

FLÁVIO MARQUINI DA SILVA

FITOQUÍMICOS COMO POTENCIAIS MEDIADORES DA FLUTUAÇÃO
SAZONAL DE *Leucoptera coffeella* E DE SEUS INIMIGOS NATURAIS

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-graduação
em Entomologia, para obtenção do título
de “Doctor Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2003

A Deus, pela vida.

Aos meus pais Antônio Ozório da Silva e Maria da Penha Marquini da Silva. A minha irmã Suely Helena Borges.

Aos meus irmãos Adilon, Paulo, Cosme, Damião, Suila, Ana Maria e Sonia.

AGRADECIMENTOS

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

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

Ao professor e orientador Marcelo Coutinho Picanço, pelo exemplo humano e profissional e a toda sua família.

Ao professor Raul Narciso Carvalho Guedes, pela amizade, pelo aconselhamento e pelas sugestões no desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Antônio Jacinto Demuner, pelo aconselhamento, pelo espaço cedido no Laboratório de Síntese e Análise de Agroquímicos (LASA) e pelas sugestões feitas a este trabalho.

Aos professores Eraldo Rodrigues de Lima e Germano Leão Demolin, pelas participações na banca examinadora de defesa de tese e pelas críticas e sugestões feitas a este trabalho.

Ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa através do Prof. Robert Weingart Barreto por ter gentilmente cedido as lavouras de café tornando possível a realização deste trabalho de tese.

À secretária da Pós-graduação em Entomologia, Maria Paula A. da Costa, pelo auxílio em todas as etapas do curso de doutorado.

Aos funcionários Francisco Ribeiro e José Evaristo Lopes, pela amizade e pela divertida convivência.

Aos amigos do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas: Ézio Marques da Silva, Alfredo Herinque Rocha Gonring, Flávio Lemes, Lessando Moreira Gontijo, Jardel Lopes Pereira, Elisangela Gomes Fidelis, Shaiene Costa Moreno, Adilson de Castro Antônio, Emerson Cristi de Barros, Leandro Bacci, Eliseu José Guedes Pereira, Tederson Luiz Galvan, André Barreto Crespo, Ivênio Rubens de Oliveira e Marcos Rafael Gusmão pela ajuda na realização de diversas etapas deste trabalho e pela agradável convivência.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

FLÁVIO MARQUINI DA SILVA, filho de Antônio Ozório da Silva e Maria da Penha Marquini da Silva, nasceu em Muqui - ES, no dia 07 de maio de 1969.

Em 1985, iniciou o curso de Técnico em Agropecuária, na Escola Agrotécnica Federal de Alegre (ES), concluindo-o em dezembro de 1987.

Em 1994, iniciou o curso de Agronomia na Universidade Federal de Viçosa (MG), concluindo-o em julho de 1997. Durante o curso, estagiou no laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Biologia Animal, participando de diversas pesquisas com manejo integrado de pragas de hortaliças, fruteiras tropicais, leguminosas e gramíneas.

Em agosto de 1997, iniciou o curso de mestrado em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa, onde foi tutor na disciplina de Entomologia Geral (BAN - 160) e monitor de nível II nas disciplinas de Entomologia Agrícola (BAN - 360) e Entomologia Zootécnica (BAN - 365). Concluiu o curso de mestrado em agosto de 1999.

Ainda em Agosto de 1999 iniciou o curso de doutorado em Entomologia também na Universidade Federal de Viçosa, onde ministrou diversas aulas sobre Manejo Integrado de Pragas de fruteiras e hortaliças na disciplina de Entomologia Agrícola. Submeteu-se a defesa de tese de doutorado no dia 4 de agosto de 2003.

Atualmente, faz parte dos quadros do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento onde trabalha como Fiscal Federal Agropecuário tendo sido aprovado em concurso público. Está lotado na Seção de Sanidade Vegetal da Delegacia Federal de Agricultura no Espírito Santo, onde tem participado de diversos trabalhos na área de prevenção e controle de pragas, principalmente aquelas relacionadas ao trânsito internacional de vegetais e suas partes.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	6
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
4. CONCLUSÕES	32
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

RESUMO

SILVA, Flávio Marquini da, D.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2003. **Fitoquímicos como potenciais mediadores da flutuação sazonal de *Leucoptera coffeella* e de seus inimigos naturais.** Orientador: Marcelo Coutinho Picanço. Conselheiros: Antônio Jacinto Demuner e Raul Narciso Carvalho Guedes.

Este trabalho foi realizado no período de agosto de 2000 a setembro de 2001 em quatro lavouras de *Coffea arabica* L. variedade Catuaí vermelho no campus da Universidade Federal de Viçosa e objetivou estudar o efeito de fitoquímicos presentes nas folhas sobre a intensidade de ataque do bicho mineiro do cafeeiro *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) e sobre as taxas de controle deste inseto por Vespidae predadores e himenópteros parasitóides. Durante o período experimental monitorou-se semanalmente a intensidade de ataque do bicho mineiro às folhas do cafeeiro, as taxas de predação e de parasitismo desse inseto e as concentrações de fitoquímicos nas folhas das plantas. Também anotou-se, durante o período experimental, os dados de temperatura do ar (máxima, média e mínima), total de precipitação pluvial, umidade relativa do ar (média), evaporação, insolação (total de horas de luz) e velocidade média dos ventos. Confeccionaram-se curvas de variação sazonal desses elementos durante o período experimental. Os dados da intensidade de ataque do bicho mineiro ao cafeeiro e das taxas de predação de larvas e de parasitismo de larvas e pupas de *L. coffeella* foram submetidos a análise de trilha

e de regressão a $p < 0,10$ para o entendimento das relações múltiplas entre as variáveis estudadas. Os dados das concentrações de fitoquímicos foram submetidos a análises de correlação canônica e de Pearson com os elementos climáticos. Os ácidos cafeico e clorogênico presentes nas folhas do cafeeiro parecem agir como kairomônios para o bicho mineiro do café. Períodos de temperaturas menos elevadas, de maior umidade do ar e menos ensolarados foram favoráveis ao aumento dos teores dos ácidos cafeico e clorogênico nas folhas do cafeeiro. A cafeína presente nas folhas do cafeeiro parece ter efeito de biomagnificação sobre os himenópteros parasitóides do bicho mineiro. Períodos de maior temperatura do ar foram favoráveis ao aumento dos teores de cafeína nas folhas do cafeeiro. Taxas de predação do bicho mineiro acima de 0,35 minas predadas/folha reduziram a intensidade de ataque do bicho mineiro ao cafeeiro, podendo este índice ser usado como nível de não-ação em programas de manejo integrado do bicho mineiro do cafeeiro. Verificou-se que as maiores taxas de predação e de parasitismo ocorrem em períodos distintos do ano.

ABSTRACT

SILVA, Flávio Marquini da, D.S., Universidade Federal de Viçosa, July of 2003.
Phytochemicals as potential mediators of the seasonal fluctuation of *Leucoptera coffeella* and of its natural enemies. Adviser: Marcelo Coutinho Picanço. Committee members: Antônio Jacinto Demuner and Raul Narciso Carvalho Guedes.

This work was developed during the period from August 2000 to September 2001 in four crops of *Coffea arabica* L. cv. Catuai-Vermelho in the Federal University of Viçosa Campus, State Minas Gerais, Brazil. This research aimed to study the effect of the phytochemicals present in the leaves in the attack intensity *Coffea* leafminer *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) and in its control for Hymenoptera: Vespidae and hymenopterous parasitoids. The concentrations phytochemicals in the leaves, the attack intensity of the *Coffea* leafminer, the predation for Vespidae, and the parasitism for hymenopterous were weekly monitored. The weather data of air temperature (maximum, average, and minimum), total rainfall, average relative air humidity, total evaporation, total sunshine hours, and average wind speed were monitored during the experimental period. Seasonal variation curves of the insects densities, phytochemicals concentration, and weather data during the experimental period were made. The data of attack intensities, predation, and parasitism of *L. coffeella* were submitted the regression and path analysis ($p < 0.10$). The phytochemicals concentrations data were submitted the canonical and

Pearson correlation analyses with the weather data. The caffeic and chlorogenic acids present in the coffee leaves seem to act as kairomone for the *Coffea* leafminer. Periods of low temperatures, high air humidity, and low sunshine were favorable to the increase of the concentrations of the caffeic and chlorogenic acids in the coffee leaves. The caffeine present in the coffee leaves seems to have biomagnification effect in the hymenopterous parastoids of the *Coffea* leafminer. Periods of high air temperature were favorable to the increase of the caffeine concentration in the coffee leaves. Predation rates of *L. coffeella* for Vespidae above 0.35 predates mines/leaf reduced the attack intensity this pest. Therefore this index to be used as non-action level in programs of integrated pest management of the *Coffea* leafminer. The largest predation and parasitism rates of the *Coffea* leafminer happen in different season.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de café, com área plantada de 1.980.300 ha e produtividade média de 15,70 sacas/ha. O principal estado produtor do Brasil é Minas Gerais, que produz 51% do café em coco brasileiro, seguido pelo Espírito Santo (22% da produção), São Paulo (12% da produção), Paraná (6% da produção) e Bahia e Rondônia (4% da produção cada um), sendo que os demais estados representam 1% da produção nacional. Do café produzido no Brasil, cerca de 80% é de *Coffea arabica* e 20% de *Coffea canephora* (CNP&D-Café 2003).

O bicho mineiro do cafeeiro *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) é a principal praga de *C. arabica* no Brasil, sendo também importante praga desta cultura em alguns países da América Central e do leste africano. O bicho mineiro é uma espécie monófoga, de origem africana tendo sido constatada no Brasil a partir de 1851. Até 1970, as maiores infestações do bicho mineiro no país eram esporádicas e explicadas por muitos autores como consequência de baixas ocorrências de himenópteros parasitóides. Entretanto, com a introdução da ferrugem do cafeeiro e consequente aumento do espaçamento e do plantio em regiões de clima mais seco, ela passou a constituir-se praga-chave da cultura no Brasil (Thomaziello 1987, Souza et al. 1998, Guerreiro Filho 1999).

As larvas deste inseto se alimentam do parênquima foliar formando

minas. Nas regiões produtoras de café do Brasil, geralmente esse inseto, produz de 8 a 12 gerações por ano (Gallo et al. 2002). O bicho mineiro pode causar prejuízos na produção, no rendimento do café produzido e na longevidade do cafeeiro. Têm-se verificado reduções de 30 a 80% na produtividade dos cafeeiros devido ao ataque do bicho mineiro. Seu ataque provoca a redução da área fotossintética devido as minas e também devido a senescência precoce das folhas, sobretudo antes que as plantas passem pela renovação de suas folhas (Thomaziello 1987, Matiello 1991, Souza & Reis 1992, Reis & Souza 1996).

A redução de produtividade do cafeeiro devido ao ataque do bicho mineiro depende, entre outros fatores, da época do ano em que ocorre este ataque. Se o ataque do bicho mineiro provoca uma elevada queda foliar até o mês de julho, não ocorre a formação de botões florais normais e não há frutificação. Já se esse ataque provoca senescência foliar entre os meses de agosto a outubro, haverá também baixa formação de botões florais normais, porém ocorrerá um pequeno vingamento de frutos (Souza et al. 1998). Como exemplo dessas perdas Reis et al. (1976) verificaram que uma queda de 67% das folhas do cafeeiro, em outubro (época da primeira florada), provocou uma redução de 50% na produção das plantas. Já Paulini et al. (1977) observaram que uma queda de 50% das folhas no mês de julho causou redução de 80% na produção das plantas. Paulini et al. (1976), estudando a severidade desse inseto, constataram prejuízos de 80% na produção das plantas de café arábica, quando foram comparadas plantas tratadas e não tratadas com inseticidas. Além do prejuízo na produção, tem-se a queda do rendimento do café produzido, de modo que no beneficiamento será gasto muito mais café em coco para cada saca de café beneficiado. Também tem-se prejuízos na longevidade do cafeeiro, uma vez que a planta despenderá muito mais energia para recuperar o que foi perdido com as desfolhas (Souza et al. 1998).

Para o desenvolvimento de programas de manejo integrado de pragas para o bicho mineiro é necessário a manipulação dos fatores que afetam o ataque deste inseto ao cafeeiro. Entre os fatores mais importantes que afetam o ataque de insetos às plantas estão os fitoquímicos, os agentes do controle biológico e os elementos climáticos (Liss et al. 1986, Wallner 1987).

