

**COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE *Phyllocnistis*
citrella Stainton, 1856 (LEPIDOPTERA:
GRACILLARIIDAE)**

ANA LIA GOMES CARNEIRO PARRA

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. **Evaldo Ferreira Vilela**

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área de Concentração: Entomologia.

PIRACICABA

Estado de São Paulo – Brasil

Dezembro - 2001

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

Parra, Ana Lia Gomes Carneiro
Comportamento reprodutivo de *Phyllocnistis citrella* Satinton, 1856 (Lepidoptera
: Gracillariidae) / Ana Lia Gomes Carneiro Parra. - - Piracicaba, 2001.
79 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001.
Bibliografia.

1. Comportamento reprodutivo animal 2. Controle integrado 3. Feromônios I.
Título

CDD 632.781

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

A DEUS, ACIMA DE TUDO

AGRADEÇO

AOS MEUS PAIS JOSÉ ROBERTO E LÚCIA E A MINHA IRMÃ RAQUEL POR ESTAREM SEMPRE AO MEU LADO E POR ME DAREM TANTO CARINHO E INCENTIVO

DEDICO

AO MEU NAMORADO DANILO PELO AMOR, AJUDA, COMPREENSÃO E APOIO

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Evaldo Ferreira Vilela, atual Reitor da Universidade Federal de Viçosa, pela orientação, inestimável apoio e amizade;

Aos professores do curso de Pós-graduação do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP), pelos conhecimentos e experiências de vida transmitidos;

Ao Dr. José Maurício Simões Bento pelos grandes e valiosos ensinamentos, fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa, pela paciência, atenção e amizade; e à Monalisa pela amizade;

À Dra. Marinéia Lara Haddad e especialmente à Rita de Cássia Rodrigues Gervásio pela realização das análises estatísticas e pelo agradável convívio;

A todos os amigos do Laboratório de Biologia dos Insetos: Neide, Peter, Negri, Maurício, Dori, Rosa, Sílvia, Diogo, Sandra, Adriana, Odnei, Odair, Priscila, Amanda, Ademir, Isabel, Thiago, Amauri e Christina pela amizade e cooperação;

Aos colegas Alexandre e Ronaldo pelo auxílio nos assuntos de informática;

À Patrícia Milano pela confecção dos desenhos e ao Heraldo Negri pelas fotografias;

Aos funcionários de campo do setor de Entomologia, em especial ao Carlinhos, Tutu e Dino;

À D. Ilda, “seu” Oswaldo, Luciana, Élio e Leticia, pelo carinho, preocupação, apoio e especialmente pelos momentos de alegria;

À Luciana e Elisabeth pelos momentos gostosos e agradáveis e pela amizade;

Ao Maurício Poletti e José Belasque Jr. pela grande colaboração neste trabalho;

Aos funcionários do Departamento, especialmente Ana Gabriela, João e Regina;

À bibliotecária Eliana M. G. Sabino pelo apoio e correção das referências bibliográficas;

Ao FUNDECITRUS pelo suporte financeiro e apoio logístico;

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos durante a realização do Curso de Pós-Graduação;

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO.....	xiii
SUMMARY	xv
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISAO DE LITERATURA	4
2.1 Distribuição geográfica	4
2.2 Plantas hospedeiras.....	5
2.3 Aspectos biológicos de <i>P. citrella</i>	5
2.4 Sintomas de ataque e danos	7
2.5. Controle	9
2.5.1 Controle biológico	9
2.5.2 Controle químico	11
2.5.3 Controle cultural.....	12
2.5.4 Controle mediado por semioquímicos.....	13
2.5.4.1 Feromônios sexuais de lepidópteros utilizados no Brasil	17
2.5.4.2 (7Z,11E)-Hexadecadienal: Atraente sexual de <i>P. citrella</i>	18
3 MATERAL E MÉTODOS	21

3.1 Criação de manutenção dos insetos	21
3.1.1 Individualização das pupas de <i>P. citrella</i> para a obtenção de insetos virgens.....	23
3.2 Horário de acasalamento, duração e idade da primeira cópula e número de cópulas por casal.....	24
3.3 Horário de oviposição em laboratório	25
3.4 Ritmo diário de emergência dos adultos de <i>P. citrella</i>	28
3.5 Determinação de acasalamento mediado por feromônio sexual	28
3.5.1 Determinação do sexo responsável pela atração sexual	30
3.5.2 Determinação da existência de feromônio sexual	31
3.6 Comportamentos de: chamamento das fêmeas, corte dos machos e cópula	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 Individualização das pupas de <i>P. citrella</i> para a obtenção de insetos virgens.....	34
4.2 Horário de acasalamento, duração e idade da primeira cópula e número de cópulas por casal.....	34
4.3 Horário de oviposição em laboratório.	39
4.4 Ritmo diário de emergência dos adultos de <i>P. citrella</i>	42
4.5 Determinação de acasalamento mediado por feromônio sexual	44
4.5.1 Determinação do sexo responsável pela atração sexual.....	44
4.5.2 Determinação da existência de feromônio sexual.....	48
4.6 Comportamentos de: chamamento das fêmeas, corte dos machos e cópula	53
5 CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Porcentagem de acasalamentos de <i>P. citrella</i> em função da idade. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.....	35
2 Porcentagem de acasalamento de <i>P. citrella</i> em função do horário. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.....	37
3 Porcentagem de ovos de <i>P. citrella</i> colocados em 24 horas, em laboratório. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.....	41
4 Porcentagem de machos atraídos por fêmeas de <i>P. citrella</i> em olfatômetro. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.....	45
5 Porcentagem de fêmeas atraídas por machos de <i>P. citrella</i> em olfatômetro. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.....	45
6 Porcentagem de machos de <i>P. citrella</i> atraídos em olfatômetro. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.....	46
7 Porcentagem de machos atraídos pelo extrato natural do feromônio sexual produzido pelas fêmeas de <i>P. citrella</i> . Temperatura $25,0 \pm$ $2,0$ °C, UR $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.....	49

8 Porcentagem de machos de *P. citrella* atraídos pelo solvente hexano.

Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h..... 52

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Gaiolas de criação de manutenção de <i>P. citrella</i> em laboratório mantido a $25,0 \pm 2,0$ °C, UR $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.....	22
2 Sistema de obtenção de adultos virgens de <i>P. citrella</i> . (A) Folha contendo pupa de <i>P. citrella</i> e detalhe de como foi recortada; (B) tubo de vidro utilizado para a individualização das pupas; (C) grade de metal onde os tubos foram mantidos até a emergência dos adultos.....	24
3 (A) Copos plásticos vertidos sobre placa de Petri, contendo em cada um deles, um casal de <i>P. citrella</i> , (B) detalhe do casal dentro do copo.....	26
4 Gaiola de poliestireno utilizada para a obtenção de postura de <i>P. citrella</i> em plantas de citros mantidas em tubetes.....	27
5 Olfatômetro tipo "Y" utilizado na determinação do sexo responsável pela atração sexual de <i>P. citrella</i>	30
6 Porcentagem de acasalamento de <i>P. citrella</i> em função da idade. Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$	36
7 Número de cópulas por casal de <i>P. citrella</i>	36

- 8 Acasalamento de *P. citrella* em função do horário. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $\log(X+5)$ 37
- 9 Porcentagem de ovos colocados por *P. citrella* em função do horário, no ensaio preliminar. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h..... 40
- 10 Porcentagem de ovos de *P. citrella* em função do horário. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $\log(X+5)$ 42
- 11 Ritmo de emergência de machos e fêmeas de *P. citrella*..... 43
- 12 Porcentagem de machos atraídos por fêmeas *P. citrella* em olfatômetro. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade..... 46
- 13 Porcentagem de fêmeas de atraídas por machos *P. citrella* em olfatômetro. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$ 47
- 14 Porcentagem de machos *P. citrella* atraídos para o tratamento branco-branco em olfatômetro. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$ 47
- 15 Porcentagem de machos atraídos pelo extrato natural do feromônio sexual produzido pelas fêmeas de *P. citrella*. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. 49

- 16 **A** – Papel de filtro impregnado com extrato natural do feromônio sexual de *P. citrella* através de micro-seringa; **B** – Machos de *P. citrella* atraídos para a extremidade do braço do olfatômetro contendo o papel de filtro impregnado com o extrato natural; **C** – Machos de *P. citrella* em contato com papel de filtro impregnado com extrato natural do feromônio sexual de *P. citrella*. 51
- 17 Porcentagem de machos atraídos pelo solvente hexano. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si ,pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$ 52
- 18 Comportamento típico de chamamento da fêmea de *P. citrella*..... 54
- 19 Seqüência comportamental do chamamento da fêmea de *P. citrella*, corte do macho e cópula..... 55
- 20 Ilustração da seqüência comportamental do chamamento da fêmea de *P. citrella*, corte do macho e cópula. 1- A fêmea eleva as asas, expondo a glândula de feromônio (chamamento), 2- O macho se aproxima da fêmea por caminhamento em zigue-zague, 3- O macho toca com as suas antenas o abdome da fêmea, 4- O macho eleva as asas, expõe o aedeago e gira 180 ° ficando em sentido contrário ao da fêmea, 5- cópula..... 56
- 21 Cópula de *P. citrella*. I (**A**) – fêmea, I (**B**) – macho (asas sobre as da fêmea); II – Visualização das antenas da fêmea (**A**) e do macho (**B**) mantidas para trás, afastadas do corpo..... 57

**COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE *Phyllocnistis*
citrella Stainton, 1856 (LEPIDOPTERA:
GRACILLARIIDAE)**

Autora: ANA LIA GOMES CARNEIRO PARRA
Orientador: Prof. Dr. EVALDO FERREIRA VILELA

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi caracterizar o comportamento reprodutivo do minador-dos-citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae), como suporte para o isolamento, identificação e síntese do seu feromônio sexual, visando fornecer subsídios para racionalização de controle desta praga dentro de um contexto de Manejo Integrado das Pragas de citros. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba, da Universidade de São Paulo (USP). Através de uma criação de *P. citrella*, utilizando-se como planta hospedeira, mudas de limão cravo (em tubetes) foi possível a obtenção de insetos virgens, indispensáveis para o tipo de pesquisa proposta. Determinou-se que o horário de acasalamento de *P. citrella*, é logo ao amanhecer, entre adultos de um e dois dias de idade e com

uma duração de cópula de 50 min. Ficou caracterizado o seu hábito crepuscular de postura, pois a oviposição de *P. citrella* se deu nas duas primeiras horas após o início da escotofase. Machos e fêmeas de *P. citrella* apresentaram um sincronismo na emergência, com uma proporção macho:fêmea de 1:1 e portanto, uma razão sexual igual a 0,5. Concluiu-se que as fêmeas de *P. citrella* são responsáveis pela atração sexual e que existe um feromônio sexual mediando o acasalamento desta espécie.

REPRODUCTIVE BEHAVIOR OF *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE)

Author: ANA LIA GOMES CARNEIRO PARRA
Adviser: Prof. Dr. EVALDO FERREIRA VILELA

SUMMARY

The aim of this research was to characterize the reproductive behavior of the citrus leaf miner *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae), as a support to isolation, identification and synthesis of the sexual pheromone in order to provide subsidies to the rationalization in the control of this pest within a Citrus Integrated Pest Management scope. The work was developed at the Insect of Biology Laboratory, of the Department of Entomology, Plant Pathology and Agricultural Zoology of the Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba, University of Sao Paulo (USP). By rearing *P. citrella* using 'Rangpur' lime (small tubes) seedlings as a host plant, virgin insects were obtained, essential to the type of research proposed. One determined that the mating time of *P. citrella* occurs at dawn among one- and two-day old adults and with a 50min-span copulation. The crepuscular egg-laying habit was characterized since the *P. citrella* oviposition took place at the first two hours following the

beginning of the scotophase. The emergence of male and female *P. citrella* was synchronous, with a 1:1 male-female proportion and sexual rate of 0.5. One determined that *P. citrella* females are responsible for the sexual attraction and that a sexual pheromone mediates the mating of this species.

1 INTRODUÇÃO

O minador-dos-citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera, Gracilariidae), é originário da Ásia e atualmente, encontra-se distribuído nos cinco continentes (Heppner, 1993; Argov & Rössler, 1996; Prates et. al., 1996). No Brasil, ele foi registrado pela primeira vez por Feichtenberger & Raga (1996), em pomares de laranja da variedade Valência, no município de Itacemópolis, região citrícola de Limeira, a partir da qual, em dois meses, se espalhou por todo o Estado de São Paulo, constituindo-se desde então, em mais uma praga de importância econômica associada aos citros.

O adulto dessa praga é uma pequena mariposa de aproximadamente 4,0 mm de envergadura, com asas anteriores de coloração branca a prata, brilhantes, plumosas, apresentando um ponto preto na região apical, característico da espécie (Heppner, 1993; Garijo & Garcia, 1994; Smith & Hoy, 1995). A oviposição é realizada em folhas novas (brotações) de citros e as lagartas ao eclodirem penetram no mesófilo foliar, provocando minas (galerias) típicas em forma de serpentina, promovendo a atrofia do tecido foliar, o qual assume uma coloração prateada, surgindo, posteriormente, manchas necróticas, promovendo o secamento destas estruturas, prejudicando sensivelmente o desenvolvimento da planta. Além de comprometer a fotossíntese, os danos provocados pela praga, podem resultar na queda prematura das folhas e impedir o desenvolvimento das brotações, refletindo

conseqüentemente no potencial de produção do pomar (Clausen, 1931; Badawy, 1967; Heppner, 1993 e Prates et. al., 1996).

Os hábitos dessas lagartas favorecem também a entrada de microorganismos patogênicos nos tecidos vegetais, principalmente a bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, causadora do cancro-cítrico; essa doença, conhecida mundialmente como “Asiatic Citrus Canker”, apresenta um potencial devastador de algumas espécies de citros, cultivadas em áreas onde são registradas, simultaneamente, chuva em abundância e temperaturas elevadas (Pruvost et. al., 1997).

Levantamentos realizados pelo FUNDECITRUS (Fundo de Defesa da Citricultura) têm demonstrado um quadro preocupante desde o registro do minador no país, uma vez que o número de focos de cancro cítrico no Estado de São Paulo, aumentou de 45 em 1996 (constatação da praga no país) para 4.180 em 1999.

O minador-dos-citros apresenta um grande número de inimigos naturais; entretanto, para a supressão de suas populações tem predominado o controle químico, embora o parasitóide importado *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya, 1983 tenha se adaptado satisfatoriamente nas diversas regiões paulistas, três anos após sua introdução no país (Parra et. al., 2001). O uso de inseticidas não seletivos e de forma indiscriminada, além de causar desequilíbrios pela eliminação dos inimigos naturais, com freqüentes explosões populacionais da praga, pode selecionar linhagens resistentes da mesma.

Assim, apesar dos prejuízos causados por esta praga à citricultura, que é um dos principais produtos do agronegócio brasileiro, existe pouco conhecimento sobre seu comportamento sexual, o qual é relevante para o desenvolvimento de novas estratégias de controle, compatíveis com a filosofia do Manejo Integrado de Pragas.

Um sistema de detecção dos adultos por meio de armadilhas contendo feromônio sexual sintético poderá ser um importante instrumento para prever a ocorrência da praga e tornar o seu controle mais econômico e efetivo,

racionalizando as pulverizações e preservando os inimigos naturais no agroecossistema.

Do mesmo modo, técnicas de coleta massal, confundimento e atrai-mata, poderão eventualmente serem utilizados no controle desta praga, se for conhecido o comportamento reprodutivo e o seu feromônio sexual.

Assim, o objetivo desta pesquisa foi caracterizar o comportamento reprodutivo do minador-dos-citros, *P. citrella*, como suporte para o isolamento, identificação e síntese do feromônio sexual, visando fornecer subsídios para racionalização de controle desta praga dentro de um contexto de Manejo Integrado das Pragas de citros.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Distribuição geográfica

P. citrella teve sua origem detectada na Ásia, sendo coletada pela primeira vez em Calcutá (Índia). Nos últimos anos, tem se observado uma grande dispersão dessa praga para zonas produtoras de citros em todo o mundo, causada, provavelmente, pela movimentação de material vegetal de origem cítrica. A sua ocorrência era restrita ao Velho Mundo, até Heppner (1993) registrá-la pela primeira vez no continente americano, em pomares de citros do sul da Flórida, nos EUA. A partir daí, essa praga dispersou-se para várias regiões produtoras de citros dos EUA, constituindo-se em mais uma praga de importância econômica, especialmente, quando infesta plantios novos em pleno desenvolvimento vegetativo.

Atualmente, encontra-se distribuída nos 5 continentes, ocorrendo com maior frequência nos países do continente asiático. Foi constatada em 54 países, dos quais 25 asiáticos, 9 africanos, 6 da Oceania, 3 europeus e 11 americanos (Heppner, 1993; Argov & Rössler, 1996 e Prates et. al., 1996).

No Brasil, a partir da sua constatação no Estado de São Paulo, em 1996, na região de Limeira, observou-se uma rápida dispersão para outras áreas produtoras de citros de vários estados brasileiros, entre os quais, Amazonas, Roraima, Rondônia, Piauí, Bahia, Mato Grosso do Sul, Goiás, Tocantins, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Santa Catarina e Paraná (Chiaradia & Milanez, 1997; Nascimento & Vidal, 1998; Didonet et al., 1998).

Poucas pragas têm se difundido por tão grandes áreas e se multiplicado tanto em tão curto período de tempo. O minador colonizou regiões produtoras de citros e se espalhou rapidamente em poucos anos. Quarentenas e outras barreiras, aparentemente, têm tido pouco efeito na restrição da difusão desta praga. Essa rápida difusão deve-se, provavelmente, a dois fatores: alta taxa de reprodução com múltiplas gerações/ano e facilidade de dispersão, por transporte de plantas infestadas, feito pelo homem (Hoy & Nguyen, 1997).

2.2 Plantas hospedeiras

O minador-dos-citros tem como principais hospedeiros as espécies de citros e rutáceas afins (Gravena, 1996; Lorenção & Muller, 1994).

P. citrella é comumente encontrado em plantas da família Rutaceae, que representa mais de 80% das espécies hospedeiras desse inseto. Entretanto, ocorre também em hospedeiros alternativos pertencentes às famílias Oleaceae, Laranthaceae, Leguminosaceae e Lauraceae (Heppner, 1993; Prates et. al., 1996). Na Flórida e na Ásia, *P. citrella* foi encontrada em ornamentais como severins, jasmine e murraya (Knapp et. al., 1995).

Foi observada a presença de lagartas de *P. citrella* em várias espécies vegetais, embora, em muitas delas, não ocorra o desenvolvimento completo do inseto. Assim, nessas plantas, pode ocorrer o início do desenvolvimento larval ou pupal, mas não o desenvolvimento completo do inseto (Heppner, 1993).

2.3 Sintomas de ataque e danos

P. citrella oviposita em folhas novas de plantas cítricas; as lagartas ao eclodirem, penetram no mesófilo foliar e iniciam a alimentação formando

uma galeria, inicialmente paralela à nervura central e depois bastante sinuosa, em forma de serpentina sendo que a epiderme foliar atacada assume coloração prateada. Este tipo de ataque afeta a fotossíntese, através da redução da área foliar. Em altas populações (mais de 4 minas/folha), a lagarta provoca a interrupção do desenvolvimento das folhas jovens, inibindo a sua abertura e expansão, deformando-as completamente e podendo causar a sua queda (Peña & Duncan, 1993).

