, durante os cinco dias de emergência. Todos os resultados observados na literatura diferem consideravelmente um do outro e também em relação ao estudo em questão. Morgan e Waddell (1960) comentam que o ciclo de emergência é característico de cada espécie e para cada uma é regido de forma diferente, ou seja, os fatores que governam essa atividade é espécie-específico.

No caso de *E. burwelli* é difícil saber se emergência ocorre em resposta a fatores exógenos, como temperatura e luminosidade, ou a fatores endógenos, ligados ao ritmo circadiano da espécie. Talvez este último seja mais importante em reger a emergência, uma vez que esta ocorreu tanto durante as horas de claro como de escuro e a temperatura durante o experimento foi

constante. Devido ao tamanho bastante reduzido do inseto, pode ser que seja interessante para a espécie que o adulto tenha uma emergência maior nas horas mais frescas do dia, para evitar dessecação pelo sol e mortalidade elevada. Omoloye e Odebiyi (2001) comentam que o horário de atividade de uma espécie é uma ferramenta de sobrevivência que a protege contra perigos biológicos e ambientais. No entanto, do ponto de vista antropocêntrico, essa informação pode ser utilizada para facilitar as amostragens e monitoramento das espécies, tanto quanto para uma seleção e aplicação de apropriados métodos de controle. Apesar disso, existem poucos trabalhos da literatura que estudam os ciclos de emergência e atividade das espécies, principalmente sobre insetos galhadores.

Durante todos os dias do experimento ocorreu elevada emergência de adultos, havendo inclusive um incremento a cada dia (Figura 8). É interessante notar que mesmo depois de tantos dias após serem retiradas das plantas, as folhas continuavam apresentando uma emergência bastante elevada. Isso demonstra a capacidade do inseto em continuar emergindo por muitos dias, mesmo após a queda da folha.

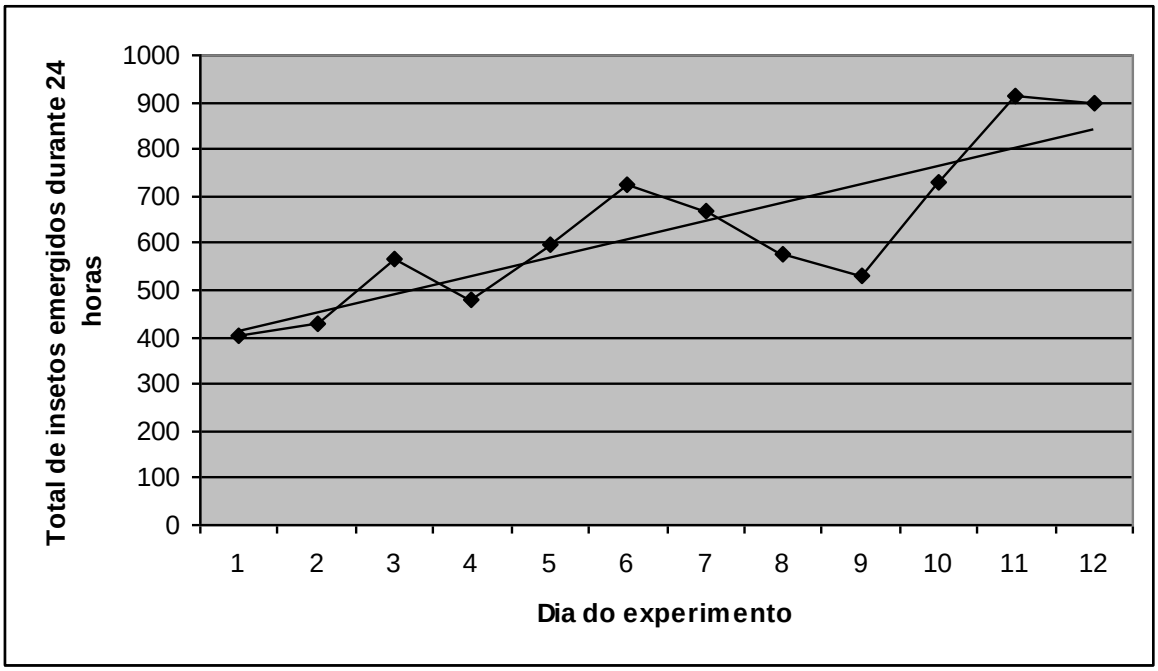


Figura 8- Número total de emergência de adultos de *Epichrysocharis burwelli* em placas de Petri, mantidas em BOD (T = 25°C, UR ± 60% e fotofase de 12 h) durante cada um dos dias do experimento

Durante a realização deste experimento foi constatada a presença de uma outra espécie de vespa da família Eulophidae presente nas folhas de *C. citriodora*, numa quantidade bastante elevada. Esses indivíduos estavam saindo das galhas que eram de *E. burwelli* ou idênticas a elas. Esses espécimes foram coletados e enviados ao Dr. Valmir Antônio da Costa, que por sua vez, após o preparo do material, enviou para o Dr. Jonh La Salle, especialista no grupo, que em um primeiro momento acredita se tratar de uma nova espécie do gênero *Selitrichodes*, também pertencente à subfamília Tetrastichinae. Não é possível dizer até o momento se essa espécie encontrada seria um parasitóide de *E. burwelli*, ou se é um indutor de suas próprias galhas. No caso da espécie encontrada ser um parasitóide, um fato interessante de se notar é que este apresenta um tamanho superior ao de *E. burwelli* (0,8mm x 0,5-0,6mm). Já para o caso da espécie induzir suas próprias galhas, esta teria uma galha muito semelhante à de *E. burwelli*, o que não é muito comum, já que cada espécie apresenta galhas muito características, podendo muitas vezes ser identificada somente pela galha que induz (MANI, 1964). Espécies pertencentes ao gênero *Selitrichodes* parecem ser principalmente parasitóides de vespas indutoras de galhas, inclusive com a espécie *S. kyrceri*, que foi recentemente introduzida em Israel, como parte do programa de controle biológico para conter os severos danos causados por *Leptocybe invasa* a plantações de *Eucalyptus* nesse país (KIM et al. 2008). No entanto, uma outra espécie desse gênero (*S. globulus*) foi encontrada em Los Angeles, Califórnia, induzindo galhas em ramos finos de *Eucalyptus globulus*, com uma densidade bastante elevada de galhas por ramo. Nesse país, a espécie não é um problema, uma vez que *E. globulus* ultimamente é considerada uma planta invasora, entretanto, em países onde essa espécie de eucalipto é cultivada comercialmente, esse galhador aumenta a lista de vespas potencialmente importantes como pragas (LA SALLE et al. 2009).

A espécie de *Selitrichodes* coletada nesse estudo é um Tetrastichinae amarelo de 0,8mm de comprimento (Figura 9 a, b) e somente fêmeas foram obtidas do material coletado. Um fato bastante importante é que esse inseto, a partir do momento que foi encontrado pela primeira vez nas folhas de *C. citriodora*, aumentou consideravelmente em número, em poucos meses de coleta. No final de alguns experimentos foi bastante difícil encontrar adultos de *E. burwelli*, uma vez que praticamente só emergiam adultos dessa nova espécie. Isso indica que, tanto para o caso desta ser um parasitóide ou uma outra espécie de galhador, a agressividade é alta, podendo controlar ou deslocar *E. burwelli* da população em que for introduzida.

Figura 9 - *Seletrichodes* sp. a) adulto em vista lateral; b) adulto em vista dorsal. Espécimes coletados na Fazenda Areão, Piracicaba, São Paulo

4.3 Longevidade de adultos

A sobrevivência das vespas adultas diferiu significativamente entre os tratamentos ($F = 21,3$; $P < 0,001$) (Figura 10). As vespas que tiveram a solução de mel incorporada à dieta, tanto isolada quanto juntamente com folhas jovens de *C. citriodora* tiveram significativamente as maiores médias de longevidade, (7,68 ± 4,1 dias) e (5,59 ± 3,2 dias), respectivamente. A longevidade de adultos para os quais apenas água foi oferecida, foi significativamente menor (0,83 ± 0,5 dia), assim como para aqueles que receberam apenas brotações jovens de *C. citriodora* (0,84 ± 1,25 dia) (Figura 10). A utilização de mel, portanto, resultou em um incremento positivo sobre a longevidade de *E. burwelli* no experimento. Esta dieta foi previamente encontrada como sendo a melhor para aumentar a longevidade não somente de outras vespas galhadoras, mas também de seus parasitóides. Mendel et al. (2004), avaliando o efeito da alimentação sobre a longevidade de *Leptocybe invasa*, verificaram resultados bastante semelhantes. As vespas que foram alimentadas com mel ou com flores viveram significativamente mais que aquelas para as quais se ofereceu somente água ou ramos jovens da

planta hospedeira. Esta dieta também aumentou consideravelmente a longevidade de *Ophelimus eucalypti* e *O. maskelli* e também dos parasitóides de *L. invasa* (*Selitrichodes kyrceri* e *Quadrastichus mendeli*) e de *O. maskelli* (*Stethynium ophelimi* e *S. breviovipositor*) (MENDEL et al. 2007; PROTASOV et al. 2007b; WITHERS; RAMAN; BERRY, 2000). Estes resultados sugerem que adultos podem prolongar sua atividade no campo alimentando-se sobre flores de suas plantas hospedeiras ou sobre exsudatos. (KIM et al. 2008; HUBER et al. 2006). No caso de *E. burwelli*, em condições normais de campo, a alimentação de adultos com flores é uma hipótese pouco provável, uma vez que o sistema em que *C. citridora* é conduzido (coletas anuais ou a cada oito meses de considerável parte da copa) não permite o aparecimento de flores. Uma possibilidade seria a utilização de exsudatos da planta hospedeira ou de outras plantas de sub-bosque que estejam presentes na área, mas isto seria pouco provável uma vez que o inseto fica preso devido ao seu tamanho reduzido.