Estudos têm sido realizados visando a identificação de compostos químicos presentes no cafeeiro. Esses estudos tem sido feitos no sentido de relacionar compostos químicos do cafeeiro com a resistência da planta à doenças ou visando a melhoria da qualidade da bebida do café (Souza 1987, Oliveira 1988, Clarke & Macrae 1989, Kushalapa & Eskes 1989). Estudos que relacionem os compostos químicos do cafeeiro com a incidência de pragas são incipientes. Entretanto, segundo Klifford & Willson (1985), os compostos secundários presentes nas folhas do cafeeiro podem constituir importante fator a influenciar a intensidade de ataque do bicho mineiro. As folhas do cafeeiro possuem compostos como fenóis, terpenóides, flavonóides, alcalóides (cafeína), aldeídos, hidrocarbonetos, ácidos clorogênicos, ácidos neoclorogênicos, ésteres, cetonas, pirazinas e cumarinas os quais podem ter importante papel na suscetibilidade dos cafeeiros aos insetos (Holloway et. al. 1972, Naccache & Dietrich 1985, Pettitt Jr. 1987, Kushalapa & Eskes 1989, Peres 1990). Dentre esses compostos, os presentes em maiores concentrações nas folhas do cafeeiro são os fenóis e os terpenóides. Os compostos fenólicos são polares e possuem elevada temperatura de ebulição. Já os terpenóides possuem polaridades e pontos de ebulição baixos, são altamente voláteis e, normalmente, conferem aroma às plantas, estão presentes em óleos essenciais de diversas partes da planta, inclusive nas folhas. Os terpenóides são analisados diretamente através de cromatografia gasosa acoplada com espectrômetro de massa (GC/MS), enquanto compostos fenólicos requerem técnicas de derivatização que reduzam sua polaridade e temperatura de ebulição para que possam ser analisados por GC/MS. Diante desse problema, a análise de compostos fenólicos pode ser realizada, de melhor forma, através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Peres 1990, Collins et al. 1997).

Os compostos químicos presentes nas folhas do cafeeiro podem variar de acordo com a idade das folhas. Normalmente, folhas novas apresentam maior suscetibilidade a doenças fúngicas do que folhas velhas, esse fato provavelmente se deve a presença de compostos que não são comuns as diferentes idades das folhas (Nojosa et al. 2003). Peres (1990) analisou extratos metanólicos de folhas novas e velhas de cafeeiro e encontrou compostos exclusivos em folhas velhas. Esses compostos apresentaram características de terpenos e possivelmente estão

envolvidos nos mecanismos de resistência das folhas velhas aos fitopatógenos.

Os agentes de controle biológico do bicho mineiro do cafeeiro são predadores, parasitóides e entomopatógenos. Os predadores mais relatados como agentes de controle biológico do bicho mineiro são Hymenoptera (Vespidae), predadores de lagartas (Souza 1979, Gravena 1983, Campos et al. 1989, Gravena 1992). Recentemente, Pereira (2002) também relatou ácaros e tripes predadores de ovos dessa praga. As espécies de Vespidae mais importantes como predadores do bicho mineiro são *Protonectarina sylveirae* (De Saussure), *Polybia scutellaris* (White), *Brachygastra lecheguana* (Latr.) e *Polistes* sp. As vespas predadoras voam e procuram pelo inseto por entre as plantas, localizando folhas de café que estejam com lesões. Havendo lagartas do bicho mineiro, retiram-nas das minas ingerindo-as em seguida, sendo que as folhas onde ocorreu predação permanecem com os sinais da ação destes predadores. Em condições favoráveis, esses inimigos podem reduzir o ataque do bicho mineiro em até 69% (Gravena 1983, Souza et al. 1998).

Os parasitóides que controlam o bicho mineiro, nas fases larval e pupal, são Hymenoptera das famílias: Braconidae (*Colastes letifer* Mann e *Mirax* sp.) e Eulophidae (*Cirrospilus* sp., *Closterocerus coffeella* Ihering, *Horismenus* sp. e *Proacrias* sp.). Entre os principais entomopatógenos desta praga estão as bactérias (*Erwinia herbicola* e *Pseudomonas aeruginosa*), fungos (*Cladosporium* sp.) e vírus (Souza 1979, Gravena 1983, Campos et al. 1989, Gravena 1992, Pereira 2002).

Os fatores climáticos podem influenciar diretamente ou indiretamente o ataque do bicho mineiro. Entre as ações diretas dos elementos climáticos sobre o bicho mineiro estão a ação das chuvas como fator de mortalidade de ovos e larvas e da temperatura e da umidade relativa do ar no desenvolvimento e reprodução deste inseto. Já a ação indireta dos elementos climáticos sobre o bicho mineiro pode ocorrer através da influência do clima sobre os inimigos naturais e composição química do cafeeiro (Villacorta, 1980, Oliveira & Alves 1988, Carracedo et al. 1991, Nestel et al. 1994, Pereira 2002). Os relatos da influência dos elementos climáticos sobre inimigos naturais do bicho mineiro são escassos (Pereira 2002), não existindo estudos da interação entre bicho mineiro x

clima x inimigos naturais x fitoquímicos.

Assim, este trabalho objetivou estudar o efeito de fitoquímicos presentes nas folhas de *C. arabica* sobre a intensidade de ataque de *L. coffeella* e a predação e parasitismo deste inseto.

Para tanto testou-se as seguintes hipóteses:

- Os fitoquímicos, presentes nas folhas do cafeeiro, variam sua concentração nas diferentes partes do dossel das plantas e nas diferentes épocas do ano.

- Existe uma ação diferenciada dos inimigos naturais nas diferentes partes do dossel das plantas e nas diferentes épocas do ano.

- Os elementos climáticos influenciam no crescimento populacional da praga nas diferentes épocas do ano.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no período de agosto de 2000 a setembro de 2001 em quatro talhões de *Coffea arabica* L. variedade Catuaí vermelho no campus da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. Cada talhão continha cerca de 2000 plantas de café em fase de produção. Durante o período experimental, monitorou-se semanalmente a intensidade de ataque do bicho mineiro às folhas do cafeeiro, as taxas de predação e de parasitismo deste inseto-praga e as concentrações de fitoquímicos nas folhas das plantas.

Para monitorar a intensidade de ataque do bicho mineiro e a taxa de predação deste inseto por Vespidae avaliou-se o número de minas com lagartas e de minas predadas num par de folhas dos terços apical, mediano e basal do dossel de 25 plantas em cada um dos quatro talhões (4 talhões x 25 plantas/talhão x 3 terços do dossel x 2 folhas/terço do dossel = 600 folhas avaliadas/semana).

Para monitorar o parasitismo de *L. coffeella* semanalmente foram coletadas 144 folhas minadas contendo larvas (4 talhões x 6 plantas/talhão x 3 terços do dossel x 2 folhas/terço do dossel = 144 folhas avaliadas/semana) nas quais avaliou-se a taxa de parasitismo usando metodologia adaptada de Reis Jr. (1999) e Reis Jr. et al. (2000). Para tanto, as larvas foram criadas no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do DBA/UFV, sob temperatura, umidade e fotoperíodo ambiente. Foram utilizados potes plásticos de 250 mL de capacidade, perfurados em suas tampas e telados com organza. No interior desses potes, as folhas coletadas foram acondicionadas e mantidas com o pecíolo imerso em

espuma sintética umedecida. Os parasitóides que emergiam eram retirados, contados e conservados para posterior identificação. Após o término do período larval, a porção das folhas contendo pupas foi cortada e colocada em vidros transparentes de 10 mL de capacidade, os quais foram mantidos sob temperatura, umidade e fotoperíodo ambiente. Esses recipientes foram tampados com parafilme com perfurações de cerca de 1 mm de diâmetro. No interior dos frascos, foram colocados pedaços de algodão hidrófilico umedecidos para se evitar a dessecação das pupas. À medida em que os adultos de *L. coffeella* e os parasitóides emergiam eles eram retirados dos frascos e contados.

Para monitorar os compostos químicos presentes nas folhas do cafeeiro, foram coletadas, semanalmente 144 folhas (4 talhões x 3 plantas/talhão x 3 terços do dossel x 2 folhas atacadas e 2 não atacadas/terço do dossel = 144 folhas avaliadas/semana). As folhas de cafeeiro foram coletadas sempre às 9:00 h da manhã e acondicionadas em sacos plásticos devidamente etiquetados. No laboratório, as folhas foram lavadas e cortadas para que fossem retiradas as impurezas e as lesões do bicho mineiro. Cada lote de folhas cortadas foram colocadas em sacos de organza e levadas para uma sala de secagem, por um período de seis dias, com ventilação forçada por dois aparelhos desumidificadores em sala de doze metros quadrados. Após esse período, cada material foi moído separadamente e acondicionado em frascos de vidros fechados hermeticamente com tampa plástica. Cada frasco continha aproximadamente 30 g de folhas de cafeeiro moídas correspondendo cada um a uma parte do dossel da planta, sendo que três foram oriundos de folhas infestadas pelo bicho mineiro e três oriundos de folhas não infestadas pelo bicho mineiro. Esse material foi submetido à extração no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA/UFV), onde um grama de cada material foi colocada separadamente em um erlemeyer de 125 mL de capacidade com três repetições totalizando 18 erlemeyers com um grama cada. Para extração dos constituintes químicos das folhas, cada erlemeyer recebeu 60 mL do solvente metanol e foi mantido em banho-maria por quatro horas a $45 \pm 5^{\circ}\text{C}$. O extrato obtido foi concentrado em evaporador rotativo e armazenado em congelador à temperatura de -18°C para posteriores análises cromatográficas. As análises cromatográficas foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), para identificação

e quantificação dos compostos químicos presentes nessas amostras de acordo com a comparação feita com padrões de cafeína, xantina, 3-metilxantina, 7-metilxantina, ácido clorogênico, ácido cafeico, teofilina, teobromina, ácido alantóico e alantoína (Kapoor & Aggarwal 1991, Blau & Halket 1993, Collins et al. 1997, Chapman 1998).

Para determinar o tempo de extração, realizou-se um pré-teste onde foi utilizado um erlemeyer de 100 mL de capacidade contendo 3 g de folhas de café moídas e 30 mL do solvente metanol. A cada ½ hora os 30 mL de metanol eram retirados do erlemeyer e substituídos por outros 30 mL de metanol. As folhas moídas permaneceram as mesmas durante todo o processo. O metanol retirado a cada ½ hora foi concentrado em evaporador rotativo. Esse extrato foi submetido a cromatografia de camada delgada utilizando-se, como meio de arraste, 20 mL de hexano + 20 mL de éter etílico (Figura 1). De acordo com a cromatografia após três horas de extração (Figura 1), não se verificou mais nenhum composto sendo arrastado pela placa de sílica. Concluiu-se, então, que o tempo de quatro horas seria suficiente para extração do material com uma margem de segurança de uma hora.

Para realização das análises cromatográficas as amostras, que estavam congeladas a -18°C, foram elevadas à temperatura ambiente, diluídas com 3 mL de metanol (para sair do frasco) e filtradas através de algodão em funil de vidro. Para eliminar a clorofila o extrato obtido foi filtrado em coluna de fase sólida (C18) por três vezes, até apresentar coloração verde clara ou ligeiramente amarelada. Uma pequena parte de cada amostra filtrada (0,5 mL) foi novamente diluída na proporção de 1 parte de extrato para 20 partes de metanol e, finalmente, foram injetados 20 µL em cromatógrafo líquido de alta eficiência. O líquido utilizado para o arraste foi metanol + água destilada (50%). Visando identificar os compostos presentes, todas as amostras foram injetadas em dois comprimentos de onda, 325 nm e 280 nm. Os padrões ácido clorogênico e ácido cafeico foram injetados a 325 nm e os de cafeína, 3-metilxantina e 7-metilxantina a 280 nm e fluxo de 1 ml/minuto. Para obter as curvas padrões, cada padrão foi injetado em soluções de 50, 40, 30, 20 e 10 ppm.

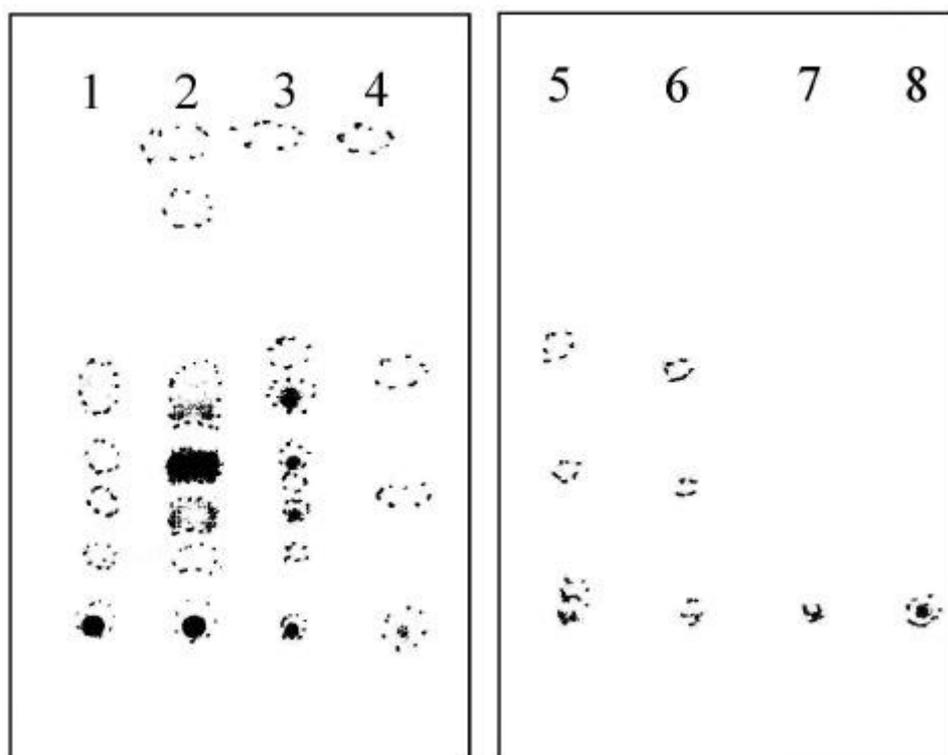


Figura 1 - Cromatogramas dos extratos alcoólicos de folhas de cafeeiro usando-se cromatografia de camada fina com meio e arraste constituído por 20 mL de hexano + 20 mL de éter etílico. Utilizaram-se os tempos de extração de (1) 30 minutos, (2) 1 hora, (3) 1,5 hora, (4) 2 horas, (5) 2,5 horas, (6) 3 horas, (7) 3,5 horas e (8) 4 horas.