Há registros do ataque dessa praga em frutos (Heppner, 1995), bem como em pecíolos das brotações, especialmente em variedades que apresentam ramos mais tenros (Hutson & Pinto, 1934). Os danos causados à planta dependem do nível de infestação do minador-dos-citros; em situações de alta intensidade de ataque dessa praga, o potencial produtivo do pomar é reduzido (Huang & LI, 1989; Heppner, 1993; Prates et. al., 1996).

As minas abertas pelas lagartas de *P. citrella* favorecem não somente a entrada de microorganismos oportunistas, mas principalmente a bactéria do cancro cítrico, *X. axonopodis* pv. *citri*, a qual infecta as folhas novas de plantas cítricas, penetrando através da abertura dos estômatos, ferimentos foliares provocados pelo homem e, nos tecidos previamente danificados por esse inseto.

Chagas et. al. (2001) constataram que embora a bactéria *X. axonopodis* pv. *citri* possa penetrar através dos estômatos, a taxa de infecção em folhas lesionadas pelo minador é 11 vezes maior do que em folhas intactas (sadias); entretanto, não foi observada a disseminação desta bactéria por adultos de *P. citrella*.

Por este motivo, desde a constatação do minador-dos-citros, *P. citrella* no Brasil (Prates et al. 1996), tem havido uma grande preocupação dos citricultores, não somente com os danos diretos causados pelo inseto às plantas (Gravena, 1994; Lourenção et al., 1994), mas, principalmente, com a possibilidade da associação das lesões causadas pelas lagartas, com a

disseminação, em larga escala, da bactéria do cancro cítrico, *X. axonopodis* pv *citri*.

2.4 Aspectos biológicos de *P. citrella*

Os adultos do minador-dos-citros são microlepidópteros de 4 mm de envergadura e 2 mm de comprimento; as asas anteriores apresentam escamas de coloração branca-prateada, mescladas com pequenas manchas de coloração marrom-amarelada e preta, destacando-se uma mancha preta de tamanho maior na porção apical das asas (Chiaradia & Milanez, 1997). Estes, emergem ao amanhecer, e realizam suas atividades do crepúsculo ao amanhecer (Heppner, 1993, Garijo & Garcia, 1994; Alba, 1996; Argov & Rössler, 1996). A cópula inicia-se dentro de um período máximo de 9 a 72 h após a sua emergência, com duração variável de 30 min até 9 h (Clausen, 1931; Pandey & Pandey, 1964; Ba-Angood, 1977; Radke & Kandalkar, 1987; Batra et. al., 1988, Huang et. al., 1989a; Knapp et. al., 1994).

O dimorfismo sexual entre adultos não é evidente (Jacas & Garrido, 1996), dificultando as atividades rotineiras desenvolvidas por pesquisadores em estudos de laboratório. A separação dos sexos é normalmente feita na fase de pupa, sendo que as pupas de fêmeas apresentam o último segmento abdominal mais longo, devido à junção dos segmentos X e IX, além de apresentarem duas cerdas laterais; nas pupas que darão origem a machos, esse segmento é mais curto e desprovido de cerdas (Clausen, 1931; Jacas & Garrido, 1996). Nos adultos, a parte terminal do abdome das fêmeas apresenta duas faixas escuras de escamas que se estendem do sétimo ao nono segmento abdominal, podendo ser visualizadas lateralmente ao lóbulo do ovipositor, mediante observações em microscópio estereoscópico (Jacas & Garrido, 1996).

O minador-dos-citros prefere ovipositar na superfície abaxial e na nervura principal das folhas de citros, sendo tais ovos colocados em maior

quantidade no terço apical e porção mediana da área foliar (Chagas & Parra, 2000).

Os ovos desta praga são ligeiramente convexos, translúcidos, medindo 0,3 x 0,2 mm, sendo de difícil visualização a olho nu. Próximos à eclosão, tornam-se opacos e amarelados (Batra et. al., 1988, Garijo & Garcia, 1994; Heppner, 1995; Alba, 1996).

As lagartas ao eclodirem, penetram no mesofilo foliar, iniciando a construção de minas, e, no interior da folha, completam o desenvolvimento larval. As minas normalmente se localizam na superfície abaxial da folha, podendo em altas infestações, ocorrerem em ambas as superfícies. Normalmente, apenas uma lagarta se desenvolve por folha, embora em ataques intensos, já tenham sido verificadas de 9 a 20 minas/folha (Hutson & Pinto, 1934; Pandey & Pandey, 1964; Heppner, 1993). Ao final do período larval, as lagartas confeccionam uma câmara pupal através da secreção de fios de seda, dobrando a margem ou mesmo a parte mediana da folha, local onde se transformam em pupas. Estas são obtectas, com formato alongado, de coloração marrom clara, com um processo pontiagudo na região anterior, utilizado provavelmente, para o rompimento da câmara pupal por ocasião da emergência dos adultos (Heppner, 1993).

Em condições climáticas desfavoráveis, principalmente no inverno de clima temperado, o minador-dos-citros, pode sobreviver, através da diapausa, no estágio de pupa ou adulto (Clausen, 1931).

A duração do período ovo-adulto de *P. citrella*, varia de 32,58 a 11,53 dias nas temperaturas de 18 e 32°C, respectivamente (Chagas & Parra, 2000). Batra et al. (1988) observaram um intervalo bastante grande na duração do ciclo do minador-dos-citros, entre 54,5 e 14,4 dias, quando esse foi criado sob as condições médias de temperatura de 13,7 e 31,5°C, respectivamente.

Ba-Angood (1978) observou, sob condições controladas de temperatura ($20 \pm 1,5$; $25 \pm 1,0$; $30 \pm 1,0$ e $35 \pm 1,0^\circ\text{C}$), valores médios de 18,5; 15,6; 12,5; 10,4 e de 19,5; 16,6; 10,3 e 9,2 dias, para os respectivos períodos

larval e pupal do minador. A relação inversa entre o aumento de temperatura na qual o inseto foi criado, e a duração dessas fases de desenvolvimento, foi ratificada por Batra et. al. (1988), que constatou valores médios de 22,08 e 5,35; 22,95 e 5,94 dias para os períodos larval e pupal de *P. citrella*, quando este foi criado nas temperaturas médias de 10,1 e 31,5 °C, respectivamente.

Além dos fatores abióticos, a fisiologia e/ou caracteres morfológicos das plantas e da espécie de citros na qual o inseto se desenvolve podem afetar a duração do ciclo (ovo-adulto) (Badawy, 1967; Ba-Angood, 1977; Singh, 1984; Radke & Kandalkar, 1987; Batra et al., 1988 e Huang et al., 1989b; Wilson, 1991; Garijo & Garcia, 1994).

Ba-Angood (1977) obteve, em laboratório, sob condições de temperatura não controlada, valores de longevidade para machos e fêmeas bastante discrepantes, em função da ocorrência ou não de acasalamento. Sem cópula, a longevidade média para ambos os sexos foi de aproximadamente 6 dias, ao passo que aqueles acasalados, apresentaram longevidades menores, variando de 24 a 36 horas. Radke & Kandalkar (1987) e Huang et. al. (1989b), relataram valores de longevidade variáveis de 1 a 7,5 e 1 a 22,5 dias, para machos e fêmeas desse inseto, respectivamente.

O número de gerações de *P. citrella* por ano, pode variar de 5 a 14, dependendo das condições climáticas (Clausen, 1931; Pandey & pandey, 1964; Huang et. al. 1989a, Chagas & Parra, 2000).

2.5 Controle

2.5.1 Controle biológico

Um número significativo de inimigos naturais é relatado na literatura, associado ao controle natural do minador-dos-citros, especialmente parasitóides da ordem Hymenoptera (Heppner, 1993). Existem evidências, em

nível mundial, de que os surtos de *P. citrella* podem ser reduzidos através da utilização de parasitóides como agentes de controle biológico. O Brasil, possui uma fauna rica de parasitóides de insetos minadores; muitas espécies nativas têm sido encontradas parasitando o minador-dos-citros em altos níveis populacionais, mas sem serem suficientes para controlá-lo (Penteado-Dias et. al., 1997; Sá & Costa, 1998).

O parasitismo natural é responsável por taxas significativas de mortalidade durante os estágios imaturos do minador, variando de 17 a 54,4% (Chen & Le, 1986; Ujiye, 1988).

Os principais parasitóides com potencial de controle do minador-dos-citros são: *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya; *Galeopsomyia fausta* Lasalle; *Cirrospilus ingennus* Gahan; *Elasmus* sp. e *Pnigalio* sp. (Subba Rao & Ramamani, 1965; Heppner, 1993; Browning & Peña, 1995; Smith & Hoy, 1995; Argov & Rössler, 1996, 1998 e Peña et. al., 1996).

No Brasil, o parasitóide nativo mais abundante é o microimenóptero *G. fausta* (Penteado-Dias et. al., 1997; Nascimento & Vidal, 1998; Sá et. al., 1998; Sá et. al., 1999).

Dentre essas espécies, *A. citricola* tem sido indicado como o agente de controle biológico mais eficiente na implementação de programas de controle biológico clássico desde a sua introdução na Austrália (Neale et. al., 1995), seguindo-se Israel (Argov & Rössler, 1996), EUA (Hoy et. al., 1997) e Peru (Sacarias & Canales, 1999). No Brasil, *A. citricola* foi introduzido em 1998, com a primeira liberação no dia 28 de outubro deste mesmo ano. Três anos após a sua introdução, se adaptou totalmente às diversas regiões citrícolas do Estado de São Paulo (Parra et. al., 2001). Em algumas regiões, por problemas climáticos, o parasitóide não se adaptou, como a região do Mediterrâneo (Parra, J.R.P., informação pessoal)

Além dos parasitóides, ainda existem vários predadores contribuindo para a redução das populações do minador-dos-citros, entre eles, formigas

lava-pé, aranhas, larvas de crisopídeos, tripes, percevejos e vespas (Browning & Peña, 1995, Gravena, 1996).

Apesar do controle natural de *P. citrella*, por algumas espécies nativas, ser alto, o controle biológico, isoladamente, não é suficiente para manter a praga em equilíbrio, havendo necessidade de serem utilizados outros métodos de controle (Chen & Le, 1986).

2.5.2 Controle químico

Devido à grande importância dessa praga para a cultura dos citros, o controle químico tem predominado como medida de supressão da sua população (Knapp et. al., 1994). Com base em estudos realizados na Austrália, há recomendações de uso de dimetoato, diazinon e permetrina, entre outros, adicionados a óleo mineral.

Prates et. al. (1996) recomendaram a utilização de imidacloprid, abamectin e diflubenzuron aliados ao manejo da fertirrigação, a fim de controlar o período de brotação das plantas.

Raga et. al. (1998) avaliando a ação de diversos ingredientes ativos em várias concentrações, determinaram que os produtos tebufenozide, cartap, fipronil, carbaril e hexyiazox apresentam efeito de choque sobre *P. citrella*, reduzindo em mais de 80% o número de larvas, aos 6 dias após a aplicação. Imidacloprid, apresentou uma ação inicial mais lenta e alcançou níveis de redução de larvas de até 97,9% aos 14 e 28 dias após a aplicação.

Rodrigues et. al. (1997) testaram nove inseticidas para o controle do minador-dos-citros em borbulheiras de laranja. Os tratamentos foram: água (testemunha), óleo mineral, ciflutrina, dimetoato, abamectin mais óleo mineral, diflubenzuron, imidacloprid mais óleo mineral, deltametrina e *Bacillus thuringiensis*. Todos os produtos e doses avaliadas proporcionaram redução na porcentagem de ramos atacados e no número de minas observado, sendo

abamectin mais óleo mineral o mais efetivo na redução da praga, seguido de imidacloprid mais óleo mineral e diflubenzuron.

Macedo et.al. (1996) observaram uma maior eficiência do inseticida Vertimec 18 CE no controle do minador (95,57% de controle), seguido por Confidor 700 GrDA (90,46%) e Match 50 CE (90,45%).

Yamamoto et. al. (2000) confirmaram a eficiência de acetamiprid SL e Imidacloprid no controle de *P. citrella*.

Gravena et. al. (2000) obtiveram média de infestação de 12,9% com o uso de imidacloprid, em aplicação sistêmica no tronco, e 29,2% para pulverização foliar convencional.

A adoção do controle químico deve ser precedida do levantamento do nível de infestação da praga no pomar, sendo recomendada a pulverização quando o nível de controle for atingido. Para *P. citrella*, o nível de controle em pomares novos, é de 10% dos ramos com lagartas vivas de primeiro ou segundo ínstaes e em pomares adultos, é de 30% dos ramos com lagartas vivas de primeiro ou segundo ínstaes e quando o talhão apresentar 50% de plantas com brotações novas (Gravena, 1998). Entretanto, devido à dificuldade de serem realizadas as amostragens e devido à falta de conscientização dos produtores, o controle químico muitas vezes é realizado de forma preventiva.

Atualmente, os pomares de citros do Estado de São Paulo, têm recebido pulverizações intensas de abamectin (principalmente), lufenuron e imidacloprid.

2.5.3 Controle cultural

Knapp et. al. (1995) sugerem como medida de controle cultural a poda de brotações, visando uniformizar os fluxos de crescimento, além da redução da fertirrigação e níveis de irrigação no verão e outono, quando ocorrem altas populações da praga. Entretanto, têm-se encontrado dificuldades

em implantar essas medidas nas condições da Florida, onde ocorrem grandes tempestades.

Batra et. al. (1992) constataram em estudos de campo na Índia, a resistência das variedades Carrizo, Sacaton, Savage, Troyer, Yama, Citrange, Citrumelo, Cambell Valência, Pomary, Rubidox e Murraya Koenigui ao minador. O porta enxerto Cleópatra apresentou-se como pouco suscetível.

O uso de variedades de citros resistentes ao ataque do minador por antibiose ou não preferência para oviposição tem sido preconizado por Wilson (1991).

2.5.4 Controle mediado por semioquímicos

Dentre os vários grupos de animais, os insetos provavelmente são os que mais dependem do olfato para desempenhar suas atividades comportamentais (Birch & Haynes, 1982). A comunicação é parte integrante do comportamento, e diferentemente dos outros animais que utilizam amplamente a visão e audição, para os insetos, o sistema olfativo, por meio de sinais químicos, é a fonte primária de informação. Os odores são muito importantes na localização das presas, na defesa e na agressividade, na seleção de plantas, na escolha do local de oviposição, na corte e no acasalamento, na organização das atividades sociais e em diversos outros tipos de comportamento.

As substâncias químicas usadas na comunicação, em geral, são denominadas semioquímicos, o que significa "sinais químicos", podendo ser estes aleloquímicos ou feromônios, dependendo da ação que provoquem. Os aleloquímicos são substâncias de ação interespecíficas e os feromônios são substâncias químicas de ação intraespecífica.

O termo feromônio pode ser definido como "substância secretada por um indivíduo para o exterior e recebida por um segundo indivíduo da mesma

espécie provocando uma reação específica (comportamento definido) ou um processo de desenvolvimento fisiológico definido” (Karlson & Lüscher, 1959).

Feromônios sexuais são mensageiros químicos produzidos por um sexo do inseto para atração do sexo oposto com propósito de reprodução. Estes compostos estão entre as substâncias fisiologicamente mais ativas hoje conhecidas, por causarem respostas quando usadas em concentrações extremamente baixas.

Nos diferentes sistemas de acasalamento mediados por feromônios, o sexo emissor é mais sedentário do que o outro que responde. Evolutivamente, as fêmeas, na maioria dos insetos, são as responsáveis pela produção e emissão de feromônio sexual, devido à necessidade de economizarem tempo e energia para assegurarem a obtenção da prole (Thornhill & Alcock, 1993). Em algumas espécies, um sistema duplo é utilizado, no qual ambos os sexos emitem substâncias químicas causadoras de agregação, possibilitando a cópula, como em *Grapholita molesta*, a mariposa-oriental (Baker & Cardé, 1979). Em algumas poucas espécies, os machos produzem e emitem feromônios sexuais (Willis & Birch, 1982; Landolt & Heath, 1990; Phelan, 1992) ou mesmo a fêmea emite e atrai outras fêmeas e machos (Hallet et. al., 1994, Leal et. al., 1996).

Os insetos restringem suas atividades a certos períodos do dia, respondendo a um ritmo circadiano que determina os momentos em que estas atividades ocorrerão (Saunders, 1982). Essas atividades rítmicas estão sob o controle de vários componentes endógenos, porém são continuamente afetadas pelos efeitos diretos de fatores abióticos, como a temperatura e o fotoperíodo (Saunders, 1982; Hickel & Vilela, 1991). De acordo com Shorey (1974), na ordem Lepidoptera existem numerosos exemplos em que a liberação e resposta aos feromônios sexuais são mais evidentes em determinada hora do dia ou da noite, retratando a periodicidade de acasalamento da espécie. Entretanto, há indicações de que algumas espécies não seguem um ritmo estabelecido para a liberação e resposta aos feromônios sexuais, como acontece com as fêmeas de

Bombyx mori, que expõem as glândulas de feromônios imediatamente após a emergência até a cópula ou até a postura, de ovos não fertilizados (Steinbrecht, 1964 citado por Vilela & Della Lucia, 1987).

Quanto aos fatores do ambiente, a intensidade de luz, a temperatura e a velocidade do vento, afetam direta ou indiretamente a resposta dos insetos aos feromônios. Segundo Birch (1974), a intensidade de luz é o principal fator do ambiente que governa a resposta dos insetos aos feromônios sexuais.

A comunicação de insetos por feromônios depende da velocidade do vento, sendo a ocorrência de turbulência no ar um fator desvantajoso na dissipação e conseqüente detecção do odor. Altas velocidades do vento podem danificar a formação da pluma, tornando-a inadequada à orientação normal.

É necessário, portanto, conhecer cada situação em detalhe, para que se possa obter resposta máxima, em termos de comportamento, em relação ao feromônio estudado.

A síntese dos feromônios sexuais tem sido responsável pela utilização crescente destes compostos, no manejo e regulação de populações de inseto, seja através do monitoramento, coleta massal ou confundimento de pragas (Bento, 2001). No monitoramento, as armadilhas contendo o feromônio sexual sintético podem ser utilizadas na detecção ou determinação da incidência prematura de pragas; na determinação da distribuição de um inseto em uma dada área geográfica (Elkinton & Cardé, 1981); na inspeção e prevenção quarentenária; na obtenção de estimativas populacionais (Daterman, 1982). Essas armadilhas, geralmente capturam indivíduos mesmo em baixa densidade populacional; sendo assim, elas são empregadas para fornecer previsão da incidência de uma dada praga, contribuindo para a determinação da época de aplicação de medidas de controle na cultura (Vilela & Della Lucia, 1987).

A coleta massal consiste na captura de insetos por meio de um sistema de armadilhas, contendo feromônio sintético, capaz de remover um

número significativo de indivíduos, reduzindo a população da praga a um nível aquém do de dano econômico (Vilela & Della Lucia, 1987).

