

Produto 2

Documento técnico com critérios científicos para determinação da ocorrência natural dos invertebrados e o seu estabelecimento no ambiente, contendo os seguintes itens:

- a. Levantamento e discussão de critérios e requisitos para a comprovação da ocorrência natural de invertebrados, bem como a existência de base de dados para este fim.*
 - b. Detalhar os aspectos e levantar os critérios a serem observados para avaliar e prever o estabelecimento da espécie introduzida no ambiente, abordando a possibilidade de modelagem de nicho e de outras metodologias experimentais para sua determinação e quantificação.*
-

Eduardo Mitio Shimbori

Consultor

Contrato: CON 001940-2019

Piracicaba, SP

Março

2020

1. INTRODUÇÃO	3
2. OCORRÊNCIA NATURAL DE INVERTEBRADOS	4
3. TAXONOMIA E COLEÇÕES BIOLÓGICAS	6
3.1 Validação taxonômica e publicações	9
4. CRITÉRIOS PARA DETERMINAÇÃO DE OCORRÊNCIA	11
4.1 Literatura	11
4.2 Coleções biológicas	12
4.3 Observações e amostragens	12
4.4 Sequências de nucleotídeos em bancos de dados	13
4.5 Normas internacionais para pragas quarentenárias	14
4.6 Critérios para determinação de origem: nativa (endêmica) ou exótica	15
4.6.1 Registros de introduções	16
4.6.2 Filogenias	19
5. BASES DE DADOS	20
6. CRITÉRIOS PARA AVALIAÇÃO DE ESTABELECIMENTO	20
6.1 Características do ambiente	21
6.2. Modelagem ecológica de nicho (ENM)	22
6.3 Características biológicas	23
6.4 Características da introdução	24
6.5 Exemplos	25
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1. INTRODUÇÃO

Numa avaliação de risco para importação e liberação de IBCAs (Agentes Invertebrados de Controle Biológico), o primeiro passo a ser observado é se a espécie em questão é nativa, exótica com população estabelecida ou exótica sem população estabelecida, seguido pela demonstração de que a espécie, caso exótica e não estabelecida, pode ou não se estabelecer no novo ambiente (van Lenteren et al. 2006). Esses passos têm óbvia importância pois apenas espécies exóticas e não estabelecidas deverão passar por uma avaliação de risco completa.

Por outro lado, apenas condições muito específicas poderiam ser atribuídas a uma espécie de IBCA para que a mesma seja considerada inapta a estabelecer populações (e se autoperpetuar) no novo ambiente. Por exemplo, espécies que necessitam de um período de dormência estimulado por invernos com dias consecutivos sob temperaturas negativas com vistas para introdução em regiões tropicais. Pela própria necessidade de adoção do princípio da precaução, os aspectos biológicos que podem ou não favorecer o estabelecimento devem ser levantados, mas a impossibilidade, em grande parte dos casos, de prever o risco real de estabelecimento, faz com que seja necessário partir do pressuposto que o estabelecimento é uma possibilidade não negligenciável. Outra consideração é que o controle biológico clássico, no qual uma espécie exótica é introduzida para controle de uma praga, geralmente exótica, tem como objetivo que o IBCA estabeleça populações as quais irão naturalmente controlar a praga (sem necessidade de novas introduções ou criação massal). Portanto, é esperado que os pedidos de introdução de espécies exóticas de IBCA sejam já tratados como casos onde a espécie poderá se estabelecer, cabendo então ao requerente fornecer evidências de que mesmo com o estabelecimento o risco de introdução é aceitável.

Nesse documento serão listados os critérios científicos mais pertinentes, para importação e liberação de IBCAs exóticos, sobre a determinação de ocorrência de espécies, sua possível distribuição nativa e/ou assistida por ações antrópicas. Daremos destaque à importância da taxonomia no estabelecimento desses critérios. Também serão citadas bases de dados existentes no Brasil (ou mundiais) para espécies e sequências genéticas, além de uma lista parcial com as introduções de inimigos naturais já realizadas no Brasil. A segunda parte tratará brevemente de alguns aspectos fundamentais a serem considerados para determinar a possibilidade de estabelecimento de uma população capaz de autoperpetuar-se em um novo ambiente. Alguns exemplos serão fornecidos para ilustrar a complexidade dos assuntos.

2. OCORRÊNCIA NATURAL DE INVERTEBRADOS

O presente documento discute os critérios para a avaliação de ocorrência de espécies em um determinado ambiente. Em consequência de tal averiguação, respeitando-se os critérios científicos, uma espécie poderá ser incluída em listas de fauna, as quais podem servir como guia para diferentes fins, como aqueles relacionados à importação e liberação de IBCAs. Devemos, no entanto, desde já esclarecer a complexidade relacionada com o termo ‘ocorrência natural’, já que espécies sinantrópicas vêm sendo movimentadas pelo homem desde tempos muito remotos. Dessa forma, considerando a ação antrópica de introdução (acidental ou intencional) como não natural, é bastante comum que, para tais espécies, não seja possível determinar a área de ocorrência natural, no sentido de área endêmica, separando-se processos de dispersão natural daqueles auxiliados ou promovidos por pessoas. A distribuição de plantas de interesse agrícola oferece inúmeros exemplos de tal complexidade.

O uso do termo ‘ocorrência natural’ para a fauna de invertebrados (em especial insetos) é particularmente complexo, em consequência da falta de conhecimento taxonômico. Tal situação é notoriamente mais grave em zonas tropicais, por consequência da alta diversidade e menor volume de estudos faunísticos como levantamentos e revisões taxonômicas (Godfray et al. 1999; Myers et al. 2000). A complexidade agrava-se ainda no caso dos IBCAs, já que os mesmos vêm sendo movimentados entre as regiões biogeográficas do planeta desde o século XIX, intencionalmente, e desde tempos muito mais remotos, como espécies sinantrópicas. Considerando-se a falta de conhecimento taxonômico, a escassez de levantamentos faunísticos para invertebrados e as movimentações não registradas, ocorridas em período onde as regulações para tais processos eram inexistentes, determinar a ocorrência “natural” de uma espécie de invertebrado passa longe de ser uma tarefa simples. Devemos ainda acrescentar que as vespas parasitoides (Insecta: Hymenoptera), extremamente pertinentes como IBCAs, são atualmente consideradas como um dos grupos mais diversos de animais, mas cuja diversidade ainda não foi devidamente avaliada (e.g. Ronquist et al. 2020), especialmente pelo seu tamanho diminuto e presença constante de espécies crípticas (i.e. duas ou mais espécies morfológicamente tão semelhantes que sua distinção é extremamente difícil ou mesmo impossível por meio de inspeção visual) (veja Heraty 2009).

Para exemplificar a questão da movimentação de espécies e sua ocorrência natural, podemos citar um breve histórico sobre a distribuição de uma vespa parasitoide

associada a diferentes espécies de moscas (e.g. moscas domésticas, mosca de estábulo, mosca das frutas etc.) (Insecta, Diptera), chamada *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera, Pteromalidae). Esta espécie atualmente tem distribuição cosmopolita, incluindo o Brasil. Sabe-se, por exemplo, que foi introduzida no Havaí para controle de moscas domésticas em 1914, com espécimes provenientes das Filipinas (Pemberton & Willard 1918). Os primeiros registros no Brasil são de 1935 a 1941, mas sua introdução nunca foi registrada. A espécie ocorre em todo o Brasil e em mais 10 países sul-americanos sem que se saiba ao certo se ocorre naturalmente nessas regiões, se fora introduzida assim como no Havaí, ou se ampliou sua distribuição por viver em associação com moscas sinantrópicas (Ovruski & Schliserman 2012).

Em conclusão, apesar de parecer simples a determinação de ocorrência natural, para muitas espécies a realidade é mais complexa. Talvez para grande parte das espécies determinar ocorrência natural seja alvo de observação direta, mas em outros casos, em particular os acima mencionados e que são de nosso interesse, inúmeros fatores condicionam ou impossibilitam essa determinação. Assim sendo, acredito que o termo 'natural' deva ser abandonado para fins de determinação de ocorrência. Nos casos onde se possa estabelecer que o animal é de fato nativo daquela região podemos incluir tal informação, cuja pertinência é indiscutível por estarmos tratando de restrições à espécies exóticas (= não nativas). Seriam então dois parâmetros a serem avaliados de forma quase independente. O primeiro: ocorre ou não ocorre; e o segundo: é nativo, exótico ou não se pode afirmar. No exemplo de *P. vindemmiae*, é uma espécie que ocorre, mas cuja origem não se pode afirmar. Em termos práticos, tal espécie pode ser considerada como estabelecida na região. Também podemos adicionar uma subcategoria às espécies nativas, caso sejam endêmicas ao Brasil e suas regiões (e.g. biomas).

A distinção entre espécie com população estabelecida (exótica ou indeterminada) e espécie nativa será essencial nas regulações sobre movimentação de IBCAs. Para os primeiros deve haver restrições quanto a novas introduções, para o segundo grupo restrições de exportação se aplicam, especialmente nos casos de endemismo.

A principal conclusão aqui seria que, por não se conhecer a fauna nativa uma determinação de ocorrência pode ser difícil. Portanto, se houver conhecimento sobre uma espécie a ser introduzida, são pequenas as chances de haver registros dela no Brasil. É por isso que a manutenção de registros históricos sobre eventos de introdução é extremamente importante (ver adiante), mas também deve ser combinada com levantamentos recentes que comprovem ou não o estabelecimento da espécie.

