

**Bioecologia da vespa-das-galhas-do-castanheiro,
(*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu) e combate biológico
com *Torymus sinensis* Kamijo**

Jessica Mara Morais da Silva

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para
obtenção do Grau de Mestre em Agroecologia*

Orientado por

Prof. Dr. Albino António Bento

Mestre Ana Lúcia Lobo Santos

Bragança

2023

Aos meus pais
Amigos e família

Agradecimentos

Um trabalho de mestrado é uma longa jornada, durante a qual nos debatemos com inúmeros desafios, incertezas, sentimentos de tristeza, mas também alegria. Apesar de tudo tive a sorte de poder contar com o apoio de várias pessoas, para encontrar o melhor caminho em cada momento desta etapa da minha vida.

Desde já agradeço a todos os docentes que estiveram envolvidos no Mestrado de Agroecologia, proporcionando o enriquecimento tanto a nível académico como pessoal.

Uma palavra de agradecimento e apreço ao meu orientador Prof. Doutor Albino Bento, pelo apoio, orientação, atenção dispensada, disponibilidade, compreensão e por todos os conhecimentos transmitidos.

À minha co-orientadora Ana Lobo Santos, pelo incansável apoio, sugestões manifestadas, disponibilidade e incentivo no decorrer deste trabalho, mas também pelo carinho e amizade, que tanto ajudou nos momentos mais turbulentos.

À minha colega Rosalina Marrão, pela ajuda, disponibilidade e paciência, pelo apoio e sobretudo pela amizade.

Não poderia deixar de agradecer à minha família e amigos por todo o apoio, paciência e compreensão, por aquele sorriso nas horas de maior cansaço. Um especial agradecimento aos meus pais, por serem um modelo de coragem, pelo apoio incondicional, paciência, incentivo e compreensão. Pelo amor e carinho incondicional, por estarem sempre presentes em todas as caminhadas da minha vida.

A todas as pessoas que contribuíram de uma forma direta ou indireta para chegar onde cheguei e tornar este momento possível.

A todos o meu mais sincero “Obrigado”.

Índice

Índice de Figuras	vi
Índice de tabelas.....	viii
Resumo	ix
Abstract	xi
1. Introdução.....	1
2. O Castanheiro.....	3
I. Biologia e ecologia do castanheiro.....	3
II. Importância económica e social	4
III. Distribuição do castanheiro europeu.....	7
IV. Doenças e pragas	9
3. Vespa-das-galhas-do-castanheiro (<i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatu).....	10
I. Caracterização.....	10
II. Biologia de <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu	11
III. Monitorização de <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu.....	15
4. Meios de luta	16
I. O parasitóide <i>Torymus sinensis</i> Kamijo	17
II. Diversidade e importância dos parasitoides autóctones	20
5. Material e métodos	21
I. Bioecologia da vespa-das-galhas-do-castanheiro.....	21
II. Monitorização de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo	23
i. Taxa de parasitismo de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo.....	27
III. Parasitismo natural	27
6. Resultados e discussão	29
I. Bioecologia da vespa-das-galhas-do-castanheiro.....	29
II. Monitorização de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo	33
i. Taxa de parasitismo de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo.....	36
III. Parasitismo natural	41
7. Conclusões.....	48
8. Anexos	49
9. Referências	50

Índice de Figuras

Figura 1: Galhas de inverno no castanheiro <i>Castanea sativa</i> Mill.....	2
Figura 2: Castanheiro da espécie <i>Castanea sativa</i> Mill	3
Figura 3: Produção mundial de castanha 2021.....	5
Figura 4: Ranking mundial de produtores de castanha 2017-2021.	6
Figura 5: Evolução da área ocupada e produção de castanha em Portugal no período de 2017 a 2021.....	6
Figura 6: DOP de castanha em Portugal (Floresta.pt, 2020).....	7
Figura 7: Distribuição do castanheiro em Portugal (abae.pt, s/data).....	8
Figura 8: Distribuição de <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu (DGAV, 2017).....	10
Figura 9: Adulto de <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu.....	11
Figura 10: Larva de <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu	11
Figura 11: Larva de <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu parasitada por uma larva de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo.	11
Figura 12: Três estados de desenvolvimento de pupa da vespa-das-galhas-do-castanheiro.	12
Figura 13: Galhas induzidas por <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu.....	13
Figura 14: Câmaras no interior de galhas formadas por <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu....	14
Figura 15: Adultos de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo: fêmea (A) e macho (B).....	17
Figura 16: Larva de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo.....	18
Figura 17: Larvas <i>Torymus sinensis</i> Kamijo e <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu em câmara individuais na mesma galha.	19
Figura 18: Ovo de <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu.....	22
Figura 19: Corte de gomos do castanheiro para a observação das câmaras da vespa-das-galhas-do-castanheiro.	22
Figura 20: Colheita das galhas para a monitorização do parasitoide <i>Torymus sinensis</i> Kamijo.	23
Figura 21: Limpeza das galhas, recolhidas no âmbito da monitorização do parasitoide <i>Torymus sinensis</i> Kamijo, em laboratório.....	24
Figura 22: Lupa binocular	25
Figura 23: Caixas de emergência, para monitorizar as largadas de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo, em laboratório (esquerda) e dos tubos com os parasitoides emergidos.....	26
Figura 24: Caixas de emergência no ensaio de campo em Samil.....	26
Figura 25: Corte de uma galha da vespa-das-galhas-do-castanheiro do ano anterior	27
Figura 26: Corte de uma galha da vespa-das-galhas-do-castanheiro do ano anterior	30

Figura 27: Proporção de larvas de <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu e larvas de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo nas localidades de Rebordainhos (A) e Samil (B e C).....	32
Figura 28: Ciclo de vida da praga <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu.....	32
Figura 29: Número médio de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo por caixa no concelho de Bragança para as largadas realizadas no período de 2018 a 2022.....	34
Figura 30: Emergência de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo em campo.....	34
Figura 31: Ciclo biológico do parasitoide <i>Torymus sinensis</i> Kamijo.....	35
Figura 32: Demonstração do sincronismo entre os dois ciclos de vida, <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu e <i>Torymus sinensis</i> Kamijo.....	36
Figura 33: Taxa de parasitismo de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo da monitorização realizada em 2023 das largadas realizadas no ano de 2022 no concelho de Bragança.....	37
Figura 34: Taxa de parasitismo de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo + parasitoides autóctones da monitorização realizada em 2023 das largadas realizadas no ano de 2022 no concelho de Bragança.....	38
Figura 35: Taxa de parasitismo de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo da monitorização realizada em 2023 das largadas realizadas no período de 2018 a 2021 no concelho de Bragança.....	38
Figura 36: Taxa de parasitismo de <i>Torymus sinensis</i> Kamijo + parasitoides autóctones da monitorização realizada em 2023 das largadas realizadas no período de 2018 a 2021 no concelho de Bragança.....	39
Figura 37: Emergência de parasitoides autóctones das caixas de monitorização da largadas realizadas no período de 2018 a 2022	42
Figura 38: Emergência em campo de espécies de parasitoides autóctones por data.	42
Figura 39: Espécies de parasitoides emergidas em campo por ponto de monitorização.	43
Figura 40: Abundância (A), diversidade (B) e riqueza (C) de parasitoides autóctones no ensaio de campo em Samil	44
Figura 41: Imagem dos parasitoides autóctones (<i>Eupelmus uruzonus</i> Dalman fêmea (A) e macho (B); <i>Eupelmus peculiaris</i> Narendran fêmea (C); <i>Eurytoma brunniventris</i> Ratzeburg macho (D); <i>Eurytoma pistacina</i> Rondani fêmea (E); <i>Mesopolobus</i> sp. fêmea (F) e macho (G); <i>Sycophila variegata</i> Curtis macho (H); <i>Sycophila biguttata</i> Swederus fêmea (I)).....	45
Figura 42: Fauna secundária das galhas do castanheiro (<i>Megaspilidae</i> (A); <i>Ichneumanidae</i> (B, C, D)).....	46
Figura 43: Número de parasitoides autóctones emergidos das galhas de inverno (monitorização de 2023).....	46

Índice de tabelas

Tabela 1: Delineamento experimental para a colheita de gomos/galhas	21
Tabela 2: Delineamento do campo de ensaio em Samil	24
Tabela 3: Desenvolvimento de <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu a altitudes de 890 (X) e 770 metros (X)	29
Tabela 4: Avaliação do número de câmaras por Freguesia mostrada.	49

Resumo

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu, mais conhecida como vespa-das-galhas-do-castanheiro, é considerada, a nível mundial, uma praga-chave do castanheiro (EFSA 2010). Esta praga de origem asiática (China) dispersou-se rapidamente pelo mundo, estabelecendo-se primeiramente em países como o Japão e a Coreia do Sul, passando pelos Estados Unidos da América e chegando por fim à Europa. A vespa-das-galhas-do-castanheiro ataca os gomos do castanheiro, induzindo a formação de galhas que por sua vez impedem o desenvolvimento do castanheiro, resultando numa redução significativa do crescimento e da produção. Na Europa os primeiros casos de ataque de *D. kuriphilus* foram registados em Itália no ano de 2002, dispersando-se rapidamente nos anos seguintes por países como a França, Suíça e mais tarde (2014) referenciada pela primeira vez em Espanha.

Em Portugal, esta praga foi regista por primeira vez em 2014, dispersando-se rapidamente no território continental e nos arquipélagos, causando grande alarmismo e alguns estragos e prejuízos. Para grande preocupação dos agricultores, esta praga tem uma grande capacidade de dispersão e adaptação, com a parte mais sensível do seu ciclo biológico a ocorrer no interior dos gomos e galhas, dificultando assim o combate convencional através da aplicação de inseticidas. Este inseto tem sido objeto de múltiplos estudos nos países onde já se encontra estabelecido.

D. kuriphilus é considerada pela EFSA (2010) a praga mais importante associada ao castanheiro. Sendo a região de Trás-os-Montes, uma das mais importantes zonas de produção de castanha em Portugal, considerou-se necessário conhecer melhor a bioecologia do inseto, os parasitoides autóctones e as possibilidades do combate biológico.

Este trabalho foi desenvolvido com o propósito de estudar o ciclo biológico da vespa-das-galhas-do-castanheiro e a avaliação do controlo biológico da praga, com recurso ao parasitoide exótico *Torymus sinensis* Kamijo. O trabalho compreende a colheita e dissecação de gomos/galhas do castanheiro para estudo do ciclo biológico da praga, a monitorização do parasitoide *T. sinensis* e a identificação de parasitoides autóctones emergidos de galhas de inverno (do ano anterior).

Foi possível observar que a altitudes de 770 metros os adultos de *D. kuriphilus* apareceram um mês mais cedo do que nas galhas colhidas a 890 metros de altitude. A mesma tendência verificou-se também no aparecimento de pupas e larvas L3.

Os resultados obtidos no ensaio de emergência de *T. sinensis* em condições naturais, mostram um pico de emergência em finais de março, sendo que as primeiras galhas foram observadas apenas em início de maio. Em média, emergiram mais *T. sinensis* nas amostras das largadas do ano de 2021. Os pontos de monitorização de largadas realizadas no ano de 2022 apresentaram uma taxa de parasitismo média elevada, com valores situados entre 3,13% e 36,81%, com seis das Freguesias com taxas de parasitismo abaixo dos 10%.

Na monitorização dos parasitoides autóctones foram identificados indivíduos pertencentes à superfamília Chalcidoidea e às superfamílias Ichneumonoidea e Ceraphronoidea. O período de emergência destes parasitoides foi registado entre final de março e início de maio, tendo sido identificados em maior número parasitoides pertencentes à espécie *Eupelmus uruzonus* Nees e ao género *Mesopolobus* sp.

Palavras-chave: Castanheiro, vespa-das-galhas-do-castanheiro, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, controlo biológico, *Torymus sinensis* Kamijo, parasitoides autóctones.

Abstract

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu, better known as the chestnut gall wasp, is considered a key pest of chestnut trees worldwide (EFSA 2010). This pest of Asian origin (China) has spread rapidly around the world, first establishing itself in countries such as Japan and South Korea, passing through the United States of America and finally arriving in Europe. The chestnut gall wasp attacks the buds of the chestnut tree, inducing the formation of galls which in turn prevent the chestnut tree from developing, resulting in a significant reduction in growth and production. In Europe, the first cases of *D. kuriphilus* attacks were recorded in Italy in 2002, spreading rapidly in the following years to countries such as France, Switzerland and later (2014) it was reported for the first time in Spain.

In Portugal, this pest was recorded for the first time in 2014, spreading rapidly across the mainland and the archipelagos, causing great alarm and some damage. To the great concern of farmers, this pest has a great capacity for dispersal and adaptation, with the most sensitive part of its biological cycle occurring inside the buds and galls, therefore making it difficult to combat conventionally by applying insecticides. This insect has been the subject of multiple studies in the countries where it is already established.

D. kuriphilus is considered by EFSA (2010) to be the most important pest associated with the chestnut tree, and as the Trás-os-Montes region is one of the most important chestnut production areas in Portugal, it was considered necessary to learn more about the insect's bioecology, native parasitoids and the possibilities of biological combat.

This work was carried out with the aim of studying the biological cycle of the chestnut gall wasp and evaluating the biological control of the pest by using the exotic parasitoid *Torymus sinensis* Kamijo. The work included the collection and dissection of chestnut buds/galls to study the biological cycle of the pest, the monitoring of the parasitoid *T. sinensis* and the identification of native parasitoids that emerged from winter galls (from the previous year).

At altitudes of 770 metres, *D. kuriphilus* adults appeared a month earlier than on galls collected at 890 metres. The same was observed for the appearance of pupae and L3 larvae.

The results obtained in the *T. sinensis* emergence test under natural conditions show a peak in emergence at the end of March, with the first galls only being observed at the beginning of May. On average, more *T. sinensis* emerged in the samples from the 2021 releases. The monitoring points for releases carried out in 2022 showed a high average parasitism rate, with values ranging from 3.13 per cent to 36.81 per cent, with six of the locations having parasitism rates below 10 per cent.

When monitoring native parasitoids, individuals belonging to the superfamily Chalcidoidea and the superfamilies Ichneumonoidea and Ceraphronoidea were identified. The period of emergence of these parasitoids was recorded between the end of March and the beginning of May, with the highest number of parasitoids identified belonging to the species *Eupelmus uruzonus* Nees and the genus *Mesopolobus* sp.

Keywords: Chestnut, chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, biological control, *Torymus sinensis* Kamijo, native parasitoids.

1. Introdução

A vespa-das-galhas-do-castanheiro, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, é um inseto originário da China que ataca árvores da espécie *Castanea*. Esta praga induz a formação de galhas nos gomos, folhas e inflorescências do castanheiro (Figura 1), que afetam de forma severa o crescimento, a frutificação e consequentemente a produção, levando ao declínio dos castanheiros (Santos *et al.*, 2019).

D. kuriphilus foi pela primeira vez registado no Japão (1941) disseminando-se rapidamente por países como a Coreia do Sul e os EUA. Na Europa a praga foi identificada pela primeira vez no ano de 2002 em Itália e mais tarde em França (2005).

Em Portugal, foi na região Entre-Douro-e-Minho que *D. kuriphilus* se fez notar no ano de 2014, e no mesmo ano na região de Trancoso, seguindo-se a deteção desta praga na região de Trás-os-Montes em 2015.

Esta praga é considerada uma praga-chave para as espécies do género *Castanea*, e faz por isso parte da Lista A2 da OEPP/EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). A presença da vespa-das-galhas-do-castanheiro em Portugal causou muita preocupação, em particular na região de Trás-os-Montes, por ser uma cultura com forte importância económica e social (Santos *et al.*, 2019).

A nível mundial, foram considerados vários meios de luta para combater esta praga, passando por boas práticas culturais, como a poda e a aplicação de inseticidas, porém sem apresentarem eficácia. Depois de vários estudos realizados noutros países afetados, chegou-se à conclusão que a luta biológica, através da introdução do parasitoide exótico *Torymus sinensis* Kamijo, é o meio de luta mais adequado para o controlo de *D. kuriphilus*. O sucesso do tratamento biológico depende sobretudo do bom conhecimento da biologia da praga e parasitoide, da relação deste com a fenologia do castanheiro, mas também da interação do clima, quer com a praga, quer com a árvore (Santos *et al.*, 2017).

Apesar de tudo, a informação sobre a biologia e os meios de combate contra a vespa-das-galhas-do-castanheiro, continua a ser escassa, quer na Europa, quer em Portugal. Isto deve-se, entre outros, ao facto de esta ainda ser uma praga relativamente recente em território europeu e às particularidades da biologia da praga.



Figura 1: Galhas de inverno no castanheiro *Castanea sativa* Mill.

Neste contexto, a realização deste trabalho teve como objetivo estudar o ciclo biológico da vespa-das-galhas-do-castanheiro e as potencialidades do parasitoide exótico *T. sinensis* no controlo biológico.

O trabalho encontra-se dividido em três partes principais. Numa primeira parte, o objetivo foi estudar e conhecer melhor a bioecologia da praga e sua relação com as condições climáticas em que se encontram os castanheiros. Para tal, procedeu-se à colheita de amostras para acompanhamento do ciclo biológico do inseto em duas localidades diferentes no concelho de Bragança. A segunda parte teve como objetivo monitorizar castanheiros onde previamente se introduziu o parasitoide *T. sinensis*, através da realização de largadas e assim avaliar a sua presença e taxas de parasitismo no concelho de Bragança. Adicionalmente, monitorizou-se a emergência do parasitoide *T. sinensis* em condições naturais para avaliar se a emergência precoce poderá afetar o sucesso da luta biológica. No terceiro capítulo pretendeu-se estudar a importância dos parasitoides autóctones no combate contra a vespa-das-galhas-do-castanheiro e a sua diversidade, através do acompanhamento da emergência destes parasitoides de galhas de inverno, da sua identificação e cálculo dos parâmetros diversidade, riqueza e abundância.