O confundimento de insetos pragas por meio de feromônios, consiste na impregnação da área com feromônios sintéticos, visando ao rompimento do sistema normal de comunicação entre os indivíduos, reduzindo a probabilidade de encontros e agregação dos sexos e, conseqüentemente de acasalamentos. Segundo Champion (1984), a exposição constante do inseto a um alto nível de feromônio conduz à adaptação dos receptores sensoriais olfativos da antena e à habituação do sistema nervoso central, fazendo com que o inseto não responda mais ao estímulo. Assim, a aplicação de grande quantidade de feromônio sintético numa área, impossibilita que o inseto siga a pluma de feromônio natural, provocando o confundimento (Vilela & Della Lucia, 1987).

Variáveis como tamanho, cor, forma das armadilhas, altura de colocação em relação ao solo e local de instalação, formulação, proporção dos componentes e dosagem do feromônio podem ser determinadas ou corrigidas através do conhecimento do comportamento dos insetos.

Para o desenvolvimento destas armadilhas são necessárias várias etapas desde a verificação da existência de um feromônio, até sua identificação, síntese e testes de eficiência no campo (Lingren et. al., 1980).

Etapas intermediárias, envolvendo estudos comportamentais, permitem caracterizar o sistema de comunicação da espécie-praga, e assim, otimizar o desempenho das armadilhas quando instaladas no campo (Vilela & Della Lucia, 1987).

Os estudos de comportamento de insetos visando à obtenção e síntese de feromônios sexuais, vêm aumentando muito nos últimos anos, principalmente entre os insetos da ordem Lepidoptera e mais freqüentemente entre os microlepidópteros. O número de feromônios sintéticos, incluindo os de insetos de outras ordens como Coleoptera, passaram de 100 em 1987 para mais de 1.500 no final do século 20 (Tillman et. al., 1999).

O uso de feromônio sexual tem se mostrado eficiente e promissor, para o manejo de insetos-praga em um grande número de culturas. A procura pelos consumidores em todo o mundo por produtos cada vez mais livres de agrotóxicos, deve favorecer o emprego mais intensivo dos feromônios como estratégia de controle entre os produtores nos próximos anos (Bento et. al., 2001a).

2.5.4.1 Feromônios sexuais de lepidópteros estudados no Brasil

O maior número de espécies de insetos, cujos feromônios têm sido estudados no Brasil, pertencem à Ordem Lepidoptera.

A utilização de feromônio sexual em armadilhas adesivas tem sido eficiente no monitoramento de duas importantes pragas pertencentes à família Gelechiidae: *Pectinophora gossypiella* (Saund.) (lagarta-rosada-do-algodoeiro) e *Phthorimaea operculella* (Zeller) (traça-da-batatinha) (Vilela, 1988).

O feromônio da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) tem sido utilizado na determinação da sua flutuação populacional (Almeida & Arrigoni, 1989; Botelho et. al, 1993), na determinação da sua dispersão (Botelho et. al., 1978) e na tentativa de controle por meio de coleta massal (Teran et. al., 1985; Teran & Rezende, 1987; Lima Filho & Riscado, 1988).

Na família Tortricidae, foram descobertos os feromônios sexuais de três importantes pragas no Brasil, hoje sintetizados, e vendidos comercialmente. No primeiro caso, o feromônio sexual da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick), identificado como sendo (3E,8Z,11Z)-3,8,11-tetradecatrien-1-yl acetato por Attygalle et. al. (1995) e Svatos et. al. (1996). Esta descoberta foi possível devido aos estudos precedentes de comportamento, desenvolvidos por Uchoa-Fernandes & Vilela (1994); Uchoa-Fernandes et. al. (1995 a, b); Hickel et. al. (1991). O segundo caso, foi a

identificação de 3E,5Z-acetato de dodecadienila, feromônio sexual da lagarta enroladeira da macieira *Bonagota cranaodes* (Meyrick), por Unelius et. al. (1996). O terceiro caso, foi a descoberta, identificação e síntese do feromônio sexual do bicho-furão dos citros, *Ecdytoplopha aurantiana* (Lima) por Leal et. al. (2001), que é utilizado para o monitoramento desta importante praga dos citros (Bento et. al. 2001b). Outra espécie de importância na área agrícola, pertencente a esta mesma família, *Grapholita molesta* (Busck), inseto praga de frutíferas temperadas, especialmente de pessegueiro e nectarina, teve o feromônio sexual sintético utilizado no Brasil para estudo de sua dinâmica populacional (Silveira Neto et. al., 1981; Loeck et. al., 1991) e para o seu controle (Salles & Marini, 1989).

Vários outros estudos têm sido realizados no Brasil, com várias espécies de lepidópteros, para avaliar a presença ou a ação de feromônios, bem como verificar a possibilidade de aplicações práticas dos mesmos (Bento et.al., 2001b; Vilela & Reis Jr., 2001).

2.5.4.2 Atraente sexual de *P. citrella*

Os feromônios podem ser definidos, de forma mais abrangente, como infoquímicos mediadores de uma interação de organismos da mesma espécie (ação intraespecífica), produzindo uma resposta comportamental ou fisiológica adaptativamente favorável ao receptor, ao emissor ou a ambos os organismos na interação (Vilela & Della Lucia, 2001).

Embora os feromônios sejam, geralmente substâncias químicas simples, a grande maioria dos feromônios sexuais de Lepidoptera é constituída de mais de um componente. Num só reservatório de uma glândula, podem existir, às vezes, mais de 30 componentes.

Na década de 70, foi identificado por Jacobson et. al.(1970), o primeiro exemplo de um feromônio multicomponente em Lepidoptera [mistura

de (Z,E)-9,12-acetato de tetradecadienila-(Z,E)-9,12-TDA- e (Z)-9-acetato de tetradecenila –(Z)-9-TDA-], ambos componentes do feromônio sexual de *Spodoptera eridania* (Cramer).

Pelo fato de ser multicomponente, o feromônio sexual produzido por um dos sexos de uma determinada espécie de inseto, pode eventualmente atrair insetos do sexo oposto de uma espécie diferente que possua como constituinte do seu feromônio, um ou mais compostos em comum (semelhantes).

O feromônio sexual da lagarta rosada é uma mistura de [(7Z,11Z)-7,11-acetato de hexadecadienila e (7Z,11E)-isômero] (Hummel et. al., 1973; Bierl et. al., 1974), sendo este último composto também identificado em fêmeas de *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Vick et. al., 1974). Essas duas espécies pertencem à família Gelechiidae. Experimentos de campo realizados na Austrália, utilizando-se os componentes do feromônio da lagarta rosada mostraram a atração de duas outras espécies de Gelechiidae (Rothschild, 1974).

Esses resultados levaram Ando et. al. (1985) a testarem os compostos 7,11-hexadecadienic para os machos pertencentes à família Gelechiidae, em condições de campo no Japão. Estes autores observaram que além de algumas espécies de gelequiídeos terem sido atraídas por estes compostos, especificamente (7Z,11E)-7,11-hexadecadienal atraiu os machos do minador-dos-citros, *P. citrella*, na concentração de 1 mg do produto por septo/armadilha. A partir deste trabalho, este composto tem sido sugerido por diversos autores como um atraente sexual de *P. citrella* (Ujiye 1990; Yen & Chang, 1991). Entretanto, Du et al. (1989) verificaram que esse composto trata-se na verdade de um forte atraente sexual para *Phyllocnistis wampella* Liu et Zeng, mostrando-se pouco atrativo para *P. citrella*. Do mesmo modo, estudos preliminares realizados no Brasil, indicaram que *P. citrella* não foi atraído pelo composto (7Z,11E)-7,11-hexadecadienal (Sant'Ana 2000, dados não publicados). Portanto, ainda pouco se conhece sobre o feromônio sexual de *P.*

citrella, e para isto são primordiais estudos básicos do seu comportamento reprodutivo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba, da Universidade de São Paulo (USP), com a espécie *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae).

3.1 Criação de manutenção dos insetos

Os adultos de *P. citrella*, utilizados nos experimentos foram criados em laboratório mantido a $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h, baseando-se na metodologia de Chagas & Parra (2000).

Para esta criação, foram utilizadas como hospedeiro de *P. citrella*, plantas de limão cravo (*Citrus limonia* L. Obseck) com 25 a 30 cm de altura, cultivadas em tubetes plásticos pretos de 20 cm de altura por 1,5 cm de diâmetro, contendo substrato de vermiculita e composto vegetal (1:1).

Cerca de 400 plantas foram podadas a cada dois dias, a aproximadamente 1/3 do ápice, adubadas com Pikapau Foliar ® e mantidas em bandejas plásticas de 42x38x8 cm por cinco dias. Após este período, foram transferidas para as bancadas de metal em casa-de-vegetação, até a emissão das brotações, quando foram então transferidas para gaiola de postura com capacidade para 200 plantas também mantidas em tubetes, confeccionada em madeira e com 60x60x60 cm, sendo a parte superior, de tela de náilon e a parte

frontal, de vidro, com uma abertura de 25 cm de diâmetro, à qual se prendeu uma manga de tecido fino do tipo "voil" possibilitando o manuseio das plantas no seu interior (Figura 1). As plantas foram expostas à postura por dois dias, obedecendo à proporção de um adulto para duas plantas (1:2) no interior das gaiolas. Após este período, as plantas com postura, foram colocadas em bandejas plásticas de 35x40x8 cm mantidas em prateleiras de metal na sala de criação, por um período de 15 dias, até próximo à emergência dos adultos.



Figura 1 – Gaiolas de criação de manutenção de *P. citrella* em laboratório mantido a $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

As folhas contendo as pupas de *P. citrella* foram cortadas com tesoura, e em seguida, colocadas em câmaras de emergência, constituídas de recipientes plásticos de 18x30x6 cm, com tampa, providas de seis aberturas circulares de 2,5 cm de diâmetro, com tela de náilon e/ou "voil", para permitir a troca de ar, evitar a condensação e impedir a fuga dos adultos, sendo a base das mesmas forrada com papel de filtro umedecido. Os adultos foram coletados das referidas câmaras com auxílio de tubos de vidro de 8,0 x 1,0 cm de diâmetro. Parte dos insetos emergidos foi utilizada para a continuidade da criação, 20%, e o restante, 80%, para a realização dos experimentos.

3.1.1 Individualização das pupas de *P. citrella* para a obtenção de insetos virgens

Para a realização da grande maioria dos experimentos, houve a necessidade de insetos virgens; assim, as folhas contendo as pupas de *P. citrella* foram recortadas com tesoura, e em seguida, cada pupa foi individualizada sem retirá-la da folha, para evitar a dessecação (Figura 2A); cada uma delas foi mantida em tubo de vidro de 8,0 x 1,0 cm de diâmetro, contendo um pequeno pedaço de papel de filtro umedecido para manter a folha túrgida e tampado com filme plástico de PVC (Magipack ®) (Figura 2B). Estes tubos foram mantidos na vertical, em grades de metal (Figura 2 C), no interior de câmara climatizada regulada a $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h. Os adultos emergidos permaneceram isolados dentro do tubo de vidro, até a instalação do bioensaio. Logo após a emergência, os adultos foram alimentados com uma gotícula de mel puro.

3.2 Horário de acasalamento, duração e idade da primeira cópula e número de cópulas por casal

Os adultos emergidos em laboratório foram separados por sexo, baseando-se em Jacas & Garrido (1996). Dez casais de *P. citrella* foram selecionados, individualizados em copos plásticos transparentes de 4,5 x 2,5 cm de diâmetro, invertidos sobre placas de Petri de 15 cm de diâmetro e alimentados com mel puro.

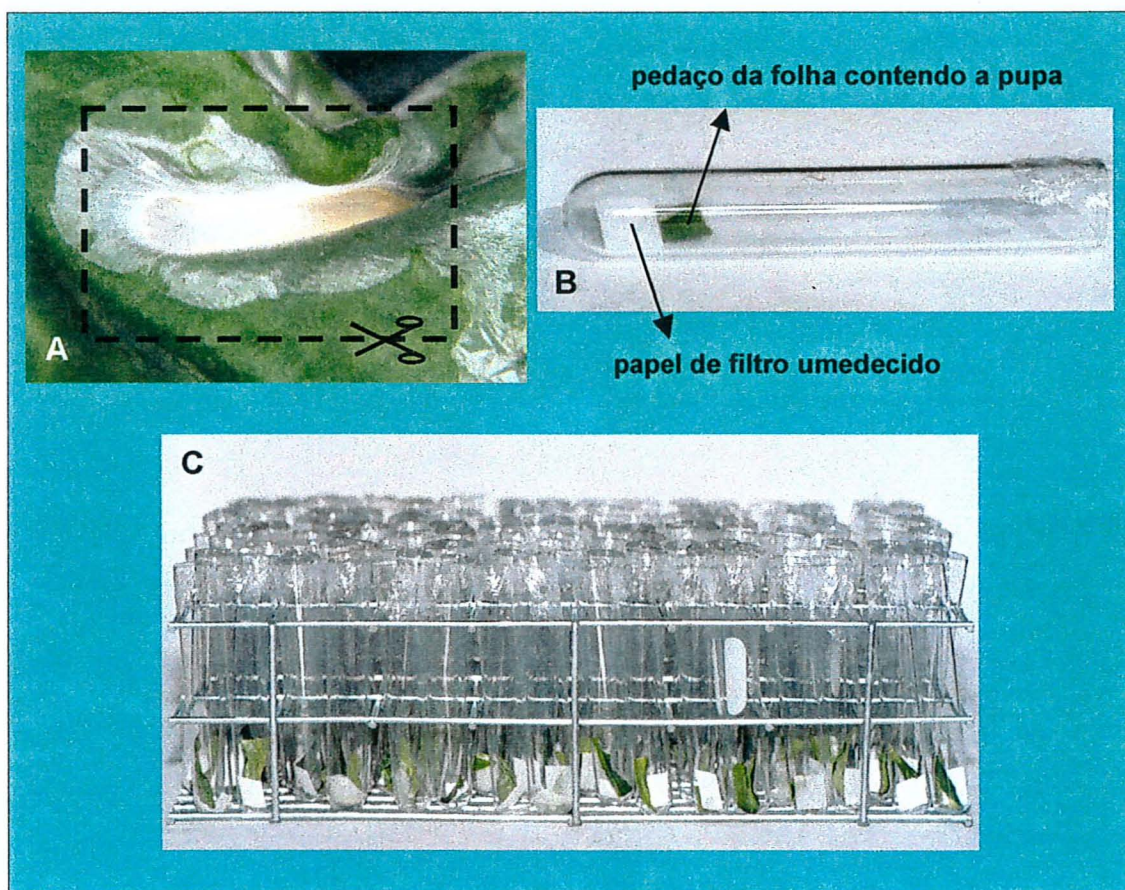


Figura 2 - Sistema de obtenção de adultos virgens de *P. citrella*. (A) Folha contendo pupa de *P. citrella* e detalhe de como foi recortada; (B) tubo de vidro utilizado para a individualização das pupas; (C) grade de metal onde os tubos foram mantidos até a emergência dos adultos.

Em cada placa, foram colocados cinco copos plásticos (cinco casais) e mantidos em sala a $25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$; UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 horas, com iluminação das 6 às 20 horas. No fundo das placas, foi colocado um papel de filtro que foi umedecido diariamente com água destilada para manutenção de umidade próxima a 70% dentro dos copos (Figura 3).

Foram realizados dois ensaios:

Ensaio preliminar: Foram observados 10 casais, durante 24 horas, a intervalos de 20 minutos para a determinação do horário de maior atividade sexual dos insetos.

Ensaio definitivo: Foram observados 10 casais, diariamente, durante oito dias, no horário pré-estabelecido no ensaio preliminar, realizando-se anotações para cada casal. Foram observados: idade, horário e duração da primeira cópula e número de cópulas por casal. Para as observações realizadas durante a escotofase, foi utilizada uma lanterna de mão (Maglite®) com filtro vermelho, mantida a cerca de 60,0 cm de distância dos casais para não interferir no seu comportamento.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com seis repetições. Os resultados relativos à idade da primeira cópula e horário de acasalamento foram submetidos à análise de variância, e, as médias, comparadas pelo teste Tukey, ao nível de 5.0% de probabilidade. As médias de idade e horário de acasalamento foram transformadas em $\sqrt{(X+5)}$ e $\log(X+5)$, respectivamente.

3.3 Horário de oviposição em laboratório

Este experimento foi realizado para se determinar o horário de postura de *P. citrella*, em laboratório mantido a $25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h, com iluminação das 6 às 20 horas.

Foram instalados dois ensaios:

Ensaio preliminar – Contagem dos ovos a cada quatro horas durante dois dias consecutivos. Foram utilizadas as mesmas plantas em tubetes da criação dos insetos (item 3.1) e gaiola de poliestireno de 60x48x40 cm para a obtenção das posturas (Figura 4). Vinte plantas, com brotações, foram colocadas dentro das gaiolas, sendo liberados 30 casais de *P. citrella* com 48 h de idade, já acasalados. Foram realizadas contagens do número de ovos a cada quatro horas, retirando-se as plantas da gaiola e observando-se as posturas em microscópio estereoscópico provido de iluminador de fibra ótica. Tais plantas foram substituídas, a cada contagem, por outras 20 plantas, repetindo-se o procedimento até terem sido completadas 48 horas de avaliação.

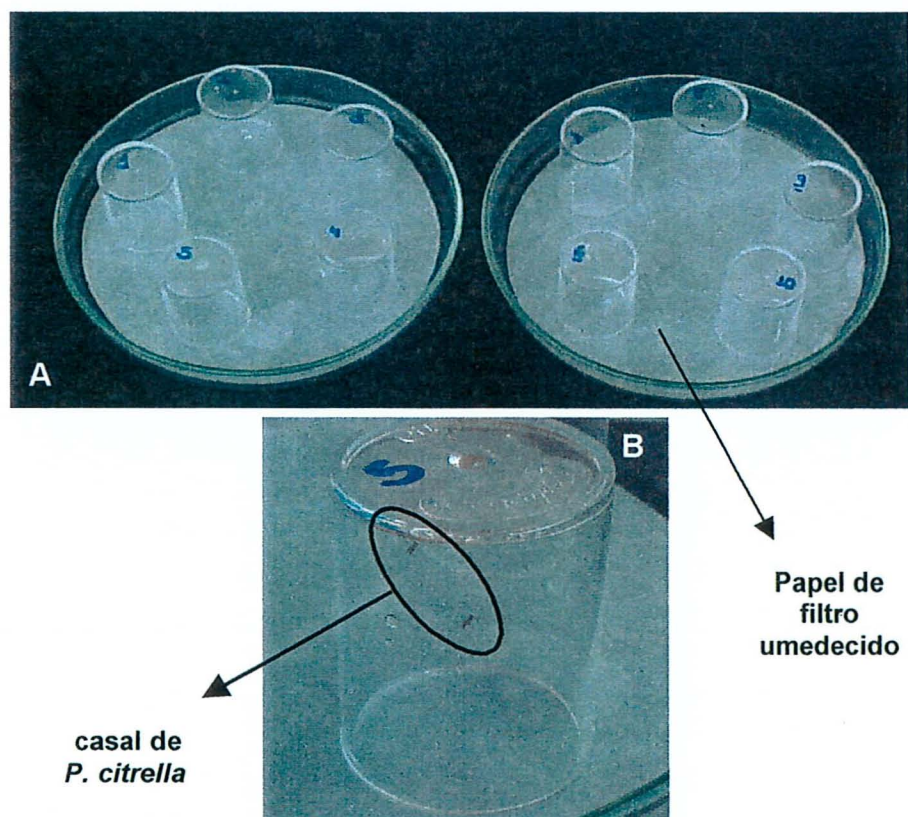


Figura 3 – (A) Copos plásticos vertidos sobre placa de Petri, contendo em cada um deles, um casal de *P. citrella*, (B) detalhe do casal dentro do copo.

