***Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (LEPIDOPTERA:
GRACILLARIIDAE): BIOECOLOGIA E RELAÇÃO COM O
CANCRO CÍTRICO**

MARCONE CÉSAR MENDONÇA DAS CHAGAS
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. **JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA**

Tese apresentada à Escola Superior
de Agricultura “Luiz de Queiroz”,
Universidade de São Paulo, para
obtenção de título de Doutor em
Ciências, Área de concentração:
Entomologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo
Fevereiro - 1999

CIP 201

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Chagas, Marcone César Mendonça das

Phyllocnistis citrella Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae):
bioecologia e relação com o cancro cítrico / Marcone César Mendonça das
Chagas. - - Piracicaba, 1999.

67 p. : il.

Tese (doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,
1999.

Bibliografia.

1. Bioecologia 2. Cancro cítrico 3. Efeito da temperatura 4. Exigência
hídrica 5. Lagarta-minadora-dos-citros 6. Limão cravo 7. Praga agrícola I. Título

CDD 634.3
632.781

Agradeço a DEUS,

Pelas oportunidades concedidas.

Aos meus pais e irmãos,

Ofereço.

Dedico aos meus filhos,

meus

DIOGO, DANIEL, RAFAEL E DANILO

e a minha esposa, amada e amiga,
ADRIANA, pelo carinho e
compreensão.

AGRADECIMENTOS

- À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte (EMPARN), pela oportunidade e facilidades concedidas para a realização do curso de Pós-Graduação;
- Ao Dr. José Roberto Postali Parra, Professor Associado do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, da ESALQ/USP, pela orientação, apoio, confiança, amizade e compreensão;
- À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), pela oportunidade de realizar o curso;
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de Estudos;
- Ao Fundo Paulista de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS), pelo suporte financeiro e apoio para a realização dos trabalhos;
- Ao Instituto Biológico, pela cessão das instalações da Estação Experimental de Presidente Prudente, SP, para realização de parte dos trabalhos;
- Ao Departamento de Física e Meteorologia, pela cessão dos dados meteorológicos;
- Ao Dr João Roberto Spotti Lopes, Professor Doutor da ESALQ/USP, pela colaboração no planejamento de parte da pesquisa;
- Ao Dr. Evônio Berti Filho, Professor Associado da ESALQ/USP, pela colaboração prestada na elaboração do “Summary”;

- Aos professores do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, da ESALQ/USP, pelos ensinamentos transmitidos;
- Ao Gerente Científico do Fundecitrus, Antônio Juliano Ayres e o Pesquisador Pedro Takao Yamamoto e aos pesquisadores Rossi, Leonardo, Takao e Sônia, da Estação Experimental do Instituto Biológico em Presidente, SP, pelas facilidades concedidas para realização da pesquisa;
- Aos meus colegas, Geraldo, Charles, Silvia, Teresinha, Mauro, Cidoca, Denize, Lusinério, Eduardo, Crébio, Aninha, Rogério (Paku), Jorge, Phyto e Américo, pelo companheirismo e amizade;
- Aos colegas Lusinério e Silvia, pela valiosa colaboração na revisão dos trabalhos;
- Ao Biólogo e colega Heraldo Negri de Oliveira, pelas fotos e o companheirismo;
- À Patrícia Milano, bolsita do Departamento, pela valiosa colaboração na obtenção dos dados e desenhos apresentados neste trabalho;
- Aos funcionários Neide, Regina, Cibele, Solange, João Gorá, “Tutu”, Aninha e Carlinhos pelos préstimos oferecidos;
- Às bibliotecárias da ESALQ/USP, Kátia Andrade, Eliana Sabino e Cristina Andrade pela revisão das referências bibliográficas e atenção dispensada;
- Ao colega Alexandre de Sene Pinto pela amizade e preciosa colaboração na editoração final deste trabalho; e,
- A todos aqueles que, direta ou indiretamente , contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	vii
SUMMARY.....	ix
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Características bioecológicas de <i>Phyllocnistis citrella</i> Stainton, 1856.....	3
2.2 Sintomas de ataque e danos.....	8
2.3 Distribuição geográfica.....	9
2.4 Plantas hospedeiras.....	10
2.5 Controle.....	11
2.5.1 Controle biológico.....	11
2.5.2 Controle químico.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Criação de manutenção de <i>P. citrella</i>	13
3.1.1 Em laboratório.....	13
3.1.2 Em telado.....	15
3.2 Bioecologia de <i>P. citrella</i>	18
3.2.1 Biologia em diferentes temperaturas e determinação das exigências térmicas, visando a avaliação teórica do número de gerações em 5 regiões do Estado de São Paulo.....	18
3.2.2 Determinação do número de ínstaes.....	20
3.2.3 Influência da alternância de temperaturas, nas fases imaturas e adulta, sobre a fecundidade de <i>P. citrella</i>	20
3.2.4 Efeito da umidade relativa sobre ovos e adultos de <i>P. citrella</i>	24
3.2.5 Características da postura de <i>P. citrella</i>	25
3.2.5.1 Distribuição espacial dos ovos.....	25

3.2.5.2 Efeito do tamanho de folhas na postura.....	25
3.3 Papel do minador-dos-citros na disseminação da bactéria do cancro cítrico, <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv <i>citri</i>	26
3.3.1 Efeito de lesões da lagarta minadora na infecção por <i>X. axonopodis</i> pv <i>citri</i>	26
3.3.2 Avaliação da transmissão da bactéria por adultos de <i>P. citrella</i>	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1 Biologia em diferentes temperaturas e determinação das exigências térmicas, visando a avaliação teórica do número de gerações de <i>Phyllocnistis citrella</i> Stainton, 1856, em 5 regiões do Estado de São Paulo.....	29
4.1.1 Período embrionário: duração e viabilidade.....	29
4.1.2 Estágios larval e pupal: duração e viabilidade.....	31
4.2 Determinação do número de ínstar.....	35
4.3 Exigências térmicas de <i>P. citrella</i>	36
4.4 Influência da alternância de temperaturas, nas fases imaturas e adulta, sobre a fecundidade de <i>P. citrella</i>	42
4.5 Efeito da umidade relativa na fecundidade e longevidade de <i>P. citrella</i>	46
4.6 Características de postura de <i>P. citrella</i>	50
4.6.1 Distribuição espacial dos ovos.....	50
4.6.2 Efeito do tamanho de folhas na postura.....	51
4.7 Papel do minador-dos-citros na disseminação da bactéria do cancro cítrico, <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citri</i>	53
5 CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

***Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE):
BIOECOLOGIA E RELAÇÃO COM O CANCRO CÍTRICO**

Autor: MARCONE CÉSAR MENDONÇA DAS CHAGAS

Orientador: Prof. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

RESUMO

A pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de se estudarem aspectos biológicos do minador-dos-citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 em diferentes temperaturas e umidades relativas do ar, bem como avaliar a sua relação com a bactéria do cancro cítrico, *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*, a fim de se obterem informações básicas, passíveis de subsidiarem programas de manejo do minador-dos-citros, através da previsão da evolução da praga em diferentes regiões citrícolas do Estado de São Paulo. A pesquisa relacionada à bioecologia de *P. citrella*, foi desenvolvida nos laboratórios e casa-de-vegetação do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP). O estudo relacionado ao papel do inseto na disseminação da bactéria do cancro cítrico, *X. axonopodis* pv *citri*, foi conduzido na Estação Experimental do Instituto Biológico de SP, no município de Presidente Prudente, SP. A metodologia desenvolvida, utilizando-se plantas de limão-cravo (*Citrus limonia*), cultivadas em “tubetes”, como hospedeiro de *P. citrella*, mostrou-se adequada à criação contínua do inseto em laboratório. As condições térmicas favoráveis à *P. citrella* variaram com o seu estágio de desenvolvimento, sendo as temperaturas de 25, 30 e 32°C, favoráveis à postura, desenvolvimento embrionário e complementação das fases larval e pupal, respectivamente. Com base nas exigências térmicas do inseto, constatou-se uma variação de 12,1 a 14,1 gerações no período de setembro a abril (período de brotações) nas regiões representativas da citricultura do Estado de São Paulo. A alternância de temperaturas, durante o desenvolvimento das fases imaturas e adulta de *P. citrella*, não influenciou sua fecundidade, enquanto que, a umidade relativa de 70% foi mais adequada ao inseto. O

minador-dos-citros preferiu ovipositar na superfície abaxial e na nervura principal das folhas de citros com comprimento entre 0,6 a 2,0 cm, tais ovos foram colocados, em maior quantidade, no terço apical e porção mediana da área foliar. Ficou evidente que há uma estreita relação entre as lesões nas folhas, provocadas por *P. citrella*, e a infecção da bactéria do cancro cítrico, *X. axonopodis* pv *citri*.

***Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE):
BIOECOLOGY AND RELATION TO CITRUS CANCER**

Author: MARCONE CÉSAR MENDONÇA DAS CHAGAS

Adviser: Professor JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

SUMMARY

This research was carried out to study biological aspects of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 in different temperatures and relative humidities, as well as to evaluate its association with the citrus canker bacteria, *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*, in order to obtain basic information for management programs for the citrus leafminer in different citrus regions of the state of São Paulo, Brazil. The research related to *P. citrella* bioecology was developed in laboratory and greenhouse of the Department of “Entomologia, Fitopatologia and Zoologia Agrícola”, University of São Paulo, in Piracicaba, State of São Paulo. The rearing methodology was designed by the authors and proved to be extremely suitable for the purposes of this research. The best temperature conditions for *P. citrella* were 25, 30 and 32°C for egg laying, embryonic development and larval and pupal stages, development, respectively. Based on the insect thermal requirements, a variation of 12.1 to 14.1 generations from September to April (sprouting period) in representative citrus regions of São Paulo State was observed. The temperature combinations used during the development of *P. citrella* immature and adult stages, did not affect its fertility, while the relative humidity of 70% was the most suitable for the insect. The citrus leafminer preferred to lay eggs on the abaxial surface and on the main nervure of citrus leaf measuring 0.6 to 2.0 cm length. Most of the eggs were laid on the apical third and on the leaf area middle portion. It was evident that there is a close relationship between the injuries on the leaves made by *P. citrella* and the infection caused by citrus canker bacteria, *X. axonopodis* pv *citri*.

1 INTRODUÇÃO

O minador-dos-citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera, Gracillariidae), é assim conhecido, por atacar folhas novas de brotações de plantas cítricas provocando minas (galerias) típicas em forma de serpentina, que culminam com a atrofia do tecido foliar, o qual assume uma coloração prateada, prejudicando sensivelmente o desenvolvimento da planta.

Até o início da década de noventa, o minador-dos-citros estava restrito ao sudeste asiático, à Nova Guiné, extremo norte da Austrália e às regiões do leste e oeste da África (Clausen, 1931; Badawy, 1967; Heppner, 1993 e Prates et al., 1996).

Em 1993, *P. citrella* foi constatado em pomares da Flórida, dispersando-se, a partir daí, para várias regiões produtoras de citros dos EUA (Heppner, 1993; Knapp et al., 1994), bem como para o México e países da América Central e Ilhas do Caribe. Na época, foi chamada a atenção sobre a possibilidade de sua introdução no Brasil (Gravena, 1994; Lourenção et al., 1994), a qual ocorreu em março de 1996, tendo sido registrada em viveiros na região de Campinas, SP (Prates et al., 1996), constituindo-se desde então, em mais uma praga de importância econômica associada aos citros.

Os danos provocados à planta dependem do nível de infestação do minador. Com o desenvolvimento do inseto, as folhas tornam-se retorcidas, surgindo posteriormente manchas necróticas, culminando com a seca dessas estruturas. Além do comprometimento à fotossíntese, os danos provocados pela praga, podem resultar na queda prematura das folhas e impedir o desenvolvimento das brotações, refletindo conseqüentemente, no potencial produtivo do pomar (Clausen, 1931; Badawy, 1967; Heppner, 1993 e Prates et al., 1996). Indiretamente, as lesões provocadas pelas lagartas

podem contribuir para a penetração e desenvolvimento de fitopatógenos através dos tecidos lesionados, como a bactéria do cancro cítrico, *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*. Levantamentos realizados em condições de campo, têm demonstrado um índice de infestação desse patógeno de até 75% em folhas de citros, quando *P. citrella* está presente (Sohi & Sandhu, 1968; Heppner, 1993), com uma tendência visível de agravamento da doença após a introdução da praga no Brasil.

Algumas espécies de parasitóides têm demonstrado potencial de utilização para o controle biológico dessa praga, alcançando em determinadas regiões do mundo, 54,4% de parasitismo natural (Chen & Le, 1986). Há evidências, em nível mundial, de que a população de *P. citrella* pode ser diminuída, através de liberações inoculativas do parasitóide pertencente à família Encyrtidae, *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya, 1983, com comprovado sucesso em introduções realizadas na Austrália (Neale et al, 1995), em Israel (Argov & Rössler, 1996) e nos EUA (Hoy et al., 1997).

Existe uma abundante fauna nativa de parasitóides do minador-dos-citros no Brasil (Penteado-Dias et al., 1997; Nascimento & Vidal, 1998; Sá et al., 1998). Entretanto, dado ao curto tempo de introdução no Brasil, muito pouco se conhece sobre a real atuação dos mesmos sobre *P. citrella*, desde que o minador é, ainda, pouco estudado em nossas condições.

Assim, face ao desconhecimento da bioecologia do *P. citrella* sob as condições dos diferentes agroecossistemas brasileiros, desenvolveu-se a presente pesquisa, com o objetivo de se estudarem aspectos biológicos dessa praga em diferentes temperaturas e umidades relativas do ar, bem como avaliar a sua relação com a bactéria do cancro cítrico, *X. axonopodis* pv *citri*, a fim de se obterem informações básicas, passíveis de subsidiarem programas de manejo do minador-dos-citros, através da previsão da evolução da praga em diferentes regiões citrícolas do Estado de São Paulo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características bioecológicas de *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856

O adulto de *P. citrella* é uma pequena mariposa que apresenta envergadura de 4,0 mm, aproximadamente. As asas anteriores apresentam escamas de coloração branca a prata, brilhantes, plumosas, com pêlos escuros distribuindo-se longitudinal e transversalmente. As asas anteriores são mais estreitas, apresentando um ponto preto na região apical, característico da espécie (Heppner 1993; Garijo & Garcia, 1994; Smith & Hoy, 1995; Alba, 1996). Os adultos emergem ao amanhecer, porém, apresentam hábito noturno, período no qual ocorrem a cópula e oviposição. A cópula inicia-se dentro de um período máximo de 9 a 72 h após sua emergência, com duração que varia de 30 min até 9 h (Clausen, 1931; Pandey & Pandey, 1964; Ba-Angood 1977; Radke & Kandalkar, 1987; Batra et al., 1988; Huang et al., 1989a; Knapp et al., 1994).

O dimorfismo sexual entre adultos não é evidente (Alba 1996; Jacas & Garrido, 1996), o que dificulta as atividades rotineiras desenvolvidas por pesquisadores em estudos de laboratório. De um modo geral, a separação de sexos é feita na fase de pupa. Neste caso, o último segmento abdominal das pupas fêmeas, é mais longo, em função da junção dos segmentos IX e X, além de apresentar duas cerdas laterais; nas pupas que originarão machos, esse segmento é mais curto e desprovido de cerdas (Clausen, 1931; Jacas & Garrido, 1996). Nos adultos, a parte terminal do abdome das fêmeas apresenta duas pequenas faixas escuras de escamas que se estendem do sétimo ao nono segmento abdominal, podendo ser visualizadas lateralmente ao lóbulo do ovipositor, mediante observação em microscópio estereoscópico (Jacas & Garrido, 1996).

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

Após a eclosão, as lagartas penetram rapidamente no tecido foliar, iniciando a construção da mina, e, na folha, permanecem por todo o desenvolvimento larval. As minas de *P. citrella* apresentam formato peculiar de serpentina, sendo normalmente localizadas na superfície abaxial da folha. No entanto, em altas infestações, ambas as superfícies podem apresentar os sintomas de ataque. Normalmente, apenas uma lagarta se desenvolve por folha, podendo ocorrer de 2 a 3 lagartas/folha em altas infestações, sendo que, em ataques intensos, já foram verificadas de 9 a 20 minas/folha (Hutson & Pinto, 1934; Pandey & Pandey, 1964; Heppner, 1993). Ao final do período larval, as lagartas confeccionam uma câmara pupal, através da secreção de fios de seda, dobrando a margem ou mesmo a parte mediana da folha, local onde se transformam em pupas. As pupas são obtectas, com formato alongado, de coloração marrom clara, com um processo pontiagudo na região anterior, utilizado, muito provavelmente, para o rompimento da câmara pupal por ocasião da emergência dos adultos (Heppner, 1993).

Em condições climáticas desfavoráveis, principalmente no inverno de clima temperado, o minador-dos-citros pode sobreviver, através de diapausa, no estágio de pupa (Huang et al., 1989a) ou adulto (Clausen, 1931).