2. O Castanheiro

I. Biologia e ecologia do castanheiro

As plantas de castanheiro pertencentes à família das fagáceas (*Fagaceae*) abrangem um total de 9 géneros e cerca de 1000 espécies, distribuídas ao longo do Hemisfério Norte (Aguiar, 2019). As fagáceas são árvores com flor angiospérmica, folhas alternas e que têm como característica a presença de uma cúpula (estrutura de origem foliar) que envolve flores/frutos. Na Europa as fagáceas estão representadas por três géneros: *Fagus* (faia), *Quercus* (carvalho) e *Castanea* (castanheiro) (Figura 2) (Aguiar, 2019).



Figura 2: Castanheiro da espécie *Castanea sativa* Mill.

Dentro do género *Castanea* existem 12 espécies, entre quais a *Castanea sativa* Mill. (castanheiro europeu) distribuída ao longo da bacia Mediterrânica, a *Castanea crenata* Sieb. e Zucc. (castanheiro japonês) e *Castanea molíssima* Blume (castanheiro chinês) no Leste asiático, e a *Castanea dentata* Borkhausen (castanheiro americano) originária do Leste da América do Norte (INIAV, 2018). O castanheiro europeu é uma árvore de grande longevidade e de grande porte, de folha caduca (cai no outono/inverno) e monoica (árvore tem flores femininas e masculinas separadas) (Henriques & Borges, 2017). Estas árvores podem sofrer polinização anemófila (pelo vento), mais importante com tempo seco, ou polinização entomófila (por insetos, sobretudo abelhas, vários tipos de escaravelhos e moscas), com maior importância nos períodos húmidos (Aguiar, 2019). Genericamente, considera-se que a temperatura média anual ótima para o castanheiro varia entre os 8 e os 15°C, com a frutificação a ocorrer nas melhores condições a uma temperatura média de 19 a 20°C (Arrobas & Rodrigues, 2019). Em Portugal, o castanheiro pode ser encontrado em zonas desde os 400 a 500 metros de altitude até aos 1000 metros de altitude (ótimo entre os 700 e os 1000 metros) (Costa, 2020). O castanheiro é sensível

às geadas tardias, suportando temperaturas negativas máximas de -19°C durante o repouso vegetativo, mas é também muito sensível na fase de produção às temperaturas elevadas no verão (podendo comprometer seriamente a produção) e, ao stresse hídrico (necessita uma precipitação anual entre 600 e 800 mm, para assegurar a produção mínima aceitável) (Arrobas & Rodrigues, 2019).

A castanha, fruto do castanheiro, encontra-se envolta pelo chamado ouriço, infrutescência revestida por brácteas espinhosas (Henriques & Borges, 2017) que inicialmente é de coloração verde e mais perto da maturação da semente é de coloração amarela (Aguiar, 2019). Este fruto é uma importante fonte de alimentação animal e é altamente valorizado na alimentação humana.

II. Importância económica e social

No seu centro de origem, os castanheiros asiáticos são cultivados para produção de frutos a larga escala. A espécie *Castanea molíssima* representa, segundo dados da FAO de 2019, um total de 83% da produção mundial (Aguiar & Tereso, 2020). No seu geral as castanhas de variedades asiáticas são menos apelativas, em termos organoléticos (menos doces) e industriais (descasque mais difícil), em comparação as variedades europeias. Segundo dados da FAOSTAT 2023 para o ano de 2019, a Ásia ocupa o lugar de maior produtor de castanha a nível mundial (82%), seguindo-se a Europa (14,2%) e a América (3,8%), ocupando uma área de total de 568598 mil hectares. Para o ano de 2021 verificou-se um ligeiro acréscimo de 0,2% para a produção asiática, e um decréscimo de 0,1% para a produção europeia e americana e uma área ocupada agora de 568175 mil hectares (FAO, 2023) (Figura 3).

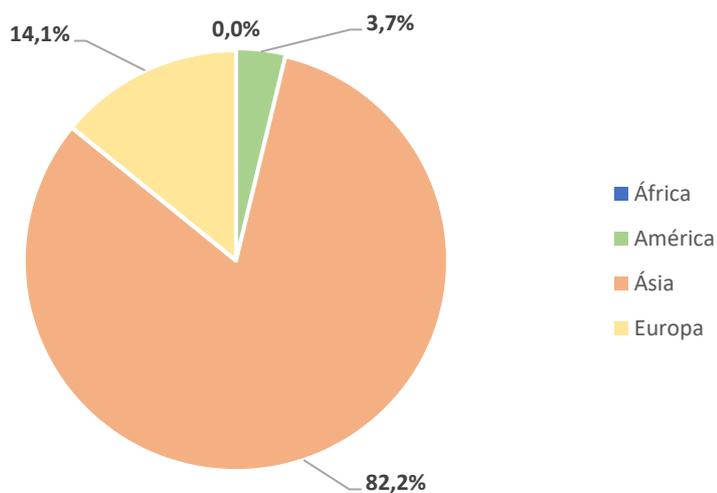


Figura 3: Produção mundial de castanha 2021 (adaptado de FAO 2023).

Assim, a Ásia continua a ser o maior produtor de castanha a nível mundial, seguindo-se a Europa.

Na Europa, Portugal ocupa atualmente o 3º lugar do ranking europeu de produção de castanha e o 5º lugar à escala mundial (produção média de 37435 toneladas no período de 2017 a 2021), com a Turquia a dominar a produção de castanha na Europa com uma produção média de 70595 mil toneladas, no período de 2017 e 2021 (FAO, 2023). A nível mundial, a China como maior produtor mundial de castanha com 1703652,67 milhões de toneladas no ano de 2021 (FAO, 2023).

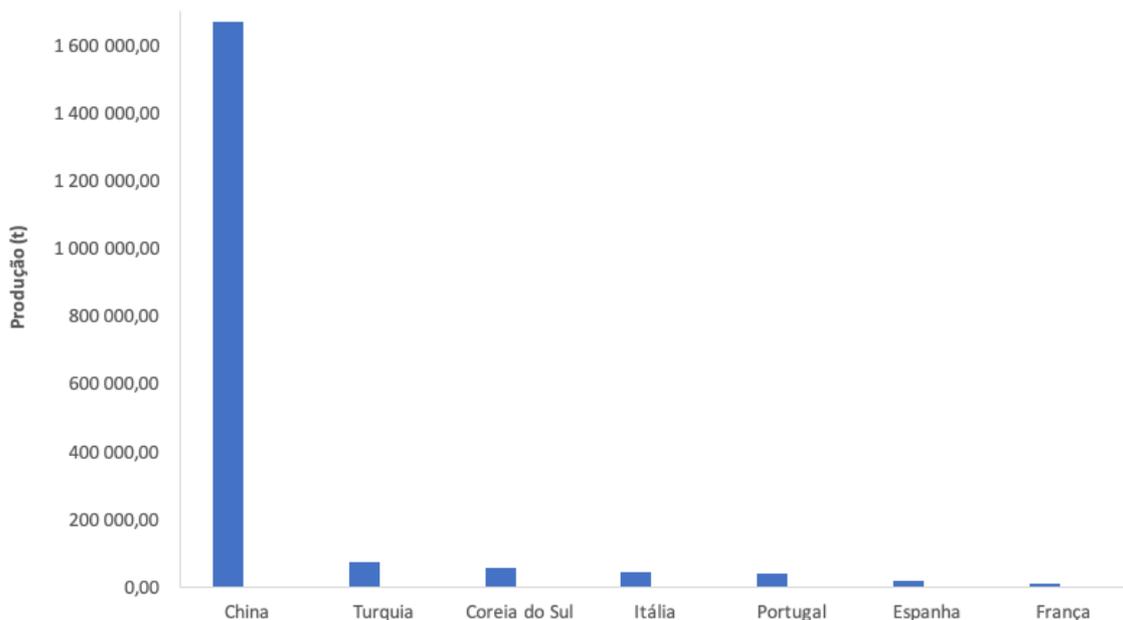


Figura 4: Ranking mundial de produtores de castanha 2017-2021 (adaptado de FAO 2023).

Como se pode ver na Figura 5, Portugal sofreu um decréscimo tanto a nível área ocupada como a nível de produção de castanha no período de 2017 a 2021.



Figura 5: Evolução da área ocupada e produção de castanha em Portugal no período de 2017 a 2021 (adaptado de FAO 2023).

O Castanheiro europeu é uma espécie de elevado interesse económico, cultural e ambiental, representando desde há muitos anos uma fundamental fonte de alimento para a população (Santos *et al.*, 2017). As castanhas são um fruto seco rico em nutrientes, considerado um alimento saudável e versátil, pelas diversas formas como pode ser consumido (em fresco, assadas, cozidas, em farinha) (Ramalhosa *et al.*, 2019).

Em Portugal o castanheiro, *C. sativa*, tem uma elevada importância económica devido à produção de castanha, principalmente na região de Trás-os-Montes, além disso é uma árvore utilizada também para a produção de madeira. Durante muitos anos, a norte de Portugal, o castanheiro foi considerado a “árvore-do-pão”, pois era a base alimentar e principal fonte de hidratos de carbono para muitas famílias no norte da Península Ibérica (Costa, 2020).

III. Distribuição do castanheiro europeu

O Castanheiro europeu encontra-se distribuído pelos países do sul da Europa, maioritariamente nos países do mediterrâneo. A sul do mediterrâneo encontra-se nas montanhas de Marrocos e da Tunísia, a oeste abrange grande parte da França, Inglaterra, Bélgica e Suíça, e a norte a fronteira engloba países como a Alemanha (sudoeste do país) e a Áustria, prolongando-se a

países como a Roménia e a leste pelo norte da Turquia até ao Azerbaijão (Aguiar, 2019). Segundo dados de 2018 do INIAV, o castanheiro europeu ocupa uma área total de 2,53 milhões de hectares, correspondendo sobretudo a floresta em que é espécie dominante e perto de 0.52 milhões de hectares ocupados por pomares para produção de frutos.

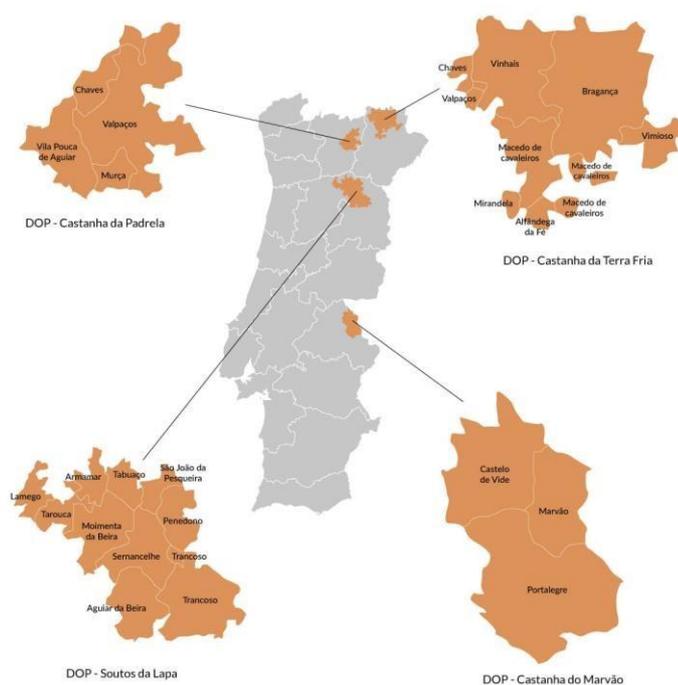


Figura 6: DOP de castanha em Portugal (Floresta.pt, 2020).

Em Portugal, o castanheiro encontra-se essencialmente distribuído no centro e norte do país, com mais importância nomeadamente nos concelhos de Bragança, Vinhais, Macedo de Cavaleiros e Valpaços, em Trás-os-Montes, assim como os concelhos de Trancoso, Guarda e Sabugal, na Beira Interior. Com menos importância nos concelhos de Castelo de Vide, Marvão e Portalegre, no Alentejo (Henriques & Borges, 2017). Encontram-se também cultivados em número reduzido nos arquipélagos dos Açores e da Madeira (Costa, 2020).

Atualmente, existem a nível nacional, quatro Denominações de Origem Protegida (DOP), a Castanha da Padrela e Terra Fria em Trás-os-Montes, Castanha dos Soutos da Lapa na Beira Alta e a Castanha de Marvão-Portalegre nas terras altas do Alto-Alentejo (Aguiar, 2019).

No ano de 2019 Portugal contava com uma área ocupada de 51690 mil hectares, verificando-se um decréscimo deste valor para 50370 mil hectares no ano de 2021 (FAO, 2023). Segundo os dados disponibilizados pela FAO (2023), verifica-se um decréscimo da área ocupada no período de 1961 (41 mil hectares) a 1981 (15 mil hectares), seguido de um acréscimo até ao ano de 2021 (FAO, 2023). Estas diferenças podem justificar-se devido às alterações demográficas e sociais, mas também devido a novas doenças que provocaram a morte de muitos castanheiros (Costa, 2020).

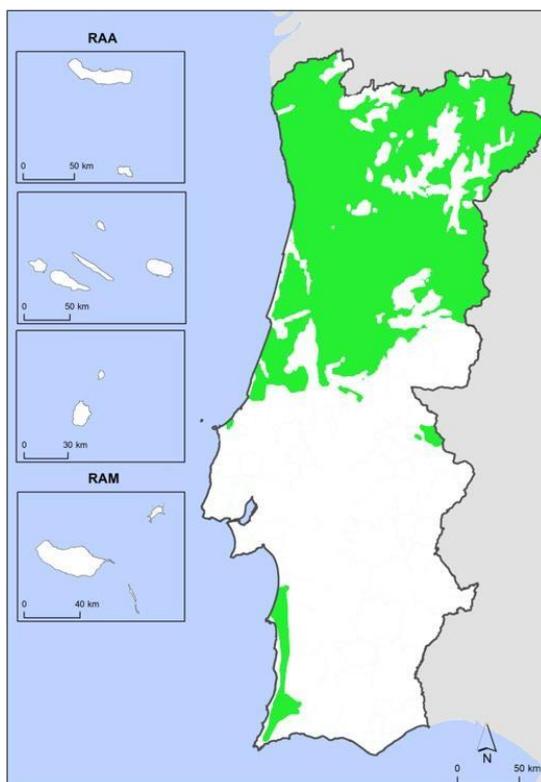


Figura 7: Distribuição do castanheiro em Portugal (abae.pt, s/data).

IV. Doenças e pragas

Nos últimos anos o castanheiro europeu tem sido afetado por diversos organismos prejudiciais à produção e sobrevivência das árvores.

Entre as doenças mais preocupantes encontram-se a doença-da-tinta-do-castanheiro, associada a duas espécies Oomicetas parasitas das raízes (*Phytophthora cinnamomi* Rands e *Phytophthora cambivora* Petri) que provocam o aparecimento de um líquido escuro na base do tronco das árvores e conduzem à morte da planta (Gouveia, 2019). Também de grande importância a doença do cancro-do-castanheiro associado ao fungo *Cryphonectria parasitica* Murrill, desenvolvendo sintomas como a coloração avermelhada nos ramos jovens e a casca em ramos de maior dimensão podem fender, podendo mesmo observar o micélio do fungo de coloração esbranquiçada em forma de leque (Gouveia, 2019).

Relativamente às pragas, a vespa-das-galhas-do-castanheiro, é considerada atualmente a mais preocupante (praga-chave) responsável por uma drástica queda de produção de castanha em alguns países Europeus (Santos *et al.*, 2017). Existem outras pragas importantes, como o bichado-da-castanha (*Cydia splendana* L.), um lepidóptero que ataca os frutos através da formação de pequenas galerias no seu interior e o gorgulho (*Balaninus elephas* Gyll.) um coleóptero que também ataca o fruto e realiza galerias dentro do fruto durante a sua alimentação (Santos *et al.*, 2019).

3. Vespa-das-galhas-do-castanheiro (*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatu)

I. Caracterização

A vespa-das-galhas-do-castanheiro, *D. kuriphilus*, é um Hymenoptero da família Cynipidae nativo da China, e encontra-se na Lista A2 do EPPO (Santos *et al.*, 2019).

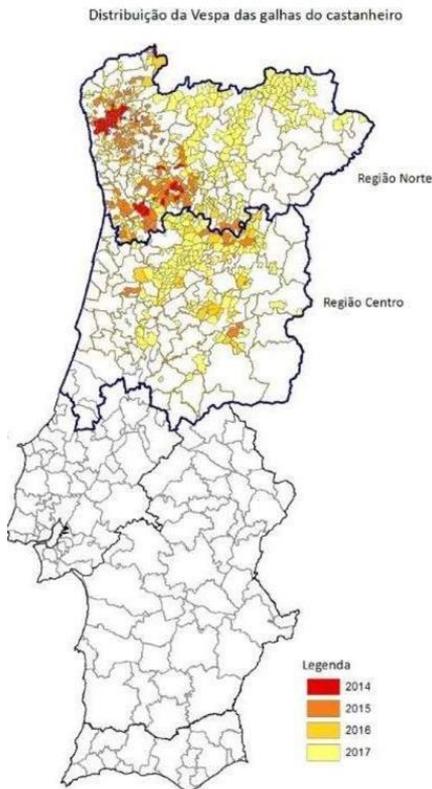


Figura 8: Distribuição de *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (DGAV, 2017)

Esta praga, como foi referido anteriormente, ataca plantas do género *Castanea*, nomeadamente os gomos e folhas do castanheiro, induzindo através da postura de ovos no seu interior, o crescimento de galhas, sendo assim responsável por uma redução significativa do crescimento, da frutificação e consequentemente da produção de castanhas, podendo resultar em prejuízo económico elevados (Santos *et al.*, 2017) EUA (1974). No continente europeu a vespa-das-galhas-do-castanheiro foi detetada pela primeira vez em Itália no ano de 2002, seguindo-se a França em 2005 (Santos *et al.*, 2017).

A partir daqui a praga dispersou-se por Espanha e Portugal. Em Portugal foi referenciada por primeira vez no ano de 2014 na região de Entre-Douro-e-Minho, seguindo-se Trás-os-Montes em 2015 (Santos *et al.*, 2017). Hoje relativamente à dispersão, esta pode ser feita através da circulação de plantas ou partes de plantas, também conhecida por dispersão a longa distância ou dispersão não-natural (transporte humano ou dispersão através de material vegetal infetado), ou por dispersão natural do inseto adulto, também conhecida como dispersão a curta distância (sem influência do homem), que pode alcançar uma distância de 3 a 25 km (Pérez & Fernández López, 2015). A emergência dos adultos dá-se entre 30-70 dias depois do início da formação das galhas.