Ensaio definitivo – Uma vez definida a faixa de horário de maior concentração de ovos, no ensaio preliminar, utilizando-se a mesma metodologia, foram realizadas contagens do número de ovos nas folhas das plantas a cada duas horas, do início ao término desta faixa de horário, por dois dias consecutivos.

O delineamento estatístico utilizado foi em blocos ao acaso com quatro repetições, e os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, sendo os valores em porcentagem transformados em $\log(X+5)$.



Figura 4 – Gaiola de poliestireno utilizada para a obtenção de postura de *P. citrella* em plantas de citros mantidas em tubetes.

3.4 Ritmo diário de emergência dos adultos de *P. citrella*

Este experimento foi realizado para se verificar se ambos os sexos emergiam simultaneamente ou se havia assincronia nesta emergência.

Foram utilizadas 280 plantas de limão cravo em tubetes (item 3.1), as quais foram colocadas dentro de gaiolas de madeira, descritas anteriormente (Figura 1). Foram liberados no seu interior, 140 adultos de *P. citrella*, sendo as plantas expostas à postura por 24 horas. Após este período, as plantas contendo ovos (todos do mesmo dia), foram retiradas da gaiola e mantidas em câmaras climatizadas reguladas a $28,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h. Doze dias após a oviposição, quando as folhas já apresentavam pupas próximas à emergência, foram recortadas com tesoura, e em seguida, cada pupa foi individualizada sem retirá-la da folha para evitar a dessecação; cada uma delas foi mantida em tubo de vidro de $8,0 \times 1,0$ cm de diâmetro, conforme descrito anteriormente (item 3.1.1, Figura 2). Estes tubos foram mantidos na vertical, em grades de metal, no interior de câmaras climatizadas reguladas à temperatura de $28,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$, UR $70,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h. Diariamente, foi observada a emergência dos adultos, e em seguida, feita a separação por sexo. Os resultados de emergência foram submetidos ao teste de Qui-quadrado, para verificar se havia sincronismo na emergência de machos e fêmeas.

3.5 Determinação de acasalamento mediado por feromônio sexual

Para se avaliar uma possível existência de feromônio sexual mediando o acasalamento de *P. citrella*, foi utilizado um olfatômetro do tipo "Y", em dois bioensaios realizados em laboratório mantido a $25,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h. O olfatômetro era constituído de um tubo de vidro bifurcado, de 3 cm de diâmetro, sendo o braço principal, onde os insetos que

foram submetidos ao estímulo (insetos teste) foram liberados, de 20 cm de comprimento e os outros dois braços, também de 20 cm de comprimento, onde foram colocados os diferentes tratamentos. Nas três extremidades do olfatômetro, foram acopladas gaiolas de vidro de mesmo diâmetro do tubo e de 6 cm de comprimento, onde os insetos, tanto teste, como tratamento, foram acondicionados 12 horas antes da instalação do experimento para se adaptarem ao ambiente. No momento da instalação do bioensaio esses compartimentos foram acopladas ao olfatômetro, e presos com uma tira de filme plástico de PVC Magipack® (Figura 5). Este procedimento facilitou o manuseio dos insetos, reduzindo o "stress", que poderia comprometer os resultados.

O olfatômetro foi operado horizontalmente, sendo a corrente de ar produzida por sucção a vácuo, por meio de uma trompa d'água acoplada a uma mangueira conectada a uma torneira. Este sistema foi colocado na extremidade do braço principal do olfatômetro, de tal forma que a entrada de ar se deu pelos braços opostos.

A distribuição da pluma de odor dentro do olfatômetro, bem como seu formato foram observados por meio de um teste de simulação de propagação de odores, onde a pluma foi visualizada artificialmente por meio de uma fumaça branca produzida pela mistura de ácido clorídrico e hidróxido de amônia (Baker & Linn, 1984). A velocidade do ar no sistema foi medida através de um medidor de fluxo de ar e ajustada a 1 l/min por uma válvula de ar. A duração dos bioensaios foi de 3 min, contados a partir do momento em que o sistema era ligado, sendo este período estabelecido em ensaios preliminares.

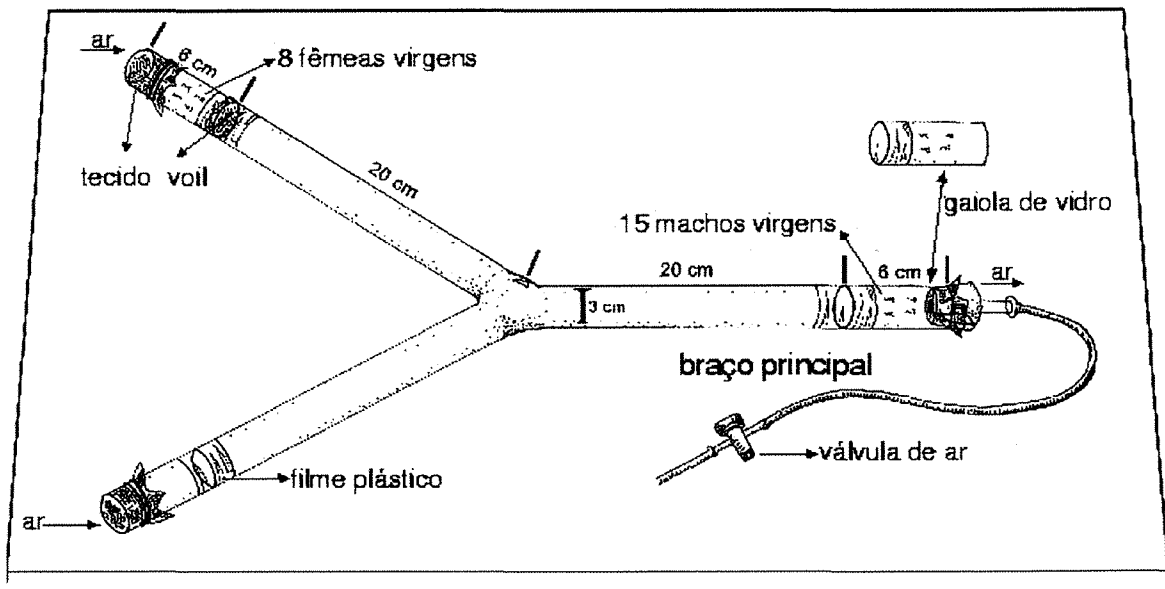


Figura 5 - Olfatômetro tipo "Y" utilizado na determinação do sexo responsável pela atração sexual de *P. citrella*.

3.5.1 Determinação do sexo responsável pela atração sexual

Este experimento foi realizado com o propósito de se determinar qual sexo é o responsável pela atração sexual. O bioensaio constou de três tratamentos: a) oito machos virgens com dois dias de idade, b) oito fêmeas virgens com dois dias de idade e c) controle. Os machos e as fêmeas virgens, foram acondicionados separadamente, em gaiolas de vidro descritas anteriormente (item 3.5), 12 horas antes da instalação do experimento.

No tratamento em que, como estímulo, utilizaram-se as 8 fêmeas virgens, estas foram colocadas na extremidade de um dos braços do olfatômetro dentro da gaiola de com as extremidades vedadas por um tecido "voil", permitindo a entrada de ar dentro do sistema, mas mantendo-as confinadas no seu interior; o outro braço do olfatômetro, foi deixado vazio

(controle). Na extremidade do braço principal do olfatômetro foram colocados 15 machos virgens (Figura 5).

No tratamento em que, como estímulo, utilizaram-se os oito machos virgens, o experimento foi conduzido da mesma forma que no tratamento anterior, com a diferença de que, neste caso, 15 fêmeas virgens é que foram liberadas na extremidade do braço principal do olfatômetro.

Um tratamento controle (branco-branco) foi também realizado após ter sido observado qual sexo era o responsável pela atração sexual. Dessa forma, na extremidade do braço principal do olfatômetro foram liberados 15 insetos do sexo que respondeu ao estímulo, ou seja, que foi atraído, sendo os dois outros braços, por onde se deu a entrada do ar, deixados vazios.

A quantificação dos tratamentos foi feita quando os insetos optaram por um dos dois braços do olfatômetro e se dirigiram para sua extremidade.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com seis repetições, e os resultados de atração foram transformados em porcentagem e submetidos à análise da variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. sendo os valores em porcentagem transformados em $\sqrt{(X + 5)}$.

3.5.2 Determinação da existência de feromônio sexual

Este experimento foi realizado, com o objetivo de constatar a presença de um feromônio sexual mediando o acasalamento de *P. citrella*. Para este experimento, foram utilizados dois tratamentos: a) papel de filtro + solvente + extrato natural da glândula de feromônio do sexo emissor (item 3.5.1) e b) papel de filtro + solvente.

O extrato natural do feromônio sexual de *P. citrella* foi obtido, através da dissecação da extremidade final do abdômen de 48 insetos virgens do sexo emissor do feromônio (item 3.5.1), maceradas em 300 µl de solvente hexano,

sendo esta extração realizada no horário de ocorrência dos acasalamentos (item 3.2). Utilizou-se o solvente hexano por ser um dos preferidos, uma vez que é suficientemente volátil para que o extrato seja concentrado sem a necessidade de exposição à altas temperaturas (Jacobson, 1972).

Para a realização deste bioensaio foi utilizado um olfatômetro tipo "Y", descrito anteriormente (item 3.5) (Figura 5). Em uma das extremidades do olfatômetro (tratamento), dentro do compartimento de vidro descrito no item 3.6, foi colocado um pedaço de papel de filtro de 1,5 cm² impregnado, através de uma micro-seringa, com 50 µl do extrato natural contendo 8 equivalentes do sexo emissor do feromônio (oito porções finais do abdome do inseto responsável pela atração sexual maceradas) (item 3.5.1), e na outra extremidade foi colocado apenas o papel de filtro. No braço principal, foram liberados 15 insetos virgens do sexo que respondeu ao estímulo (item 3.5.1)

O tratamento "b" foi preparado do mesmo modo que o tratamento "a", porém com o propósito de se eliminar o efeito do solvente hexano. Assim, em uma das extremidades do olfatômetro, ao invés do extrato natural, foi colocado um pedaço de papel de filtro de 1,5 cm² impregnado com 50 µl de solvente, e na outra extremidade, foi colocado somente o papel de filtro. Na extremidade do braço principal do olfatômetro foram liberados 15 adultos virgens do sexo que respondeu ao estímulo (item 3.6.1).

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com seis repetições, e os resultados de atração foram transformados em porcentagem e submetidos à análise da variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. sendo os valores em porcentagem transformados em $\sqrt{(X + 5)}$.

3.6 Comportamentos de: chamamento das fêmeas, corte dos machos e cópula

Foram observados 30 casais virgens com um ou dois dias de idade (24 h e 48 h), individualizados em copos plásticos de 4,5 x 2,5 cm de diâmetro.

Os principais eventos comportamentais do acasalamento: chamamento das fêmeas, corte dos machos e cópula, foram descritos a partir de observação direta dos casais, no horário de acasalamento (item 3.2). Os eventos foram anotados diariamente e individualmente por casal. Os casais que realizavam as cópulas eram identificados e separados dos demais.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Individualização das pupas de *P. citrella* para a obtenção de insetos virgens

A individualização das folhas de plantas de limão-cravo contendo as pupas de *P. citrella* permitiu a obtenção de insetos virgens, propiciando uma garantia total de ausência de cópula (característica imprescindível para que a pesquisa fosse desenvolvida). A alta viabilidade pupal obtida (próxima a 100%), foi devida ao fato da pupa não ter sido retirada da folha para a individualização, pois em testes prévios onde a pupa foi destacada da folha e individualizada, não foi observada a emergência de adultos.

4.2 Horário de acasalamento, duração e idade da primeira cópula e número de cópulas por casal

Cerca de 80% dos acasalamentos de *P. citrella* ocorreram no primeiro e segundo dias de vida (Tabela 1 e Figura 6). Não houve diferença significativa entre o primeiro (41,63%) e o segundo dia (37,86%).

Dentre os 60 casais estudados, 78% acasalaram até o oitavo dia de idade, sendo que destes, 79% copularam uma única vez, 15% duas vezes, 4% três vezes e apenas 2% acasalaram 5 vezes (Figura 7).

O horário em que ocorreu o maior número de acasalamentos de *P. citrella* foi entre 6:00 e 6:30 h, ou seja, nos primeiros trinta minutos após o início da fotofase (Tabela 2 e Figura 8). Entretanto, o intervalo de acasalamento variou das 5:00 às 7:00 h, correspondendo a uma hora antes até uma hora depois do início da fotofase.

A duração média da cópula foi de $49,57 \pm 2,90$ min, com um mínimo de 35 e um máximo de 90 min.

Tabela 1. Porcentagem de acasalamentos de *P. citrella* em função da idade. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

IDADE (dias)	% DE ACASALAMENTOS
1	$41,63 \pm 5,99$ a
2	$37,86 \pm 7,96$ a
3	$10,35 \pm 3,48$ b
4	$04,47 \pm 2,84$ b
5	$01,67 \pm 1,67$ b
6	$00,00 \pm 0,00$ b
7	$01,67 \pm 1,67$ b
8	$02,38 \pm 2,38$ b

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$.

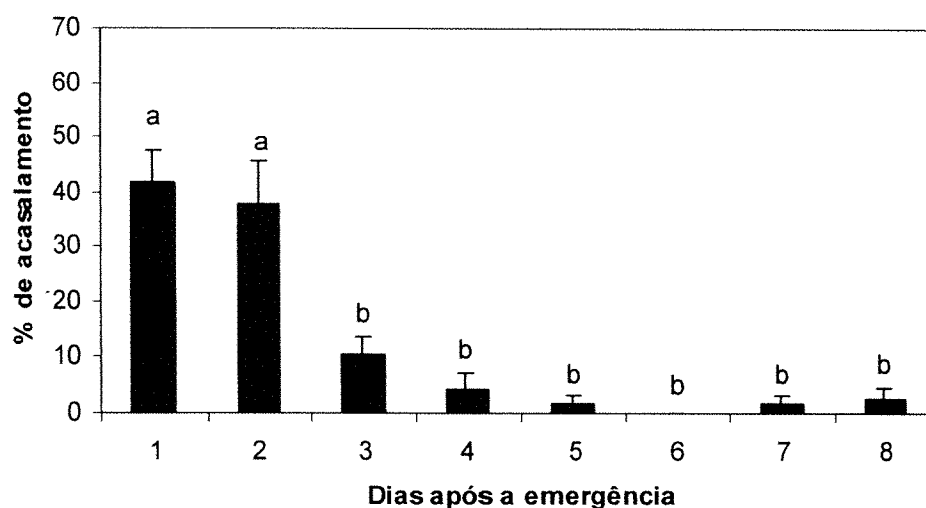


Figura 6 – Porcentagem de acasalamento de *P. citrella* em função da idade. Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$.

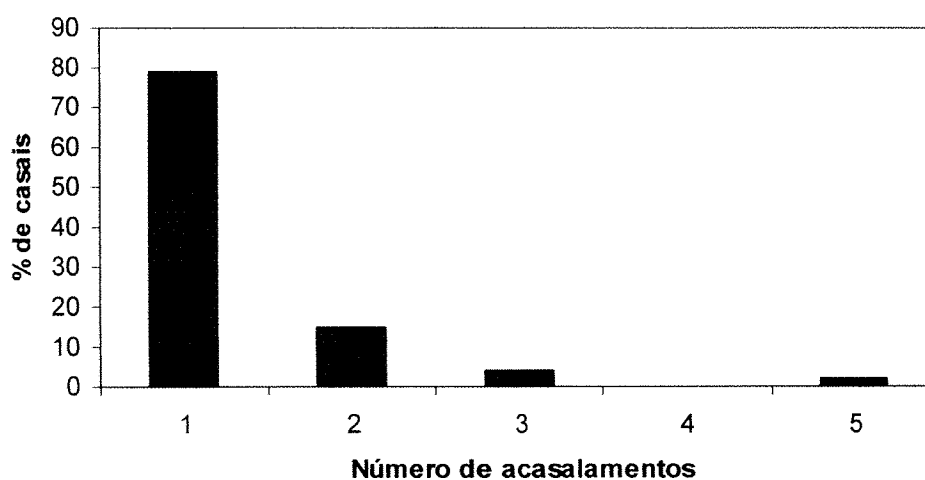


Figura 7 - Número de cópulas por casal de *P. citrella*. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

Tabela 2. Porcentagem de acasalamento de *P. citrella* em função do horário. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

HORÁRIO (h)	% DE ACASALAMENTOS
5:00-5:30	5,17 ± 3,28 b
5:30-6:00	24,58 ± 10,06 ab
6:00-6:30	45,78 ± 12,36 a
6:30-7:00	24,48 ± 8,46 ab

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $\log(X+5)$.

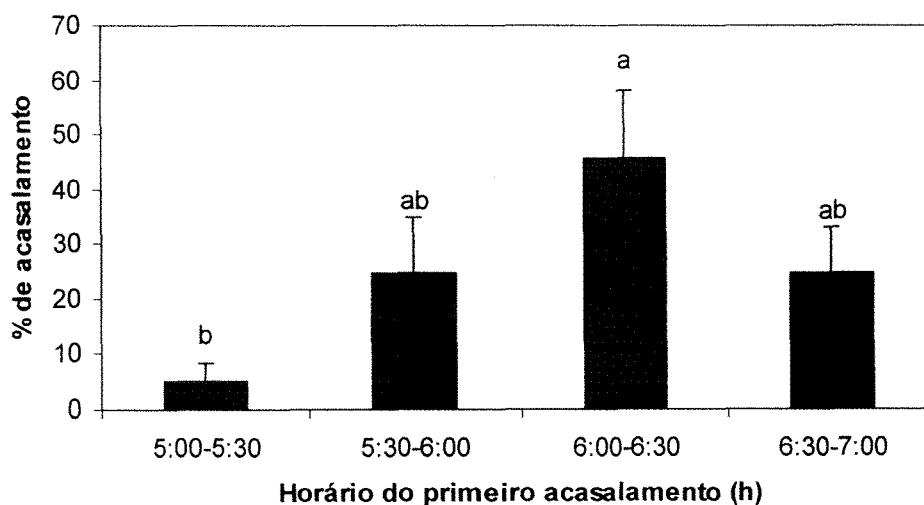


Figura 8 – Frequência de acasalamento de *P. citrella* entre 5 e 7 horas. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h. Médias transformadas em $\log(X+5)$.

Os estudos envolvendo o acasalamento de *P. citrella*, registrados na literatura são bastante contraditórios, muito provavelmente, devido às diferentes condições bióticas e/ou abióticas e metodológicas em que as pesquisas foram conduzidas.

