

ERALDO RODRIGUES DE LIMA

FEROMÔNIO SEXUAL DO BICHO-MINEIRO DO CAFÉ,
Leucoptera coffeella: AVALIAÇÃO PARA USO EM
PROGRAMAS DE MANEJO INTEGRADO.

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
2001

ERALDO RODRIGUES DE LIMA

FEROMÔNIO SEXUAL DO BICHO-MINEIRO DO CAFÉ,
Leucoptera coffeella: AVALIAÇÃO PARA USO EM
PROGRAMAS DE MANEJO INTEGRADO.

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”.

APROVADA: 28 de março de 2001.

Prof. Og Francisco Fonseca DeSouza

Prof. Angelo Pallini

Prof. José Henri que Shoereder

Prof. Marcelo Coutinho Picanço

Prof. Evaldo Ferreira Vilela
(Orientador)

Aos meus pais Leon e Benta,
A minha família,

Dedico,

AGRADECIMENTO

Aos meus pais, por todo o incentivo que dedicaram a mim e por acreditarem que pudesse seguir meu caminho.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização do Curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Ao Programa Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento do Café (PNP&D – Café) pelo apoio financeiro para o desenvolvimento de parte deste trabalho.

Ao Prof. Evaldo Ferreira Vilela, pela amizade, pelo incentivo e abertura de portas para que eu fizesse este treinamento.

Aos amigos Ângelo, Eric Forcier, José Henrique, Og e Ronaldo, pelo apoio em diversos momentos e pelas construtivas discussões científicas.

Aos estagiários do Laboratório de Feromônios, Aline, Ana Paula, Roberson, Rose e Vívian pelas participações nos diversos momentos ao longo deste trabalho e pela valorosa amizade.

A D. Paula, por todo seu empenho e dedicação junto ao cumprimento das Normas do Curso, e sobretudo pela paciência.

Ao funcionário do Insetário, Sr. Manoel pela constante ajuda e pela alegre convivência.

Este trabalho não seria possível sem a colaboração da Daterra Atividades Rurais (Patrocínio, MG), Heringer (Manhuaçu, MG), Epamig (Patrocínio). Meus sinceros agradecimentos.

Ao Pesquisador da Epamig (Viçosa), Antônio Tônico pelo entusiasmo na busca de soluções para a cultura do café, e pela área cedida para realização de alguns experimentos.

BIOGRAFIA

ERALDO RODRIGUES DE LIMA, filho de Leon Tolstoi Rodrigues de Lima e Benta Maria Cândido de Lima, nasceu em Júlio do Castilhos, Estado do Rio Grande do Sul, a 05 de fevereiro de 1960.

No período de novembro de 1982 a agosto de 1984, foi monitor de Entomologia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro quando decidiu que se dedicaria a Entomologia.

Em agosto de 1984, graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ.

Em março de 1989, concluiu Curso de Mestrado em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, onde é professor desde 1984.

Em março de 1998 iniciou o Curso de Doutorado em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
BIBLIOGRAFIA	15
Capítulo 1. Atividade dos isômeros óticos do 5,9-dimetilpentadecano, feromônio sexual de <i>Leucoptera coffeella</i> Guérin-Mèneville (Lepidoptera: Lyonetiidae).	20
Introdução	22
Material e Métodos	23
Resultados	26
Discussão	32
Bibliografia	35
Capítulo 2. Age and time related pheromone production in coffee leafminer <i>Leucoptera coffeella</i> Guérin-Mèneville (Lepidoptera: Lyonetiidae).	39
Intoduction	41
Material and Methods	42
Results	43
Discussion	47
Bibliography.....	50
Capítulo 3. Desenvolvimento de um sistema de monitoramento do bicho-mineiro do café <i>Leucoptera coffeella</i> Guérin-Mèneville (Lepidoptera: Lyonetiidae) com uso de feromônio sexual.	53
Introdução	55
Material e Métodos	57
Resultados	59
Discussão	67
Bibliografia	70
CONCLUSÕES GERAIS	71

RESUMO

LIMA, Eraldo Rodrigues de, D.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2001. **Feromônio sexual do bicho-mineiro do café, *Leucoptera coffeella*: Avaliação para uso em programas de Manejo Integrado.** Orientador: Evaldo Ferreira Vilela. Conselheiros: Og Francisco Fonseca DeSouza e Ângelo Pallini Filho.

O componente principal do feromônio sexual de *Leucoptera coffeella*, 5,9-dimetilpentadecano, possui quatro formas enantioméricas e estudos com outros insetos têm demonstrado que a quiralidade pode ser responsável, em grande parte, pela determinação da resposta comportamental de atração a uma mistura particular de um atraente sexual. Objetivou-se neste trabalho determinar a importância relativa de cada isômero desta molécula. Avaliou-se os isômeros puros com eletroantenografia, túnel-de-vento e em armadilhas no campo. Os testes realizados com eletroantenografia e túnel-de-vento indicaram uma pequena resposta do isômero 5S,9S-dimetilpentadecano (SS). No entanto nenhum dos estereoisômeros puros do 5,9-dimetilpentadecano foi capaz de atrair um número significativo de machos para armadilhas no campo quando comparados com a mistura racêmica. Por serem muito pequenos, a observação direta do comportamento de chamamento em fêmeas se torna muito difícil e imprecisa. Foi feito um estudo determinar o padrão de produção do feromônio sexual em fêmeas virgens como uma medida indireta do comportamento de chamamento. O componente principal, biologicamente ativo, (5,9-dimetilpentadecano) foi extraído para ser usado em dois experimentos. O primeiro investigou a produção de feromônio ao longo do tempo (horas) em fêmeas virgens. Para isto, extratos de 10

fêmeas de dois dias de idade foram extraídas de fêmeas a cada 2 h durante o período de 24 h (12:12 D:L). O outro experimento avaliou o efeito da idade das fêmeas na produção de feromônio. Com as idades variando de 1 a 5 dias, 10 fêmeas de cada idade foram usadas. Os extratos foram feitos e analisados em um cromatógrafo a gas. As fêmeas produziram as maiores quantidades de feromônio nas quatro últimas horas da escotofase e nas duas primeiras horas da fotofase seguinte. As quantidades de feromônio foram baixas em todos os outros períodos avaliados. Fêmeas de um dia de idade tiveram as maiores quantidades de feromônio na glândula. Após o segundo dia de emergência, os títulos de feromônio diminuíram significativamente e permaneceram baixos e nos mesmos níveis até os 5 dias de idade. Foram conduzidos experimentos de campo para determinar a eficiência de armadilhas de feromônio considerando a dose aplicada no liberador, a vida útil do liberador e a altura da armadilha para captura de machos. Diferentes modelos de armadilhas foram preparadas com 300µg de feromônio sexual e colocadas em plantações de café. Todos os experimentos foram feitos em Minas Gerais, MG. No primeiro estudo a dose de 300µg e 3000µg coletaram mais mariposas que em doses inferiores. Entretanto, quando se levou em consideração a vida útil do liberador a dose de 300µg foi inficiente para coletar machos depois de 15 dias e a dose de 3000µg repeliu os machos das armadilhas nos primeiros 15 dias. Em outro estudo concluiu-se que a melhor dose a ser aplicada nas armadilhas foi a de 900µg. No estudo com os diferentes modelos comparou-se armadilhas Delta® nas cores branca e verde, Tubular com cartão de cola no interior e a armadilha Cica®. Os resultados mostraram não haver diferenças entre as armadilhas Delta® e Cica. No entanto, a armadilha cilíndrica coletou significativamente menos insetos que as demais testadas. Por razões de economia e praticidade recomenda-se a Delta® para o monitoramento deste inseto. A avaliação da altura da armadilha determina que estas sejam colocadas no solo entre as linhas de plantio.

ABSTRACT

LIMA, Eraldo Rodrigues de, D.S., Universidade Federal de Viçosa, March 2001. **Sex pheromone of coffee leafminer, *Leucoptera coffeella*: Evaluation for employment in Integrated Pest Management programs.** Adviser: Evaldo Ferreira Vilela. Committee member: Og Francisco Fonseca DeSouza and Ângelo Pallini Filho.

The main compound of *Leucoptera coffeella* sex pheromone, 5,9-dimethylpentadecane, has four possible pure stereoisomers and studies with other insects have been demonstrated that this optical isomer may carries biological activity. The objective of the present work was to study whether only one or more of the pure stereoisomers were needed for biological activity. The evaluation of the pure stereoisomers was made using electroantennography, wind tunnel and pheromone trap in the field. The electroantennography and wind tunnel experiments indicated a small response from the 5S,9S-dimethylpentadecane (SS) isomer. However no stereoisomer alone was able to trap significant number of moths when compared to the racemic mixture of 5,9-dimethylpentadecane. Due to the small size direct observation of the calling behavior in females is very difficult and inaccurate. A study was undertaken to assess the pattern of sex pheromone production in glands of virgin females as an indirect measure of the calling behavior. The major compound, biologically active, (5,9-dimethylpentadecane) was extracted to be used in two experiments. The first one investigated the effect of the pheromone production time by females. Extracts of 10 females with

age of two days were carried out at 2-hour intervals during 24 hours (12:12 D:L). The other experiment evaluated the effect of female age on pheromone production. Age ranged from 1 to 5 days after emergence and 10 females of each age class were used. Extracts were analyzed by GC. Females had the highest amount of pheromone at the last four hours in the dark and the two first hours in the light period. Amounts of pheromone were lower in all other periods. One-day old females produced the highest amount of pheromone in the glands. After two days of emergence the titers of pheromone dropped significantly and remained low until females were 5 days old. Field experiments were conducted to determine the effectiveness of doses, the lifetime of the releaser, and the height of pheromone-baited traps to capture of coffee leafminer, *L. coffeella*, males. Also traps of different design were baited with 300µg of sex pheromone and were placed in coffee field. All experiments were done at Minas Gerais State - Brasil. In one study, the dose of 300µg and 3000µg in Delta traps collected more moths than the inferior doses. However, the considering the lifetime of the releaser the dose of 300µg was inefficient to trap moths more than 15 days and the 3000µg dose was a repellent in the first 15 days. In another study was concluded that the best dose to be applied in the traps 900µg. In the study of trap design the capture was compared among white delta, green delta, a tubular glued cardboard and the Cica® trap. Results showed that there were no differences in capture among traps with different colors. However, a circular glued cardboard trap trapped a significant less males than any other trap tested. For economic reasons the best option for monitoring purposes is recommended the Delta trap. The height of trap study determines that the trap should be positioned on the soil between the row of plants.

INTRODUÇÃO GERAL

1. Feromônios de Lepidoptera: histórico e desenvolvimento

O termo feromônio foi proposto para os compostos químicos usados na comunicação entre indivíduos de uma determinada espécie. Particularmente, uma substância química ou uma mistura de substâncias químicas que são secretadas por um indivíduo e provocam uma resposta imediata no comportamento sexual do indivíduo receptor foram denominadas feromônios sexuais de acordo com Karlson & Butenandt (1959).

A primeira estrutura química de uma substância ativa, desencadeadora do comportamento sexual em machos do bicho-da-seda, *Bombyx mori*, foi determinada como (E,Z)-10,12-hexadecadienol (bombicol) e o novo termo feromônio foi proposto para esta classe de substâncias biologicamente ativas (Karlson & Butenandt 1959). A identificação de feromônios sexuais de lepidópteros teve então suas portas abertas e uma grande diversidade de novas moléculas foram descobertas (Tumlinson 1988).

Os feromônios dos lepidópteros têm sido estudados intensivamente desde sua primeira identificação. Este fato se deve,

em particular, ao aprimoramento das técnicas de identificação e quantificação de compostos químicos, intensificado a partir da década de sessenta. Ainda, a importância econômica dos lepidópteros em relação aos outros grupos de insetos é, sem dúvida, um fator gerador de demanda de conhecimentos nesta área. Os estudos mais recentes têm demonstrado que o comportamento mediado por feromônios é muito complexo. Os componentes químicos são normalmente moléculas simples, mas misturas complexas envolvendo permutações geométricas, funcionalidade e comprimento de cadeia são frequentemente necessários para desencadear o complexo repertório que eventualmente culmina em acasalamento (Tumlinson 1988).

A ordem Lepidoptera consiste de 5 subordens, 29 superfamílias, 127 famílias, e mais de 150.000 espécies (Pellmyr & Leebens-Mack 1999). Na grande maioria, as identificações de feromônios sexuais foram feitas em espécies de importância econômica. Isto limita as informações que podem ser obtidas das relações entre as estruturas químicas do feromônio sexual produzido por fêmeas e a taxonomia dos insetos. A evolução dos sistemas de comunicação em Lepidoptera depende da variação destes sistemas e do seu controle genético, que afetam diretamente o papel do encontro do parceiro e isolamento reprodutivo. Em uma recente análise filogenética da comunicação em mariposas primitivas, Löfstedt & Kozlov (1997) revelaram que o aparecimento da comunicação por feromônios pode ter um valor adaptativo para o grupo inteiro, não restrito a níveis hierárquicos inferiores tais como gêneros e espécies, onde o papel dos feromônios para o reconhecimento do parceiro está bem estabelecido. Entre os lepidópteros noturnos acredita-se que os feromônios evoluíram a partir dos tricópteros considerando que os compostos produzidos nas

glândulas são do mesmo tipo para as duas ordens. Nos lepidópteros diurnos, (Hesperioidea e Papilionoidea), a comunicação por feromônios de longa distância foi perdida e substituída por uma comunicação visual bem sucedida.

∪Química dos Feromônios

A maioria das espécies pertencentes a Lepidoptera utiliza componentes alifáticos de cadeia longa tais como álcoois, acetatos, aldeídos, cetonas, e hidrocarbonetos, inclusive hidrocarbonetos do tipo epóxi. Tamaki *et al.* (1979) apresenta uma longa lista com 99 diferentes componentes que combinados produzem 291 feromônios para 160 espécies. Esta referência, ainda que antiga, mostra a tendência da distribuição dos compostos em Lepidoptera, de modo que os acetatos são predominantes, seguidos dos aldeídos e álcoois segundo (Tamaki *et al.* 1979). A geometria das duplas ligações do tipo Z (cis) (68%) são predominantes sobre as do tipo E (trans) (29%), sendo o restante duplas ligações terminais. Somente há uma década foi identificado o primeiro composto com três duplas ligações, *Thaumaetopoea pityocampa* (Thaumetopoeidae), hoje outras espécies de diferentes famílias apresentam tais compostos como em *Tuta absoluta* (Attygale *et al.* 1996). Um fator adicional na estrutura dos feromônios de Lepidoptera que leva a possibilidade de inúmeros novas moléculas, é a adição de ramos na estrutura do composto denominado quiralidade. A quiralidade ocorre quando os dois lados da estrutura, em relação ao carbono quiral, são desiguais mas são imagens espelhadas um do outro. Como resultado dessa diferença cada uma das duas formas do composto tem a habilidade de girar o plano de polarização de um feixe de luz polarizada, fato

este que levou à caracterização dessa forma de isomeria estrutural, denominado isomeria ótica. A isomeria ótica existe quando a estrutura da molécula é assimétrica e pode ser reconhecida pela aplicação de dois testes simples: a) ou a estrutura não pode ser superposta em uma imagem no espelho, b) ou a molécula não possui um plano ou centro de assimetria.

No início, os primeiros trabalhos com feromônios de lepidópteros apresentavam apenas uma substância implicada na comunicação e, como lembrado por Roelofs & Cardé (1977), estes exemplos apresentavam um quadro bastante simplificado. Este quadro hoje é bastante diferente onde a grande maioria dos feromônios sexuais de lepidópteros constitui-se de mais de um componente. No entanto, existem alguns exemplos de sistemas nos quais uma única substância é capaz de desencadear a seqüência completa de atração e comportamento pré-copulatório nos machos, tal como em *Cydia nigricana* (Wall *et al.* 1976) e em *Tuta absoluta* (Atygalle *et al.* 1996).