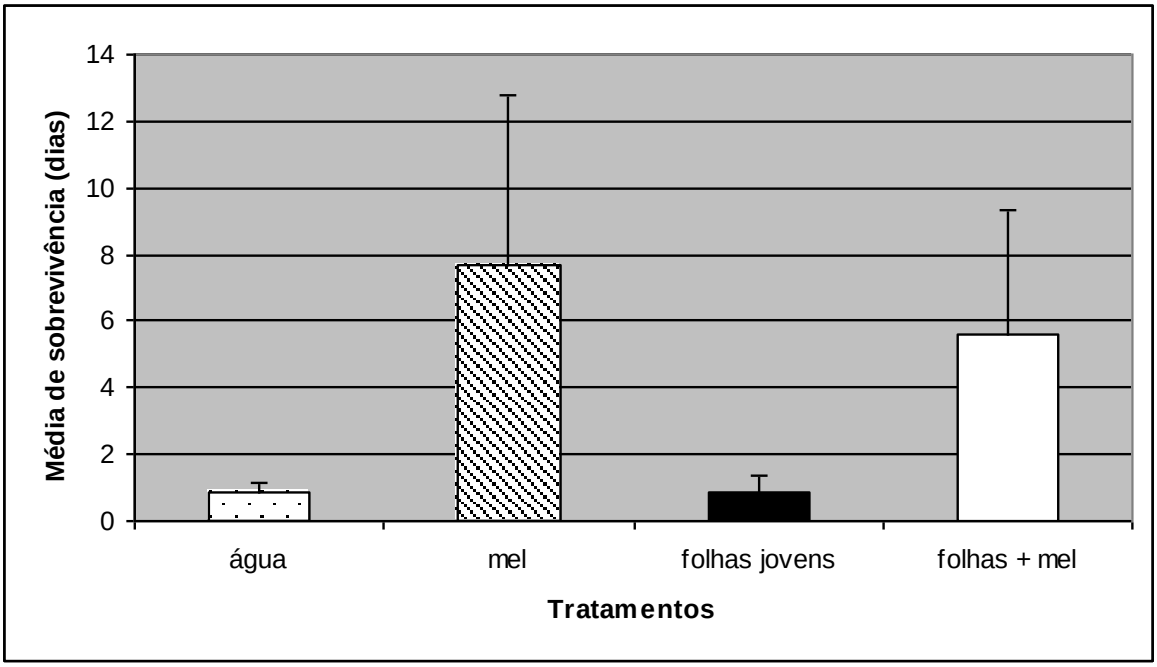


Figura 10- Média de sobrevivência de adultos de *Epichrysocharis burwelli* recém-emergidos em diferentes dietas alimentares e sem alimento, mantidos em BOD (T = 25°C, UR ± 60% e fotofase de 12 h). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,001)

4.4 Razão sexual e caracterização do macho

Dentre os 1152 indivíduos avaliados, apenas sete eram machos, o que dá uma proporção de 165 fêmeas para cada macho encontrado, evidenciando a ocorrência de partenogênese telítoca

na espécie. Essa baixa frequência de machos na população é observada em outras espécies dentro de Tetrastichinae e em alguns casos esses nem mesmo foram encontrados na população avaliada. Fêmeas de *Leptocybe invasa*, por exemplo, se reproduzem por partenogênese telítoca (MENDEL et al. 2004) e, eventualmente, produzem machos (DOGANLAR, 2005). Em *Quadrastichus mendeli*, parasitóide de *L. invasa* o macho é desconhecido (KIM et al. 2008), e em *Closterocerus chamaeleon*, parasitóide de *Ophelimus maskelli*, dentre 500 indivíduos observados, nenhum macho foi encontrado (PROTASOV et al. 2008). Muitos cinipídeos também são conhecidos por apresentarem somente gerações assexuadas, no entanto, é questionável se realmente estas espécies perderam sua geração sexual e tornaram-se obrigatoriamente partenogênicas ou se essa condição simplesmente reflete o fato do macho não ter sido encontrado. O que se pôde verificar em estudos de freqüências gênicas é que nessas espécies existem sinais de reprodução sexual e que estas provavelmente possuem gerações sexuais crípticas (CSÓKA; STONE; MELIKA, 2005; STONE et al. 2002). Essa mesma condição provavelmente deve ser encontrada para as espécies de eulofídeos mencionadas. No caso de *L. invasa*, por exemplo, apenas um ano após a descrição da espécie é que o macho foi encontrado dentre a população estudada e pôde ser caracterizado (DOGÂNLAR, 2005). Provavelmente, o macho, mesmo ocorrendo em baixíssima densidade populacional, seria fundamental para manter a variabilidade genética dentro da população e essencial para a espécie. Não se sabe, para o caso de *E. burwelli*, qual seria o fator responsável pela partenogênese telítoca encontrada. Existem muitos exemplos mencionados na literatura sobre o efeito da bactéria simbionte, *Wolbachia*, induzindo o aparecimento apenas de indivíduos fêmeas em vários insetos, inclusive em Hymenoptera (WERREN; WINDSOR, 2000). Em alguns casos, dependendo da temperatura ou de outros fatores ambientais, ocorre a mortalidade desses simbiontes, e começam a surgir machos na população (REUTER; PEDERSEN; KELLER, 2005), o que poderia explicar essa ocorrência esporádica. No entanto, mais pesquisas precisam ser realizadas para verificar essa hipótese.

Com o trabalho de caracterização morfológica pôde-se verificar que algumas diferenças foram encontradas entre machos e fêmeas. A diferença mais marcante e mais facilmente observada é a genitália (Figura 11-A-D; Figura 12), que pode ser visualizada sob microscópio estereoscópio. A fêmea possui um ovipositor bastante proeminente, que ocupa a maior parte do abdome (Figura 11- A e B; Figura 12). Já no macho, pode-se observar uma genitália menor,

ocupando a região terminal do abdome, mas que também é claramente visualizada, podendo inclusive se observar o edéago (Figura 11- C e D; Figura 12; Figura 13).

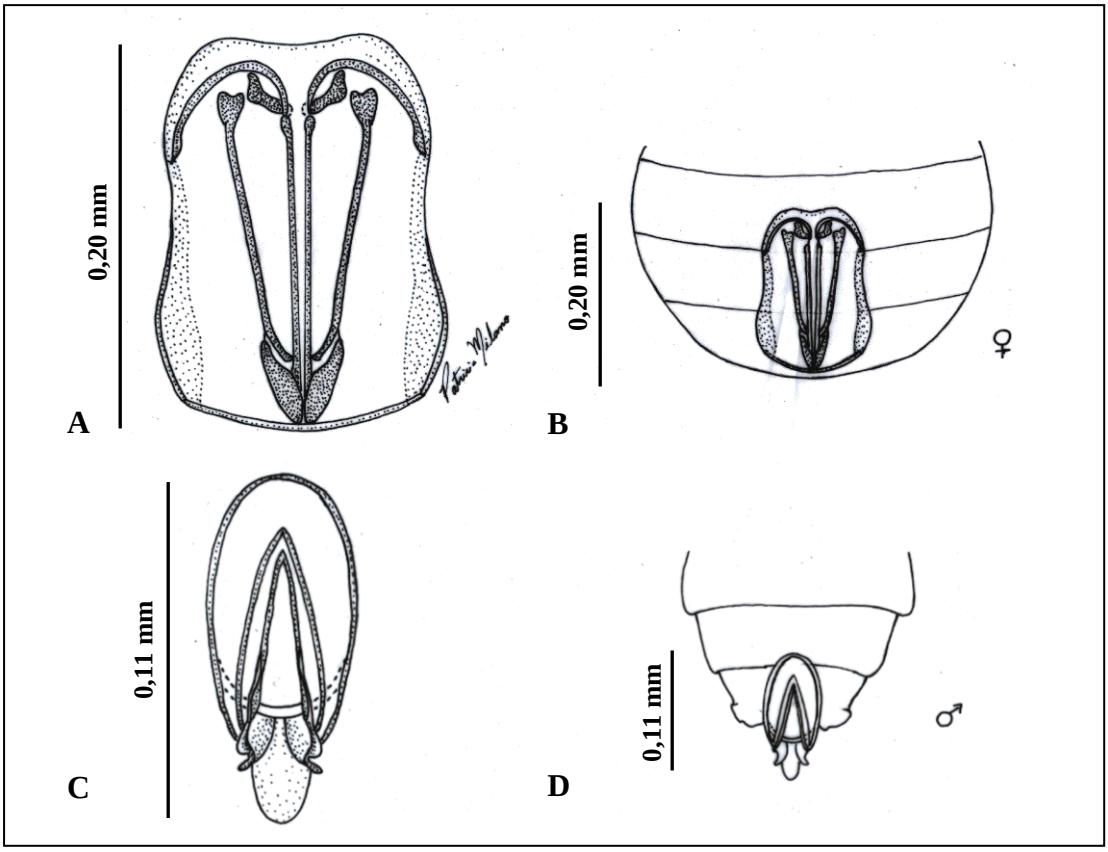


Figura 11- Genitálias de machos e fêmeas de *Epichrysocharis burwelli*. A) Destaque da genitália da fêmea, observando-se ovipositor proeminente; B) Abdome da fêmea evidenciando ovipositor; C) Genitália do macho e D) Abdome do macho evidenciando edéago

