

RONALDO REIS JÚNIOR

**INTERFERÊNCIA ENTRE VESPAS E PARASITÓIDES DE
Leucoptera coffeella (GUÉRIN-MÉNEVILLE)
(LEPIDOPTERA: LYONETIIDAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das Exigências do Curso de Entomologia, para obtenção do título de “Magister Scientiae”

Viçosa
Minas Gerais - Brasil
Novembro – 1999

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Animal, pela oportunidade de realização do curso.

Ao conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador e amigo, Evaldo Ferreira Vilela, pelo incentivo e pela confiança depositada em mim desde o início do curso.

Aos amigos, Eraldo Lima e Og F. F. DeSouza, pelas preciosas críticas e ensinamentos na pesquisa e no ensino em entomologia.

Aos colegas e amigos do laboratório, por tornar possível momentos de discussões científicas, que ajudaram no melhor entendimento de todo o trabalho.

À toda minha família, pelo apoio que me foi dado, e ao meu filho Lucas, por ter deixado eu trabalhar com sua alegria.

BIOGRAFIA

RONALDO REIS JÚNIOR, filho de Ronaldo Reis e Enilda Cardoso Reis, nasceu em Tatuí, SP, em 04 de setembro de 1973.

Em 1997, graduou-se em Ciências Biológicas, pela Universidade Federal de Viçosa.

Durante a graduação trabalhou como estudante de iniciação científica no Laboratório Feromônio de Insetos - Bioagro, sob orientação do Prof. Evaldo Ferreira Vilela.

Em agosto de 1997, iniciou o Curso de Mestrado em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa, vindo a defender tese em julho de 1999

CONTEÚDO

EXTRATO	v
ABSTRACT	vii
INTRODUÇÃO	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
INTERFERÊNCIA ENTRE VESPAS E PARASITÓIDES DE <i>Leucoptera coffeella</i> (GUÉRIN-MÉNEVILLE) (LEPIDOPTERA: LYONETIIDAE).....	9
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
INTRODUÇÃO	13
MATERIAL E MÉTODOS	15
RESULTADOS.....	17
DISCUSSÃO	20
LITERATURA CITADA.....	24
MÉTODO PARA MANUTENÇÃO DE FOLHAS DE CAFÉ IN VITRO PARA CRIAÇÃO MASSAL DE <i>Leucoptera coffeella</i> (GUÉRIN-MÉNEVILLE) (LEPIDOPTERA LYONETIIDAE)	25
RESUMO.....	25
ABSTRACT.....	27
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS	31
RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
LITERATURA CITADA.....	38

EXTRATO

REIS JR., Ronaldo, M.S., Universidade Federal de Viçosa, Novembro de 1999. **Interferência entre vespas e parasitóides de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae)**. Orientador : Evaldo Ferreira Vilela. Conselheiros: Og F. F. de Souza e José Henrique Schoereder.

Importante praga do café, o bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella*, tem vários inimigos naturais, ocorrendo naturalmente no campo, a maioria são parasitóides e vespas. Vários trabalhos realizados neste sistema consideram as vespas mais efetivas no controle biológico natural de *L. coffeella* que os parasitóides. Quais seriam os fatores responsáveis pelos parasitóides não controlarem as populações de *L. coffeella*? As vespas podem estar dificultando a atuação dos parasitóides através de competição ou predação intergilda. Neste trabalho, encontramos que vespas e parasitóides não têm seus efeitos somados no cálculo do controle de *L. coffeella*. Vespas são responsáveis, pelo menos em parte, pela baixa eficiência dos parasitóides no controle biológico de *L. coffeella*. Apesar deste fato, não podemos afirmar que ao retirar as vespas do sistema, *L. coffeella*

deixe de ser praga, pois existem outros fatores envolvidos que ainda não foram quantificados. Maiores estudos sobre aspectos da ecologia, biologia e comportamento devem ser realizados. Para isto, tem-se a necessidade de estabelecer uma criação massal de *L. coffeella* para criar parasitóides. A criação tradicional apresenta alguns inconvenientes. Por isso, desenvolvemos uma nova metodologia de criação massal de *L. coffeella* usando folhas de café *in vitro*. A dificuldade desta criação *in vitro* era manter as folhas destacadas vivas por tempo suficiente ao desenvolvimento completo do inseto. Este tempo foi aumentado utilizando-se de uma reposição hormonal. Os hormônios testados foram Benziladenina e Cinetina nas concentrações de 10^{-7} e 10^{-6} M. Não houve diferença significativa entre as concentrações testadas com folhas sadias. No entanto, a concentração de 10^{-6} M está sendo utilizada em nosso laboratório por ter melhores resultados práticos com folhas minadas.

ABSTRACT

REIS JR., Ronaldo, M.S., Universidade Federal de Viçosa, 1999 July.
Interference between Wasps and Parasitoids of *Leucoptera coffeella* (Guérin-Ménéville) (Lepidoptera: Lyonetiidae).
adviser: Evaldo Ferreira Vilela. Committee members: Og F. F. De Souza and José Henrique Schoederer.

Important pest of the coffee, the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella*, has several natural enemies occurring naturally in the field, most is parasitoids and wasps. Several works accomplished in this system consider the most effective wasps in the natural biological control of *L. coffeella* that the parasitoids. Which would the responsible factors be for the parasitoids they control not the populations of *L. coffeella*? The wasps can be hindering the performance of the parasitoids through competition or interguild predation. In this work, we found that wasps and parasitoids don't have its effects summed in the calculation of the control of *L. coffeella*. Wasps are responsible, for the same ones partly, for the low efficiency of the parasitoids in the biological control of *L. coffeella*. In spite of this fact, we cannot affirm that when removing the wasps of the

system, *L. coffeella* stops being pest, because they exist other involved factors that yet were not quantified. Larger studies about aspects of the ecology, biology and behavior, they should be accomplished. For this, the need is had of establishing a mass rearing of *L. coffeella* to create parasitoids. The traditional rearing presents some inconveniences. For this reason, we developed a new methodology of mass rearing of *L. coffeella* using leaves of coffee *in vitro*. The difficulty of this rearing *in vitro* was to maintain the alive detached leaves for sufficient time to the complete development of the insect. This time was increased being used of a hormonal replacement. The tested hormones were Benzyladenin and Kinetina in the concentrations of 10^{-7} and 10^{-6} M. There was not significant difference among the concentrations tested with healthy leaves. However, the concentration of 10^{-6} M is being used in our laboratory by having better practical results with mined leaves.

INTRODUÇÃO

O controle de insetos exclusivamente com o uso de inseticidas químicos, embora uma solução rápida e fácil, eleva os custos de produção, causa graves intoxicações e degrada o meio ambiente (METCALF, 1980). Estes problemas exigiram a reavaliação da filosofia do controle de pragas, resultando no nascimento da era do Manejo Integrado de pragas (MIP). Em decorrência, vem sendo feito um enorme esforço na busca de medidas alternativas ao controle químico, que possam ser empregadas de modo adequado nos programas de MIP.

Atualmente, o MIP tem sido visto com maior complexidade, não simplesmente como integração de métodos de controle de pragas, mas como manejo integrado do ecossistema (MIE). Neste manejo, são trabalhadas questões envolvendo não só o sistema tritrófico (planta-praga-parasitóide), mas a teia multitrófica, considerando que as relações entre os organismos não se processam em direções únicas e lineares (LEWIS et al., 1997).

Cultura de extrema importância para o estado de Minas Gerais, o café sofre grandes prejuízos com o ataque de insetos-praga. A melhoria da qualidade do processo produtivo, com conseqüente diminuição dos custos de produção e da poluição agrícola, exige o desenvolvimento de novas técnicas e estratégias para o manejo das pragas que atacam a cultura do café.

O bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Meneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) é considerada praga importante do cafeeiro no Brasil, mais especificamente em Minas Gerais, devido a sua ocorrência generalizada nos cafezais e aos prejuízos econômicos causados.

A utilização de parasitóides no controle populacional de pragas, em geral, vem se consagrando como uma estratégia ecologicamente viável, reduzindo significativamente a aplicação de inseticidas (DEGRANDIHOFFMAN et al., 1994; SMITH, 1994; COLAZZA E BIN, 1995). No entanto, estudos a respeito das interações café x bicho-mineiro-do-cafeeiro x parasitóides e a interação deste sistema com outros são ainda em número irrisório, não permitindo conhecer as reais possibilidades da utilização de inimigos naturais no MIE desta cultura.

Foi verificado por AVILÉS (1991), em condições naturais na região de Viçosa, MG, a presença de cerca de nove espécies de parasitóides micro-himenópteros que atacam o bicho-mineiro-do-cafeeiro. Destas espécies, algumas têm boa representatividade, sendo os três parasitóides com maior abundância: *Viridipyge letifer* (Mann), *Chironotomya coffeae* (Ihering) e *Myrax insularis* (Ihering).