Já na década de 70, o primeiro exemplo de um feromônio sexual multicomponente em Lepidoptera (mistura de (Z,E)-9,12-acetato de tetradecadienila (Z,E)-9,12-TDA e (Z)-9-acetato de tetradecenila, (Z)-9-TDA, ambos componentes do feromônio sexual de *Spodoptera eridania*, foi identificado por Jacobsen *et al.* (1970). Os dois componentes estimulavam o comportamento sexual de machos individualmente e admitia-se que possuíam funções diferentes no comportamento de acasalamento deste noctuídeo (Jacobsen *et al.* 1970). Estes autores especularam que o dieno agiria como um atraente de longa distância e o monoeno seria usado na comunicação quando os insetos se aproximassem. Embora esta especulação sobre a diferenciação funcional dos componentes do feromônio não tenha sido provada neste caso, possíveis diferenças

na função dos componentes do feromônio em sistemas feromonais multicomponentes foram e têm sido um dos tópicos motivadores do estudo de feromônios sexuais em lepidópteros.

A primeira evidência de sinergismos em sistemas multicomponentes de feromônio sexual em lepidópteros foi relatada em espécies de Tortricidae do gênero *Adoxophyes* (Meijer *et al.* 1972). No caso de *Adoxophyes* sp., os componentes principais do feromônio sexual de fêmeas incluem o (Z)-9-TDA e (Z)-11-TDA. Respostas comportamentais de machos desta traça foram evidentes somente quando os dois componentes foram apresentados simultaneamente às antenas. Somente a mistura provocou o comportamento completo nos machos e os componentes individuais não o fizeram (Tamaki *et al.* 1979, Ritter 1971). Foi sugerido que a proporção dos dois componentes seria uma característica importante do sinal químico “espécie-específico”, ou seja aquela proporção serviria somente para o reconhecimento daquela espécie. Outro resultado relevante desse trabalho foi que a adição de uma combinação particular de (Z)-11-TDA provocava mudança drástica na atividade biológica. Este acetato trata-se de um componente comum do feromônio sexual de *Argyrotaenia velutinana* e *Choristoneura rosaceana*, dois outros tortricídeos de maçã na América do Norte. Esse composto foi determinado como um sinergista para a primeira espécie e um inibidor para a segunda, sendo posteriormente reconhecido como componente do feromônio de *A. velutinana*. A importância da proporção e a relação precisa dos componentes múltiplos em feromônios sexuais de lepidópteros foram então estabelecidas. Os feromônios constituem-se de dois a sete compostos químicos, com um deles, o componente principal, geralmente responsável por mais de 80% do volume, enquanto os

outros compostos químicos estão presentes em menor volume e são designados componentes secundários.

∪Feromônios e comportamento

A percepção das moléculas de feromônio em mariposas desencadeia uma série de comportamentos que é expressa numa seqüência padrão. Esta seqüência inclui o movimentar das antenas, o caminhar, o vibrar das asas, o levantar vôo, voar em ziguezague, localizar a trilha, voar contra o vento seguindo a trilha de feromônio, localizar a fonte de feromônio, pousar na fonte de feromônio ou áreas adjacentes, caminhar e movimentar as asas até encontrar a fêmea. Essa é a cadeia de respostas de longa distância. O encontro com a fêmea inicia uma outra cadeia de respostas, de curta distância, em que o macho interage com as fêmeas, e eventualmente pode levar a cópula. A seqüência de reações a longa distância é extremamente dependente da composição química e estrutural da trilha de feromônio (Mafra-Neto 1993, Mafra-Neto & Cardé 1996). Essa cadeia de respostas ocorre na presença de feromônio e é modulada pela quantidade e qualidade das moléculas de feromônio que o macho encontra de instante a instante (Linn *et al.* 1987).

O conceito da especificidade do sinal químico tem sido a força central na análise dos comportamentos exibidos pelos machos de mariposas ao feromônio coespecífico. Sem dúvida a resposta dos machos é dependente da detecção e reconhecimento de uma mistura precisa de componentes. Em 1978, Roelofs propôs a hipótese do limiar para a percepção de feromônios multicomponentes (Roelofs 1978). De acordo com esta hipótese a especificidade da resposta do

macho é controlada por dois efeitos principais que atuam no comportamento de vôo, e que estão diretamente relacionados com a percepção dos machos da proporção dos componentes e da taxa de liberação do feromônio sexual.

Uma das questões mais importantes na área do estudo da comunicação mediada por feromônio sexual é a de onde e quando os componentes secundários são necessários para que o comportamento seja expresso plenamente. Existem duas hipóteses concorrentes: a hipótese da mistura e a hipótese dos componentes (Linn *et al.* 1987, Minks & Cardé 1988). Linn *et al.* (1987) demonstraram que em várias espécies a composição química da trilha gerada por fontes sintéticas deve ter a mesma composição que trilhas naturais liberadas pelas fêmeas para que o comportamento seja expresso na sua plenitude. Os machos das espécies testadas percebem a combinação dos componentes de feromônio como um todo. A maioria das espécies de mariposas parecem precisar da combinação completa de feromônio que reflete exatamente a composição de feromônio natural emitida pelas fêmeas para que a resposta seja maximizada, isto é, para que o comportamento seja expresso diante da menor quantidade de feromônio possível (hipótese da mistura). Essa hipótese começou a ser questionada no início da década de 90, quando o estudo de Mafra-Neto (1993) com mariposas de espécies filogeneticamente distantes, demonstrou que quando longe da fonte de feromônio, a expressão dos comportamentos iniciais da seqüência de resposta é baseada na presença do componente principal, independentemente da presença dos componentes secundários. A importância da presença dos componentes secundários no sucesso da transição de comportamentos nessas espécies aumenta quando os machos passam para a fase onde comportamentos intermediários ou

avançados na seqüência de respostas ao feromônio passam a ser expressos (hipótese dos componentes). O resultado desses estudos é a evidência de que machos de espécies diferentes de mariposas percebem odor (e processam essa informação) de maneiras diferentes, além de ser forte a evidência de que mais de uma estratégia de comunicação química evoluiu do processo de seleção natural responsável pela existência das quase 120 mil espécies de mariposas presentes no globo (Cardé 1990).

A liberação e percepção dos feromônios nos insetos depende de sua condição fisiológica e de uma ampla variedade de condições ambientais que estes organismos podem experimentar durante sua vida. A compreensão dos mais variados aspectos básicos da biologia dos feromônios, incluindo comportamento (Payne *et al.* 1986), fisiologia e bioquímica (Cusson & McNeil 1989, McNeil 1991, Payne *et al.* 1986, Prestwich & Blomquist 1987, Prestwich *et al.* 1989, Raina *et al.* 1989, Raina 1997, Tang *et al.* 1989, Teal *et al.* 1989), e genética (Collins & Cardé 1985, Foster *et al.* 1997, Roelofs *et al.* 1987) tem avançado a passos largos, considerando a grande quantidade de trabalhos publicados nesta área, embora seja clara a inexistência de pesquisa em algumas áreas. A produção, liberação e resposta aos feromônios são controladas por fatores endógenos e modificadas por fatores exógenos.

Em várias espécies, as quantidades de feromônio na glândula das fêmeas se alteram induzidas por fatores endógenos tais como a idade (Castrovillo & Cardé 1979, Howlader & Gerber 1986) e modificados por fatores exógenos tal como o fotoperíodo (Delisle & McNeil 1987ab, Raina *et al.* 1986, Schal *et al.* 1987, Webster & Cardé 1982). Porém, não se sabe se, ou como, tais mudanças influenciam a taxa de emissão de feromônio e a atratividade relativa de diferentes fêmeas velhas durante o período de chamada.

Enquanto fêmeas mais velhas de *Trichoplusia ni* necessitam um tempo consideravelmente menor e emitem significativamente menos feromônio total por noite que as mais jovens, elas emitem uma taxa muito mais alta de feromônio (Bjostad *et al.* 1980). Porém, não se sabe se esta taxa as tornam mais atrativas durante o curto período que elas chamam em comparação a uma fêmea mais jovem. Bjostad *et al.* (1980) também notaram uma diminuição da taxa de emissão do feromônio com o passar do tempo do início do chamamento, em fêmeas de *T. ni* com quatro dias de idade, e uma situação semelhante foi observada no arctíideo *Holomelina lamae* (Schal *et al.* 1987). A especificidade e a natureza não tóxica dos feromônios os tornam uma opção atraente para uso em programas de manejo integrado de pragas, ainda que o uso desses compostos modificadores do comportamento, como ferramentas de manejo, não tenham por vezes alcançado as expectativas (Cardé 1990). No entanto a caracterização da influência desses fatores biológicos envolvidos na comunicação pode ser a chave para o uso eficiente dos feromônios no Manejo Integrado de Pragas.

∪ **Feromônios no Manejo Integrado de Pragas**

O período de intensas pesquisas e desenvolvimento de feromônios à partir dos anos 60 foi desencadeado primeiramente pela identificação de atraentes sexuais químicos espécie-específicos ou feromônios em várias espécies de mariposas e, em seguida, a síntese destes compostos em laboratório (Watherston 1971). Após este início uma série de insetos pragas tiveram seus métodos tradicionais de monitoramento substituídos pelos atraentes sexuais. O grande potencial desta técnica para o monitoramento, ou mesmo

controle de pragas agrícolas levou a uma ampla proliferação no desenvolvimento de sistemas baseados em coletas de insetos em armadilhas.

O desenvolvimento e aplicação de feromônios com armadilhas nos últimos 20 anos recai em duas fases principais. A primeira delas é o intenso desenvolvimento em testes de campo de vários tipos de armadilhas, baseados em seu desenho, para um número expressivo de pragas de importância econômica. Essa foi uma fase movida pelo interesse prático imediato, na confiante crença de que o desenvolvimento de feromônios sintéticos e sua incorporação em armadilhas adequadas proveria uma solução aos vários problemas no monitoramento e controle de pragas.

A segunda fase, que deveria ter precedido a primeira, veio posteriormente a ela, e é marcada por estudos mais críticos em todos os aspectos da resposta aos feromônios. Ela foi progressivamente investigada como um problema de ciência pura, demandando a experiência de fisiologistas de insetos no uso de equipamentos de laboratório apropriados para analisar respostas de insetos. Ao menos nos países pioneiros no uso dessa ferramenta, nota-se pela literatura que os trabalhos da primeira fase, avaliação de armadilhas no campo, foram gradualmente diminuindo, enquanto os da segunda fase ganharam destaque nas principais revistas especializadas com centenas de publicações a cada ano.

No Brasil, para os insetos que têm seu feromônio identificado e que são encontrados somente na América do Sul, a situação atual determina que façamos estudos da primeira fase, porém com o conhecimentos básicos da segunda fase adquirido ao longo dos anos em outros continentes.

Uma premissa básica no MIP é o conhecimento da história de vida do inseto-praga. Rabb (1970) e Roitberg & Angerilli (1986)

sugeriram que um enfoque de ecologia e comportamento seria de valor para muitos aspectos do MIP, principalmente para o uso de feromônios sexuais. De fato, entendendo melhor estes aspectos, pode-se interpretar, de maneira mais adequada, os dados provenientes do campo referentes à captura em armadilhas de feromônio, bem como na interrupção do acasalamento.

∪ Manejo integrado de pragas do cafeeiro

Cultura de grande importância para o Brasil, o café sofre grandes prejuízos com o ataque de insetos-praga. A melhoria da qualidade do processo produtivo, com consequente diminuição dos custos de produção e da poluição agrícola exige, atualmente, o desenvolvimento de novas técnicas de manejo das pragas que atacam esta cultura. Por exemplo, em levantamento feito pela CACCER - MG (Cooperativa Agrícola de Café do Cerrado), através de questionário aplicado aos seus cooperados, 97% tiveram problemas com pragas sendo 51% com o bicho-mineiro. Nesse mesmo questionário, os cooperados (12%) apontaram que o maior investimento em pesquisa deve ser na área de controle de pragas e controle de doenças, indicando o bicho-mineiro como o principal problema.

O bicho-mineiro das folhas do cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) é considerado, atualmente, a principal praga do cafeeiro no Brasil, e mais especificamente em Minas Gerais, Paraná e São Paulo, devido a sua ocorrência generalizada nos cafezais e aos prejuízos econômicos causados. (Reis & Souza 1996).

Este inseto alcançou o status de praga-chave da cafeicultura em várias regiões do país, dependendo da época do ano, do tipo de café e dos tratamentos culturais e fitotécnicos empregados. Com isto, avolumaram-se as aplicações de agrotóxicos contra esta praga, com resultados, às vezes, satisfatórios, porém, sempre onerando o custo da produção e causando poluição do meio ambiente, com conseqüências no surgimento de novas pragas. Em função da ênfase no controle químico e ao descrédito, nos anos recentes, na rentabilidade da cultura do café para o agricultor, assim como o fim do IBC, muito pouco se estudou e se pesquisou a respeito das pragas do cafeeiro, como no caso do bicho-mineiro.

Este lepidóptero é um inseto monófago, atacando somente o cafeeiro. Seu ciclo biológico varia de 19 a 87 dias (ovo: 5-10, lagarta: 9-40 e pupa: 4-26). Longevidade do adulto: 15 dias. As larvas se alimentam do parênquima foliar, entre as duas epidermes, formando áreas vazias ("minas"). Em condições de campo o número de gerações anuais varia de 8 a 12 (Gallo *et al.* 1988). O bicho-mineiro pode causar prejuízos na produção, no rendimento do café produzido e na longevidade do cafeeiro. Prejuízos na produção de até 30%, são causados pelo ataque severo do bicho-mineiro ao destruir e derrubar as folhas (Thomaziello 1987, Souza & Reis 1992, Reis & Souza 1996). O bicho-mineiro é uma praga do café de importância mundial. Três espécies são encontradas na África (*L. coffeina*, *L. coma* e *L. meyricki*) e uma na região Neotropical, que inclui América do Sul e Central além do Caribe (*L. coffeella*) (Reis & Souza 1984).

O monitoramento do bicho mineiro do café tem sido feito por meio de amostragens no campo determinando-se a porcentagem de folhas minadas. Segundo Gravena (1983) existem problemas de natureza metodológica neste tipo de avaliação quando se leva em

consideração a ação de inimigos naturais (vespas, parasitóides e patógenos). Por outro lado o número máximo de pontos de amostras que podem ser estabelecidos é determinado pelo esforço total dedicado para amostrar e a quantidade de trabalho requerido para cada ponto amostral. Desta maneira, a praticabilidade de um programa de amostragem é baseada no balanço entre a confiança estatística e os níveis de precisão e as limitações práticas da aplicação, particularmente tempo. Assim, em áreas de plantio de grande extensão, comuns em cafezais no Brasil, a viabilidade de tais programas são questionáveis. A adoção do uso de feromônios pode conferir vantagens que se resumem na diminuição do esforço de coleta e ganho de tempo. Entre essas vantagens temos a coleta específica do inseto-alvo sem a desnecessária interferência na ação dos inimigos naturais.

Precetti & Parra (1981) apontaram a necessidade da inclusão do feromônio de *L. coffeella* em programas de manejo integrado de pragas do cafeeiro através do monitoramento populacional de adultos. Os feromônios sexuais podem viabilizar o monitoramento de pragas, fornecendo elementos para que se decida onde, quando e quanto inseticida aplicar, ou outras medidas de controle que devem ser aplicadas. Para isso, utilizam-se armadilhas contendo iscas atrativas com feromônio e procede-se à contagem do número de insetos capturados (Vilela & Della Lucia 1987, 2001). Esta técnica pode ser usada, por exemplo, para detectar as primeiras infestações de uma determinada praga, para monitorar populações já estabelecidas e para assistir à aplicações de inseticidas no momento em que o nível populacional atinge o nível de ação (Jutsum & Gordon 1989).

Com o objetivo de se estabelecer um programa de monitoramento do bicho-mineiro com a utilização de feromônios

elaborou-se um projeto de longo termo que levou em consideração os aspectos da biologia da liberação do feromônio, comportamento dos diferentes isômeros da molécula de feromônio e uso em armadilhas. Nesta tese são apresentados, na forma de capítulos, os trabalhos iniciais para o desenvolvimento deste programa.