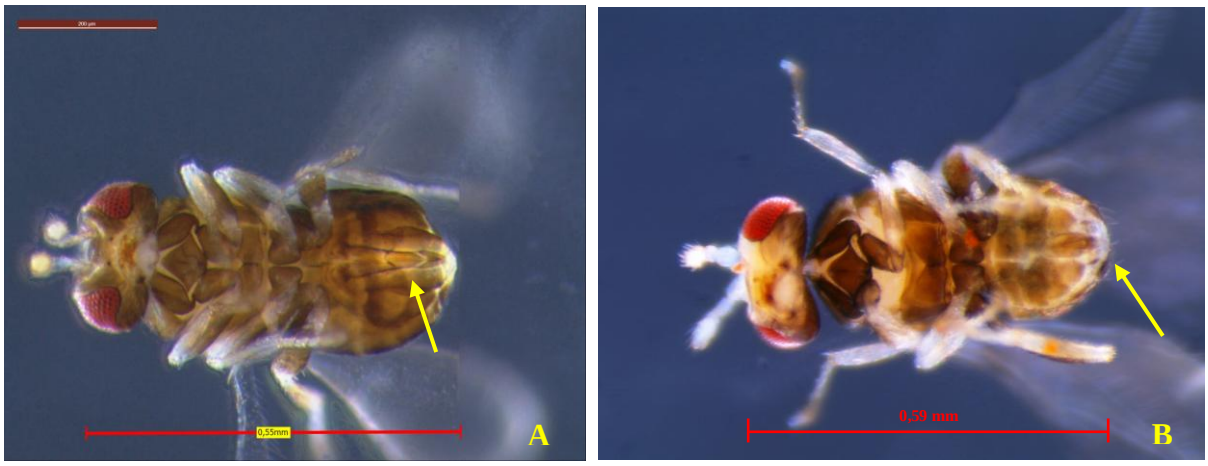


Figura 12- Adultos de *Epichrysocharis burwelli*. A) Foto de lâmina de fêmea feita em microscópio estereoscópio, onde a seta indica o ovipositor proeminente; B) Foto de macho mantido em álcool 70%, onde a seta indica o edéago

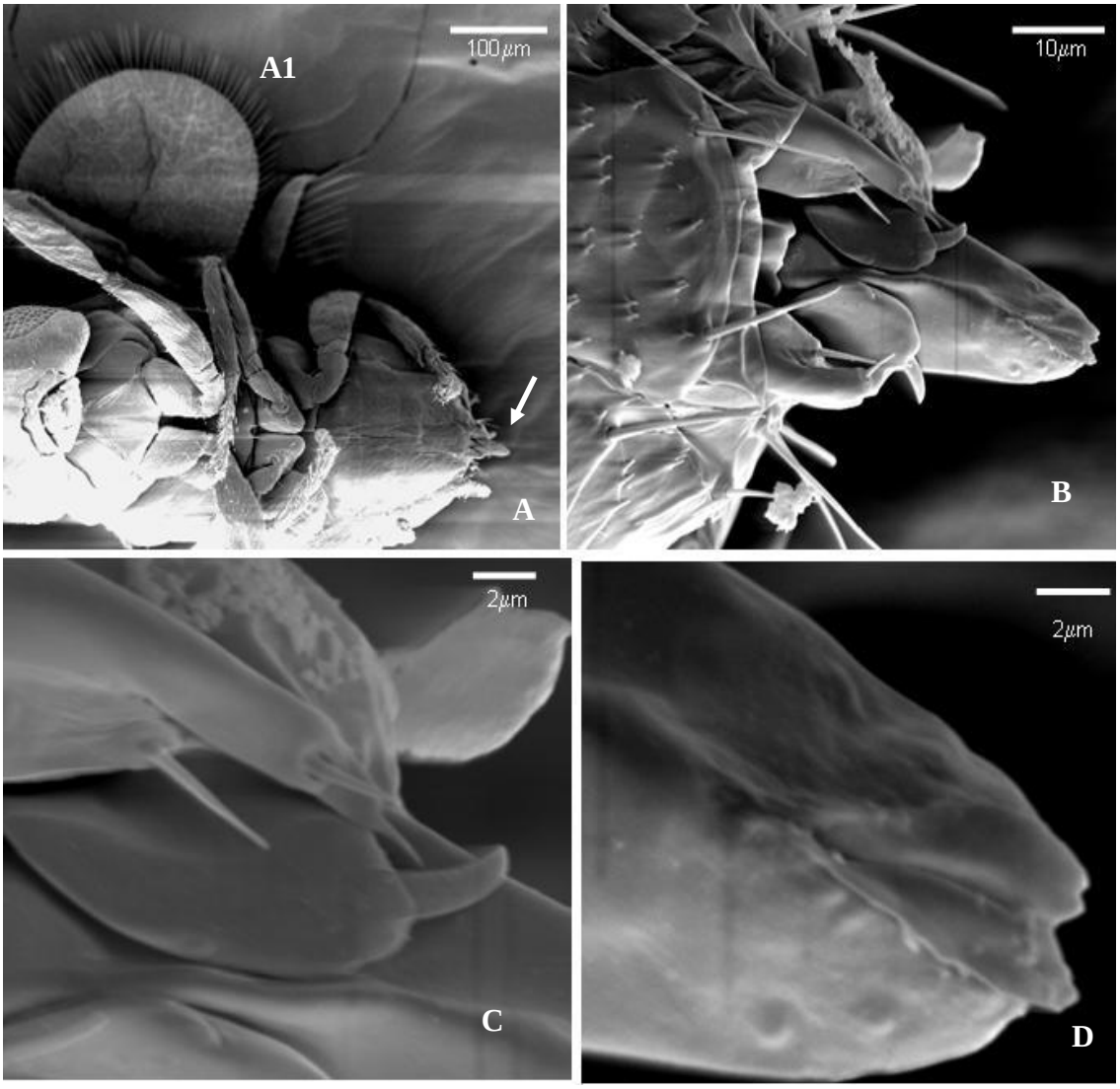


Figura 13- Macho de *Epichrysocharis burwelli*. A) Vista geral mostrando asas franjadas (A1). Notar região da genitália (seta); B) Detalhe da região da genitália; C) Detalhe da garra; D) Detalhe do edéago, mostrando abertura genital

Além das características de genitália e abdome, uma outra diferença foi observada entre os sexos. No escapo das antenas dos machos foi encontrada uma estrutura semelhante a uma "almofada" (Figura 14), que não foi observada nas antenas das fêmeas avaliadas. Não se sabe se esta estrutura possui alguma função olfativa dentro da espécie, já que devido à grande quantidade de fêmeas, não haveria dificuldade do macho encontrar o sexo oposto, precisando detectar compostos feromonais liberados pelas fêmeas. Esta estrutura só pode ser observada sob microscópio. Para a separação dos sexos de *E. burwelli*, os exemplares precisam necessariamente

ser levados ao laboratório, pois nenhuma das características mencionadas podem ser visualizadas sem a utilização de aparelhos de aumento, como microscópio estereoscópio e microscópio de luz.

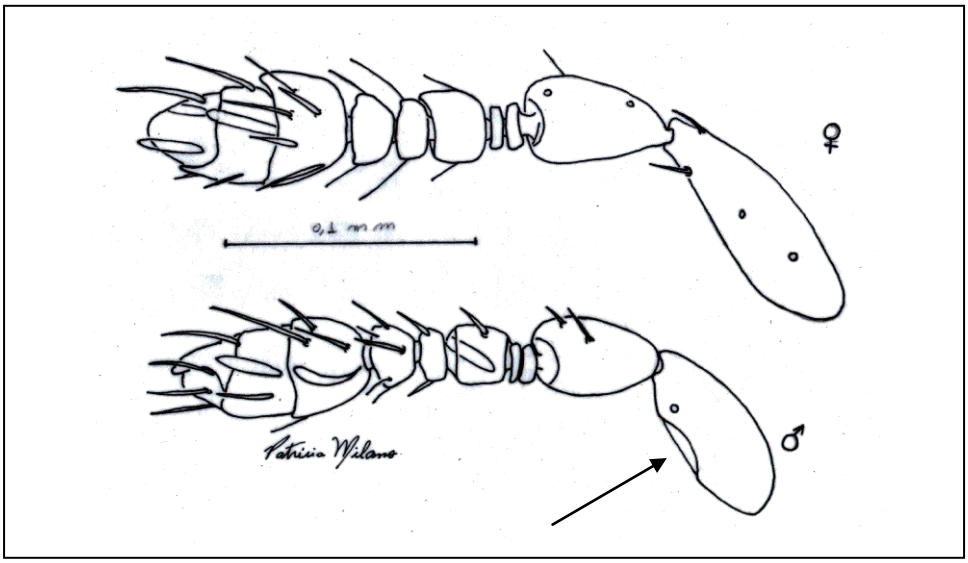


Figura 14- Antenas de machos e fêmeas de *Epichrysocharis burwelli*. A seta indica a estrutura diferencial encontrada na antena do macho

4.5 Duração do período ovo-adulto e desenvolvimento da galha

Cinco estágios de desenvolvimento da galha foram observados sobre as plantas de *Corymbia citriodora* avaliadas. O estágio I começa logo após a oviposição, com o primeiro sintoma aparecendo no local de inserção do ovo. Este local se torna deprimido havendo uma mudança de coloração, passando de vermelho claro à marrom (Figura 15). Esse estágio ocorre geralmente quando a folhas de *C. citriodora* apresentam coloração avermelhada, que é bastante característica das brotações dessa espécie. Essa é a primeira reação da planta, que ocorre provavelmente devido à presença do ovo e a introdução de fluidos de oviposição pela fêmea (MANI, 1992; ROHFRITSCH, 1992). O estágio II se inicia aproximadamente 1-2 semanas após a oviposição e é caracterizado pela formação de um halo amarelo ao redor do ponto de inserção do ovo, que continua deprimido e marrom (Figura 16). Essa fase está possivelmente relacionada com a eclosão da larva que dá sequência ao processo de formação da galha. Uma vez essa não eclodindo ou morrendo logo após a eclosão, os sintomas cessam e apenas manchas escuras no local podem ser observadas. Essas mudanças de coloração durante o desenvolvimento da galha indicam a conversão de flavonóides em antocianinas, simultaneamente com a quebra da clorofila,

que acelera a senescência da folha (MAUNDERS; BROWN; WOOLHOUSE, 1983), o que explicaria um intenso desfolhamento de folhas que apresentam uma alta infestação de galhas. No estágio III a galha aumenta de tamanho e inicia-se o processo de intumescimento. A coloração da galha muda, voltando a ser similar à da folha ao redor (Figura 17). Este estágio ocorre aproximadamente 6-7 semanas após a oviposição. No estágio IV, que ocorre aproximadamente dois meses após a oviposição, a galha atinge seu tamanho máximo e muda de coloração, tornando-se marrom. Galhas nesse estágio provavelmente abrigam insetos na fase de pupa (Figura 18). Logo após segue-se o V e último estágio, no qual ocorre a saída do adulto através de um orifício que ele próprio faz com suas mandíbulas, por volta de 70-80 dias após a oviposição. Depois da saída dos adultos, as folhas que permanecem na planta ficam tomadas por galhas que apresentam em seu centro buracos escuros que podem abrigar muitos microrganismos e outros insetos (Figura 19).