Apesar da abundância de espécies de inimigos naturais, muito pouco se conhece a respeito da biologia, ecologia e comportamento das mesmas. A ausência de estudos a respeito destes agentes

controladores tem causado controvérsias a respeito do real papel dos parasitóides no controle populacional desta praga. Vários autores, dentre eles GONÇALVES et al. (1975) e SOUZA (1979), têm considerado que a participação de parasitóides no controle do bicho-mineiro-do-cafeeiro é relativamente pequena, atribuindo maior participação no controle às vespas predadoras, ainda que não suficiente para um controle efetivo. Outros autores, dentre eles KONNOROVA (1985, 1986), CAMPOS et al. (1989) e AVILÉS (1991), consideram que os parasitóides devem exercer uma participação mais efetiva no controle, podendo a avaliação da predação estar sendo superestimada. As vespas podem estar predando somente as lagartas parasitadas, uma vez que costumam deixar lagartas de bicho-mineiro-do-cafeeiro vivas na folha (AVILÉS, 1991). Todos os trabalhos sobre eficiência de parasitóides do bicho-mineiro-do-cafeeiro foram feitos no campo, e consideraram o complexo de parasitóides juntamente com os predadores, não isolando os fatores visando a melhor compreensão do sistema. Este tipo de estudo pode estar subestimando o papel de determinados parasitóides, visto que eles estão sujeitos a ação predatória e competitiva de vespas e outros parasitóides, bem como a possibilidade do envolvimento de hiperparasitóides. Além dos parasitóides poderem estar sujeitos à ação predatória das vespas, é possível que elas não sejam os únicos fatores responsáveis pela baixa atuação dos parasitóides. Outros fatores intrínsecos ou extrínsecos à guilda de parasitóides podem ter efeito.

Portanto, para utilização eficiente de agentes de controle biológico em programas de manejo integrado de ecossistemas (MIE), é necessário conhecer quais as potencialidades biológicas de cada organismo envolvido e quais os fatores limitantes a sua atuação.

Em conseqüência, as perguntas que surgem são: por que os parasitóides não são capazes de controlar as populações de bicho-mineiro-do-cafeeiro? Quais são os fatores limitantes da sua atuação? Algumas hipóteses poderão ser testadas e várias outras fornecidas para estas questões.

É sabido que as vespas ao se alimentarem de uma mina deixam lagartas vivas e sadias na mina (AVILÉS, 1991). Se nem todas as lagartas de uma mina são utilizadas, é possível que exista uma escolha das lagartas que serão predadas. Esta escolha pode ser simplesmente pelo fato da posição em que se encontra a lagarta, por exemplo no centro da mina, ou por algum sinal que facilite o seu encontro.

Então, a hipótese a ser testada é que as vespas predadoras são responsáveis, pelo menos, em parte, pela baixa atuação dos parasitóides e conseqüente ineficiência destes no controle do bicho-mineiro-do-cafeeiro.

Se realmente esta hipótese for verdadeira, as vespas podem estar atuando indiretamente como predadoras de parasitóides ou diretamente competindo com estes. Como as vespas poderiam competir com os parasitóides? Uma característica importante para que exista competição entre dois organismos, é que eles explorem os mesmos recursos e estes sejam de alguma forma limitados. Esta limitação pode ser quantitativa envolvendo quantidade de recurso disponível, ou qualitativa envolvendo a qualidade deste (idade das lagartas, tamanho das lagartas). É importante ressaltar que mesmo existindo recurso em abundância na região como um todo, é possível que apenas uma parte esteja disponível qualitativamente, ou mesmo quantitativamente, se existir por exemplo; preferências por extratos da planta. No caso das vespas não competirem com os parasitóides,

por não existir nenhuma das limitações acima ou porque os parasitóides chegam ao recurso primeiro, elas podem estar atuando como predadoras dos parasitóides através das lagartas parasitadas. Mas por que vespas iriam escolher lagartas parasitadas? Talvez não prefiram, mas esta predação poderia ocorrer pelo simples fato da localização da lagarta. Como a movimentação das lagartas se dá do centro para a periferia, uma lagarta parasitada pode vir a ficar imóvel na região mais central em relação às não-parasitadas. Com isto, poderiam ser mais facilmente localizadas pelas vespas. É possível que as lagartas parasitadas sejam predadas simplesmente pelo fato de que a maioria das lagartas disponíveis estaria parasitada. Como as vespas atuam mais freqüentemente na época em que a população de bicho-mineiro é menor (temperatura mais elevada) (AVILÉS, 1991), a situação pode se agravar, pois, no momento em que a população do bicho-mineiro começa a crescer, os parasitóides estariam populacionalmente abaixo de um número necessário ao controle da praga. Outra possibilidade é a lagarta parasitada liberar um odor ou ter algum comportamento que facilite a sua localização pelas vespas.

Para que este trabalho possa ser continuado e aprofundado no futuro, é necessário estabelecer uma criação massal de bicho-mineiro em laboratório para que se possa criar os parasitóides. A metodologia tradicional de criação de *L. coffeella* apresenta inconvenientes e limitações (Figura 1), os quais acarretam um segundo objetivo para este trabalho, que foi a procura de uma nova metodologia de criação, sem os problemas encontrados na metodologia tradicional.

Os artigos aqui contidos foram elaborados seguindo as normas dos Anais da Sociedade Brasileira de Entomologia.

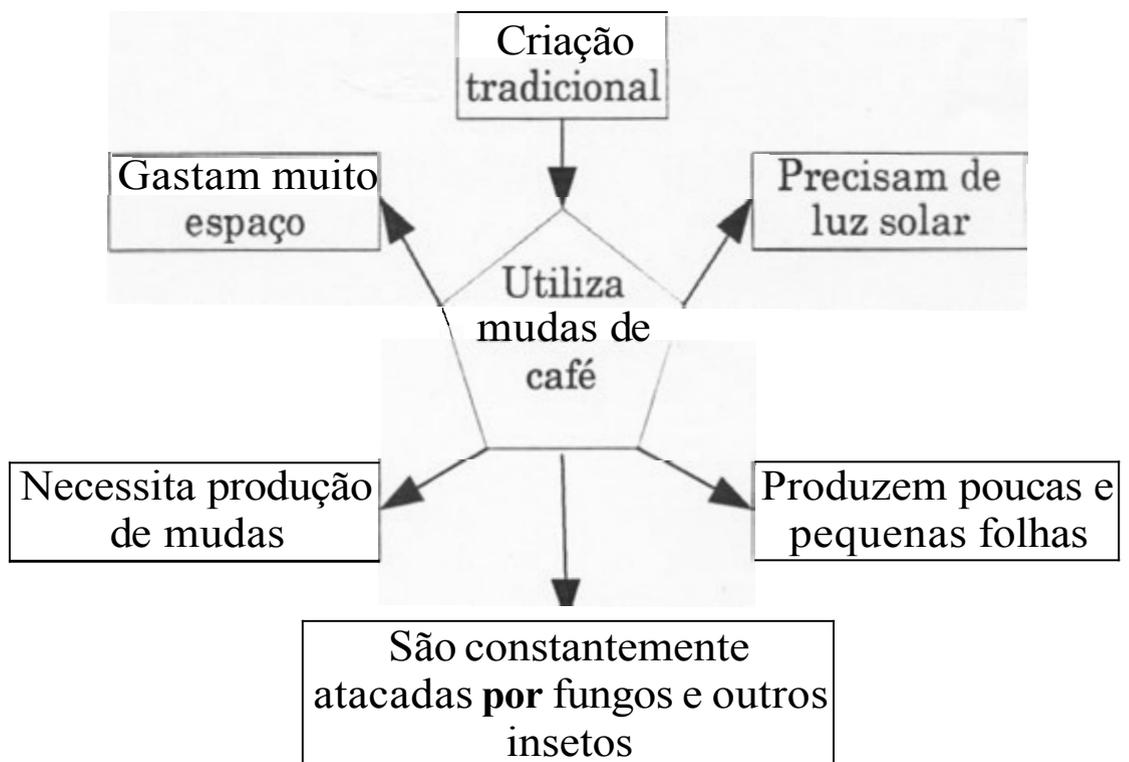


Figura 1. Problemas geralmente enfrentados quando da utilização da metodologia tradicional de criação massal de *Leucoptera coffeella*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVILÉS, D.P. **Avaliação das populações de bicho-mineiro do cafeeiro *Perileuoptera coffeella* (Lepidoptera:Lionetiidae) e seus parasitóides e predadores: Metodologias de estudo e flutuação estacional.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 126p. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Universidade Federal de Viçosa, 1991.
- CAMPOS, O.G., B. DECAZY & E. CARRILLO. Dinámica poblacional del minador de la hoja del cafeto *Leucoptera coffeella* y sus enemigos naturales en la zona de nuevos San Carlos, Retalhuleu, Guatemala. **Turrialba**, v.39, p. 393-399, 1989.
- COLAZZA, S. & F. BIN. Efficiency of *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae) as an egg parasitoid of *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae) in central Italy. **Environmental Entomology**, v.24, p. 1703-1707, 1995.
- DEGRANDIHOFFMAN, G., J. DIEHL, D.H. LI, L. FLEXNER, G. JACKSON, W. JONES & J. DEBOLT. Biocontrol-Parasite : Parasitoid-Host and Crop Loss Assessment Simulation Model. **Environmental Entomology**, v.23, p. 1045-1060, 1994.
- GONÇALVES, W., PARRA, J.R.P., SALGADO, W.L. Dois predadores de lagartas do bicho-mineiro (Guérin:Meneville, 1842). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, v.3, 1975. Anais..., 1975. p.96.