Outro critério, ainda não discutido, seria a amplitude de distribuição. Espécies têm sempre algum tipo de limitação geográfica em sua distribuição. Por outro lado, divisões políticas podem não ser correspondidas por limites geográficos. Portanto, a ocorrência de uma espécie em países vizinhos, onde não exista barreiras geográficas, ao mesmo tempo que sejam compartilhados fatores bióticos (e.g. formação vegetacional) e abióticos (principalmente clima) são bons indicativos de que a espécie possa estar distribuída em ambos os países. Portanto, as considerações de ocorrência também podem divergir se o critério estabelecido for por divisão política (fronteiras entre países ou estados) ou geográfica (biomas, formações vegetacionais, bacias hidrográficas etc). De forma mais pragmática, apenas se estabelece a ocorrência se de fato há registro da espécie no local, nesse caso no local onde se pretende realizar uma nova introdução.

3. TAXONOMIA E COLEÇÕES BIOLÓGICAS

A Taxonomia é a ciência que classifica os organismos vivos. Sua origem, na forma moderna, data de quase 270 anos atrás com a introdução da nomenclatura binomial por Linnaeus. Para cada espécie conhecida existe portanto um binômio único formado pela combinação do nome de seu gênero e sua espécie, sendo tal nome cunhado por um taxonomista e seu caráter único e universal garantido pelo código de nomenclatura zoológica (disponível em <https://www.iczn.org>). Ao se descrever, e nomear, uma nova espécie, critérios rígidos devem ser cumpridos, como a publicação da descrição em revistas científicas ou outros meios de comunicação, a manutenção de espécimes tipo em coleções biológicas e a distinção da nova espécie em comparação com as demais espécies existentes naquele gênero (ou de táxons mais elevados). A localização de coleta é uma informação fundamental a ser dada nos trabalhos taxonômicos, outros dados biológicos são opcionais e podem ou não ser fornecidos. No caso de parasitoides, por exemplo, dados de hospedeiros são especialmente importantes, mas para a maioria das espécies conhecidas não se conhecem seus hospedeiros. Informações mais detalhadas sobre a pesquisa em taxonomia, a importância de coleções, etc., podem ser encontrados em Papavero (1994).

Portanto, a primeira forma de registro de uma espécie é feita no momento de sua descrição, sendo portanto a descrição original o ponto de partida para conhecer a distribuição de uma espécie. Registros mais antigos podem ser adicionados caso espécimes tenham sido devidamente depositados em coleção. Não é incomum que

espécies sejam estudadas, incluindo para fins de introdução como IBCA exótico antes mesmo de sua descrição formal. Nesses casos também é comum que a espécie seja descrita durante os estudos bioecológicos. O importante nesses casos é que seja explicitado, no momento da descrição, que a nova espécie já havia sido estudada anteriormente (especificar as publicações) sob o nome 'Gênero sp.'

Considerando que qualquer espécie possui ao menos um espécime tipo (i.e. aquele utilizado como base para sua descrição) depositado em coleção biológica, podemos entender a razão da forma mais importante de registro ser por meio de espécimes depositados em coleção. Outros espécimes coletados em levantamentos faunísticos, ou trabalhos de outra natureza, também podem, e deveriam, ser mantidos em coleções e servem a uma infinidade de propósitos (Chapman 2005). Nas coleções biológicas é que se mantêm os registros históricos de qualquer espécie, os quais podem ser acessados por qualquer interessado. Os espécimes depositados em uma coleção contém informações valiosas tanto para a revisão taxonômica de grupos, definição e redefinição de conceitos taxonômicos e de distribuição, averiguação da validade de identificações passadas, e até mesmo para obtenção de material genético. Em casos raros, até mesmo uma associação hospedeiro-parasita pode ser verificada com base em material de coleção. A *Entomological Society of America*, por exemplo, em sua declaração sobre a importância de coleções entomológicas, cita ainda a rapidez na identificação de espécies invasoras e pragas agrícolas (ESA 2016; veja também referências disponíveis em <http://www.entsoc.org/scipol/background-entomological-collections>). Estima-se que existam mais de 3 bilhões de espécimes depositados em coleções biológicas pelo mundo. É importante destacar que sem o devido trabalho de curadoria, que prima pela organização e preservação do material, e de taxonomia, que permite a identificação correta do material, o valor de uma coleção não poderá ser devidamente apreciado.

Mesmo a existência de um vasto registro em coleção, com identificação em nível específico e localidade precisa (todas essas informações são essenciais e só podem ser resgatadas se um método de etiquetagem correto tenha sido utilizado, além de outros requisitos de organização atribuídos ao trabalho de curadoria de coleções), tal informação só pode ser devidamente apreciada após exame minucioso e compilação dos dados, os quais devem preferencialmente ser publicados em forma de *checklists* ou em catálogos. As *checklists* podem ser compostas também por dados de amostragens mais recentes, mas mesmo nesses casos a manutenção de espécimes testemunho (=voucher) em coleções é imprescindível. As coleções também devem abrigar espécimes testemunho de

trabalhos publicados cujos resultados são baseados na identificação de táxons (ver adiante).

Um dos principais limitantes para a determinação de ocorrência de uma espécie é justamente a taxonomia, mais precisamente a falta de estudos taxonômicos, o que vem sendo chamado nas últimas décadas de impedimento taxonômico (Global Taxonomy Initiative - <https://www.cbd.int/gti/>). O impedimento taxonômico é determinado pelo reconhecimento de que grande parte das espécies existentes no planeta ainda não é conhecida para a ciência (i.e. nunca foi descrita e nomeada), impedindo assim o avanço em outras áreas da ciência. Soma-se à esse impedimento a crise da taxonomia como ciência, devido à uma desvalorização no meio acadêmico, o que por consequência gera menor interesse e menores investimentos, portanto menor formação de pessoal, agravando o impedimento (Drew 2011). A caracterização molecular (por meio de marcadores genéticos) se propõe a amenizar esse cenário, mas tal procedimento também tem seus fatores limitantes, e dependerá em grande extensão do conhecimento taxonômico, para ser funcional (Godfray 2002). A utilização de marcadores moleculares na taxonomia é controversa. Da mesma forma, seu uso como critério para determinação de ocorrência, tem aspectos bastante positivos, como a rapidez e menor dependência de especialistas para identificação de material (i.e. taxonomistas), mas sem uma base taxonômica sólida e um banco de dados muito bem curado, não é confiável, especialmente nos casos onde a espécie não possui uma descrição formal (ver adiante).

É importante ressaltar que para alguns grupos o impedimento taxonômico é mais severo. Por exemplo, insetos grandes e vistosos, como borboletas e besouros, têm melhor conhecimento sobre suas espécies em comparação a insetos diminutos e pouco chamativos. Esse fator é de grande importância para IBCAs, já que micro-himenópteros parasitoides e nematoides estão entre os principais grupos de invertebrados utilizados em programas de controle biológico, ao mesmo tempo que constituem grupos cuja lacuna do conhecimento taxonômico é das maiores entre os animais terrestres (Ronquist et al 2020).

3.1 VALIDAÇÃO TAXONÔMICA E PUBLICAÇÕES

Considerando a sensibilidade do assunto e o risco de uma interpretação errônea ao se determinar a ocorrência de uma espécie, é necessário cautela sobre os resultados de publicações científicas. A melhor forma de determinar se os resultados são confiáveis é verificar se o trabalho apresenta validação taxonômica, onde 1) a forma de identificação do material é devidamente descrita, 2) o conceito taxonômico mais moderno para a

espécie é citado e 3) espécimes *voucher* tenham sido devidamente depositados em coleções oficiais.

1. Identificação

Identificar espécies é uma tarefa que frequentemente requer auxílio de especialistas (i.e. taxonomistas), especialmente em grupos de invertebrados como artrópodes e nematoides. Mesmo especialistas falham em identificar uma espécie devido à falta de literatura apropriada, ou mesmo por se tratar de uma espécie ainda não descrita. Portanto, não é tarefa trivial, e qualquer publicação em que um nome específico é utilizado deveria conter uma descrição breve do método de identificação.

O método mais comum de identificação é por meio de chaves de identificação, geralmente chaves dicotômicas. Existem chaves simplificadas que atendem às necessidades de não especialistas, como chaves para pragas de uma cultura por exemplo, que atenderão às necessidades de um entomologista aplicado.

Especialistas ou mesmo parataxonomistas podem determinar uma espécie, ou confirmar uma identificação por meio de comparação com espécimes em coleção de referência. Mais uma vez, esse é um procedimento bastante comum para determinação de espécies-praga. Em parte isso é possível pois as coleções de referência para esse fim abrigam um número mais restrito de espécies, com importância agrícola.