A biologia do minador-dos-citros, *P. citrella*, é semelhante às de inúmeras espécies de insetos minadores de folhas. Aspectos de sua bioecologia têm sido estudados por vários pesquisadores. Os principais trabalhos foram desenvolvidos na Índia e na China (Pandey & Pandey, 1964; Badawy, 1967; Sabine, 1971; Ba-Angood, 1977; Singh, 1984; Radke & Kandalkar, 1987; Batra, et al., 1988; Huang & Li, 1989; Patel et al., 1994).

As posturas de *P. citrella* são realizadas em brotações novas, sendo os ovos colocados próximos à nervura principal das folhas, na maioria das vezes, na superfície abaxial das mesmas (Badawy, 1967; Sabine, 1971; Ba-Angood, 1977; Wilson, 1991).

Wilson (1991) observando, em campo, a distribuição de posturas do minador em plantas cítricas, pôde constatar de 1 a 28 ovos /folha , com média de 5,9, dos quais, 67,3% localizavam-se na superfície abaxial. A capacidade de postura de *P. citrella*, segundo a literatura, é bastante variável, observando-se de 7 a 108 ovos/fêmea conforme constatações de Pandey & Pandey (1964), Radke & Kandalkar (1987) e Huang et al.(1989a).

As durações das fases de desenvolvimento de *P. citrella* registradas em literatura são bastante conflitantes em função, muito provavelmente, das diferentes condições bióticas e/ou abióticas nas quais os estudos foram conduzidos. Sabe-se entretanto, que a temperatura exerce um papel importante sobre o seu desenvolvimento. Assim, têm sido registrados períodos de pré-oviposição, incubação e durações das fases larval e pupal, de 1 a 8; 0,5 a 10; 3 a 49,5; e 3,5 a 17 dias, respectivamente.

Assim, podem-se observar valores conflitantes correspondentes ao período de pré-oviposição desse inseto, registrados por Pandey & Pandey (1964) e Badawy (1967). Os autores determinaram períodos variáveis de 1 a 6 e 5 a 8 dias, respectivamente.

Quanto ao período de incubação de *P. citrella*, Ba-Angood (1977) constatou valores compreendidos entre 2 a 6 dias, em razão das condições não controladas da temperatura. Nas largas faixas de temperatura de 13,3-36,4; 7,3-33,8 e 11,7-38,0 °C, foram constatados períodos médios de incubação de 2, 4 e 6 dias, respectivamente. Esses dados foram confirmados por Wilson (1991), durante os meses mais quentes na Austrália (média de 33 °C), que obteve valores entre 2 a 4 dias. Batra et al. (1988) observaram períodos bem mais curtos, em condições de semi-campo, em trabalho de pesquisa conduzido durante o ano todo. O período médio de incubação variou de 1,23 a 2,78 dias, quando observado nos meses de Junho (média de 31,5°C e U.R. de 48%) e Janeiro (média de 10,2°C e U.R. de 69%), respectivamente, enquanto Heppner (1993) referiu-se a uma faixa mais ampla (2-10 dias). Os resultados obtidos sob condições controladas de temperatura, refletem a importância marcante desse fator físico sobre a biologia do inseto (Ba-Angood, 1978). Os insetos criados nas temperatura de 20

$\pm 1,5$; $25 \pm 1,0$; $30 \pm 1,0$ e $35 \pm 1,0$ °C, apresentaram períodos médios de incubação de 9,5; 7,5; 5,2 e 3,5 dias, respectivamente.

Devido ao hábito minador da espécie, é muito difícil a determinação e observação dos ínstaes larvais. Segundo pesquisas de Ba-Angood (1977), o minador-dos-citros apresenta geralmente quatro ínstaes larvais, sendo que no último, a lagarta não se alimenta. Entretanto, Badawy (1967) e Wilson (1991), relataram que as lagartas de *P. citrella* apresentam três ínstaes larvais e consideraram o estágio no qual não se alimenta como a fase de pré-pupa. Segundo os resultados obtidos por esses autores, as lagartas apresentaram cápsulas cefálicas com dimensões aproximadas de 0,12; 0,19 e 0,33 mm de largura, para o 1º, 2º e 3º ínstaes larvais, respectivamente.

As durações dos períodos larval e pupal, determinadas por Ba-Angood (1977), variaram em função da temperatura. Nas condições de criação dos insetos apresentando amplo gradiente de temperatura (13,3-36,4; 7,3-33,8 e 11,7-38,0 °C), constataram-se durações médias correspondentes a 8,4; 7,9 e 7,3 e de 9,1; 8,3 e 8,2 dias para as fases larval e pupal de *P. citrella*, respectivamente. Por outro lado, sob condições controladas de temperatura ($20 \pm 1,5$; $25 \pm 1,0$; $30 \pm 1,0$ e $35 \pm 1,0$ °C), Ba-Angood (1978) registrou valores médios de 18,5; 15,6; 12,5 e 10,4, e de, 19,5; 16,6; 10,3 e 9,2 dias, bem superiores àqueles observados nas condições sem controle do ambiente, para os respectivos períodos das fases larval e pupal do minador-dos-citros.

A relação inversa entre o aumento de temperatura na qual o inseto foi criado, e as durações dessas fases do seu desenvolvimento, foi ratificada por Batra et al. (1988). O autor constatou valores médios de 22,08 e 5,35; 22,95 e 5,94 dias para os períodos larval e pupal do *P. citrella*, quando o mesmo foi criado nas temperaturas médias de 10,1 e 31,5°C, respectivamente. Wilson (1991) observou períodos larval e pupal de *P. citrella* entre 6 e 7 dias numa condição de temperatura média de 33 °C.

Ba-Angood (1977) obteve, em laboratório, sob condições de temperatura não controlada, valores de longevidade para machos e fêmeas bastante discrepantes, em função da ocorrência ou não de acasalamento. Sem cópula, a longevidade média para ambos os sexos foi de aproximadamente 6 dias, ao passo que, aqueles acasalados

apresentaram longevidades menores, variando de 24 a 36 horas. Já Radke & Kandalkar (1987) e Huang et al., (1989b), relataram valores de longevidade variáveis de 1 a 7,5 e 1 a 22,5 dias, respectivamente, para machos e fêmeas desse inseto.

Além dos fatores abióticos, a fisiologia e/ou caracteres morfológicos das plantas e a espécie de citros na qual o inseto se desenvolve podem afetar a duração do ciclo (ovo-adulto) (Badawy, 1967; Ba-Angood, 1977; Singh, 1984; Radke & Kandalkar, 1987; Batra et al., 1988 e Huang et al., 1989b; Wilson, 1991; Garijo & Garcia, 1994). Em condições favoráveis, o ciclo total desse inseto pode variar de 14 a 18 dias (Sabine, 1971). Batra et al. (1988) observaram um intervalo bastante grande na duração do ciclo do minador-dos-citros, entre 54,5 e 14,4 dias, quando esse foi criado sob as condições médias de temperatura de 13,7 e 31,5°C, respectivamente.

Assim, dependendo das condições climáticas, podem ocorrer de 5 a 13 gerações de *P. citrella* ao ano (Clausen, 1931; Pandey & Pandey, 1964; Huang et al., 1989a).

Patel et al. (1994) constataram em condições de campo, na Índia, picos populacionais do minador-dos-citros nos meses de agosto e setembro (faixa térmica de 25°C), relacionando o incremento populacional da praga, às elevações de temperatura e umidade relativa, bem como à redução do número de horas de luz por dia. Essa relação foi ratificada por Bagmare et al. (1995) durante períodos intermitentes de chuva, com médias de temperatura e umidade relativa de 26,85°C e 91%, respectivamente.

No Brasil, Costa et al. (1998) não constataram infestação da praga durante os meses de julho a setembro/1997 na região de Jaboticabal, SP., independente da presença de brotações novas. Os autores associaram a ausência da praga ao efeito das baixas temperaturas no período (temperatura média inferior a 24°C). A partir das primeiras chuvas, foram observadas, no entanto, infestações variando de 31 a 98% em folhas novas, com densidade de 1-4 lagartas/folha.

Dependendo das condições climáticas, o ritmo de emergência de *P. citrella* pode variar durante o dia, sendo a maior taxa de emergência registrada no período de menor temperatura, com maior concentração (72,7%) no período de 0 a 12h (Huang et al., 1989b).

2.2 Sintomas de ataque e danos

Embora *P. citrella* tenha preferência por folhas novas, há registros de ataque dessa praga em frutos (Heppner, 1995), bem como em pecíolos das brotações, especialmente em variedades que apresentam ramos mais tenros (Hutson & Pinto, 1934). Os danos causados à planta dependem do nível de infestação do minador-dos-citros. Em situações de alta intensidade de ataque dessa praga, há seguramente reflexos negativos no potencial produtivo do pomar (Huang & Li, 1989; Heppner, 1993; Prates et al., 1996).