Durante o período experimental foram obtidos dados diários de temperatura (máxima, média e mínima), total de precipitação pluvial, umidade relativa do ar (média), evaporação, insolação (total de horas de luz) e velocidade média dos ventos na Estação Climatológica Principal (INEMET/ 5^o DISME/ UFV).

A partir dos dados experimentais, calculou-se a média e erro padrão dos dados de intensidade de ataque do bicho mineiro (número de minas/folha), taxa de predação por vespas predadoras (número de minas predadas/folha), percentagem de parasitismo e concentração de fitoquímicos (ppm). A partir desses dados e os de elementos climáticos, confeccionaram-se curvas de variação sazonal destes durante o período experimental. Os dados de intensidade de ataque do bicho mineiro ao cafeeiro e das taxas de predação de larvas e de parasitismo de larvas e de pupas de *L. coffeella* foram submetidos à análise de trilha e de regressão ($p < 0,10$) para o entendimento das relações múltiplas entre as variáveis estudadas. Os dados das concentrações de fitoquímicos foram submetidos a análises de correlação canônica e de Pearson ($p < 0,10$) com os elementos climáticos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que o número médio de minas de *L. coffeella* no dossel das plantas de café foi decrescente durante o período de agosto de 2000 a agosto 2001. A redução no número de minas foi mais intensa nos meses de agosto de 2000 a março de 2001, passando de 1,45; 1,43 e 1,55 para 0,21; 0,12 e 0,18 minas por folha dos terços apical, mediano e base basal do dossel das plantas de café, respectivamente. Do mês de março de 2000 até o final das avaliações em agosto de 2001, a redução no número de minas foi pequena chegando a 0,24; 0,09 e 0,09 minas/folha dos terços apical, mediano e basal do dossel das plantas de café, respectivamente (Figura 2).

Detectou-se, nas folhas do cafeeiro, ácido cafeico, ácido clorogênico, cafeína e 3-metilxantina, sendo que não se detectou ácido alantóico, alantoína, xantina, 7-metilxantina, teobromina e teofilina.

Notou-se que as maiores concentrações do ácido cafeico ocorreram em setembro de 2000, em folhas apicais com minas de *L. coffeella* e em folhas dos terços mediano e basal sem e com minas de *L. coffeella*, chegando a 195,86; 445,47; 184,06; 391,21 e 159,96, respectivamente. Já nas folhas do terço apical do dossel, sem infestação minas de *L. coffeella*, a maior a concentração de ácido cafeico (37,73 ppm) ocorreu em outubro de 2000 (Figura 3).

Observou-se que as maiores concentrações do ácido clorogênico ocorreram em setembro de 2000 em folhas dos três terços do dossel, independente destas possuírem ou não minas. As concentrações do ácido clorogênico nesse mês chegaram a 2497,74; 1562,25; 2370,18; 1467,51; 1583,56 e 1495,97 ppm nas folhas dos terços apical, mediano e basal do dossel sem e com minas de *L. coffeella*, respectivamente (Figura 4).

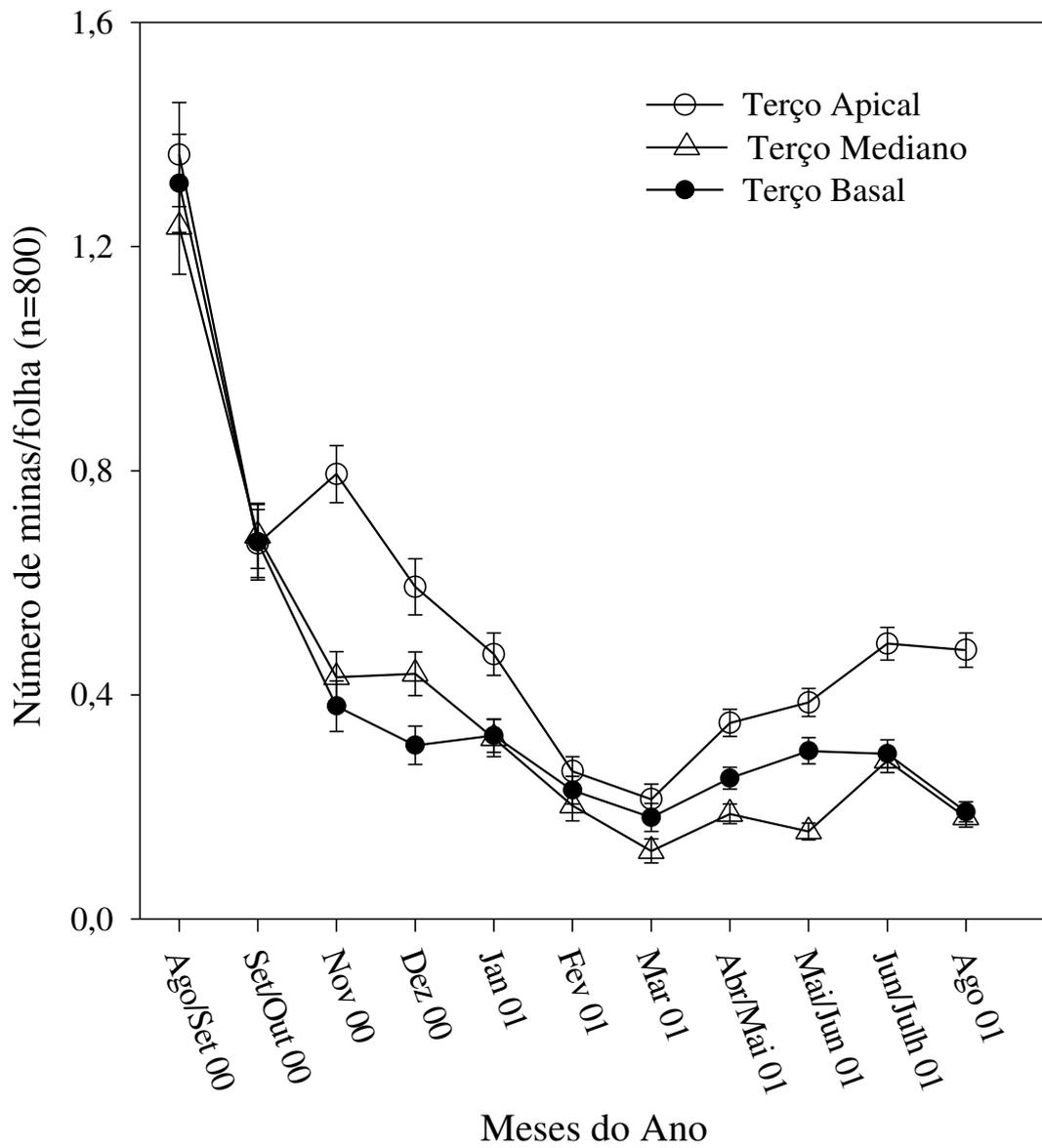


Figura 2 – Intensidade de ataque de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) a *Coffea arabica*. Viçosa, MG, 2000/01.

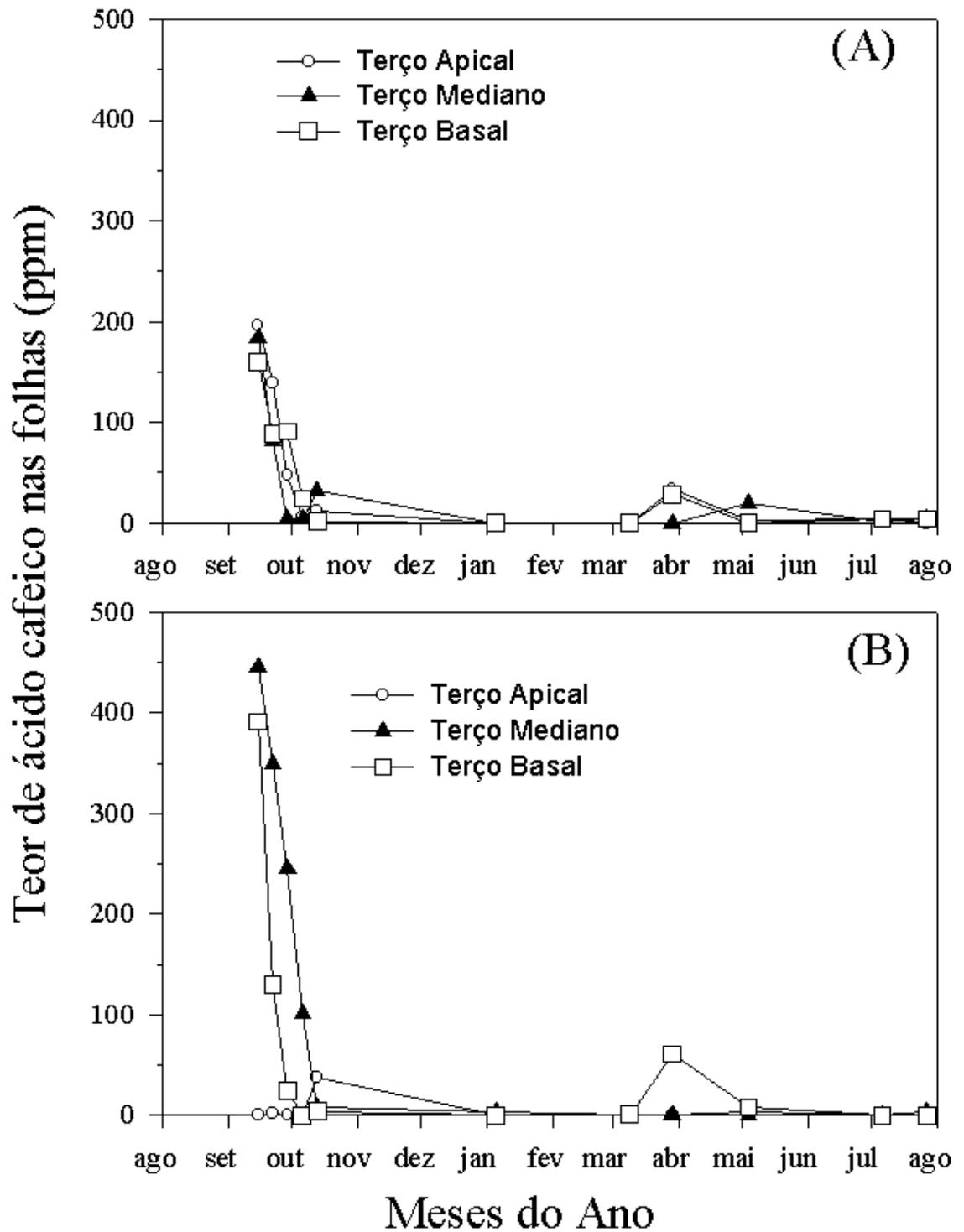


Figura 3 – Teor de ácido cafeico nas folhas de *Coffea arabica* (A) minadas e (B) não minadas por larvas de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). Viçosa, MG, 2000/01.