Atualmente vem se tornando cada vez mais viável a identificação por meio de marcadores moleculares. Para tanto é necessário apenas que se obtenha uma sequência de nucleotídeos de um gene ou de um fragmento de gene que seja amplamente utilizado para diagnosticar espécies daquele grupo de interesse (e.g. o gene mitocondrial COI - Citocromo Oxidase I, possui um fragmento de ~600bp conhecido como *Barcoding*, amplamente utilizado em inúmeros grupos de insetos, incluindo parasitoides). Existem no entanto inúmeros fatores limitantes para a confiabilidade desse método. O principal fator é que as comparações são feitas com base em bancos de dados (e.g. GenBank, BOLD - Barcode of Life Database (Ratnasingham & Hebert 2007)). Tais bancos são ainda bastante incompletos, impedindo muitas vezes a identificação. No Brasil a incompletude é ainda maior, quando comparada a países da América do Norte por exemplo. Ainda mais problemática é a confiabilidade das identificações associadas a uma sequência, já que uma identificação correta depende de bom conhecimento taxonômico do grupo e por parte do identificador, e como discutimos no início desse documento, ambos são parte do impedimento taxonômico. Ainda assim, obter sequências de marcadores moleculares e

depositá-las em bancos de dados públicos é uma prática essencial para o futuro da taxonomia e para a determinação de espécies e sua distribuição.

2. Conceito taxonômico

Além da forma de identificação citar ao menos o trabalho mais recente que apresente uma versão moderna do conceito taxonômico possibilita ao leitor determinar prontamente o conceito utilizado no momento da identificação. Caso esse conceito tenha sido posteriormente substituído por outro, uma correção no nome científico pode ser feita por simples consulta à literatura.

3. Manutenção de espécimes *voucher*

Como discutimos acima, as coleções biológicas desempenham papel central em estudos taxonômicos e de biodiversidade, mas também têm grande importância aplicada, ao servir de referência para rápida identificação de pragas invasoras por exemplo. Estudos onde o ponto focal não é a taxonomia, como estudos de entomologia (ou nematologia) aplicada ou ecologia, falham em realizar uma correta validação taxonômica das espécies identificadas (Packer et al. 2018). Dessa forma, é de extrema importância considerar que estudos dessa natureza poderão conter inúmeros erros de identificação ou classificação, os quais jamais poderão ser averiguados e corrigidos. É de grande interesse portanto, ao se considerar os critérios para determinação de ocorrência (ver adiante) que as publicações contenham uma correta validação taxonômica (sensu Packer et al. 2018). A manutenção de espécimes *voucher* em coleções oficiais, devidamente citadas no trabalho, com números de tombo que possibilitarão acesso futuro aos espécimes é sem dúvida o requisito mais importante da validação taxonômica, pelos motivos discutidos anteriormente sobre a importância de coleções biológicas.

A importância de manter *vouchers* é bem reconhecida mas relativamente pouco observada em áreas aplicadas por exemplo. Discussões mais aprofundadas dessa importância no âmbito do controle biológico, em especial sobre avaliações de risco podem ser encontradas em Andersen & Wagner (2016) e Barratt et al. (2010).

4. CRITÉRIOS PARA DETERMINAÇÃO DE OCORRÊNCIA

Informações sobre a ocorrência de uma espécie podem ser obtidas por meio de revisão bibliográfica e bases de dados (informações preexistentes) ou por novos levantamentos em campo ou em coleções biológicas.

4.1 LITERATURA

Descrições originais, revisões taxonômicas, notas de registros, levantamentos faunísticos e *checklists* são as fontes primárias de dados de ocorrência.

Catálogos são compilações extensivas de dados de literatura. Muitas vezes os catálogos reproduzem fielmente as informações sem averiguação de erros, portanto os mesmo devem ser utilizados com ressalvas. A maior parte dos catálogos pertinentes a IBCAs são relativamente antigos, como por exemplo a série de Shenefelt, para Hymenoptera, ou não cobrem a região Neotropical. Para ácaros predadores, família Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata), há um catálogo relativamente recente (Moraes et al. 2004). Para Hymenoptera parasitoides, existe o catálogo on-line para Chalcidoidea (Noyes 2020, disponível em <https://www.nhm.ac.uk/our-science/data/chalcidoids/>) e o TAXAPAD, um catálogo em formato de programa executável para PCs, para Ichneumonoidea (Yu et al. 2016). Outros grupos não possuem catálogos, ou são relativamente desatualizados como Proctotrupeoidea (Johnson 1992) e Platygastriidae (Vlug 1995). A taxonomia de nematoides entomopatogênicos é menos elucidada quando comparada à de Arthropoda (Brusca et al. 2018). Cerca de 11 famílias são associadas a insetos, das quais três têm maior importância para controle biológico: Sphaerulariidae, Steinernematidae e Heterorhabditidae (Poinar 1990; Stock & Hunt 2005; Almenara et al. 2012).

Trabalhos de entomologia/nematologia aplicada ou outros onde o nome da espécie é citado são fontes importantes e pertinentes aos IBCAs. No entanto, cautela é necessária na utilização dessas informações pois a grande maioria não apresenta devida validação taxonômica. Nesses casos poderá ser necessária confirmação por meio de exame de espécimes *vouchers*, quando disponíveis.

4.2 COLEÇÕES BIOLÓGICAS

Fonte mais importante de registros, espécies podem ser identificadas a partir de coleções biológicas e assim utilizadas como referência para determinação de ocorrência.

Além de novas informações de ocorrência, as coleções são também extremamente importantes por possibilitar a confirmação de identidade de espécies já identificadas e publicadas. Por isso é essencial que as coleções sejam bem curadas e os espécimes

depositados sejam devidamente rotulados e organizados de forma a permitir acesso rápido a qualquer exemplar.

No caso de espécies exóticas introduzidas, dados de amostras obtidas no passado podem requerer novas amostragens para confirmação do estabelecimento, uma vez que espécies podem falhar em se estabelecer por longos períodos. Como no exemplo dado para *Cotesia flavipes*, espécimes recuperados na década de 1970 podem representar uma realidade diferente da atual (ver adiante).

Qualquer novo registro por obtenção de espécimes, deve ser seguido de depósito de material testemunho (*voucher*) em coleção oficial. O mesmo é válido para qualquer espécie que seja importada ou liberada no país. Dessa forma, o registro se mantém por período indefinido, acessível ao público (mais ou menos restrito a pesquisadores), e, diferentemente das listas, podem ser revisados e corrigidos à luz de novas evidências taxonômicas por exemplo.

Portanto, a importância das coleções é independente de publicação da informação. Ao mesmo tempo, tais informações devem ser publicadas para que essas informações sejam acessíveis ao público e utilizadas como fontes de registros de ocorrência.

Coleções de relevância para IBCA no Brasil são encontradas no Museu de Zoologia da USP, em São Paulo, SP e da UFPR, em Curitiba, SP, e INPA, em Manaus, AM, para invertebrados em geral; no Instituto Biológico, em Campinas, SP, para insetos entomófagos e nematoides entomopatogênicos; a coleção de ácaros do Laboratório de Acarologia Agrícola da ESALQ, em Piracicaba, SP; as coleções do Museu Nacional e do Instituto Oswaldo Cruz, ambas no Rio de Janeiro, RJ e da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em Seropédica, RJ. Para himenópteros parasitoides, também existem as coleções do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da UFSCar, em São Carlos, SP (Ichneumonoidea), do Departamento de Ciências Biológicas da UFES, em Vitória, ES e da APTA de Ribeirão Preto, SP. Bastante relevante para os IBCAs exóticos especificamente, é a coleção da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna, SP (ver adiante). Muitas coleções fora do Brasil abrigam espécimes da nossa fauna. Entre as mais importante, em especial para artrópodes, podemos citar as coleções do Smithsonian Institute, em grande parte situadas em Washington D.C., EUA, o Museu Britânico de Historia Natural, em Londres, Inglaterra, o Canadian National Collection, em Ottawa, Canadá, e as coleções do Museu Bernardino Rivadavia, em Buenos Aires e do Museu de La Plata, ambos na Argentina.

4.3 OBSERVAÇÕES E AMOSTRAGENS

Em casos onde não existem registros na literatura ou em coleções, pode-se fazer necessária a obtenção de espécimes em campo. Os registros por observação podem ser descartados no contexto deste trabalho, já que para invertebrados a identificação é bastante dependente de um exame minucioso de espécimes de tamanho reduzido, salvo raras exceções. Para confirmação de identidade é necessário que se tomem amostras de indivíduos em campo, as quais deverão ser identificadas conforme os procedimentos descritos na subseção 3.1.

Para inimigos naturais, como parasitoides e entomopatógenos, o meio mais apropriado para obtenção de amostras é pela coleta dos hospedeiros (i.e. artrópodes-praga). Pois assim se pode obter ao mesmo tempo o IBCA e a associação com seu hospedeiro, que por sua vez será a praga-alvo do programa de controle biológico. Predadores também podem ser obtidos indiretamente pela busca de presas, mas a associação nesses casos é mais breve e a probabilidade de sucesso pode ser menor. Ao se amostrar hospedeiros, os mesmos devem ser individualizados e alimentados até a emergência de eventuais parasitoides ou patógenos

4.4 SEQUÊNCIAS DE NUCLEOTÍDEOS EM BANCOS DE DADOS

A determinação de uma espécie pode, em certos casos, ser feita com base em marcadores moleculares, com o DNA *barcoding*. Com já mencionado, tal determinação depende da existência de bancos de dados mais completos e de um trabalho taxonômico prévio. Num exemplo hipotético, se um marcador for altamente eficiente para um grupo taxonômico (e.g. um gênero ou uma família) o qual foi extensivamente amostrado (em termos de sequenciamento de espécies), um coletor interessado em saber se um exemplar qualquer ocorre em determinada região pode sequenciar este marcador e a partir de ferramentas de comparação determinar se há uma espécie com sequência compatível depositada nos bancos de dados. Nesse exemplo, mesmo se a espécie não tiver sido nomeada, o pesquisador poderá inferir seus locais de ocorrência. Existem diversos tipos de marcadores moleculares, mas é importante selecionar aquele adequado ao grupo de estudo. Compatibilidade de 100% entre duas sequências, para DNA *barcoding* por exemplo, pode ser considerado um indicativo confiável de identidade para vespas parasitoides de algumas famílias.