Além dos danos diretos provocados pelas lagartas, microorganismos que normalmente não se desenvolvem em folhas saudáveis, como os fungos saprófitos *Alternaria* spp. e *Paecilomyces* spp., também acabam penetrando no tecido foliar lesionado por *P. citrella* (Sohi & Sandhu, 1968; Cook, 1988).

As minas abertas pelas lagartas de *P. citrella* têm favorecido não somente a entrada de microorganismos oportunistas, mas principalmente a bactéria do cancro cítrico, *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*. Essa bactéria infecta folhas novas de plantas cítricas, penetrando através da abertura dos estômatos, ferimentos foliares provocados pelo homem, e, nos tecidos previamente danificados por esse inseto. Segundo registros da literatura, o ataque do minador-dos-citros contribui também para dispersão dessa bactéria em pomares cítricos (Heppner, 1993). Essa doença conhecida mundialmente como “Asiatic Citrus Canker”, tem grande potencial devastador de algumas espécies de citros, cultivadas em áreas onde são registradas, simultaneamente, chuva em abundância e temperaturas elevadas (Pruvost et al., 1997).

Estudos de campo revelaram índices de infecção por *X. axonopodis* pv *citri* de 11,1 a 27,3 e 58,6 a 75,0%, respectivamente, na ausência e presença de danos de *P. citrella* (Sohi & Sandhu, 1968). Após a constatação dessa praga em pomares dos EUA, estabeleceu-se rapidamente uma correlação entre sua infestação e a infecção da bactéria nos pomares do estado da Flórida (Gottwald et al., 1997).

Os danos característicos de ataque de *P. citrella* contribuem para a infecção da bactéria de duas maneiras: 1) com o rompimento da cutícula das folhas, o mesofilo foliar fica exposto ao ambiente, e conseqüentemente, em contato com a bactéria (em suspensão no ar em respingos d'água provenientes de chuvas e ventos fortes); 2) as lagartas tornam-se freqüentemente contaminadas com a bactéria, transportando-a ao longo das galerias, resultando no incremento da infecção do mesofilo foliar (Graham et al., 1996).

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

Levantamentos realizados pelo FUNDECITRUS (Fundo Paulista de Defesa da Citricultura) têm demonstrado um quadro preocupante desde o registro do minador no País, uma vez que o número de focos do cancro cítrico no Estado de São Paulo, aumentou em, aproximadamente, 10 vezes (de 45 em 1996 para 433 em 1998) (Massari, 1998)¹

2.3 Distribuição geográfica

Nos últimos anos, tem-se observado uma acentuada dispersão de *P. citrella* para zonas produtoras de citros em todo mundo, causada, presumivelmente, pela movimentação de material vegetal de origem cítrica. A partir de 1993, esta praga atravessou continentes invadindo a Flórida nos EUA, Caribe e a América Central. Em 1994, foi registrada em vários países do Mediterrâneo, incluindo Israel, período no qual, dispersou-se também para alguns países das Américas Central e do Sul (Argov & Rössler, 1998).

¹ MASSARI, C. A. 1998. (FUNDECITRUS, Araraquara – SP. Dados apresentados em reunião técnica)

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

A ocorrência de *P. citrella* era restrita ao Velho Mundo, até Heppner (1993) registrá-lo pela primeira vez no continente americano, em pomares de citros do sul da Flórida, nos EUA. A partir daí, essa praga dispersou-se para várias regiões produtoras de citros dos EUA, constituindo-se em mais uma praga de importância econômica, especialmente, quando infesta plantios novos em pleno desenvolvimento vegetativo.

No Brasil, a partir de sua constatação no Estado de São Paulo, observou-se uma rápida dispersão dessa praga para outras áreas produtoras de citros de vários Estados brasileiros, entre os quais, o Amazonas, Roraima Rondônia, Piauí, Bahia, Mato Grosso do Sul, Goiás, Tocantins, Minas Gerais, Rio de Janeiro e o Paraná (Nascimento & Vidal, 1998; Didonet et al., 1998). Acredita-se entretanto, que embora não se tenha registro na literatura, o minador-dos-citros já esteja presente em todos os Estados brasileiros.

2.4 Plantas hospedeiras

P. citrella é comumente encontrado em plantas da família Rutaceae, a qual é representada por mais de 80% das espécies hospedeiras desse inseto. Entretanto, ocorre também em hospedeiros alternativos pertencentes às famílias Oleaceae, Loranthaceae, Leguminosae e Lauraceae (Heppner, 1993; e Prates et al., 1996). Apesar de ter sido observada a presença de lagartas de *P. citrella* em várias espécies vegetais, em muitas delas, não ocorre desenvolvimento completo do inseto. Assim, nessas plantas, pode ocorrer apenas o início do desenvolvimento larval ou o desenvolvimento até a fase de pupa, mas não o desenvolvimento ovo-adulto (Heppner, 1993).

2.5 Controle

2.5.1 Controle biológico

Há evidências, em nível mundial, de que os surtos de *P. citrella* podem ser reduzidos através da utilização de parasitóides como agentes de controle biológico. Pode-se registrar na literatura um número significativo de inimigos naturais associados ao controle natural do minador-dos-citros, especialmente parasitóides da Ordem Hymenoptera, com destaque às famílias Encyrtidae, Eulophidae e Elasmidae.

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

Ageniaspis citricola Logvinovskaya, 1983, *Galeopsomyia fausta* LaSalle, 1997, *Cirrospilus ingennus*, Gahan 1932, *Elasmus* sp. e *Pnigalio* sp., têm sido registrados na literatura como os principais parasitóides com potencial ao controle do minador-dos-citros (Subba Rao & Ramamani, 1965; Heppner, 1993; Browning & Peña, 1995; Smith & Hoy, 1995; Argov & Rössler, 1996, 1998 e Peña et al., 1996).

No Brasil, parte desse grupo compõe o complexo de inimigos naturais responsável pelo parasitismo natural dessa praga, com destaque ao microhimenóptero *G. fausta* (Penteado-Dias et al., 1997; Nascimento & Vidal, 1998; Sá et al., 1998).

Dentre essas espécies, *A. citricola* tem sido indicado como o agente biológico mais eficiente na implementação de programas de controle biológico clássico desde sua introdução na Austrália (Neale et al., 1995), seguido de Israel (Argov & Rössler, 1996), EUA (Hoy et al., 1997) e o Peru (J.R.P Parra, 1998, informação pessoal).

Apesar do controle natural de *P. citrella* por algumas espécies de parasitóides e predadores ser alto (tem-se observado até 54,4% de parasitismo natural), isoladamente, o controle biológico não é suficiente para manter a praga em nível de equilíbrio, havendo necessidade de se lançar mão de outros métodos de controle (Chen & Le, 1986).

2.5.2 Controle químico

O controle químico tem predominado como medida de supressão populacional do minador-dos-citros, principalmente através da utilização de compostos sintéticos (Knapp et al., 1994). Com base em estudos realizados na Austrália, há recomendações de uso de dimetoato, diazinon e permetrina, entre outros, além do óleo mineral.

Peña (1994) conseguiu reduções significativas da população de *P. citrella* por períodos variáveis de 1 a 2 meses utilizando uma mistura de um produto fisiológico [dimilin plus oil-(1%)]+agri-mek e imidachloprid, respectivamente. Prates et al. (1996) recomendaram a utilização de imidachloprid, abamectin e o diflubenzuron aliados ao manejo da fertirrigação, a fim de se controlar o período de brotação das plantas.

Raga et al. (1998) avaliando a ação de diversos ingredientes ativos em várias concentrações, determinaram que os produtos Acetamiprid e Abamectin misturados com óleo mineral, apresentaram melhor eficiência até os 15 dias após a pulverização, enquanto o óleo mineral aplicado isoladamente mostrou-se ineficiente.

Nos EUA já foi discutida a possibilidade de desequilíbrios favorecendo ácaros e cochonilhas, no caso de aplicações sucessivas de inseticidas de amplo espectro para o controle de *P. citrella*. Foram propostas pesquisas para determinação do nível de dano econômico e integração de métodos de controle químico e cultural, a fim de favorecer o controle biológico, exercido por parasitóides nativos e/ou exóticos, os últimos introduzidos da Ásia e Austrália (Lourenção et al., 1994).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa relacionada à bioecologia do minador-dos-citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856, foi desenvolvida nos laboratórios e casa-de-vegetação do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP). O estudo relacionado ao papel do inseto na disseminação da bactéria do cancro cítrico, *Xanthomonas axonopodis* pv *citri* foi conduzido na Estação Experimental do Instituto Biológico de SP, no município de Presidente Prudente, SP.