Figura 15- Estágio I do desenvolvimento das galhas de *Epichrysocharis burwelli*. Setas indicam ponto de inserção do ovo, que apresenta coloração mais escura, sintoma característico dessa fase, que ocorre logo após oviposição. Itatinga/SP, Estação Experimental

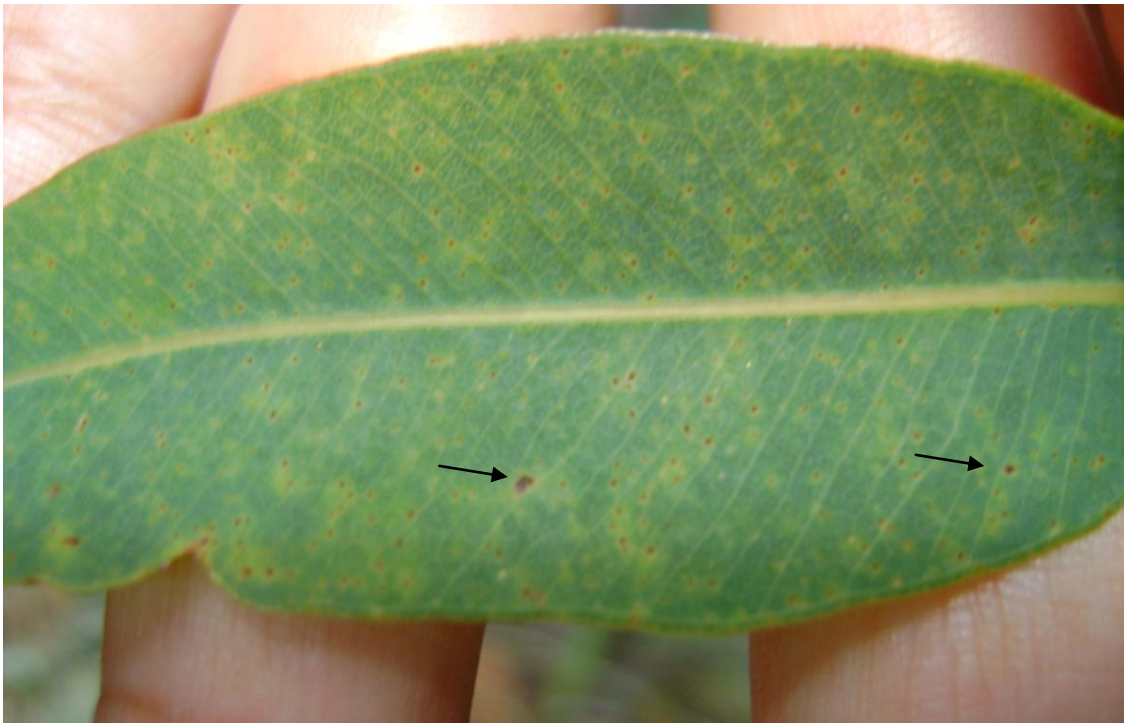


Figura 16- Estágio II do desenvolvimento das galhas de *Epichrysocharis burwelli*. Setas indicam ponto de inserção do ovo, que apresenta coloração mais escura com halo amarelo ao redor. Itatinga/SP, Estação Experimental

Figura 17- Estágio III do desenvolvimento das galhas de *Epichrysocharis burwelli*. Início de intumescimento das galhas. Itatinga/SP, Estação Experimental

Figura 18- Estágio IV do desenvolvimento das galhas de *Epichrysocharis burwelli*. Desenvolvimento total da galha e mudança de coloração. Itatinga/SP, Estação Experimental

Figura 19- Estágio V do desenvolvimento das galhas de *Epichrysocharis burwelli*. Orifícios de emergência dos adultos. Itatinga/SP, Estação Experimental

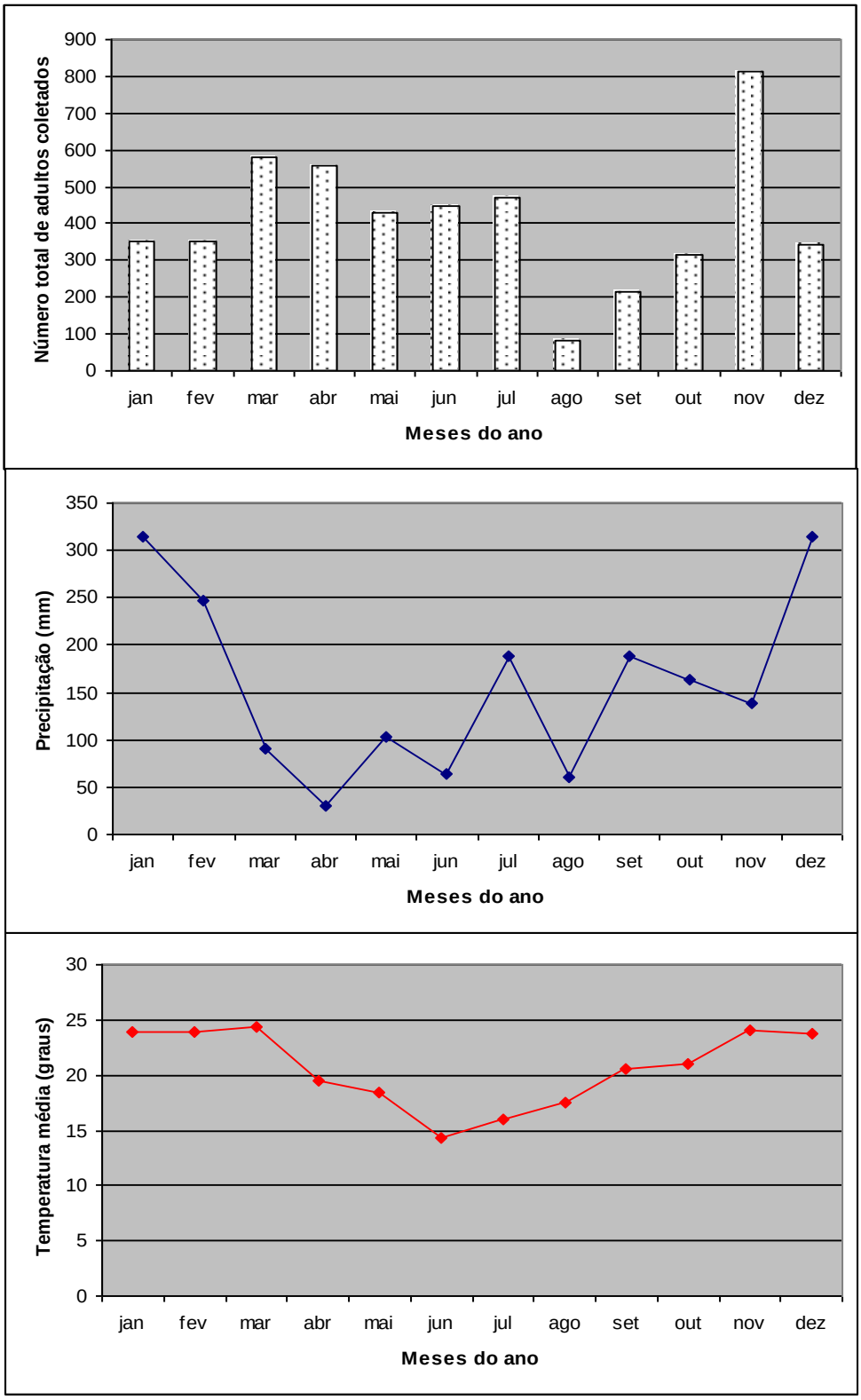
A determinação dos cinco estágios de crescimento da galha permite acompanhar o desenvolvimento do inseto. A galha se desenvolve em sincronia com os tecidos da planta que a produz, e o inseto se desenvolve paralelamente com o crescimento da galha. Geralmente mudanças no sintoma da galha indicam mudanças na fase de desenvolvimento do inseto (MENDEL et al. 2004). Protasov et al. (2007) estudaram o ciclo de vida de *Ophelimus maskelli* e verificaram cinco estágios do crescimento da galha, que ocorreram concomitantemente com o desenvolvimento do inseto. O estágio I foi caracterizado pelo primeiro sinal visível do desenvolvimento da galha e durou aproximadamente 30-35 dias. Nesse estágio a larva se encontrava no primeiro instar. O estágio II durou 15-25 dias e a larva estava no segundo instar Nessa fase a galha adquiriu a coloração avermelhada típica. O estágio III durou 16-27 dias, e foi nele que as galhas alcançaram seu tamanho máximo, contendo larvas de terceiro instar. O estágio IV durou 20-26 dias e nele a larva passou para a fase de pupa. A galha nesse estágio perdeu seu brilho, mas manteve a coloração típica. No V e último estágio, que durou 10-16 dias, houve a emergência dos adultos. Mendel et al. (2004) verificaram essa mesma sincronização entre o desenvolvimento da galha e do inseto indutor e também observaram cinco estágios de desenvolvimento para *Leptocybe invasa*. No caso de *E. burwelli*, apesar das mudanças nos estágios do inseto indutor não ter sido acompanhada, provavelmente aconteça da mesma forma como observado na literatura. Em relação à duração do ciclo de vida, os resultados obtidos são semelhantes ao encontrado na literatura. Withers, Raman e Berry (2000) estudaram o ciclo de vida de *O. eucalypti* e verificaram uma duração de quatro meses entre a oviposição e a emergência dos adultos. Para *L. invasa*, Mendel et al. (2004) encontram um período de desenvolvimento avaliado em condições controladas, de 132 dias. De acordo com PROTASOV et al. (2007), o período de desenvolvimento de *O. maskelli* foi de aproximadamente 104 dias.