Figura 9: Adulto de *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu.

II. Biologia de *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu

D. kuriphilus é uma praga específica do género *Castanea*, univoltino, que passa pelas fases de ovo, larva (três instares), pupa (três instares) e adulto (Junta de Andalucía, 2014). Os ovos são de cor branca leitosa, ovais e podem medir entre 0,1 e 0,2 mm de comprimento. As larvas crescem até um comprimento de 2,5 mm e são igualmente de coloração branco leitosa.



Figura 10: Larva de *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu.

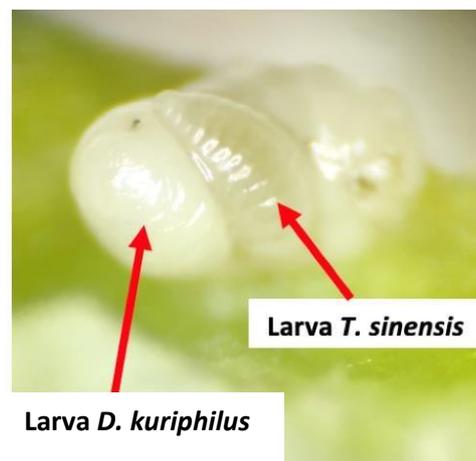


Figura 11: Larva de *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu parasitada por uma larva de *Torymus sinensis* Kamiyo.

Na fase de pupa a vespa-das-galhas-dos-castanheiros passa por três instares em que a coloração varia, ou seja, passa de uma coloração branca (P1) para cinzento (P2) e finalmente preto (P3). Os adultos são de cor preta e extremidades amareladas, podendo chegar a medir 3 mm de comprimento (EPPO, 2005).

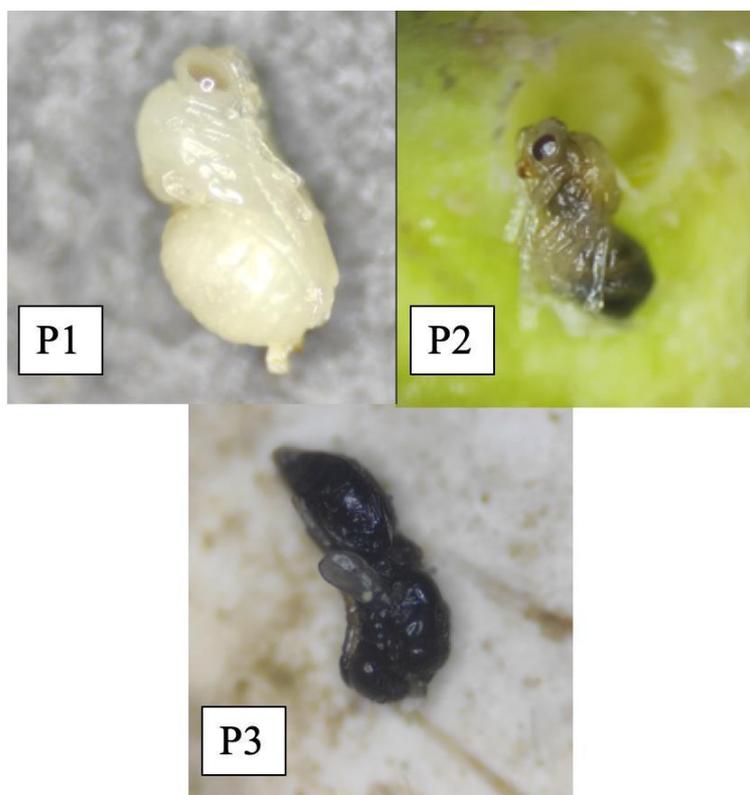


Figura 12: Três estados de desenvolvimento de pupa da vespa-das-galhas-do-castanheiro.

O inseto reproduz-se por partenogênese, ou seja, a praga é capaz de se reproduzir sem que haja fecundação do ovo (Pérez & Fernández López, 2015). A emergência dos adultos das galhas do ano dá-se no período de fins de maio/junho até princípios de agosto, dependendo das condições climáticas. Este inseto prefere temperaturas mais altas para se manter em atividade (temperatura ótima entre 25-30°C), esta reduz significativamente quando as temperaturas forem inferiores a 15°C, chegando a cessar a temperaturas abaixo de 10°C. Os adultos vivem aproximadamente 10 dias, período no qual realizam a postura de cerca de 100 ovos de cor branco-leitoso e um tamanho de 0,1 a 0,2 mm, nos gomos do castanheiro (EPPO, 2005). Os ovos eclodem ao fim de um período de 30 a 40 dias, depois do qual se inicia a fase larvar. Durante o inverno a praga pára o seu desenvolvimento larvar (larva hibernante), retomando-a na primavera, quando o castanheiro inicia a sua atividade vegetativa, induzindo por sua vez a formação das galhas (Pérez & Fernández

López, 2015). No interior dos gomos, as larvas alimentam-se durante um período de 30-40 dias e depois pupam, durante cerca de 15 dias (Santos *et al.*, 2019). Quando estão completamente desenvolvidas, as galhas podem ter um diâmetro entre 5 a 20 mm. A sua coloração varia entre o verde e o avermelhado. O nível de infestação pode variar conforme a sensibilidade de cada variedade à praga em questão (Pérez & Fernández López, 2015).



Figura 13: Galhas induzidas por *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu.

As galhas podem surgir ente o início de abril e o início de maio, período em que os castanheiros iniciam a sua atividade vegetativa e as larvas de *D. kuriphilus* retomam o seu desenvolvimento, permitindo confirmar a presença da praga por observação visual (Santos *et al.*, 2019).

Como já foi mencionado anteriormente, a formação de galhas é responsável por elevados estragos e prejuízos:

- O decréscimo do crescimento da árvore e da produção de frutos, que vai resultar na redução da área fotossintética, na diminuição de nutrientes e dos hidratos de carbono disponíveis.
- A redução do número de novos gomos no ano seguinte, vai resultar num menor número de gemas durante o inverno.
- Diminuição do vigor, do período vegetativo, da biomassa e redução do número de inflorescências e conseqüentemente redução do número de ouriços. Terão como consequência um menor número de frutos e de menor qualidade por falta de hidratos de carbono.

- Os castanheiros ficam mais suscetíveis a doenças secundárias e carências, resultando num maior stresse e debilidade (Maltoni *et al.*, 2012).

A partir do 4º ano de ataque, esta praga pode provocar perdas entre os 50 e os 80% da produção de castanhas (Pérez & Fernández López, 2015).



Figura 14: Câmaras no interior de galhas formadas por *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu.

A gravidade dos estragos causados pela formação de galhas, depende do órgão afetado e da posição da galha neste mesmo órgão, por exemplo:

- Galhas nas folhas – podem formar-se nas estipulas das folhas, não afetando a superfície das folhas, mas podem também formar-se no limbo das folhas (mais precisamente nas nervuras das folhas), prejudicando assim o desenvolvimento da árvore durante o desenvolvimento vegetativo.
- Galhas nos gomos – prejudicam o desenvolvimento dos gomos, e consequentemente o crescimento do ano em curso e do ano seguinte.
- Galhas nas inflorescências – prejudicam a frutificação do ano em curso (flor feminina é geralmente a mais afetada) (Pérez & Fernández López, 2015).

Foi possível verificar que a variedade Bouche Bétizac apresenta alguma resistência natural a esta praga, observando-se somente uma leve deformação das folhas. Da mesma forma, a variedade portuguesa Martáinha apresenta também uma menor sensibilidade à formação de galhas (Santos *et al.*, 2019).

III. Monitorização de *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu

A monitorização de *D. kuriphilus* baseia-se na observação visual da presença de galhas na totalidade da copa de pelo menos 3 a 5 árvores (entre agosto e abril, com mais evidências da presença de galhas no período do inverno), seguindo-se a determinação do nível de infestação, tendo em conta as seguintes percentagens:

- 0-10% de gomos atacados → Infestação inicial
- 11-25% de gomos atacados → Infestação ligeira
- 26-50% de gomos atacados → Infestação média
- 51-80% de gomos atacados → Infestação grave
- > 80% de gomos atacados → Infestação muito grave

O tratamento biológico é programado com base no nível de infestação, sempre em conformidade com as regras definidas pela Comissão de Acompanhamento, Prevenção e Combate à vespa-das-galhas-do-castanheiro (DGAV, 2014).

Os parasitoides autóctones têm um papel importante na redução das populações da praga, sendo considerado um dos principais fatores de limitação natural (Santos *et al.*, 2019).

4. Meios de luta

D. kuriphilus foi identificado nos anos 50, porém os conhecimentos sobre os meios de luta disponíveis são ainda muito limitados na Europa (Santos *et al.*, 2019). Na teoria existem 3 meios de luta, mais precisamente, a luta cultural, luta química e luta biológica.

A luta cultural, considerada um meio de luta indireto, consiste em boas práticas como a poda sanitária seguida da destruição do material infetado (Santos *et al.*, 2019). Existem, também, casos de plantação de variedades e híbridos que mostram alguma resistência à vespa-das-galhas-do-castanheiro (Sartor *et al.*, 2015), no entanto ainda não há muitos conhecimentos em relação ao nível de resistência da maioria das variedades presentes em Portugal.

Relativamente à luta química, meio de luta direto, esta é de difícil implementação, porque a postura e conseqüentemente o desenvolvimento da praga ocorrem no interior dos gomos e estão assim protegidos pelos tecidos vegetais (Germinara *et al.*, 2008). Para além disso a intervenção química através de inseticidas traduz-se em diversos impactos ambientais (Bernardo *et al.*, 2013). Em Portugal, não existem produtos homologados para a luta química (Santos *et al.*, 2019).

A luta biológica é considerada o meio de luta mais eficaz na redução desta praga, e baseia-se na identificação e libertação do parasitoide específico *T. sinensis* (meio de luta direto) (Bernardo *et al.*, 2013). Este programa foi inicialmente implementado no Japão (Gehring *et al.*, 2018), tendo-se verificado uma redução significativa das populações de *D. kuriphilus* e sem causar danos. Perante os resultados positivos, iniciou-se um estudo em torno da implementação deste mesmo programa de luta biológica nos EUA (Matošević *et al.*, 2016) e na Europa, sendo Itália o primeiro país europeu a realizar largadas do parasitoide *T. sinensis* no ano de 2005, seguindo-se a França, a Hungria e a Croácia (Ferracini *et al.*, 2017). O sucesso do controlo biológico depende, entre outros, do conhecimento do ciclo biológico da praga, das condições adequadas para a realização das largadas (realizadas com boas condições climatéricas, até à floração da flor masculina, fase em que as galhas já se formaram, mas não estão lenhificadas) e do estabelecimento do parasitoide (EPPO, 2005). Aconselha-se os agricultores a não realizarem grandes intervenções nos soutos onde se realizaram largadas, tais como cortes de ramos (no caso de poda devem-se deixar os ramos finos com as galhas secas no souto),

tratamentos químicos (podem comprometer o meio de luta) e mobilizações (até finais de abril) (Salvadori & Pedrazzoli, 2013).

Os parasitoides autóctones (meio de luta de conservação) nas áreas afetadas (Bernardo *et al.*, 2013) auxiliam no controlo biológico.

I. O parasitoide *Torymus sinensis* Kamijo

O parasitoide *T. sinensis* é originário da China e considerado como sendo a única espécie de parasitoide que é específica e fenologicamente sincronizado com a vespa-das-galhas-do-castanheiro (Matošević *et al.*, 2014). Trata-se de um inseto da ordem Hymenoptera e família *Torymidae* (Colombari & Battisti, 2016).

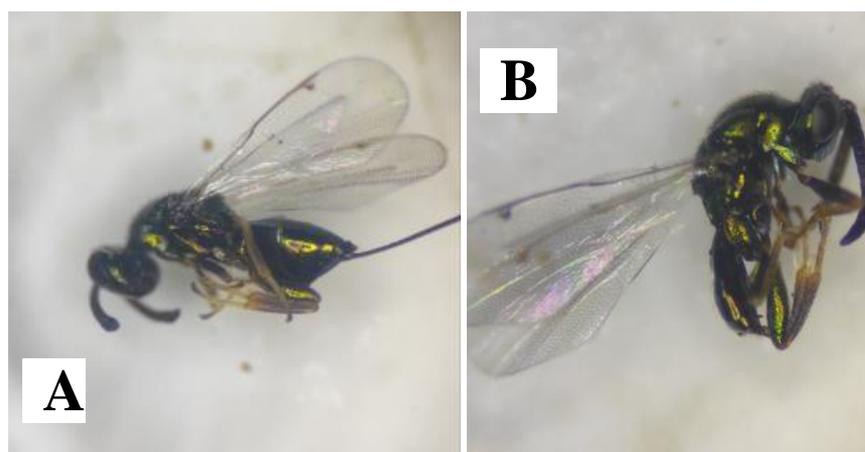


Figura 15: Adultos de *Torymus sinensis* Kamijo: fêmea (A) e macho (B).

Conhecido como o principal inimigo da vespa-das-galhas-do-castanheiro, este parasitoide foi introduzido inicialmente no plano de luta contra esta praga no Japão no ano de 1975 e no estado da Geórgia, EUA (final da década de 1970) (Santos *et al.*, 2017). No Japão em 1989, a população de *T. sinensis* já havia aumentado consideravelmente, com uma expansão de 12 km a partir do ponto de largada (Moriya *et al.*, 2003) apresentando um decréscimo da taxa de infecção de 1% no ano de 1992 (Moriya *et al.*, 2003). Na Europa o parasitoide foi inicialmente introduzido em Itália no ano de 2005 (Aebi *et al.*, 2011), verificando-se um aumento da taxa de parasitismo para até 98,6%, no período de 5 a 7 anos.



Figura 16: Larva de *Torymus sinensis* Kamijo.

Este parasitoide tem apenas uma geração por ano (ciclo de vida univoltino) (DIVAPRA, 2013) e desenvolve o seu ciclo, no interior da galha, nas câmaras formadas pela praga *D. kuriphilus* alimentando-se das larvas. Os adultos emergem no início da Primavera, e após acasalarem, as fêmeas fazem a postura dos ovos (geralmente um ovo por larva hospedeira) (Santos et al., 2017) no interior das galhas do ano (Matošević et al., 2016). Depois de eclodirem, segue-se o desenvolvimento das larvas, que se alimentam externamente (ectoparasita) das larvas de *D. kuriphilus* acabando por matá-las (Quacchia et al., 2014). Segue-se a fase de pupa no interior da galha durante o Inverno (Ferracini et al., 2015). O ciclo termina com a emergência do adulto na Primavera.

A principal razão para a altas taxas de parasitismo observadas, é o sincronismo perfeito entre os ciclos fenológicos de ambos os insetos (Graziosi & Rieske, 2013). O parasitoide pode viver um período médio de aproximadamente um mês quando sujeito a condições naturais (no campo) (Santos et al., 2017), em laboratório estes podem viver mais de quatro meses, sob condições controladas, como temperatura constante de 15°C e alimentados com mel (Matošević et al., 2014).

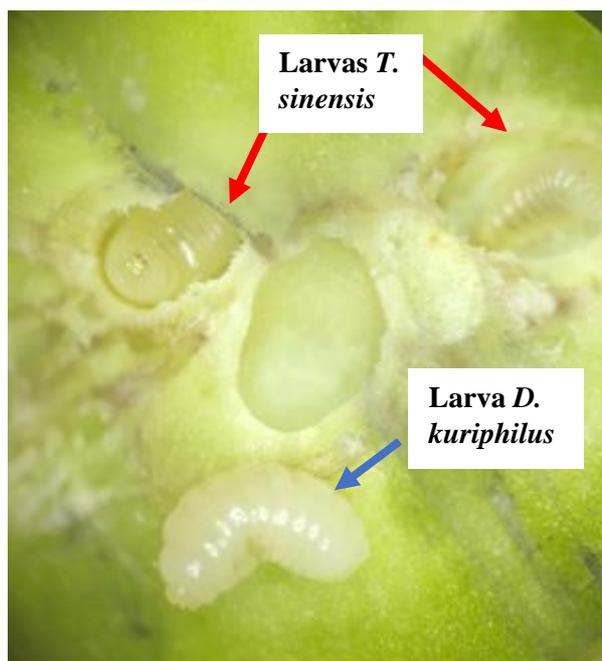


Figura 17: Larvas *Torymus sinensis* Kamijo e *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu em câmara individuais na mesma galha.

O parasitoide *T. sinensis* multiplica-se geralmente pela via sexual, ou seja, ocorre o acasalamento entre macho e fêmea com fecundação, dando origem a fêmeas e machos (Picciau *et al.*, 2017). Por outro lado, este parasitoide pode também reproduzir-se por partenogênese, ou seja, sem fecundação dando origem somente a machos, fator importante quando se tem em conta o ratio macho/fêmea (Matošević *et al.*, 2014). O parasitoide *T. sinensis* tem como característica a possibilidade de prolongar a diapausa (supressão do desenvolvimento), o que significa que uma reduzida percentagem de indivíduos permanece dormente durante um ano (Ferracini *et al.*, 2015). Este fator é relevante para o parasitoide, porque ao contrário de outros parasitoides, este não é polífago, ou seja, tem um só hospedeiro, o que significa que a diapausa poderá aumentar a sua probabilidade de sobrevivência destes parasitoides, garantindo que haverá galhas suficientes para garantir o sucesso da oviposição (Cardoso *et al.*, 2021).

II. Diversidade e importância dos parasitoides autóctones

Acredita-se que o parasitismo natural possa também ter importância na redução das populações da praga em algumas regiões (Lobo Santos *et al.*, 2018). Foi feito um levantamento de parasitoides autóctones emergidos em vários países, verificando-se a presença de cinco famílias, nomeadamente *Eupelmidae*, *Torymidae*, *Euritomidae*, *Pteromalidae* e *Ormyridae* (suprafamília *Chalcidoidea*) (Gómez *et al.*, 2006).