3.1 Criação de manutenção de *P. citrella*

3.1.1 Em laboratório

A criação em laboratório foi iniciada utilizando-se como hospedeiro de *P. citrella*, plantas de limão-cravo (*Citrus limonia* L. Osbeck) com 25 a 30 cm de altura, cultivadas em “tubetes” plásticos pretos de 20 cm de altura por 1,5 cm de diâmetro, contendo substrato de vermiculita e composto vegetal (1:1)

As plantas eram mantidas em grades de metal com capacidade para 40 plantas. Dependendo da demanda da criação, as plantas eram podadas a, aproximadamente, 1/3 do ápice (Figura 1E e 1A), e adubadas convenientemente com Miracle-Gro® (15-30-15 de NPK, além dos micronutrientes boro, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco). O conjunto (plantas apoiadas em grades) era colocado no interior de bandejas plásticas com dimensões de 35 x 40 x 8 cm, ou similar,

contendo uma solução nutritiva composta de dois gramas do adubo, para dois litros de água, e, mantido em câmaras climatizadas (BOD) ou sobre prateleiras metálicas, em sala de criação, à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas (Figura 2). Após 15 a 17 dias, as plantas, apresentando brotações novas (Figura 1B), eram transferidas para gaiolas de postura com capacidade média para 120 plantas (em tubetes), confeccionadas de madeira ou alumínio (dimensões de 60 x 60 x 50 cm), com tela de $\leq 0,5$ mm de malha nas laterais, fundo e teto. A parte frontal das mesmas era confeccionada com vidro transparente com uma abertura de 25 cm de diâmetro, à qual prendia-se uma manga de tecido fino do tipo “voil” de modo a possibilitar o manuseio das plantas no seu interior (Figura 1C). As plantas eram expostas à postura por, no máximo, três dias, obedecendo a uma proporção de um adulto para cada três plantas (1:3) no interior das gaiolas. Após este período, as plantas com postura, eram colocadas em prateleiras de metal na sala de criação, por um período de 15 dias, até próximo à emergência dos adultos (Figuras 1D e 2).

As folhas contendo as pupas de *P. citrella* (Figura 1E) eram cortadas com tesoura, e em seguida, dispostas no interior de câmaras de emergência até a obtenção dos adultos. As câmaras de emergência eram constituídas de recipientes plásticos (dimensões de 18 x 30 x 6 cm), com tampa, providas de 3 a 4 aberturas circulares de 2,5 cm de diâmetro, com tela de náilon e/ou “voil,” para permitir a troca de ar, evitar condensação e impedir a fuga dos adultos (Figura 1F). A base das mesmas era forrada com esponja plástica de 1 cm de espessura, levemente umedecida, sobre a qual, eram depositadas de uma a duas camadas de folhas contendo pupas de cinco a seis dias de idade (câmaras pupais de coloração amarelo-castanho). Nessas condições, as folhas mantiveram-se túrgidas por um período de até sete dias, nas mesmas condições ambientais descritas anteriormente. Os adultos eram alimentados com gotículas de mel de abelha puro distribuído nas paredes dos recipientes plásticos. Os insetos eram coletados das câmaras com auxílio de tubos de vidro de 4,0 x 0,8 cm de diâmetro, para posterior liberação no interior das gaiolas de postura, a intervalos de sete dias.

Esta seqüência de criação (Figura 1) permitiu o fornecimento contínuo de insetos durante as diversas etapas do presente trabalho.

3.1.2 Em telado

Populações de *P. citrella* foram mantidas durante todo o desenvolvimento da pesquisa, em 150 mudas, medindo aproximadamente um metro de altura, de diferentes variedades comerciais de citros, cultivadas em vasos no interior de telado, sem controle do ambiente.

Nessas condições, as plantas eram podadas e adubadas com NPK, periodicamente, na formulação 15-30-15, a fim de manter uma regularidade na emissão de novas brotações. Tão logo as plantas apresentavam folhas novas e tenras, as mesmas eram infestadas por adultos de *P. citrella*, provenientes de pomares adjacentes, uma vez que a tela do local (telado de 5 x 20m) permitia a passagem dos mesmos e/ou, por infestações artificiais através de liberações de adultos do minador-dos-citros oriundos da criação de manutenção em laboratório. Dessa forma, foi possível atender à demanda experimental durante todo o desenvolvimento dos trabalhos, suprimindo, quando necessário, a criação de manutenção de laboratório (3.1.1).

Figura 1. Etapas da criação estoque de *P. citrella* em laboratório.

Figura 2. Plantas de limão-cravo, em tubetes, infestadas com *P. citrella* (A), dispostas no interior de bandejas (B), contendo solução nutritiva, e acondicionadas sobre prateleiras metálicas (C) em sala de criação. Temperatura: $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10\%$ e fotofase: 14 h.

3.2 Bioecologia de *P. citrella*

3.2.1 Biologia em diferentes temperaturas e determinação das exigências térmicas, visando a avaliação teórica do número de gerações em 5 regiões do Estado de São Paulo

Inicialmente, estudou-se o efeito da temperatura sobre as durações das fases de ovo, lagarta e pupa, bem como as respectivas viabilidades. Os insetos foram criados em folhas tenras de plantas de limão-cravo, mantidas em “tubetes” plásticos pretos apoiadas em grades de metal (3.1.1) e acondicionadas em câmaras climatizadas (BOD), reguladas a 18, 20, 22, 25, 28, 30 e $32 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, considerando-se as sete temperaturas como tratamentos, sendo cada indivíduo uma repetição, num total de 50 repetições (ovos) por temperatura, distribuídos em um número variável de plantas. As posturas foram obtidas de casais confinados nas gaiolas de postura (3.1.1), ou diretamente em casa-de-vegetação. As folhas, contendo número variável de ovos do dia, eram marcadas com uma etiqueta adesiva de papel, presa ao pecíolo, contendo informações relativas à repetição, número de ovos e posição do ovo na folha, a qual foi dividida visualmente, em três partes, ou seja, terço apical, mediano, e basal, registrando-se se os ovos encontravam-se nas nervuras, ou fora delas, e se estavam na superfície adaxial ou abaxial (Figura 11). As observações foram realizadas duas vezes ao dia (pela manhã e no final da tarde), registrando-se a eclosão das lagartas, pupação e/ou emergência dos adultos.

Para a determinação das exigências térmicas de *P. citrella*, avaliou-se o efeito das diferentes temperaturas (as mesmas utilizadas no ensaio de biologia) sobre o desenvolvimento do período ovo-adulto do inseto. Os insetos foram obtidos, seguindo procedimento semelhante ao adotado no experimento anterior. Utilizou-se o mesmo delineamento experimental, com quatro repetições. Cada repetição foi constituída de quatro grupos de dez plantas, contendo, no total, 20 ovos de *P. citrella*. As plantas

foram dispostas no interior das câmaras climatizadas, reguladas de modo análogo ao primeiro experimento, não havendo manipulação, até dois a três dias após a pupação (mediante observação visual das folhas infestadas no interior das câmaras climatizadas), sendo registrada, a partir daí, a emergência diária de *P. citrella* nas diferentes condições térmicas.

Obtidas as durações do período ovo-adulto, foram determinados os limites térmicos inferiores de desenvolvimento (temperaturas bases, T_b) e as constantes térmicas (K) para machos e fêmeas desse inseto, através do método da hipérbole (Haddad & Parra, 1984),

Os valores das durações e viabilidades das fases imaturas e do período ovo-adulto do minador-dos-citros, obtidos nas diferentes temperaturas, foram submetidos à análise da variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tomando-se como base o limite térmico inferior de desenvolvimento (T_b) e a constante térmica (K) para o período ovo-adulto de *P. citrella*, estabeleceu-se, o número provável de gerações para os municípios de Limeira, Araraquara, Barretos, Bebedouro e São José do Rio Preto, os quais representam as principais regiões da citricultura paulista.

Considerando-se a presença de brotações novas como um dos requisitos básicos para o desenvolvimento do minador-dos-citros, o número de gerações foi determinado, baseando-se em Parra (1985), para o período compreendido entre setembro a abril, uma vez que, durante esses meses, concentram-se os maiores fluxos dessas estruturas nas plantas cítricas nas regiões Norte, Sul, Noroeste e Centro do Estado (Roberto, 1998), em decorrência, entre outros fatores físicos, do balanço hídrico favorável no período (Rolim et al., 1998).