O principal banco de dados para nucleotídeos atualmente é o GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), hospedado pelo NCBI (National Center of Biotechnology Information), do governo estadunidense. Nele podem ser encontradas sequências de nucleotídeos de diferente regiões e genes. Oferece uma ferramenta de comparação entre

sequências chamada BLAST, e a informação é acessível ao público em geral, exceto quando restrições são impostas pelos autores.

O BOLD (Barcode of Life Database) é um banco de dados específico para sequências de DNA *Barcoding* (Ratnasingham & Hebert 2007). Possui regras mais rígidas quanto ao depósito e identificação das sequências, o que facilita ao usuário determinar a confiabilidade das sequências depositadas. Também possui ferramentas de identificação por comparação de sequências, além de apresentar modelos para a definição de unidades taxonômicas moleculares (MOTU).

4.5 NORMAS INTERNACIONAIS PARA PRAGAS QUARENTENÁRIAS

ISPM 08 - sobre determinação de presença/ausência de pragas quarentenárias:

As normas internacionais para medidas fitossanitárias oferecem uma base para a determinação de presença ou ausência de pragas. Tais normas são seguidas pelo Brasil, segundo a IN MAPA nº 45, de agosto de 2018. Critérios similares podem ser adotados para a determinação de presença ou ausência de um IBCA, pois existe também grande precaução na determinação de ocorrência para organismos que são de grande importância econômica como as pragas agrícolas e a experiência nacional e internacional sobre esse controle é muito maior se comparada ao controle de ocorrência de IBCAs.

Segundo o ISPM 8 (FAO/IPPC 2017) podem ser utilizados registros atuais ou históricos na determinação de presença de uma praga. Pragas já introduzidas ou nativas são consideradas presentes caso os registros assim o indiquem, podendo ou não ser classificadas em diferentes subcategorias, quando há detalhamento suficiente. A ausência também é determinada, nesse caso pela falta de registros. No entanto, pode se fazer necessário um levantamento para confirmação de ausência. A partir de informações de suporte, uma NPPO (Organização Nacional de Fitossanidade) deve determinar o status de uma praga, sendo essas informações provenientes de:

- registros individuais de pragas
- registros de levantamentos
- registros ou outros indicativos de ausência
- resultados de fiscalizações
- informações em publicações científicas e bases de dados
- medidas fitossanitárias para prevenção de introdução e dispersão
- outras informações relevantes para avaliar a ausência ou presença da praga

4.6 CRITÉRIOS PARA DETERMINAÇÃO DE ORIGEM: NATIVA (ENDÊMICA) OU EXÓTICA

Pode-se considerar que uma espécie é nativa de determinada região quando esta tem origem evolutiva ou se dispersou naturalmente, sem auxílio humano, no local. Já espécies exóticas são aquelas que não pertencem a um determinado local. Algumas espécies exóticas podem passar a compor a fauna local após introdução, ao estabelecer populações. Como discutido na seção 2, casos em que não é possível discernir o que é uma espécie nativa ou exótica com população estabelecida não são raros, pois introduções acidentais são bastante comuns e introduções intencionais não registradas também. Isto, aliado à falta de conhecimento da fauna local tornam impossível determinar a origem de algumas espécies, em especial aquelas com distribuição cosmopolita.

Alguns indícios podem ser importantes na definição do centro de origem de uma espécie, como suas relações evolutivas, sua distribuição atual e histórica, sua relação específica com hospedeiro, bem como registros de movimentação intencional. Como exemplo, podemos citar *Cotesia flavipes*, que foi primariamente importada de Trinidad para o Brasil. Existem registros claros da movimentação dessa espécie, partindo da região Oriental (Índia e Paquistão) para Trinidad, portanto é evidente que sua distribuição nativa é daquela região. Mesmo sem essa informação, seria possível inferir seu centro de origem por sua posição filogenética, já que pertence a um grupo de espécies endêmicas do velho mundo (Polaszeck & Walker 1991), e que eventualmente se dispersou pela Australásia (MUIRHEAD et al. 2008). Nesse caso, um clado (grupo de espécies com um ancestral comum) de distribuição exclusiva de uma região biogeográfica não deve ter representantes em outra região. Isso pode ser verdadeiro para grupos de espécies, gêneros, subfamílias e até famílias inteiras ou algumas pequenas ordens, como Raphidioptera (Grimaldi & Engel 2005).

Apanteles subandinus exemplifica a importância da associação hospedeiro-parasitoide. O centro de origem da batata e de sua principal praga, *Phthorimaea operculella*, a traça da batata, foi extensivamente estudado por botânicos e entomólogos, sendo aceita a origem em regiões a oeste dos Andes, em especial no Peru, Bolívia e Chile. O histórico de movimentação do tubérculo é bastante antigo e intenso, mas seu centro de origem bem estabelecido. Dessa forma, *Apanteles subandinus*, que parasita exclusivamente a traça da batata, pode ter seu centro de origem associado ao de seu hospedeiro. A traça da batata atualmente tem distribuição mundial, e *A. subandinus* já foi introduzido em inúmeros países, como a Austrália. No Brasil a espécie tem ocorrência registrada desde 1983, mas não há registros de introdução. Devido ao histórico bem conhecido do seu hospedeiro, podemos inferir que sua presença no Brasil se deu por

consequência da introdução do hospedeiro, e que ambas são espécies exóticas que se estabeleceram no país (França et al. 2015).

Distribuições disjuntas (i.e. em dois continentes isolados) podem ser também um indício de movimentação por ação antrópica. Por outro lado, espécies comuns em uma região mas nunca registradas em outra são possivelmente endêmicas. Mais uma vez é importante destacar a importância da manutenção de coleções como registros históricos de distribuição de espécies, que podem ajudar a elucidar suas áreas de endemismo.

4.6.1 Registros de introduções

Manter registros de introduções de IBCAs é um requerimento em qualquer país onde exista regulamentação sobre sua importação e liberação. Além dos registros de importação e liberação, o monitoramento de populações para averiguação de seu estabelecimento também são requeridos em alguns países. Conhecer o histórico de introdução permite inferir sobre a natureza exótica de uma espécie com maior rapidez e confiabilidade.

No Brasil, as importações realizadas pelo Laboratório de Quarentena “Costa Lima”, localizado na Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna, SP, foram devidamente registradas e acompanhadas de depósito de espécimes *voucher* em sua coleção. Tais registros estavam disponíveis em seu sítio eletrônico, mas foram retiradas do ar (<https://www.cnpma.embrapa.br>). O mesmo sítio relata que até 2005, o laboratório realizou “241 introduções referentes a espécies de organismos benéficos, entre eles fungos, bactérias, nematoides entomopatogênicos, ácaros predadores, insetos parasitoides, insetos predadores, e outros microrganismos”. Além disso, como resultado de colaboração do laboratório com instituições de pesquisa internacionais “foram exportadas 30 espécies de organismos benéficos (19 insetos parasitoides, 10 ácaros predadores e 1 fungo), coletados em território brasileiro”.

Atualmente os registros disponíveis em publicações são relativamente desatualizados. Sá et al. (2002) relatam que entre 1991 e 2000 foram introduzidas no Brasil 27 IBCAs, entre artrópodes (24) e nematoides (3), a maior parte sendo de insetos parasitoides (14) e ácaros predadores(8). Não existem relatos ou documentos de outras estações quarentenárias que realizaram tais procedimentos nesse período.

Devido à escassez de documentação e considerando a importância dos registros de importação, compilamos a seguir a lista de espécies introduzidas, como fornecida por Sá et al. (2002) (a lista não inclui nematoides).

Tabela 1. Relação de IBCAs (exceto Nematoda) introduzidos pelo Laboratório de Quarentena “Costa Lima” entre 1991 e 2000 (*espécie introduzida em evento anterior)