Em Portugal foi realizado um estudo pelo Instituto Politécnico de Bragança (IPB) e o Centro Nacional de Competências dos Frutos Secos (CNCFS) na região norte de Portugal (Minho, Trancoso, Vinhais e Bragança), que revela a presença de parasitoides pertencentes ao género *Mesopolobus* sp. e 12 espécies pertencentes às famílias mencionadas anteriormente, nomeadamente, *Eupelmus azureus* Nees, *Eupelmus uruzonus* Dalman, *Eurytoma brunniventris* Ratzeburg, *Eurytoma setígera* Mayr, *Megastigmus dorsalis* Fabricius, *Ormyrus pomaceus* Geoffroy, *Sycophila iracemae* Nieves Aldrey, *Sycophila variegata* Curtis, *Sycophila biguttata* Swederus, *Torymus auratus* Müller, *Torymus notatus* Walker e *Torymus flavipes* Walker (Santos *et al.*, 2019). Contudo os parasitoides não são específicos da vespa-das-galhas-dos-castanheiro, ao contrário do *T. sinensis*, fator que torna o combate contra a praga com base nestes parasitoides insuficiente (Gibbs *et al.*, 2011). Segundo Matošević (2013), foram realizados estudos que comprovam que quando os sotos têm áreas de matas de carvalhos na envolvente existe uma maior diversidade de parasitoides e taxas de parasitismo natural mais elevadas.

5. Material e métodos

I. Bioecologia da vespa-das-galhas-do-castanheiro

Para a concretização da parte do acompanhamento da bioecologia da vespa-das-galhas-do-castanheiro realizou-se primeiramente a colheita de gomos, e a colheita de galhas numa fase mais avançada. A colheita realizou-se em e castanheiros enxertos em duas localidades diferentes, nomeadamente Samil a aproximadamente 770 metros de altitude (41.779172, -6.774933) e Rebordainhos a uma altitude de aproximadamente 890 metros (41.662785, -6.847175). Em Samil colheram igualmente 50 gomos/galhas em castanheiros bravos.

Inicialmente foi feita uma colheita mensal, até ao mês de abril, de 50 gomos em castanheiros bravos e 50 gomos em castanheiros enxertos na localidade de Samil, assim como 50 gomos em castanheiros enxertos em Rebordainhos. Após o mês de abril as colheitas foram realizadas quinzenalmente.

Tabela 1: Delineamento experimental para a colheita de gomos/galhas.

Castanheiro	Localidade	Nº de gomos/galhas	Período de amostragem
10 Bravos	Samil	50	
10 Enxertos	Samil	50	Mensal até abril
10 Enxertos	Rebordainhos	50	Quinzenal a partir de abril

A primeira amostragem foi realizada a 2 de novembro de 2022, procedendo-se da mesma forma uma vez por mês até abril de 2023, período em que se realizaram um total de seis amostragens. Depois de colhidos, os gomos foram levados para laboratório e armazenados no frio durante um período máximo de uma semana, para prosseguir com a observação e identificação do estado de desenvolvimento da praga.

A observação dos gomos é feita à lupa binocular com ajuda de uma agulha de dissecação e um bisturi. Numa fase inicial, quando os gomos ainda são muito pequenos, o destacamento das camadas do gomo com a ajuda da agulha de dissecação, e quando os gomos começam a crescer e inchar recorre-se ao bisturi. Inicialmente é muito difícil a observação dos gomos, por estes serem ainda muito pequenos e por isso é de grande importância realizar o destacamento dos tecidos dos gomos com muito cuidado. Depois de cada observação é necessário registar o que foi observado e identificado, ou seja, foi feita uma anotação sobre a fase do ciclo em que se encontra a vespa-das-galhas-do-

castanheiro e numa fase mais avançada (galhas) identificou-se a presença de parasitoides e calculou-se a proporção de *parasitóides* em relação a *D. kuriphilus*.



Figura 18: Ovo de *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu.

A partir de abril as colheitas foram realizadas quinzenalmente, porque é no período Primavera/Verão que a vespa-das-galhas-do-castanheiro se desenvolve mais rapidamente. Nesta fase da galha é necessário recorrer a um bisturi para a realização da observação, isto porque com o amadurecimento da galha esta fica mais dura, sendo que a observação só é possível através da realização de cortes contínuos e cuidadosos. A última amostragem realizou-se no dia 27 de julho de 2023.



Figura 19: Corte de gomos do castanheiro para a observação das câmaras da vespa-das-galhas-do-castanheiro.

Esta amostragem tem como objetivo acompanhar o ciclo biológico da vespa-das-galhas-do-castanheiro e a identificar as diferentes fases de desenvolvimento no período

de amostragem. Pretende-se também verificar se existe alguma diferença aparente no desenvolvimento a altitudes diferentes. Por último, será possível comparar o ciclo biológico do parasitoide *T. sinensis* e da praga *D. kuriphilus* relativamente ao seu sincronismo, ao mesmo tempo que se poderá concluir, se algum dos parasitoides autóctones identificado apresenta um melhor sincronismo com esta praga.

II. Monitorização de *Torymus sinensis* Kamijo

A segunda parte do trabalho consiste na monitorização do parasitoide *T. sinensis* em condições naturais e para acompanhar o período natural de emergência dos adultos ao longo do tempo.

O trabalho iniciou-se a 2 de janeiro de 2023, com a colheita de 250 galhas de inverno (galhas do ano anterior) por cada ponto de monitorização. No ano de 2023 foram monitorizados um total de 83 pontos de largada, que consistem em cerca de 25% das largadas de 2022 (53 pontos de monitorização) e cerca de 25% das largadas monitorizadas nos anos de 2018 (2 pontos de monitorização), 2019 (4 pontos de monitorização), 2020 (8 pontos de monitorização) e 2021 (15 pontos de monitorização).

Depois de cada colheita, as galhas foram levadas para laboratório onde se procedeu à sua limpeza (Figura 21) e secagem, processo este que consiste em retirar todo o lixo possível, como por exemplo ramos e folhas, deixando só as galhas, que posteriormente se deixam secar para evitar a formação de fungos no interior das caixas, e a consequente contaminação da amostragem.



Figura 20: Colheita das galhas para a monitorização do parasitoide *Torymus sinensis* Kamijo.



Figura 21: Limpeza das galhas, recolhidas no âmbito da monitorização do parasitoide *Torymus sinensis* Kamijo, em laboratório.

Depois de limpas e secas, as galhas foram colocadas em caixas de emergência, uma por ponto de monitorização (localidade e ano da largada), devidamente isoladas com fita-cola.

Destas 83 caixas de emergência, foram escolhidas cinco caixas de forma aleatória, para colocar num souto em Samil (41°46'50.2''N 6°45'52.9''W) sob condições naturais a uma altitude de aproximadamente 790 metros. As caixas foram colocadas em campo no final de janeiro de 2023, sendo realizadas visitas semanais ao campo (Figura 24) para registar a emergência ou não de parasitoides.

Tabela 2: Delineamento do campo de ensaio em Samil.

Nº de caixa	Identificação	Localidade	Ano de largada
1	21	Espinhosela	2022
2	171	Parada	2022
3	116	Pinela	2021
4	135	Salsas	2021
5	186	Serapicos	2021

A partir do momento que os parasitoides começam a emergir, prossegue-se com a troca dos tubos Falcon e armazenamento destes em laboratório no congelador, para facilitar a contagem e identificação dos parasitoides. A identificação dos parasitoides é realizada com ajuda de uma lupa binocular (Figura 22). Depois de identificados os parasitoides são armazenados em tubos Eppendorf, devidamente identificados com o ano da largada, a localidade e o parasitoide identificado (separação entre parasitoides *T. sinensis* e parasitoides autóctones).



Figura 22: Lupa binocular.

Depois de não terem sido registadas mais emergências de parasitoides nos tubos Falcon, procedeu-se à abertura das caixas de emergência para verificar a presença ou não de parasitoides no seu interior, adicionado este número ao dos parasitoides dos tubos Falcon.

As restantes 78 caixas de emergência, foram armazenadas em laboratório sob condições controladas, ou seja, num local com temperaturas mais elevadas para acelerar a emergência dos adultos (Figura 23). Das caixas de emergência em laboratório realizou-se a contagem e identificação de *T. sinensis* e dos parasitoides autóctones emergidos de galhas de inverno. Para o tratamento de dados realizou-se o cálculo da média do número de *T. sinensis* emergidos para comparação dos dados, assim como ao cálculo do erro padrão.



Figura 23: Caixas de emergência, para monitorizar as largadas de *Torymus sinensis* Kamiyo, em laboratório (esquerda) e dos tubos com os parasitoides emergidos.



Figura 24: Caixas de emergência no ensaio de campo em Samil.

i. Taxa de parasitismo de *Torymus sinensis* Kamijo

Com base no trabalho de monitorização realizado, procedeu-se ao cálculo da taxa de parasitismo das largadas realizadas no período de 2018 a 2022.

Foram escolhidas vinte caixas de emergência aleatoriamente e abriram-se 21 galhas por caixa para contar as câmaras no seu interior à lupa binocular. Com base no número de câmaras calcularam-se médias do número de câmaras para cada caixa, a partir das quais se calculou então uma média global do número de câmaras. A partir do número total de *T. sinensis* emergidos das caixas e do número de câmaras, foi então possível calcular a taxa de parasitismo de *T. sinensis* para os 83 pontos de largadas monitorizados em 2023:

$$\text{Taxa de parasitismo T.S.} = \left(\frac{\text{n}^\circ \text{ de } \textit{Torymus sinensis}}{\text{n}^\circ \text{ de câmaras em 250 galhas}} \right) \times 100$$



Figura 25: Corte de uma galha da vespa-das-galhas-do-castanheiro do ano anterior.

III. Parasitismo natural

A última parte do trabalho consiste na monitorização dos parasitoides autóctones em condições naturais e em condições controladas e foi realizada com base no trabalho de monitorização realizado inicialmente. Este ensaio teve como principal objetivo acompanhar a emergência natural dos parasitoides autóctones ao longo do tempo, dependendo das condições climáticas, e estimar a diversidade de espécies de

parasitoides autóctones presentes no concelho de Bragança, bem como o seu período de emergência nesta região.

Das 78 caixas de emergência em laboratório realizou-se apenas a contagem e identificação dos parasitoides autóctones emergidos de galhas de inverno, já das cinco caixas de emergência em campo foi também possível, para além da identificação e contagem dos parasitoides autóctones, acompanhar a emergência dos adultos ao longo do tempo. A identificação dos parasitoides autóctones foi realizada à lupa binocular e com ajuda de uma chave não publicada (Askew, R.R.). Como já foi mencionado anteriormente, os parasitoides autóctones foram colocados em tubos Eppendorf devidamente identificados

Com base nos dados obtidos, realizou-se o cálculo dos parâmetros abundância, riqueza e diversidade (índice de Simpson) para as cinco caixas de emergência.

6. Resultados e discussão

I. Bioecologia da vespa-das-galhas-do-castanheiro

Durante o período de novembro de 2022 e julho de 2023, colheram-se um total de 1800 gomos/galhas, a altitudes diferentes, nas quais foi possíveis identificar parasitoides e *D. kuriphilus* em diferentes estados de desenvolvimento, ao longo do tempo de amostragem.

Segundo os resultados apresentados na Tabela 3 existe uma pequena diferença entre altitudes no desenvolvimento da praga *D. kuriphilus*. As primeiras pupas só foram identificadas em junho, desenvolvendo-se rapidamente durante o mês de junho, com a identificação dos primeiros adultos ainda no final do mês de junho. A uma altitude de 770 metros, foi possível identificar a presença de adultos de *D. kuriphilus* no dia 15 de junho, cerca de um mês antes do que nas galhas colhidas a uma altitude de 890 metros. Com a ajuda da Figura 26 podem observar-se com mais precisão as diferenças relativamente ao desenvolvimento de *D. kuriphilus*, tendo em conta as diferentes altitudes e os castanheiros enxertos e bravos. Podemos então concluir que a baixas altitudes (770 m) o desenvolvimento da praga dá-se mais rápido do que a uma altitude mais elevada (890 m). As primeiras pupas pretas foram observadas nas galhas colhidas em Samil (770 m) no dia 1 de junho de 2023, também se observaram menos larvas L3 em Samil podendo indicar um estado mais avançado de *D. kuriphilus* a altitudes mais baixas. Entre os castanheiros bravos e enxertos à mesma altitude não se observaram grandes diferenças, sendo que as primeiras pupas foram observadas nas galhas de castanheiros bravos. Os primeiros adultos foram identificados a 15 de junho de 2023 nas galhas colhidas de castanheiros enxertos em Samil e dia 28 de junho foi possível identificar todos os estados dedesenvolvimento de *D. kuriphilus*.

Tabela 3: Desenvolvimento de *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu a altitudes de 890 (X) e 770 metros (X).

Fase do ciclo	nov/22	dez/22	jan/23	fev/23	mar/23	abr/23	mai/23	jun/23	jul/23
Ovo	XX	X							
Larva	L1	XX	XX	XX	XX	XX			
	L2					XX			
	L3						XX	XX	
Pupa	P1							XX	
	P2							XX	
	P3							XX	XX
Adulto							X	XX	

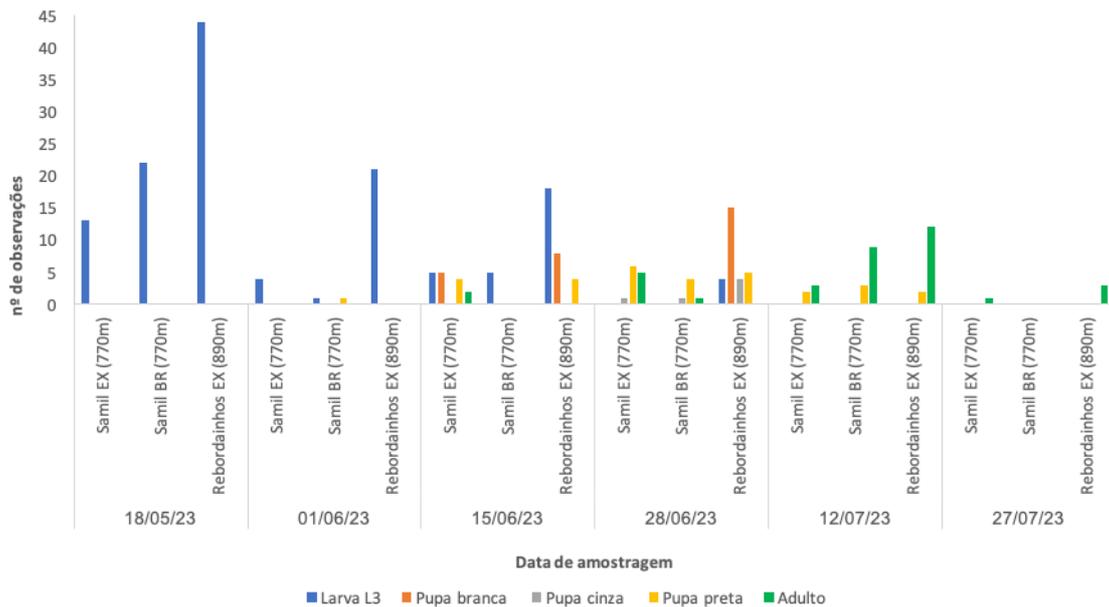
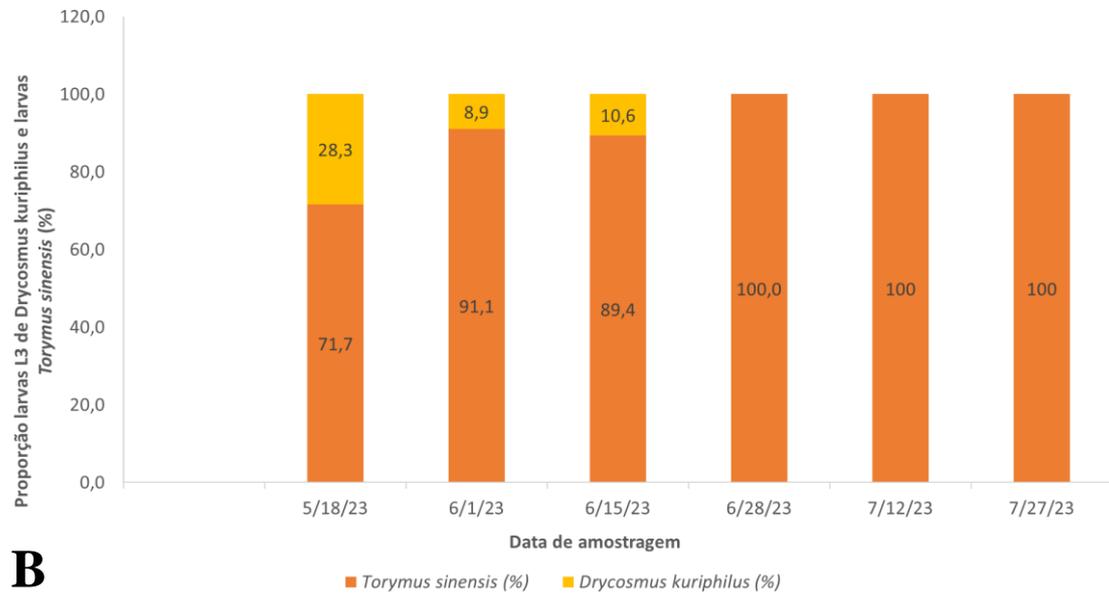
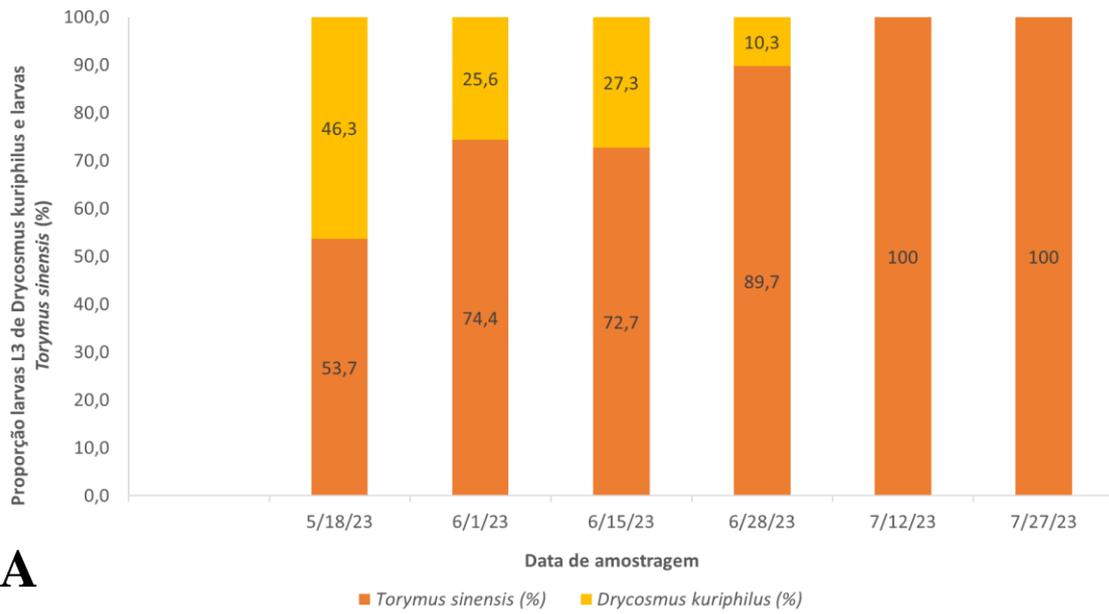


Figura 26: Corte de uma galha da vespa-das-galhas-do-castanheiro do ano anterior.