3.2.2 Determinação do número de ínstaes

Para a determinação do número de ínstaes, foram selecionadas 20 plantas com brotações novas contendo posturas de *P. citrella*. As posturas foram obtidas de modo semelhante ao descrito em 3.1.1, sendo as plantas, acondicionadas em câmara climatizada regulada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14. A partir da eclosão, as plantas, apresentando número variável de folhas, com um total de 80 lagartas, eram observadas sob microscópio estereoscópico, identificando-se, por transparência, no interior das galerias, a presença de cápsulas cefálicas. As observações eram realizadas duas vezes ao dia, registrando-se as datas das ecdises. O acompanhamento do desenvolvimento das lagartas se deu até pupação.

3.2.3 Influência da alternância de temperaturas, nas fases imaturas e adulta, sobre a fecundidade de *P. citrella*

Para o presente estudo, câmaras climatizadas foram reguladas a 18, 25 e $30 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ de U.R. e fotofase de 14h. Foram programadas diferentes combinações de temperaturas (Tabela 1), com o objetivo de se determinar a melhor associação térmica para o desenvolvimento das fases imaturas e adulta, visando a produção massal de *P. citrella*. As fases imaturas do minador-dos-citros foram mantidas nas referidas câmaras, em função do tratamento, adotando-se a metodologia utilizada no estudo de biologia (3.2.1). Como o objetivo era obtenção de adultos recém-emergidos, as plantas em tubetes, em número variável (60 a 80), foram colocados em cada câmara, até próximo à emergência (período estabelecido em 3.2.1 para cada temperatura), ocasião em que, eram podadas, sendo as folhas com pupas, transferidas para câmaras de emergência (Figura 1F). Parte dos adultos era mantido na mesma câmara, e, parte transferido para recipientes mantidos nas duas outras temperaturas (Tabela 1).

Tabela 1. Combinações de temperaturas utilizadas para criação das fases imaturas e adulta de *P. citrella*.

TRATAMENTO	TEMPERATURA (°c)	
	FASE IMATURA	FASE ADULTA
A	18	18
B	18	25
C	18	30
D	25	18
E	25	25
F	25	30
G	30	18
H	30	25
I	30	30

Após a emergência, os adultos foram separados em 20 casais (repetições), sendo a separação dos sexos feita com base na observação da parte terminal do abdome, visualizando-se, ventralmente, o lóbulo do ovipositor e duas manchas escuras laterais, localizadas no sétimo segmento abdominal das fêmeas, observados em microscópio estereoscópico (Jacas & Garrido, 1996) (Figura 3).

Figura 3. Parte terminal do abdome de macho e fêmea de *P. citrella*, com detalhes, na fêmea, do lóbulo do ovipositor (a) e da faixa de escamas pretas no pigídio (b).

Estes casais foram colocados isoladamente, em gaiolas de material plástico transparente, medindo 22 cm de altura por 10 cm de diâmetro, revestida na extremidade superior com “voil,” a fim de permitir a aeração. Foram colocadas gotículas de mel de abelha puro, nas paredes internas das gaiolas, para alimentação dos adultos. Tais gaiolas foram fixadas sobre uma base de isopor de 12 x 12 cm, a qual, tinha uma perfuração na parte central, que servia como suporte das gaiolas e dos tubetes contendo plantas de limão-cravo com folhas tenras (Figura 4A).

As posturas eram contadas a cada 48 h, retirando-se, inicialmente, os casais do interior das gaiolas com auxílio de tubos de vidro (0,8 x 2,5 cm). Os ovos presentes nas folhas eram contados sob microscópio estereoscópico, ocasião em que as

plantas eram substituídas. Além da fecundidade, determinaram-se o período de pré-oviposição e longevidades médias do macho e da fêmea.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com nove tratamentos e 20 repetições, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 4 Gaiolas plásticas utilizadas para avaliação da fecundidade de *P. citrella* em diferentes combinações térmicas e no estudo com a bactéria do cancro (3.4.1) (A) e, modificadas (B), para avaliação da fecundidade e longevidade em baixas UR (30 e 50%), com anel plástico de PVC para fixação do “voil”(B₁), “voil” (B₂) e janelas (B₃).

3.2.4 Efeito da umidade relativa sobre ovos e adultos de *P.citrella*

A fecundidade de *P. citrella* foi avaliada nas umidades de 30 ± 5 , 50 ± 5 , 70 ± 5 e $90 \pm 5\%$, ajustadas no interior de câmaras climatizadas, mantendo-se constantes as condições de temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), e fotofase de 14 horas.

Foram mantidos 20 casais em gaiolas de postura, adotando-se procedimentos de manipulação dos insetos e plantas, semelhantes aos descritos em 3.2.3., sendo os adultos, obtidos de indivíduos criados à 25°C , durante suas fases imaturas. Nos tratamentos envolvendo as umidades relativas de 30 ± 5 , e $50 \pm 5\%$, foram utilizadas gaiolas modificadas, medindo 18 cm de altura por 10 cm de diâmetro, com abertura maior na parte superior, revestidas com tecido de “voil”, fixado às mesmas com um anel de plástico de PVC rígido. Lateralmente, foram abertas duas “janelas” com dimensões de 4 x 10 cm, a fim de permitir maior aeração e, conseqüentemente, evitar condensação no interior das mesmas (Figura 4B).

A cada dois dias, foram realizadas troca das plantas e observações das posturas, avaliando-se o número de ovos por fêmea em cada umidade, viabilidade de todos os ovos obtidos, bem como o período de pré-oviposição e as longevidades médias de machos e fêmeas de *P. citrella*. Os procedimentos para tais observações biológicas foram análogas à 3.2.3.

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado com quatro tratamentos e vinte repetições. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

3.2.5 Características da postura de *P. citrella*

3.2.5.1 Distribuição espacial dos ovos

Plantas de limão cravo, mantidas em tubetes, e contendo folhas tenras, foram expostas, em telado de 5 x 20m, sem controle de temperatura, umidade relativa e luz, a um número não controlado de adultos de *P. citrella*, durante 48h. A seguir, 350 folhas novas foram examinadas, segundo procedimento adotado em 3.2.1, para tentar definir o local preferencial de postura do minador-dos-citros. Os dados obtidos foram representados graficamente em forma de percentagem.

3.2.5.2 Efeito do tamanho de folhas na postura

As 350 folhas, avaliadas no experimento 3.2.5.1, foram medidas com auxílio de um paquímetro e agrupadas em diferentes classes, com o objetivo de estabelecer uma possível relação entre comprimento foliar e a oviposição de *P. citrella*. Foram consideradas as seguintes classes: A- folhas com $\leq 0,5$ cm; B- 0,6 a 1,0; C- 1,1 a 1,5; D- 1,6 a 2,0; E- 2,1 a 2,5; F- 2,6 a 3,0; e, G- folhas $> 3,0$ cm de comprimento. O percentual obtido em cada classe foi representado graficamente.

3.3 Papel do minador-dos-citros na disseminação da bactéria do cancro cítrico, *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*

Utilizaram-se plantas de laranja caipira (*Citrus sinensis* L. Osbeck) com 20 a 25 cm de altura, como hospedeiro de *P. citrella*, cultivadas em tubetes, segundo procedimento adotado em 3.1.1.

3.3.1 Efeito de lesões da lagarta minadora na infecção por *X. axonopodis* pv *citri*

Após 15 a 20 dias da poda, as plantas com aproximadamente 20 a 25 cm de altura apresentando brotações novas, foram oferecidas para postura no interior de gaiolas com casais de *P. citrella*, por um período não superior a dois dias (3.1.1).

Uma vez constatadas as posturas, as plantas eram transferidas para câmaras climatizadas reguladas a diferentes temperaturas (vide exigências térmicas, 3.2.1). Dessa maneira, em função do desenvolvimento diferencial do inseto em função da temperatura, foi possível a obtenção, simultaneamente, de insetos em diferentes estágios de desenvolvimento. Assim, as plantas apresentando folhas novas (brotações) com lagartas de diferentes idades ou pupas, foram pulverizadas (inoculadas) com uma suspensão de células de *X. axonopodis* pv *citri* na concentração de 10^5 a 10^6 unidades formadoras de colônias (ufc)/ml, obtida da maceração de folhas contaminadas de plantas cítricas, no pomar da Estação Experimental do Instituto Biológico de Presidente Prudente, SP.