- KONNOROVA, E. Parasitación de las orugas y crisálidas de *Leucoptera coffeella* sin síntomas aparentes. **Ciencia y Técnica en Agricultura**, v.7, p. 19-24, 1985.
- KONNOROVA, E. Parasitación de las orugas y crisálidas vivas sanas a simple vista de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Ciencia y Técnica en Agricultura**, v.8, p. 31-41, 1986.
- LEWIS, W.J., J.C. VAN LENTEREN, S.C. PHATAK & J.H. TUMLINSON. A total system approach to sustainable pest management. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.94, p. 12243-12248, 1997.
- METCALF, R.L. Changing role of insecticides in crop protection. **Annual Review of Entomology**, v.25, p. 219-256, 1980.
- SMITH, L. Computer simulation model for biological control of maize weevil by the parasitoid *Anisopteromalus calandrae*. Proceedings of the 6th International Working Conference on Stored-Product Protection 2, 1147-1151. **Proceedings of the 6th International Working Conference on Stored-Product Protection**, v.2, p. 1147-1151, 1994.
- SOUZA, J.C. Levantamento, identificação e eficiência dos parasitos e predadores do "bicho mineiro" das folhas do cafeeiro *Perileuoptera coffeella* (Guèrin-Meneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae) no estado de Minas Gerais. Piracicaba: ESALQ\USP, 1979. 91p. Tese (Doutorado em Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1979.

Interferência entre vespas e parasitóides de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae)

RESUMO

Importante praga do café, o bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella*, tem vários inimigos naturais ocorrendo naturalmente no campo, a maioria são parasitóides e vespas. Vários trabalhos realizados neste sistema consideram as vespas mais efetivas no controle biológico natural de *L. coffeella* que os parasitóides. Quais seriam os fatores responsáveis pelos parasitóides não controlarem as populações de *L. coffeella*? Existem vários fatores possíveis, um deles são as vespas estar dificultando a atuação dos parasitóides através de competição ou predação intergilda. Neste trabalho, encontramos que vespas e parasitóides não têm seus efeitos somados no cálculo do controle de *L. coffeella*. Vespas são responsáveis, pelo menos em parte, pela baixa eficiência dos parasitóides no controle biológico de *L. coffeella*. A interação entre vespas e parasitóides não é uma simples competição ou predação, e sim um amensalismo, onde os parasitóides são sempre prejudicados e as vespas não sofrem interferência dos parasitóides. A interação entre vespas e *L. coffeella*, considerada uma predação, pode ser um mutualismo indireto, onde vespas beneficiariam sua presa com a eliminação dos parasitóides. Este sistema pode não ser o mesmo nas épocas em que a população de *L. coffeella* é alta. Portanto, o período crítico para os parasitóides é quando a população da praga está baixa. Então, é possível que populações muito baixas de *L. coffeella* provoquem uma explosão

populacional da praga em um momento posterior. Apesar destes fatos, não afirma-se que, ao retirar as vespas do sistema, *L. coffeella* diminua, pois existem outros fatores envolvidos que ainda não foram quantificados.

Interference between wasps and parasitoids of *Leucoptera coffeella* (Guérin-Ménéville) (Lepidoptera: Lyonetiidae)

ABSTRACT

Important pest of the coffee, the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella*, has several natural enemies occurring naturally in the field, most is parasitoids and wasps. Several works accomplished in this system consider the most effective wasps in the natural biological control of *L. coffeella* that the parasitoids. Which would the responsible factors be for the parasitoids they control not the populations of *L. coffeella*? Several possible factors exist, and one of them is the wasps to be hindering the performance of the parasitoids through competition or interguild predation. In this work, we found that wasps and parasitoids don't have its effects summed in the calculation of the control of *L. coffeella*. Wasps are responsible, for the same ones partly, for the low efficiency of the parasitoids in the biological control of *L. coffeella*. The interaction between wasps and parasitoids is not a simple competition or predation and yes an amensalism, where the parasitoids are always harmed and the wasps don't suffer interference of the parasitoids. The interaction between wasps and *L. coffeella*, considered a predation, it can be an indirect mutualism, where wasps would benefit its prey with the elimination of the parasitoids. This system cannot be the same in the times in that the population of *L. coffeella* is high. Therefore, the critical period for the parasitoids is when the population of the pest is low. Then, it is possible that very low populations of *L. coffeella* cause a populational

explosion of the pest in a posterior moment. In spite of these facts, we cannot affirm that when removing the wasps of the system, *L. coffeella* decreases, therefore they exist other involved factors that yet were not quantified.

INTRODUÇÃO

A utilização de parasitóides no controle populacional de pragas vem se consagrando como uma estratégia ecologicamente viável, contribuindo para a redução significativa de aplicação de inseticidas (Degrandihoffman et al.. 1994, Smith 1994, Colazza & Bin 1995). No entanto, estudos a respeito da interação planta x herbívoro x parasitóide, bem como a interação deste com outros sistemas, são ainda em número irrisório, principalmente em condições neotropicais, não permitindo conhecer as reais possibilidades da utilização de inimigos naturais no manejo de pragas. O não-conhecimento das interações tróficas envolvidas em um dado ecossistema pode resultar em interpretação e utilização desastrosa do controle biológico.

No sistema cafeeiro x *Leucoptera coffeella* x inimigos naturais (vespas e parasitóides) foi verificado por Avilés (1991), em condições naturais na região de Viçosa-MG, a presença de nove espécies de parasitóides himenópteros que atacam *L. coffeella* e duas espécies de vespas predadoras. A ausência de estudos a respeito destes agentes de controle biológico tem gerado controvérsias a respeito do real papel dos mesmos no controle populacional desta praga. Gonçalves *et al.* (1975), Souza (1979) têm considerado a participação de parasitóides no controle do *L. coffeella* como pequena, atribuindo a maior parte do controle exercido às vespas predadoras, ainda que insuficiente para o efetivo controle da praga. Konnorova (1985 e 1986), Campos *et al.* (1989), Avilés (1991) acreditam que os parasitóides devem participar mais efetivamente do controle, podendo a avaliação de predação estar sendo superestimada, uma vez que as minas avaliadas podem estar sendo amostradas acumulativamente e as vespas costumam deixar

lagartas vivas na mina predada, o que sugere que predam somente as lagartas parasitadas (Avilés 1991).

A pergunta então, é: por que os inimigos naturais não são capazes de controlar a população de *L. coffeella*? De modo geral, a resposta quase sempre é que os agentes envolvidos no controle são, naturalmente, ineficientes e que deveria procurar outro mais eficiente para ser introduzido no sistema. Isto pode não resolver, com isso continuaria a procura do inimigo natural ideal. Geralmente, parte-se do princípio que a atuação dos diversos inimigos naturais é sempre uma somatória no controle, o que pode não ser verdade. Normalmente, a relação parece não ser direta, ou seja, não se aumenta a eficiência do controle biológico num sistema com o aumento de espécies de inimigos naturais. Existem, e raramente são consideradas, interações entre estes níveis, tais como competição, predação, ou hiperparasitismo, que podem fazer com que a atuação dos inimigos naturais não sejam conjunta e sim antagônica, acarretando um saldo negativo no controle da praga.

Portanto, para utilização eficiente de agentes de controle biológico em programas de manejo de pragas, é necessário saber como as guildas de inimigos naturais (predadores e parasitóides) interagem; competindo, predando, ou cooperando, e qual o resultado desta interação na população da praga.

O objetivo deste trabalho foi testar a hipótese de que as vespas predadoras (guilda) exercem uma influência negativa sobre os parasitóides (guilda) e caso esta influência exista, qual o mecanismo da interação (predação ou competição).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas três fazendas distintas de café que não receberam aplicação de inseticida para controle da praga em questão. Em cada fazenda foram estabelecidos cinco blocos de 20 plantas cada um, posicionados a maior distância possível em cada região, distância mínima de 100m no sentido paralelo a rua e 50m no sentido transversal a rua. Para se evitar tendências na escolha dos blocos foi utilizado um esquema em X onde se definiu um bloco em cada ponta do X, evitando-se as bordas e um bloco no interior do X. Devido ao tamanho reduzido de uma das fazendas, não foi possível estabelecer os 5 blocos esperados, tendo então o número total de blocos reduzidos para 13. Os blocos foram constituídos das linhas de plantas, pois existe uma maior proximidade entre as plantas, configurando uma maior homogeneidade do bloco, sendo as ruas de café consideradas como uma barreira física à transposição dos insetos, caracterizando uma maior independência das parcelas. Em cada bloco, foram marcadas, com fitas, 80 folhas de café que continham minas de *L. coffeella* não-predadas. Para avaliação, foram coletadas 20 folhas de cada bloco, em quatro períodos de tempo diferentes, visando obter uma maior variação nas idades das minas e, assim, amostrar todos os estágios imaturos de *L. coffeella*. As folhas, levadas ao laboratório, foram avaliadas quanto aos seguintes parâmetros: percentagem de predação por bloco, utilizando-se as minas rasgadas como indicador de predação; percentagem de parasitismo por bloco, obtido através da emergência de parasitóides no laboratório; número de ovos por mina e área da mina, calculada a partir das medidas do menor e maior diâmetro da mina e usando a fórmula de área do círculo.