IBCA introduzido	Ano	Origem	Solicitante	Finalidade - controle
<i>Xanthopimpla stemmator</i> (Ichneumonidae)	1991	Texas, EUA	Copersucar, SP	<i>Diatraea saccharalis</i> : broca-cana-de-açúcar
<i>Apanteles gelechiidivoris</i> (Braconidae)	1992	Colômbia	ESALQ/USP, SP	<i>Tuta absoluta</i> : traça-tomateiro
<i>Phytoseiulus persimilis</i> (Phytoseiidae)	1992	Holanda	Embrapa, Jaguariúna, SP	<i>Tetranychus urticae</i> : ácaro-rajado
<i>Typhlodromus pyri</i> (Phytoseiidae)	1993	Suíça	Agriflor, RS	<i>Panonychus ulmi</i> : ácaro-vermelho-macieira
<i>Diachasmimorpha longicaudata</i> (Braconidae)	1993	México e Flórida, EUA	Embrapa, Cruz das Almas, BA	<i>Anastrepha</i> spp.: mosca-das-frutas
<i>Typhlodomalus tenuiscutus</i> (Phytoseiidae)	1993	Colômbia	Embrapa, Cruz das Almas, BA	<i>Mononychellus tanajoa</i> : ácaro-verde-mandioca
<i>Apoanagyrus diversicornis</i> (Encyrtidae)	1993	Colômbia	Embrapa, Cruz das Almas, BA	<i>Phenacoccus herreni</i> : cochonilha-mandioca
<i>Acerophagus coccois</i> (Encyrtidae)	1993	Colômbia	Embrapa, Cruz das Almas, BA	<i>Phenacoccus herreni</i> : cochonilha-mandioca
<i>Aenasius vexans</i> (Encyrtidae)	1993	Colômbia	Embrapa, Cruz das Almas, BA	<i>Phenacoccus herreni</i> : cochonilha-mandioca
<i>Cephalonomia stephanoderis</i> (Bethyidae)	1993	Colômbia	Emcaper, ES	<i>Hypothenemus hampei</i> : broca-café
<i>Trichogramma atopovirilia</i> (Trichogrammatidae)	1994	Colômbia	Embrapa Petrolina, PE	<i>Spodoptera frugiperda</i> : lagarta cartucho do milho
<i>Pediobius furvus</i> (Eulophidae)	1994	Kenya	Copersucar, SP	<i>Diatraea saccharalis</i> : broca-cana-de-açúcar
<i>Amblyseius californicus</i> (Phytoseiidae)	1994	Colômbia	Embrapa, Cruz das Almas, BA	<i>Mononychellus tanajoa</i> : ácaro-verde-mandioca
<i>Typhlodomalus tenuiscutus</i> * (Phytoseiidae)	1994	Colômbia	Embrapa, Cruz das Almas, BA	<i>Mononychellus tanajoa</i> : ácaro-verde-mandioca
<i>Acarophenax lacunatus</i> (Acarophenacidae)	1995	Espanha	UFV, MG	<i>Rhyzopertha dominica</i> : beseurinho trigo
<i>Podisus maculiventris</i> (Pentatomidae)	1995	Indiana, EUA	ESALQ/USP, SP	<i>Tuta absoluta</i> : traça-tomateiro
<i>Typhlodromus</i> spp.; <i>Euseius</i> spp. (Phytoseiidae)	1996	Colômbia	Embrapa, Cruz das Almas, BA	<i>Mononychellus tanajoa</i> : ácaro-verde-mandioca
<i>Megarhyssa nortoni</i> (Ichneumonidae)	1996	Canberra, Austrália	Embrapa, Colombo, PR	<i>Sirex noctilio</i> : vepa-madeira
<i>Crytolaemus montrouzieri</i> (Coccinellidae)	1996	Chile	Embrapa, Cruz das Almas, BA	<i>Orthezia praelonga</i> : Cochonilha citrus

<i>Pediobius furvus*</i> (Eulophidae)	1997	Benin	Copersucar, SP	<i>Diatraea saccharalis</i> : broca-cana-de-açúcar
<i>Cephalonomia stephanoderis*</i> (Bethyridae)	1997	Colômbia	Emcaper, ES	<i>Hypothenemus hampei</i> : broca-café
<i>Megarhyssa nortoni*</i> (Ichneumonidae)	1997	Austrália	Embrapa, Colombo, PR	<i>Sirex noctilio</i> : vepa- madeira
<i>Rhyssa persuasoria</i> (Ichneumonidae)	1997	Austrália	Embrapa, Colombo, PR	<i>Sirex noctilio</i> : vepa- madeira
<i>Ageniaspis citricola</i> (Encyrtidae)	1997	Flórida, EUA	Embrapa, Jaguariúna, SP	<i>Phyllocnistis citrella</i> : minadora folha dos citros
<i>Phymastichus coffea</i> (Eulophidae)	1997	Colômbia	UFV, MG	<i>Hypothenemus hampei</i> : broca-café
<i>Megarhyssa nortoni*</i> (Ichneumonidae)	1998	Austrália	Embrapa, Colombo, PR	<i>Sirex noctilio</i> : vepa- madeira
<i>Pediobius furvus*</i> (Eulophidae)	1998	Benin	Copersucar, SP	<i>Diatraea saccharalis</i> : broca-cana-de-açúcar
<i>Amblyseius andersoni</i> (Phytoseiidae)	1999	Suíça	UFPR, PR	<i>Panonychus ulmi</i> : ácaro-vermelho- macieira
<i>Linepithema humile</i> (Formicidae)	1999	Califórnia, EUA	Unicamp, SP	Teste de especificidade de parasitismo
<i>Forelius prunosis</i> (Formicidae)	1999	Califórnia, EUA	Unicamp, SP	Teste de especificidade de parasitismo
<i>Dorymyrmex insanus</i> (Formicidae)	1999	Califórnia, EUA	Unicamp, SP	Teste de especificidade de parasitismo
<i>Tapinoma sessile</i> (Formicidae)	1999	Califórnia, EUA	Unicamp, SP	Teste de especificidade de parasitismo
<i>Liomeropum occidentale</i> (Formicidae)	1999	Califórnia, EUA	Unicamp, SP	Teste de especificidade de parasitismo
<i>Phymasticus coffea</i> (Eulophidae)	1999	Colômbia	UFV, MG	<i>Hypothenemus hampei</i> : broca-café
<i>Amblyseius andersoni*</i> (Phytoseiidae)	1999	Suíça	UFPR, PR	<i>Panonychus ulmi</i> : ácaro-vermelho- macieira

Outras introduções foram realizadas nas duas décadas subsequentes, mas seus registros encontram-se esparsos na literatura. Como exemplos podemos citar a introdução de um parasitoide australiano, *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae), em 2015, para o controle da vespa-da-galha do eucalipto *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae) (Sá et al. 2016).

4.6.2 Filogenias

O estudo das relações evolutivas por meio de filogenias (i.e. hipóteses que reconstróem os passos evolutivos de um determinado grupo de espécies) pode ajudar a elucidar a origem de espécies cuja distribuição atual não o permita. Como citado anteriormente, espécies sinantrópicas frequentemente apresentam tais desafios e a importância de determinar a origem de uma espécie é indiscutível ao se tratar de importação de liberação de IBCAs. Portanto, se para uma determinada espécie, para a qual a distribuição nativa se desconhece, for estudada a filogenia incluindo seus congêneres, seria possível pelo grau de parentesco das espécies e suas distribuições, inferir o local de origem da espécie de interesse. Foi exatamente o que se fez com a cochonilha chinesa *Ceroplastes sinensis* (Hemiptera, Coccoidea), uma importante praga de citros com distribuição mundial e origem incerta até meados da década de 1990. A construção de uma filogenia baseada em caracteres morfológicos e 73 espécies do gênero *Ceroplastes* e outros dois gêneros próximos revelou que *C. sinensis* pertence a um clado de espécies exclusivamente sul e centro-americanas (Qin et al. 1994). Com posteriores revisões de literatura determinaram sua origem provável na Argentina. Assim, expedições em busca de inimigos naturais na Argentina foram bem sucedidas em encontrar diversas espécies de parasitoides atacando *C. sinensis*. O caso é exemplar pois a espécie foi descrita e é conhecida como a cochonilha chinesa do citros, demonstrando que a descrição original e o nome podem ser problemáticos na determinação de distribuição nativa de uma espécie.

O uso de filogenias também pode ser valioso na determinação de origem de espécies e linhagens distintas em casos de múltiplas introduções. Essa ferramenta pode ser de grande utilidade para combinar uma praga com seu potencial agente de controle biológico. Como exemplo, Goolsby et al. (2006) estudaram as filogenias de uma samambaia daninha exótica, *Lygodium microphyllum* (Lygodiaceae) na Flórida, e de seu candidato a controlador biológico, o ácaro *Floracarus perrepae* (Eriophyidae). A partir das filogenias inferidas em seu trabalho, conseguiram detectar a origem mais provável das populações praga na Austrália e Sudeste Asiático. Os ácaros coletados nessas regiões foram os mais promissores no controle, pela alta virulência. Filogenias também são úteis na determinação de potenciais hospedeiros e amplitude hospedeira para IBCAs (ver adiante).

5. BASES DE DADOS

Atualmente o Brasil não conta com uma base de dados para IBCAs importados, como discutido na seção 4.6.2. Existem catálogos mais ou menos atualizados para a maioria dos grupos taxonômicos de importância (listados na seção 4.1). A principal base de dados brasileira com registros de ocorrência de espécies da fauna é o Catálogo Taxonômico da Fauna Brasileira (CTFB; disponível em <http://fauna.jbrj.gov.br/>). Atualmente os trabalhos referentes ao catálogo estão temporariamente interrompidos, mas atualizações podem ser feitas pelos autores responsáveis por cada grupo. Infelizmente não é possível determinar quão completa está a lista, pois diferentes autores são responsáveis pela atualização de seus grupos culminando em esforços heterogêneos.

As bases de dados on-line de coleções também são uma referência interessante para obtenção de informações sobre espécies da fauna brasileira. Da mesma forma, essas bases de dados são mais ou menos completas e a acessibilidade ao público é restrita em muitos casos.

Bancos de dados de sequências de nucleotídeos são outra fonte de informações de ocorrência que podem ser consultados, com a ressalva de que a identificação taxonômica associada às sequências tem confiabilidade variável. Os principais bancos de dados são o GenBank (Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) e o BOLD (Disponível em <http://www.boldsystems.org>).