BIBLIOGRAFIA

- Attygalle, A.B., G.N. Jham, A. Svatos, T.S. Frighetto, F.A. Ferrara, E.F. Vilela, M.A. Uchôa-Fernandes & J. Meinwald. 1996.** (3E, 8Z, 11Z) - 3, 8, 11-Tetradecatrienyl Acetate, major sex pheromone component of the tomato pest *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bio. & Med. Chem.* 4: 305-314.
- Bjostad, L.B., L.K. Gaston & H. Shorey. 1980.** Temporal pattern of sex pheromone release by female *Trichoplusia ni*. *J. Insect Physiol.* 26:493-98.
- Cardé, R.T. 1990.** Principles of mating disruption. In R.L. Ridgaway, R.M. Silverstein, & M.N. Inscoe (eds.) *Behavior-modifying chemicals for insect management.* p.47-71. Marcel Dekker Inc., New York.
- Collins, R.D.& R.T. Cardé. 1985.** Variation in and heritability of aspects of pheromone production in the pink bollworm moth, *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 78: 229-234.
- Cusson, M. & J.N. McNeil. 1989.** Involvement of juvenil hormone in the regulation of pheromone release activities in a moth. *Science* 243: 210-212.
- Delisle, J. & J.N. McNeil. 1987a.** Calling behaviour and pheromone titre of the true armyworm *Pseudaletia unipuncta* (Haw.) (Lepidoptera: Noctuidae) under different temperature and photoperiodic conditions. *J. Insect Physiol.* 33: 315-324.
- Delisle, J., & J.N. McNeil. 1987b.** The combined effect of photoperiod and temperature on the calling behaviour of the true armyworm, *Pseudaletia unipuncta*. *Physiol. Entomol.* 12: 157-164.
- Foster, S.P., S.J. Muggleston, C. Löfstedt & B. Hansson 1997.** A genetic study on pheromone communication in two *Ctenopseustis* moths. p.514-524. In R.T. Cardé & A.K. Minks (eds), *Insect pheromone research: new directions.* Chapman & Hall, New York. 684p.

- Gravena, S. 1983.** Táticas de manejo integrado do bicho mineiro do cafeeiro *Perileuoptera coffeella* (Guérin-Méneville, 1842): II- Amostragem da praga e seus inimigos naturais. An. Soc. Entomol. Bras. 12: 273-281.
- Jacobsen, M., R.E. Redfern, W.A. Jones & M.H. Aldridge. 1970.** Sex pheromones of the southern armyworm moth: isolation, identification and synthesis. Science 170: 542-544.
- Jutson, A.R. & R.F.S. Gordon, 1989.** Insect Pheromones in Plant Protection. John Wiley & Sons. Chichester, 369p.
- Karlson, P. & A. Butenandt. 1959.** Pheromones (ectohormones) in insects. Ann. Rev. Entomol. 4: 49-65.
- Linn, C.E., M.G. Campbell & W.L. Roelofs. 1987.** Pheromone components and active space: what do moths smell and where do they smell it? Science. 237: 650-652.
- Löfstedt, C. & M. Kozlov. 1997.** A phylogenetic analysis of pheromone communication in primitive moths. 473-489pp In R.T. Cardé & A.K. Minks (eds), Insect pheromone research: new directions. Chapman & Hall, New York. 684p.
- Mafrá-Neto, A. & Cardé, R.T. 1996.** Dissection of the pheromone-modulated flight of moths using the single-pulse response as a template. Experientia 52: 373-379.
- Mafrá-Neto, A. 1993.** Effects of the structure and composition of pheromone plumes on the response of the male almond moth, *Cadra cautella*. PhD dissertation, University of Massachusetts, Amherst. 242 pp.
- McNeil, J.N. 1991.** Behavioral ecology of pheromone-mediated communication in moths and its importance in the use of pheromone traps. Ann. Rev. Entomol. 36: 407-430.
- Meijer, G.M., F.J. Ritter, C.J. Persoons, A.K. Minks & S. Voerman. 1972.** Sex pheromone of summerfruit tortrix moth, *Adoxophyes orana*: two synergistic isomers. Science 175: 1469-1472.
- Minks, A.K. & R.T. Cardé. 1988.** Disruption of pheromone communication in moths: is the natural blend really most efficacious? Ent. Exp. Appl. 49: 25-36.

- Payne, T.L., M.C. Birch & C.E.J. Kennedy 1986.** Mechanisms in insect olfaction. Oxford: Clarendon. 364 pp.
- Pellmyr, O. & J. Leebens-Mack. 1999.** Forty million years of mutualism: evidence for Eocene origin of the yucca-yucca moth association. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 96: 9178-9183.
- Prestwich, G.D. & G.J. Blomquist, G. J. 1987.** Pheromone Biochemistry. New York: Academic Press. 565 pp.
- Prestwich, G.D., S.McG. Graham, M. Handley, B. Latli, L. Streinz & J.M.L. Tasayco. 1989.** Enzymatic processing of pheromones and pheromone analogs. Experientia 45: 263-70.
- Rabb, R. L. 1970.** Introduction to the conference. p.1-5. In R.L. Rabb, F.E. Guthrie (eds), Concepts of pest management. Raleigh, N.C. State University Press. 242 p.
- Raina, A. K. 1997.** Control of pheromone production in moths. pp. 21-30. In R.T. Cardé & A.K. Minks (eds), Insect pheromone research: new directions. Chapman & Hall, New York. 684p.
- Raina, A.K., H. Jaffe, T.G. Kempe, P. Keim, R.W. Blacher, H.M. Fales, C.T. Riley, J.A. Klun, R.L. Ridgway & D.K. Hayes. 1989.** Identification of a neuropeptide hormone that regulates sex pheromone production in female moths. Science 244: 796-98.
- Raina, A.K., J.A. Klun & E.A. Stadelbacher. 1986.** Diel periodicity and effect of age and mating on female sex pheromone titer in *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 79: 128-131.
- Reis, P.R. & J.C. Souza. 1996.** Manejo integrado do bichomineiro, *Perileuoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae), e seu reflexo na produção de café. An. Soc. Entomol. Brasil 25: 77-82.
- Ritter, F.J. 1971.** Some recent developments in the field of insect pheromones. Meded. Fac. Landbouwwet Rijksuniv. Gent. 36: 874-878.
- Roelofs, W.L. & R.T. Cardé. 1977.** Responses of Lepidoptera to synthetic sex pheromone chemicals and their analogues. Ann. Rev. Entomol. 22: 377-405.

- Roelofs, W.L. 1978.** Threshold hypothesis for pheromone perception. *J. Chem. Ecol.* 4: 685-699.
- Roelofs, W.L., T. Glover, X.H. Tang, I. Sreng, P. Robbins, C. Eckenrode, C. Lofstedt, B.S. Hansson & B.O. Bengtsson 1987.** Sex pheromone production and perception in European corn borer moths is determined by both autosomal and sex linked genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 7585-7589.
- Roitberg, B.D. & N.P.D. Angerilli. 1986.** Management of temperature-zone deciduous fruit pests: Applied behavioural ecology. In *Agricultural Zoology Reviews*, ed. G. E. Russell, Newcastle upon Tyne: Intercept. p.137-165.
- Schal, C., R.E. Charlton & R.T. Cardé. 1987.** Temporal patterns of sex pheromone titer and release rates in *Holomelina lamae* (Lepidoptera: Arctiidae). *J. Chem. Ecol.* 13: 1115-1129.
- Souza, J.C. & Reis, P.R. 1992.** Bicho mineiro: biologia, danos e manejo integrado. Belo Horizonte: EPAMIG, 1992. 28p. (Boletim Técnico, 37).
- Tamaki, Y., H. Noguchi, H. Sugie, R. Sato & A. Kariya. 1979.** Minor components of the females sex attractant pheromone of the smaller tea tortrix moth (Lepidoptera: Tortricidae): isolation and identification. *Appl. Entomol. Zool.* 14: 101-107.
- Tang, J. D., R.E. Charlton, R.A. Jurenka, W.A. Wolf, P.L. Phelan, L. Sreng & W.L. Roelofs. 1989.** Regulation of pheromone biosynthesis by a brain hormone in two moth species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 1806-1810.
- Teal, P.E.A., J.H. Tumlinson & H. Oberlander. 1989.** Neural regulation of sex pheromone biosynthesis in *Heliothis* moths. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 2488-2492.
- Thomaziello, R.A. 1987.** Manejo integrado de pragas, doenças e plantas daninhas em café. In. *Simpósio internacional de manejo integrado de pragas, doenças e plantas daninhas, 1.* Campinas: ANDEF, Anais..., 1987. p.155-170.
- Tumlinson, J.H. 1988.** Contemporary frontiers in insect semiochemical research. *J. Chem. Ecol.* 14: 2109-2130.
- Vilela, E.F. & T.M.C. Della Lucia. 1987.** Feromônios de Insetos (biologia, química e emprego no manejo de pragas) Imprensa

Universitaria da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 155p.

- Vilela, E.F. & T.M.C. Della Lucia. 2001.** Feromônios de Insetos (biologia, química e emprego no manejo de pragas). Segunda Edição. Editora Holos. Ribeirão Preto, SP, 206p.
- Wall, C. A.R. Greenway & P.E. Burt 1976.** Eletroantenographic and field responses of the pea moth *Cydia nigricana* to sex attractants and related compounds. *Physiol. Entomol.* 1: 151-157.
- Weatherston, J., Roelofs, W., Comeau, A. & Sanders, C.J. 1971.** Studies of physiologically active arthropod secretions. X. Sex pheromone of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. Entomol.* 103: 1741-1747.
- Webster, R.P. & R.T. Cardé. 1982.** Relationships among pheromone titre, calling and age in the omnivorous leafroller moth (*Platynota stultana*). *J. Insect Physiol.* 28: 925-933.

CAPÍTULO I

Atividade dos isômeros óticos do 5,9-dimetilpentadecano, feromônio sexual de *Leucoptera coffeella* Guérin-Mèneville (Lepidoptera: Lyonetiidae).

RESUMO – O componente principal do feromônio sexual de *Leucoptera coffeella*, 5,9-dimetilpentadecano, possui quatro formas enantioméricas e estudos com outros insetos têm demonstrado que a quiralidade pode ser responsável, em grande parte, pela determinação da resposta comportamental de atração a uma mistura particular de um atraente sexual. Objetivou-se neste trabalho determinar a importância relativa de cada isômero desta molécula. Avaliou-se os isômeros puros com eletroantenografia, túnel-de-vento e em armadilhas no campo. Os testes realizados com eletroantenografia e túnel-de-vento indicaram uma pequena resposta do isômero 5S,9S-dimetilpentadecano (SS). No entanto nenhum dos estereoisômeros puros do 5,9-dimetilpentadecano foi capaz de atrair um número significativo de machos para armadilhas no campo quando comparados com a mistura racêmica.

PALAVRAS-CHAVE: Eletroantenografia, túnel-de-vento, armadilha de feromônio, bicho-mineiro do café.

Optical activity of isomers of 5,9-dimethylpentadecane, the sex pheromone of *Leucoptera coffeella* Guérin-Mèneville (Lepidoptera: Lyonetiidae).

ABSTRACT – The main compound of *Leucoptera coffeella* sex pheromone, 5,9-dimethylpentadecane, has four possible pure stereoisomers and studies with other insects have been demonstrated that this optical isomer may carries biological activity. The objective of the present work was to study whether only one or more of the pure stereoisomers were needed for biological activity. The evaluation of the pure stereoisomers was made using electroantennography, wind tunnel and pheromone trap in the field. The eletroantennography and wind tunnel experiments indicated a small response from the 5S,9S-dimethylpentadecane (SS) isomer. However no stereoisomer alone was able to trap significant number of moths when compared to the racemic mixture of 5,9-dimethylpentadecane.

KEY-WORDS: Stereoisomers, electroantennography, wind tunnel, pheromone trap, coffee leafminer.

Introdução

Feromônios sexuais em Lepidoptera são geralmente formados por misturas de compostos que evoluíram no contexto de sinais espécie-específicos para o acasalamento. Esta evolução se deve em grande parte as alterações nas enzimas chaves das rotas biosintéticas dos compostos dos feromônios que podem produzir diferenças na estrutura e proporção de compostos (Roelofs & Jurenka 1986).

O feromônio sexual de *Leucoptera coffeella* Guérin-Mèneville, foi identificado como 5,9-dimetilpentadecano (Francke *et al.* 1988). Esta molécula possui quatro formas enantioméricas e vários estudos têm demonstrado que a quiralidade pode ser responsável, em grande parte, pela determinação da resposta comportamental de atração a uma mistura particular de um atraente sexual (Wong *et al.* 1985, Becker *et al.* 1987, Millar *et al.* 1987). Normalmente a resposta atrativa parece ser devido a um dos enantiômeros com o/s enantiômero/s oposto/s tendo uma ampla faixa de ação biológica, com uma variação de resposta do sinergismo ao antagonismo.

O 5,9-dimetilpentadecano mostrou-se efetivo para a captura de machos quando testado em armadilhas no campo (Lima *et al.* 1999). No entanto, considerando a ação dos enantiômeros isoladamente, é possível que sinergismos e/ou antagonismos ocorram quando a mistura racêmica é empregada em armadilhas. Em *Leucoptera scitella* L. os estereoisômeros do 5,9-dimetilheptadecano foram testados e somente o isômero S,S capturou machos em armadilhas de feromônio no campo (Tóth *et al.* 1989). Os quatro estereoisômeros possíveis do 5,9-dimetilpentadecano, o 5S,9S-dimetilpentadecano (S,S), 5R,9S-dimetilpentadecano (R,S), 5S,9R-dimetilpentadecano (S,R), e 5R,9R-dimetilpentadecano (R,R), são produzidos via rotas biosintéticas distintas, que por sua vez são dependentes de enzimas específicas (Ando *et al.* 1998, Svatos *et al.* 1999). A natureza da resposta aos feromônios é geralmente similar entre mariposas de grupos taxonômicos próximos por causa da similaridade na morfologia e fisiologia dos receptores nas antenas (Gnatzy *et al.* 1984, Steinbrecht & Gnatzy 1984, Monti 1995).

O objetivo deste estudo foi testar a atividade biológica dos quatro estereoisômeros do componente principal do feromônio sexual do bicho mineiro 5,9-dimetilpentadecano.

Material e Métodos

Os compostos utilizados neste experimento foram sintetizados em dois laboratórios. Dois isômeros parciais (5S, 9-S,R-dimetilpentadecano e 5R, 9-S,R-dimetilpentadecano) foram sintetizados no Departamento de Química da UFSCar e os isômeros

puros (S,S; R,S; S,R e R,R) foram sintetizados no Laboratory of Agricultural Chemicals, Tohoku University - Japão.

Os experimentos de laboratório foram desenvolvidos em duas etapas. Na primeira, foram feitos testes com os isômeros diretamente com eletroantenografia (EAG). As antenas de machos de 1 dia de idade foram acondicionadas em eletrodos de prata com solução de KCl 0,1 N submetidas a um fluxo contínuo de ar umedecido de 5 ml/min. Os compostos, diluídos em hexano, foram depositados em um pedaço de papel filtro de 2 cm², contendo 10 µg de cada composto e inseridos em uma pipeta de Pasteur após a evaporação do solvente. Cada composto foi aplicado na antena por meio de um fluxo de ar de 5 ml/min durante 0,3 seg. Cada antena recebeu todos os compostos aplicados em duas séries por duas vezes. Entre cada composto a antena recebeu ar puro durante 40 seg. As respostas eletroantenográficas em mV foram armazenadas em um banco de dados e posteriormente submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a $p = 0,05$.

Na segunda etapa os insetos foram testados em túnel de vento. O túnel de vento possibilita verificar as respostas do inseto a uma determinada substância ou mistura delas quando em vôo livre. Os testes foram conduzidos em um túnel de vento com 3 metros de comprimento. Os insetos foram acondicionados na sala do túnel duas horas antes do início do experimento. Os machos testados possuíam dois a tres dias de idade e foram provenientes da criação estabelecida no laboratório (Reis Jr. *et al.* 2000). Individualizados ainda como crisálidas, estes foram separados após a emergência, e colocados em tubos de plásticos com tampa em sala separada das fêmeas para não terem contato prévio com o feromônio.