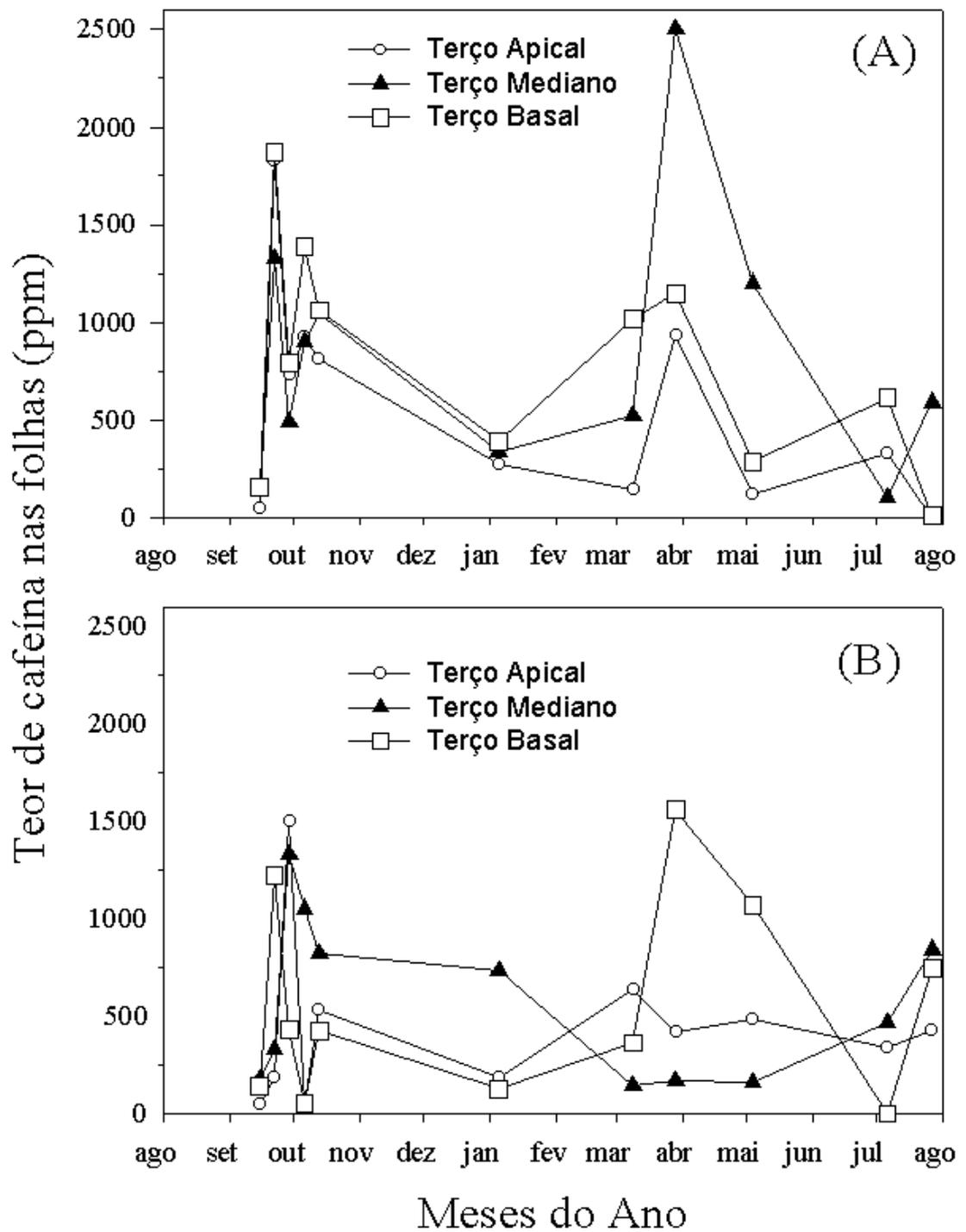


Figura 4 – Teor de ácido clorogênico nas folhas de *Coffea arabica* (A) minadas e (B) não minadas por larvas de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). Viçosa, MG, 2000/01.

Verificou-se que as maiores concentrações de cafeína, nas folhas do cafeeiro, ocorreram no período de setembro a outubro de 2000 em folhas do terço apical do dossel (tanto minadas como não minadas), folhas medianas sem minas e nas folhas basais com minas chegando a 182,96; 149,71; 95,30 e 53,47 ppm, respectivamente. Nas folhas do terço mediano do dossel com minas e nas folhas do terço basal do dossel sem minas a maior concentração de cafeína ocorreu no período de março a maio de 2001, chegando a 250,08 e 155,86 ppm, respectivamente (Figura 5).

Observou-se que as maiores concentrações de 3-metilxantina, nas folhas do terço apical do dossel do cafeeiro, ocorreram no período de setembro a outubro de 2000, chegando a 30,65 e 98,70 ppm nas folhas sem e com minas de *L. coffeella*, respectivamente. Nas folhas do terço mediano do dossel, as maiores concentrações de 3-metilxantina ocorreram em outubro de 2000, chegando a 49,50 e 46,12 ppm nas folhas sem e com minas de *L. coffeella*, respectivamente. Nas folhas do terço basal do dossel sem minas de *L. coffeella*, as maiores concentrações de 3-metilxantina ocorreram em março de 2001, chegando a 119,18 ppm. Nas folhas do terço basal do dossel com minas de *L. coffeella* as maiores concentrações de 3-metilxantina ocorreram em setembro de 2000, chegando a 2312,54 ppm (Figura 6).

Nas partes da planta e nas épocas do ano em que foram observados maiores teores do ácido clorogênico nas folhas também se verificou maiores teores do ácido cafeico ($r = 0,89$ e $p < 0,001$) e de 3-metilxantina ($r = 0,32$ e $p = 0,0676$) nas folhas. Os maiores teores do ácido clorogênico nas folhas ocorreram em períodos de menores temperaturas máximas ($r = -0,39$ e $p = 0,0252$), maior umidade relativa do ar ($r = 0,43$ e $p = 0,0133$) e menos ensolarados ($r = -0,49$ e $p = 0,0035$). Não se detectou relação entre os teores do ácido cafeico nas folhas com os teores de cafeína ($r = 0,07$ e $p = 0,71$), temperaturas do ar médias ($r = -0,13$ e $p = 0,46$) e mínimas ($r = 0,01$ e $p = 0,96$), precipitação pluviométrica ($r = 0,19$ e $p = 0,30$), taxa de evaporação ($r = -0,11$ e $p = 0,54$) e velocidade dos ventos ($r = -0,03$ e $p = 0,87$) (Tabelas 1 e 2 e Figura 7).

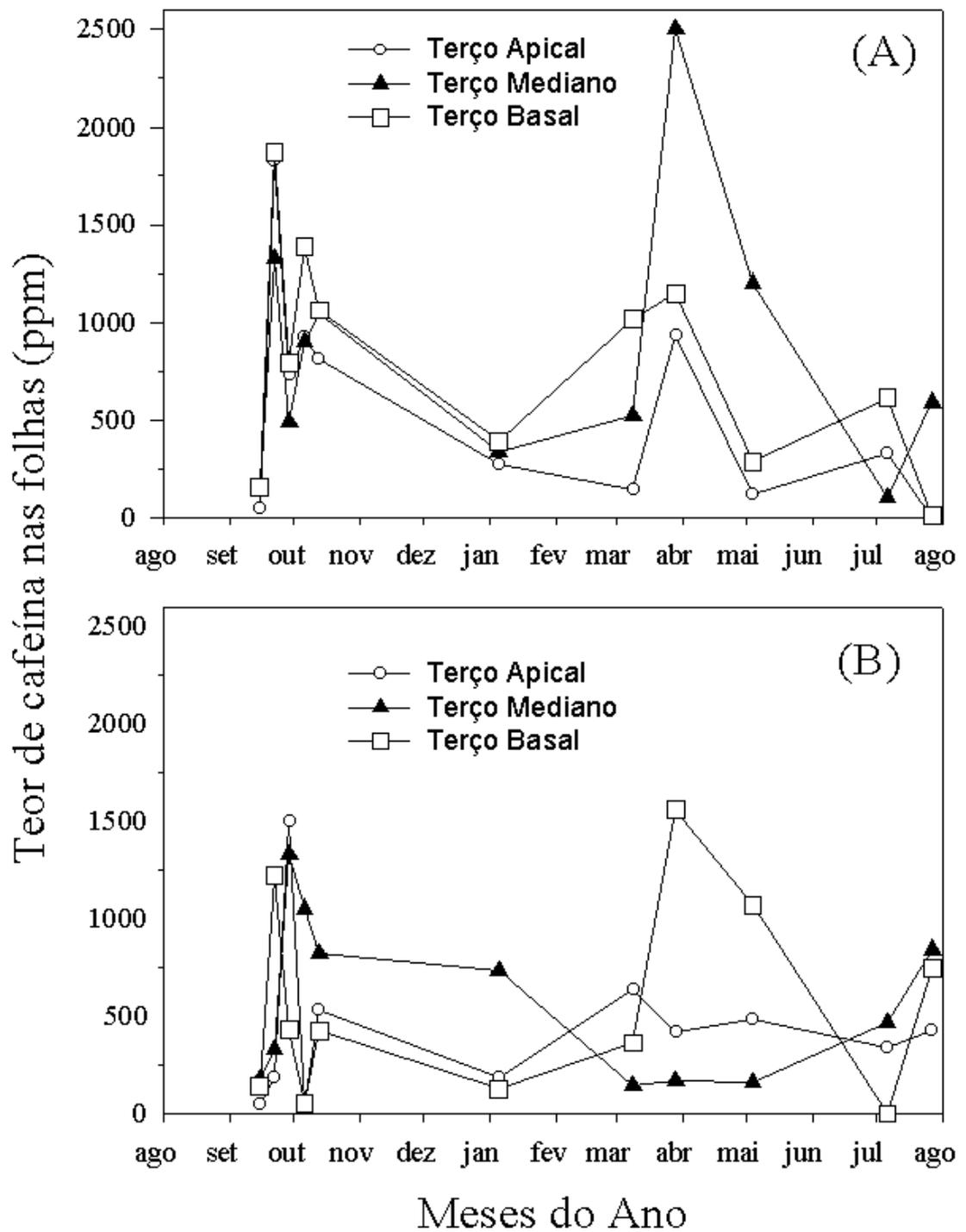


Figura 5 – Teor de cafeína nas folhas de *Coffea arabica* (A) minadas e (B) não minadas por larvas de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). Viçosa, MG, 2000/01.

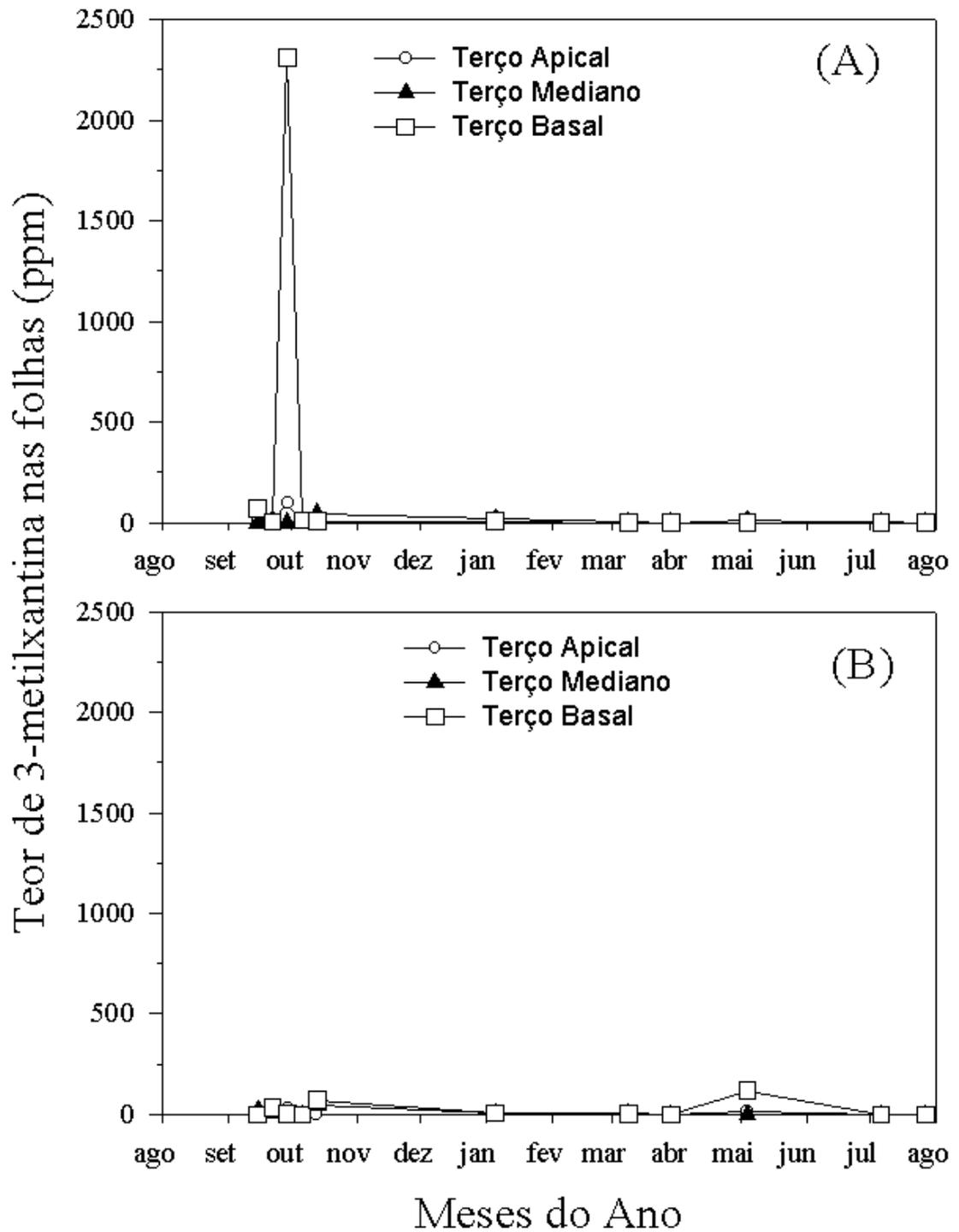


Figura 6 – Teor de 3-metilxantina nas folhas de *Coffea arabica* (A) minadas e (B) não minadas por larvas de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). Viçosa, MG, 2000/01.