Batra et. al. (1988) e Alba (1996) também observaram que os acasalamentos de *P. citrella* ocorrem no primeiro dia após a emergência. Entretanto, Pandey & Pandey (1964) relataram que a cópula se dá entre 14 e 24 horas após a emergência, enquanto Ba-Angood (1977) verificou que os acasalamentos de *P. citrella* ocorrem 9 a 11 horas após a emergência.

Os resultados obtidos neste trabalho em relação ao horário de acasalamento de *P. citrella*, ou seja, logo ao amanhecer, estão de acordo com Batra et. al. (1988) e Alba (1996), porém contrastam com Ba-Angood (1977) que observou-o durante a noite e com Pandey & Pandey (1964) que observaram acasalamentos durante a noite e durante as primeiras horas da manhã.

Assim como *P. citrella*, várias espécies de hábito minador também pertencentes à família Gracillariidae apresentam o pico de acasalamento 30 minutos após a incidência de luz como: *Phyllonorycter ringoniella* (Matsumura), Jung (1997); *Phyllonorycter acerifoliella* (Z.) [= *P. sylvella* (Hw.)]; *Phyllonorycter heegerella* (Z.); *Phyllonorycter ulmifoliella* (HBN), (Mozuraitis et. al., 2000). Segundo Baker & Cardé (1979); Hickel & Vilela (1991) e Pires et. al. (1994) o amanhecer ou o anoitecer são os sinais que desencadeiam o ritmo circadiano do comportamento de chamamento e conseqüente emissão do feromônio sexual para várias espécies de Lepidoptera.

A duração da cópula de *P. citrella* obtida nesta pesquisa está dentro do intervalo de 30 a 150 min. observado por Batra et. al. (1988). Entretanto, não corresponde ao intervalo de 5 à 9 horas mencionado por Huang et.al. (1989a). A duração média de aproximadamente 50 min, para a cópula, como foi determinada na presente pesquisa, pode assegurar aos machos que seus genes sejam transmitidos para gerações futuras (seus descendentes),

considerando-se que os acasalamentos foram restritos a cerca de duas por dia. Isto fica ainda mais evidente quando se observa que cerca de 80% dos casais estudados realizaram uma única cópula ao longo de oito dias. De um modo geral, em Lepidoptera, as fêmeas necessitam de uma única cópula para que os ovos sejam viáveis (Benz, 1991).

Por outro lado, a variação na porcentagem de acasalamentos, em função da idade de *P. citrella*, pode ser explicada por mudanças nas taxas de síntese e de liberação do feromônio sexual pelas fêmeas e na habilidade de resposta ao feromônio pelos machos (Michereff, 2000). Assim, os acasalamentos nas idades de um (41,63%) e dois (37,86%) dias estariam relacionadas a estes fatores. Segundo Shorey & Gaston (1964); Shorey et. al. (1968) e Turgeon et. al. (1983), a receptividade de machos para uma fonte de feromônio pode variar com a idade; os indivíduos geralmente exibem níveis crescentes de resposta durante os primeiros dias após a emergência.

4.3 Horário de oviposição em laboratório

Observou-se, em ensaio preliminar, que *P. citrella* coloca 98,8% dos ovos das 20:00 às 8:00 h, correspondente a todo o período da escotofase mais as duas primeiras horas da fotofase. A partir deste horário, a postura foi drasticamente reduzida, representando pouco mais 1,0% do total colocado em 24 horas (Figura 9).

No ensaio definitivo, 45,54% dos ovos foram colocados no período das 20:00 às 22:00 h (Tabela 3 e Figura 10), diferindo estatisticamente dos demais horários. Dessa forma, ficou caracterizado o hábito crepuscular de postura de *P. citrella*, uma vez que o maior número de ovos foi colocado nas duas primeiras horas após o escurecimento. Estes resultados estão de acordo com as observações de Pandey & Pandey (1964); Badawy (1967) e Heppner (1993), que referem o hábito crepuscular de postura de *P. citrella*.

Este parâmetro pode ser muito importante para um futuro planejamento de estratégias, visando ao controle dos adultos.

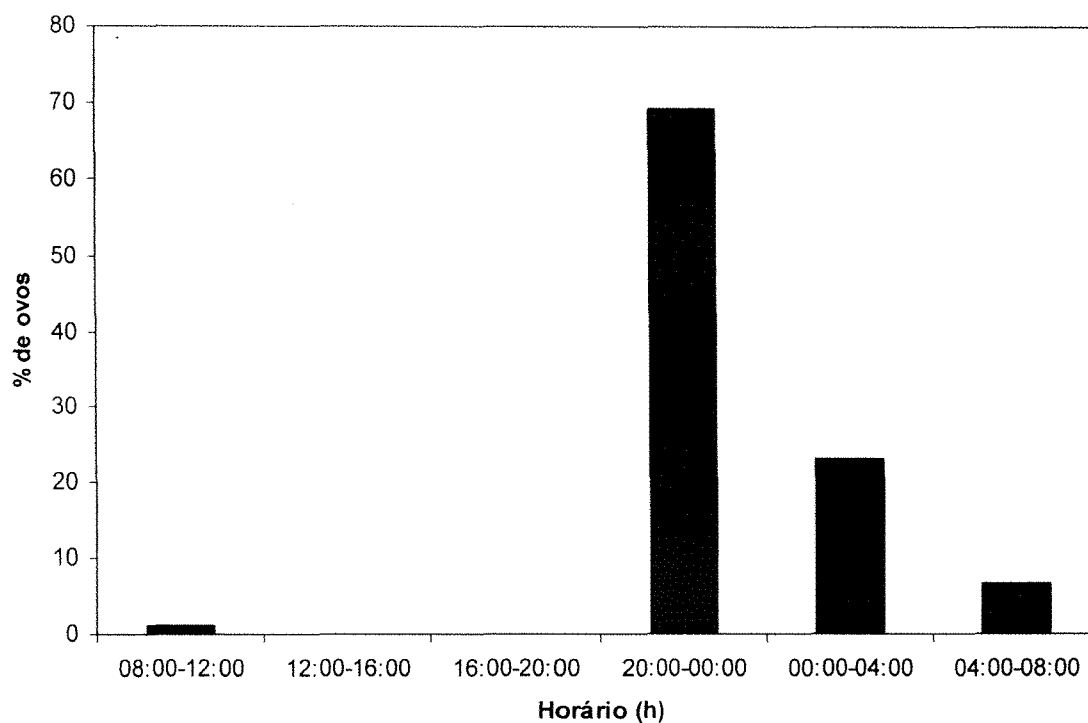


Figura 9 - Porcentagem de ovos colocados por *P. citrella* em função do horário, no ensaio preliminar. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

Tabela 3. Porcentagem de ovos de *P. citrella* colocados em 24 horas, em laboratório. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

INTERVALO DE OBSERVAÇÃO (h)	% DE OVOS
20:00-22:00	45,54 \pm 1,12 a
22:00-24:00	15,45 \pm 0,35 b
00:00-02:00	12,08 \pm 0,45 bc
02:00-04:00	11,09 \pm 0,29 bc
04:00-06:00	11,09 \pm 0,44 bc
06:00-08:00	2,67 \pm 0,18 c
08:00-20:00	2,08 \pm 0,09 c

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $\log(X+5)$.

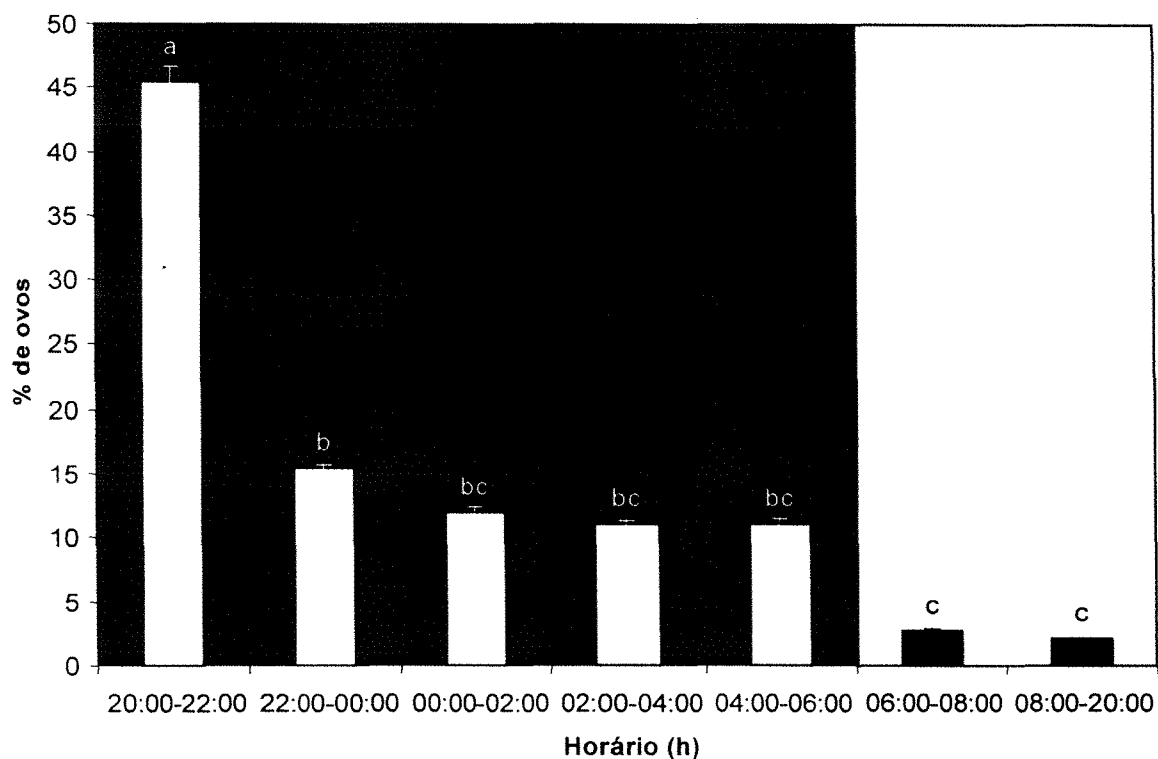


Figura 10 - Porcentagem de ovos colocados por *P. citrella* em função do horário. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h. Médias transformadas em $\log(X+5)$.

4.4 Ritmo diário de emergência dos adultos de *P. citrella*

Houve um sincronismo na emergência de machos e fêmeas de *P. citrella*, não sendo observada diferença significativa na emergência de ambos os sexos durante os quatro dias de ocorrência de emergência ($X^2_3 = 1,05$) (Figura 11).

A proporção macho:fêmea encontrada foi de 1:1, sendo, portanto, a razão sexual igual a 0,5. Estas observações estão de acordo com as de Huang et.al.(1989a) e Raga et.al.(1998) que encontraram uma proporção macho:fêmea de 1:1.

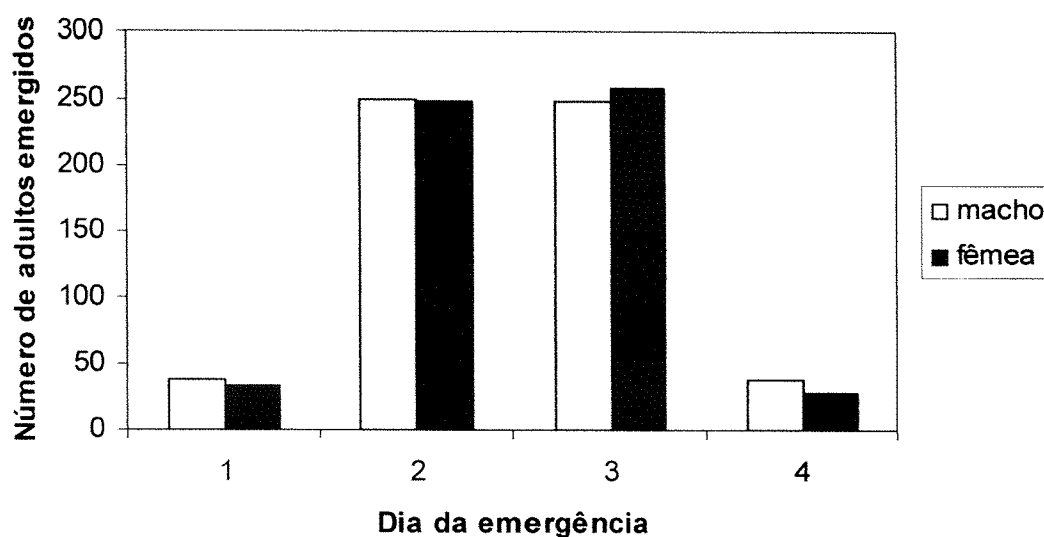


Figura 11 - Ritmo de emergência de machos e fêmeas de *P. citrella*. Temperatura $28,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

Na maioria dos lepidópteros, as fêmeas copulam somente uma vez, enquanto que os machos são capazes de copular várias vezes, fazendo com que os machos compitam intensamente pelo acesso à fêmea. Para maximizar o sucesso nos acasalamentos, alguns machos emergem antes das fêmeas, fenômeno conhecido como protandria (Zonneveld, 1997).

Carvalho et. al. (1998) observaram que fêmeas de *Brassolis sophorae* (Lineu) que emergiram mais tardiamente, apresentaram menor tamanho e longevidade em relação àquelas que emergiram no início do período de emergência. Observaram ainda que machos que emergiram antes ou

próximo da data média de emergência das fêmeas tiveram maiores oportunidades de acasalamento, em relação aos que emergiram depois, que além de terem menos chances, tiveram acasalamentos com fêmeas pequenas e de baixa qualidade; entretanto, Baughman (1991) observou que em *Euphydryas editha bayensis* (Boisduval) [*Occidryas editha bayensis*] os machos que emergem antes das fêmeas não apresentam vantagem adaptativa em relação aos que emergem mais tardiamente.

O estudo do ritmo de emergência de machos e fêmeas de uma espécie, para se determinar se ele ocorre de uma forma sincrônica ou assincrônica é de fundamental importância, pois a eficiência do uso de feromônio sexual no monitoramento pode depender desta característica biológica. Em insetos que apresentam protandria (machos emergem antes das fêmeas), pode haver uma captura inicial de machos muito grande, superestimando a população da praga na área; de forma análoga, dependendo da época, esta população pode ser subestimada (Stockel & Peypelut, 1984).

4.5 Determinação de acasalamento mediado por feromônio sexual

4.5.1 Determinação do sexo responsável pela atração sexual

As fêmeas de *P. citrella* atraíram cerca de 80,0% dos machos no olfatômetro, diferindo significativamente do controle (6%) (Tabela 4 e Figura 12). Os machos, por sua vez, não atraíram as fêmeas, já que a porcentagem de fêmeas que responderam (13,5%) não diferiu do controle (13,7%) (Tabela 5 e Figura 13). Estes resultados demonstram que as fêmeas são as únicas responsáveis pela atração sexual de *P. citrella*.

O olfatômetro utilizado mostrou-se eficiente para demonstrar que as fêmeas atraem os machos, pois no tratamento em que ambas as extremidades do olfatômetro foram deixadas vazias (branco-branco), a porcentagem de

machos atraídos foi muito baixa, 14 e 13% respectivamente não diferindo significativamente entre si (Tabela 6 e Figura 14).

Tabela 4. Porcentagem de machos atraídos por fêmeas de *P. citrella* em olfatômetro. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

TRATAMENTO	% DE MACHOS ATRAÍDOS
Fêmea	$79,47 \pm 4,07$ a
Branco	$6,02 \pm 3,66$ b

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5. Porcentagem de fêmeas atraídas por machos de *P. citrella* em olfatômetro. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

TRATAMENTO	% DE FÊMEAS ATRAÍDAS
Macho	$13,49 \pm 4,56$ a
Branco	$13,73 \pm 3,54$ a

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$.

Tabela 6. Porcentagem de machos de *P. citrella* atraídos em olfatômetro. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

TRATAMENTO	% DE FÊMEAS ATRAÍDAS
Branco	$14,63 \pm 3,56$ a
Branco	$13,41 \pm 3,32$ a

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$.

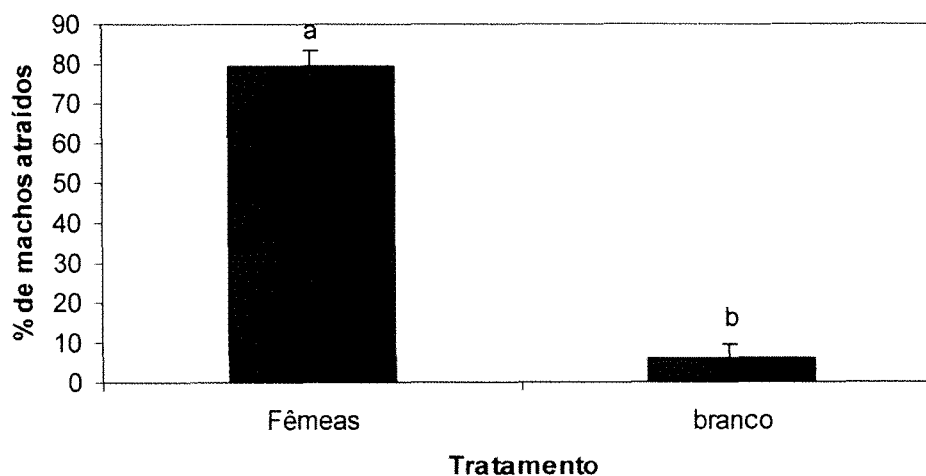


Figura 12- Porcentagem de machos atraídos por fêmeas *P. citrella* em olfatômetro. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

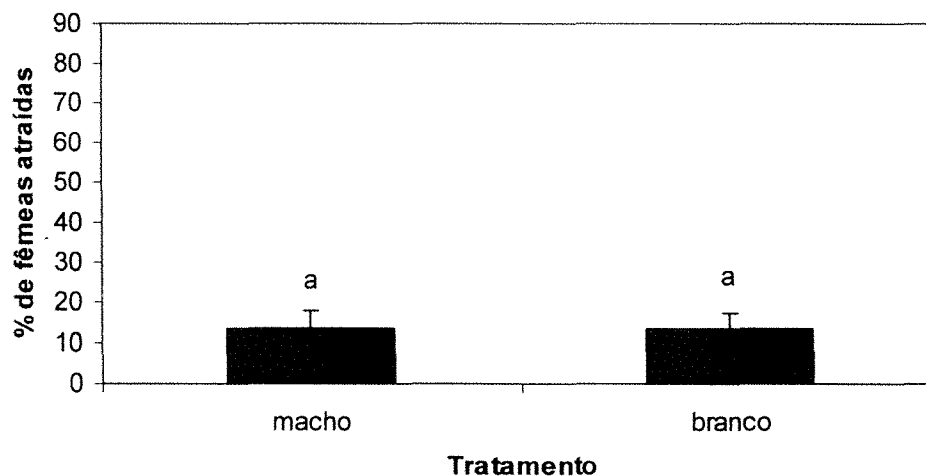


Figura 13 - Porcentagem de fêmeas de atraídas por machos *P. citrella* em olfatômetro. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$.