Os machos foram testados individualmente até no máximo duas horas após o início do período claro. Eles foram posicionados a

dois metros da fonte de feromônio e cada um deles foi dado um tempo de dois minutos para que voasse em direção à fonte. Os insetos que não responderam durante este período foram considerados na análise dos resultados como resposta negativa.

O delineamento experimental para o teste no túnel-de-vento foi inteiramente casualizado com 10 repetições. Os tratamentos foram representados por fêmeas virgens de *L. coffeella* e por diferentes concentrações do isômero principal do feromônio sexual. As concentrações de 30, 60 e 90 µg foram depositadas em septos de borracha e armazenados a -18°C até o uso. As respostas avaliadas (Lima 1989) foram as percentagens de insetos que manifestaram os seguintes comportamentos: a) macho parado com antenas em "v"; b) levantamento de vôo; c) vôo em direção à fonte em zigue-zague e d) toque na fonte de feromônio.

Dois experimentos de campo foram montados no município de Patrocínio, MG em períodos diferentes levando-se em consideração a disponibilidade de insetos no campo. O primeiro, na Fazenda Experimental da EPAMIG, que apresentava infestação moderada do inseto. As armadilhas adesivas do Tipo Delta®, de cor branca, foram posicionadas a 1 metro do solo entre as ruas de café e afastadas uma das outras em aproximadamente 50 metros. Foram constituídos cinco tratamentos com as diferentes proporções do isômero 5S,9-S,R/5R,9-S,R (100:0, 80:20, 50:50, 20:80 e 0:100). Os tratamentos foram repetidos cinco vezes e as armadilhas foram avaliadas a cada dois dias para a retirada e contagem de machos coletados. O experimento foi avaliado durante 36 dias. O segundo, na Fazenda Daterra, com uma alta infestação do bicho-mineiro, foi montada em armadilhas do tipo Delta de cor branca, posicionadas a 20 cm do solo. A área do experimento possuía a variedade Catuaí de 5 a 6 anos sob irrigação com pivô central. As avaliações foram feitas

a cada tres dias e as armadilhas permaneceram no campo por 33 dias. Em ambos os experimentos os machos foram retirados com auxílio de uma pinça e na metade do tempo que as armadilhas ficaram no campo as placas adesivas foram trocadas.

Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a $p = 0,05$.

Resultados

Somente o isômero puro S,S foi capaz de produzir respostas significativamente maiores que os outros tratamentos em antenas de machos de *L. coffeella* como indicado na (Figura 1).

No experimento com os isômeros 5S,9-S,R e 5R,9-S,R ficou evidenciado que a medida que se diminui a quantidade de 5R,9-S,R na mistura feromonal as capturas de machos aumentaram significativamente (Figura 2). Nos testes em túnel-de-vento o estereoisomero puro S,S foi capaz de produzir respostas equivalentes ao da mistura racêmica onde 40 e 50% dos machos tocaram a fonte de feromônio para os tratamentos S,S e racêmico, respectivamente (Figura 3). No entanto, os outros isômeros atraíram machos com menor intensidade (S,R) ou mesmo não produziram resposta alguma (R,R e R,S). As doses de feromônio empregadas no experimento não produziram diferenças nas respostas na mesma magnitude que as diferenças encontradas nos isômeros.

Nos testes de campo com armadilhas os isômeros puros foram ineficientes na atração de machos quando comparados a mistura

racêmica (Figura 4). Nenhum destes isômeros foi capaz de atrair machos no mesmo nível que a mistura racêmica

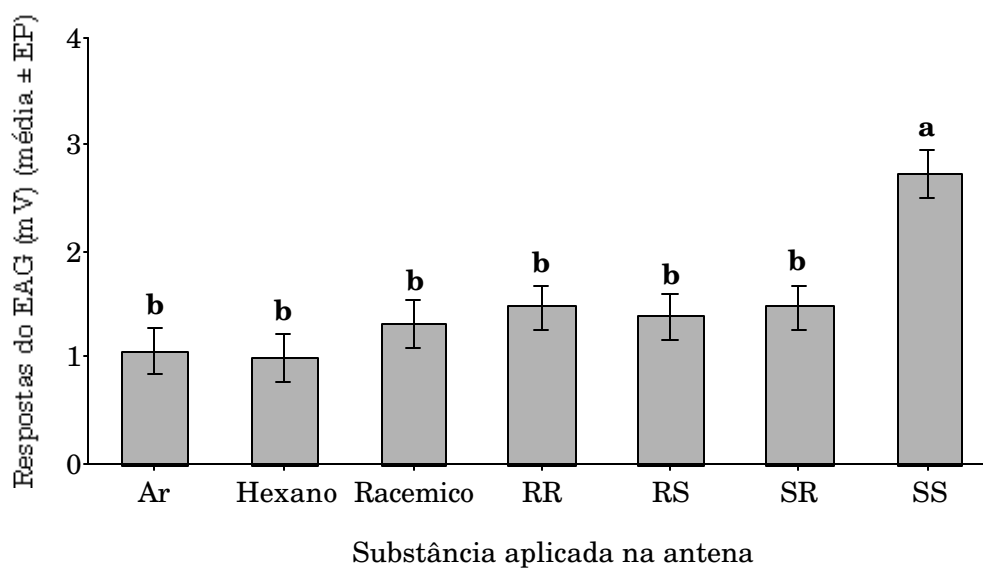


Figura 1 – Eletroantenogramas em de machos de *Leucoptera coffeella* aos compostos 5,9-dimetilpentadecano na forma racêmica e seus respectivos isômeros. Tratamentos seguidos da mesma letra não são estatisticamente diferentes. (ANOVA seguido de Duncan) $p < 0,05$ (n=15).

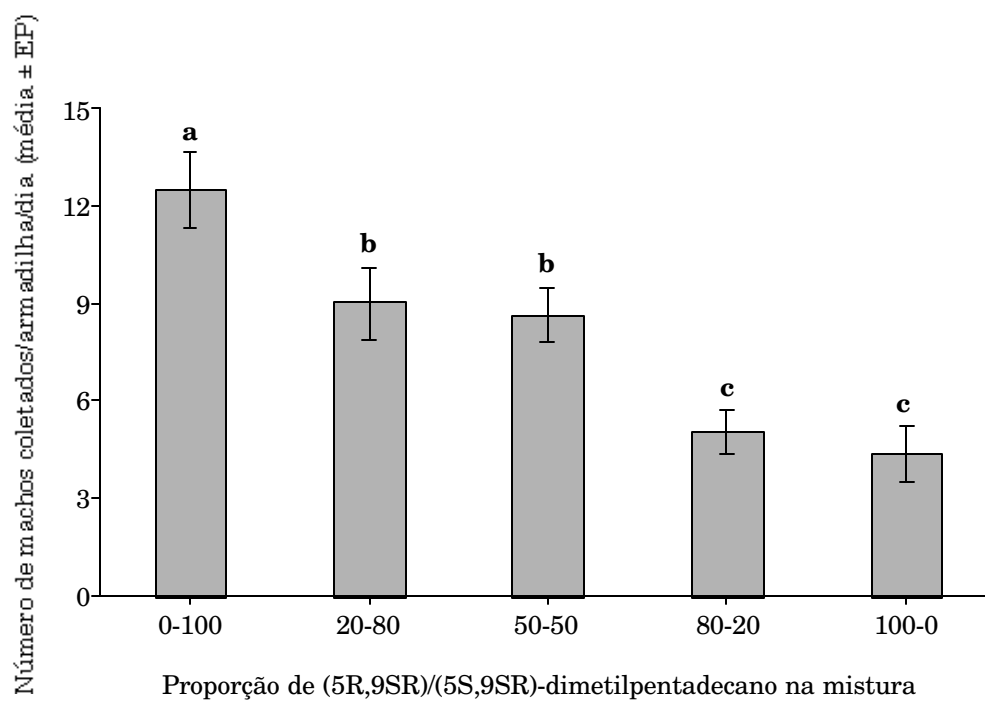


Figura 2 – Machos de *Leucoptera coffeella* coletados em armadilhas tipo Delta contendo diferentes proporções dos isômeros parciais do 5,9-dimetilpentadecano. Patrocínio, MG.

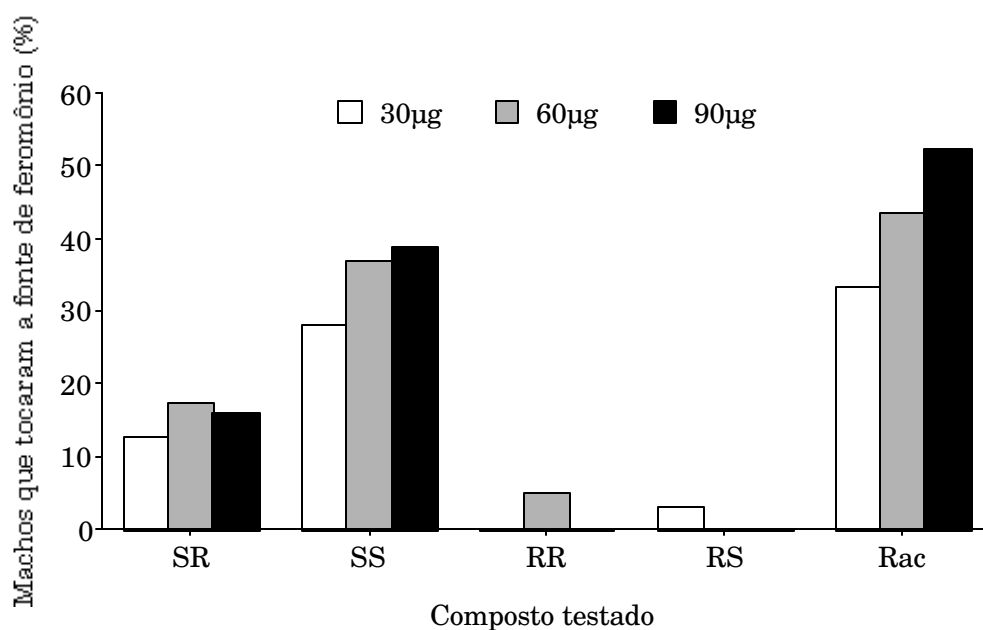


Figura 3 – Porcentagem de machos de *Leucoptera coffeella* que tocaram a fonte de feromônio quando testados em túnel-de-vento. SR, SS, RR, RS e Rac representam os isômeros possíveis isômeros do 5,9-dimetilpentadecano e a mistura racêmica, respectivamente em tres doses.

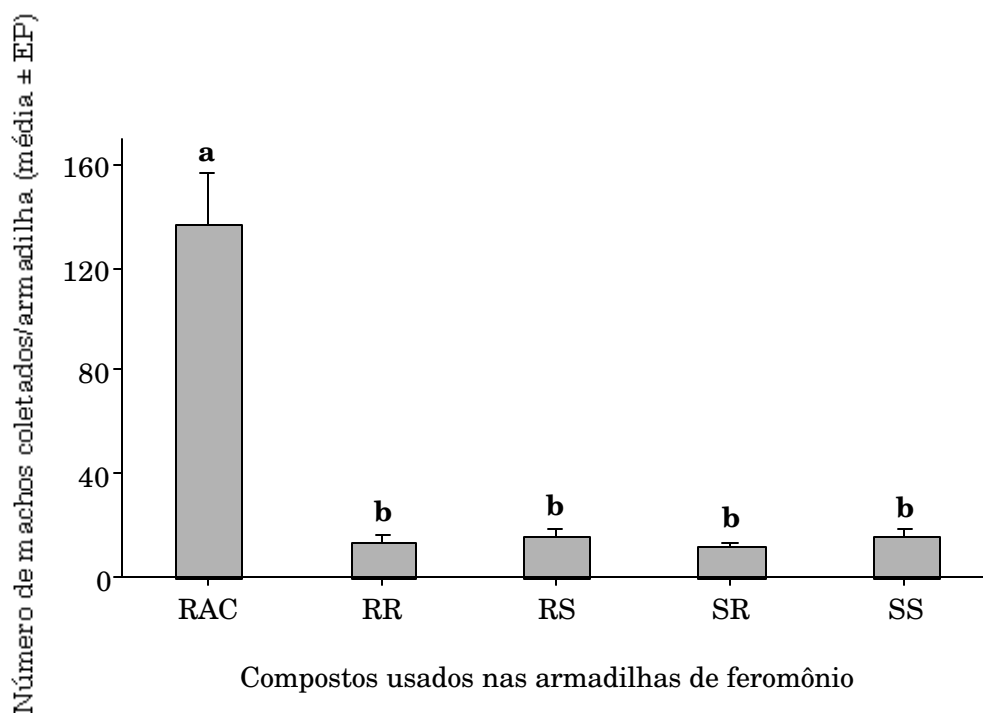


Figura 4 – Coleta de machos de *Leucoptera coffeella* em armadilhas de feromônio impregnadas com a mistura racêmica e isômeros do 5,9-dimetilpentadecano. Patrocínio, MG. Tratamentos seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente (ANOVA seguido de Duncan; $p < 0,05$).

Discussão

Feromônio sexual de lepidópteros com componentes quirais incluem mono e di-epóxi em geometrídeos, noctuídeos e arctídeos (Mayer & McLaughlin 1991, Arn *et al.* 1992, Szöcs *et al.* 1993), hidrocarbonetos com radicais metila em lionetiídeos (Francke *et al.* 1987, 1988) e geometrídeos (Gries *et al.* 1994), epóxi com radicais metila em limantriídeos (Bierl *et al.* 1975). Considerando que a quiralidade dos componentes do feromônio produzido por fêmeas têm sido raramente identificados por limitações de metodologias químicas (Szöcs *et al.* 1993), ensaios com EAG, túnel de vento e em campo, dos isômeros óticos sintéticos isolado ou em combinação, indicam que normalmente um isômero é atrativo, enquanto que a antípoda é inativa (Li *et al.* 1993) sinérgica (Millar *et al.* 1991) ou inibitória (Cardé *et al.* 1977, Plimmer *et al.* 1977, Szöcs *et al.* 1993). Embora somente os testes comportamentais sejam os meios mais indicados e precisos de detecção das substâncias atrativas, a eletroantenografia permite o monitoramento das respostas dos insetos sem considerar o comportamento dos mesmos. Nesse caso, as substâncias testadas poderão sensibilizar a antena do inseto e numa situação de campo ser um atraente ou um inibidor da resposta. O fato de que somente o isômero S,S produziu respostas significativas nos ensaios com EAG indica que as sensílas presentes nas antenas de machos possuem receptores presentes. Do mesmo modo este isômero foi o único que atraiu os machos em vôo para o túnel de vento. No entanto, esse isômero puro, foi totalmente ineficiente para atrair os machos no campo. Os insetos usados nos ensaios com EAD e túnel de vento foram coletados em Viçosa, MG enquanto que os testes em campo foram feitos em Patrocínio, MG, municípios separados por aproximadamente 800 km. Uma série de

estudos têm revelado a existência de diferenças geográficas na qualidade do feromônio produzido por fêmeas (Huang *et al.* 1998, McElfresh & Millar 1999, Aderbrant *et al.* 2000) e esse parece ser um evento comum na evolução da comunicação nos insetos. Fatores como a pressão seletiva distinta nas duas regiões estudadas poderiam contribuir para pequenas mudanças no canal de comunicação e portanto justificar os resultados encontrados (McLellan *et al.* 1991, Löfstedt 1993). Por outro lado, existe uma alternativa, ainda não testada, de que os isômeros testados em combinação binária ou ternária, possam ter a sua eficiência aumentada. Normalmente as misturas de feromônio preparadas para uso em armadilhas são feitas baseadas na análise do feromônio das glândulas de fêmeas. Essa análise, por cromatografia, tem a capacidade de separar os compostos presentes na glândula de feromônio. As fêmeas de *L. coffeella* produzem isoladamente o/s isômero/s? Trata-se de uma questão que ainda não foi respondida, tendo em vista as limitações de colunas cromatográficas existentes no momento. Os centros quirais da molécula do 5,9-dimetilpentadecano são muito próximos e a separação por meio de colunas quirais é baseada nas propriedades dos centros quirais, que neste caso diminuem consideravelmente a resolução de tais colunas. De posse de uma coluna quiral que possua resolução suficiente para separar os isômeros do 5,9-dimetilpentadecano e acoplado a um sistema de EAG será possível a determinação exata dos isômeros e mesmo determinar as potenciais diferenças entre populações do bicho mineiro se existentes.