A princípio este experimento foi delineado para ser realizado em condições controladas de laboratório, sobre plantas de *C. citriodora* de aproximadamente um ano, mantidas em vasos. Depois de várias tentativas fracassadas em se infestar as plantas no laboratório, foram realizadas tentativas de infestação em casa de vegetação. Os adultos foram mantidos nas brotações, a oviposição parecia ocorrer, no entanto, nas várias semanas seguintes de observação, não ocorreu o desenvolvimento das galhas. A possível explicação para esse insucesso na indução de galhas em condições de laboratório ou estufa, é que com a adubação utilizada nos vasos, a planta teria se tornado desfavorável para o desenvolvimento do inseto. Observações feitas por Fernandes e Price

(1991) sugerem que adaptações de plantas hospedeiras a solos inférteis apresentam maior número de espécies de insetos formadoras de galhas em solos inférteis que naquelas mais férteis. Blanche e Westoby (1995) também encontram resultado semelhante, e verificaram que o número total de espécies galhadoras avaliadas foi negativamente correlacionada com a fertilidade do solo. Além disso, verificaram que solos menos férteis tendem a apresentar galhas mais complexas que solos relativamente mais férteis. No início do experimento acreditou-se que a indução não estava ocorrendo devido aos fatores climáticos serem muito diferentes dentro do laboratório e mesmo na estufa, como ausência de vento, diferença na luminosidade, temperatura. No entanto, foram feitas tentativas, com os vasos mantidos a pleno sol, mas mesmo sim, nenhum resultado positivo foi obtido. Portanto, a hipótese da adubação dos vasos torna-se talvez a mais plausível para explicar esse resultado.

4.6 Sazonalidade de adultos em campo

Durante todos os meses de 2009 os adultos foram encontrados nas coletas realizadas, em números elevados. Durante todo o experimento foram coletados 4959 adultos, com um pico em novembro (815 indivíduos adultos coletados) e uma queda no mês de agosto (84 adultos) (Figura 20). Não foram feitas correlações entre fatores climáticos e a ocorrência dos adultos, devido ao pequeno número de coletas realizadas. Entretanto, não foi possível verificar nenhum dado de precipitação ou de mudança de temperatura que explicasse a alta ocorrência de adultos em novembro e a baixa em agosto (Figura 21 e 22). Durante todas as coletas observou-se a presença das demais fases de desenvolvimento da galha no campo. Foi possível verificar em um mesmo momento adultos ovipositando nos ramos, galhas em início de desenvolvimento, galhas mais desenvolvidas e galhas em processo de senescência, depois da saída do adulto, indicando sobreposição de gerações. Considerando-se a ocorrência de adultos e outras fases de desenvolvimento de *E. burwelli* em todas as coletas realizadas e a longevidade baixa da fase adulta, pode-se dizer que a espécie apresenta várias gerações por ano nas condições de Itatinga/São Paulo.



Figuras 20; 21; 22- Número total de adultos de *Epichrysocharis burwelli* coletados; precipitação total; temperatura média para os meses de 2009. Itatinga/ São Paulo, Estação Experimental

Insetos galhadores precisam que suas plantas hospedeiras estejam em estágios específicos de desenvolvimento para que a galha seja formada. Esse estágio está relacionado com a presença de tecidos que estejam em fase de pleno crescimento, o que geralmente ocorre em brotações (REY, 1992; ROHFRITSCH, 1992). Por esse motivo, o ciclo de insetos indutores de galha é sincronizado com o desenvolvimento do hospedeiro, e a ocorrência do adulto geralmente ocorre na fase em que ocorre a formação de brotos na planta (MENDEL et al. 2004). As brotações costumam aparecer durante a primavera e, em menor quantidade no verão. Por isso, muitas espécies de galhadores estudadas apresentam uma ou duas gerações por ano, que são sincronizadas com o aparecimento das brotações nas plantas hospedeiras (REY, 1992; BIRCH; BREWER; ROHFRITSCH, 1992). Ogah et al. (2009) estudaram a dinâmica populacional de *Orseolia oryzivora* (Diptera: Cecidomyiidae) na Nigéria, e verificaram um pico na ocorrência de adultos no mês de novembro e dezembro, que coincidem com a estação chuvosa e com a formação de novos ramos pela planta. A população foi muito baixa durante os meses de julho e agosto, com níveis próximos a zero. Estes dados foram consistentes durante os dois anos de experimento, 2006 e 2007. Protasov et al. (2007) encontraram três gerações de *Ophelimus maskelli* por ano em Israel, a primeira na primavera, a segunda no verão e a terceira no inverno. Sobreposição de gerações foi verificada em todos os locais monitorados. Para o caso de *E. burwelli* a situação é um pouco diferente, já que ocorrem várias gerações durante o ano. Isso provavelmente se deva ao fato desse inseto se desenvolver sobre plantas de eucalipto, que apresentam a capacidade de produzirem brotações praticamente durante o ano inteiro. Esse é inclusive um dos motivos pelos quais se explica a grande quantidade de espécies galhadoras utilizarem plantas de eucalipto como hospedeiras (BLANCHE; WESTOBY, 1995). Boücek (1988), por exemplo, cita aproximadamente 50 espécies de vespas galhadoras apenas do gênero *Ophelimus* que se desenvolvem sobre espécies de eucalipto. Plantas de eucalipto são conhecidas por apresentarem várias características que provavelmente favoreçam a riqueza de espécies indutoras de galhas. Essas plantas são incomuns em produzirem novos ramos e brotações várias vezes durante o ano, que podem aumentar o número de nichos temporários disponíveis para insetos galhadores O contínuo suprimento de alimento é vantajoso para insetos sedentários, como é o caso de indutores de galhas, principalmente daqueles que induzem galhas complexas e de longo desenvolvimento. Além disso, as concentrações altas de compostos secundários em folhas, como taninos e fenóis, tanto em folhas jovens quanto velhas, favorecem insetos galhadores, uma

vez que protegem a folha contra insetos mastigadores e microrganismos e consequentemente, os galhadores ali presentes (BLANCHE; WESTOBY, 1995). Além da capacidade das plantas de eucalipto de serem interessantes para espécies galhadoras, vale lembrar que o local onde o experimento foi conduzido, Itatinga, apresenta condições boas para o desenvolvimento de *C. citriodora* durante o ano todo, com alta precipitação, temperatura e luminosidade. Todos esses fatores criam condições muito favoráveis para o desenvolvimento do inseto.

4.7 Nível de infestação e efeito da pilosidade

Em avaliação de área total pôde-se verificar que a porcentagem de infestação de *Epichrysocharis burwelli* em plantio de *Corymbia citriodora* foi de 76,20% em relação aos adultos e de 21,4% em relação às galhas. Provavelmente, com o crescimento das plantas a porcentagem de infestação de galhas será maior, no entanto, esse número será sempre menor que a porcentagem de adultos, já que, não é em toda planta que a galha se desenvolve, como foi observado no campo. Almeida et al. (2006) verificaram o nível de infestação de galhas induzidas por *Anisodiplosis waltheriae* (Diptera, Cecidomyiidae) sobre *Waltheria indica* (Sterculiaceae) e encontram 90% das plantas com galhas, com 25% das folhas atacadas. Considerando-se que a rebrota no caso de *E. burwelli* estava sendo conduzida havia três meses, o nível de infestação observado, tanto para adultos, como para galhas, foi bastante alto. Ao lado da área do experimento, havia plantios de *C. citriodora* mais velhos e que provavelmente influenciaram nos níveis encontrados nas plantas. Além disso, devido ao tamanho muito reduzido do inseto, este pode ser facilmente carregado pelo vento e infestar rapidamente áreas adjacentes.

Além da porcentagem de infestação, a influência da pilosidade foi verificada e o efeito desta sobre a ocorrência de *E. burwelli* pôde ser comprovado (Figura 23). A presença de pilosidade nas folhas certamente age como uma barreira física ao ataque do inseto. Não se sabe, entretanto, se esta influência é apenas física, ou também química, pois Vitti e Brito (1999) constataram que existe uma correlação positiva entre pilosidade e teor de citronelal nas folhas de *C. citriodora*. Este resultado sugere a realização de outros experimentos que possam verificar a causa da possível resistência de folhas pilosas ao ataque de *E. burwelli*.

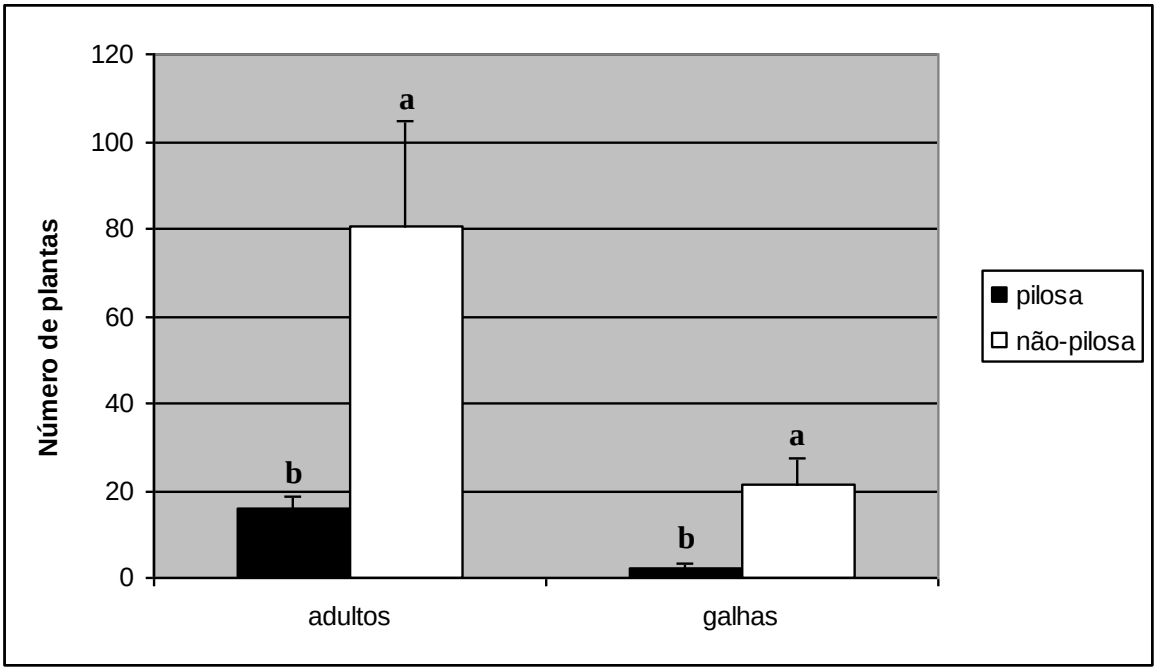


Figura 23- Número médio de plantas de *Corymbia citriodora* infestadas com *Epichrysocharis burwelli* (galhas e adultos), em folhas pilosas e não pilosas. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de *t* (P<0,001). . Itatinga/ São Paulo, Estação Experimental