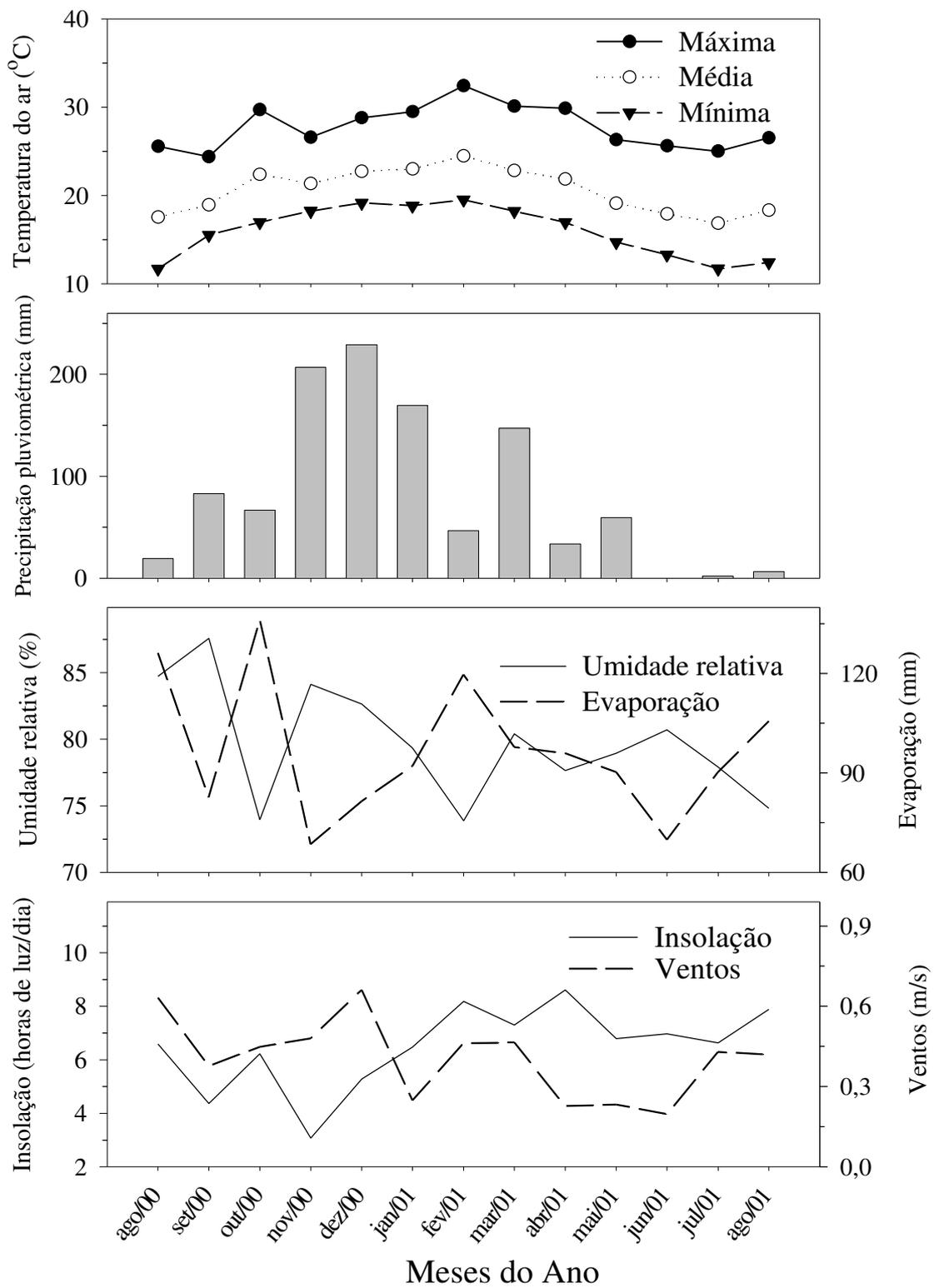


Figura 7 – Variação dos elementos climáticos durante o período experimental. Viçosa, MG, 2000/01.

Tabela 1 - Coeficientes e correlações canônicas entre os fitoquímicos presentes nas folhas do cafeeiro e os elementos climáticos.

Variáveis	Pares canônicos					
	1		2		3	
	Coeficiente	Correlação	Coeficiente	Correlação	coeficiente	correlação
Fitoquímicos						
Cafeína	-0,008	-0,11	0,465	0,53	0,895	0,84
3-metilxantina	-0,010	0,54	0,014	-0,03	-0,048	-0,02
Ácido clorogênico	-0,009	0,02	-0,848	-0,89	0,539	0,46
Ácido cafeico	1,005	1,00	0,064	-0,00	0,116	0,01
Elementos climáticos:						
Velocidade do vento	0,027	0,97	19,256	0,14	-16,713	0,19
Precipitação pluviométrica	-0,001	-0,18	0,085	0,07	0,045	-0,00
Evaporação	0,542	-0,03	-23,82	0,52	16,643	0,85
Insolação	0,030	0,11	-0,905	0,56	1,408	0,81
Temperatura do ar máxima	-0,007	-0,61	1,860	0,07	-1061	-0,39
Temperatura do ar média						
Temperatura do ar mínima	-0,004	0,97	-4,510	0,09	2,873	0,1
Umidade relativa média	1,433	1,00	-32,340	-0,04	24,694	-0,07
Pressão média	0,638	-0,69	-26,613	-0,38	16,524	-0,61
R	1,00**		0,98**		0,94**	
F	165,02		15,50		8,48	
g.l. num./g.l. den.	32/75,35		21/60,85		12/44,00	

**Significativo a $p < 0,0001$.

Tabela 2 - Coeficientes de correlação linear entre as concentrações de fitoquímicos nas folhas do cafeeiro e os elementos climáticos.

Elementos climáticos	Fitoquímico		
	Cafeína	Ácido clorogênico	Ácido cafeico
Velocidade do vento as 24 h	0,11	-0,02	0,97**
Evaporação	0,94**	-0,08	-0,03
Insolação	0,91**	-0,13	0,11
Temperatura mínima	0,02	-0,01	0,97**
Umidade relativa média	-0,19	0,02	1,00**

* Significativo a $p < 0,05$

** Significativo a $p < 0,01$

Não se detectou relação entre a intensidade de ataque do bicho mineiro e teores de cafeína ($r = 0,05$ e $p = 0,76$), 3-metilxantina ($r = 0,26$ e $p = 0,14$) e taxas de parasitismo de larvas e de pupas deste inseto ($r = -0,26$ e $p = 0,14$). Nas partes da planta e nas épocas do ano em que foram observados maiores teores do ácido cafeico nas folhas também se verificaram maiores teores do ácido clorogênico ($r = 0,89$ e $p < 0,001$) e 3-metilxantina ($r = 0,43$ e $p = 0,0131$) nas folhas. Os maiores teores do ácido cafeico nas folhas ocorreram em períodos de menores temperaturas máximas ($r = -0,33$ e $p = 0,0578$), maior umidade relativa do ar ($r = 0,46$ e $p = 0,0071$) e menos ensolarados ($r = -0,51$ e $p = 0,0027$). Não se detectou relação entre os teores do ácido cafeico nas folhas com os teores de cafeína ($r = 0,14$ e $p = 0,44$), temperaturas do ar médias ($r = -0,06$ e $p = 0,74$) e mínimas ($r = 0,09$ e $p = 0,62$), precipitação pluviométrica ($r = 0,19$ e $p = 0,29$), taxa de evaporação ($r = -0,08$ e $p = 0,64$) e velocidade dos ventos ($r = -0,17$ e $p = 0,36$) (Tabelas 1 e 2 e Figura 7). Mazzafera et al. (1996) e Guerreiro Filho & Mazzafera (2000) também não verificaram correlação entre os teores de cafeína nas folhas e a intensidade de ataque do bicho mineiro ao cafeeiro.

Os maiores teores de cafeína nas folhas ocorreram em períodos de maiores temperaturas do ar máximas ($r = 0,44$ e $p = 0,0106$), médias ($r = 0,51$ e $p = 0,0023$) e mínimas ($r = 0,50$ e $p = 0,0051$) e maiores precipitações pluviométricas ($r = 0,36$ e $p = 0,0405$). Não se detectou relação entre os teores da cafeína nas folhas com os teores do ácido cafeico ($r = 0,14$ e $p = 0,44$), ácido clorogênico ($r = 0,07$ e $p = 0,71$) e 3-metilxantina ($r = 0,14$ e $p = 0,43$) nas folhas, umidade relativa do ar ($r = 0,03$ e $p = 0,87$), taxa de evaporação ($r = 0,06$ e $p = 0,76$), insolação ($r = -0,004$ e $p = 0,98$) e velocidade dos ventos ($r = 0,07$ e $p = 0,71$) (Tabelas 1 e 2 e Figura 7).

Nas partes da planta e nas épocas do ano em que foram observados maiores teores de 3-metilxantina nas folhas também se verificaram maiores teores do ácido clorogênico ($r = 0,43$ e $p = 0,0131$) e ácido cafeico ($r = 0,32$ e $p = 0,0676$) nas folhas. Os maiores teores de 3-metilxantina nas folhas ocorreram em períodos chuvosos ($r = 0,40$ e $p = 0,0205$), de maior umidade relativa do ar ($r = 0,39$ e $p = 0,0253$), menor taxa de evaporação ($r = -0,33$ e $p = 0,0633$) e menos ensolarados ($r = -0,59$ e $p = 0,0003$). Não se detectou relação entre os teores de 3-metilxantina nas folhas e os teores de cafeína ($r = 0,14$ e $p = 0,45$), temperaturas máximas ($r = -0,14$ e $p = 0,43$), médias ($r = 0,13$ e $p = 0,48$) e mínimas ($r = 0,28$

e $p = 0,11$) e velocidade dos ventos ($r = 0,10$ e $p = 0,58$) (Tabelas 1 e 2 e Figura 7).

Maiores intensidades de ataque do bicho mineiro ao cafeeiro ocorreram quando foram mais elevadas as concentrações do ácido cafeico e do ácido clorogênico nas folhas (Figuras 8 e 9). Assim, infere-se que estas duas substâncias tiveram efeito positivo sobre o bicho mineiro constituindo-se assim cairomônios. Verificou-se que os teores desses dois cairomônios nas folhas foram maiores em períodos menos ensolarados, em que não ocorreram temperaturas elevadas e de ar mais úmido. Esses resultados auxiliam a compreensão da dinâmica populacional de *L. coffeella* nos cafeeiros, já que se têm verificado maiores intensidades de ataque deste inseto nos meses do ano onde ocorrem tais condições climáticas (Villacorta, 1980, Oliveira & Alves 1988, Carracedo et al. 1991, Nestel et al. 1994).

Até o momento, não se conhece os mecanismos da ação do ácido cafeico e do ácido clorogênico como cairomônios do bicho mineiro. Entretanto poder-se-ia supor que esses compostos agem como estimulantes alimentares acelerando o crescimento, a reprodução e, conseqüentemente, reduzindo o ciclo de vida da praga, o que gera um incremento em sua densidade populacional. Poder-se-ia pensar que outra possível ação dessas substâncias seria como atraentes, entretanto, devido à baixa volatilidade dessas substâncias descartasse esta hipótese. Portanto, os resultados aqui obtidos contradizem as afirmações de Del Moral & Muller 1970, Jones 1971, Isman & Duffey 1982 e Aerts & Baumann (1994) que hipotetizaram que uma das possíveis ações do ácido clorogênico nas folhas do cafeeiro seria a de conferir resistência a insetos fitófagos.