Com o cálculo das proporções de larvas *T. sinensis* e *D. kuriphilus* para o período de 18 de maio a 27 de julho, concluiu-se que no geral as larvas de *T. sinensis* predominam em ambas as altitudes. Foram observadas um grande número de larvas *D. kuriphilus* parasitadas. Com o passar do tempo deixou de ser possível observar larvas de *D. kuriphilus*, quer por morte devido a parasitismo por parte de *T. sinensis*, quer por continuação do seu desenvolvimento para pupa e adulto numa fase mais avançada.

Nos souts de Samil já tinham sido realizadas largadas do parasitoide exótico, o que pode justificar a elevada proporção de larvas *T. sinensis*, o que por sua vez é uma prova da adaptação do parasitoide. No souto em Rebordainhos verificou-se também uma elevada presença de larvas *T. sinensis* apesar de não haver registo da realização de largadas do parasitoide no ponto de amostragem em questão, o que prova a capacidade de dispersão do inseto.



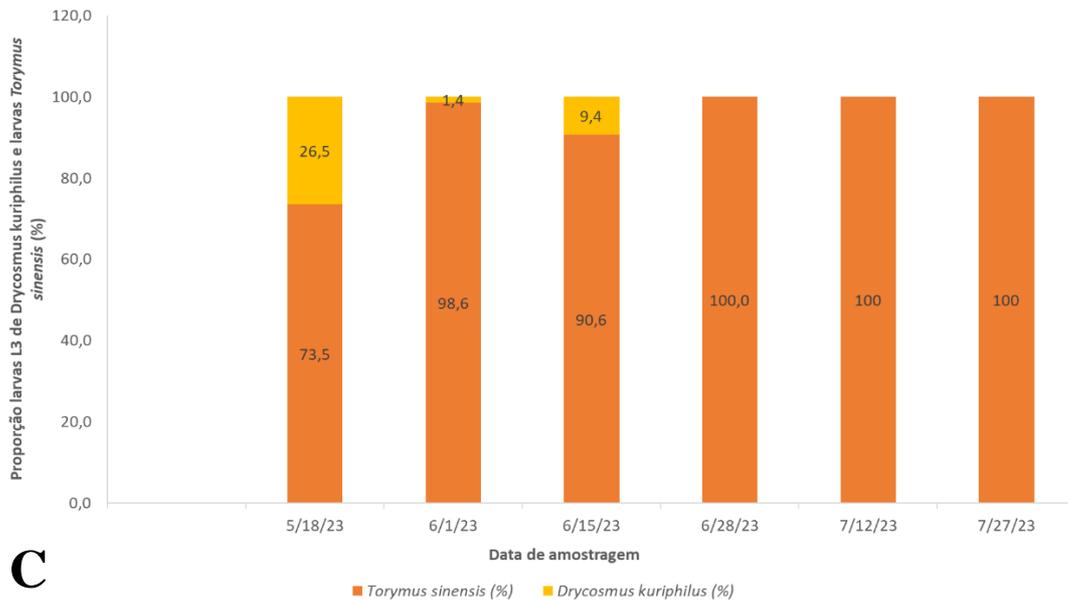


Figura 27: Proporção de larvas de *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu e larvas de *Torymus sinensis* Kamijo nas localidades de Rebordainhos (A) e Samil (B e C).

Com base nos dados obtidos no presente trabalho foi possível apresentar o ciclo biológico da vespa-das-galhas-do-castanheiro em Trás-os-Montes (Figura 28).

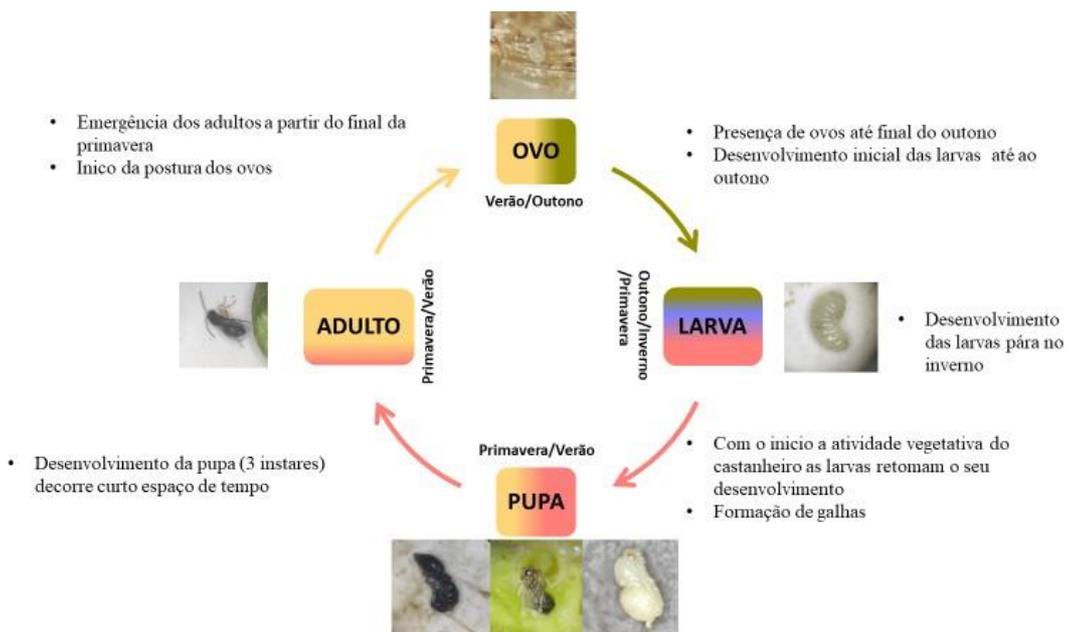


Figura 28: Ciclo de vida da praga *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu.

Neste trabalho observaram-se larvas no último instar de desenvolvimento (L3) no período de início de maio a final de junho, à semelhança aos resultados descritos pela EPPO em 2005, com as larvas maduras a serem observadas entre os meses de abril e junho. Como mencionado anteriormente, a fase de pupa desenvolveu-se rapidamente durante o mês de junho, podendo desenvolver-se no período de meados de maio a meados de julho, dependendo do local com influência da altitude e exposição (EPPO, 2005). Os adultos foram observados entre junho e julho, Bernardo *et al.* (2013) obtiveram os mesmos resultados num estudo realizado no sul de Itália, com os adultos a emergir entre meados de junho e final de julho. Neste ensaio não foi acompanhada a fase da postura de ovos, mas segundo EPPO 2005, a postura ocorre nos meses de junho e julho, eclodindo num período de 30 a 40 dias.

II. Monitorização de *Torymus sinensis* Kamijo

Para a monitorização de 2023 das largadas realizadas no período de 2018 a 2022 colheram-se 20750 galhas de inverno em todo o concelho de Bragança, das quais emergiram um total de 16117 indivíduos da espécie *T. sinensis*.

Através da Figura 29, podemos constatar que em média foi registado um maior número de *T. sinensis* emergidos no ano de 2021 (232 indivíduos) e um menor número de *T. sinensis* emergidos no ano de 2019 (137 indivíduos), por caixa.

Do ensaio efetuado em campo, verificou-se um período de emergência de *T. sinensis* entre dia 23 de fevereiro e 4 de maio 2023 (Figura 30), com o maior número, a emergir por volta de 30 de março. Os pontos de amostragem Pinela e Salsas de largadas efetuadas em 2021, apresentam um maior número de parasitoides exóticos emergidos, 228 e 212 *T. sinensis* respetivamente.

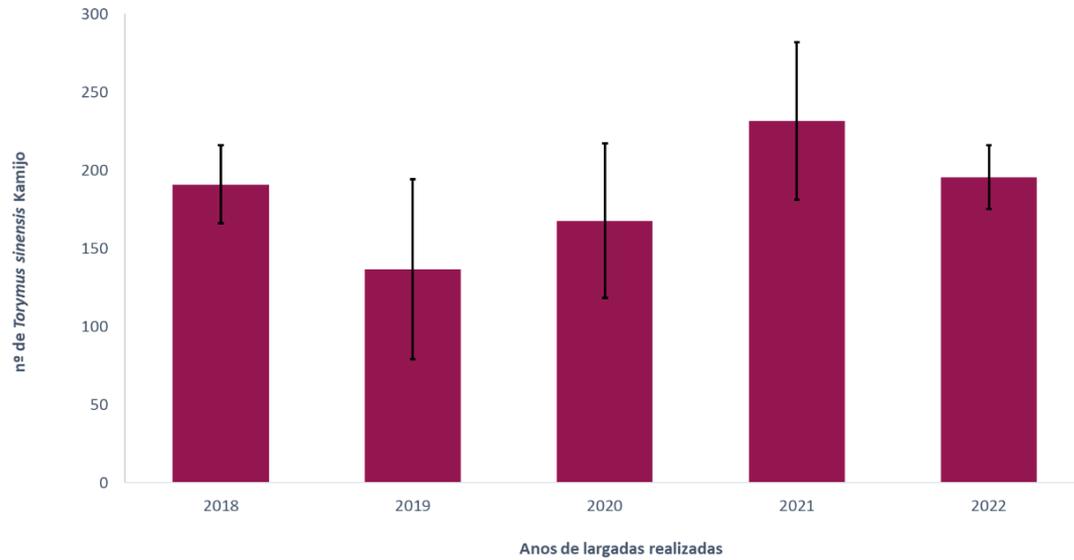


Figura 29: Número médio de *Torymus sinensis* Kamijo por caixa no concelho de Bragança para as largadas realizadas no período de 2018 a 2022.

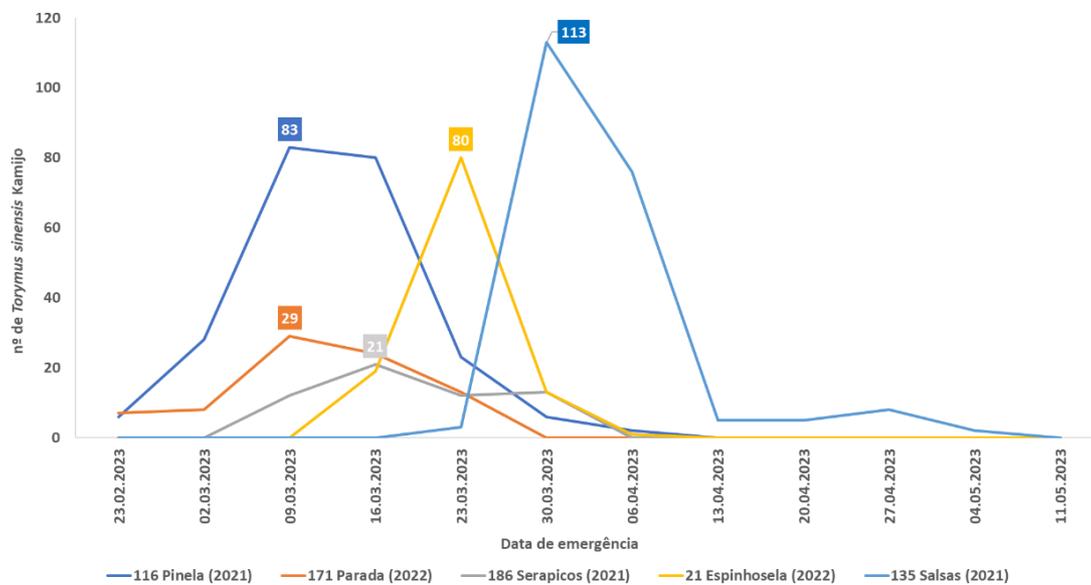


Figura 30: Emergência de *Torymus sinensis* Kamijo em campo.

Com base nos dados obtidos no estudo realizado podemos apresentar o ciclo biológico do parasitoide *T. sinensis* em Trás-os-Montes (Figura 31).



Figura 31: Ciclo biológico do parasitoide *Torymus sinensis* Kamijo.

Segundo o ensaio e bibliografia consultada, as larvas de *D. kuriphilus* desenvolvem-se até finais da primavera, justificando-se assim a diminuição das larvas observadas com a aproximação aos meses de junho e julho (Bernardo *et al.*, 2013).

Na Figura 32 juntaram-se os dois ciclos de vida, *D. kuriphilus* e *T. sinensis*, para evidenciar o sincronismo existente entre ambos. Em teoria a emergência dos adultos *T. sinensis* e a posterior postura dos ovos na Primavera coincide com a fase de maturação das larvas de *D. kuriphilus*, com as fêmeas de *T. sinensis* a fazer postura de ovos na primavera (fins de abril), eclodindo após 37 dias, com as larvas alimentando-se externamente da larva de *D. kuriphilus* (Matošević *et al.*, 2014).

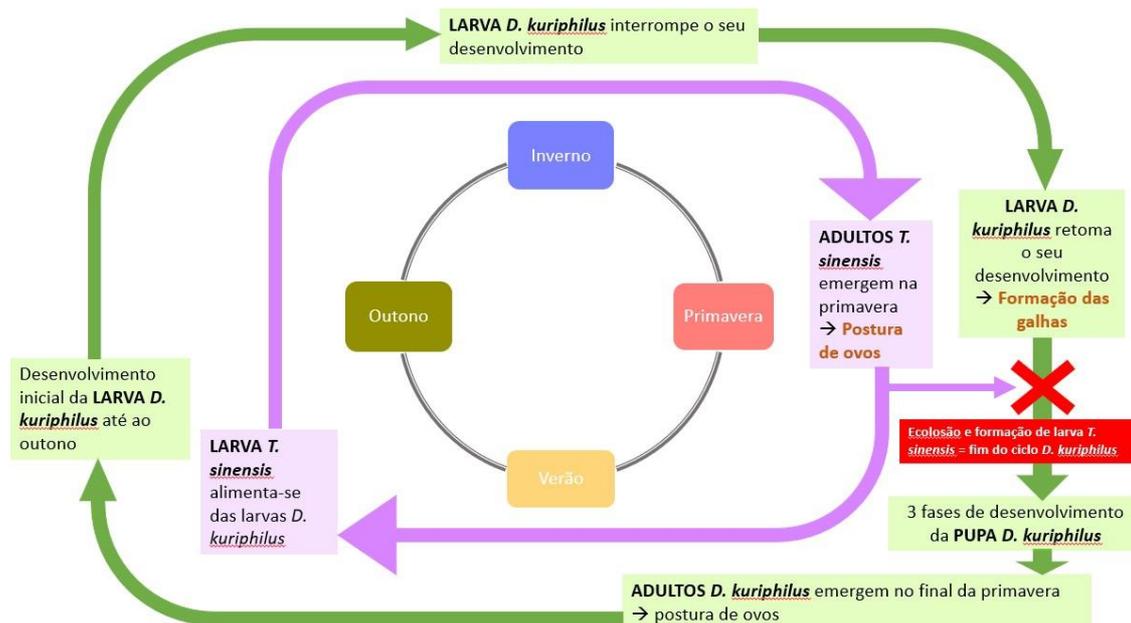


Figura 32: Demonstração do sincronismo entre os dois ciclos de vida, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu e *Torymus sinensis* Kamijo.

Neste trabalho verificaram-se emergências de *T. sinensis* a partir do final de fevereiro, mais ou menos dois meses antes da formação das primeiras galhas a partir de dia 4 de maio. Esta emergência temporã de uma parte da população de *T. sinensis* e a não coincidência com a formação de galhas influencia negativamente a postura de ovos de *T. sinensis* e conseqüentemente o desenvolvimento das suas populações. Os adultos de *T. sinensis* vivem cerca de 30 dias, sendo que a sua emergência antecipada e por sua vez não coincidente com a formação inicial das galhas, interfere com a postura dos ovos e conseqüentemente com a sua reprodução.

i. Taxa de parasitismo de *Torymus sinensis* Kamijo

No decorrer deste estudo abriram-se um total de 420 galhas que continham 1682 câmaras (Tabela 4 - Anexo).

As taxas de parasitismo de *T. sinensis* foram calculadas por freguesias para as largadas efetuadas no período de 2018 a 2022. A partir da Figura 33, concluiu-se que nos pontos de monitorização de 2022 a taxa de parasitismo varia entre 3,13% e 36,81%, respetivamente na freguesia de Sendas e Quintela de Lampaças. Relativamente aos dados obtidos para as largadas realizadas em 2022, as freguesias de Salsas, Santa Comba de

Rossas, Parâmio, Rebordãos Zoio e Sendas obtiveram as taxas mais baixas, inferiores a 10%. Nos pontos de monitorização de largadas de anos anteriores (2018-2021) as taxas variam entre 1,7% e 60,8%, respetivamente na Freguesia de Santa Comba de Rossas (2020) e União de Freguesias de Parada e Failde (2021) (Figura 35).

A taxa de parasitismo média para o período de 2018 a 2022 observada na monitorização de 2023 foi de 21,09%.