Foram avaliados seis tratamentos com 20 repetições (20 plantas com 4 folhas inoculadas com a bactéria), quais sejam:

- A- Testemunha 1 (folhas não atacadas, pulverizadas com água destilada);
- B- Testemunha 2 (folhas não atacadas e inoculadas);
- C- Folhas inoculadas, infestadas com lagartas de 2 dias;
- D- Folhas inoculadas, infestadas com lagartas de 4 dias;
- E- Folhas inoculadas, contendo pupa(s);
- F- Folhas maduras lesionadas com abrasivo (carborundo) e inoculadas.

As plantas foram transferidas para o interior de gaiolas plásticas, adotando-se procedimento semelhante ao descrito em 3.2.3 (Figura 4B), e mantidas em sala de criação regulada a 28 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 14 h.

O conjunto, formado pelas plantas e gaiolas, foi separado por tratamento, apoiado em grades de metal e colocado no interior de bandejas plásticas (3.1.1), contendo água, para manter as plantas túrgidas, bem como, proporcionar uma umidade próximo a 80% no ambiente.

As avaliações foram realizadas aos sete e 14 dias a partir da instalação do experimento, sendo registradas nas quatro primeiras folhas do terço superior de cada planta, a presença e ausência de lesões de *X. axonopodis* pv *citri*.

3.3.2 Avaliação da transmissão da bactéria por adultos de *P. citrella*

O experimento foi realizado no sentido de se avaliar a possibilidade de aquisição do fitopatógeno por adultos do minador. Assim, adultos recém-emergidos de plantas sadias foram separados em casais de modo a constituírem os seguintes tratamentos, com 20 repetições:

- A- Casais confinados em placas de Petri contendo cultura da bactéria *X. axonopodis pv citri*;
- B- Casais em tubos de vidro (2,5 x 8,5 cm), vedados com filme plástico de PVC (Magipack®), pulverizados no seu interior com uma suspensão da bactéria na mesma concentração utilizada em 3.4.1;
- C- Casais oriundos de tubos de vidro contendo folhas com lesões da bactéria;
- D- Testemunha: Casais provenientes de plantas não infectadas e transferidos diretamente para tubos com meio de cultura estéril.

Após o período de 24h em contato com colônias da bactéria, seja nas folhas ou confinados em placas de Petri ou tubos de vidro, os casais foram transferidos para o interior de outros tubos , contendo meio de cultura em quantidade correspondente a $\frac{1}{4}$ do seu volume total e sob as mesmas condições do ambiente utilizadas em 3.4.1. Os tubos eram dispostos em posição inclinada (aproximadamente 45°), de modo a proporcionar, após geleificação, maior superfície de contato aos insetos (supostamente contaminados), com o meio apropriado ao desenvolvimento da bactéria.

As observações sobre o possível desenvolvimento de colônias de *X. axonopodis pv citri* em meio de cultura (formação de pústulas), foram realizadas através de observações visuais, para, em caso positivo, serem feitas contagens das colônias, até o sétimo dia da aplicação dos tratamentos.

Para todos os experimentos adotou-se um delineamento estatístico inteiramente casualizado. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Biologia em diferentes temperaturas e determinação das exigências térmicas, visando a avaliação teórica do número de gerações de *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856, em 5 regiões do Estado de São Paulo

4.1.1 Período embrionário: duração e viabilidade

O período de incubação do minador foi influenciado pelas diferentes temperaturas nas quais os ovos foram mantidos (Tabela 2). A duração da fase de ovo variou de 1,38 (30°C) a 3,95 dias (20°C), sendo, no geral, decrescente com a elevação térmica na faixa estudada.

As diferenças dos períodos embrionários, obtidos nas diferentes temperaturas, não foram muito grandes, mas ficou claro que a faixa mais adequada ao desenvolvimento da fase de ovo está entre 20 e 30°C, pois no extremo inferior, os valores foram diferentes entre 18 e 20°C com uma tendência de encurtamento do período a 18°C, o que não era de se esperar. Por outro lado, no extremo superior, houve uma tendência de alongamento a 32°C, embora os valores obtidos a 30 e 32°C não tenham diferido estatisticamente entre si. Na faixa considerada favorável para insetos tropicais, entre 25 e 28°C, não houve diferença do desenvolvimento embrionário. A 30°C, houve uma acentuada redução do período de incubação (Tabela 2).

Os valores obtidos encontram-se próximos aos períodos de incubação observados por Ba-Angood (1977) e Wilson (1991), os quais determinaram valores

entre 2 a 6 dias sob condições térmicas variáveis de 7,3 a 38°C. Os dados obtidos nas temperaturas mais elevadas, estão bem próximos de 1,23 dias determinados por Batra et al. (1988) à temperatura média de 31,5°C. Entretanto, o período de 2,78 dias observado pelo autor na temperatura média de 10,2°C, situa-se bem abaixo daqueles obtidos à 18 e 20°C, sendo realmente discrepantes dos resultados obtidos na presente pesquisa.

Ba-Angood (1978) relatou períodos médios de incubação de 9,5; 7,5; 5,2 e 3,5 dias, quando os insetos foram criados nas temperaturas médias de 20, 25, 30, e 35°C, respectivamente, valores esses bem superiores aos encontrados na presente pesquisa.

As razões para explicar as diferenças apresentadas entre os resultados citados, dizem respeito, provavelmente, ao efeito das diferentes condições térmicas em que aqueles trabalhos foram conduzidos e também, à provável influência negativa do ressecamento das folhas, uma vez que naqueles trabalhos, o período de incubação foi determinado de ovos mantidos sobre folhas destacadas das plantas e acondicionadas no interior de placas de Petri. Deve-se também levar em conta, nos diferentes trabalhos, a origem dos “strains” de *P. citrella*, que podem ter afetado os resultados.

A viabilidade média dos ovos do minador-dos-citros variou de 95,40 (32°C) a 100% (28°C), não registrando-se contudo, diferenças estatísticas entre os valores encontrados nas diferentes temperaturas avaliadas. De forma análoga ao que fora observado para a duração do período de incubação, também para a viabilidade, a faixa térmica de 20 a 30°C, demonstrou ser a mais favorável ao inseto, pois nos extremos, houve uma tendência de diminuição destes valores (Tabela 3).

4.1.2 Estágios larval e pupal: duração e viabilidade

A duração da fase larval do minador-dos-citros também foi bastante influenciada pela temperatura (Tabela 2). Observaram-se valores decrescentes na faixa de temperatura avaliada, com durações médias variáveis de 11,28 (18°C) a 3,55 dias quando criados à 32°C. Neste caso, constata-se que os menores períodos foram observados entre 28 e 32°C, especialmente na temperatura mais elevada.

Os valores encontrados neste trabalho são, no geral, menores do que os relatados por Ba-Angood (1977; 1978), Batra et al.(1988) e Wilson (1991). No trabalho do primeiro, em 1977, as observações foram feitas em laboratório com grande amplitude térmica (13,3-36,4; 7,3-33,8 e 11,7-38,0 °C), e as durações médias obtidas foram de 8,4; 7,9 e 7,3 dias, respectivamente. Entretanto, sob condições térmicas controladas de 20, 25, 30, e 35°C, os valores médios relatados por Ba-Angood (1978) foram de 18,5; 15,6; 12,5 e 10,4 dias, também muito superiores aos obtidos no presente trabalho.

Batra et al. (1988) e Wilson (1991) também obtiveram durações da fase larval de *P. citrella*, respectivamente, de 5,35 e 6 dias, nas temperaturas médias de 31,5 e 33°C, valores muito superiores aos 3,55 dias obtidos neste trabalho, à temperatura de 32°C (Tabela 2).

A viabilidade larval também não foi afetada pela temperatura, registrando-se em todas as condições, percentuais iguais ou superiores a 96% (Tabela 3).

A exemplo dos períodos de incubação e larval, a duração da fase de pupa do minador-dos-citros foi muito influenciada pela temperatura, sendo decrescente com a elevação térmica. Foram registradas durações médias de 18,08 dias à temperatura de 18°C e 6,38 dias na condição mais elevada (32°C), observando-se diferenças estatísticas entre os valores alcançados em todas as temperaturas. Neste caso, à semelhança da fase larval, a melhor condição térmica, foi, portanto, a de 32°C, aliado ao fator de ter-se obtido, viabilidade bastante elevada nesta temperatura. A viabilidade pupal foi, à semelhança das viabilidades das fases de ovo e de lagarta, elevada em todas as condições térmicas estudadas (Tabela 3).

Tabela 2. Duração (dias) dos estágios de ovo, lagarta e pupa de *P. citrella* em diferentes temperaturas. UR: $60 \pm 10\%$; Fotofase: 14 h.