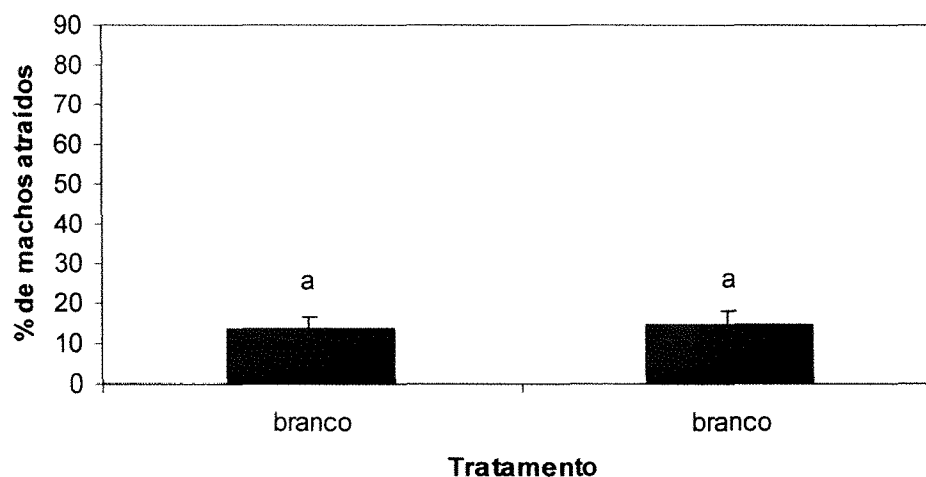


Figura 14 - Porcentagem de machos *P. citrella* atraídos para o tratamento branco-branco em olfatômetro. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$.

Como citado anteriormente, na grande maioria dos insetos, as fêmeas são responsáveis pela produção e emissão de feromônio sexual, por terem que economizar tempo e energia para assegurar a obtenção da prole (Thornhill & Alcock, 1983). Entretanto, em algumas poucas espécies, os machos produzem e emitem feromônios sexuais (Willis & Birch, 1982; Landolt & Heath, 1990; Phelan, 1992).

Como na presente pesquisa, em outras espécies de minadores pertencentes à família Gracillariidae, as fêmeas são também responsáveis pela atração sexual como em *Conopomorpha cramerella* (Snellen) (Beevor et. al, 1993), *Phyllonorycter elmaella* Doganlar & Mutura (Shearer & Riedl, 1994), *P. ringoniella* (Jung, 1997), *Phyllonorycter blancardella* (Fabr.) (Mozuraitis et. al., 1999), *P. acerifoliella*, *P. heegerella*, *P. ulmifoliella* , (Mozuraitis et. al., 2000), *Phyllonorycter. crataegella* (Clemens) (Ferrao et. al., 1998), *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic (Svatos, 1999).

4.5.2 Determinação da existência de feromônio sexual

Uma vez constatado que as fêmeas de *P. citrella* são responsáveis pela atração sexual, o extrato natural do feromônio sexual foi obtido através da extração das porções finais do abdome das fêmeas virgens. Para tanto, esta extração foi baseada em Golub & Weatherston (1984) e Bjostad et. al. (1987) que relatam que o método clássico de obtenção de extratos naturais de feromônio das fêmeas de Lepidoptera é aquele que consiste da extração das glândulas exócrinas de feromônio, localizadas entre o oitavo e nono segmento abdominal.

Os testes em olfatômetro demonstraram que existe um feromônio sexual mediando o acasalamento de *P. citrella*. Mais de 64% dos machos foram atraídos para o papel de filtro contendo o extrato natural do feromônio sexual

das fêmeas enquanto que, pouco mais de 5% foram atraídos pelo papel de filtro sem o extrato (controle) (Tabela 7 e Figura 15).

Tabela 7. Porcentagem de machos atraídos pelo extrato natural do feromônio sexual produzido pelas fêmeas de *P. citrella*. Temperatura $25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

TRATAMENTO	% DE MACHOS ATRAÍDOS
Papel de filtro + extrato natural + solvente	$64,30 \pm 5,02$ a
Papel de filtro	$5,16 \pm 1,65$ b

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

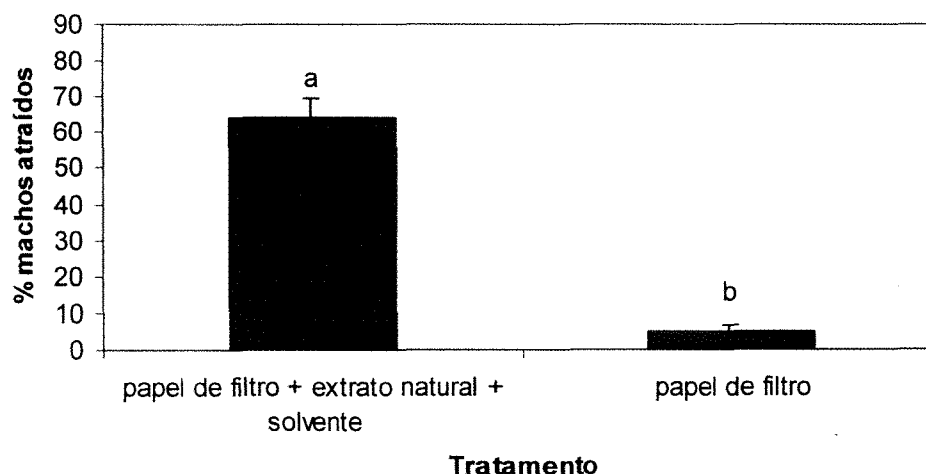


Figura 15 - Porcentagem de machos atraídos pelo extrato natural do feromônio sexual produzido pelas fêmeas de *P. citrella*. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Temperatura $25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

Os machos de *P. citrella* responderam ao feromônio sexual imediatamente após o início dos ensaios (após a presença de corrente de ar no olfatômetro). Além de atraídos fortemente para a gaiola contendo o feromônio sexual natural, impregnado no papel de filtro, muitos machos permaneceram sobre este papel (Figura 16).

O efeito do solvente hexano foi descartado, pois a porcentagem de machos atraídos para o papel de filtro contendo o solvente foi pequena (10,69%), não diferindo estatisticamente da porcentagem de insetos atraídos pelo papel de filtro (controle) (10,56%) (Tabela 8 e Figura 17). Estes dados confirmam que existe um feromônio sexual mediando o acasalamento de *P. citrella*.

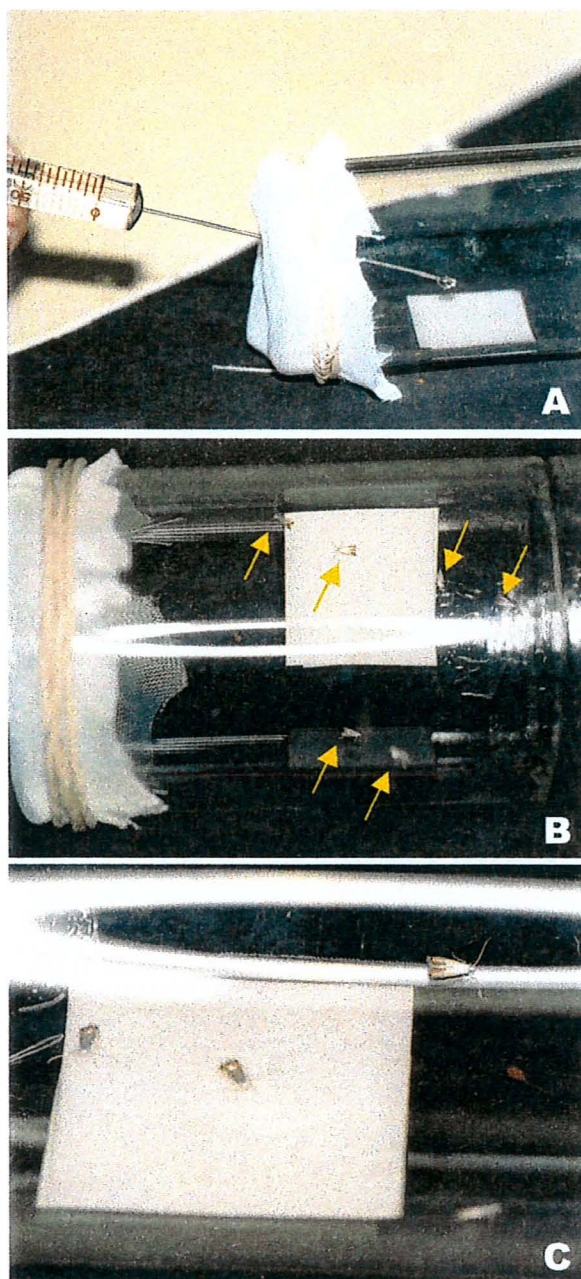


Figura 16 – Atração de machos pelo feromônio sexual natural de fêmeas de *P. citrella*. **A** – Papel de filtro impregnado com extrato natural do feromônio sexual de *P. citrella* através de micro-seringa; **B** – Machos de *P. citrella* atraídos para a extremidade do braço do olfatômetro contendo o papel de filtro impregnado com o extrato natural; **C** – Machos de *P. citrella* sobre o papel de filtro impregnado com extrato natural do feromônio sexual de *P. citrella*.

Tabela 8. Porcentagem de machos de *P. citrella* atraídos pelo solvente hexano. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h.

TRATAMENTO	% DE MACHOS ATRAÍDOS
Papel de filtro + solvente	$10,69 \pm 4,06$ a
Papel de filtro	$10,56 \pm 2,66$ a

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$.

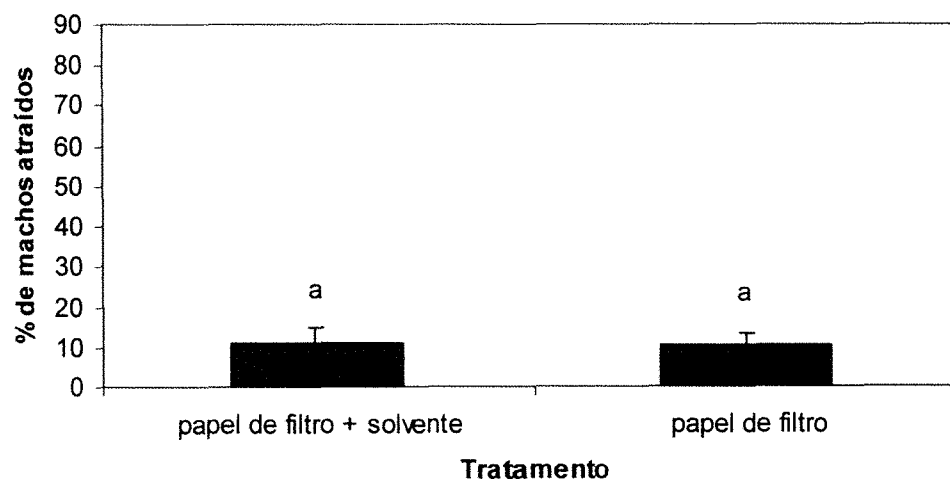


Figura 17 - Porcentagem de machos atraídos pelo solvente hexano. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Temperatura $25,0 \pm 2,0$ °C, UR: $65,0 \pm 10,0\%$ e fotofase de 14 h. Médias transformadas em $\sqrt{(X+5)}$.

4.6 Comportamentos: de chamamento das fêmeas, corte dos machos e cópula

As fêmeas de *P. citrella* durante o horário de acasalamento e antes da cópula, apresentam um comportamento típico de chamamento. Durante este período, permanecem com as asas levantadas e abertas e as antenas para trás próximas ao corpo, com o abdome levemente arqueado para cima e a glândula de feromônio exposta (Figura 18). As fêmeas se mantêm nesta posição, praticamente imóveis, na maior parte do tempo, sendo que, esporadicamente realizam movimentos lentos com o abdome para cima e para baixo.

Os machos, por sua vez, quando próximos das fêmeas mostram-se excitados, caminhando rapidamente em várias direções, na tentativa de encontrá-las. Vôos curtos (“saltos”) e movimentos de antena foram também observados. Durante este período, os machos aproximam-se das fêmeas por caminhar em zigue-zague, tocando o seu abdome com as antenas; após este toque, as fêmeas permanecem imóveis e os machos giram o corpo em um ângulo de 180°, com as asas levantadas e o aedeago exposto, ficando em sentido contrário às fêmeas. Os machos então, batendo as asas vão de costas em direção às fêmeas. As asas das fêmeas, por sua vez permanecem em repouso, e as fêmeas receptivas permitem que o machos introduzam o aedeago na extremidade do seu abdome, dando início à cópula (Figuras 19 e 20).

Durante o acasalamento, macho e fêmea permanecem em repouso, em sentidos opostos, com as antenas para trás, afastadas do corpo, sendo as asas dos machos mantidas sobre as das fêmeas (Figura 21). Ao final da cópula, que pode durar de 35 a 90 min (item 4.1), macho e fêmea se separam, às vezes ficando um ao lado do outro, em repouso.

Foram observadas situações em que a fêmea, após ter o seu abdome tocado pela antena do macho, não permitiu que este introduzisse o

aedeago para a cópula, iniciando um caminhamento rápido em sentido contrário a ele.

O comportamento de chamamento e corte do minador-dos-citros não fugiu do padrão normalmente encontrado entre os lepidópteros. A elevação e abertura das asas das fêmeas e exposição da glândula de feromônio durante o chamamento foram também observados em fêmeas de *Lymantria dispar* (Lineu) (Charlton & Cardé, 1990), *Mamestra configurata* Walker (Howlander & Gerber, 1986) e *Bucculatrix thurberiella* Busck (Lingren et. al., 1980). Lingren et. al. (1980) observaram que, durante o cópula, os machos de *B. thurberiella* também permanecem com as asas sobre às das fêmeas. Os machos de *P. citrella* não possuem tufo de pêlos ("hairpencil") no abdome, que são expostos durante a corte, como acontece com *Grapholita molesta* (Busck) (Baker & Cardé, 1979) e em *Ecdytoplopha aurantiana* Lima (Bento et. al., 2001b).



Figura 18 - Comportamento típico de chamamento da fêmea de *P. citrella*. (asas levantadas e abertas; antenas para trás; abdome levemente arqueado e glândula de feromônio exposta).

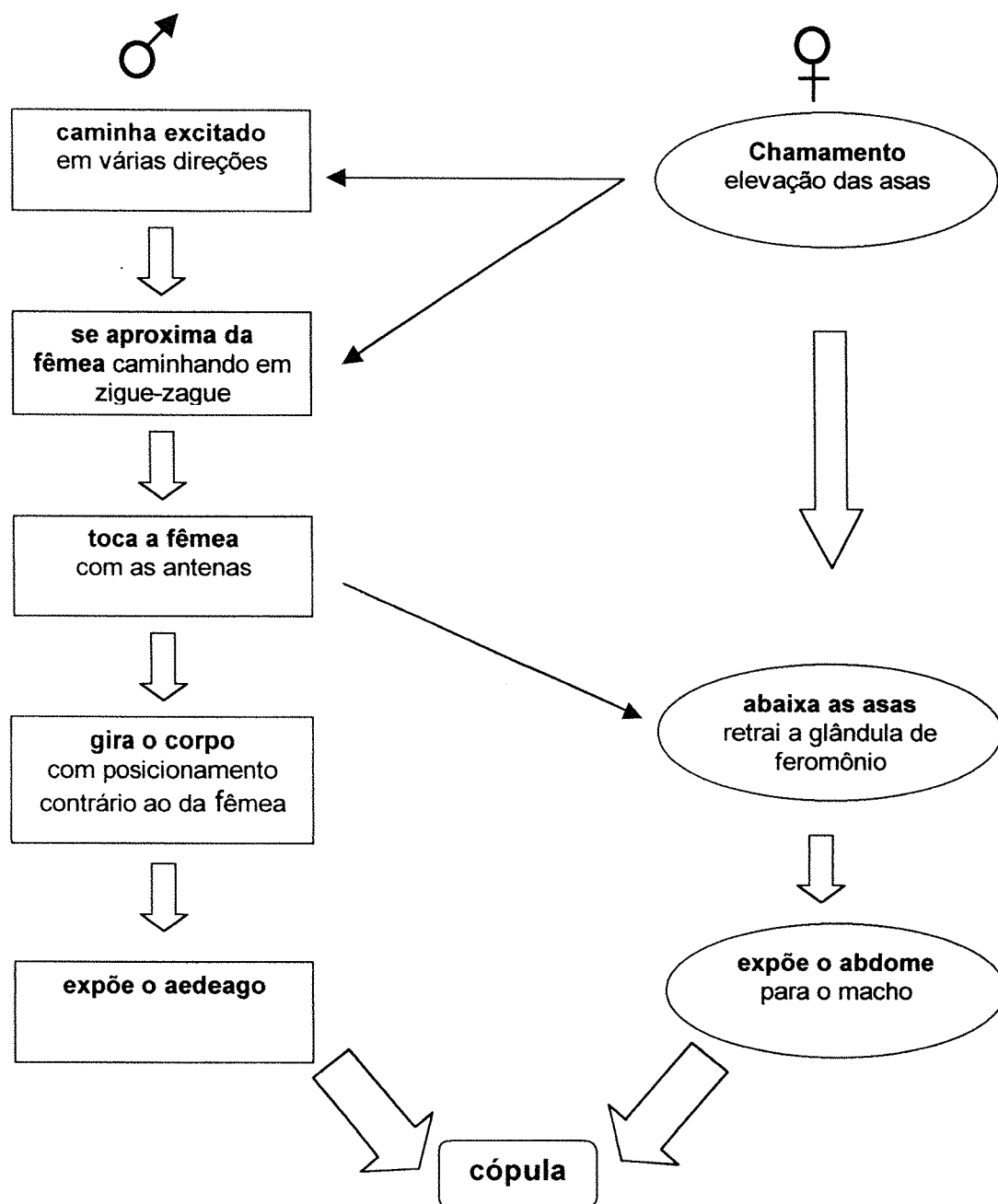


Figura 19 - Seqüência comportamental do chamamento da fêmea de *P. citrella*, corte do macho e cópula.