A predação e o parasitismo foram avaliados, pois são os fatores que podem levar estas duas guildas a se interagirem. O tamanho da mina foi o fator utilizado para avaliar como estas duas guildas exploram o recurso, determinando portanto se existe sobreposição de exploração. O número de ovos é um fator importante de correção na análise de exploração de recurso, pois para isto utilizou-se o tamanho de mina e este pode ser afetado pela idade das lagartas ou pelo número de lagartas por mina.

Com os parâmetros avaliados, pode-se inferir sobre o tipo de interação existente entre vespas e parasitóides, por meio de uma análise da utilização de recursos por ambos, e qual a possível influência desta interação na população da praga. A análise dos dados foi feita utilizando regressão múltipla, regressão logística e regressão simples. O recurso avaliado, neste caso, foi a idade da fase imatura de *L. coffeella*, uma vez que parasitóides, normalmente, exibem preferência por alguma fase em particular e vespas podem se orientar pelo tamanho da mina na folha, que é mais visível.

RESULTADOS

A ação de vespas é inversamente proporcional à ação de parasitóides, quando se aumenta a percentagem de predação na área diminui a percentagem de parasitismo (Tabela 1 e Figura 2). Este resultado, aliado à análise de exploração de recurso, demonstra, realmente, haver uma competição por recurso compartilhado entre vespas e parasitóides, pois existe uma sobreposição de recursos (Figura 3), como Avilés 1991 havia suspeitado. Pode-se observar que a grande maioria dos parasitóides tende a explorar as minas contendo lagartas novas (Figura 3) e os predadores tendem a explorar o recurso um pouco posterior à exploração dos parasitóides, o que é confirmado na (Tabela 2 e Figura 4). Isto caracteriza as vespas como potenciais predadoras destes parasitóides.

Tabela 1 - Análise de Variância da regressão múltipla da interação entre vespas e parasitóides

ANOVA				
FV	GL	SQ	F	P
Predação	1	855,5	5,35	0,05
Fazenda	2	453,78	1,41	0,29
Resíduo	9	1438,59		
Total	12	3266,9		

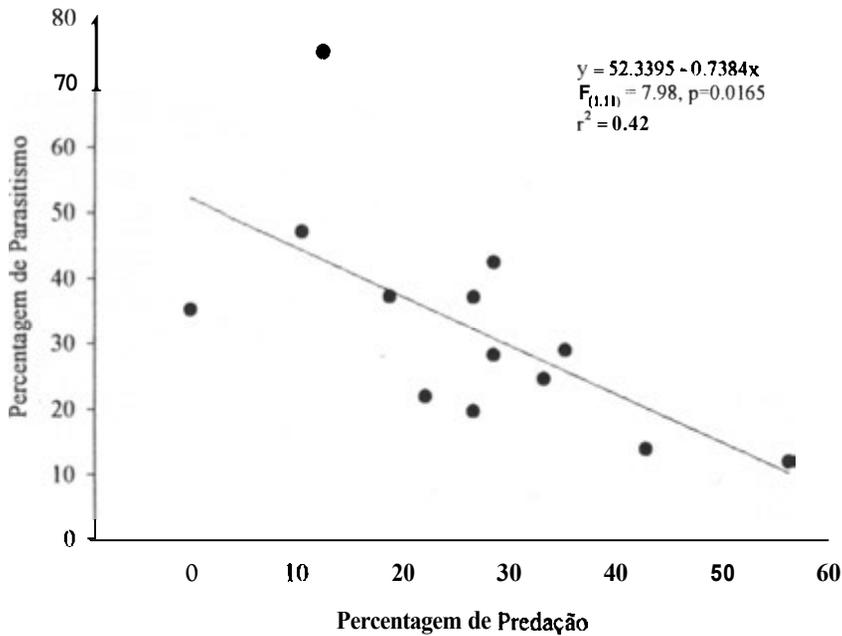


Figura 2 - Relação entre predação e parasitismo de *Leucoptera coffeella*. A predação influencia negativamente o parasitismo. Viçosa, MG. 1999.

Tabela 2 - Análise de deviância da regressão múltipla do efeito do tamanho da mina na freqüência de predação. Para a análise foi utilizada distribuição binomial com modelo logístico.

ANODEV				
FV	GL	SD	c2	P
Tamanho da mina	1	54,13	54,13	0.0000
Número de ovos	1	1,98	1,98	0.1580
Fazenda	2	15,59	15,59	0.0004
Resíduo	410	412.9		
Total	414	484,6		

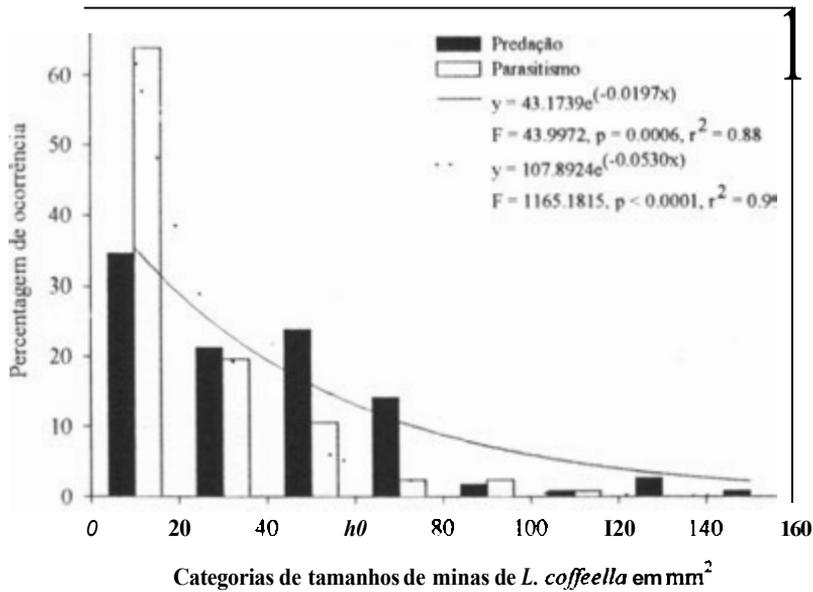


Figura 3 - Análise de exploração de recursos das vespas e parasitóides de *Leucoptera coffeella* mostrando a sobreposição dos recursos. Viçosa, MG. 1999.

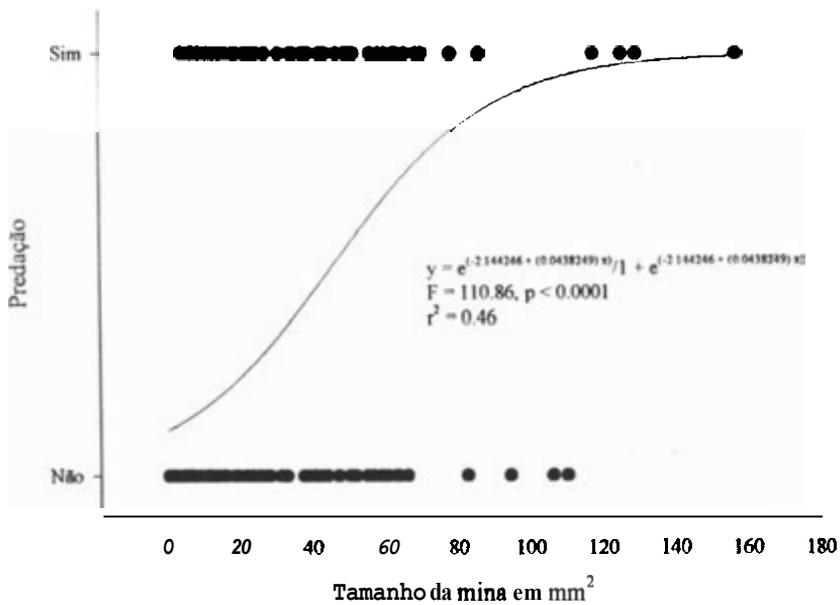


Figura 4 - Relação entre tamanho da mina e atividade de predação mostrando uma tendência de vespas preferirem minas mais velhas. Viçosa, MG. 1999.