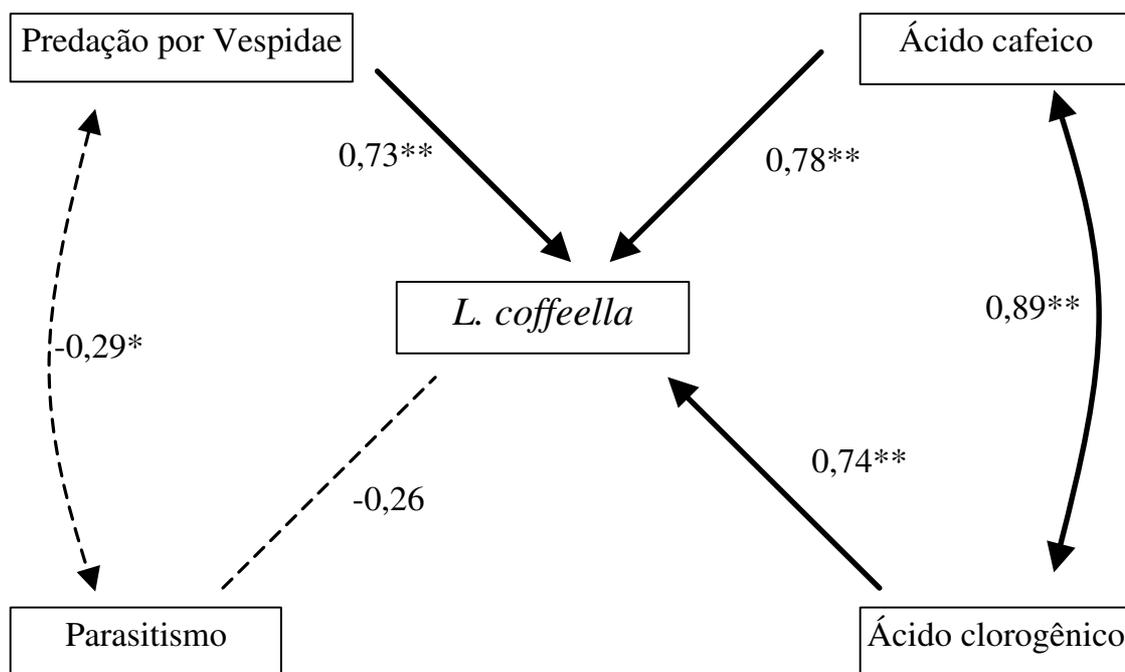


Figura 8 - Diagrama da análise de trilha dos fatores que influenciaram a intensidade de ataque de *Leucoptera coffeella* ao cafeeiro. As setas com apenas um sentido indicam a existência de interação, já as setas com dois sentidos indicam a existência de correlação entre as variáveis. As setas com linha contínua indicam efeito positivo. As setas com linha pontilhada indicam efeito negativo. *, ** Interação ou correlação significativas pelo teste χ^2 a $p < 0,10$ e a $p < 0,0001$, respectivamente.

$$Z' = 0,17 + 0,15XY \text{ (glr = 31; F = 74,47; p < 0,0001; R}^2 = 0,71)$$

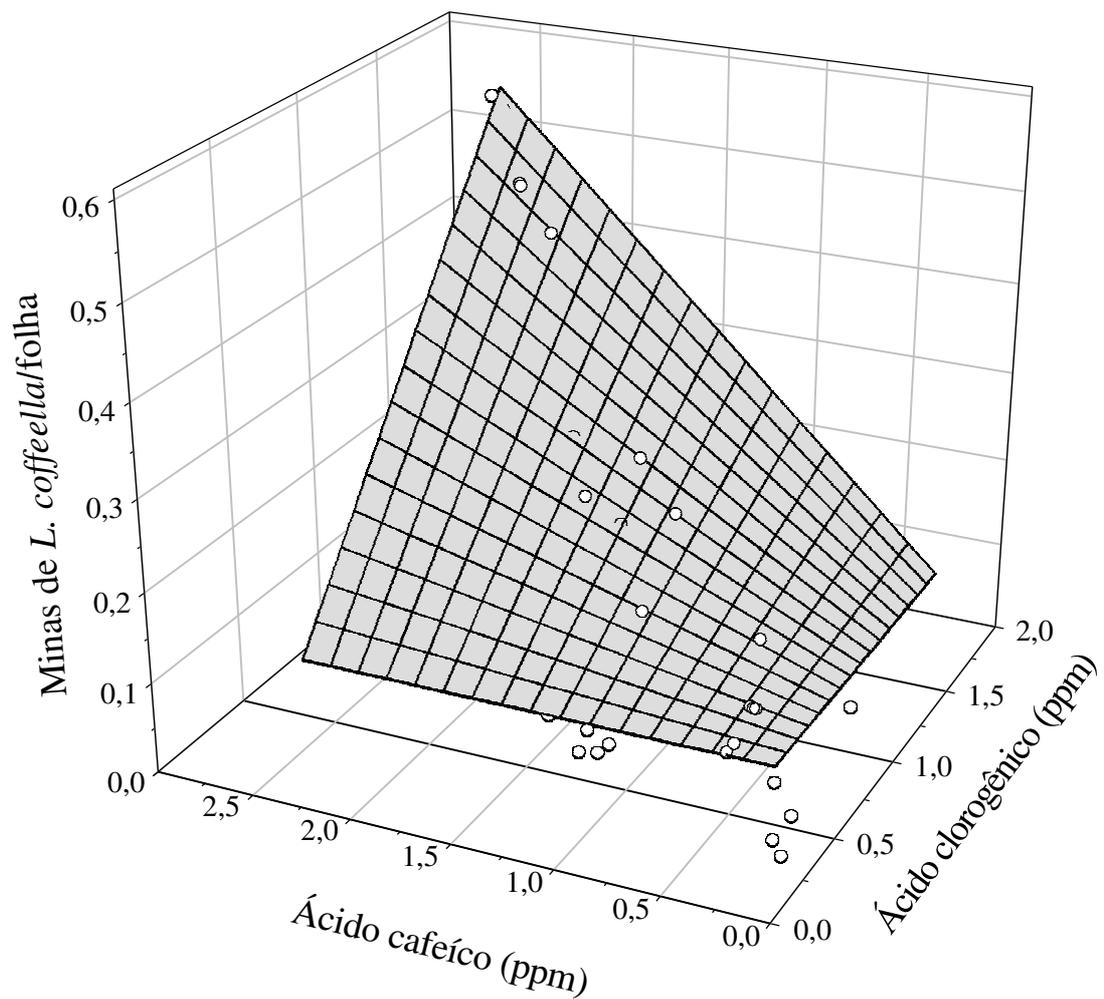


Figura 9 – Intensidade de ataque de *Leucoptera coffeella* em função dos teores do ácido cafeico e do ácido clorogênico nas folhas do cafeeiro. Viçosa, MG. 2000/01.

Verificou-se que o número médio de minas de *L. coffeella* predadas no dossel das plantas de café foi elevado de agosto de 2000 a novembro de 2000. Nesse período, o número médio máximo de minas predadas atingido foi de 0,45; 0,35 e 0,39 minas predadas/folha dos terços apical, mediano e basal do dossel das plantas de café, respectivamente. No período de novembro de 2000 até o final das avaliações o número médio de minas predadas foi reduzido, sofrendo pequenas variações e chegando a um mínimo de 0,05; 0,015 e 0,025 minas predadas nas folhas dos terços apical, mediano e basal do dossel das plantas de café, respectivamente (Figura 10).

As relações entre as densidades das vespas predadoras com o número de minas de *L. coffeella*, apresentaram pontos de máximo em suas curvas. Isto mostra que com o aumento inicial da intensidade de ataque de *L. coffeella* ocorreu aumento nas densidades dos inimigos naturais (Figura 11). A partir dos pontos de máximos ocorre uma redução na intensidade do ataque de *L. coffeella* devido, provavelmente, a elevação das populações dos inimigos naturais.

Nas partes da planta e em épocas do ano com maiores taxas de predação de larvas de *L. coffeella* por Vespidae ocorreram maiores intensidades de ataque deste inseto ($r = 0,79$ e $p < 0,001$), menores taxas de parasitismo de larvas e pupas do bicho mineiro ($r = -0,30$ e $p = 0,0956$) e teores mais elevados do ácido clorogênico ($r = 0,52$ e $p = 0,0018$) e do ácido cafeico ($r = 0,52$ e $p = 0,002$) (Figura 12). Não se detectou relação entre as taxas de predação de larvas de *L. coffeella* por Vespidae e teores de cafeína ($r = 0,22$ e $p = 0,23$) e 3-metilxantina ($r = 0,28$ e $p = 0,1149$).

A interação positiva entre as densidades populacionais das vespas predadoras com as concentrações dos ácidos cafeico e clorogênico verificadas neste trabalho ocorre de forma indireta. A elevação da população da praga que ingeriu altas concentrações coloca as vespas predadoras em contato com as substâncias, que assim os influenciam benéficamente estimulando seu crescimento, seja pelo estímulo direto das substâncias, seja pelo aumento da população da praga.

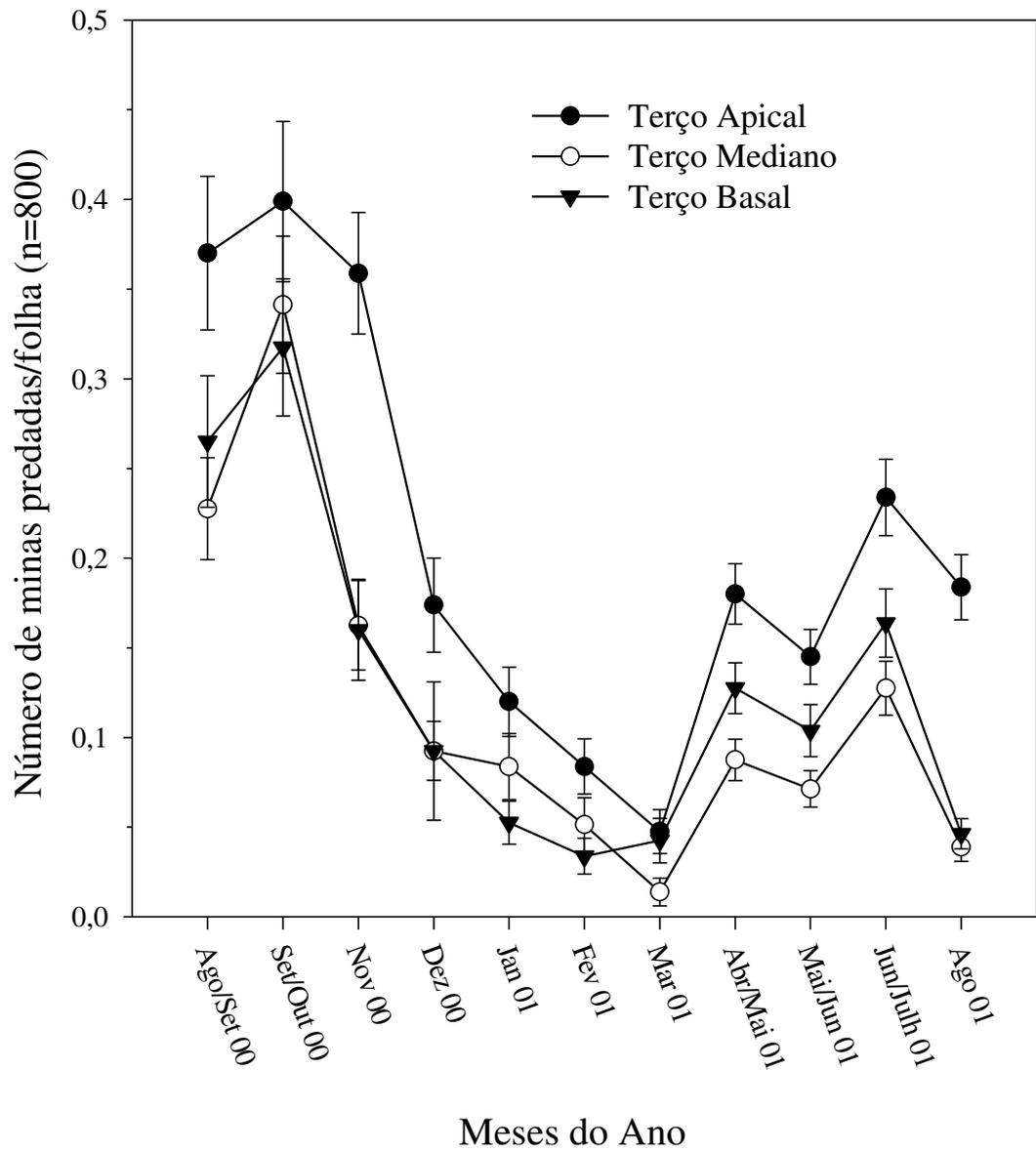


Figura 10 – Taxa de predação de larvas de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) por Vespidae em *Coffea arabica*. Viçosa, MG, 2000/01.