4.8 Redução no rendimento de óleo essencial

Nesse trabalho foi encontrado um rendimento médio de 1,89% de óleo essencial, variando entre 1,43 e 2,31% nas folhas coletadas. Analisando os resultados de rendimento em óleo em relação aos níveis de infestação de galhas em folhas, verificou-se que as plantas que não apresentavam galhas e aquelas com níveis médios de ataque apresentaram as maiores médias de rendimento, diferindo significativamente dos outros dois tratamentos (baixo e alto) (F=4,93; P<0,005) (Figura 24). O rendimento em óleo essencial é considerado uma das mais importantes características a ser avaliada nos plantios destinados à produção comercial, expressando a quantidade de óleo produzido a partir de uma determinada quantia de folha. Em termos médios, no Brasil, os plantios comerciais de *C. citriodora* destinados à extração de óleo essencial apresentam rendimentos variando de 1,2 a 1,4% (VITTI; BRITO, 1999). A produtividade, a composição e a quantidade dos constituintes dos óleos essências são bastante influenciadas por vários tipos de fatores ambientais, como condições do solo, umidade relativa, radiação solar, temperatura e o estresse hídrico, e por outros fatores como parte da planta utilizada, sua idade, o tipo de manejo florestal, o método de amostragem da folha, o processo de extração e de análise

do óleo, além da variabilidade genética (VITTI; BRITO, 2003). Qualquer um desses fatores ou mais de um deles, pode ter determinado variações no rendimento de óleo essencial extraído, que não provocadas pelas galhas em si. No entanto, existe uma coerência no resultado quando se consideram as folhas sem galhas e aquelas com níveis altos de infestação, que apresentaram diferenças significativas entre si. Nos tratamentos intermediários podem ter ocorrido erros de coleta, justificando tais diferenças, já que é bastante difícil em condições de campo separar as folhas nas classes de infestação de galha, uma vez que são utilizadas quantidades relativamente grandes de folhas na extração. A origem biosintética dos óleos essenciais de eucalipto relaciona-se com seu metabolismo secundário, que confere às plantas a capacidade de adaptação às condições do meio ambiente em que vivem, sendo que sua ocorrência estaria relacionada com a defesa da planta contra insetos, resistência ao frio quando no estágio de plântula e à redução da perda de água (DORAN, 1991). No caso de espécies galhadoras, entretanto, essa ocorrência de compostos secundários e óleos, beneficiam o galhador por protegê-lo de insetos mastigadores, fungos e outros microorganismos (BLANCHE; WESTOBY, 1995). A larva do inseto indutor de galha interfere nos tecidos da planta ao redor dela, mudando a alocação de nutrientes e compostos secundários. Os nutrientes são concentrados nos tecidos meristemáticos em contato com a larva, enquanto os compostos secundários, primariamente taninos, são transportados para os tecidos externos, que criam uma barreira química ao redor da galha (FERNANDES; PRICE, 1991). Portanto, mesmo havendo uma diminuição no rendimento de óleo em folhas com altos níveis de infestação, essa influência pode ser subestimada, uma vez que o inseto poderia preferir plantas com maiores teores de óleo em suas folhas.

Apesar de altas infestações de galhas em folhas terem reduzido significativamente a porcentagem de óleo essencial neste experimento, esse resultado talvez não responda a imensa diminuição verificada na produção das destilarias, após a entrada do inseto nas áreas de *C. citriodora*, chegando, segundo Anjos e Zacaro (2005) chegando a cerca de 50% em alguns locais. Possivelmente, o fator responsável por essa queda na produção seja o intenso desfolhamento observado em árvores sob altas infestações de *E. burwelli*. Durante a coleta de folhas para a extração de óleo essencial, houve uma grande dificuldade em se obter o peso necessário de folhas naquelas plantas altamente infestadas. Essas plantas geralmente eram menores e continham poucas folhas. Fernandes; Castro e Marques (1999) avaliaram o efeito de galhas induzidas por *Melaphis rhois* (Aphididae) sobre a abscisão foliar de *Rhus glabra* (Anacardiaceae) e verificaram

que aquelas plantas com galhas apresentavam uma queda de folhas mais intensa que aquelas que não continham galhas e que o inseto tem potencial influência sobre a performance da planta hospedeira, reduzindo a área foliar e fotossíntese em indivíduos suscetíveis.

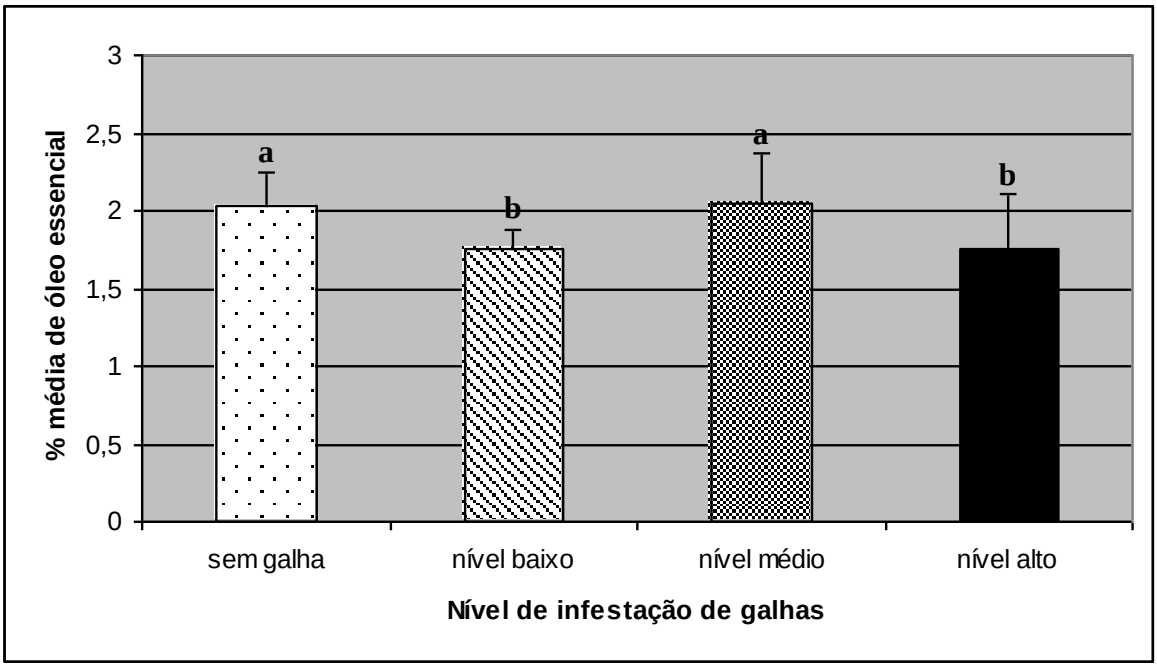


Figura 24 - Porcentagem média de óleo essencial extraído de folhas de *E. citriodora*, coletadas no Horto Florestal de Itatinga/SP em diferentes níveis de infestação de galhas de *E. burwelli*. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey (P<0,005)

5 CONCLUSÕES

a) existe diferença significativa entre plantas quanto à porcentagem de infestação de galhas em folhas. Algumas apresentam densidades bastante elevadas enquanto outras não apresentam nenhuma infestação;

b) a densidade média de galhas de *E. burwelli* em folhas de *C. citriodora* é de sete galhas/cm^2, em plantio localizado na Estação Experimental de Estudos Florestais de Itatinga/SP, no entanto, existem folhas com densidades superiores a 40 gallhas/cm^2;

c) *E. burwelli* apresenta um pico de emergência de adultos às 09:00;

d) a utilização de mel na dieta aumenta a longevidade de adultos de *E. burwelli*;

e) foi encontrada uma razão sexual de 165 fêmeas para cada macho coletado;

f) não foram encontradas diferenças morfológicas entre machos e fêmeas além da genitália e uma pequena estrutura presente somente na antena do macho;

g) a duração do ciclo de *E. burwelli* de ovo a adulto durou em média 75 dias em condições de campo;

h) o desenvolvimento da galha passa por cinco estágios de crescimento que são compatíveis com os estágios de desenvolvimento do inseto e com o crescimento da folha;

i) o adulto de *E. burwelli* ocorre durante o ano todo na Estação Experimental de Itatinga e sua ocorrência está relacionada com a presença de novas brotações de *C. citriodora*;

j) a presença de pilosidade nas folhas de plantas juvenis de *C. citriodora* é realmente uma barreira física contra o ataque de *E. burwelli*;

l) intensidades altas de galhas de *E. burwelli* nas folhas reduzem o rendimento de óleo essencial de *C. citriodora*;

m) a pesquisa possibilita um maior conhecimento sobre a espécie e consequentemente uma maior possibilidade de encontrar métodos de controle e aperfeiçoamento do manejo da floresta para evitar surtos do inseto.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F.V.M.; SANTOS, J.C.; SILVEIRA, F.A.O.; FERNANDES, G.W. Distribution and frequency of galls induced by *Anisodiplosis waltheriae* Maia (Diptera: Cecidomyiidae) on the invasive plant *Waltheria indica* L. (Sterculaceae). **Ecology, Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 435-439, 2006.