DISCUSSÃO

A noção de que a eficiência dos inimigos naturais no controle de *L. coffeella* é um somatório da ação de vespas predadoras e de parasitóides parece não ser verdadeira. O que parece real é que as vespas atuam como predadoras de parasitóides e competem com eles. Como as vespas poderiam competir com os parasitóides? Uma característica fundamental para que exista competição entre dois organismos é que eles explorem os mesmos recursos ao mesmo tempo e estes sejam, de alguma forma, limitados. É fato que vespas e parasitóides exploram o mesmo recurso (Figura 3). Mas para haver competição, este recurso deveria ser limitado e, aparentemente, ele o é, pelo menos em uma parte do ano. Como as vespas atuam mais freqüentemente na época em que a população de *L. coffeella* é menor (temperatura mais elevada) (Avilés 1991), pode, realmente, existir competição entre vespas e parasitóides. Esta competição é direta por interferência, porém, ao contrário do que apregoava Avilés 1991, seria extremamente assimétrica, ou seja, as vespas causam interferência nos parasitóides, pois, ao chegarem primeiro ao minador e este sendo predada, fica indisponível para os parasitóides. No entanto, os parasitóides ao chegarem primeiro ao minador não deixam esta indisponível para as vespas, que predam minadores mesmo parasitados, predando, portanto, os próprios parasitóides.

Para a população de *L. coffeella* esta competição pode ser benéfica, o que já havia sido preconizado por Avilés 1991, relatando que em áreas onde a predação é maior a população de *L. coffeella* também o é. Ele utilizou o conceito de proto-cooperação para explicar o fato, pois vespas “prudentes” deixam cerca de 30 % ou mais de lagartas

vivas em minas predadas; fato este comprovado por Avilés 1991 e confirmado por esta experimentação. Este é um dos fatores que pode explicar a maior população de *L. coffeella* onde existe maior população de vespas. Isto poderia levar à conclusão de que não existe competição, uma vez que os parasitóides poderiam explorar o recurso deixado pelas vespas. De fato, dos 30% de lagartas “vivas” deixadas pelas vespas, 66% foram explorados por parasitóides. Se isto fosse verdade, não deveria haver uma diminuição na população de parasitóides com o aumento das vespas, o que não acontece. Como a maioria dos parasitóides exploram o recurso mais cedo do que as vespas (Figura 3), provavelmente, esta percentagem de parasitóides que, aparentemente, exploram lagartas deixadas pelas vespas nas minas, seria na verdade, formada por parasitóides que restaram de um ataque predatório. Outro fator, aliado ao fato de vespas deixarem lagartas vivas nas minas, que pode favorecer a população de *L. coffeella*, é a interação entre os parasitóides e as vespas. A competição com vespas e a predação por elas, por ser mais intensa na época do ano em que a população de *L. coffeella* é reduzida, provoca uma queda acentuada na população de parasitóides. No momento em que a população de *L. coffeella* começa a crescer, os parasitóides estariam, populacionalmente, abaixo do número necessário ao controle da praga e as vespas estariam com sua atividade diminuída, o que foi constatado por Avilés 1991.

Este tipo de relação entre predador e herbívoro, onde a predação favorece o crescimento populacional do herbívoro, é fenômeno muito pouco estudado. Porém, considerando-se o processo de interação global, onde existe o predador e sua presa, casos como este são relatados. São interações onde herbívoros (predador) que, teoricamente estariam prejudicando populações de plantas (presas), na

verdade apresentam uma relação mutualística. Petelle (1982) relata alguns mecanismos que podem gerar uma interação cooperativa entre herbívoros e plantas. Então, apesar do sistema ser diferente, é possível extrapolar para outros sistemas, uma vez que o processo em si é global.

Do ponto de vista prático, provavelmente, um dos maiores problemas de surtos da praga seja devido a uma população muito baixa em um período anterior. Período este que pode ser meses imediatamente anteriores ao surto ou o ano anterior. Isto pode levar a uma reanálise dos níveis de dano utilizados para o controle químico, com o intuito de manter uma população da praga maior no campo, porém, sem risco de surtos.

Os dados deste trabalho são temporalmente muito restritos para qualquer afirmação conclusiva, mas existe uma evidência clara de que vespas e parasitóides se contrapõem no controle de *L. coffeella*, não podendo somar os resultados de cada um destes agentes para se chegar a uma taxa de controle biológico final. O resultado não indica que as vespas são os únicos responsáveis pela “ineficiência” do controle biológico natural de *L. coffeella*; vários outros fatores, ainda não estudados (Figura 5), podem ter parcelas de importância neste sistema.

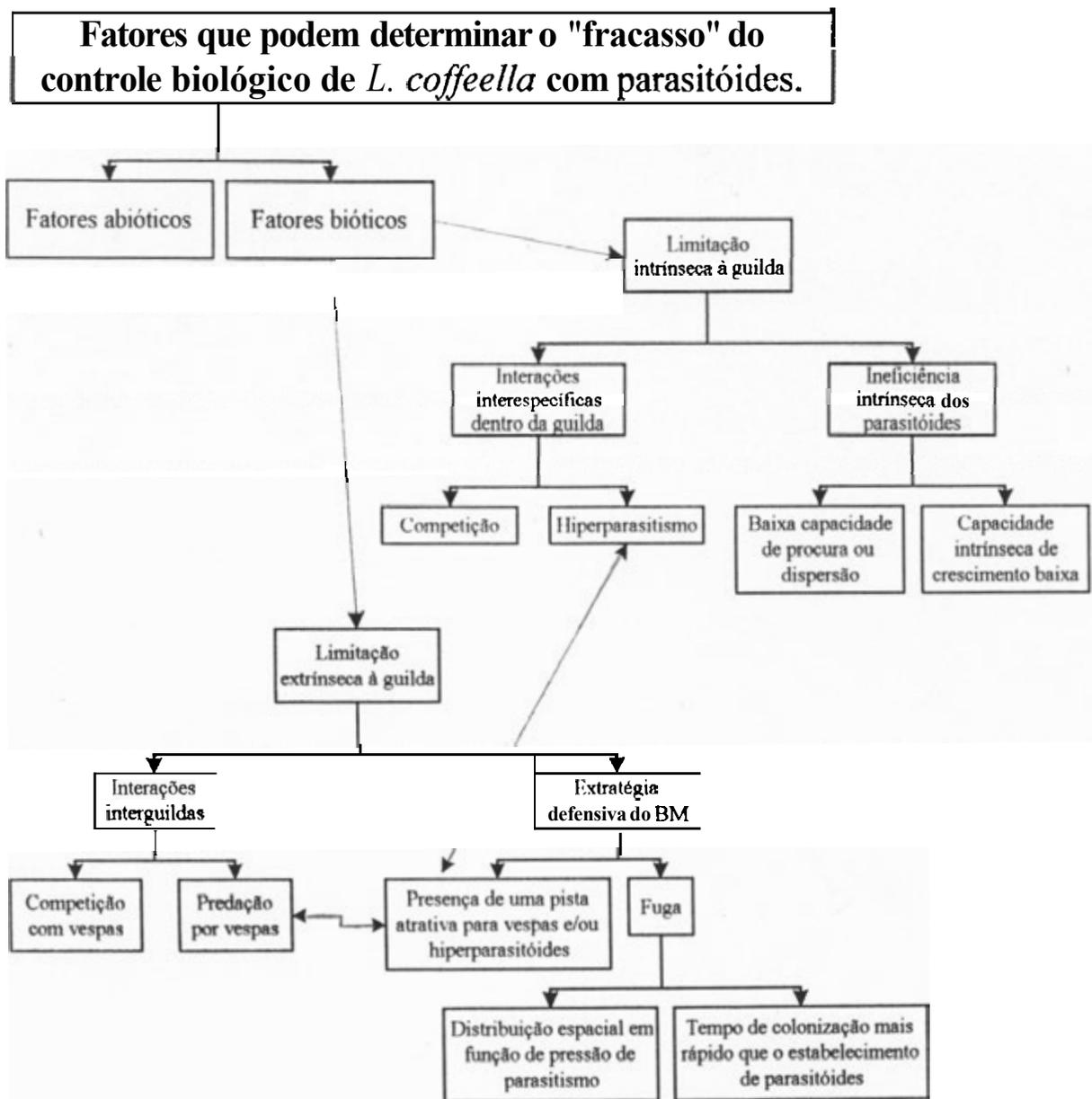


Figura 5 - Fluxograma mostrando alguns dos fatores que podem influenciar o controle biológico de *Leucoptera coffeella* através de parasitóides, com ênfase nos fatores bióticos. As caixas marcadas indicam os fatores testados neste trabalho.