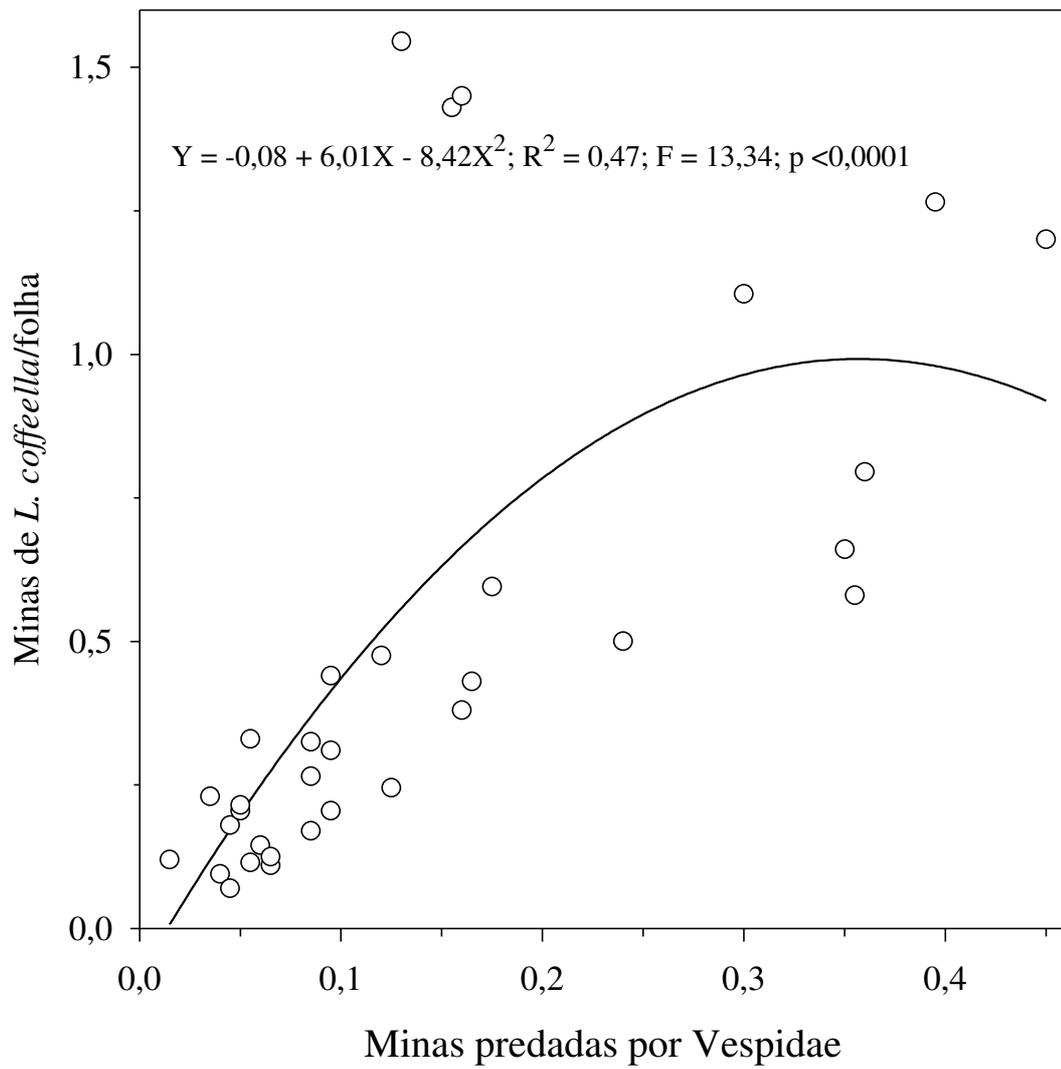


Figura 11 – Intensidade de ataque de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) ao cafeeiro em função da taxa de predação deste inseto por Vespidae. Viçosa, MG, 2000/01.

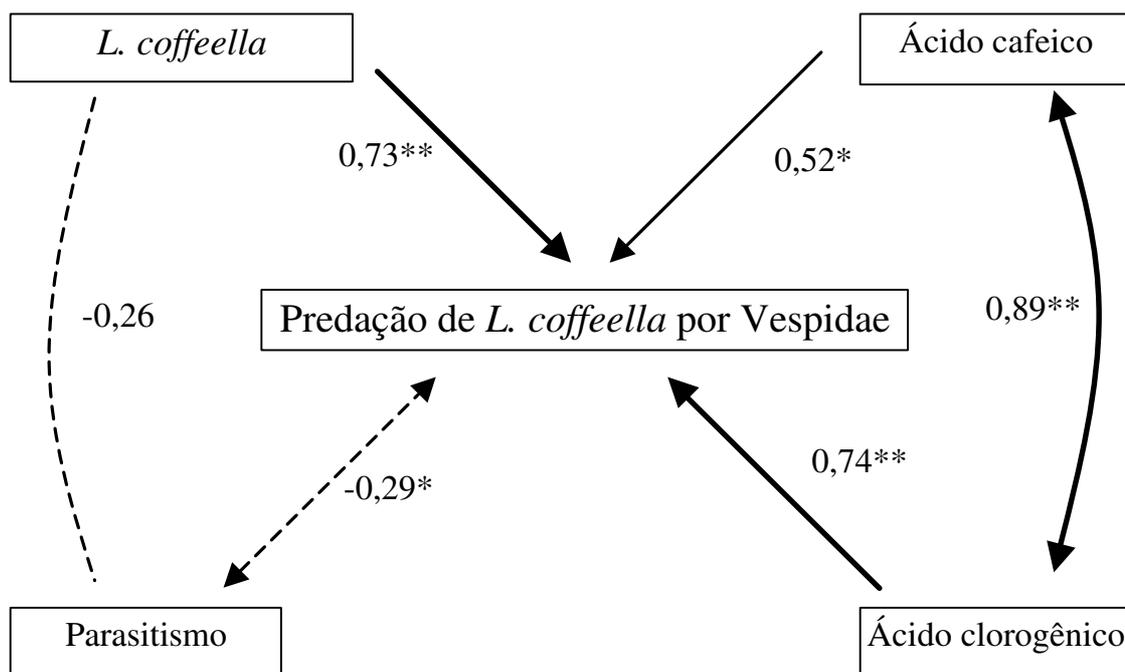


Figura 12 - - Diagrama da análise de trilha dos fatores que influenciaram a taxa de predação de larvas de *Leucoptera coffeella* por Vespidae. As setas com apenas um sentido indicam a existência de interação, já as setas com dois sentidos indicam a existência de correlação entre as variáveis. As setas com linha contínua indicam efeito positivo. As setas com linha pontilhada indicam efeito negativo. *, ** Interação ou correlação significativas pelo teste χ^2 a $p < 0,10$ e a $p < 0,0001$, respectivamente.

Verificou-se que as porcentagens médias de lagartas de *L. coffeella* parasitadas no dossel das plantas de café foram reduzidas do início das avaliações até o mês de fevereiro de 2001 chegando a 0,78; 4,05 e 0,00% de lagartas parasitadas nas folhas dos terços apical, mediano e basal do dossel das plantas de café, respectivamente. A partir de março de 2001 a agosto de 2001 verificou-se uma elevação nas porcentagens médias de lagartas de *L. coffeella* parasitadas chegando a 16,93; 16,73 e 28,41% de lagartas parasitadas nas folhas dos terços apical, mediano e basal do dossel das plantas de café, respectivamente (Figura 13).

Segundo Pereira (2002), se consideramos todo o ano não há relação entre a taxa de parasitismo e a intensidade de ataque do bicho mineiro ao cafeeiro. Entretanto, esse grupo de inimigos naturais constitui-se fator-chave de mortalidade desse inseto durante o período seco do ano quando, normalmente, é mais intenso o ataque do bicho mineiro ao cafeeiro.

Verificou-se que quando ocorreram maiores taxas de parasitismo de larvas e de pupas de *L. coffeella* ocorreram menores taxas de predação de larvas desse inseto por Vespidae ($r = -0,30$ e $p = 0,09$) e menores teores de cafeína nas folhas do cafeeiro ($r = -0,42$ e $p = 0,01$) (Figura 14). Não se detectou relação entre as taxas de parasitismo de larvas e de pupas de *L. coffeella* com a intensidade de ataque do bicho mineiro ($r = -0,26$ e $p = 0,14$) e teores do ácido clorogênico ($r = 0,03$ e $p = 0,88$), ácido cafeico ($r = -0,02$ e $p = 0,91$) e 3-metilxantina ($r = 0,01$ e $p = 0,96$) nas folhas.

A cafeína apresentou interação negativa com a densidade populacional dos himenópteros parasitóides, enquanto apresentou interação positiva com a temperatura. Desse modo, os himenópteros parasitóides sofrem ação tóxica da cafeína acumulada no corpo de seu hospedeiro, não conseguindo metabolizá-la, já que pode estar ocorrendo um acúmulo potencializado da substância no parasitóide. Este fato se deve, provavelmente, a dificuldade que o parasitóide possui de metabolizar esse composto, fato que não ocorre com as vespas predadoras, devido ao seu maior tamanho corporal e rotas metabólicas distintas e mais eficientes do que aquelas utilizadas pelos parasitóides (Nathanson, 1981, Frischknecht et al. 1986, Ashhara et al. 1996, Waller et al. 2000).

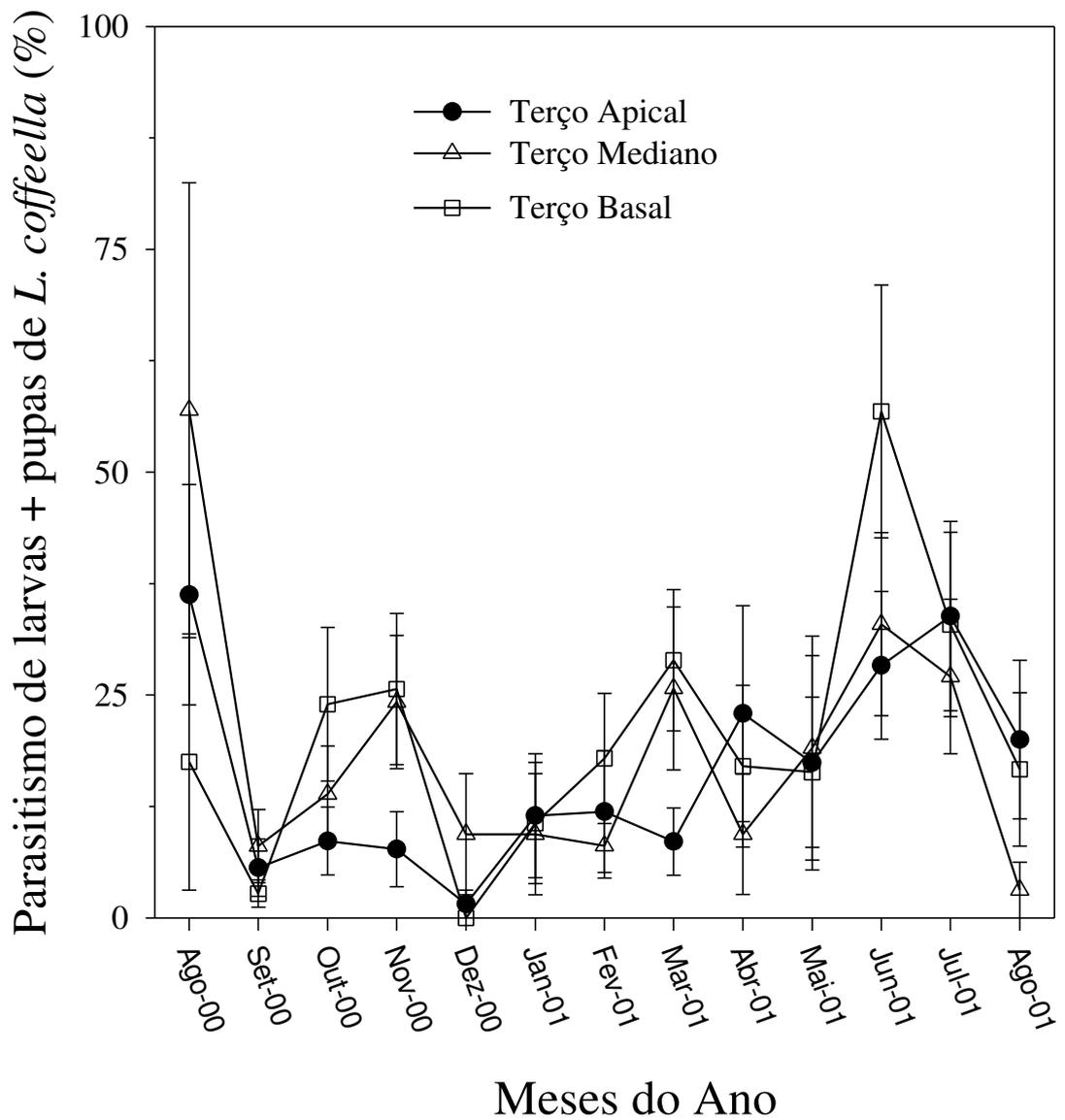


Figura 13 – Taxa de parasitismo de larvas e de pupas de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) por Vespidae em *Coffea arabica*. Viçosa, MG, 2000/01.

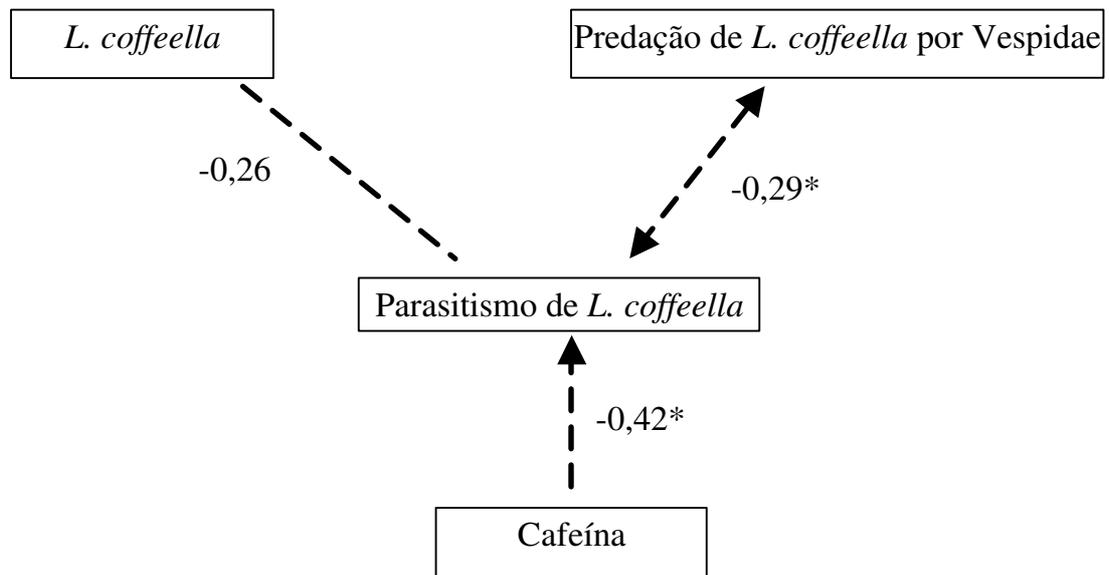


Figura 14 - Diagrama da análise de trilha dos fatores que influenciaram a taxa de parasitismo de larvas e pupas de *Leucoptera coffeella*. A seta com apenas um sentido indica a existência de interação. Já a seta com dois sentidos indica a existência de correlação entre as variáveis. As setas com linha pontilhada indicam efeito negativo. *, ** Interação ou correlação significativas pelo teste χ^2 a $p < 0,10$ e a $p < 0,0001$, respectivamente.