Outro lionetiídeo que possui um sistema de comunicação bem estudado é *L. scitella* (Tóth *et al.* 1989). Nos ensaios de campo o isômero S,S foi cerca de 30 vezes mais potente que a mistura racêmica do 5,9-dimetilheptadecano na atração de machos. Esse

resultado contrastado com o que se encontrou para *L. coffeella* é no presente trabalho é no mínimo intrigante. As rotas biosintéticas de produção de feromônio podem ser consideradas, em termos evolutivos, as mais econômicas por causa da especificidade do sistema enzimático (Newcomb & Genson 1998, Fang *et al.* 1992, Millar 2000). A biosíntese da mistura racêmica implica na produção dos quatro estereoisômeros ao mesmo tempo com quatro rotas biosintéticas simultâneas o que seria um cenário pouco provável. Alternativamente a hipótese de que misturas binárias aumentariam as respostas, via sinergismo, deverá ser testada.

Em termos práticos, os testes aqui feitos com a mistura racêmica indicam que quando empregadas em armadilhas de feromônio para monitoramento será vantajosa uma vez que possui uma rota de síntese simples e pouco dispendiosa quando comparada com a síntese dos isômeros puros (Whitco Francke, comunicação pessoal).

Bibliografia

- Anderbrant, O., J. Lofqvist, H.E. Hogberg, E. Hedenstrom, N. Baldassari, P. Baronio, G. Kolmakova, B. Lyons, T. Naito, V. Odinkov, J. Simandl, A. Supatashvili, A. Tai & R. Tourianov. 2000.** Geographic variation in the field response of male European pine sawflies, *Neodiprion sertifer*, to different pheromone stereoisomers and esters. *Entomol. Exp. Appl.* 95: 229-239.
- Ando, T., Ikemoto, K., Ohno, R. & M. Yamamoto. 1998.** Stereochemistry of Delta 11-desaturation and inhibitors of Delta 10,12-desaturation in the biosynthesis of bombykol, sex pheromone of the female silkworm moth, examined with deuterated precursors. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 37: 8-16.
- Arn, H., M. Tóth & E. Priesner. 1992.** List of sex pheromones of Lepidoptera and related attractants. OILB-SROP/IOCP-WPRS, Secretariat Général, 149 rue de Bercy, F-75595 Paris Cedex 12, ISBN 92-9067-002-9.
- Becker, D., I. Moore, R. Cyjon, T. Kimmel, A. Cossé & M. Wysoki. 1987.** The active component in the sex pheromone of the giant looper, *Boarmia selenaria*. *Phytoparasitica* 15: 160.
- Bierl, B.A., M. Beroza, V.E. Addler, G. Kasang, H. Schröter & D. Schneider. 1975.** The presence of disparlure, the sex pheromone of the gypsy moth, in the female num moth. *Z. Naturforsch.* 30c: 672-675.
- Cardé, R.T., C.C. Doane, T.C. Baker, S. Iwaki & S. Marumo. 1977.** Attractancy of optically active pheromone for male gypsy moths *Lymantria dispar*. *Environ. Entomol.* 6: 768-772.
- Fang, N.B., J.H. Tumlinson, P.E.A. Teal, & H. Oberlander. 1992.** Fatty acyl pheromone precursors in the sex pheromone gland of female tobacco hornworm moths, *Manduca sexta* (L). *Insect Biochem. Mol. Biol.* 22: 621-631.
- Francke, W., S. Francke, M. Tóth, G. Szöcs, P. Guerin & H. Arn. 1987.** Identification of 5,9-dimethylheptadecane as a sex pheromone of the moth *Leucoptera scitella*. *Naturwissenschaften* 74: 143-144.

- Francke, W., Tóth, M., Szöcs, G., Krieg, W., Ernest, H., Buschmann, E. 1988.** Identifizierung and synthese von Dimethylalkanen als sexuellcokstoffe weiblicher miniermotten (Lyonetiidae). Zeitschrift für Naturforschung, Berlin, v. 43, n. 4, p. 787-789.
- Gnatzy, W., Mohren, W. & R.A. Steinbrecht. 1984.** Pheromone receptors in *Bombyx mori* and *Antheraea pernyi*. II. Morphometric analysis. Cell Tissue Res. 235: 35-42.
- Gries, R., G. Gries, J.X. Li, C.T. Maier, C.R. Lemmon & K.N. Slessor. 1994.** Sex pheromone components of the spring hemlock looper, *Lambdina athasaria* (Walker) (Lepidoptera: Geometridae). J. Chem. Ecol. 20: 2501-2511.
- Haynes, K.F. & R.E. Hunt. 1990.** A mutation in pheromonal communication system of cabbage looper moth, *Trichoplusia ni*. J. Chem. Ecol. 16: 1249-1257.
- Huang, Y.P., T. Takanashi, S. Hoshizaki, S. Tatsuki, H. Honda, Y. Yoshiyasu & Y. Ishikawa. 1998.** Geographic variation in sex pheromone of Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*, in Japan. J. Chem. Ecol. 24: 2079-2088.
- Li, J.X., R. Gries, G. Gries, K.N. Slessor, G.G.S. King, W.W. Bowers & R.J. West. 1993.** Chirality of 5,11-dimethylheptadecane, the major sex pheromone component of the hemlock looper, *Lambdina fiscellaria* (Lepidoptera: Geometridae). J. Chem. Ecol. 19: 1057-1062.
- Lima, E.R., Vilela, E.F., Kuwahara, S., & W.S. Leal. 1999.** Evaluation of the sex pheromone of the coffee leaf miner, *Perileucoptera coffeella* Guérin-Mèneville (Lepidoptera: Lyonetiidae), in different traps in the field. In: Seminário Internacional Sobre Biotecnologia na Agroindústria Cafeeira, 3, Londrina, Resumos... Londrina, PR, p. 13.
- Löfstedt, C. 1993.** Moth pheromone genetics and evolution. Philosophical Transactions of the Royal Society of London - Series B: Biological Sciences 340: 167-177.
- Mayer, M.S. & J.R. McLaughlin. 1991.** Handbook of insect pheromones and sex attractants. CRC Press, Boca Raton Fla., 1083p.

- McElfresh, J.S. & J.G. Millar. 1999.** Geographic variation in sex pheromone blend of *Hemileuca electra* from Southern California. *J. Chem. Ecol.* 25: 2505-2525.
- McLellan, K.A.M., G.L. Nordin, & K.F. Haynes. 1991.** Chemical communication and reproductive isolation in 2 types of the fall webworm (Lepidoptera, Arctiidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 84: 118-123.
- Millar, J.G. 2000.** Polyene hydrocarbons and epoxides: A second major class of lepidopteran sex attractant pheromones. *Ann. Rev. Entomol.* 45: 575-604.
- Millar, J.G., M. Giblin, D. Barton & E.W. Underhill. 1991.** Synthesis and field screening of chiral monounsaturated epoxides as lepidopteran sex attractants and sex pheromone components. *J Chem Ecol* 17: 911-929.
- Millar, J.G., Underhill, E.W., Giblin, M. & D. Barton. 1987.** Sex pheromone components of three species of *Semiothisa* (Geometridae), (Z, Z, Z) - 3, 6, 9 - heptadecatriene and two monoepoxydiene analogs. *J. Chem. Ecol.* 13: 1371-1383.
- Monti, L., Lalanne Cassou, B., Lucas, P., Malosse, C. & J.F. Silvain. 1995.** Differences in sex pheromone communication systems of closely related species: *Spodoptera latifascia* (Walker) and *S. descoinsi* Lalanne-Cassou & Silvain (Lepidoptera: Noctuidae). *J chem ecol* 21: 641-660.
- Newcomb, R.D., & D.M. Gleeson. 1998.** Pheromone evolution within the genera *Ctenopseustis* and *Planotortrix* (Lepidoptera: Tortricidae) inferred from a phylogeny based on cytochrome oxidase I gene variation. *Biochem. Syst. Ecol.* 26: 473-484.
- Roelofs, W.L. & R.A. Jurenka. 1996.** Biosynthetic enzymes regulating ratios of sex pheromone components in female redbanded leafroller moths. *Bio. Med. Chem.* 4: 461-466.
- Steinbrecht, R.A. & W. Gnatzy. 1984.** Pheromone receptors in *Bombyx mori* and *Antheraea pernyi*. I. Reconstruction of the cellular organization of the sensilla trichodea. *Cell Tissue Res.* 235: 25-34.
- Svatos, A., Kalinova, B. & W. Boland. 1999.** Stereochemistry of lepidopteran sex pheromone biosynthesis: a comparison of fatty acid CoA Delta 11-(Z)-desaturases in *Bombyx mori* and

Manduca sexta female moths. Insect Biochem. Mol. Biol. 29: 225-232.

Szöcs, G., M. Tóth, W. Francke, F. Schmidt, P. Philipp, W.A. König, K. Mori, B.S. Hansson & C. Löfstedt. 1993. Species discrimination in five species of winter flying geometrids (Lepidoptera) based on a chirality of semiochemicals and flight season. J. Chem. Ecol. 19: 2721-2735.

Tóth, M., G. Helmchen, U. Leikauf, G. Sziráki & G. Szöcs. 1989. Behavioral activity of optical isomers of 5,9-dimethylheptadecane, the sex pheromone of *Leucoptera scitella* L. (Lepidoptera: Lyonetiidae). J. Chem. Ecol. 15: 1535-1543.

Wong, J.W., Underhill, E.W., Mackenzie, S.L. & M.D. Chisholm. 1985. Sex attractants for geometridae and noctuidae moths. Field trapping and electroantennographic responses to triene hydrocarbons and monoepoxidiene derivatives. J. Chem. Ecol. 11: 727-756.

Capítulo II

Age and time related pheromone production in coffee leafminer *Leucoptera coffeella* Guérin-Ménéville (Lepidoptera: Lyonetiidae).

ABSTRACT – The coffee leafminer *Leucoptera coffeella* is a major pest on coffee plantations in Brazil. Due to the small size direct observation of the calling behavior is very difficult and inaccurate. This study was undertaken to access the pattern of sex pheromone production in glands of virgin females as an indirect measure of the calling behavior. The major compound, biologically active, (5,9-dimethylpentadecane) was extracted to be used in two experiments. The first one investigated the effect of the pheromone production time by females. Extracts of 10 females with age of two days were carried out at 2-hour intervals during 24 hours (12:12 D:L). The other experiment evaluated the effect of female age on pheromone production. Age ranged from 1 to 5 days after emergence and 10 females of each age class were used. Extracts were made in hexane with 5ng/μl of (5,9-dimethylhexadecane) as internal standard and analyzed by GC. Females had the highest amount of pheromone at the last four hours in the dark and the two first hours in the light period. Amounts of pheromone were lower in all other periods. One-day old females produced the highest amount of pheromone in the glands. After two days of emergence the titers of pheromone dropped significantly and remained low until females were 5 days old.

KEY-WORDS: Calling behavior, pheromone titer, pheromone biology.

Efeito da idade e tempo relacionados a produção de feromônio sexual no bicho-mineiro *Leucoptera coffeellum* Guérin-Méneville (Lepidoptera: Lyonetiidae).

RESUMO – O bicho-mineiro é uma das pragas mais importantes do café no Brasil. Devido ao fato de que os indivíduos desta espécie são muito pequenos, a observação direta do comportamento de chamamento se torna muito difícil e imprecisa. Este estudo foi realizado para determinar o padrão de produção do feromônio sexual em fêmeas virgens como uma medida indireta do comportamento de chamamento. O componente principal, biologicamente ativo, (5,9-dimetilpentadecano) foi extraído para ser usado em dois experimentos. O primeiro investigou a produção de feromônio ao longo do tempo (horas) em fêmeas virgens. Para isto, extratos de 10 fêmeas de dois dias de idade foram extraídos de fêmeas a cada 2 h durante o período de 24 h (12:12 D:L). O outro experimento avaliou o efeito da idade das fêmeas na produção de feromônio. Com as idades variando de 1 a 5 dias, 10 fêmeas de cada idade foram usadas. Os extratos foram feitos em hexano contendo 5ng/ μ l de (5,9-dimetilhexadecano) usado como padrão interno e analisados em um cromatógrafo a gas. As fêmeas produziram as maiores quantidades de feromônio nas quatro últimas horas da escotofase e nas duas primeiras horas da fotofase seguinte. As quantidades de feromônio foram baixas em todos os outros períodos avaliados. Fêmeas de um dia de idade tiveram as maiores quantidades de feromônio na glândula. Após o segundo dia de emergência, os títulos de feromônio diminuíram significativamente e permaneceram baixos e nos mesmos níveis até os 5 dias de idade.

PALAVRAS-CHAVE: Comportamento de chamamento, Títulos de Feromônio, Biologia dos Feromônios.

Introduction

The coffee leafminer (CLM) *Leucoptera coffeella* is a major pest of coffee plantations in Brazil. The inclusion of the sex pheromone of CLM in programs of integrated pest management of coffee through population monitoring has been pointed out by several researchers. The sex pheromone was previously identified as 5,9-dimethylpentadecane (Francke *et al.* 1989).

Several aspects of pheromone biology may change significantly with age. In some species, most females initiate calling within 24 h of emergence (Webster & Cardé 1982, West *et al.* 1984) while in other individuals vary considerably in the age at which calling starts (Howlader & Gerber 1986, Szöcs & Tóth 1979). In several species, pheromone titer in the gland changes both with age and time during the scotophase or photophase (Delisle & McNeil 1987, Raina *et al.* 1986, Schal *et al.* 1987, Snir *et al.* 1986).

To accomplish systematic pheromone ecology studies with CLM it is necessary to know the diel pattern of pheromone release. Due to its small size, direct observation of the calling behavior is very difficult and inaccurate. This study was carried out to observe

the pattern of pheromone production in glands of virgin females as an indirect measure of the calling behavior.

Material and methods

Laboratory rearing of the CLM was established from larvae collected from field near Viçosa, MG. Rearing procedures followed the technique of Reis Jr. *et. al.* (2000) at $20 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, $65 \pm 5\%$ r.h. under a 12L:12D photoperiodic regime. The coffee green leaves, where the larvae develops and pupate, were maintained in the solution of benzyladenin 10^{-7} M. Little leaf fragments with pupae were individualized in 27 ml plastic containers until adult emergence. Individuals were sexed after emergence and females were fed with diluted honey.

The major compound (5,9-dimethylpentadecane) was extracted to be used in two experiments. The first one investigated the effect of time of pheromone production by females. For this, extracts of 10 females aged two days were carried out at 2 hour intervals during 24 hours (12D:12L). The other experiment evaluated the effect of female age on pheromone production. Age ranged from 1 to 5 days after emergence and 10 females of each age class were used. In all cases individual excised glands were extracted for 24 hours in 20 μ l of HPLC grade hexane containing 20 ng of (5,9-dimethylhexadecane) as an internal standard.

Samples were held in 100 μ l conical vials with teflon-lined lids at -20°C until analysed. Analyses were carried out on a 25m x 0.32 mm ID DB-5 fused silica column, using a Shimatzu 17A v3 gas chromatograph, equipped with a splitless injector and flame ionization detector working in range zero. The column was kept at 80°C for 1 min, increased to 230°C at a rate of $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$ and then to

a final temperature of 280°C at a rate of 15°C/min. Nitrogen was used as carrier gas (70 ml/min) and under these conditions the retention times of 5,9-dimethylpentadecane and 5,9-dimethylhexadecane were 12.315 and 13.791 min., respectively (Figure 1). The periodicity of pheromone production and the age effect on the pheromone production were assessed by second degree polynomial regression analysis of the data.

Results

A typical chromatogram for all experiments is represented in (Figure 1). The separation of compounds in the column was very clear and the calibration of the equipment was severe in order to quantify so small amount of pheromone in the gland, so the quantification was considered precise. On the other hand, the extraction of pheromone from the glands was quite clean despite the difficulty because the small size of the insect.