LITERATURA CITADA

- Avilés, D.P. 1991.** Avaliação das populações de bicho-mineiro do cafeeiro *Perileucoptera coffeella* (Lepidoptera:Lionetiidae) e seus parasitóides e predadores: Metodologias de estudo e flutuação estacional. MSc, Universidade Federal de Viçosa, 126p.
- Campos, O.G., B. Decazy & E. Carrillo. 1989.** Dinámica poblacional del minador de la hoja del cafeto *Leucoptera coffeella* y sus enemigos naturales en la zona de nuevos San Carlos, Retalhuleu, Guatemala. Turrialba 39: 393-399.
- Colazza, S. & F. Bin. 1995.** Efficiency of *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae) as an egg parasitoid of *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae) in central Italy. Environmental Entomology 24: 1703-1707.
- Degradihoffman, G., J. Diehl, D.H. Li, L. Flexner, G. Jackson, W. Jones & J. Debolt. 1994.** Biocontrol-Parasite : Parasitoid-Host and Crop Loss Assessment Simulation Model. Environmental Entomology 23: 1045-1060.
- Gonçalves, W., J.R.P. Parra & W.L. Salgado. 1975.** Dois predadores de lagartas do bicho-mineiro (Guérin:Meneville, 1842). Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras 3: 96.
- Konnorova, E. 1985.** Parasitación de las orugas y crisálidas de *Leucoptera coffeella* sin sintomas aparentes. Ciencia y Técnica en Agricultura 7: 19-24.
- Konnorova, E. 1986.** Parasitación de las orugas y crisálidas vivas sanas a simple vista de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). Ciencia y Técnica en Agricultura 8: 31-41.
- Petelle, M. 1982.** More Mutualisms Between Consumers and Plants. Oikos 38: 125-127.
- Smith, L. 1994.** Computer simulation model for biological control of maize weevil by the parasitoid *Anisopteromalus calandrae*. Proceedings of the 6th International Working Conference on Stored-Product Protection 2, 1147-1151. Proceedings of the 6th International Working Conference on Stored-Product Protection 2: 1147-1151.
- Souza, J.C. 1979.** Levantamento, identificação e eficiência dos parasitos e predadores do "bicho mineiro" das folhas do cafeeiro *Perileucoptera coffeella* (Guèrin-Meneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae) no estado de Minas Gerais. D.S., ESALQ\USP, Piracicaba, 91p.

Método para manutenção de folhas de café *in vitro* para criação massal de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae)

RESUMO

Para realizar estudos sistemáticos com o bicho-mineiro-do-cafeeiro, é necessário estabelecer uma criação massal em condições artificiais. Talvez seja possível criar esta espécie, de ovo até adulto, em condições de laboratório, sem usar mudas de café, utilizando-se folhas destacadas mantidas *in vitro*, aperfeiçoando e minimizando as inconveniências da criação deste inseto. Citocininas sintéticas são habitualmente usadas para manutenção de células e tecidos vegetais *in vitro*. Devido a esta propriedade, foram escolhidos dois reguladores de crescimento de planta, benziladenina e cinetina, em concentrações 10^{-6} e 10^{-7} M, para a manutenção das folhas. Folhas verdes coletadas no campo foram mantidas na solução a ser testada. Água pura foi o controle. O experimento durou 30 dias, um período longo o necessário para o desenvolvimento completo do bicho-mineiro-do-cafeeiro. Observou-se que ambas as citocininas artificiais em ambas as concentrações realmente aumentaram o tempo de vida das folhas de café, mantendo-as verdes e saudáveis. Folhas colocadas nas gaiolas para oviposição foram atraentes aos insetos, com número significativo de ovos por folha. Na maioria dos casos, ovos resultaram em indivíduos que completaram todo o ciclo de desenvolvimento. Os testes com os reguladores em concentrações diferentes com folhas saudáveis mostraram eficiência; porém, acredita-se que a concentração do

hormônio a ser usado com folhas minadas devem ser maiores, porque quando estes são submetidos à concentração escolhida de $10^{-7} M$, as folhas não apresentaram um tempo de vida satisfatório. Portanto, devem ser executados testes com concentrações de hormônio diferentes, utilizando-se folhas minadas, para se descobrir a concentração ideal à sobrevivência destas folhas.

Method for maintenance of coffee leaves *in vitro* for mass rearing of *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae)

ABSTRACT

To accomplish systematic studies with coffee leafminer, it is necessary to establish a mass rearing system in artificial conditions. We might explore the possibility of rearing these species, from egg to adult, in laboratory conditions, without using coffee seedlings but detached leaves maintained *in vitro*, optimizing the production of insects and minimizing the inconveniences of the rearing. Synthetic cytokinins are routinely used for maintenance of plant cell and plant tissues *in vitro*. In this case, two plant growth regulators, benzyladenin and kinetin, in concentrations 10^{-6} and 10^{-7} M, were used. Green leaves collected in the field were maintained in the solution to be tested. Pure water served as control. The experiment lasted 30 days, a period longer than the necessary for the complete development of the coffee leafminer. We observed that both artificial cytokinine in both concentrations indeed increased the lifetime of the coffee leaves, maintaining them green and healthy. Leaves placed in the cages for oviposition were attractive to the insect, with significant number of eggs per leaf. In most cases, eggs resulted in individuals that completed the whole developmental cycle. Tests with regulator in different concentrations with healthy leaves showed efficiency; however, we believed that hormone concentrations to be used with mined leaves should be larger, because when these are submitted to

the chosen concentration of 10^{-7} M , leaves did not present a satisfactory lifetime. Therefore, tests with leaves mined with different hormone concentrations should be made to find out the ideal concentration for leaf survival.

INTRODUÇÃO

Para realizar estudos sistemáticos com este inseto, é fundamental estabelecer a criação massal em laboratório, pois a dependência de insetos do campo pode afetar ou inviabilizar o desenvolvimento dos mesmos. Tradicionalmente, o bicho-mineiro-do-cafeeiro é criado em mudas de café, que são infestadas com insetos trazidos do campo; os adultos emergidos destas mudas são utilizados para infestar novas mudas. Este método apresenta como inconvenientes: i) mudas de café para infestação precisam ser produzidas e mantidas em lugares ensolarados e com controle ambiental, de preferência em casas-de-vegetação, com dispêndio considerável de mão-de-obra; ii) mudas de café ocupam muito espaço e proporciona poucas folhas; iii) as poucas folhas produzidas são novas e pequenas, podendo constituir-se em um inconveniente, pois a viabilidade da fase imatura é maior em folhas mais velhas (Walker e Quintana 1969) e a capacidade de indivíduos mantidos por folha diminui (Bigger 1969); iv) mudas são sempre propícias ao ataque por fungos e insetos, como cochonilhas e pulgões, acarretando maior esforço de manutenção e podendo diminuir a produção.

Considerando que a lagarta após a penetração no interior da folha não tem a capacidade de mudar de folha para continuar a alimentação e sua fragilidade praticamente inviabiliza a criação em dieta artificial, existe a necessidade de buscar novas tecnologias de criação que visem otimizar a criação. Com isso, uma possibilidade que existe para a criação dos insetos em laboratório desde ovo, sem utilizar mudas de café, seria a utilização das folhas destacadas e mantidas *in vitro*. Porém as folhas de café quando destacadas e colocadas em água

não duram o tempo suficiente para que se complete o ciclo do inseto. Portanto, a primeira limitação para uma nova metodologia de criação massal de bicho-mineiro-do-cafeeiro é a manutenção das folhas de café *in vitro*, tempo suficiente para que o ciclo completo do bicho-mineiro-do-cafeeiro possa ser mantido.

Tendo em vista esta realidade, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma técnica de manutenção de folhas de café *in vitro*, possibilitando assim a criação do bicho-mineiro-do-cafeeiro, otimizando a produção de insetos e minimizando os inconvenientes da criação. Para isto, a criação foi estabelecida em uma metodologia que propicia as folhas de café serem mantidas túrgidas *in vitro*, desenvolvendo-se nestas condições o ciclo biológico completo de *P. Coffeella*.

MATERIAL E MÉTODOS

Manutenção das folhas

Para propiciar ao inseto o desenvolvimento completo de seu ciclo em folhas destacadas, foi preciso manter folhas de café túrgidas, pelo tempo mínimo necessário. Testaram-se, então, dois hormônios de crescimento, Benzil Adenina e Cinetina, nas concentrações de 10^{-6} e 10^{-7} g/litro. Estes hormônios foram escolhidos por serem normalmente utilizados na manutenção de culturas de células e tecidos de plantas *in vitro* (Kreslavsky *et al.* 1997, Zarrabeitia *et al.* 1997, Jourdain *et al.* 1997) e por serem de custo relativamente baixo. O experimento foi conduzido sob condições de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e $70 \pm 5\%$ de UR, com folhas padronizadas, colocadas dentro de um saco plástico e misturadas para a casualização. A fixação das folhas foi feita em espuma de 3cm de espessura com 10 seções, onde foram inseridos os pecíolos e colocadas em caixas de germinação (Gerbox), medindo 11cm de largura x 11cm de comprimento x 3,5cm de altura, contendo a solução a ser testada. O controle foi água pura. Para cada solução, foram feitas 3 repetições, contendo 25 folhas de café. O experimento durou 30 dias, período mais do que necessário para todo o desenvolvimento do bicho-mineiro-do-cafeeiro que dura cerca de 21 dias, e, durante o período, o nível de solução foi sempre completado, quando necessário. Para verificar o nível da solução, pressionava a espuma com o dedo e se o líquido não transbordasse este deveria ser completado. O fato de completar a solução, e não trocá-la, acarretará aumento da concentração de hormônio, porém, devido a grande diluição utilizada, este aumento não é significativo.