ANDRADE, A.M.; GOMES, S.S. Influência de alguns fatores não genéticos sobre o teor de óleo essencial em folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 7, n. 1, p. 181-189, 2000.

ANJOS, N.; MAGISTRALI, I.C. **Microvespa-da-galha (*Leptocybe invasa* FISHER & LASALLE**): uma nova ameaça aos plantio de eucaliptos no Maranhão. Viçosa, 2010. 5 p. (Alerta,)

ANJOS, N.; ZACARO, A.A. A microvespa *Epichrysocharis burwelli* Schauff (Hym.: Eulophidae): novíssima praga florestal no Brasil. In: ZANUNCIO, J.C.; PEREIRA, J.M.M.; ZANUNCIO, T.V. (Ed.)., Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia, **Plagas forestales neotropicales,** Costa Rica, n. 75, p. 90-92, 2005.

ARZONE, A.; ALMA, A. Eulofide galligeno dell' Eucalipto in Italia. **Informatore Fitopatologico**, Bologna, v. 12, p. 43-46, 2000.

BERTI FILHO, E. O parasitismo no controle integrado de pragas florestais. **Silvicultura**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 39, p. 7-10, 1984.

BERTI FILHO, E.; COSTA, V.A.; LASALLE, J. Primeiro registro da vespa-da-galha, *Epichrysocharis burwelli* (Hymenoptera: Eulophidae) em *Corymb*ia (*Eucalyptus*) *citriodora* (Myrtaceae) no Brasil. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 79, n. 3, p. 363-363, 2004.

BHUMANNAVAR, B.S.; RAMANI, S.; RAJESHWARI, S.K.; CHAUBEY, B.K. Host-specificity and biology of *Cecidochares connexa* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) introduced into India for the biological suppression of *Chromolaena odorata* (Linnaeus) King & Robinson. **Journal of Biological Control**, v. 18, n. 2, p. 111-120, 2004.

BIRCH, M.L.; BREWER, J.W.; ROHFRITSCH, O. Biology of *Dasineura affinis* (Cecidomyiidae) and influence of its gall on *Viola adorata*. In: SHORTHOUSE, J.D.; ROHFRITSCH, O. (Ed.). **Biology of insect-induced galls**. New York: Oxford, Oxford University Press, 1992. cap. 11, p. 171-184.

BLANCHE, K.R.; WESTOBY.M. Gall-forming insect diversity is linked to soil fertility via host plant taxon. **Ecology**, Tempe, v. 76, n. 7, p. 2334-2337, 1995.

BOLAND, D.J.; BROPHY, J.J.; HOUSE, A.P.N. **Eucalyptus leaf oils** - use, chemistry, distillation and marketing. Melbourne: INKATA; ACIAR; CSIRO, 1991. 274p.

BOUCEK, Z. Australasian Chalcidoidea (Hymenoptera). A biosystematic revision of genera of fourteen families, with a reclassification of species. Wallingford, UK :CAB International, , 1988, 832 p.

BRANCO, M.; BOAVIDA, C.; DURAND, N.; FRANCO, J.C.; MENDEL, Z. Presence of the *Eucalyptus* gall wasp *Ophelimus maskelli* and its parasitoid, *Clostorocerus chamaeleon*, in Portugal. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 37, n. 1, p. 51-54, 2009.

BRONNER, R. The role of nutritive cells in the nutrition of cynipids and cecodyiids. In: SHORTHOUSE, J.D.; ROHFRITSCH, O. (Ed). **Biology of insect-induced galls**. New York: Oxford, Oxford University Press, 1992. cap. 8, p. 118-140.

CAB/EPPO. *Leptocybe invasa*. **Distribution Maps of Plant Pests**, n. 698. 2007.

COSTA, VA.; BERTI FILHO, E.; WILCKEN, C.F.; STAPE, J.L.; LASALLE, J.; TEIXEIRA, L.D. Eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* FISHER & LASALLE (Hymenoptera: Eulophidae) in Brazil: New Forest pest reaches the New World. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 83, p. 136-139, 2008.

CROSS, J.V.; RIDOUT, M.S. Emergence of blackcurrant gall mite (*Cecidophyopsis ribis*) from galls in spring. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v. 76, n. 3, p. 311-319, 2001.

CZÓKA, G.; STONE, G.N.; MELIKA, G. Biology, ecology, and evolution of gall-inducing Cynipidae. In: RAMAN, A.; SCHAEFFER, C.W.; WITHERS, T.M. (Ed.). **Biology, ecology and evolution of gall-inducting arthropods.** New Hampshire: Science Publishers, 2005, cap. 20, v. 2, p. 573-642.

DOGANLAR, M.; MENDEL, Z. First record of the eucalyptus gall wasp *Ophelimus maskelli* and its parasitoid, *Clostorocerus chamaeleon*, in Turkey. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 35, n. 4, p. 333-335, 2007.

DOGANLAR, O. Occurrence of *Leptocybe invasa* Fisher & LaSalle, 2004 (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eulophidae) on *Eucalyptus camaldulensis* in Turkey, with a description of the male sex. **Zoology in the Middle East**, v. 35, p. 112-114, 2005.

DORAN, J.C. Commercial sources, uses, formation, and biology. In: BOLAND, D.J.; BROPHY, J.J.; HOUSE, A.P.N. (Ed.). ***Eucalyptus* leaf oils:** use, chemistry, distillation and marketing. Canberra: Inkata, 1991, cap. 2, p. 11-28.

DOWNER, J. A new pest insect of *Eucalyptus citriodora*. **Landscape notes**, Califórnia, v. 14, n. 3, p. 1-4, 1999.

DREGER-JAUFFRET, F.; SHORTHOUSE, D. Diversity of gall-inducing insects and their galls. In: SHORTHOUSE, J.D.; ROHFRITSCH, O. (Ed). **Biology of insect-induced galls**. New York: Oxford, Oxford University Press, 1992. cap. 2, p. 8-33.

EMPPO. First report of two new eucalyptus pests in the south of France: *Ophelimus maskelli* and *Lepcocybe invasa*. 2006, 9p. (EPPO Reporting Service, Paris, 9,)

FAO. **Forest pest species profile.** Disponível em: http://www.fao.org/forestry/webview/media?mediaId=13569&langId=1. Acesso em: 10 set. 2008.

FERNANDES, G.W. Hypersensitivity as a phenotypic basis of plant induced resistance against a galling insect (Diptera: Cecidomyiidae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 27, p. 260-267, 1998.

FERNANDES, G.W.; CASTRO, F.M.C.; MARQUES, E.S.A. Leaflet abscission caused by a gall induced by *Melaphis rhois* (Homoptera: Aphididae) on *Rhus glabra* (Anacardiaceae). **International Journal of Ecology and Environmental Sciences**, Jaipur, v. 25, p. 63-69, 1999.

FERNANDES, G.W.; CORNELISSEN, T.G.; ISAIAS, R.M.S.; LARA, A.F. Plants fight gall formation: hypersensitivity. **Ciência & Cultura**, São Paulo, v. 52, p. 49-54, 2000.

FERNANDES, G.W.; DUARTE, H.; LÜTTGE, U. Hypersensitivity of *Fagus sylvanica* L. against leaf galling insetcs. **Trees**, Santa Monica, v. 17, p. 407-411, 2003.

GAUTHIER, N.; LASALLE, J.; QUICKE, D.L.J.; GODFRAY, H.C.J. Phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera, Chalcidoidea), with a reclassification of Eulophinae and the recognition that Elasmidae are derived eulophids. **Systematic Entomology**, Oxford, v. 25, p. 521-539, 2000.

HEADRICK, D.; LASALLE, J.; REDAK, R.A. A new genus Australian Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae): an introduced pest of *Chamelaucium uncinatum* (Myrtaceae) in California. **Journal of Natural History**, London, v. 29, p. 1029-1036, 1995.

HUBER, J.T.; MENDEL, Z.; PROTASOV, A.; LASALLE, J. Two new Australian species of *Stethynium* (Hymenoptera: Mymaridae), larval parasitoids of *Ophelimus maskelli* (Ashmead) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Eucalyptus*. **Journal of Natural History**, London, v. 40, p. 1909-1921, 2006.

KIM, I.; DELVARE, G.; LASALLE, J. A new species of *Quadrastichus* (Hymenoptera: Eulophidae): a gall-inducing pest on *Erythrina* (Fabaceae). **Journal of Hymenopteran Research**, Spokane, v. 13, n. 2, p. 243-249, 2004.

KIM, I.; MENDEL, Z.; PROTASOV, A.; BLUMBERG, D.; LASALLE, J. Taxonomy, biology, and efficacy of two Australian parasitoids of the eucalyptus gall wasp, *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). **Zootaxa**, Auclland, v. 1910, 2008. Disponível em: http://www.mapress.com/zootaxa. Acesso em: 10 fev. 2010.

LASALLE, J. Biology of gall inducers and evolution of gall induction in Chalcidoidea (Hymenoptera: Eulophidae, Eurytomidae, Pteromalidae, Tanaostigmatidae, Torymidae). In: RAMAN, A.; SCHAEFFER, C.W.; WITHERS, T.M. (Ed). **Biology, ecology and evolution of gall-inducting arthropods.** New Hampshire: Science Publishers, 2005. cap. 18, v. 2, p. 507-537.

LASALLE, J. North American genera of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae). **Journal of Natural History**, London, v. 28, p. 109-236, 1994.

LASALLE, J.; ARAKELIAN, G.; GARRISON, R.W.; GATES, M.W. A new especies of invasive gall wasp (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae) on blue gum (*Eucalyptus globules*) in California. **Zootaxa**, Auclland, v. 2121, 2009. Disponível em: http://www.mapress.com/zootaxa. Acesso em: 10 fev. 2010.