Females had the highest amount of pheromone in the last 4 hours of the scotophase and the first two hours of the photophase (Figure 2). Amounts of pheromone were low in all other periods.

One-day old females produced the highest amount of pheromone in the glands. After two days of emergence the titers of pheromone dropped significantly and remained low until females were 5 days old (Figure 3).

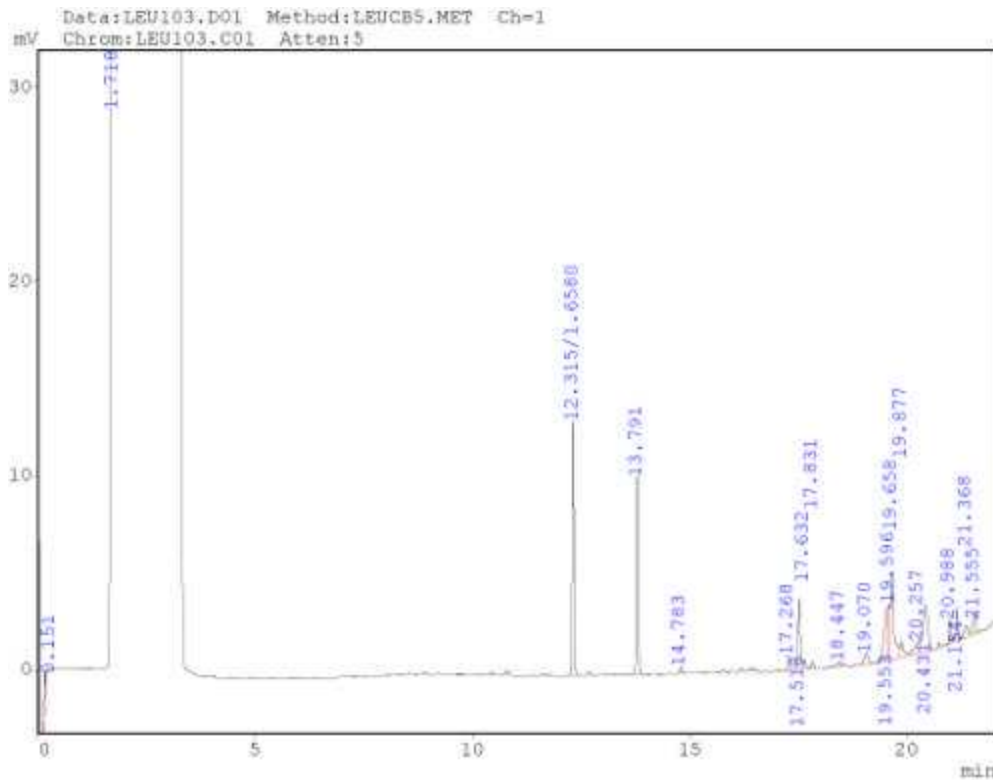


Figure 1 – Chromatogram of extract from virgin female of *Leucoptera coffeella* representing the retention times of the sex pheromone 5,9-dimethylpentadecane (12,315 min.) and the internal standard 5,9-dimethylhexadecane (13,791 min.).

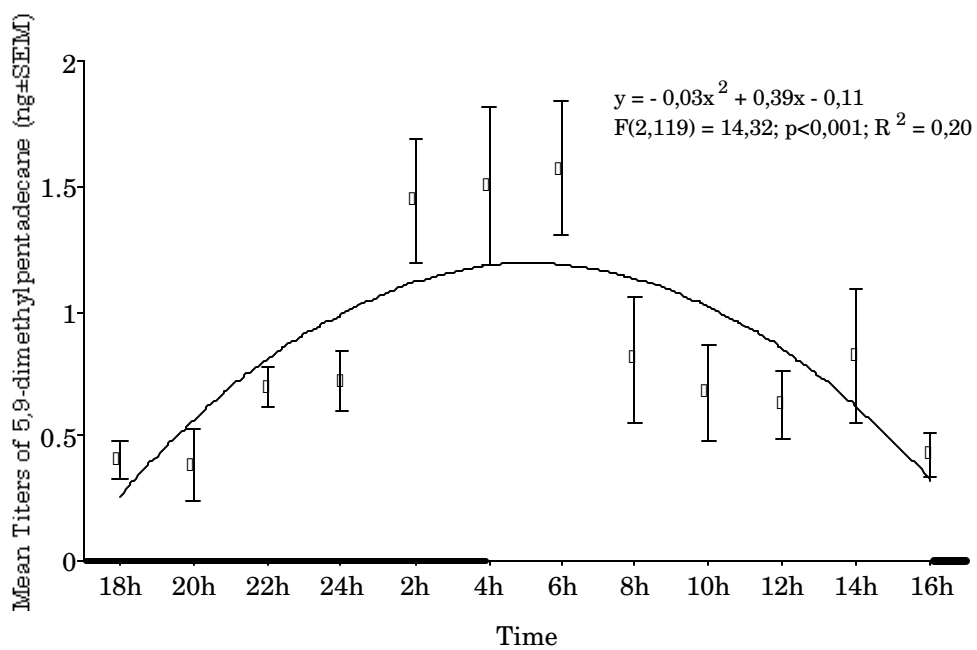


Figure 2 – Mean titers of the major compound, 5,9-dimethylpentadecane, extracted from two days old virgin females of *Leucoptera coffeella*. The scotophase is represented by the dark line on the time axis.

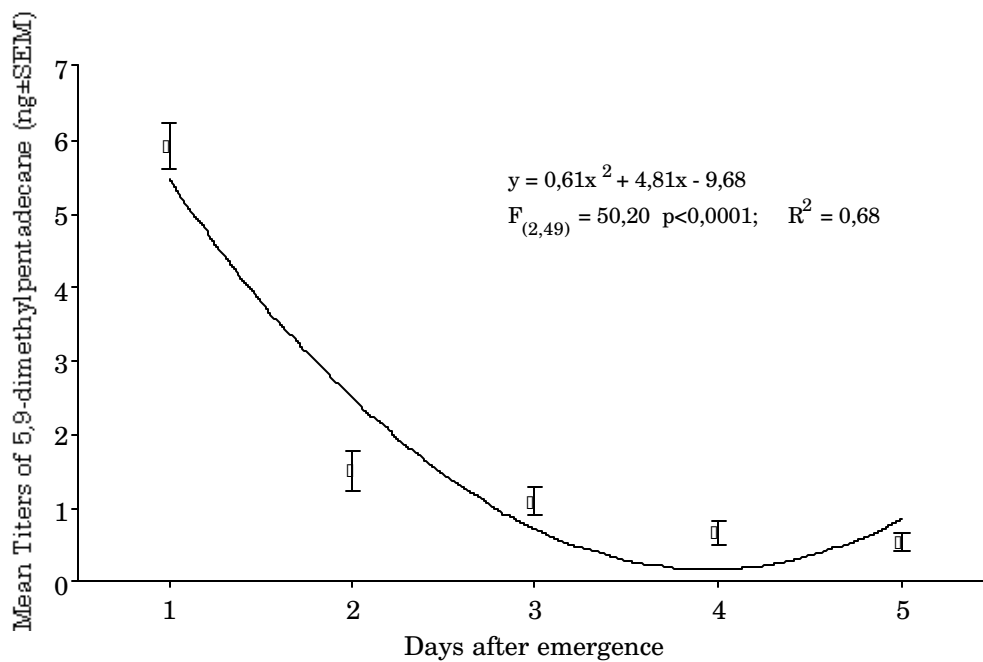


Figure 3 – Mean titers of the major compound, 5,9-dimethylpentadecane extracted from virgin females of *Leucoptera coffeella* from 1 to 5 days after emergence.

Discussion

The pattern of sex pheromone production throughout the photoperiodic cycle or calling behavior has not been investigated in this species. The coffee leaf miner reared in the laboratory at 12:12 (L:D) and 20°C exhibited a clear daily rhythm of pheromone content in the gland, with the peak at the end of scotophase and the lowest titer at the end of photophase. These results are in agreement with the time of mating found in experiments made in Porto Rico, El Salvador and Guatemala reported by Walter & Quintela (1969). In that experiment the higher incidence of mating was at sunlight. The highest amount of pheromone in the glands is coincident with the period of calling behavior as in other moths (Baker *et al.* 1991, Babilis & Mazomenos 1992, Delisle 1992, Kamimura & Tatsuki 1994), as well as the period of male response to pheromones (Kehat *et al.* 1994, Mitchell & Tumlinson 1994, Mafra-Neto & Cardé 1995) and is the time of the highest frequency of matings. However, the time of mating differs from that reported by Michereff (2000) because, in the field, both artificial pheromone and virgin females attracted males at 6 and 7th hour of photophase, respectively, about 6 hours after the time found in this experiment. The hours during which the largest amounts of the pheromone were extracted from the glands was at the time of lights on, indicating that this is the cue for pheromone production. As the photophase approached the amount of pheromone evaporating from the gland started to decrease until it reached a minimum level which remained low during the photophase. Further studies on the dynamics of pheromone release, may clarify whether synthesis at the end of

scotophase, evaporation during the photophase could explain the differences in the results found in the present work and those found by (Michereff 2000).

The work of Michereff (2000), was done in the field and ours in the laboratory. The sexual behavior of phytophagous insects is often integrated in a variety of ways with their host plants. This integration may be manifested as effects or influences of host plants on insect physiology and behavior, including sex pheromone communication, that reflect strategies by insects to optimize mating and reproduction. Sex pheromone production and release may be affected by the presence of host plant material in a number of different ways, both direct and indirect. The stimulation by host plants of pheromone biosynthesis by insects has been reported for females of moths in the genus *Helicoverpa* and scolytid beetles. Production of sex pheromone by wild female corn earworm moths, *Helicoverpa zea*, is induced by the presence of host plants (Raina *et al.* 1992). Volatile chemical signals from corn silk, from solvent extracts of corn silk, or from tomatoes triggered the production of sex pheromone in terminal abdominal glands of *H. zea*. Moths removed from any host plant material refrain from reproductive activity, including sex pheromone production. A similar phenomenon was demonstrated with the related *Helicoverpa phloxiphaga*, which requires the presence of the host plant *Castilleja indivisa* (Texas paintbrush) for production of sex pheromone (Raina 1988). In the bark beetle *Dendroctonus brevicomis*, male pheromone synthesis is stimulated by feeding on the host tree (Hughes & Renwick 1977). Feeding may trigger pheromone synthesis by removing inhibition of the corpora allata and triggering release of juvenile hormone. Juvenile hormone activates brain neurosecretory cells to release a stimulatory brain

hormone that drives pheromone synthesis (Hughes & Renwick 1977). The coffee leafminer is considered high specific to coffee plants and is reasonable that this specificity can contribute to the expression of calling and pheromone release. Our extractions of pheromone in the glands were made when the females were in absence of coffee leaves and so this can produce a variation in the results we found. A further experiments should be done when the females are in contact of odours of coffee leaves.

In *L. coffeella* females the pheromone titers change with age and the drop of pheromone content has a different pattern found in others insects (Raina *et al.* 1990, Carriere & McNeil 1990). The pheromone titers in newly-emerged is probably the best level to elicit male response so is important to determine if the content of pheromone in aged females can attract males at the same level. If the mating is more frequent among newly-emerged females this will have an important impact in the structure of mating in the population under massal trapping with pheromones. This hypothesis can be tested by subjecting the population under high amounts of pheromone in a way that pheromone traps with the write dose of pheromone can compete with feral females.

Bibliography

- Babilis, N.A. & B.E. Mazomenos. 1992.** Pheromone production in *Sesamia nonagrioides* - diel periodicity and effect of age and mating. *J. Insect Physiol.* 38: 561-564.
- Baker, T.C., W. Francke, J.G. Millar, C. Löfstedt, B. Hansson, J.W. Du, P.L. Phelan, R.S. Vetter, R. Youngman & J.L. Todd. 1991.** Identification and bioassay of sex pheromone components of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller). *J. Chem. Ecol.* 17: 1973-1988.
- Carriere, Y. & J.N. McNeil. 1990.** Effect of age and mating status on the mating behaviour and pheromone titre in alfalfa blotch leafminer females *Agromyza frontella* (Diptera: Agromyzidae). *J. Insect Physiol.* 36: 457-461.
- Delisle, J. 1992.** Age related changes in the calling behaviour and the attractiveness of obliquebanded leafroller virgin females, *Choristoneura rosaceana*, under different constant and fluctuating temperature conditions. *Ent. Exp. Appl.* 63: 55-62.
- Hughes, P.R. & J.A.A. Renwick. 1977.** Hormonal and host factors stimulating pheromone synthesis in female western pine beetles *Dendroctonus brevicomis*. *Physiol. Entomol.* 2:289-92.
- Kamimura, M. & S. Tatsuki. 1994.** Effects of photoperiodic changes on calling behavior and pheromone production in the Oriental tobacco budworm moth, *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Insect Physiol.* 40: 731-734.
- Kehat, M., L. Anshelevich, E. Dunkelblum & S. Greenberg. 1994.** Sex pheromone traps for monitoring the peach twig borer, *Anarsia lineatella* Zeller: Effect of pheromone components, pheromone dose, field aging of dispenser, and type of trap on male captures. *Phytoparasitica* 22: 291-298.
- Mafra-Neto, A. & R.T. Cardé. 1995.** Effect of the fine-scale structure of pheromone plumes: Pulse frequency modulates activation and upwind flight of almond moth males. *Physiol. Entomol.* 20: 229-242.
- Michereff, M.F.F. 2000.** Comportamento reprodutivo do bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville,

- 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae). Viçosa, MG: UFV, 2000. 38 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- Mitchell, E.R. & J.H. Tumlinson. 1994.** Response of *Spodoptera exigua* and *S. eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) males to synthetic pheromone and *S. exigua* females. Fla. Entomol. 77: 237-247.
- Precetti, A.A.C.M. & J.R.P. Parra. 1981.** Evidência de feromônio sexual de *Perileuoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) em condições de campo. O Solo 73: 7-12.
- Raina, A. K. 1988.** Selected factors influencing neurohormonal regulation of sex pheromone production in *Heliothis* species. J. Chem. Ecol. 14: 2063-69.
- Raina, A.K. & E.A. Stadelbacher. 1990.** Pheromone titer and calling in *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae): Effect of mating with normal and sterile backcross males. Ann. Entomol. Soc. Am. 83: 987-990.
- Raina, A.K. T.G. Kingan & A. K. Mattoo. 1992.** Chemical signals from host plant and sexual behavior in a moth. Science 255: 592-94
- Raina, A.K., J.A. Klun & E.A. Stadelbacher. 1986.** Diel periodicity and effect of age and mating on female sex pheromone titer in *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 79: 128-131.
- Schal, C., R.E. Charlton & R.T. Cardé. 1987.** Temporal patterns of sex pheromone titer and release rates in *Holomelina lamae* (Lepidoptera: Arctiidae). J. Chem. Ecol. 13: 1115-1129.
- Snir, R., E. Dunkelblum, S. Gothilf & I. Harpaz. 1986.** Sexual behavior and pheromone titre in the tomato looper, *Plusia chalcites* (Esp.) (Lepidoptera: Noctuidae). J. Insect Physiol. 32: 735-739.
- Szöcs, G. & M. Tóth. 1979.** Daily rhythm and age dependence of female calling behaviour and male responsiveness to sex pheromone in the gamma moth, *Autographa gamma* (L.) (Lepidoptera: Noctuidae). Acta Phytopathologica Acad. Sci. Hungria 14: 453-459.

- Walker, D.W. & Quintana, V. 1969.** Mating and oviposition behavior of the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella*. Proc. Entomol. Soc. Wash. 71: 88-90.
- Webster, R.P. & R.T. Cardé. 1982.** Relationships among pheromone titre, calling and age in the omnivorous leafroller moth (*Platynota stultana*). J. Insect Physiol. 28: 925-933.
- West, R. J., P.E.A. Teal, J.E. Laing & G.M. Grant. 1984.** Calling behavior of the potato stem borer, *Hydaecia micacea* Esper (Lepidoptera: Noctuidae) in the laboratory and the field. Environ. Entomol. 13: 1399-1404.