Obtenção dos indivíduos colonizadores

Inicialmente, os adultos de *P. coffeella* foram obtidos, coletando folhas minadas no campo e levando-as ao laboratório para coleta das crisálidas. Todas as folhas coletadas foram colocadas em placas contendo a solução que propiciou a melhor manutenção das folhas in vitro. Estas placas foram colocadas em BOD a 25°C, para acelerar o desenvolvimento do inseto. Em BOD com 5 prateleiras é possível colocar até 1.800 folhas minadas para a formação da crisálida, podendo-se obter um mínimo de 1.800 crisálidas. Estas folhas foram observadas de dois em dois dias para a retirada das crisálidas formadas, que foram coletadas cortando-se o pedaço da folha que as continham, o que diminuía o tempo de manutenção da folha. Esta diminuição do tempo de manutenção não chegou a ser problemático, pois as folhas eram agrupadas nas placas de acordo com o tamanho da mina, garantindo que, quando se cortava a folha para a retirada da crisálida, as outras lagartas já estavam em fase de pupação. Todas as crisálidas coletadas foram levadas para as gaiolas de oviposição para que os adultos que emergissem efetuassem as posturas.

Criação massal de bicho-mineiro-do-cafeeiro

Coletaram-se, semanalmente, folhas grandes e perfeitas (sem qualquer mancha ou deformação), encontradas, geralmente, na parte inferior das plantas de café. Estas folhas eram, então, levadas ao laboratório, colocadas em bandeja com água e lavadas com algodão ou espuma. Esta lavagem elimina a poeira assim como pequenos organismos (ovos, ácaros, etc.) fixados nas folhas. Em uma nova seleção, retiravam-se folhas indesejáveis. Após este tratamento, elas foram colocadas em espumas seccionadas e colocadas em bandejas de 26 cm x 41 cm, contendo a solução de hormônio. Esta bandeja foi mantida em sala separada dos insetos, evitando-se contaminação das folhas, as

quais, por algum motivo, apresentassem problemas (amarelecimento ou aparecimento de doenças), eram prontamente descartadas.

Para oviposição, foram colocadas cerca de 6 a 10 folhas em uma caixa Gerbox com a solução de hormônio. Estas caixas foram colocadas nas gaiolas com as crisálidas preparadas para a emergência. As gaiolas utilizadas tinham as dimensões de 30 cm x 30 cm x 30 cm, eram feitas de madeira e revestidas com uma tela de malha bem fina e porta de vidro. Os insetos eram alimentados com solução de 10% de sacarose, pois aumenta significativamente a longevidade dos adultos, o número e a viabilidade dos ovos produzidos (Nantes & Parra 1978). Para a alimentação, foram colocadas espumas cortadas embebidas na solução de sacarose 10%, na parte superior da gaiola, pelo lado de fora. O contato com a tela permitia que os insetos se alimentassem, sendo as mencionadas espumas substituídas diariamente, evitando-se a fermentação do alimento.

A coleta das folhas com posturas foi feita de acordo com a densidade de adultos na gaiola. Em gaiolas com muitos indivíduos, as folhas eram vistoriadas diariamente. Em folhas com número menor de insetos, de dois em dois ou de três em três dias. Para a observação das posturas com mais facilidade, foi utilizada uma lupa de braço móvel com aumento de 10 vezes. As folhas com ovos eram transferidas para outra caixa Gerbox e levadas para a BOD e lá mantidas até a formação das crisálidas. A cada vistoria foi observado o nível de solução na caixa e completada se necessário. Para cada folha retirada, uma folha nova era colocada. Todo o sistema pode ser visualizado nas Figuras 6 e 7.

Os dados foram analisados através de ANOVA e teste de Tukey utilizando como variável resposta a percentagem de folhas sadias no período de 30 dias.

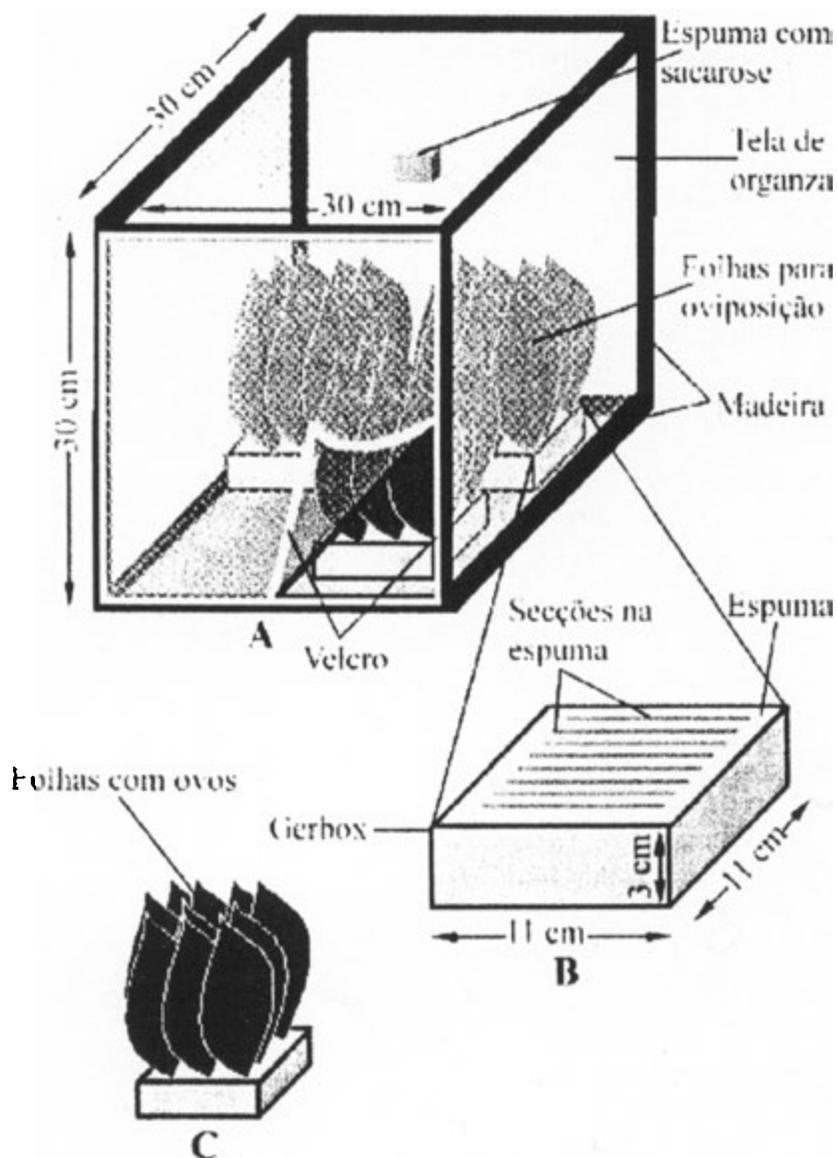


Figura 6 - Sistema de criação massal de *Leucoptera coffeella*. A) caixa telada para oviposição; B) caixa gerbox com espuma em detalhes e C) folhas na caixa gerbox contendo ovos de bicho-mineiro.