6. CRITÉRIOS PARA AVALIAÇÃO DE ESTABELECIMENTO

Dinâmicas de consolidação de espécies exóticas para o controle biológico podem ser verificadas em trabalhos diretamente no campo ou na modelagem matemática desses comportamentos, uma vez que a experimentação laboratorial revela pouco desse processo. Ainda, devido à limitação para condução de experimentos sob condições ótimas, nos escapa fatores que podem afetar o processo de estabelecimento de um artrópode no ambiente, mas apesar dessas dificuldades, existem formas de medir em certo grau a falha ou sucesso na implementação desse agente no ambiente.

Algumas medidas são essenciais para que o IBCA possa se estabelecer no local em que será implementado, entre elas está o planejamento antecipado para identificar e

subjugar impedimentos óbvios contra a fixação do agente no local proposto para liberação, como por exemplo a falta de segurança física contra a aplicação de pesticidas ou destruição do local. Além desses fatores, deve-se considerar previamente se o local é adequado para o estabelecimento do agente, usando critérios como o clima, devendo ser semelhante ao que está adaptado; abundância de seu hospedeiro/presa e fontes alternativas de alimento. No entanto, deve-se levar em conta que a influência exata dos fatores pode não ser previsível antes da liberação no campo, sendo portanto difícil estabelecer uma estratégia ótima a priori (Shea & Possingham 2000).

Até 2010, cerca de 32% das tentativas de colonização pelo agente foram bem sucedidas (Cock et al. 2016). Mesmo que discussões sejam travadas quanto ao tema de selecionar espécies ideais para liberação como agente de controle biológico, poucos experimentos foram feitos sobre o assunto, assim sendo, havendo poucos dados que possam ser usados como critérios, é geralmente no monitoramento pós-liberação que será analisada e verificada a sucessão do agente no ambiente em que se estabelece (Hall and Ehler, 1979). Por essa conta, o monitoramento do artrópode liberado é recomendado, bem como o registro dos métodos utilizados para manutenção deste, para que protocolos possam ser desenvolvidos e verificados na prática, onde poderão ser utilizados posteriormente para aumentar a probabilidade de estabelecimento da espécie utilizada bem como para estudos específicos sobre ela.

6.1 CARACTERÍSTICAS DO AMBIENTE

Estabilidade do ambiente: controle clássico é mais eficiente em ambientes mais estáveis (e.g. pragas florestais e frutíferas perenes) (e.g. DeBach & Rosen 1991; Gilstrap 1997). Na falta de estabilidade, comum em culturas efêmeras, os atributos biológicos que podem favorecer o sucesso e também o estabelecimento de inimigos naturais são essencialmente diferentes daqueles favoráveis em culturas perenes ou aquelas que promovam maior estabilidade para os inimigos naturais (bem como para as pragas).

Variáveis climáticas também são essenciais e serão discutidas com algum detalhe na seção seguinte.

6.2. MODELAGEM ECOLÓGICA DE NICHOS (ENM)

Em linhas gerais, modelagem ecológica de nicho, também chamada modelagem ambiental de nicho, modelagem de distribuição espacial, modelagem de distribuição geográfica etc, compreende métodos estatísticos e de modelagem computacional baseados na teoria de nicho (Hutchinson 1978). No centro da discussão teórica sobre

esses modelos está justamente a relação entre o conceito de nicho fundamental com a distribuição espacial dos organismos (Austin 2002; Peterson 2003; Hirzel & Le Lay 2008; Colwell & Rangel 2009).

Para a geração de modelos, em geral se utilizam dados biológicos e dados ambientais (e.g. pontos de ocorrência de uma espécie e clima) que serão computados para a quantificação de relações ecológicas subjacentes, as quais servirão para as previsões espaciais (Feng et al. 2019). Os modelos podem ser divididos em mecanicistas, onde se utilizam parâmetros fisiológicos de uma espécie, ou correlativos, onde se utilizam dados de presença e ausência (Franklin 2009). Estes modelos são úteis para estimar distribuição geográfica potencial de espécies (Peterson et al., 2011) e seu uso vem crescendo de forma acentuada, em especial pelo uso do algoritmo Maxent (Philips et al. 2006), citado em mais de dez mil artigos na última década (Feng et al. 2019).

Para o propósito da importação e liberação de IBCAs, os modelos podem ser úteis para inferir sobre a distribuição geográfica de uma espécie e a adequação climática de uma potencial área de introdução, que por sua vez servem como um parâmetro para previsão sobre o estabelecimento de espécies introduzidas. Dessa forma aumentando a probabilidade de sucesso em programas de controle biológico clássico, e a previsibilidade de riscos. Andersen & Wooley (2016) discutem a utilidade da modelagem de nichos no contexto do controle biológico. Alguns programas antigos já se utilizavam de comparação climática entre o locais de origem e destino de um IBCA para aumentar as chances de adaptação, como no caso de *Trioxys pallidus* (Hymenoptera, Braconidae) para o controle do pulgão das nozes *Chromaphis juglandicola* (Hemiptera, Aphididae). Nesse caso, linhagens provenientes do Irã foram escolhidas por serem mais adaptadas a verões quentes e secos da Califórnia. Um importante fator a se considerar é a estrutura filogeográfica das espécies, assim entendendo como as variáveis climáticas afetam diferentes linhagens genéticas. Dessa forma pesquisadores puderam definir variáveis climáticas chave para linhagens de *Aphidius transcaspicus* (Hymenoptera, Braconidae), potencial controlador de *Hyalopterus pruni* (Hemiptera, Aphididae) (Lozier & Mills 2009), bem como escolher entre duas populações de *Pseudophilothrips ichini* (Thysanoptera: Phlaeothripidae) para controle da aroeira-vermelha (ou *Brazilian pepertree*) *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) (Manrinque et al. 2014). Da mesma forma, Minghetti et al. (2020) avaliaram o potencial de *Gargaphia decoris* (Hemiptera, Tingidae) no controle de uma planta daninha, *Solanum mauritianum* (Solanaceae). Todos exemplos utilizaram softwares com o algoritmo Maxent.

6.3 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS

Alguns atributos biológicos têm sido tradicionalmente considerados como essenciais para inimigos naturais efetivos. Muitas dessas características são atualmente utilizadas em avaliações de risco para importação e liberação de inimigos naturais. É importante salientar, no entanto, que os atributos que são favoráveis ao sucesso e/ou estabelecimento de um IBCA em culturas perenes são diferentes daqueles favoráveis em culturas efêmeras (Wiedenmann and Smith, 1997; Gilstrap 1997).

Somado aos critérios relacionados à identificação do IBCA, determinação de sua distribuição nativa e introduzida, características biológicas que podem ser determinantes para o estabelecimento de um IBCA exótico são:

1. Interações ecológicas - predação, parasitismos, competição e antagonismo: quais outros animais podem interagir com o IBCA.

2. Amplitude de hospedeiros/presas: geralmente com dados de literatura em combinação com testes de especificidade. É esperado que generalistas tenham maior chance de estabelecimento, em especial em áreas de cultivo efêmero (e.g. anuais). No geral a maior disponibilidade de presas/hospedeiros tornam um ambiente mais propício para estabelecimento de população. Para esse fim é também possível lançar mão de estudos filogenéticos. Exemplificando de maneira simples, um grupo de parasitoides como a subfamília Aphidiinae (Hymenoptera, Braconidae) é exclusivamente associada à pulgões (Hemiptera, Aphididae). Em alguns casos, uma filogenia mais apical, que trata de espécies em um gênero, ou mesmo em um grupo de espécies, pode trazer informações mais precisas sobre a gama de hospedeiros potencial de um determinado IBCA, evitando por exemplo a introdução em casos onde há possibilidade de utilização de espécies ameaçadas como hospedeiros alternativos (veja Andersen & Wagner 2016).

3. Capacidade de dispersão: um inimigo natural que tem capacidade de colonizar novas áreas de maneira similar a de seu hospedeiro/presa, pode ser mais eficaz em seu controle, especialmente em culturas efêmeras.

4. Capacidade reprodutiva: espécies com alta capacidade reprodutiva (chamadas *r*-estrategistas - *r* representa o coeficiente de crescimento populacional intrínseco de uma espécie) podem compensar mortalidade alta no novo ambiente e facilitar estabelecimento. Geralmente espécies *r*-estrategistas são menos seletivas quanto aos recursos e boas dispersoras. Existe um contínuo entre *r* até *K*-estrategistas e a categorização serve como guia teórico para avaliação e escolha de IBCAs. Em linhas gerais os *r*-estrategistas seriam mais adaptados a culturas efêmeras e os *K*-estrategistas a culturas perenes.

5. Comportamento - competitividade, eficiência de busca e outros comportamentos podem auxiliar no processo de estabelecimento.

6. Sincronização dos ciclos de vida: é favorável ao estabelecimento de IBCAs, em especial em culturas perenes.

7. Limiares fisiológicos: tolerância a temperaturas máxima e mínima, umidade relativa, entre outros, são determinantes para o sucesso e estabelecimento em novas áreas. Num exemplo extremo, espécies que não apresentam diapausa não são capazes de se estabelecer em áreas de inverno rigoroso, a não ser por comportamento migratório.

6.4 CARACTERÍSTICAS DA INTRODUÇÃO

O número de espécimes por liberação, os locais e o período de liberação, a origem das populações introduzidas, a aclimatação inicial são alguns dos fatores que podem favorecer o estabelecimento de uma nova população.