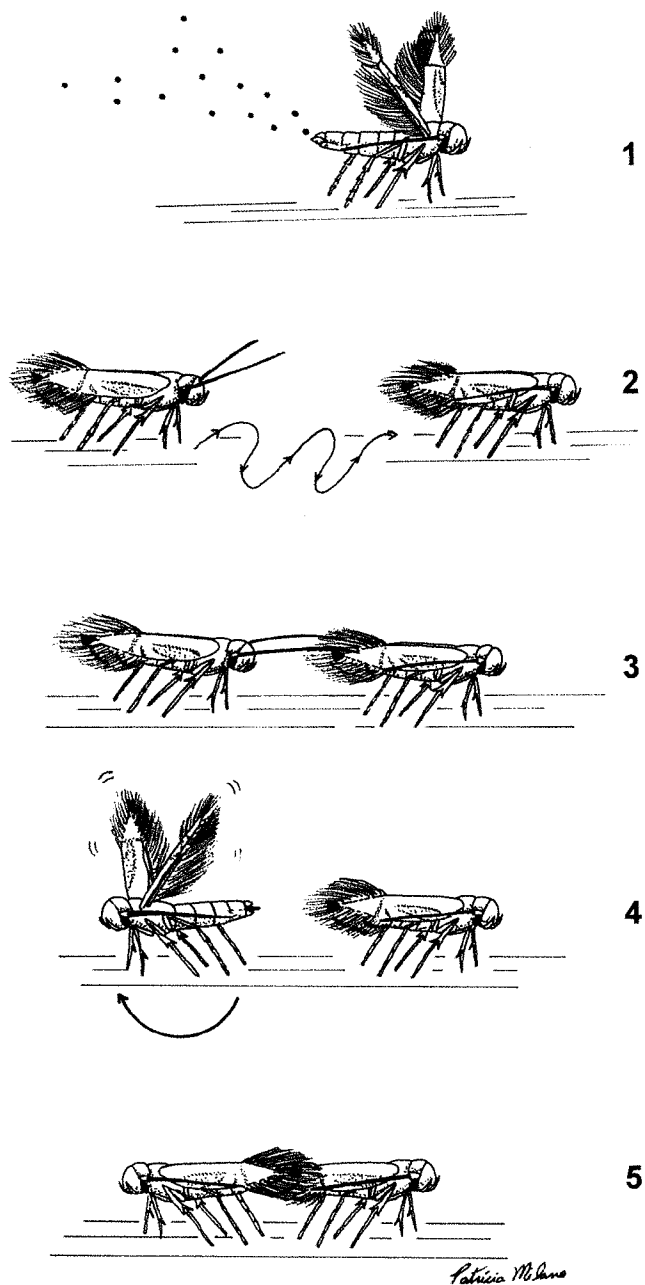


Figura 20 – Ilustração da seqüência comportamental do chamamento da fêmea de *P. citrella*, corte do macho e cópula. 1- A fêmea eleva as asas, expondo a glândula de feromônio (chamamento), 2- O macho se aproxima da fêmea por caminhamento em zigue-zague, 3- O macho toca com as suas antenas o abdome da fêmea, 4- O macho eleva as asas, expõe o aedeago e gira 180 ° ficando em sentido contrário ao da fêmea, 5- cópula.

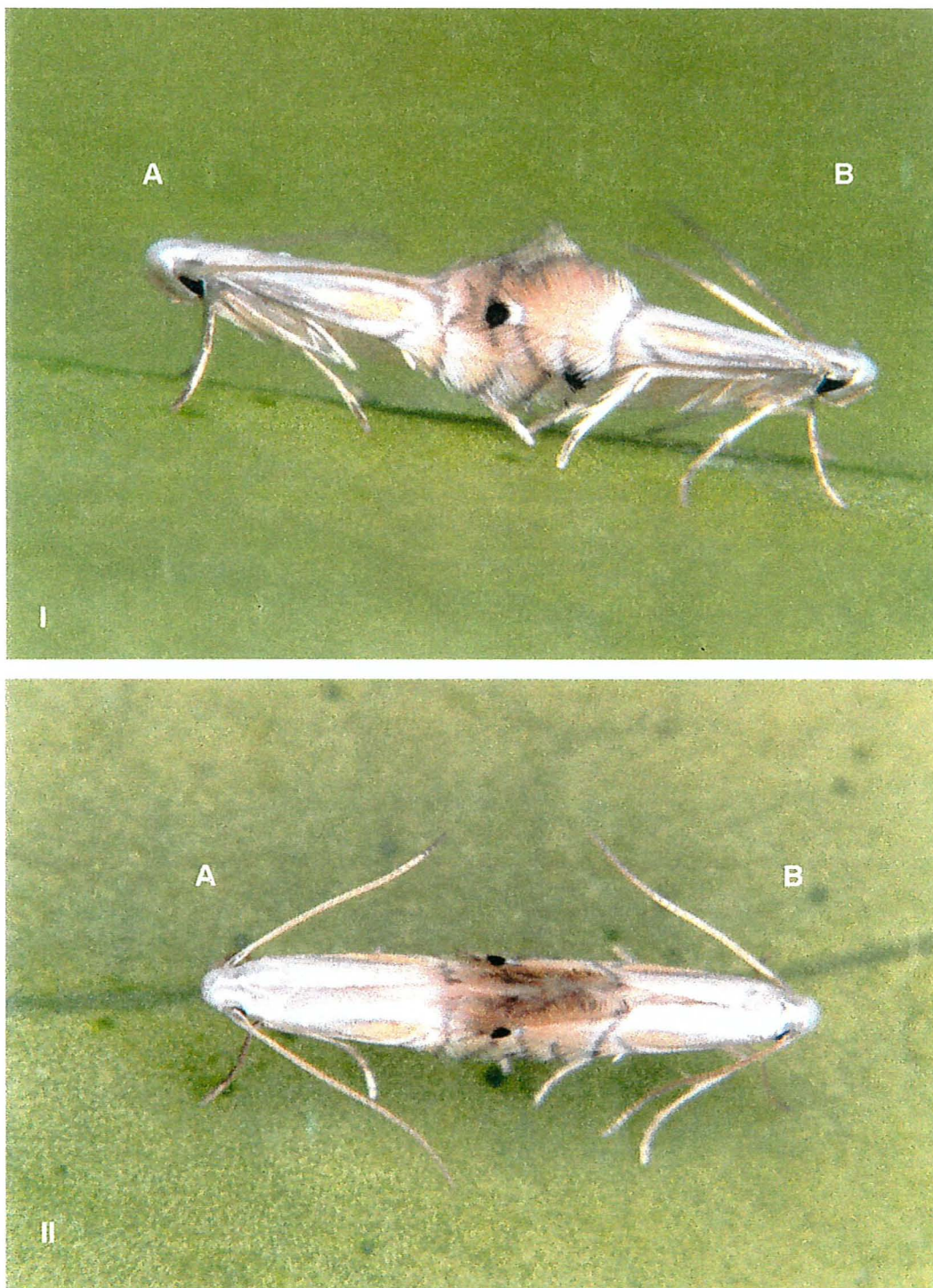


Figura 21 - Cópula de *P. citrella*. I (A) – fêmea, I (B) – macho (asas sobre as da fêmea); II – Visualização das antenas da fêmea (A) e do macho (B) mantidas para trás, afastadas do corpo.

5 CONCLUSÕES

- a) A metodologia de criação de *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856, utilizando-se plantas de limão-cravo (*Citrus limonia*), cultivadas em “tubetes” permite a individualização das pupas de *P. citrella*, para a obtenção de insetos virgens, propiciando garantia total de ausência de cópula e promovendo uma viabilidade pupal próxima a 100%;
- b) Os acasalamentos de *P. citrella* ocorrem com casais de um e dois dias de idade;
- c) *P. citrella* realiza os acasalamentos logo ao amanhecer;
- d) A duração média da cópula de *P. citrella* é de $49,57 \pm 2,90$ minutos;
- e) *P. citrella* tem hábito crepuscular de postura;
- f) *P. citrella* apresenta dois picos distintos de atividade durante o dia, associados à mudança de fotoperíodo;
- g) Machos e fêmeas emergem simultaneamente, com uma proporção macho:fêmea de 1:1 e, portanto, razão sexual igual a 0,5;
- h) As fêmeas de *P. citrella* são responsáveis pela atração sexual;

- i) Existe um feromônio sexual mediando o acasalamento de *P. citrella*;
- j) Os comportamentos de: chamamento das fêmeas, corte dos machos e cópula são bem definidos e semelhantes aos de outros lepidópteros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBA, C.G. El minador de los citricos, *Phyllocnistis citrella*, Stainton. introduccion y comportamiento en España. Descripción, daños y caracterización ecologica: estrategia de lucha. Malaga: Consejeria de Agricultura y Pesca, 1996, 18 p.
- ALMEIDA, L.C. de; ARRIGONI, E.B. Flutuação populacional de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) através de armadilhas de feromônio. **Boletim Técnico Copersucar**, v. 48, p. 17-24, 1989.
- ANDO, T.; TAGUCHI, K. Y.; UCHIYAMA, M.; UJIYE, T.; KUROKO, H. (7z,11z)-7,11-Hexadecadienal - Sex Attractant of the Citrus Leafminer Moth, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera, Phyllocnistidae). **Agricultural and Biological Chemistry**, v.49, n.12, p.3633-3635, 1985.
- ARGOV, Y.; ROSSLER, Y. Introduction, release and recovery of several exotic natural enemies for biological control of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Israel. **Phytoparasitica**, v.24, n.1, p.33-38, 1996.
- ARGOV, Y.; ROSSLER, Y. Rearing methods for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton and its parasitoids in Israel. **Biological Control**, v.11, n.1, p.18-21, 1998.

ATTYGALLE, A.B.; JHAM, G.N.; SVATOS, A.; FRIGHETTO, R.T.S.; MEINWALD, J.; VILELA, E.F.; FERRARA, F.A.; UCHOA-FERNANDES, M.A. Microscale, random reduction: Application to the characterization of (3E, 8Z, 11Z)-3,8,11-tetradecatrienyl acetate, a new lepidopteran sex pheromone. **Tetrahedron Letters**, v. 36, p. 5471-5474, 1995.

BA-ANGOOD, S. A. S. Contribution to Biology and Occurrence of Citrus Leaf Miner, *Phyllocnistis citrella* Staint (Gracillariidae, Lepid) in Sudan. **Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie**, v.83, p.106-111, 1977.

BA-ANGOOD, S. A. S. Biology and Food Preference of Citrus Leaf Miner, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Gracillariidae, Lepidoptera) in Pdr-of-Yemen. **Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie**, v.86, n.1, p.53-57, 1978.

BADAWY, A. The morphology and biology of *Phyllocnistis citrella* Stainton, a citrus leaf-miner in the Sudan. **Bulletin de la Societi Entomologique du Egypte**, v.51, p.95-103, 1967.

BAKER, T.C.; CARDÉ, R.T. Courtship behaviour of the oriental fruit moth (*Grapholita molesta*): Experimental analysis and consideration of the role of sexual selection in the evolution of courtship pheromones in the Lepidoptera. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 72, n. 1, p. 173-188, 1979.

BAKER, T. C.; LINN C. E. Wind tunnels in pheromone research,. In: HUMMEL, H.E.; MILLER, T.A. (Ed.). **Techniques in pheromone research**. New York, Springer-Verlag, 1984. p. 75-110.

- BATRA, R. C.; SHARMA, D. R.; CHANANA, Y. R. Screening of citrus germplasm for their resistance against citrus leaf miner, *Phyllocnistis citrella* Stainton. **Journal of Insect Science**, v.5, n.2, p.150-152, 1992.
- BATRA, R.C.; SANDHU, S.C.; SHARMA, S.C.; SINGH, R. Biology of the citrus leaf-miner on some rootstocks and its relationships with abiotic factors. **The Punjab Horticultural Journal**, v. 28, n. 1/2, p. 30-35, 1988.
- BAUGHMAN, J.F. Do protandrous males have increased mating success? The case of *Euphydryas editha*. **American Naturalist**, v.138, n.2, p. 536-542, 1991
- BEEVOR, P. S.; MUMFORD, J. D.; SHAH, S.; DAY, R. K.; HALL, D. R. Observations on pheromone-baited mass trapping for control of cocoa pod borer, *Conopomorpha cramerella*, in Sabah, East Malaysia. **Crop Protection**, v.12, n.2, p.134-140, 1993.
- BENTO, J.M.S. Fundamentos do monitoramento, da coleta massal e do confundimento de insetos-praga. In: VILELA, E.F.; DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação**. 2. ed. Ribeirão Preto. Holos 2001. p. 135-144.
- BENTO, J.M.S; VILELA, E.F.; DELLA LUCIA, T.M.C. Considerações sobre a história do estudo e emprego de feromônios no Brasil. In: VILELA E.F.; DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação**. 2ª edição. Ribeirão Preto; Holos 2001a, p. 147-159.

- BENTO, J.M.S.; PARRA, J.R.P.; VILELA, E.F.; WALDER, J.M.; LEAL, W.S. Sexual behaviour and diel activity of citrus fruit borer *Ecdytolopha aurantiana*. **Journal of Chemical ecology**, v. 27, n.10, p. 2053-2065, 2001b.
- BENZ, G. Physiology and genetics. In: VAN DER GEEST, L.P.S. & EVENHUIS, H.H. (Ed.). **Tortricid pests: Their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, 1991. p. 89-147.
- BIERL, B. A.; BEROZA, M.; STATEN, R. T.; SONNET, P.E.; ALDLER, V.E. Pink boll worm Sex attractant. **Journal of Economic Entomology**, v.67, n.2, p. 211-216, 1974.
- BIRCH, M.C. **Pheromones**. Amsterdam: North-Holland Publishing, 1974. 495p.
- BIRCH, M.C.; HAYENES, K.F. **Insect pheromones** London: Edward Arnold, 1982. 60p.
- BJOSTAD, L.B.; WOLF, W.A.; ROELOFS, W.L. Pheromone biosynthesis in Lepidoptera: desaturation and chain shortening. In: PRESTWICH, G.D.; BLOMQUIST, G.J. **Pheromone biochemistry**. Orlando: Florida, Academic Press, 1987. p. 77-120.
- BOTELHO, P.S.M.; MENDES, A.C.; MACEDO, N.; SILVEIRA-NETO-S. Cálculo da dispersão da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (fabr. 1794). **Brasil Açucareiro**, v. 92, p. 9-14, 1978.

- BOTELHO, P.S.M.; MAGRINI, E.A.; SILVEIRA NETO, S.; MACEDO, N. Flutuação de machos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) através de armadilha de feromônio. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 22, p. 293-297, 1993.
- BROWNING, H.; PEÑA, J.E. Biological control of the citrus leafminer by its native parasitoids and predators. **Citrus Industry**, p.12, Apr. 1995.
- CAMPION, D.G. Survey of pheromone uses in pests control. In: HUMMEL, H.E.; T.A. MILLER (Ed.). **Techniques in pheromone research**. New York: Springer-Verlag, 1984. p. 405-449.
- CARVALHO, M.C; QUEIROZ, P.C.D; RUSZCZYK, A Protandry and female size-fecundity variation in the tropical butterfly *Brassolis sophorae*. **Oecologia**, v.116, n.1, p. 98-102, 1998.
- CHAGAS, M.C.M.; PARRA, J.R.P. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): Técnica de Criação e Biologia em Diferentes Temperaturas. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 2, p. 227-235, 2000.
- CHAGAS, M.C.M.; PARRA, J.R.P.; NAMEKATA, T.; HARTUNG, J.S.; YAMAMOTO, P. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) e sua Relação com a Bactéria do Cancro Cítrico *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* no Brasil. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 55-59, 2001.
- CHARLTON, R.E.; CARDÉ, R.T. Behavioral interactions in the courtship of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 83, n. 1, p. 89-96, 1990.

- CHEN, M.S.; LE, X.N. A preliminary study on *Elachertus* sp.- an ectoparasite of *Phyllocnistis citrella*. **Journal of Fujian Agricultural College**, v.15, p.123-131, 1986.
- CHIARADIA, L. A.; MILANEZ, J. M. Citrus leafminer, a new pest in citriculture in Santa Catarina. **Agropecuaria Catarinense**, v.10, n.3, p.20-21, 1997.
- CLAUSEN, C.P. **Two citrus leafminers of the far east**. Washington: USDA, 1931. (USDA. Technical Bulletin, 252) 13p. /Resumo n.2 em **Review of Applied Entomology**, Ser. A., v.19, p. 649, 1931.
- DATERMAN, G.E. Monitoring insects with pheromones: Trapping objectives and bait formulations. In: KYDONIEUS, A.F.; BEROZAM, M. (Ed.). **Insect supression with controlled release pheromone systems**, Boca Raton: CRC Press, 1982, v.1, p.195-213.
- DIDONET, J.; AGUIAR, R.W.S.; PANATO, A. P. Ocorrência e infestação de larva minadora dos citros *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera; Gracillariidae) no Estado do Tocantins. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., Rio de Janeiro, 1998. **Resumos**. Rio de Janeiro: SEB, 1998. p. 217.
- DU, T. Y.; XIONG, J. J.; WANG, Z. H.; KONG, F. L. (Z,Z)-7,11-Hexadecadienal: sex attractant of *Phyllocnistis wampella* Liu et Zeng. **Insect Knowledge**, v.26, n.3, p.147-149, 1989.
- ELKINTON, J.S.; CARDÉ, R.T. The use of pheromone traps to monitor distribution and population trends of the gypsy moth. In: MITCHELL, E.R. (Ed.). **Management of insect pests with semiochemicals**. New York: Plenum Press, 1981. p. 41-55.

- FEICHTENBERGER, E.; RAGA, A. First Report of Citrus Leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lep: Gracillariidae) in Brazil. In: REUNIÃO INTERAMERICANA DE HORTICULTURA TROPICAL, 42., Curitiba. **Anais**. 1996. p.445
- FERRAO, P.; GRIES, G.; WIMALARATNE, P. D. C.; MAIER, C. T.; GRIES, R.; SLESSOR, K. N.; LI, J.; LI, J. X. Sex pheromone of apple blotch leafminer, *Phyllonorycter crataegella*, and its effect on *P. mespilella* pheromone communication. **Journal of Chemical Ecology**, v.24, n.12, p. 2059-2078, 1998.
- GARIJO, C.; GARCIA, E. J. *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Insecta: Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistidae) on citrus crops of Andalusia (South Spain): biology, ecology and pest control. **Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas**, v.20, n.4, p.815-826, 1994.
- GOLUB, M.A.; WEATHERSTON, I. Technique and equipment for collection of volatile chemicals from individual, natural or artificial sources. In: HUMMEL, H.E.; MILLER, T.A. (Ed.). **Techniques in pheromone research**. New York: Springer- Verlag, 1984. p.223-285.
- GRAVENA, S. "Minadora das folhas dos citros": a mais nova ameaça da citricultura brasileira. **Laranja**, v.15, p. 397-404, 1994.
- GRAVENA, S. Bicho mineiro dos citros. **Laranja & CIA**, n.44, p.3-5, 1996.
- GRAVENA, S. Manejo ecológico de pragas dos citros - aspectos práticos. **Laranja**, v. 19, n. 1, p. 49-60, 1998.

- GRAVENA, S.; BENNVENGA, S.R.; PAIVA, P. E.B.; SILVA, J.L. Efficiency of the insecticide Winner (imidacloprid) on control of some citrus pests and selectivity to natural enemies. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, Foz do Iguaçu, 2000. **Abstracts**. Foz do Iguaçu: EMBRAPA, 2000. v.1, p. 64.
- HALLET, R.H., PEREZ, A.L., OEHLISCHLAGER, A.C., GONZALES, L.M., PIERCE, H.D., ZEBEYOU JÚNIOR, M., KOUAME, B. Aggregation pheromone of the African rhinocerosbeetle, *Oryctes rhinoceros* L. (Coleoptera: Scarabeidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, p. 1549-1570, 1994.
- HEPPNER, J.B. Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Florida (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae). **Tropical Lepidoptera**, v.4, p.49-64, 1993.
- HEPPNER, J.B. Citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) on fruit in Florida. **Florida Entomologist**, v.78, n.1, p.182-186, 1995.
- HICKEL, E.R., VILELA, E.F. Comportamento de chamamento e aspectos do comportamento de acasalamento de *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), sob condições de campo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 20, n. 1, p. 174-182, 1991.
- HOWLANDER, M.A.; GERBER G.H. Effects of age, egg development, and mating on calling behavior of the bertha armyworm, *Mamestra configurata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **The Canadian Entomologist**, v.118, p. 1221-1230, 1986.