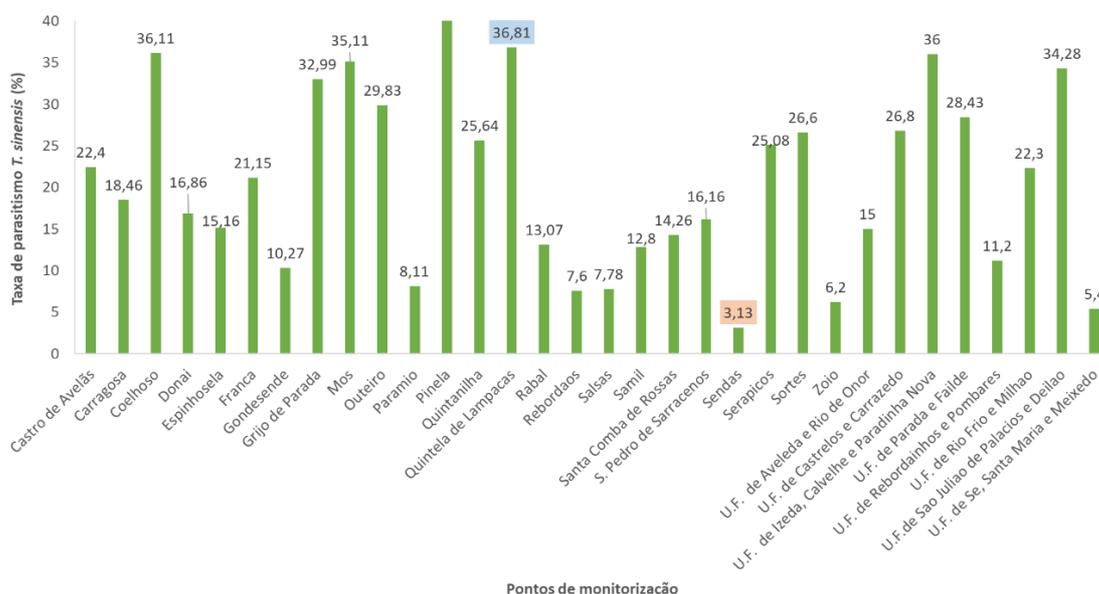


Figura 33: Taxa de parasitismo de *Torymus sinensis* Kamijo da monitorização realizada em 2023 das largadas realizadas no ano de 2022 no concelho de Bragança.

A Figura 34 mostra que das galhas de inverno colhidas apareceram parasitoides autóctones em todas as localidades monitorizadas para as largadas de 2022, apresentando taxas médias de parasitismo entre 0,6 e 5,49. Estas taxas de parasitismo são inferiores às do *T. sinensis*. De acordo com o artigo de Amorim *et al.* de 2018, há um maior número de parasitoides autóctones emergidos a partir de galhas verdes colhidas na Primavera, com o período de emergência a decorrer entre 16 de maio e 22 de agosto. O presente trabalho não inclui estes valores.

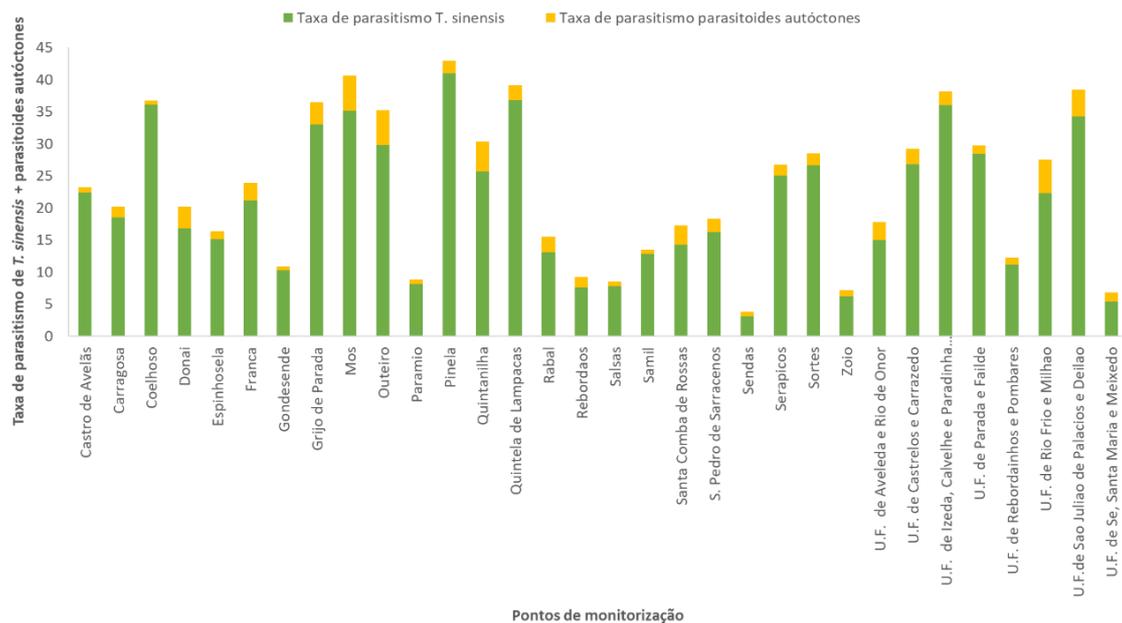


Figura 34: Taxa de parasitismo de *Torymus sinensis* Kamijo + parasitoides autóctones da monitorização realizada em 2023 das largadas realizadas no ano de 2022 no concelho de Bragança.

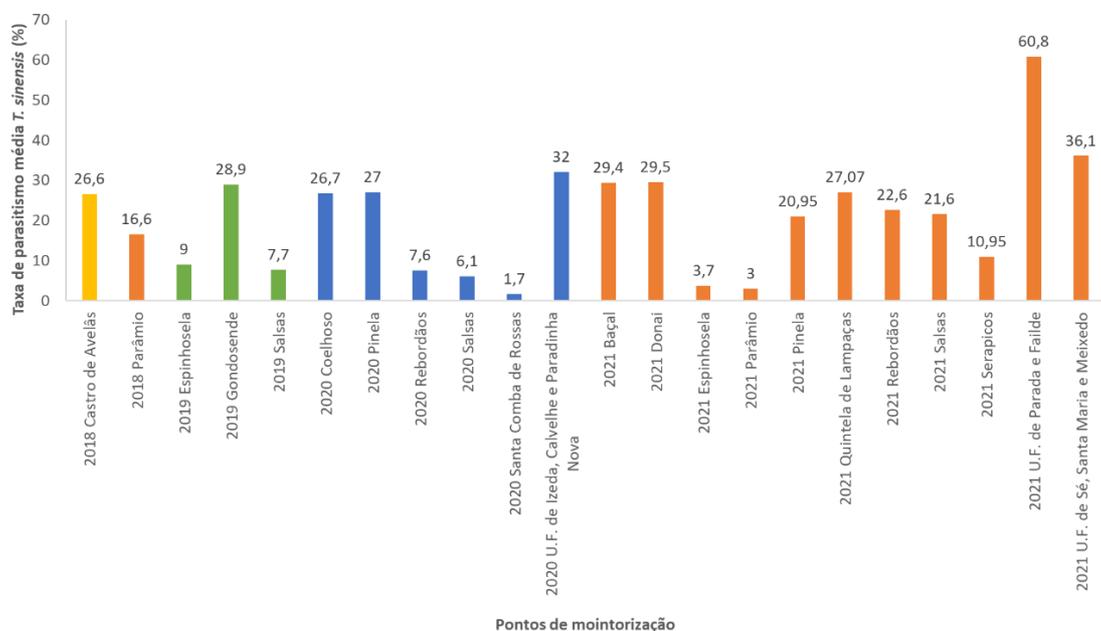


Figura 35: Taxa de parasitismo de *Torymus sinensis* Kamijo da monitorização realizada em 2023 das largadas realizadas no período de 2018 a 2021 no concelho de Bragança.

De igual forma, a Figura 36, reflete que também para o período de largadas de 2018 a 2021 a taxa média de parasitismo de parasitoides autóctones é menor quando comparada à taxa média de parasitismo de *T. sinensis*. Os valores variam entre 1,7 e

60,8%, na Freguesia de Santa Comba de Rossas para o ano de 2020 e na União de Freguesias de Parada e Failde para o ano de 2021 respectivamente.

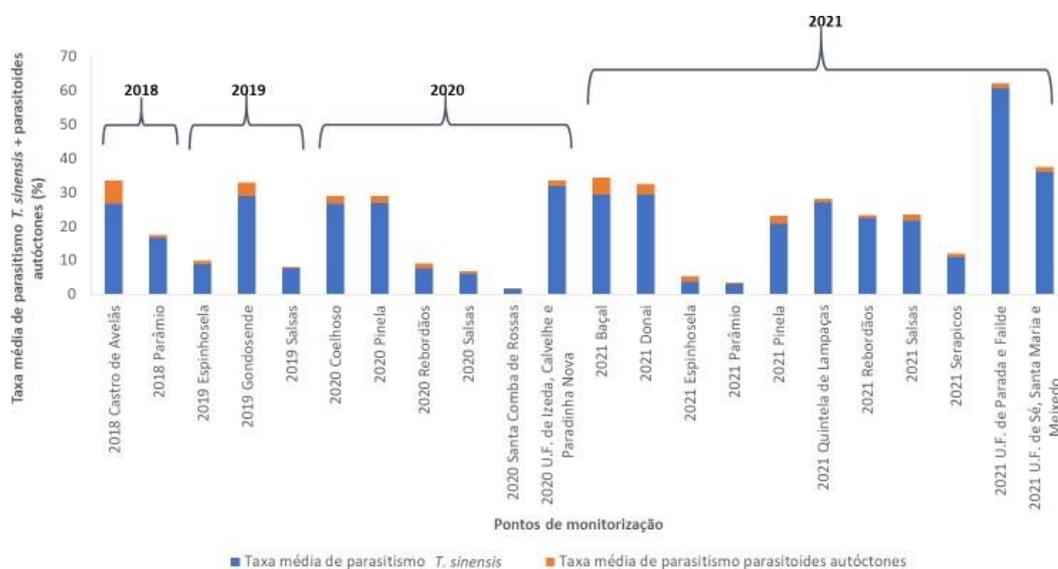


Figura 36: Taxa de parasitismo de *Torymus sinensis* Kamiyo + parasitoides autóctones da monitorização realizada em 2023 das largadas realizadas no período de 2018 a 2021 no concelho de Bragança.

Estudos realizados em outros países comprovam que nos locais onde se realizaram largadas do parasitoide *T. sinensis* mais recentemente, a presença deste é naturalmente menor em comparação aos pontos onde se realizaram largadas em anos anteriores (Gehring *et al.*, 2018).

Vários estudos realizados confirmam a importância do parasitoide *T. sinensis* na redução da taxa de infeção por *D. kuriphilus*. Nos primeiros anos de realização de largadas do parasitoide *T. sinensis* a taxa de parasitismo é geralmente baixa, mas vai aumentando progressivamente (Quacchia *et al.*, 2014) longo dos anos, sendo que no ano após a primeira largada a taxa média de parasitismo variou entre 1,1, e 3,1%, no ano seguinte foi obtida uma percentagem 7,9 e 22,6, aumentando exponencialmente no terceiro e quarto ano, entre 38,1-73,7 % e 73,7–80,7% respetivamente. Segundo esta mesma fonte, a partir de uma taxa média de parasitismo de 20% espera-se um crescimento exponencial da população de *T. sinensis*.

Em Itália as largadas iniciaram-se no ano de 2005, observando-se uma redução significativa de *D. kuriphilus* depois de um período de largadas de 7 a 8 anos (Ferracini

et al., 2022). Um estudo realizado em 2014 em Itália constatou uma redução significativa da taxa de infeção por *D. kuriphilus* em locais onde a taxa de parasitismo é superior a 75%, ou seja, quanto mais elevada a taxa de parasitismo menor será a taxa de infeção por parte da praga (Quacchia *et al.*, 2014). Para o ano de 2012, o mesmo estudo revela melhores taxas de parasitismo nos soutos onde a realização de largadas se iniciou no período de 2005 a 2009, com taxas entre 85 e 95% (Quacchia *et al.*, 2014).

Em países como a Grécia, Portugal, Espanha, Turquia e Reino Unido, o processo das largadas ainda está numa fase mais inicial (Ferracini *et al.*, 2022). A monitorização realizada em Bragança no ano de 2023, revelou valores de taxa média de parasitismo semelhantes às taxas médias de parasitismo obtidas por Gehring *et al.* (2017). Para as largadas realizadas em 2022, a taxa média de parasitismo no ano seguinte varia entre 3 e 36%, estes valores são superiores aos obtidos por Gehring *et al.* (2017) após um ano da data de largada. No ensaio realizado em Bragança verificou-se uma taxa média de parasitismo mais baixa do que era esperado para as largadas de 2018 (16,6 – 26,6%), devendo rondar após 5 anos, segundo vários estudos realizados, uma percentagem superior a 70 – 75% (Quacchia *et al.*, 2014). Esta menor taxa de parasitismo pode justificar-se pela antecipação do período de emergência dos parasitoides *T. sinensis*, como foi possível verificar neste trabalho, com um maior número de indivíduos a emergir entre final de fevereiro e final de março, cerca de um mês antes do aparecimento das galhas. Segundo Ferracini *et al.* (2022), Invernos com temperaturas mais elevadas podem ser responsáveis por esta antecipação do período de emergência.

O sincronismo entre a emergência dos parasitoides *T. sinensis* e a formação das galhas no Primavera é muito importante para garantir ao sucesso do controlo biológico. A emergência de *T. sinensis* é influenciada pelo fotoperíodo e pela temperatura. No norte de Itália comprovou-se, com a realização de um estudo realizado no período de 2018 a 2022, que as temperaturas mais elevadas no inverno resultam numa emergência mais cedo de *T. sinensis*, quando ainda não há formação de galhas para a realização das posturas (Ferracini *et al.*, 2022). Consequentemente, foi possível verificar uma redução de 44% do parasitismo de *T. sinensis*.

Tendo em conta os resultados obtidos neste trabalho é possível dizer que o ciclo de vida de *T. sinensis* delineado coincide com o a bibliografia consultada. Os adultos de *T. sinensis* emergem no princípio da Primavera e iniciam a postura dos ovos nas galhas recentemente formadas. As larvas alimentam-se externamente das larvas maduras de *D.*

kuriphilus e pupam durante o inverno (Gibbs *et al.*, 2011). Em França realizou-se um estudo, onde se constatou com base nos primeiros resultados obtidos, que a abundância (total de indivíduos) é muito baixa nos primeiros anos, verificando-se um ligeiro aumento no segundo ano (0,2 – 11,9 *T. sinensis*/1000 galhas para 0,15 – 69,9 *T. sinensis*/ 1000 galhas) (Borowiec *et al.*, 2014).

III. Parasitismo natural

Do trabalho de monitorização realizado em 2023 emergiram um total de 1475 parasitoides autóctones (Figura 37) pertencentes à superfamília Chalcidoidea (1459 indivíduos), e as superfamílias Ichneumonoidea (15 indivíduos) e Ceraphronoidea (1 indivíduo), consideradas fauna secundária de galhas.

Das 1250 galhas de inverno expostas a condições naturais emergiram um total de 66 parasitoides autóctones entre 30 de março e 4 de maio de 2023 (Figura 38). Neste ensaio foram identificadas quatro espécies de parasitoides, *Eupelmus uruzonus* Nees, *Eurytoma brunniventris* Ratzeburg e *Sycophila variegata* Curtis e o género *Mesopolobus* sp. (Figura 39). Destas espécies e géneros identificados, *E. uruzonus* e *Mesopolobus* sp. foram os que apresentaram um maior número de indivíduos emergidos, respetivamente 41 e 19 indivíduos, e foram também as espécies que emergiram primeiro. Como é possível ver na Figura 38, o pico de emergências registou-se entre 30 de março e 13 de abril de 2023.

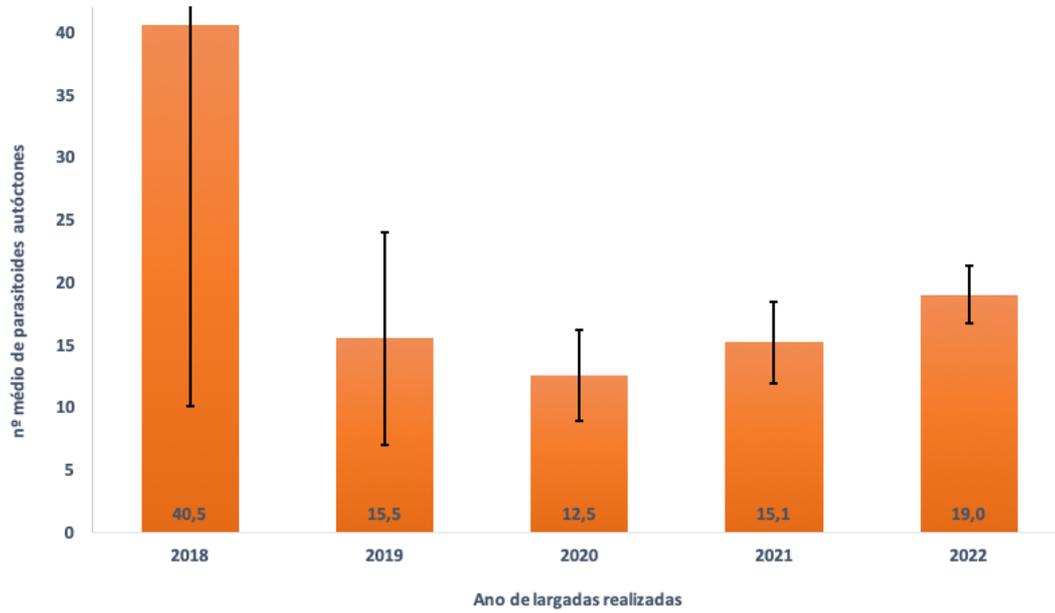


Figura 37: Emergência de parasitoides autóctones das caixas de monitorização da largadas realizadas no período de 2018 a 2022.