Empiricamente, acredita-se que para garantir o sucesso de estabelecimento, é importante que o agente seja liberado em diferentes regiões do local, preferencialmente em grande quantidade, permitindo que tenham maior potencial biótico para se estabelecerem e probabilidade de estarem em condições adequadas para fixação. Quando possível, são também recomendáveis liberações consecutivas ao longo dos anos para que se aumente a diversidade genética e continuidade da população. Estudos criteriosos sobre a melhor estratégia de liberação são raros. Memmot et al (1996) constataram que de fato o número de indivíduos por liberação e a quantidade de liberações modifica as taxas de sucesso. Nesses experimentos, o número ótimo de IBCAs foi próximo à 100 indivíduos, muito abaixo dos 1.000 indivíduos preconizados e das sugestões empíricas de que grandes liberações aumentam as chances de sucesso.

6.5 EXEMPLOS

Cotesia flavipes (Hymenoptera, Braconidae) e a broca-da-cana-de-açúcar

Apesar de haver critérios que comprovadamente auxiliam uma população a estabelecer-se em um novo ambiente, nenhum deles isoladamente ou em conjunto pode ser comprovado como determinístico com relação ao sucesso ou fracasso de estabelecimento, já que são dependentes também de fatores ambientais. Como exemplo, podemos citar a introdução e utilização no Brasil de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera, Braconidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera, Crambidae).

Essa espécie foi introduzida a partir de pelo menos duas linhagens distintas (uma reintroduzida a partir de Trinidad e outra de Índia e Paquistão), totalizando cerca de 3

milhões de indivíduos em diversos estados brasileiros entre 1974 e 1978 (Risco 1978; Macedo 1978). Desde então vem sendo criada massalmente e liberada em extensas áreas. É uma espécie com alto potencial reprodutivo, eficiente na localização do hospedeiro, causando alta taxa de mortalidade, mas com dispersão relativamente limitada (i.e. média próxima de 30 metros; mas de 15 a 25 m segundo Dinardo-Miranda et al. 2014) (Botelho et al. 1980). Além disso, o parasitoide tem 71 espécies de hospedeiros registradas pelo mundo, e no Brasil parasita pelo menos duas importantes pragas do gênero *Diatraea*. O estabelecimento de populações dessa espécie foi demonstrado no período imediatamente posterior às primeiras introduções, apenas para a região Nordeste. Desde então não há registros de parasitismo natural e o controle da broca-da-cana só é possível por meio de liberações inundativas. Levantamentos de fauna intensivos realizados na região de São Paulo, maior produtor de cana-de-açúcar, bem como de *Cotesia flavipes*, não registraram ocorrência “natural” deste parasitoide. Em contrapartida, na Flórida, a espécie se estabeleceu a partir da introdução de 30 mil indivíduos em 1963, sendo atualmente o principal inimigo natural de *D. saccharalis*, mantendo sua população abaixo do nível de dano econômico juntamente com a ação de outros inimigos naturais (Gifford & Mann 1967; Hall, 1986; Roldán 2019).

O exemplo mostra diversos aspectos de uma introdução e estabelecimento de populações. O primeiro aspecto é a falta de informações sobre o estabelecimento de populações, exceto por alguns poucos trabalhos realizados imediatamente após as introduções (e.g. Risco 1978). Atualmente é impossível dizer se existem populações estabelecidas de *C. flavipes* no Brasil, apesar desta ser uma das espécies mais amplamente utilizadas, e por mais tempo, em controle biológico.

Em segundo, podemos notar que os testes de capacidade de dispersão foram realizados apenas após a introdução da espécie. Não existe padronização para os testes, mas a baixa capacidade de dispersão pode ser um fator extremamente relevante para a falha no estabelecimento de populações no Brasil. Além disso, o primeiro teste, realizado entre 1978-1979 estabeleceu uma capacidade dispersiva consideravelmente maior (entre 25 e 48 metros) (Botelho et al. 1980) que o segundo teste (entre 15 e 25 metros) (Dinardo-Miranda et al. 2014), o que poderia significar perda de eficiência por deterioração genética (e.g. Barlett 1984).

Outra questão interessante está relacionada às linhagens. No Brasil, bem como em outros países, diferentes linhagens da mesma espécie foram introduzidas, com objetivo de aumentar as chances de adaptação e estabelecimento da espécie. Aqui, a espécie inicialmente se estabeleceu muito bem no Nordeste, mas não no Sudeste. Assim, a

introdução de linhagens da Índia e Paquistão objetivou a melhora na adaptação da espécie à região Sudeste (Macedo 1978). Tal situação ilustra a importância de se considerar linhagens, e não apenas a espécie, no momento de uma introdução, elevando assim a importância de estudos moleculares (Unruh & Wooley 1999). Existem inúmeros exemplos na literatura sobre o sucesso e fracasso de programas de controle biológico relacionados a biotipos, linhagens ou raças, como aqueles citados sobre o uso de modelagem ecológica de nichos.

Além disso, vimos claramente que a mesma espécie se estabeleceu prontamente em outras regiões como a Flórida, permanecendo até os dias atuais em níveis populacionais suficientemente altos para manter a população da broca-da-cana abaixo do nível de dano, mesmo que nesse caso a população fundadora tenha sido consideravelmente menor que a brasileira. Portanto, a comparação entre as regiões pode dar indicativos melhores de quais critérios foram decisivos para o estabelecimento, que podem ser tanto abióticos (como o clima), quanto bióticos (como a disponibilidade de hospedeiros alternativos), ou mesmo relacionados à forma de manejo no canavial.

Tamarixia radiata (Hymenoptera, Eulophidae) e *Diaphorina citri* (Hemiptera, Liviidae)

Outro exemplo de uma espécie que se estabeleceu no Brasil, sem registros de sua introdução é *Tamarixia radiata*, um parasitoide importante para o controle do psilídeo *Diaphorina citri*. O centro de origem da espécie é localizado também na Ásia, entre o Paquistão e a Índia. Foi exportada para diversas regiões do globo, incluindo as regiões produtoras de citros nos EUA. Apesar de ter populações estabelecidas, podendo apresentar altas taxas de parasitismo, não há registro de introdução da espécie no Brasil, bem como em outros países sul-americanos (Gómez-Torres et al. 2006; Parra et al. 2016).

Nesse exemplo, podemos perceber que a espécie, originária da mesma região que *C. flavipes*, obteve sucesso em seu estabelecimento em inúmeras regiões, muitas delas sem aparente assistência antrópica na introdução. Características biológicas da espécie devem promover alta capacidade de adaptação, observada até mesmo na morfologia de populações estabelecidas em ambientes exóticos (e.g. Gómez-Torres 2009). O estudo destas características pode ser de grande valia para a interpretação de critérios para sucesso no estabelecimento de populações. Além disso, o sucesso no estabelecimento pode em parte ser atribuído à maior estabilidade em pomares, corroborando com observações de que a maior parte dos casos de sucesso em controle biológico clássico se deu em culturas perenes (veja por exemplo Gilstrap 1997). Os atributos biológicos são

essenciais, haja vista que nem todas as importações de pragas em culturas perenes são bem sucedidas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMENARA, D. P. et al. Nematoides entomopatogênicos. SILVA NETO, M. et al (Ed.). **Tópicos avançados em entomologia molecular**. Rio de Janeiro, INCT-EM, p. 1-40, 2012.

ANDERSEN, J. C.; WAGNER, D. L. Systematics and biological control. **Integrating Biological Control into Conservation Practice**, p. 105-129, 2016.

AUSTIN, M. P. Spatial prediction of species distribution: an interface between ecological theory and statistical modelling. **Ecological modelling**, v. 157, n. 2-3, p. 101-118, 2002.

BARRATT, B. I. P. et al. Progress in risk assessment for classical biological control. **Biological control**, v. 52, n. 3, p. 245-254. 2010.

BARTLETT, A. C. **Genetic changes during insect domestication**. 1984.

BENNETT, F. D. Biological control of sugarcane borers *Diatraea* spp. in Latin America-an overview. In: **23. Sugar Technologists' Conference,(Trinidad and Tobago), 4-8 Mar 1985**. 1985.

BOTELHO, P. S. M. et al. Aspects of the population dynamics of *Apanteles flavipes* (Cameron) and support capacity of its host *Diatraea saccharalis* (Fabr.). In: **Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists**. 1980.

CBD 2000. **Global Taxonomy Initiative Programme of Work**. Disponível em: <<https://www.cbd.int/gti/pow.shtml>>. Acesso em: 08 de março de 2020.

CHAPMAN, A. D. Uses of primary species-occurrence data. **Report for the global biodiversity information facility**. Copenhagen, 2005.

COCK, M. J. W. et al. Trends in the classical biological control of insect pests by insects: an update of the BIOCAT database. **BioControl**, v. 61, n. 4, p. 349-363, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10526-016-9726-3>

COLWELL, R.K. and RANGEL, T.F., 2009. Hutchinson's duality: the once and future niche. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 106, suppl. 2, pp. 1-8. PMID:19805163. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901650106>

DEBACH, P.; ROSEN, D. **Biological control by natural enemies**. CUP Archive, 1991.

DINARDO-MIRANDA, L. L. et al. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 1, p. 1-7, 2012.

EHLER, L. E.; MILLER, J. C. Biological control in temporary agroecosystems. **Entomophaga**, v. 23, n. 3, p. 207-212, 1978.

ESA (ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA). **ESA Position Statement on the Importance of Entomological Collections**. 2016. Disponível em: <<https://www.entsoc.org/sites/default/files/files/Science-Policy/2019/ESA-PolicyStatement-EntomologicalCollections-2019.pdf>>. Acesso em: 5 de março de 2020.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM), No. 8: Determination of pest status in an area. Rome: **International Plant Protection Convention (IPPC) Secretariat**, 2017. Disponível em: <<https://www.ippc.int/en/publications/>>. Acesso em: 23 fevereiro de 2020.