Capítulo III

Desenvolvimento de sistema de monitoramento do bichomineiro do café *Leucoptera coffeella* Guérin-Ménéville (Lepidoptera: Lyonetiidae) com uso de feromônio sexual.

RESUMO – Foram conduzidos experimentos de campo para determinar a eficiência de armadilhas de feromônio considerando a dose aplicada no liberador, a vida útil do liberador e a altura da armadilha para captura de machos. Diferentes modelos de armadilhas foram preparadas com 300µg de feromônio sexual e colocadas em plantações de café. Todos os experimentos foram feitos em Minas Gerais, MG. No primeiro estudo a dose de 300µg e 3000µg coletaram mais mariposas que em doses inferiores. Entretanto, quando se levou em consideração a vida útil do liberador a dose de 300µg foi inficiente para coletar machos depois de 15 dias e a dose de 3000µg repeliu os machos das armadilhas nos primeiros 15 dias. Em outro estudo concluiu-se que a melhor dose a ser aplicada nas armadilhas foi a de 900µg. No estudo com os diferentes modelos comparou-se armadilhas Delta® nas cores branca e verde, Tubular com cartão de cola no interior e a armadilha Cica®. Os resultados mostraram não haver diferenças entre as armadilhas Delta® e Cica. No entanto, a armadilha cilíndrica coletou significativamente menos insetos que as demais testadas. Por razões de economia e praticidade recomenda-se a Delta® para o monitoramento deste inseto. A avaliação da altura da armadilha determina que estas sejam colocadas no solo entre as linhas de plantio.

PALAVRAS-CHAVE: Manejo integrado, armadilha de feromônio, desenho de armadilha.

Developing of a pheromone monitoring system for the coffee leafminer *Leucopetera coffeella* Guérin-Mèneville (Lepidoptera: Lyonetiidae)

ABSTRACT – Field experiments were conducted to determine the effectiveness of doses, the lifetime of the releaser, and the height of pheromone-baited traps to capture of coffee leafminer, *L. coffeella*, males. Also traps of different design were baited with 300µg of sex pheromone and were placed in coffee field. All experiments were done at Minas Gerais State - Brazil. In one study, the dose of 300µg and 3000µg in Delta traps collected more moths than the inferior doses. However, considering the lifetime of the releaser the dose of 300µg was inefficient to trap moths more than 15 days and the 3000µg dose was a repellent in the first 15 days. In another study was concluded that the best dose to be applied in the traps 900µg. In the study of trap design the capture was compared among white delta, green delta, a tubular glued cardboard and the Cica® trap. Results showed that there were no differences in capture among Delta® traps with different colors. When considering the model, a circular glued cardboard trap trapped a significant less males than any other trap tested. For economic reasons the best option for monitoring purposes is recommended the Delta trap. The height of trap study determines that the trap should be positioned on the soil between the row of plants..

KEY-WORDS: Pest management, pheromone trap, trap design

Introdução

A necessidade da inclusão do feromônio de *Leucoptera coffeella* Guérin-Mèneville em programas de manejo integrado de pragas do cafeeiro através do monitoramento populacional foi apontado por Precetti & Parra (1981). A adoção do uso de feromônios confere várias vantagens que se resumem na diminuição do esforço de coleta e ganho de tempo. Entre as vantagens temos a coleta específica do inseto-alvo sem a desnecessária interferência na ação dos inimigos naturais. O feromônio sexual de *L. coffeella* foi identificado como sendo a mistura racêmica do 5,9-dimetilpentadecano (Francke 1988).

Os feromônios são substâncias voláteis e devem se volatilizar rapidamente a menos que seja formulada em algum tipo de liberador controlado. As tecnologias empregadas até o momento são bastante variadas e sempre com o objetivo principal de diminuir a taxa de liberação do feromônio de forma que o liberador cubra ao menos o período de vôo dos insetos no campo, normalmente de 4 a 8 semanas. Os liberadores possuem características próprias e que dependendo da molécula ao qual foi impregnado terá distintos

comportamentos. Neste caso, deseja-se um liberador que seja capaz de manter uma taxa uniforme de liberação ao longo de sua permanência no campo. A dose aplicada no liberador terá por sua vez uma fundamental importância na quantidade de feromônio liberada e longevidade no campo. A concentração de feromônio afeta sobremaneira o comportamento do inseto podendo variar de não resposta (baixas doses), atração (em doses adequadas), a repelência (altas doses).

Outro aspecto a ser considerado diz respeito ao tipo de armadilha empregado no sistema de coleta no campo. Os diversos formatos de armadilha são responsáveis pela formação de diferentes plumas do odor, e o inseto é capaz de discriminar sua forma que deve estar em conformidade com o comportamento de liberação pela fêmea (House *et al.* 1998). A forma deve levar em consideração o tamanho do inseto a ser capturado pois a superfície coletora quando na forma adesiva pode saturar com o acúmulo de insetos e assim diminuir a eficiência da armadilha (Starrat 1982).

Segundo Elkinton & Cardé (1988) o número de machos capturados em uma armadilha pode ser influenciado pela presença de outras armadilhas. Portanto, existe uma distância mínima para o posicionamento das armadilhas que não comprometa a confiabilidade dos dados obtidos nas capturas. Esta interação também foi demonstrada em outros Lepidoptera (Wall 1990, Houseweart *et al.* 1981, Perry & Wall 1984). Um outro fator que merece uma consideração especial é o efeito da direção e velocidade do vento. As plumas de feromônio formadas em um cafezal adulto serão necessariamente diferentes qualitativamente em cafezais recém-formados. O fator densidade da vegetação e as características do inseto deverão estar diretamente relacionados ao espaçamento e posicionamento das armadilhas no campo. Como observado por

Elkinton & Cardé (1988), os resultados destes experimentos têm implicações para o uso de armadilhas de feromônio do bicho-mineiro para o monitoramento da densidade populacional e para testes de campo conduzidos para a avaliação de diferentes iscas ou modelos de armadilhas.

Com o objetivo de se caracterizar uma ferramenta adequada para o monitoramento do bicho-mineiro do café com armadilhas de feromônio, elaborou-se uma série de experimentos de campo com as seguintes etapas: 1. determinar inicialmente a dose de feromônio a ser empregada em liberadores de borracha, bem como a vida útil dos mesmos no campo; 2. determinar o desenho de armadilha mais adequado para coleta dos machos; 3. determinar a altura da armadilha a ser usada no campo; 4. testar diferentes liberadores.

Material e Métodos

Dose de feromônio. Foi realizado um experimento inicial para avaliação do feromônio sexual do bicho-mineiro no campo. Este experimento exploratório foi montado no Município de Viçosa. Formulado em septos de borracha, o feromônio sexual sintético foi sintetizado e formulado pelo laboratório do Dr. Miklos Tóth (Hungria) e testado, em campo, nas seguintes doses: 0, 3, 30, 300 e 3000 μ g de 5,9-dimetilpentadecano/liberador (septo). Cada tratamento foi repetido 8 vezes. A cada 3 dias foram contados e retirados os machos na armadilha que permaneceram durante 36 dias no campo. Tendo em vista o resultado encontrado nesse experimento de dose, um outro foi realizado considerando uma menor diferença entre doses. Esse segundo experimento foi elaborado no Município de Patrocínio (MG) agora considerando as

seguintes doses: 300, 600, 900 e 1200 μ g de 5,9-dimetilpentadecano/liberador. Foram testados dois tipos de liberadores, ou seja septo de borracha e pastilhas. Cada tratamento foi repetido 5 vezes. Os machos foram contados e retirados das armadilhas a cada 3 dias e o experimento ficou montado durante 30 dias.

Foram testadas diferentes modelos de armadilhas. Estes modelos levaram em consideração a superfície adesiva, a distribuição da pluma e a cor da armadilha. Os 4 modelos estão representados na Figura 1. Os testes foram montados no município de Patrocínio (MG), na Fazenda Experimental da EPAMIG, que apresentava infestação moderada do inseto. Cada conjunto de armadilhas foi repetido 5 vezes e as armadilhas permaneceram no campo por 24 dias. Os machos coletados foram contados a cada dois dias, quando foram retirados da armadilha.

Com o objetivo de se determinar a altura a ser posicionada a armadilha foi elaborado um experimento no município de Manhuaçu, MG. O experimento foi realizado com a variedade Mundo Novo com aproximadamente 2 metros de altura, em área com baixa ocorrência de adultos. As armadilhas Delta® de cor branca foram posicionadas a 0, 1 e 2 metros do solo e espaçadas de 30 metros. Cada tratamento foi repetido 6 vezes. As armadilhas ficaram no campo por 45 dias. Os machos capturados foram removidos da armadilha a cada 3 dias.

Resultados

Os machos de *L. coffeella* responderam diferentemente aos estímulos provocados por diferentes doses aplicadas nas armadilhas de feromônio ($F = 48,54$; $gl = 4, 515$; $p < 0.0001$). A dose de feromônio mais atraentes foram a de 300 e 3000 $\mu\text{g}/\text{liberador}$ (Figura 2). As doses inferiores a 300 $\mu\text{g}/\text{liberador}$ se mostraram isuficientes para atrair machos de bicho-mineiro. Ao longo do tempo em que as armadilhas ficaram expostas as duas concentrações de feromônio que mais capturaram machos (300 e 3000 $\mu\text{g}/\text{liberador}$) se comportaram diferentemente no campo (Figura 3). Os liberadores com a dose de 300 μg capturaram a maior quantidade de machos na primeira metade do experimento. Por outro lado, a dose mais elevada (3000 $\mu\text{g}/\text{liberador}$) atraiu poucos machos na primeira metade do experimento e somente níveis de captura comparáveis aos de 300 μg a partir de 20 dias em que a armadilha permaneceu no campo (Figura 3). Nos primeiros 18 dias a captura nas armadilhas com liberadores de 3000 μg foram pequenas em relação ao restante dos dias em que a armadilha permaneceu no campo.

No segundo experimento para determinação da dose mais adequada, não foi detectado nenhuma diferença significativa para as doses ($F = 1,39$; $gl = 3, 32$; $p > 0.05$) e aplicadores ($F = 0,10$; $gl = 1, 32$; $p > 0.05$) (Figura 4). Durante esse experimento a população de adultos estava visualmente muito alta como observado pelo vôo dos insetos quando se caminhava nas entrelinhas de café. O elevado número de insetos capturados não provocou a saturação da placa de cola posicionada no interior da armadilha, mesmo que em algumas coletas o número de machos foi superior a 800/placa de cola.

O formato das armadilhas de feromônio influencia a captura de machos de *L. coffeella* ($F = 5,44$; $gl = 3, 236$; $p < 0.001$). As armadilhas Verde, Branca e Cica obtiveram o mesmo nível de captura diferindo da armadilha Tubular (Figura 5). As condições experimentais mostram que a população do inseto foi baixa.

Armadilhas de feromônio Branca, posicionadas ao nível do solo capturam significativamente mais machos de *L. coffeella* ($F = 13,19$; $gl = 2, 285$; $p < 0.001$). A captura diminui a medida que se aumenta a altura das armadilhas (Figura 6).

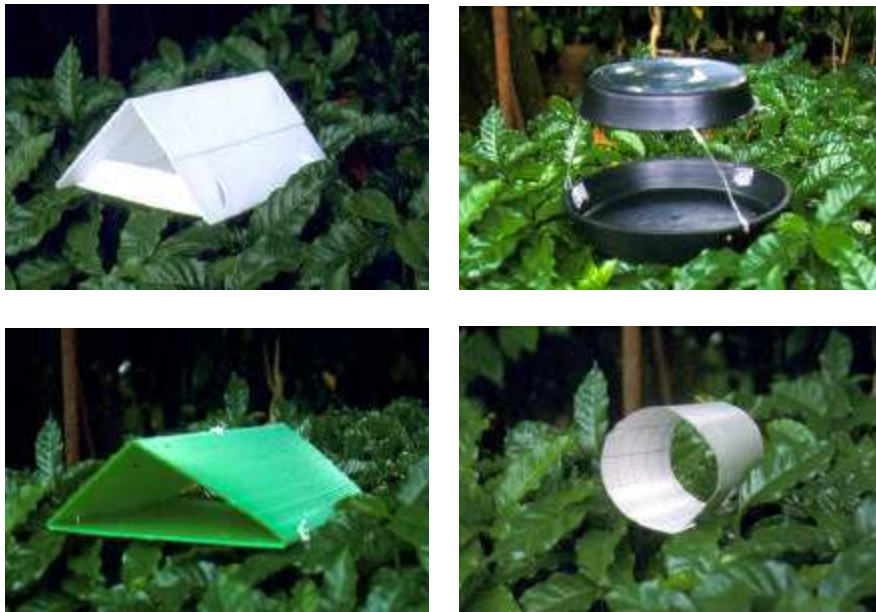


Figura 1 – Armadilhas de feromônio usadas nos experimentos. Na sequência da esquerda para a direita, Delta Branca, Cica, Delta Verde e Tubular. Com exceção da armadilhas Cica que continha água e detergente para a coleta dos insetos as outras possuíam uma superfície adesiva.

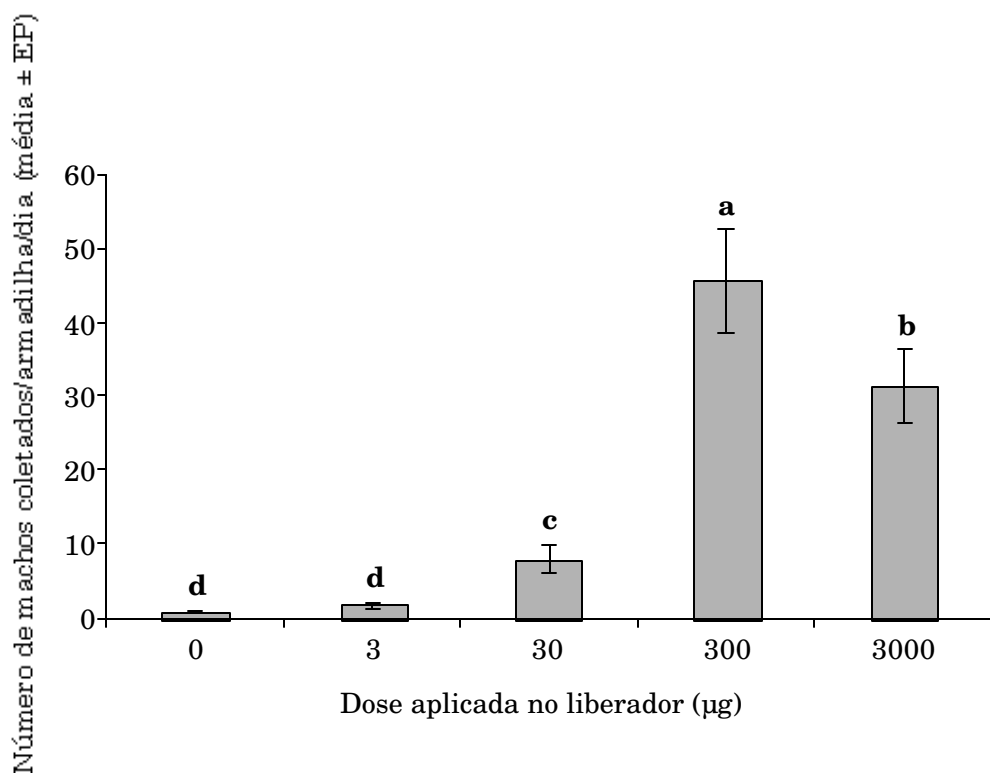


Figura 2 – Captura de machos de *Leucoptera coffeella*, com feromônio sexual, 5,9-dimetilpentadecano, na forma racêmica, impregnado em septos de borracha. Viçosa, MG. Tratamentos seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente (ANOVA seguido de Tukey; $p > 0,05$).