- HOY, M. A.; NGUYEN, R. Classical biological control of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): theory, practice, art and science. **Tropical Lepidoptera**, v. 8, suppl. 1, p.19, 1997.
- HOY, M.A.; NGUYEN, R.; POMERINKE, M.A.; BULLOCK, R.C.; HALL, D.G.; KNAPP, J.L.; PEÑA, J.E. BROWNING, H.W.; STANSLY, P.A. Classical biological control of the citrus leafminer. **Citrus & Vegetable Proceedings**, n.109, p.20-25, 1997.
- HUANG, M.D.; LI, S.X. **Studies on the integrated management of Citrus insect pest**. Guangzhou: Academic Book & Periodical Press, 1989, p.84-89. The damage and economic threshold of Citrus leaf miner, *Phyllocnistis citrella* Stainton to *Citrus*.
- HUANG, M.L.; LU, Y.S.; QIU, Z.S.; ZHOU, Q.M.; MEN, Y.J.; LIN, S.G. Life history of *Phyllocnistis citrella* Stainton, and its occurrence. **Acta Phytophylactica Sinica**, v.16, p.159-162, 1989a.
- HUANG M.D.; DHENG, C.X.; LI S.X.; MAI, X.H.; TAN, W.C.; SZETU, J. Studies on population dynamics and control strategy of the citrus leafminer. **Acta Entomologica Sinica**, v.32, p.58-67, 1989b.
- HUMMEL, H. E.; GASTON, L.K.; SHOREY H.H.; BYRNE, K.J., SILVERST, R. M. Clarification of chemical status of pink bollworm sex pheromone, **Science**, v. 181, n. 4102, p. 873-875, 1973.
- HUTSON, J.C.; PINTO, M.P.D. Two caterpillar pests of citrus. **Tropical Agriculturist**, v.83, p.188-193, 1934.

- JACAS, J.A.; GARRIDO, A. Differences in the morphology of male and female of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, v.79, n.4 p.603-606, 1996.
- JACOBSON, M.; REDFERN, R.E.; JONES, W.A.; ALDRIDGE, M.H. Sex pheromone of the southern armyworm moth: isolation, identification and synthesis. **Science**, v. 170, p. 542-544, 1970.
- JACOBSON, M. **Insect attractant**. New York: Academic Press, 1972.
- JUNG, C. H.; BOO, K. S. Sexual behavior and sex pheromone gland of the apple leafminer, *Phyllonorycter ringoniella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Korean Journal of Applied Entomology**, v.36, n.4, p.323-330, 1997.
- KARLSON, P.; LÜSCHER, M. Pheromones, a new term for a class of biologically active substances. **Nature**, v.183, p. 55-56, 1959.
- KNAPP, J.; PEÑA, J.; STANSLY, P.A.; HEPPNER, J.; YANG, Y. **The citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, a new pest of citrus in Florida**. Orlando: Cooperative Extension Service, 1994, 4p.
- KNAPP, J.L.; ALBRIGO, L.G.; BROWNING, H.W.; BULLOCK, R.C.; HEPPNER, J.B.; HALL, D.G.; HOY, M. A., NGUYEN, R.; PEÑA, J.E.; STANSLY, P.A. **Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton: current status in Florida**. Gainesville: Florida Cooperative Extensive Service-Institute of Food and Agricultural Science. 1995. p.1-35.
- LANDOLT, P.J.; HEATH, R.R. Sexual role reversal is mate-finding strategies of the cabbage looper moth. **Science**, v.249, p. 1026-1028, 1990.

- LEAL, W.S.; YADAVA, C.P.S.; VIJAYVERGIA, J.N. Agregation of the scarab beetle *Holotrichia consanguinea* in response to female-released suggests secondary function hypothesis for semiochemical. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, p. 1557-1566, 1996.
- LEAL, W.S., J.M.S. BENTO, Y. MURATA, M. ONO, J.R.P. PARRA, E.F. VILELA. Identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone of the citrus fruit borer *Ecdytolopha aurantiana* (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, n.10, p. 2041-2051, 2001.
- LIMA-FILHO, M. & RISCADO, G.M. Utilização de pupas fêmeas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) em armadilhas de feromônio sexual. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.17, p. 29-43, 1988.
- LINGREN, P.D.; HENNEBERRY, T.J.; BARIOLA, L.A., Nocturnal behavior of adult cotton leafperforators in cotton. **Annals of Entomological Society of America**, Lanham, v. 73, n. 1, p. 44-48, 1980.
- LOECK, A.E.; BERTOLDI, L.H.M.; SALLES, L.A.B. DE. Dinâmica populacional e estimativa do número de gerações de *Grapholita molesta* (Lepidoptera, Tortricidae) na região de Pelotas, RS. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 20, p. 183-192, 1991.
- LOURENÇÃO, A.L.; MÜLLER, G.W.; PRATES, H.S. "Minador das folhas dos citros": praga exótica potencialmente importante para a citricultura brasileira. Cordeirópolis, **Laranja**, v. 15, n. 2, p. 397-404, 1994.
- MACEDO, N.; BOTELHO, P. S. M.; RUBIM, C. A. Eficácia de inseticidas no controle da lagarta minadora dos citros. **Laranja**, v.17, n. 1, p.31-39, 1996.

- MICHEREFF, M.F.F. Comportamento reprodutivo do bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae). Viçosa, 2000. 46 p. Dissertação (M.S.) - Universidade Federal de Viçosa.
- MOZURAITIS, R.; BORG-KARLSON, A. K.; BUDA, V.; IVINSKIS, P. Sex pheromone of the spotted tentiform leaf miner moth *Phyllonorycter blancardella* (Fabr.) (Lep., Gracillariidae). **Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie**, v.123, n.10, p.603-606, 1999.
- MOZURAITIS, R.; BUDA, V.; JONUSAITE, V.; BORG-KARLSON, A. K.; NOREIKA, R. Sex pheromones of *Phyllonorycter acerifoliella* and *Ph. heegerella* and communication peculiarities in three species of leafmining moths. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, v.94, n.1, p.15-23, 2000.
- NASCIMENTO, A.S.; VIDAL, C.A.. Ocorrência de parasitóides e local de preferência para desenvolvimento da larva do minador das folhas dos citros *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856, em Cruz das Almas, BA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., Rio de Janeiro, 1998. **Resumos**. Rio de Janeiro: SEB, 1998. p. 324.
- NEALE, C.; SMITH, D.; BEATTIE, G. A. C.; MILES, M. Importation, Host-Specificity Testing, Rearing and Release of 3 Parasitoids of *Phyllocnistis-citrella* Stainton (Lepidoptera, Gracillariidae) in Eastern Australia. **Journal of the Australian Entomological Society**, v.34, p.343-348, 1995.
- PANDEY, N.D.; PANDEY, Y.D. Bionomics of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Indian Journal of Entomology**, v.26, p.417-426, 1964.

PARRA, J.R.P.; CHAGAS, M.C.M.; GRAVENA, S., MILANO, P.; PARRA, A.L.G.C.; NASCIMENTO, A. M.; LEÃO, H. C de; FIALHO, A. *Ageniaspis citricola*: visão geral, três anos após sua introdução. In: SICONBIOL–SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7., Poços de Caldas, 2001. **Resumos**. Poços de caldas, 2001. p. 20.

PEÑA, J.E.; DUNCAN, R. Control of Citrus Leafminer in Flórida. **Proceedings Florida State Horticultural Society**, p. 47-51, 1993.

PEÑA, J.E.; DUNCAN, R.; BROWNING, H. Seasonal abundance of *Phyllocnistis citrella* (Lep.: Gracilariidae) and its parasitoids in South Florida citrus. **Environmental Entomology**, v.25, n.3, p.698-702, 1996.

PENTEADO-DIAS, A.M.; GRAVENA, S.; PAIVA, P.E.B.; PINTO, R.A. Parasitóides de *Phyllocnistis citrella*, Stainton (Lepidoptera; Gracillariidae) no Estado de São Paulo. **Laranja**, v.18, n. 1, p. 79-84, 1997.

PHELAN, P.L. Evolution of sex pheromones and the role of asymmetric tracking. In: ROITBERG, B.D.; M.B. ISMAN (Ed.). **Insect chemical ecology: an evolutionary approach**. New York: Chapman & Hall, 1992. p. 265-314.

PIRES, C.S.S.; VILELA, E.F. & VIANA, P.A. Comportamento de fêmeas de *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) associado a liberação de feromônio sexual. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 23, p 1-12, 1994.

PRATES, H.S.; NAKANO, O.; GRAVENA, S.A “minadora das folhas de citros” *Phyllocnistis citrella*, Stainton, 1856. Campinas: CATI, 1996. 3p. (CATI. Comunicado Técnico, 129).

- PRUVOST, O.; VERNIÈRE, C.; HARTUNG, J.; GOTTWALD, T.R.; QUETELARD, H. Towards an improvement of citrus canker control in Reunion island. **Fruits**, v.52, p. 375-382, 1997.
- RADKE S.G.; KANDALKAR, H.G. Bionomics of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). **PKV Research Journal**, v.11, p.91-92, 1987.
- RAGA, A.; CERAVOLO, L. C.; SOUZA FILHO, M. F. D.; MONTES, S.; ROSSI, A. C.; SATO, M. E.; DE SOUZA FILHO, M. F. E feitos de inseticidas sobre *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep.: Gracillariidae) em laranja Pera (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Revista de Agricultura**, v. 73, n.1, p.142-151, 1998.
- RODRIGUES, J. C. V., PRATES, H. S., MATTOS JUNIOR, D., MÜLLER, G. W., CARVALHO, S. A. Controle químico da lagarta minadora dos citros em borbulheiras de laranja doce. **Laranja**, v.18, n.1, p.79-84, 1997.
- ROTHSCHILD, G.H. & MINKS, A.K.1975. Time of activity of male oriental fruit moths at pheromone sources in field. **Environmental Entomology**, v. 3, n. 6, p. 1003-1007, 1974.
- SÁ, L.A.N. de; COSTA, V.A.; De NARDO, E.A.B.; ARELLANO, F.; FUINI, L.C. Parasitismo da larva minadora da folha dos citros, *Phyllocnistis citrella*, no município de Jaguariúna, SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., Rio de Janeiro, 1998. **Resumos**. Rio de Janeiro: SEB, 1998. p. 65.

- SÁ, L. A. N. D.; COSTA, V. A.; OLIVEIRA, W. P. D.; ALMEIDA, G. R. D.; DE SA, L. A. N.; DE OLIVEIRA, W. P.; DE ALMEIDA, G. R. Survey of parasitoids of *Phyllocnistis citrella* in Brazil. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PESTS IN AGRICULTURE, Montpellier, 1999. **Proceedings**. Montpellier, 1999. p. 287-293.
- SALLES, L.A.B.; MARINI, L.H. Avaliação de uma formulação de feromônio de confundimento no controle de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 18, p. 329-336, 1989.
- SAUNDERS, D.S. **Insect clocks**. Oxford: Pergamon Press, 1982. 409 p.
- SCARIAS, E. N.; CANALES, A.C. *Agéniaspis citricola* controlador del minador de la hoja de los cítricos: **experiencia Peruana**. Lima: Serviço Nacional de Sanidad Agraria, SENASA, 1999. 88 p.
- SHEARER, P. W.; RIEDL, H. Comparison of Pheromone Trap Bioassays For Monitoring Insecticide Resistance of *Phyllonorycter elmaella* (Lepidoptera, Gracillariidae). **Journal of Economic Entomology**, v.87, n.6, p.1450-1454, 1994.
- SHOREY, H.H. Environmental and physiological control of insect sex pheromone behavior. In: BIRCH, M.C. (Ed.). **Pheromones**. Amsterdam: North Holland, 1974. p. 22-80.
- SHOREY, H.H.; GASTON, L.K.; Sex pheromone of noctuid moths. III. Inhibition of males responses to the Sex pheromone of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Entomological Society of America** , v. 57, p. 775-779, 1964.

- SHOREY, H.H.; MORIN, L.K.; GASTON, L.K. Sex pheromone of noctuid moths. XV. Timing of development of pheromone-responsiveness and other indication of reproductive age in males of eight species. **Annals of Entomological Society of America**, v. 61, p. 857-861, 1968.
- SILVEIRA-NETO, S.; PRECETTI, A.A.C.M.; BRAZ, A.J.B.P. & SANTOS, P.E.T.. Flutuação populacional de *Grapholita molesta* (Busck) (Lep., Olethreutidae) em pessegueiro e nectarina, com o uso de feromônio sexual sintético. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 10, p. 43-49, 1981.
- SINGH, B.P. Studies on the bionomics and control of citrus leaf miner *Phyllocnistis citrella* Stainton. **Pesticides**, v.18, p.46-50, 1984.
- SMITH, J.M.; HOY, M.A. Rearing methods for *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Cirrospilus quadristriatus* (Hymenoptera: Eulophidae) released in a classical biological control program for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, v.78, n.4, p.601-608, 1995.
- STOCKEL, J. PEYPELUT, L. Importance of Protandry in Effectiveness of Using Pheromone Traps to Estimate the Numerical Importance of Males of the European Corn-Borer *Ostrinia-Nubilalis* (Lep Pyralidae). **Oecologia Applicata**, v. 5, n. 3, p. 235-243, 1984.
- SUBBA RAO, B.R.; RAMAMANI, S. Biology of *Cirrospiloides phyllocnistoides* (Narayanan) and description of a new species, *Scotolinx quadristriata* (Hymenoptera: Eulophidae) as parasites of *Phyllocnistis citrella* Stainton. **Indian Journal of Entomology**, v.27, p.408-413, 1965.

- SVATOS, A.; KALINOVA, B.; HOSKOVEC, M.; KINDL, J.; HOVORKA, O.; HRDY, I. Identification of a new lepidopteran sex pheromone in picogram quantities using an antennal biodetector: (8E,10Z)-tetradeca- 8,10-dienal from *Cameraria ohridella*. **Tetrahedron Letters**, v.40, n.38, p.7011-7014, 1999.
- SVATOS, A.; ATTYGALLE, A.B.; JHAM, G.N.; FRIGHETTO, R.T.S.; VILELA, E.F.; SAMAN, D.; MEINWALD, J. Sex pheromone of tomato pest *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Chemical Ecology**, v.2, p. 787-800, 1996.
- TERAN, F.O.; REZENDE, L.C.L. Tentativas de controle da broca com feromônio na Usina São João. **Boletim Técnico Copersucar**, v. 37, p. 19-26, 1987.
- TERAN, F.O.; KASTER JR., P.; HENRIQUE, B.C.; VITO, F.D. Melhorias na captura maciça de machos da broca em armadilhas de feromônio natural. **Boletim Técnico Copersucar**, v. 32, p. 42-51, 1985.
- THORNHILL, R., ALCOCK, J. **The evolution of insect mating systems**. London: Harvard University Press, 1983. 547 p.
- TILLMAN, J.A.; SEYBOLD, S.J.; JURENKA, R.A.; BLOMQUIST, G.J. Insect pheromones – an overview of biosynthesis and endocrine regulation. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 29, p. 481-514, 1999.
- TURGEON, J.J.; McNEIL, J.N.; ROELOFS, W.L. Responsiveness of *Pseudaletia unipuncta* males to the female sex pheromone. **Physiological Entomology**, v. 8, p. 339-344, 1983.

- UCHOA-FERNANDES, M.A.; VILELA, E.F. Field trapping of the tomato worm, *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) using virgin females. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 23, p. 271-276, 1994.
- UCHOA-FERNANDES, M.A.; DELLA LUCIA, T.M.C.; VILELA, E.F. Mating, oviposition and pupation of *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyr.) (Lepidoptera: Gelechiidae) using virgin females. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, p. 159-164, 1995a.
- UCHOA-FERNANDES, M.A.; VILELA, E.F.; DELLA LUCIA, T.M.C. Ritmo diário de atração sexual em *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 55, p. 67-73, 1995b.
- UJIYE, T. Parasitoid complex of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Phyllocnistidae) in several citrus-growing districts of Japan. **Proceedings of the Association for Plant Protection of Kyushu**, v.34, p.180-183, 1988.
- UJIYE, T. Studies on the utilization of a sex attractant of the citrus leafminer moth, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Phyllocnistidae). 1. Analysis of seasonal populations trends and some behavioural characteristics of the male moth by the use of synthetic Sex attractants in the field. **Bulletin of the Tree Research Station**, v. 18, p. 19-46, 1990.
- UNELIUS, C.R.; EIRAS, A.; WITZGALL, P.; BENGTTSSON, M.; KOVALESKI, A.; VILELA, E.F. & BORG-KARLSON, A.K. Identification and synthesis of the sex pheromones of *Phtheochroa cranaodes* (Lepidoptera: Tortricidae). **Tetrahedron Letters**, v.37, p.1505-1508, 1996.

- VICK, K.W.; SU, H.C.F.; SOWER, L.L.; MAHANY, O.G.; DRUMMOND, P.C. (Z-E)- 7,11-Hexadecadien-1-ol acetate-Sex-pheromone of angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella*, **Experientia**, v. 30, n. 1, p. 17-18, 1974.
- VILELA, E.F. Aplicação da biotecnologia no controle de pragas. **Biotecnologia**, v.19. p. 4, 1988.
- VILELA, E.F.; DELLA LUCIA, T.M.C. **Feromônios de Insetos**: biologia, química e emprego no manejo de pragas. Viçosa: UFV, 1987. 155 p.
- VILELA, E.F.; DELLA LUCIA, T.M.C. Introdução aos semioquímicos e terminologia. In: In: VILELA, E.F.; DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed). **Feromônios de insetos**: biologia, química e aplicação. 2 ed. Ribeirão Preto: Holos 2001. p. 9-12.
- VILELA, E.F.; REIS Jr., R. (Ed.) **FEROBIO**: desenvolvimento e uso de feromônios e produtos biológicos no controle de pragas. Viçosa: 2001, 127p.
- WILLIS, M.A.; BIRCH, M.C. Male lek formation and female calling in a population of the arctiid moth, *Estigmene acrea*. **Science**, v. 218, p. 68-70, 1982.
- WILSON, C.G. Notes on *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Phyllocnistidae) attacking four citrus varieties in Darwin. **Journal of the Australian Entomological Society**, v.30, p.77-78, 1991.

YAMAMOTO, P. T., ROBERTO, S. R., PRIA JR, W.D. Inseticidas sistêmicos aplicados via tronco para controle de *Oncometopia facialis*, *Phyllocnistis citrella* e *Toxoptera citricida* em citros. **Scientia Agricola**, v. 57, n.3, p. 415-420, 2000.

YEN, Y. P. CHANG, C. Y. Synthesis of the Sex Attractant (7z,11z)-Hexadecadienal of the Citrus Leafminer Moth, *Phyllocnistis citrella* Stainton. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v.38, n. 1, p. 293-295, 1991.

ZONNEVELD, C. Being big or emerging early? Polyandry and the trade-off between size and emergence in male butterflies. **American-Naturalist**, v.149, n.6, p. 946-965, 1997.