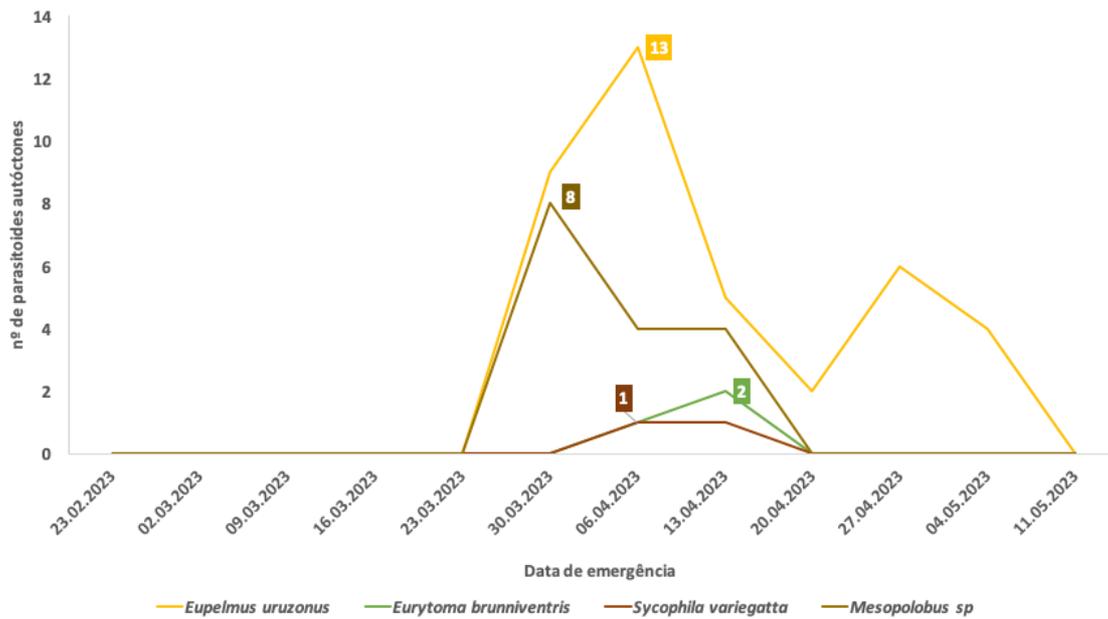


Figura 38: Emergência em campo de espécies de parasitoides autóctones por data.

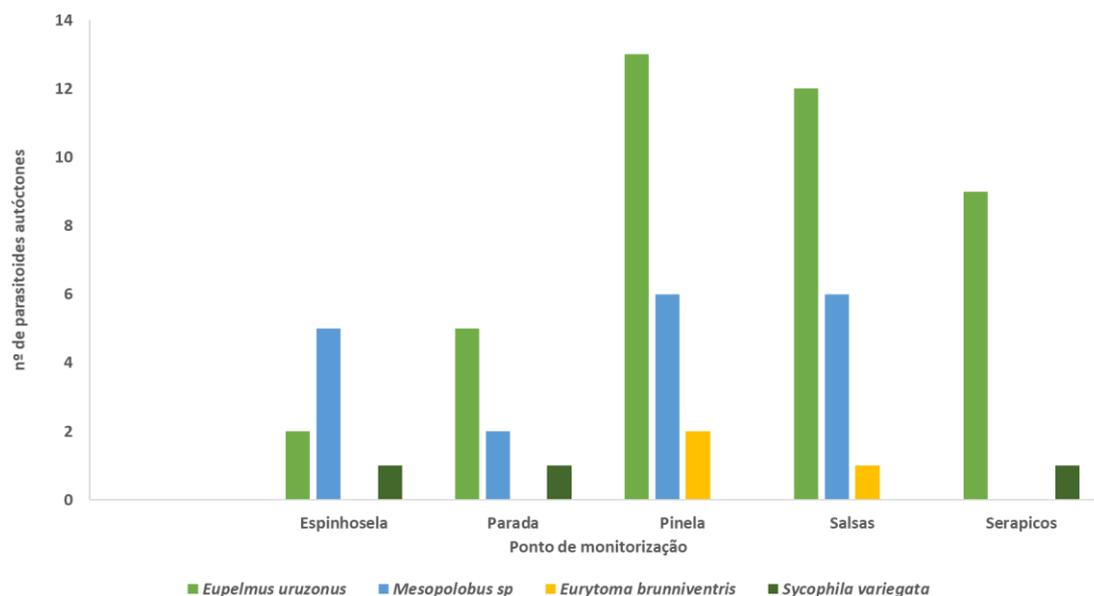
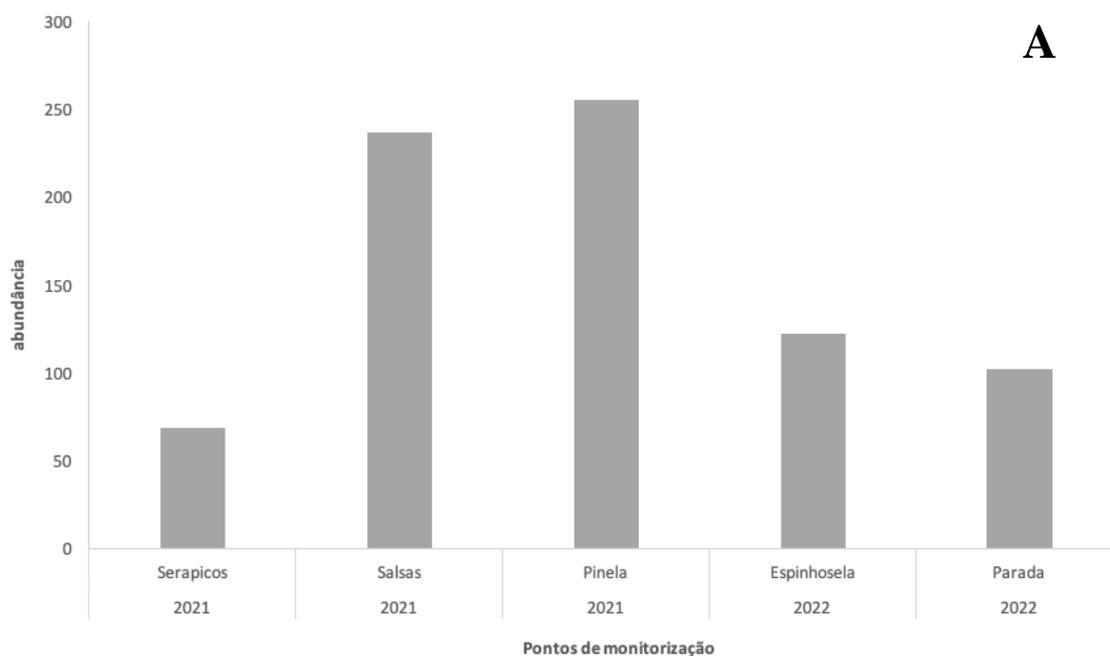


Figura 39: Espécies de parasitoides emergidas em campo por ponto de monitorização.

Para o mesmo ensaio foi calculada a abundância de parasitoides autóctones, ou seja, o número total de indivíduos emergidos, que varia entre 69 e 255 indivíduos, respetivamente nos pontos monitorizados de Serapicos e Pinela (Figura 40 A). A diversidade varia entre 0,75 e 0,87 (Figura 40 B). Relativamente à riqueza é de 3 em todas as localidades, ou seja, na média obteve-se uma riqueza média de 3 para os cinco pontos monitorizados em 2023 (Figura 40 C).



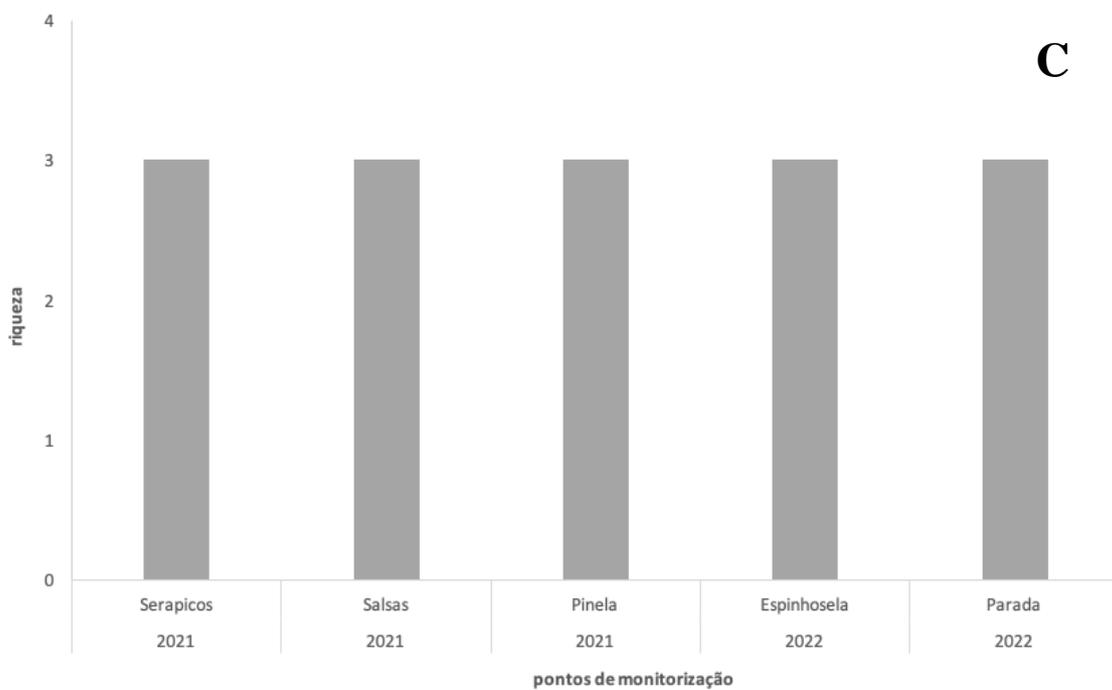
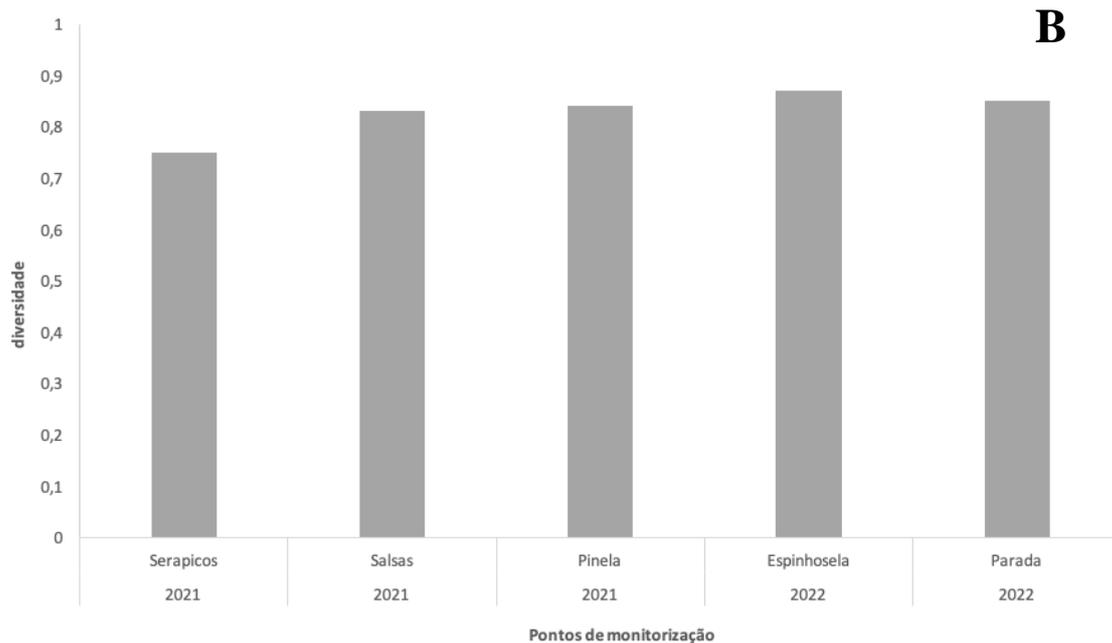


Figura 40: Abundância (A), diversidade (B) e riqueza (C) de parasitoides autóctones no ensaio de campo em Samil

No final deste trabalho foram identificadas sete espécies diferentes de parasitoides, pertencentes às seguintes famílias: *Eupelmidae*, *Pteromalidae* e *Eurytomidae* (Figura 41).

Da família *Eupelmidae* foram identificadas as espécies *Eupelmus uruzonus* Nees e *Eupelmus peculiaris* Narendran.

Da família *Eurytomidae* foram identificadas as espécies *Eurytoma brunniventris* Ratzeburg, *Eurytoma pistacina* Rondani, *Sycophila biguttata* Swederus e *Sycophila variegata* Curtis. Foi, também, identificado o gênero *Mesopolobus* sp.

Relativamente à fauna secundária presente nas galhas observadas, foram identificados no total 3 tipos insetos diferentes da família *Ichneumanidae* e um inseto pertencente à família *Megaspilidae* (Figura 42).

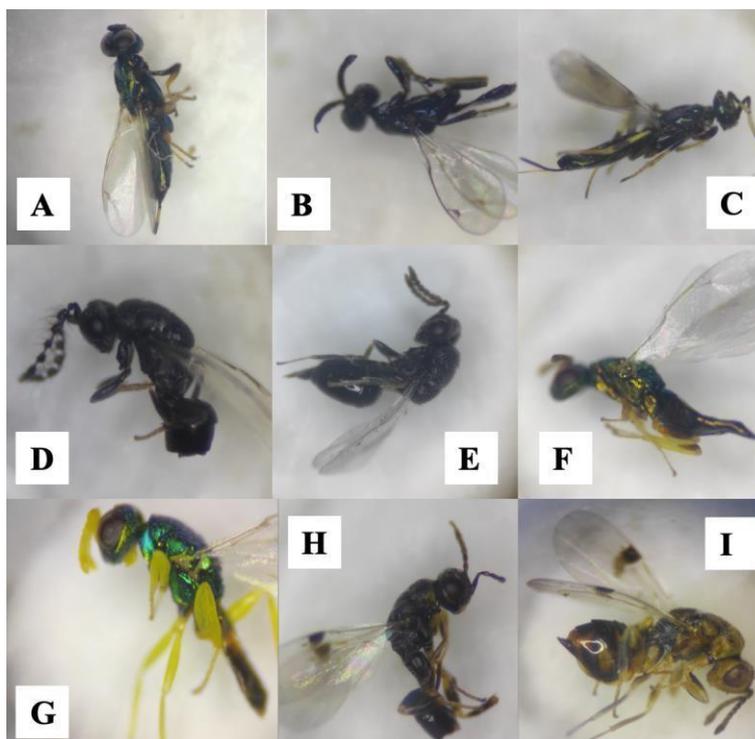


Figura 41: Imagem dos parasitoides autóctones (*Eupelmus uruzonus* Dalman fêmea (A) e macho (B); *Eupelmus peculiaris* Narendran fêmea (C); *Eurytoma brunniventris* Ratzeburg macho (D); *Eurytoma pistacina* Rondani fêmea (E); *Mesopolobus* sp. fêmea (F) e macho (G); *Sycophila variegata* Curtis macho (H); *Sycophila biguttata* Swederus fêmea (I)).

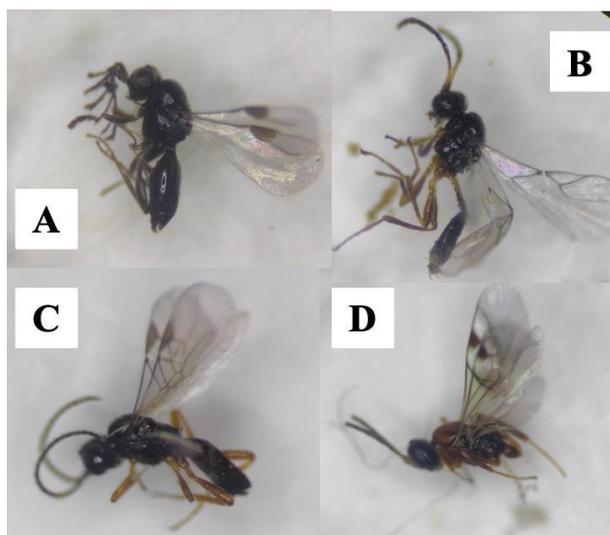


Figura 42: Fauna secundária das galhas do castanheiro (*Megaspilidae* (A); *Ichneumonidae* (B, C, D)).

Como é possível ver na Figura 43, *E. uruzonus* foi a espécie que apresentou o maior número de indivíduos emergidos (947), seguindo-se o género *Mesopolobus* sp. com uma emergência de 264 parasitoides. *E. peculiaris* e *S. biguttata* apresentaram o menor número de indivíduos emergidos, respetivamente 3 e 2.

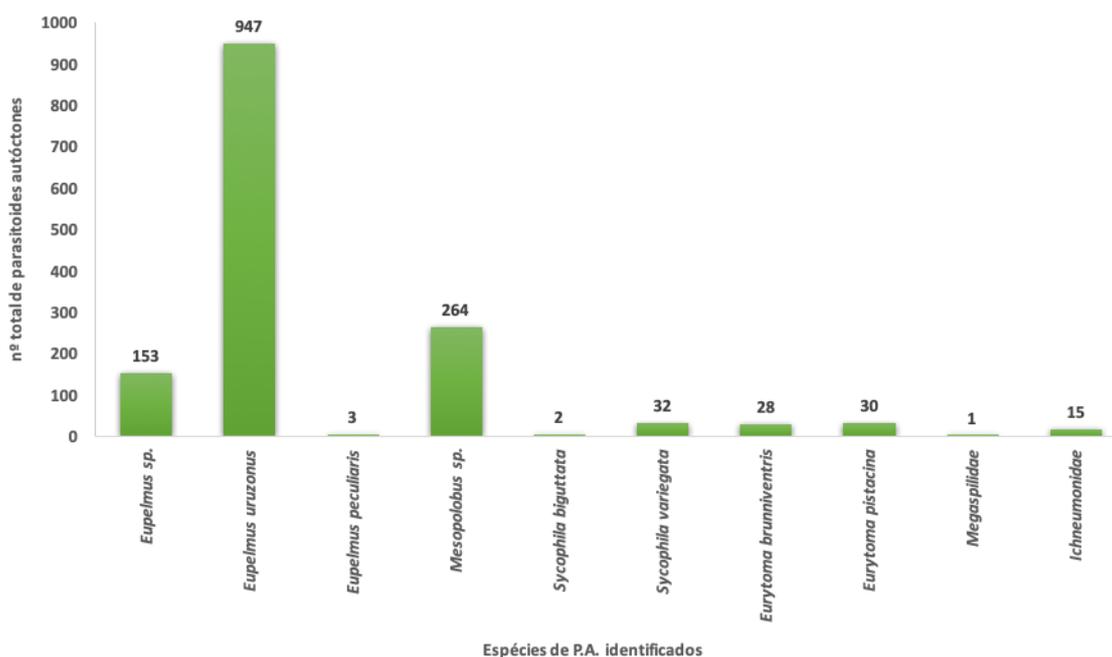


Figura 43: Número de parasitoides autóctones emergidos das galhas de inverno (monitorização de 2023).