LI, H.; XIAO, H.; PENG, H.; HAN, H.; XUE, D. Potential global range expansion of a new invasive species, the erythrina gall wasp, *Quadrasctichus eryhrinae* Kim (Insecta: Hymenoptera: Eulophidae). **The Raffles Bulletin of Zoology**, Singapura, v. 54, p. 229-234, 2006.

MÁCIAS, J.; ARGUEDAS, M.; HILJE, L.; ZANUNCIO, J.C. A microvespa *Epichrysocharis burwelli* Schauff (Hym.: Eulophidae): novíssima praga florestal no Brasil. In: Plagas Forestales Neotropicales. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Turrialba, v. 75, p. 90-92, 2005.

MANI, M.S. Introduction to cecidology. In: SHORTHOUSE, J.D.; ROHFRITSCH, O. (Ed.). **Biology of insect-induced galls**. New York: Oxford, Oxford University Press, 1992, cap. 1, p. 3-7.

MANI, M.S. **The ecology of plant galls**. The Netherlands:Dr. W. Junk. The Hague, 1964. 434 p.

MAUNDERS, M.J.; BROWN, S.B.; WOOLHOUSE, H.W. The appearance of chlorophyll derivatives in senescing tissue. **Phytochemistry**, New York, v. 22, p. 2443-2446, 1983.

MENDEL, Z.; PROTASOV, A.; BLUMBERG, D.; BRAND, D.; SAPHIR, N.; MADAR, Z.; LASALLE, J. Release and recovery of parasitoids of the eucalyptus gall wasp *Ophelimus maskelli* in Israel. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 35, n. 4, p. 330-332, 2007.

MENDEL, Z.; PROTASOV, A.; FISHER, N.; LASALLE, J. Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*. **Australian Journal of Entomology**, Wembley, v. 43, p. 101-113, 2004.

MORGAN, N.C.; WADDELL, A.B. Diurnal variation in the emergence of some aquatic insects. **Transactions of the Royal Entomological Society of London**, London, v. 113, n. 6, p. 123-137, 1960.

NOYES, J.S. **Catalogue of the Chalcidoidea of the world.** Amsterdam: Unesco publishing, 1998. 1 CD-ROM.

OGAH, E.O.; NWILENE, F.E.; UKWUNGWU, M.N..; OMOLOYE, A.A.; AGUNBIADE, T.A. Population dynamics of the African rice gall midge *Orseolia oryzivora* (Diptera: Cecidomyiidae) and its parasitoids in the forest and southern Guinea savanna zones of Nigeria. **International Journal of Tropical Science**, Raina, v. 29, n. 2, p. 86-92, 2009.

OMOLOYE, A.A.; ODEBIYI, A. Endogenously entrained emergence and oviposition rhythm in the African rice gall midge, *Orseolia oryzivora* H. and G. (Dipt., Cecidomyiidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlim, v. 125, p. 105-107, 2001.

PLATNER, G.R.; PLANOUTENE, V.M.; PINTO, J.D. Slide-mounting techniques for *Thichogramma* (Trichogrammatidae) and other minute parasitic Hymenoptera. **Entomological News**, Filadélfia, v. 110, 56-64, 1999.

PROTASOV, A.; BLUMBERG, D.; BRAND, D.; LASALLE, J.; MENDEL, Z. Biological control of the eucalyptus gall wasp *Opheminus maskelli* (Ashmead): Taxonomy and biology of the parasitoid species *Clostocerus chamaeleon* (Girault), with information on its establishment in Israel. **Biological Control**, Orlando, v. 42, p. 196-206, 2007b.

PROTASOV, A.; DOGANLAR, M.; LASALLE, J.; MENDEL, Z. Occurrence of two local *Megastigmus* species parasitic on the eucalyptus gall wasp *Leptocybe invasa* in Israel and Turkey. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 36, n. 5, p. 449-459, 2008.

PROTASOV, A.; LASALLE, J.; BLUMBERG, D.; BRAND, D.; SAPHIR, N.; ASSAEL, F.; FISHER, N.; MENDEL, Z. Biology, revised taxonomy and impact on host plants of *Ophelimus maskelli*, an invasive gall inducer on *Eucalyptus* spp. in the Mediterranean Area. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 35, n. 1, p. 50-76, 2007.

PUJADE-VILLAR, J.; RIBA-FLINCH, J.M. Dos especies australianas de eulópidos, muy dañinas para Eucalyptus spp., introducidas en el nordeste ibérico (Hymenoptera: Eulophidae). **Boletin de la Sociedad Entomológica Aragonesa**, Zaragoza, v. 35, p. 299-301, 2004.

RAMAN, A.; WITHERS, T.M. Oviposition by introduced *Ophelimus eucalypti* (Hymenoptera: Eulophidae) and morphogenesis of female-induced galls on *Eucalyptus saligna* (Myrtaceae) in New Zealand. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 93, p. 55-63, 2003.

REDAK, R.A.; BETHKE, J.A. Detection and seasonal occurrence of gall-forming wasps (Hymenoptera: Eulophidae) on Geraldton wax plant (*Chamelaucium uncinatum* Schauer, Myrtales: Myrtaceae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 88, n. 2, p. 387-392, 1994.

REUTER, M.; PEDERSEN, J.S.; KELLER, L. Loss of *Wolbachia* infection during colonization in the invasive argentine ant *Linepithema humile*. **Heredity**, London, v. 94, p. 364-369, 2005.

REY, L.A. Developmental morphology of two types of Hymenopterous galls. In: SHORTHOUSE, J.D.; ROHFRITSCH, O. (Ed.). **Biology of insect-induced galls**. New York: Oxford, Oxford University Press, 1992. cap. 6, p. 87-101.

ROHFRISTCH, O. Patterns in gall development. In: SHORTHOUSE, J.D.; ROHFRITSCH, O. (Ed.). **Biology of insect-induced galls**. New York: Oxford, Oxford University Press, 1992. cap. 5, p. 60-86.

SÁNCHES, I. Descubiertas dos nuevas plagas del eucalipto en España. **Quercus**, Barcelona, v. 214, p. 32-33, 2003.

SAUNDERS, D.S.; STEEL, C.G.H.; VAFOPOULOU, X.; LEWIS, R.D. , 3rd .ed. **Insect Clocks**. Amsterdan: Elsevier, Elsevier Science B.V., 2002. 551p.

SCHAUFF, M.E.; GARRISON, R. An introduced species of *Epichrysocharis* (Hymenoptera: Eulophidae) producing galls on *Eucalyptus* in California with notes on the described species and placement of the genus. **Journal of Hymenopteran Research**, Spokane, v. 9, n. 1, p. 176-181, 2000.

SHORTHOUSE, J.D.; ROHFRITSCH, O. Preface. In: SHORTHOUSE, J.D.; ROHFRITSCH, O. (Ed.). **Biology of insect-induced galls**. New York: Oxford, Oxford University Press, 1992. 285 p.

SKUHRAVÁ, M.; SKUHRAVÝ, V. Biology of gall midges on Common Reed in Czechoslovakia. In: SHORTHOUSE, J.D.; ROHFRITSCH, O. (Ed.). **Biology of insect-induced galls**. New York: Oxford, Oxford University Press, 1992. cap. 13, p. 196-207.

SOPOW, S.L.; SHORTHOUSE, J.D.; STRONG, W.; QUIRING, D.T. Evidence for long-distance, chemical gall induction by an insect. **Ecology Letters**, Oxford, v. 6, p. 102-105, 1998.

STONE, G.N.; SCHÖNROGGE, K.; ATKINSON, R.J.; BELLIDO, D.; PUJADE-VILLAR, J. The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae). **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 47, p. 633-668, 2002.

UECHI, N.; UESATO, T.; YUKAWA, J. Detection of na invasive gall-inducing pest, *Quadrastichus erytrhrinae* (Hymenoptera: Eulophidae), causing damage to *Erythrina variegate* L. (Fabaceae) in Okinawa Prefecture, Japan. **Entomological Science**, Kioto, v. 10, p. 209-212, 2007.

VIGGIANE, G.; NICOTINA, M. The eulophid leaf gall-making of eucalypts *Ophelimus eucalypti* (Gahan) (Hymenoptera: Eulophidae) in Campania. **Bolletino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura**, Roma, v. 33, p. 79-82, 2001.

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. Avaliação do rendimento e do teor de citronelal do óleo essencial de procedências e raças locais de *Eucalyptus citriodora*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 56, p. 145-154, 1999.

VITTI, A.M.S.; BRITO, O.J. **Óleo essencial de eucalipto**. Piracicaba: ESALQ 2003. 26 p. (Documentos Florestais).

WALSH, P.J. Gall wasp on *Eucalyptus botryoides* and *Eucalyptus saligna* and possibilities for biological control. **New Zealand Forestry**, Wellington, v. 41, p. 40-41, 1996.

WERREN, J.H.; WINDSOR, D.M. *Wolbachia* infection frequencies in insects: evidence of a global equilibrium? **Proceedings of Royal Society of London**, London, v. 267, p. 1277-1285, 2000.

WESTPHAL, E. Cecidogenesis and resistance phenomena in mite-induced galls. In: SHORTHOUSE, J.D.; ROHFRITSCH, O. (Ed.). **Biology of insect-induced galls**. New York: Oxford, Oxford University Press, 1992. cap. 9, p. 141-156.

WITHERS, T.M. Oviposition by introduced *Ophelimus eucalypti* (Hymenoptera: Eulophidae) and morphogenesis of female-induced galls on *Eucalyptus saligna* (Myrtaceae) in New Zealand. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 93, p. 1, p. 55-63, 2003.

WITHERS, T.M.; RAMAN, A.; BERRY, J.A. Host range and biology of *Ophelimus eucalypti* (Gahan) (Hym., Eulophidae), a pest of New Zealand eucalypts. **New Zealand Plant Protection**, Christchurch, v. 53, p. 339-344, 2000.

YANG, M.M.; TUNG, G.S.; LASALLE, J.; WU, M.L. Outbreak of erythrina gall wasp (Hymenoptera: Eulophidae) on *Erythrina* spp. (Fabaceae) in Taiwan. **Plant Protection Bulletin**, Taiwan, v. 46, p. 391-396, 2004.