A correlação negativa que ocorre entre vespas predadoras e parasitóides podem ser explicadas, segundo Avilés (1991) e Reis Jr. et al. (2000) pela preferência que as vespas predadoras apresentam em predação lagartas que já estejam parasitadas. Dessa forma, verifica-se que quando a densidade populacional do predador aumenta a densidade populacional do parasitóide é reduzida.

4. CONCLUSÕES

- Os ácidos cafeico e clorogênico presentes nas folhas do cafeeiro parecem agir como kairomônios para o bicho mineiro do café.
- Períodos de temperaturas menos elevadas, de maior umidade do ar e menos ensolarados são favoráveis ao aumento dos teores dos ácidos cafeico e clorogênico nas folhas do cafeeiro.
- A cafeína presente nas folhas do cafeeiro parece ter efeito de biomagnificação sobre os himenópteros parasitóides do bicho mineiro.
- Períodos de maior temperatura do ar são favoráveis ao aumento dos teores de cafeína nas folhas do cafeeiro.
- Taxas de predação do bicho mineiro acima de 0,35 minas predadas/folha reduzem a intensidade de ataque do bicho mineiro ao cafeeiro, podendo este índice ser usado como nível de não-ação em programas de manejo integrado desta praga.
- As maiores taxas de predação e de parasitismo ocorrem em períodos distintos do ano.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AERTS, R.J.; BAUMANN, T.W. Distribution and utilization of chlorogenic acid in *Coffea* seedlings. **Journal of Experimental Botany**, v.45, n.273, p.497-503, 1994.

ASHIHARA, H.; MONTEIRO, A.M.; GILLIES, F.M.; CROZIER, A. Biosynthesis of caffeine in leaves of coffee. **Plant Physiology**, v.111, n.3, p.747-753, 1996.

AVILÉS, D.P. **Avaliação das populações de bicho-mineiro do cafeeiro *Perileucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) e seus parasitóides e predadores: Metodologia de estudo e flutuação estacional**. Viçosa, 1991, 126p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, 1991.

BLAU, K.; J. HALKET. **Handbook of derivatives for chromatography**. 2 ed., New York: John Wiley & Sons, 1993. 369p.

CAMPOS, O.G.; DECAZY, B.; CARRILLO, E. Dinámica poblacional del minador de la hoja del cafeto *Leucoptera coffeella* y sus enemigos naturales en la Zona de Nuevo San Carlos, Retalhuleu, Guatemala. **Turrialba**, v.39, n.3, p.393-399, 1989.

- CARRACEDO, C.; ZORRILLA, MAYDA; OLIVA, A. Influencia de algunos factores ecológicos en las fluctuaciones poblacionales del minador de la hoja del cafeto en el Tercer Frente, Santiago de Cuba. **Revista Baracoa**, v.21, n.1, p.7-19, 1991.
- CHAPMAN, R.F. **The insects: structure and function**. Cambridge: Cambridge University, 1998. 700p.
- CLARKE, R.J.; MACRAE, R. **Coffee**. 2 ed., London: Elsevier, 1989. 306p.
- CNP&D-CAFÉ. Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café. **Economia Cafeeira**. [25 jul. 2003]. (http://www.embrapa.br/cafe/consorcio/home_4.htm).
- COLLINS, C.H.; BRAGA, L.B.; BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 2 ed. Campinas: UNICAMP, 1997. 279p.
- DEL MORAL, R.; MULLER, C.H. Allelopathic effect of *Eucalyptus camaldulensis*. **American Midland Naturalist**, v.83, n.1, p.254-282, 1970.
- FRISCHKNECHT, P.M.; ULMER-DUFEK, J.; BAUMANN, T.W. Purine alkaloid formation in buds and developing leaflets of *Coffea arabica*: expression of an optimal defense strategy?. **Phytochemistry**, v.25 n.3, p.613-616, 1986.
- FRISCKNECHT, P.M.; ELLER, B.M.; BAUMANN, T.W. Purine alkaloid formation and CO₂ gas exchange in dependence of development and of environmental factors in leaves of *Coffea arabica* L. **Planta**, v.156, n.4, p.295-301, 1982.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SIVEIRA NETO, S.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ALVES, S. B.; ZUCCHI, R.A.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Manual de entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

- GRAVENA, S. Táticas de manejo integrado do bicho mineiro do cafeeiro *Perileuoptera coffeella* (Guérin-Méneville, 1842): I- Dinâmica populacional e inimigos naturais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.12, n.1, p.61-67, 1983.
- GRAVENA, S. **Manejo ecológico de pragas do cafeeiro**. Jaboticabal: UNESP., 1992. (Boletim Técnico, 4)
- GUERREIRO FILHO, O. **Seleção de cafeeiros resistentes ao bicho mineiro**. [25 jul. 2003]. (<http://www.cafenarede.com.br/TLArtigo1.htm>).
- GUERREIRO FILHO, O.; MAZZAFERA, P. Caffeine does not protect coffee against the leaf miner *Perileuoptera coffeella*. **Journal of Chemical Ecology**, , v.26, n.6, p.1447-1464, 2000.
- HOLLOWAY, P.J.; DEAS, A.H.B.; KABAARA, A.M. Composition of cutin from coffee leaves. **Phytochemistry**, v.11, n.4, p.1443-1447, 1972.
- ISMAN, M.B.; DUFFEY, S.S. Phenolic compounds in foliage of commercial tomato cultivars as growth inhibitors to the fruit worm, *Heliothis zea*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.107, n.1, p.167-170, 1982.
- JONES, D.A. Chemical defense mechanisms and genetic polymorphisms. **Science**. v.173, n.4000, p.945, 1971.
- KAPOOR, R.C.; AGGARWAL, B.S. **Principles of polarography**. New York: John Wiley & Sons, 1991. 185p.

- KLIFFORD, M.N.; WILLSON, K.C. **Coffee botany, biochemistry and production of beans and beverage**. London: Croom Helm, 1985. 457p.
- KUSHALAPA, A.C.; ESKES, A.B. **Coffee rust: Epidemiology, resistance and management**. Boca Raton: CRC, 1989. 345p.
- LISS, W.J.; GUT, L.J.; WESTIGARD, P.H. Perspectives on arthropod community structure, organization, and development in agricultural crops. **Annual Review of Entomology**, v.31, p.455-478, 1986.
- MATIELLO, J.B. **O café: do cultivo ao consumo**. São Paulo: Globo, 1991. 320p.
- MAZZAFERA, P.; YAMAOKA-YANO, D.M.; VITÓRIA, A.P. Para que serve a cafeína nas plantas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.8, n.1, p.67-74, 1996.
- NACCACHE, V.M.; DIETRICH, S.M.C. Changes in phenols and oxidative enzymes in resistant and susceptible *Coffea arabica* inoculated with *Hemileia vastatrix* (coffee rust). **Revista Brasileira de Botânica**, v.8, n.2, p.185-190, 1985.
- NATHANSON, J.A. Caffeine and related methylxanthines: Possible naturally occurring pesticides. **Science**, v.226, n.4671, p.184-187, 1984.
- NESTEL, D.; DICKSCHEN, F.; ALTIERI, M.A. Seasonal and spatial population loads of a tropical insect: the case of the coffee leaf-miner in Mexico. **Ecological Entomology**, v.19, n.2, p.159-167, 1994.
- NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; MORAES, S.R.G.; LOPES, F.C.A. Efeito da idade fenológica de tecidos foliares de *Coffea arabica* na resistência contra *Phoma costarricensis*. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL E WORKSHOP INTERNACIONAL DE CAFÉ & SAÚDE, 3, 2003, Porto Seguro, BA. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa-Café, 2003. p. 194-195.

- OLIVEIRA, J.R. **Idade da folha e susceptibilidade do cafeeiro a *Pseudomonas surinage* pv. *garcae***. Viçosa, 1988, 77p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, 1988.
- OLIVEIRA, M.A.S.; ALVES, P.M.P. **Flutuação populacional do bicho mineiro *Perileuoptera coffeella* Guerin-Meneville, 1842, em Rondônia. Porto Velho. Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Territorial de Porto Velho**. Porto Velho: Embrapa-Rondônia, 1988. 13p. (Comunicado Técnico, 54),
- PAULINI, A.E.; MATIELLO, J.B.; PAULINO, J.B. Oxicloreto de cobre como fator de aumento da população de bicho mineiro do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 4, 1976, Caxambu, MG. **Resumos...** p.48-49.
- PAULINI, A.E.; MIGUEL, A.E.; FRANCO, C.M. Níveis x épocas de desfolha e efeito na produtividade de cafeeiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 5, 1977, Guarapari, ES. **Resumos...** p. 154-156.
- PEREIRA, E.G. **Variação sazonal dos fatores de mortalidade natural de *Leuoptera coffeella* em *Coffea arabica***. Viçosa, 2002, 50p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.
- PERES, V. **Cromatografia de fase gasosa e espectrometria de massa para análise de metabólitos secundários em folhas de cafeeiro**. Viçosa, 1990, 81p. _Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 1990.
- PETTITT JR.; B.C. Identification of diterpene esters in Arabica and Canephora coffees. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.35, n.4, p.549-551, 1987.

REIS, P.R.; SOUZA, J.C. Manejo integrado do bicho-mineiro, *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae), e seu reflexo na produção de café. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** v.25, n.1, p.77-82, 1996.

REIS, P.R.; LIMA, J.O.G.; SOUZA, J.C. Flutuação populacional do "bicho mineiro" das folhas do cafeeiro, *Perileucoptera coffeella* (Lepidoptera - Lyonetiidae), nas regiões cafeeiras de Minas Gerais e identificação de inimigos naturais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 4. 1976 :_Caxambu, MG. **Resumos...** p.105-106.

REIS JR.; R. **Interferência entre vespas e parasitóides de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae)**. Viçosa, 1999, 38p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.

REIS JR., R.; LIMA, E.R.; VILELA, E.F.; BARROS, R.S. Method for maintenance of coffee leaves in vitro for mass rearing of *Leucoptera coffeella* (Guerin-Meneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, n.4, p.849-854, 2000.

SOUZA, J.C. **Levantamento, identificação e eficiência dos parasitos e predadores do "bicho mineiro" das folhas do cafeeiro *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Méneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae) no estado de Minas Gerais**. Piracicaba, 1979, 91p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – ESALQ/USP, 1979.

SOUZA, J.C.; P.R. REIS, P.R. **Bicho mineiro: biologia, danos e manejo integrado**. Belo Horizonte: EPAMIG, 1992. 28p. (Boletim Técnico, 37).

SOUZA, J.C.; REIS, P.R.; RIGITANO, R.L.O. **Bicho mineiro: biologia, danos e manejo integrado**. 2 ed. Belo Horizonte: EPAMIG, 1998. 48p. (Boletim Técnico, 54)

SOUZA, R.M. **Eliciação de uma fitoalexina em cafeeiro (*Coffea arabica*)**. Viçosa, 1987, 47p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, 1987.

THOMAZIELLO, R.A. Manejo integrado de pragas, doenças e plantas daninhas em café. In. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS, 1., 1987, Campinas, SP. **Anais ...**, 1987, p.155-170.

VILLACORTA, A. Alguns fatores que afetam a população estacional de *Perileucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) no norte do Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.9, n.1, p.23-32, 1980.

WALLER, G. R.; ASHHARA, H.; KATO, M. BAUMANN, T. W.; CROZIER, A.; SUZUKI, T. Pathways involved in the metabolism of caffeine by *Coffea* and *Camellia* Plants. In: PARLIMENT, T.H.; HO, C.; SCHIEBERLE, P. (eds.). **Caffeinated beverages health benefits, physiological effects, and chemistry**. p.9-19. 2000.

WALLNER, W.E. Factors affecting insect population dynamics: differences between outbreak and non-outbreak species. **Annual Review of Entomology**, v.32, p.317-340, 1987.