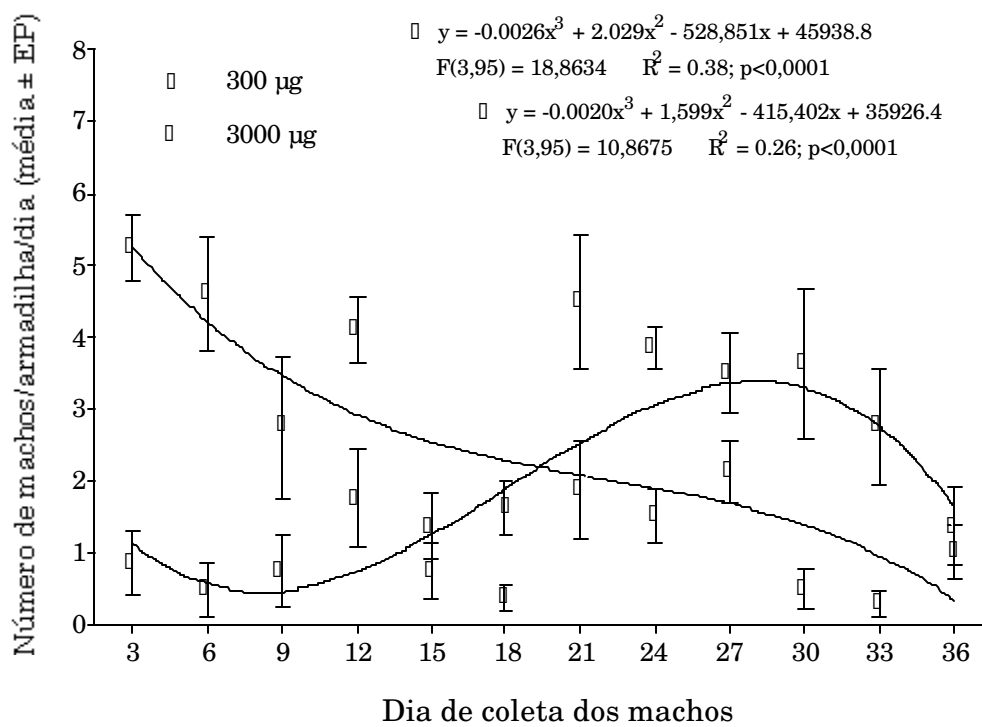


Figura 3 – Captura de machos de *Leucoptera coffeella*, com feromônio sexual, 5,9-dimetilpentadecano, na forma racêmica, impregnado em septos de borracha. Viçosa, MG.

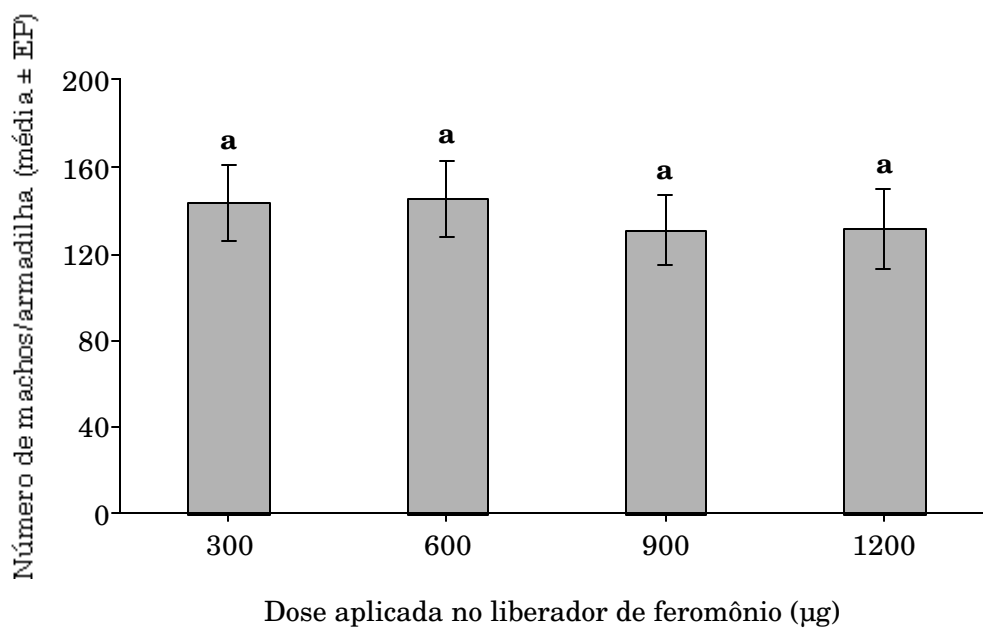


Figura 4 – Captura de machos de *Leucoptera coffeella*, com feromônio sexual, 5,9-dimetilpentadecano, na forma racêmica, impregnado em septos de borracha. Patrocínio, MG. Tratamentos seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente (ANOVA seguido de Tukey; $p > 0,05$).

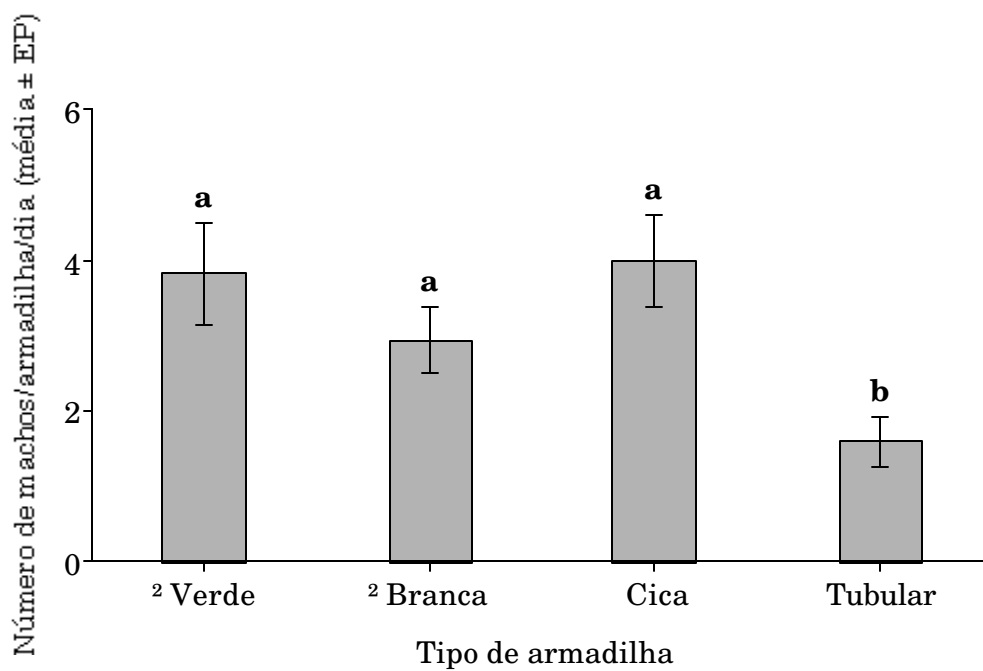


Figura 5 – Captura de machos de *Leucoptera coffeella*, com feromônio sexual, 5,9-dimetilpentadecano, na forma racêmica, impregnado em septos de borracha. Manhuaçu, MG. Tratamentos seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente (ANOVA seguido de Tukey; $p < 0,05$).

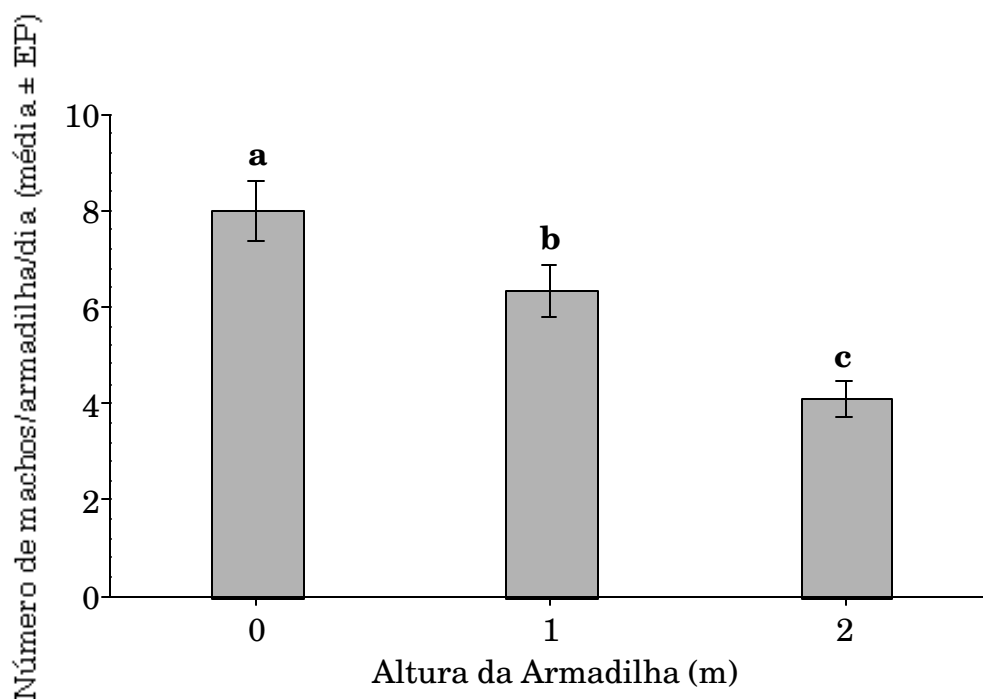


Figura 6 – Captura de machos de *Leucoptera coffeella*, com feromônio sexual, 5,9-dimetilpentadecano, na forma racêmica, impregnado em septos de borracha. Manhuaçu, MG. Os histogramas seguidos pela mesma letra não diferem, entre si, pelo teste Tukey ($p > 0,05$).

Discussão

Altas doses de feromônio no liberador provocam a repelência dos machos. No início do experimento a dose de 3000 μ g era muito elevada e capturou poucos insetos. Estas altas doses devem ter provocando a repelência dos machos que voaram em direção à armadilha. A quantidade de feromônio foi reduzida com o passar do tempo e neste caso a captura foi estabelecida no final do experimento. A anemotaxia (orientação em direção a uma corrente de ar) parece ser o ponto chave na orientação de alguns insetos a fontes distantes de odor (Shorey 1977). Segundo este autor, as moléculas em evaporação formam uma nuvem ou pluma alongada, geralmente de formato irregular, que se move a favor do vento. Um inseto que se orienta anemotaticamente gira o seu eixo corporal para o vento quando é estimulado pelo odor. Se a concentração deste odor foi muito elevada o inseto sairá da pluma não chegando à fonte liberadora. No experimento com doses (300, 600, 900 e 1200) μ g intermediárias de 300 a 3000 μ g, esta repelência não foi percebida nos resultados mesmo na dose mais elevada de 1200 μ g. Nos experimentos para determinação da dose o nível de infestação foi consideravelmente diferente, onde o primeiro teve uma coleta média de 25 machos/armadilha, enquanto que o segundo em torno de 140 machos/armadilha, uma infestação considerada muito elevada. Tendo em vista que a molécula usada foi a mesma e que o tempo de exposição do feromônio em torno de 30 dias, um sistema de armadilhamento seria eficiente em baixas e altos níveis populacionais, Esta característica foi colocada como de fundamental importância por Macaulay (1986) e Sanders (1988).

Embora as comparações com as cores das armadilhas não tenham sido significativas a questão da cor da armadilha deve merecer no futuro mais atenção. *L. coffeella* é um inseto de hábito diurno e, portanto, a cor da armadilha pode ser importante na sua atratividade. A cor verde com outros espectros tonais bem como outras cores deveriam ser testadas.

O sistema de armadilhamento aqui analisado se mostrou eficiente para o uso no campo. Este resultado promissor deverá conduzir a novos trabalhos que possam relacionar os níveis de captura com os níveis de ação, para que se possa tomar decisões de controle no momento certo.

Feromônios e outros semioquímicos têm gerado um grande retorno ao investimento feito na identificação e desenvolvimento de sistemas de monitoramento para que produtores tenha acesso a ele com baixos custos (Suckling 2000). Esses sistemas de monitoramento permitem que as principais táticas de controle, incluindo inseticidas, bioinseticidas, controle cultural, e controle biotécnico tal como a interrupção do acasalamento ou liberação de machos estéreis, tenham seu alvo atingido.

Existe um desafio tecnológico para o desenvolvimento de sistemas de monitoramento. Nesse se incluem o desenvolvimento do sistema de liberação do atraente, desenho da armadilha e emprego do sistema, interpretação dos dados e seu uso com suporte efetivo à tomada de decisão. No presente trabalho o desenho da armadilha e o conhecimento de variáveis importantes foram consideradas tais como: o liberador (substrato e mistura), forma física da armadilha, cor, durabilidade, superfície adesiva, frequência de visitas, posicionamento no campo. No entanto outros fatores tal como distância entre armadilhas e custo do sistema não foi considerado.

A armadilha ideal para monitoramento deverá sempre capturar insetos proporcional a população existente, então poderá gerar uma estimativa da densidade do inseto. Os liberadores devem ser desenhados para atrair inseto de um modo previsível, que estão sempre em baixas densidades. A armadilha desenvolvida neste sistema é considerada dentro destes padrões pois a captura foi proporcional a população no campo, ou seja, a coleta de machos foi diretamente proporcional a densidade populacional presente. Em outros casos, a saturação da armadilha, um fator que deve ser considerado. Exemplos como na mosca da maçã *Dasyneura mali* (Cecidomyiidae), são tão fortemente atraídos pela armadilha com fêmeas virgens que p. ex. 900 machos foram coletados em 20 minutos, saturando a base de cola coletora (Harris et al. 1996). As armadilhas aqui testadas foram vistoreadas a cada 3 dias e o máximo de insetos na placa de cola foi de 856, e esta ainda tinha capacidade para coletar mais machos uma vez que placa de cola não estava saturada.

Os liberadores sintéticos usados no presente trabalho foram formulados em septos de borracha por ser tratar de um liberador barato, prático e amplamente usado. No entanto, a taxa de liberação destes substratos não podem ser controladas e mudam significativamente com o tempo decorrido e temperatura ambiente. Não se exclui aqui a possibilidade de que novos liberadores, na maioria baseados em polímeros ou materiais laminados venham a solucionar este problema. Esses novos materiais possuem também componentes de proteção da luz UV, que leva a degradação e isomerização de compostos (Howse et al. 1998).

Para o monitoramento deste inseto recomenda-se o uso da mistura racêmica do feromônio, na dose de 900µg, em armadilhas do tipo Delta, posicionadas no solo.

Bibliografia

- Harris, M.O., S.P. Foster, K. Agee, & S. Dhana 1996.** Sex pheromone communication in the apple leafcurling midge (*Dasineura mali*). Proceedings of the 49th New Zealand Plant Protection. Conference, pp. 52-58.
- House, P., Stevens, I. & O. Jones. 1998.** Insect Pheromones and Their Use in Pest Management.
- Macaulay, E.D.M., G.W. Dawson, L. Xun & J.A. Pickett. 1986.** Field performance of synthetic diamondback moth sex pheromones. Aspects Appl. Biol. 105-116.
- Sanders, C.J. 1988.** Monitoring spruce budworm population density with sex pheromone traps. Can. Entomol. 120: 175-183.
- Starratt, A.N. & D.G.R. McLeod. 1982.** Monitoring fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), moth populations in southwestern Ontario with sex pheromone traps. Can. Entomol. 114: 545-549.
- Suckling, D.M. 2000.** Issues affecting the use of pheromones and other semiochemicals in orchards. Crop Protection 19: 677-683.

CONCLUSÕES GERAIS

1. A mistura racêmica do 5,9-dimetilpentadecano é eficiente para a captura de machos de *Leucoptera coffeellum* em altas e baixas infestações.

2. A determinação dos isômeros envolvidos pode incrementar a captura de machos, podendo ser de interesse em outras aplicações do feromônio.

3. Há evidências de que o feromônio pode variar entre populações e portanto merece um estudo mais aprofundado.

4. O tipo e posicionamento das armadilhas é importante em situações onde a população é reduzida.

5. É necessário continuar este programa de pesquisa para validar estas informações em outras regiões do Brasil.

6. Para o monitoramento deste inseto recomenda-se o uso da mistura racêmica do feromônio (5,9-dimetilpentadecano), na dose de 900µg, em armadilhas do tipo Delta, posicionadas no solo.