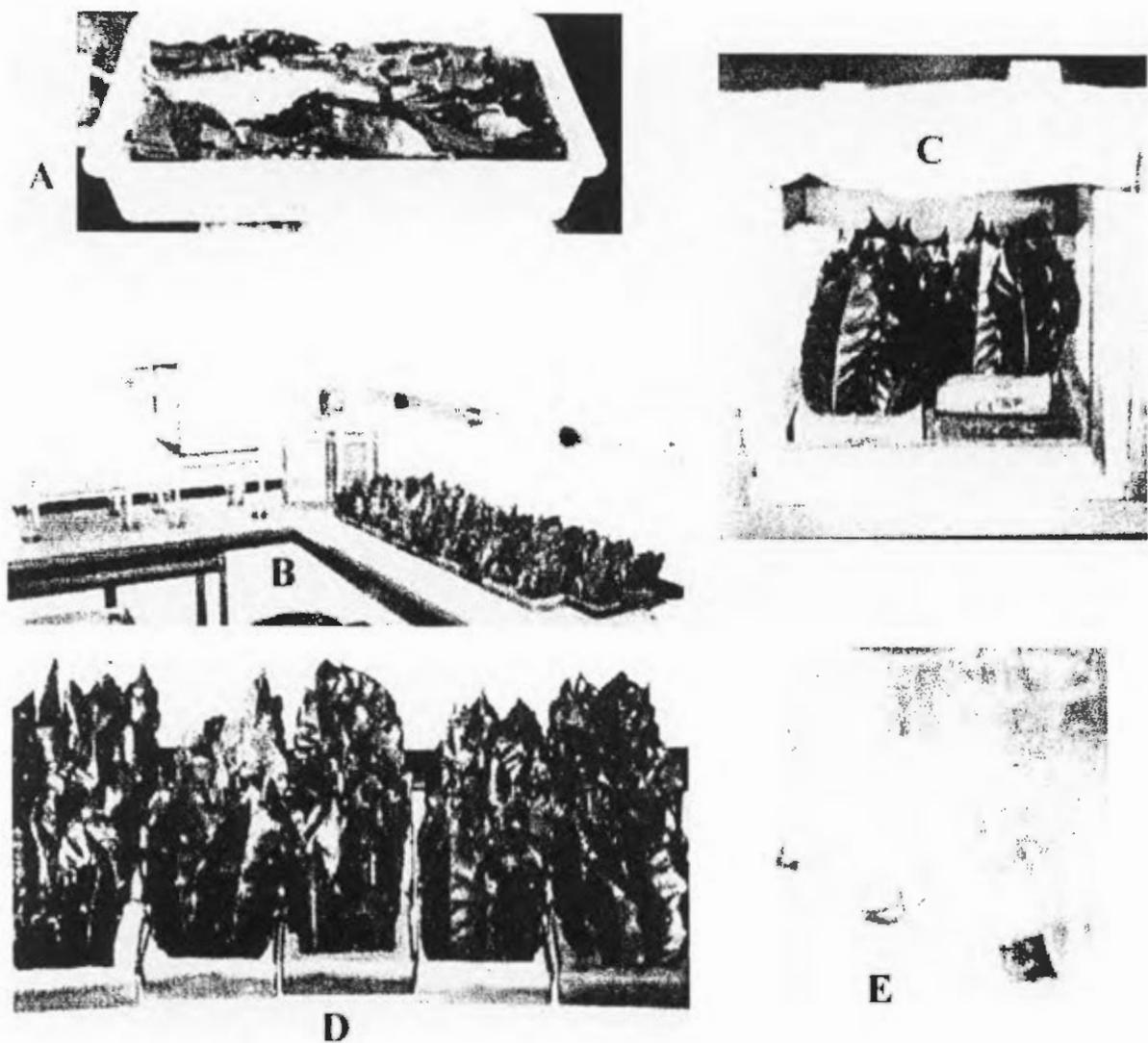


Figura 7 - Sistema de criação de *Leucoptera coffeella* utilizando folhas de café *in vitro*. A) bandeija com água onde as folhas coletadas no campo para oviposição são limpas; B) todo sistema em funcionamento com as gaiolas de oviposição e as folhas minadas; C) detalhe da gaiola de oviposição; D) detalhe das folhas contendo minas; E) detalhe de crisálidas isoladas para emergência dos adultos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar que a presença de hormônio realmente aumentou o tempo de turgidez das folhas de café (Figura 8). As folhas coletadas no campo e mantidas na solução foram capazes de propiciar ao inseto tempo suficiente para completar o ciclo, mesmo não existindo um padrão de qualidade já fixado para estas folhas. As folhas colocadas nas gaiolas para oviposição mostraram-se atrativas aos insetos, sendo encontrados número significativo de ovos por folha. Na maioria das folhas contendo oviposições de laboratório, houve um desenvolvimento completo do ciclo do bicho-mineiro-do-cafeeiro, sem prejuízo aparente para a biologia do inseto. Doenças, ou um número muito grande de ovos fizeram com que algumas folhas não conseguissem manter o ciclo completo do inseto. A manutenção de folhas com ovos em salas separadas dos adultos é fundamental, pois pode ocorrer a emergência de parasitóides, com possíveis prejuízos para a criação. Para evitar o ataque de parasitóides, podem-se deixar as crisálidas para emergir em recipientes fechados e serem coletados somente adultos de bicho-mineiro-do-cafeeiro para as gaiolas de oviposição. Aparentemente, a criação massal do bicho-mineiro-do-cafeeiro, utilizando folhas de café *in vitro* é possível, e a eficiência deste método será conseguida desenvolvendo-se estudos completos da biologia do inseto, nestas condições, com as seguintes vantagens sobre o método anterior: i) as folhas podem ser coletadas e mantidas em laboratório até a sua utilização sem, necessariamente, precisar de luz solar ou estruturas especiais; ii) as folhas não precisam ser produzidas especificamente para este fim, podem ser simplesmente coletadas diretamente do campo; iii) as folhas ocupam uma área muito pequena, podendo ser colocadas em qualquer gaiola, BOD ou pequenas salas;

iv) como são coletadas no campo, pode-se escolher somente folhas grandes e mais velhas, capazes de suportar maior quantidade de ovos, as quais são preferidas para a oviposição e proporcionam maior viabilidade da prole; v) o controle de doenças e pragas indesejáveis em folhas destacadas é mais fácil de ser realizado, pois são escolhidas as melhores e mais resistentes folhas, sendo possível eliminar folhas deficientes, antes de oferecê-las aos insetos; vi) como podem ser mantidas em espaços pequenos, podem ser isoladas em unidades menores, diminuindo o risco de perdas totais.

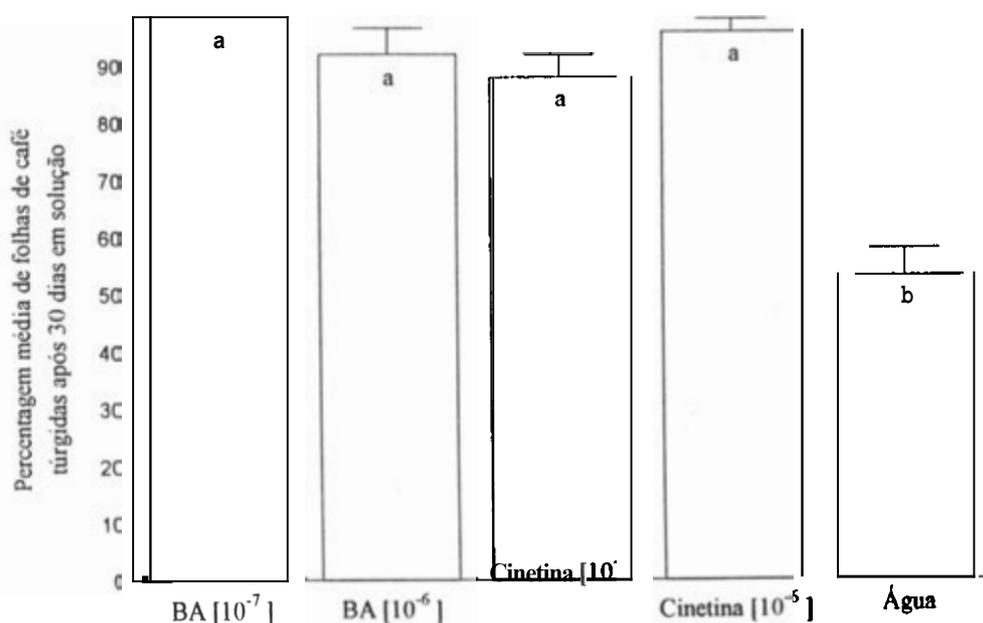


Figura 8 - Manutenção das folhas de café em solução de hormônio. Cada tratamento constou de **75** folhas divididas em **3** repetições. ANOVA $F_{(4,10)} = 25,29$; $p < 0,01$. Os tratamentos seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

LITERATURA CITADA

- Bigger, M. 1969.** Partial resistance of arabica coffee to the coffee leaf miner *Leucoptera meyrichi*, Ghesq. (Lepdoptera: Lyonetiidae). East African Agric. Forest. J. 34: 441-445.
- Metcalf, R.L. 1980.** Changing role of insecticides in crop protection. Annu. Rev. Entomol. 25: 219-256.
- Nantes, J. F. D. & J. R. P. Parra. 1978.** Influência da alimentação sobre a biologia de *Perileucoptera coffeella* (Guerin-Meneville, 1842) (Lepidoptera, Lyonetiidae). Científica 6: 263-268.
- Walker, D.W. & V. Quintana, 1969.** Mating and oviposition behavior of the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella*. Proc. Entomol. Soc. Wash. 71: 88-90.
- Jourdain, I., M. Lelu & P. Label. 1997.** Hormonal changes during growth of somatic embryogenic masses in hybrid larch. Plant. Physiol. Biochem. 35: 741-749.
- Kreslavsky, V. D., E. F. Kobzar & E. N. Muzafarov. 1997.** Effects of red radiation, kinetin and linuron on growth and ethylene production in *Chlorella*. Biol. Plantarum 39: 427-430.
- Zarrabeitia, A., X. Lejarcegui, J. Veramendi & A. Mingo-castel. 1997.** Influence of nitrogen supply on micropropagation and subsequent microtuberization of four potato cultivars. Amer. Potato J. 74: 369-378.