FENG, X. et al. A checklist for maximizing reproducibility of ecological niche models. **Nature ecology & evolution**, v. 3, n. 10, p. 1382-1395, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-0972-5>

FRANÇA, F. H. et al. Traça-da-batata, *Phthorimaea operculella* (Zeller). In: Ferreira, E. & Zucchi, R.A. (eds.) **Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros**. Piracicaba, FEALQ, pp. 483-499, 2015.

FRANKLIN, J., 2009. Mapping species distributions: spatial inference and prediction. Cambridge: Cambridge University Press. 329 p.

GIFFORD, J. R.; MANN, G. A. Biology, rearing, and a trial release of *Apanteles flavipes* in the Florida Everglades to control the sugarcane borer. **Journal of Economic Entomology**, v. 60, n. 1, p. 44-47, 1967.

GILSTRAP, F. E. Importation Biological Control in Ephemeral Crop Habitats. **Biological Control**. 10. Texas, p. 23-29. 1997.

GODFRAY, H. C. J.; LEWIS, O. T.; MEMMOTT, J. Studying insect diversity in the tropics. In: **Changes And Disturbance In Tropical Rainforest In South-East Asia**. 1999. p. 87-100.

GODFRAY, H.; CHARLES, J. Challenges for taxonomy. **Nature**, v. 417, n. 6884, p. 17-19, 2002.

GOMEZ-TORRES, M. L. **Estudos bioecológicos de Tamarixia radiata (Waterston, 1922)(Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de Diaphorina citri Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Psyllidae)**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2009.

GOMEZ-TORRES, M. L. et al. Registro de Tamarixia radiata (Waterston)(Hymenoptera: Eulophidae) em Diaphorina citri Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em São Paulo, Brasil. **Revista de agricultura**, v. 81, n. 1, p. 112-117, 2006.

GOOLSBY, J. A. et al. Maximising the contribution of native-range studies towards the identification and prioritisation of weed biocontrol agents. **Australian Journal of Entomology**, v. 45, n. 4, p. 276-286, 2006.

GRIMALDI, D.; ENGEL, M. S. **Evolution of the Insects**. Cambridge University Press, 2005.

HALL, D. G. Seasonal activity of parasitoids against sugarcane borer larvae in Florida. **J. American Soc. Sug. Cane Technol**, v. 6, p. 19-23, 1986.

HERATY, J. Parasitoids biodiversity and insect pest management. In: Footitt R.G. & Adler P.H. (eds.) **Insect Biodiversity: science and society**. Wiley-Blackwell, West Sussex, pp. 445-462, 2009.

HIRZEL, A.; LE LAY, G. Habitat suitability modeling and niche theory. **Journal of Applied Ecology**, v. 45, n. 5, p. 1372-1381, 2008.

HUTCHINSON, G. E. **An Introduction to Population Biology**. New Haven: Yale University Press, 1978.

JOHNSON, N. F. Catalog of world Proctotrupeoidea excluding Platygasteridae. **Memoirs of the American Entomological Institute**. 1992.

LOZIER, J. D.; MILLS, N. J. Ecological niche models and coalescent analysis of gene flow support recent allopatric isolation of parasitoid wasp populations in the Mediterranean. **PLoS One**, v. 4, n. 6, e5901, 2009. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005901>

MACEDO, N. New strain of *Apanteles flavipes* was imported to increase its adaptive potential in Southern Brazil. **Entomological News**, v. 4, p. 11-12, 1978.

MANRIQUE, V. et al. Comparison of two populations of *Pseudophilothrips ichini* (Thysanoptera: Phlaeothripidae) as candidates for biological control of the invasive weed *Schinus terebinthifolia* (Sapindales: Anacardiaceae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 24, n. 5, p. 518-535, 2014.

MINGHETTI, E. et al. Ecological niche modelling of *Gargaphia decoris* (Heteroptera), a biological control agent of the invasive tree *Solanum mauritianum* (Solanales: Solanaceae). **Pest management science**, v. 76, p. 1273–1281, 2019. <https://doi.org/10.1002/ps.5637>

MORAES, G. J. et al. A revised catalog of the mite family Phytoseiidae. **Zootaxa**, v. 434, n. 1, p. 1-494, 2004.

MUIRHEAD, K. et al. The systematics and biology of *Cotesia nonagriæ* (Olliff) stat. rev. (Hymenoptera: Braconidae: Microgasterinae), a newly recognized member of the *Cotesia flavipes* species complex. **Zootaxa**, v. 1846, n. 1, p. 35-46, 2008.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853, 2000.

NOYES, J. S. Universal Chalcidoidea Database. **World Wide Web electronic publication**. Disponível em: <<http://www.nhm.ac.uk/research-curation/projects/chalcidoids/>>. 2003.

OVRUSKI, S. M.; SCHLISERMAN, P. Biological control of tephritid fruit flies in Argentina: historical review, current status, and future trends for developing a parasitoid mass-release program. **Insects**, v. 3, n. 3, p. 870-888, 2012.

- PACKER, L. et al. Validating taxonomic identifications in entomological research. **Insect Conservation and Diversity**, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2018.
- PAPAVERO, N. **Fundamentos práticos de taxonomia zoológica**. São Paulo: Editora Unesp, 1994.
- PARRA, J. R. P. et al. *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) × *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): mass rearing and potential use of the parasitoid in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 7, n. 1, p. 5, 2016.
- PEMBERTON, C. E.; WILLARD, H. F. A contribution to the biology of fruit-fly parasites in Hawaii. **Journal of Agricultural Research**, v. 15, n. 8, p. 419-466, 1918.
- PETERSON, A. Townsend. Predicting the geography of species' invasions via ecological niche modeling. **The quarterly review of biology**, v. 78, n. 4, p. 419-433, 2003.
- PETERSON, A.T. et al. **Ecological niches and geographic distributions**. Princeton: Princeton University Press, 2011, 314 p.
- PHILLIPS, S. J. et al. Maximum entropy modelling of species geographic distributions. **Ecological modelling**, v. 190, n. 3-4, p. 231-259, 2006. doi:10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026
- POINAR, J. R.; GEORGE, O. et al. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. **Entomopathogenic nematodes in biological control**, v. 54, 1990.
- POLASZEK, A. et al. The *Cotesia flavipes* species-complex: parasitoids of cereal stem borers in the tropics. **Redia**, v. 74, n. 3, Appendix, p. 335-341, 1991.
- QIN, T.K. et al. The current distribution and geographical origin of the scale insect pest *Ceroplastes sinensis* Del Guercio (Hemiptera: Coccidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 84, p. 541–549.
- RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. D. N. BOLD: The Barcode of Life Data System. **Molecular ecology notes**, v. 7, n. 3, p. 355-364, 2007.
- RISCO, S. H. B. National program of biological control of the sugarcane borers, *Diatraea* spp., in Brazil. In: **Proceedings XVI Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, ISSCT**. São Paulo, Brazil, pp. 797-817, 1978.

RODD, T. Are We Losing the Science of Taxonomy?. **BioScience**, v. 61, n. 12, p. 942-946, 2011.

ROLDÁN, E. L. **Status of the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) and its biological control agents in Florida sugarcane and rice**. M.S. thesis, University of Florida, Gainesville, FL. 2019

RONQUIST, F. et al. Completing Linnaeus's inventory of the Swedish insect fauna: Only 5,000 species left? **PLoS ONE**, v. 15, n. 3, e0228561, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228561>

SÁ, L.; NARDO, E. A. B.; TAMBASCO, F. J. Quarentena de agentes de controle biológico. **Controle Biológico no Brasil: Parasitóide e Predadores**. PARRA, JRP; BOTELHO, PSM, p. 43-70, 2002.

SHEA, K.; POSSINGHAM, H. P. Optimal release strategies for biological control agents: an application of stochastic dynamic programming to population management. **Journal of Applied ecology**, v. 37, n. 1, p. 77-86, 2000.

SOUZA, A. R. et al. Introdução do parasitóide *Selitrichodes neseri* (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle da vespa-da-galha do eucalipto *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae). In: **Embrapa Florestas-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 14., 2015, Teresópolis.[Resumos]. Londrina: Sociedade Entomológica do Brasil, 2015. 2015.

STOCK, S. P.; HUNT, D. J. 1 **Morphology and Systematics of Nematodes as biocontrol agents**, p. 1, 2005.

UNRUH, T. R. Molecular methods in classical biological control. **Handbook of Biological Control: Principles and Applications**, 1999.

VAN DRIESCHE, R. G.; HODDLE, M. S. Classical Arthropod Biological Control: Measuring Success, Step by Step. In: GURR, Geoff; WRATTEN, Steve (ed.). **Biological Control: measures of success. Measures of Success**. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p. 39-75. 2000.

VLUG, H. J. **Catalogue of the Platygastriidae (Platygastridae)**. SPB Academic Publishing, 1995.

Wiedenmann R.N.; Smith J.W. Attributes of natural enemies in ephemeral crop habitats

YU, D. S. K.; VAN ACHTERBERG, C.; HORSTMANN, K. **Taxapad 2016**,
Ichneumonoidea 2015. Database on flash-drive. Nepean, Ontario, Canada. 2016.