Algumas das espécies observadas neste trabalho foram também observadas, associadas a *D. kuriphilus*, em outros países. Em Itália foram identificadas 16 espécies, algumas delas coincidentes com as espécies identificadas neste trabalho, nomeadamente *S. variegata*, *S. biguttata*, *E. pistacina*, *E. bruniventris*, *E. uruzonus* e espécies do género *Mesopolobus* sp. (Aebi *et al.*, 2006). Num estudo realizado na região da Toscana (2013), em Itália, Panzavolta identificou de igual forma as espécies *E. bruniventris*, *E. uruzonuse* algumas espécies do género *Mesopolobus* sp. (Panzavolta *et al.*, 2013). Neste mesmo estudo verificou-se que a espécie *Torymus falvipes* Walker é dominante naquela região e segundo os mesmos autores as espécies *E. bruniventris* e *E. uruzonus* são responsáveis pelo atraso da fixação e incremento do parasitoide *T. sinensis*. A maioria destes parasitoides autóctones estão também associados aos bugalhos de carvalhos (Lobo Santos *et al.*, 2018).

Na Europa a espécie *E. uruzonus* é considerado um dos parasitoides autóctones mais dominantes associados ao *D. kuriphilus* (Askew, 1961), coincidindo assim com os resultados obtidos no trabalho realizado.

Apesar de se considerarem importantes no combate contra *D. kuriphilus*, os parasitoides autóctones apresentam uma falta de sincronismo com a indução das galhas, como foi possível observar no trabalho realizado. Os parasitoides autóctones emergem em pouca quantidade a partir de galhas de inverno e mais tarde durante a Primavera, não coincidindo com a formação inicial das galhas. O número de parasitoides que emergem a partir de galhas de inverno é muito inferior ao número de parasitoides autóctones que emergem a partir das galhas do ano, isto leva a que se verifique uma baixa taxa parasitismo por parte destes parasitoides (Aebi *et al.*, 2006).

Relativamente ao parâmetro diversidade, que é nada mais que a probabilidade de dois indivíduos pertencerem à mesma espécie, é avaliado de 0 a 1 e quanto mais perto do 1 estiver o valor calculado, menor é a diversidade no local.

Num estudo realizado em Itália verificou-se um incremento da riqueza (diferentes espécies presentes no local) de 4 espécies no ano de 2002, 7 espécies em 2003, 10 espécies em 2004 e 14 espécies em 2005 (Aebi *et al.*, 2006).

7. Conclusões

A realização deste trabalho permitiu um melhor conhecimento do ciclo de vida de *D. kuriphilus*, nomeadamente as diferenças relativamente ao seu desenvolvimento tendo em conta soutos a diferentes altitudes e castanheiros bravos ou enxertos. Foi possível constatar a influência da altitude e das suas temperaturas características sob o desenvolvimento da praga, com esta a desenvolver-se mais rapidamente a baixas altitudes e em castanheiros bravos. Constatou-se que com o decorrer do seu estado larvar mais avançado durante a primavera, se dá a formação das galhas, aparecendo inicialmente nos castanheiros por volta de inícios de maio. As suas três fases pupares desenvolvem-se num curto espaço de tempo por volta do mês de junho, com os primeiros adultos a poderem ser observados ainda no final do mês de junho. Este estudo pode ser importante para o planeamento mais adequado e atempado das largadas do parasitoide *T. sinensis*.

A monitorização de *T. sinensis* demonstrou que estes parasitoides podem emergir antecipadamente, ligeiramente desfasado da formação inicial das galhas, sendo assim um fator relevante para a eficiência do parasitoide. Num geral, as taxas médias de parasitismo obtidas para o período de largadas de 2018 a 2022 no concelho de Bragança são muito positivas, com taxas médias entre os 2 e 61%. Neste âmbito seria interessante prosseguir com o ensaio por mais alguns anos para avaliar os efeitos da introdução de *T. sinensis* a longo prazo, assim como a realização de estudos para conhecer os fatores influenciadores da dispersão deste mesmo parasitoide.

Para terminar foi possível perceber que existe um conjunto interessante de parasitoides autóctones associados às galhas do carvalho, como já fora registado em outros países afetados pela praga. Em relação a este ponto seria importante verificar se existe alguma ligação entre a presença de carvalhos e a diversidade de espécies autóctones, assim como realizar ensaios em locais com e sem carvalhos nas bordaduras. Os parasitoides autóctones emergidos pertencem à superfamília Chalcidoidea. A diversidade de espécies e a sua abundância variaram de local para local, mas é importante referir que só se obtiveram dados relativos às galhas de inverno, que poderá alterar os resultados. Assim seria importante colher galhas verdes para verificar se existe alguma diferença na diversidade de parasitoides autóctones.

8. Anexos

Tabela 4: Avaliação do número de câmaras por Freguesia mostrada.

Nº Caixa	Local	Ano	nº <i>T. sinensis</i>	nº de câmaras/21 galhas	nº médio de câmaras em 250 galhas	nº média de câmaras porgalha	
	Oleiros	2019	289	92	1095	4,4	
207	Carragosa	2022	177	73	869	3,5	
107	Salsas	2020	102	81	964	3,9	
180	Rebordainhos	2022	112	74	881	3,5	
75	Rebordãos	2022	76	78	929	3,7	
44	Espinhosela	2021	37	85	1012	4,0	
110	Salsas	2020	20	91	1083	4,3	
	Terroso	2019	157	88	1048	4,2	
	Fontes	2018	216	75	893	3,6	
	Zeive	2018	166	89	1060	4,2	
92	Parâmio	2021	16	94	1119	4,5	
161	Calvelhe	2020	320	115	1369	5,5	
143	Sortes	2022	216	88	1048	4,2	
35	Donai	2021	295	92	1095	4,4	
5	Baçal	2021	294	75	893	3,6	
166	Meixedo	2021	361	78	929	3,7	
122	Rossas	2020	17	73	869	3,5	
114	Pinela	2021	185	86	1024	4,1	
138	Serapicos	2022	760	76	905	3,6	
101	Samil	2022	128	79	940	3,8	
						Média global de câmaras por galha	Média global de câmaras para 250 galhas
						4,0	1000

9. Referências

- Aebi, A., Schoenenberger, N., & Bigler, F. (2011). *Evaluating the use of *Torymus sinensis* against the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* in the Canton Ticino, Switzerland*.
- Aebi, A., Schönrogge, K., Melika, G., Alma, A., Bosio, G., Quacchia, A., Picciau, L., Abe, Y., Moriya, S., Yara, K., Seljak, G., & Stone, G. N. (2006). Parasitoid Recruitment to the Globally Invasive Chestnut Gall Wasp *Dryocosmus kuriphilus*. Em *Galling Arthropods and their associates: Ecology and Evolution* (pp. 103–121). Springer Japan.
- Aguiar, C. (2019). Sistemática, morfologia, fenologia e biologia da reprodução. Em A. Bento, A. Castro Ribeiro, & C. de I. de M. Instituto Politécnico (Eds.), *Manual de boas prática do Castanheiro* (1º, pp. 31–72). Comunidade Intermunicipal das Terras de Trás-os-Montes.
- Aguiar, C., & Tereso, J. (2020). Sistemática, distribuição, ecologia e história do castanheiro em Portugal. *Brigantia - Revista Cultural*, 639–649.
- Amorim A, Rodrigues R, Nunes LJR, Freitas M, Moura L. *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in Minho (Northern Portugal): Bioecology, Native Parasitoid Communities and Biological Control with *Torymus sinensis* Kamijo (Hymenoptera: Torymidae). *Agronomy*. 2022; 12(9):2184. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092184>.
- Arrobas, M., & Rodrigues, M. Â. (2019). Agroecologia do castanheiro. Em A. Bento, A. Castro Ribeiro, & C. de I. de M. Instituto Politécnico de Bragança (Eds.), *Manual das boas práticas do Castanheiro* (1º, pp. 73–84). Comunidade Intermunicipal das Terras de Trás-os-Montes.
- Askew, R.R (1961). On the biology of the inhabitants of oak galls of *Cynipidae* (Hymenoptera) in Britain. *Transactions of the Society for British Entomology*, 14, 237-268.
- Askew, R.R.; Thúroczy, C. Key to chalcidoid parasitoids in oak cynipid galls; 1998 (unpublished)
- Bernardo, U., Iodice, L., Sasso, R., Tutore, V. A., Cascone, P., & Guerrieri, E. (2013). Biology and monitoring of *Dryocosmus kuriphilus* on *Castanea sativa* in Southern Italy. *Agricultural and Forest Entomology*, 15(1), 65–76. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2012.00588.x>
- Borowiec, N., Thaon, M., Brancaccio, L., Warot, S., Vercken, E., Fauvergue, X., Ris, N., & Malausa, J.-C. (2014). Classical biological control against the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae) in France. *Planta Protection Quarterly*, 29(1), 7–10.
- Cardoso, J., Almeida, M. T., & Bento, A. (2021). Biological control of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu with the parasitoide *Torymus sinensis* Kamijo. *Millenium*, 2(14), 91–99. <https://doi.org/10.29352/mill0214.21135>

- Colombari, F., & Battisti, A. (2016). Spread of the introduced biocontrol agent *Torymus sinensis* in north-eastern Italy: dispersal through active flight or assisted by wind? *BioControl*, 61(2), 127–139. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9712-1>
- Costa, R. (2020, Novembro 4). *Castanheiro: uma cultura milenar e marcante nas regiões de montanha*. Florestal.pt. <https://florestal.pt/conhecer/castanheiro-uma-cultura-milenar-e-marcante-nas-regioes-de-montanha/>
- DGAV - Direção Geral da Agricultura e Veterinária. (2014). *Plano de Ação Nacional para Controlo do inseto Dryocosmus Kuriphilus Yasumatsu (Vespa das galhas do castanheiro)*.
- DIVAPRA. (2013). *Plano del settore castanicolo 2010/2013*.
- EPPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization. (2005). *Data sheet on quarantine pests - Dryocosmus kuriphilus*. www.eppo.org.
- FAO. (2023). <https://www.fao.org/portugal/pt/>
- Ferracini, C., Ferrari, E., Pontini, M., Nova, L. K. H., Saladini, M. A., & Alma, A. (2017). Post-release evaluation of non-target effects of *Torymus sinensis*, the biological control agent of *Dryocosmus kuriphilus* in Italy. *BioControl*, 62(4), 445–456. <https://doi.org/10.1007/s10526-017-9803-2>
- Ferracini, C., Ferrari, E., Saladini, M. A., Pontini, M., Corradetti, M., & Alma, A. (2015). Non-target host risk assessment for the parasitoid *Torymus sinensis*. *BioControl*, 60(5), 583–594. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9676-1>
- Ferracini, C., Pogolotti, C., & Alma, A. (2022). A mismatch in the emergence of *Torymus* .. *ELSEVIER*. www.elsevier.com/locate/ybcon
- Gehring, E., Bosio, G., Quacchia, A., & Conedera, M. (2018). Adapting sampling effort to assess the population establishment of *Torymus sinensis*, the biocontrol agent of the chestnut gallwasp. *International Journal of Pest Management*, 64(3), 193–203. <https://doi.org/10.1080/09670874.2017.1364448>
- Germinara, G. S., De Cristofaro, A., Papparatti, B., Speranza, S., Rotundo, G., & Stacchiotti, E. (2008). Electroantennographic Responses of *Dryocosmus kuriphilus* to *Castanea sativa* Leaf Volatiles. *IV International Chestnut Symposium 844*, 387–394.
- Gibbs, M., Schönrogge, K., Alma, A., Melika, G., Quacchia, A., & Stone, G. N. (2011). *Torymus sinensis*: a viable management option for the biological control of *Dryocosmus kuriphilus* in Europe? *BioControl*, 56(4), 527–538. <http://www.rebeca-net.de/>
- Gómez, J. F., Nieves, M. H., Torres, A. G., Askew, R. R., & Nieves-Aldrey, J. L. (2006). Los Chalcidoidea (*Hymenoptera*) asociados con agallas de cinípidos (*Hymenoptera, Cynipidae*) en la Comunidad de Madrid. *Graellsia*, 293–331.
- Gouveia, E. (2019). Doenças. Em A. Bento, A. Castro Ribeiro, & Instituto Politécnico de Bragança - Centro de Investigação de Montanha (Eds.), *Manual de bias práticas do*

- castanheiro* (1º, pp. 191–204). Comunidade Intermunicipal das Terras de Trás-os-Montes.
- Graziosi, I., & Rieske, L. K. (2013). Response of *Torymus sinensis*, a parasitoid of the gallforming *Dryocosmus kuriphilus*, to olfactory and visual cues. *Biological Control*, 67(2), 137–142. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.07.012>
- Henriques, C., & Borges, A. J. (2017). Limitações à produção provocadas por agentes bióticos. Em J. C. G. Laranjo (Ed.), *Manual Técnico Castanheiro: Estado de Produção* (pp. 91–95). CNCFS.
- Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P. (2018). *Pragas e Doenças do Castanheiro*. New Cast RootStock. <https://projects.inia.pt/NewCastRootstocks/index.php/pt/o-castanheiro/o-castanheiro-europeu>
- Junta de Andalucía. (2014). *Dryocosmus kuriphilus (Avispilla del Castaño)*.
- Maltoni, A., Mariotti, B., Jacobs, D. F., & Tani, A. (2012). Pruning methods to restore *Castanea sativa* stands attacked by *Dryocosmus kuriphilus*. *New Forests*, 43(5–6), 869–885. <https://doi.org/10.1007/s11056-012-9323-y>
- Matošević, D., Lacković, N., Melika, G., Kos, K., Franić, I., Kriston, É., Bozsó, M., Seljak, G., & Rot, M. (2016). Biological control of invasive *Dryocosmus kuriphilus* with introduced parasitoid *Torymus sinensis* in Croatia, Slovenia and Hungary. *Periodicum Biologorum*, 117(4), 471–477. <https://doi.org/10.18054/pb.2015.117.4.3445>
- Matošević, D., Quiccha, A., Kriston, É., & Melika, G. (2014). Biological control of the Invasive *Dryocosmus kuriphilus (Hymenoptera: Cynipidae)* - an Overview and the First Trials in Croatia. Em *SEEFOR* (Vol. 5, Número 1, pp. 1–79).
- Moriya, S., Shiga, M., & Adachi, I. (2003). Classical biological control of the chestnut gall wasp in Japan. Em *Proceedings of the 1st international symposium on biological control of arthropods* (pp. 407–415). USDA Forest Service.
- Panzavolta, T., Bernardo, U., Bracalini, M., Cascone, P., Croci, F., Gebiola, M., Iodice, L., Tiberi, R. & Gerrieri, E. (2013). Native parasitoids associated with *Dryocosmus kuriphilus* in Tuscany, Italy. *Bulletin of Insectology*, 66, 195–201.
- Pérez, R. T., & Fernández López, J. (2015). *MEDIDAS CONTRA A AVESPA CHINESA DO CASTIÑEIRO (Dryocosmus kuriphilus)*. Xunta de Galicia.
- Picciau, L., Ferracini, C., & Alma, A. (2017). Reproductive traits in *Torymus sinensis*, biocontrol agent of the Asian chestnut gall wasp: implications for biological control success. *Bulletin of Insectology*, 70(1), 49–55.
- Quacchia, A., Moriya, S., Askew, R., & Schönrogge Beeston, K. (2014). *Torymus sinensis*: Biology, Host Range and Hybridization. *Acta Hort.* 1043, 105–112. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1043.13>

- Quacchia, A., Moriya, S., & Bosio, G. (2014). Effectiveness of *Torymus sinensis* in the Biological Control of *Dryocosmus kuriphilus* in Italy. *Acta Hort.*, 1043. <http://www.eppo.int>.
- Ramalhosa, E., Pereira, E. L., & Lopes da Silva, M. de F. (2019). Valorização da castanha. Em A. Bento, A. Castro Ribeiro, & C. de I. de M. Instituto Politécnico de Bragança (Eds.), *Manual de boas práticas do castanheiro* (1º, pp. 237–247). Comunidade Intermunicipal das Terras de Trás-os-Montes.
- Salvadori, C., & Pedrazzoli, F. (2013). Cinipide del castagno- risultati de 3anni di lotta biológica. *Revista Tecnica, Ricerca e sperimentazione*.
- Santos, A. L., Alexandra, S., Santos, P., Almeida, J., & Bento, A. (2018). Parasitoides autóctones associados a *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu: principais espécies e taxas de parasitismo. *Revista de Ciências Agrárias*, 141–144. <https://doi.org/10.19084/RCA.17082>
- Santos, A., Marrão, R., & Bento, A. (2019). Pragas. Em A. Bento, A. Castro Ribeiro, & C. de I. de M. Instituto Politécnico de Bragança (Eds.), *Manual de boas práticas do Castanheiro* (1º, pp. 205–228). Comunidade Intermunicipal das Terras de Trás-os-Montes.
- Santos, A., Pereira, J. A., Santos, S. A. P., Quacchia, A., & Bento, A. (2017). Biological Control Based on Nativ Parasitoids Associated with *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Invaded Countries. Em S. A. P. Santos (Ed.), *Natural Enemies - Identification, Protection Strategies and Ecological Impacts* (pp. 177–204). Nova Science Publisher.
- Sartor, C., Dini, F., Torello Marinoni, D., Mellano, M. G., Beccaro, G. L., Alma, A., Quacchia, A., & Botta, R. (2015). Impact of the Asian wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Yasumatsu) on cultivated chestnut: Yield loss and cultivar susceptibility. *Scientia Horticulturae*, 197, 454–460. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.10.004>