TEMPERATURA (°C)	OVO	LAGARTA	PUPA
18	$3,40 \pm 0,18$ a	$11,28 \pm 0,18$ a	$18,08 \pm 0,16$ a
20	$3,95 \pm 0,03$ b	$8,83 \pm 0,10$ b	$14,20 \pm 0,13$ b
22	$2,93 \pm 0,06$ c	$7,03 \pm 0,12$ c	$10,53 \pm 0,09$ c
25	$2,10 \pm 0,05$ d	$6,33 \pm 0,15$ d	$8,08 \pm 0,10$ d
28	$2,05 \pm 0,03$ d	$4,20 \pm 0,06$ e	$7,73 \pm 0,13$ e
30	$1,30 \pm 0,07$ e	$4,03 \pm 0,10$ e	$6,73 \pm 0,08$ f
32	$1,38 \pm 0,08$ e	$3,55 \pm 0,09$ f	$6,38 \pm 0,10$ g

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

. Dados transformados para $1/X$.

Confrontando-se os resultados da fase pupal com aqueles apresentados na literatura, constatou-se que as durações de 8,08 e 10,53 dias registradas no intervalo térmico de 22 a 25°C, estão próximas aos valores determinados por Ba-Angood (1977), em condições de grande amplitude térmica. Por outro lado, os períodos pupais, observados entre 30 (6,73 dias) e 32°C (6,38 dias) (Tabela 2), assemelham-se aos relatados por Batra et al. (1988) e Wilson (1991), ou seja, 5,94 e 7 dias, obtidos à 31,5 e 33°C, respectivamente.

Tabela 3. Viabilidade (%) dos estágios de ovo, lagarta e pupa de *P. citrella* em diferentes temperaturas. UR: $60 \pm 10\%$; Fotofase: 14 h.

TEMPERATURA (°C)	OVO	LAGARTA	PUPA
18	96,54	96,00	96,50
20	97,30	98,34	96,45
22	96,76	98,00	96,80
25	97,52	97,44	97,00
28	100,00	95,70	98,00
30	98,20	96,00	97,60
32	95,40	98,40	97,56

. Médias não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

. Valores transformados para X^2 .

As variações encontradas entre os resultados obtidos na presente pesquisa e os registrados na literatura, podem ser atribuídos às diferentes metodologias utilizadas, como mencionado anteriormente, desde que a técnica utilizada pela maioria dos autores, criando os insetos em folhas destacadas, altera a consistência dessas estruturas, quantidade de água e fluxo de nutrientes, levando à variação nos resultados. Por outro lado, os trabalhos não se referem à variedade de laranja na qual foi realizada a pesquisa; geralmente são misturas de variedades que podem também levar a resultados discrepantes. E por último, talvez a mais importante das causas, é que os autores trabalharam com temperaturas flutuantes ou em faixas térmicas menos abrangentes.

De qualquer forma, na presente pesquisa, ficou claro que a melhor condição térmica para a fase de ovo de *P. citrella* é a de 30°C e para as fases larval e pupal, a de 32°C (Tabela 2). É evidente que é necessário que seja feita uma ressalva, desde que a pesquisa foi conduzida por uma única geração, e o estresse provocado pela temperatura elevada no processo metabólico do inseto, (no caso, 32°C), poderá levar, ao longo das gerações, a uma queda na performance do mesmo, sugerindo-se desta forma, pesquisas nesta direção.

Entretanto, as altas viabilidades obtidas, e o curto período de tempo registrado para uma geração a 30-32°C, dão uma idéia do potencial deste inseto como praga de citros (Figura 5).

Figura 5. Duração e viabilidade totais das fases imaturas (somatório das fases de ovo, larva e pupa) de *P. citrella* em diferentes temperaturas. UR: $60 \pm 10\%$; Fotofase: 14 h.

4.2 Determinação do número de ínstaes

Foram observados quatro ínstaes larvais para a espécie *P. citrella* (Tabela 4).

O número de ínstaes é o mesmo relatado por Sabine (1971) e Ba-Angood (1977), discordando entretanto, da indicação de três ínstaes para a espécie, apresentada por Badawy (1967) e Wilson (1991). O valor determinado pelos dois últimos autores é subestimado em razão, provavelmente, de equívoco na análise dos resultados, visto que, apesar de apresentarem as dimensões correspondentes a três cápsulas cefálicas, os autores consideraram o quarto ínstar larval, como sendo o período de pré-pupa. A curta duração do 4º ínstar (Tabela 4) pode também ter levado os autores a este equívoco.

Tabela 4. Número de ínstaes e respectivas durações, de *P. citrella*. Temperatura: $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10\%$; Fotofase: 14 h

ÍNSTARES	N*	DURAÇÃO (DIAS)
I	80	$1,51 \pm 0,23$ a
II	80	$1,73 \pm 0,29$ a
III	80	$1,56 \pm 0,19$ a
IV	80	$0,80 \pm 0,09$ b

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

* número de indivíduos observados.

4.3 Exigências térmicas de *P. citrella*

As durações do período ovo-adulto de *P. citrella* variaram de 32,58 a 11,53 dias nas temperaturas de 18 e 32°C, respectivamente. Os valores obtidos decresceram nesta faixa, sendo os mesmos diferentes estatisticamente entre si (Tabela 5). Estes valores foram muito próximos àqueles obtidos quando as fases foram consideradas isoladamente (somatório das durações das fases de ovo, lagarta e pupa) (Figura 5). As pequenas variações existentes, foram devido, provavelmente, às diferenças nas metodologias utilizadas, principalmente de manipulação, quando as observações foram realizadas isoladamente por fase (4.1). Entretanto as viabilidades do período ovo-adulto foram inferiores àquelas registradas quando as fases foram estudadas isoladamente em cada temperatura. Naquele experimento, as viabilidades totais sempre foram superiores a 89% (Figura 5), enquanto no presente, a viabilidade chegou a 67,14% quando o período ovo-adulto foi avaliado na temperatura de 32°C. Trata-se de uma diferença de 28,57% entre a viabilidade obtida a 32 e a de 18°C (Tabela 5). A explicação para esta redução só pode estar ligada ao fato de tratarem-se de populações criadas por gerações sucessivas a 32°C e que, como consequência, apresentaram um estresse, fruto da maior atividade metabólica, levando a uma degeneração da população, conforme mencionado em 4.1.2.

A metodologia de criação desenvolvida foi satisfatória e poderá ser utilizada para produção de inimigos naturais em programas de controle biológico clássico ou aplicado, uma vez que é possível sincronizar as produções da praga e inimigo(s) natural(is), lançando-se mão das variações das temperaturas, como meio de controle do desenvolvimento do hospedeiro, sabendo-se que, dependendo da condição térmica, o ciclo do mesmo pode variar em até 3 semanas (Tabela 5 e Figura 5). Pequenas variações e/ou adaptações poderão ser realizadas na metodologia, em função do estágio da praga que o parasitóide ataca(ovo, larva e/ou pupa).

Tabela 5. Duração média e viabilidade do ciclo total (ovo-adulto) de *P. citrella* em plantas de limão-cravo em diferentes temperaturas. UR: $60 \pm 10\%$; Fotofase: 14h.

TEMPERATURA (°C)	DURAÇÃO ¹ (dias)	VIABILIDADE ² (%)
18	$32,58 \pm 0,23$ a	$95,71 \pm 3,46$ a
20	$26,94 \pm 0,11$ b	$88,57 \pm 4,07$ ab
22	$20,40 \pm 0,08$ c	$85,71 \pm 5,20$ ab
25	$16,49 \pm 0,10$ d	$86,43 \pm 3,76$ ab
28	$14,18 \pm 0,13$ e	$91,43 \pm 2,84$ ab
30	$12,14 \pm 0,07$ f	$84,28 \pm 4,01$ ab
32	$11,53 \pm 0,10$ g	$67,14 \pm 5,23$ b

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

. ¹ Dados transformados para $1/X$.

. ² Dados transformados para X^2 .

Os valores das temperaturas bases (limite térmico inferior de desenvolvimento, T_b) e constantes térmicas (K) obtidos foram de $10,4^\circ\text{C}$ e 246,8 graus-dia (GD) para machos, e de $10,7^\circ\text{C}$ e 239,8 GD para fêmeas de *P. citrella* com coeficientes de determinação (R^2) de 99,09 e 99,50 respectivamente, dados que conferem confiabilidade aos resultados. Fica também evidenciado o comportamento similar de ambos os sexos, com relação à temperatura (Figura 6).

Figura 6. Curva de velocidade de desenvolvimento (ovo-adulto) de *P. citrella* criado em limão-cravo, em diferentes temperaturas. UR: $60 \pm 10\%$; fotofase; 14h.

Com base nestas exigências térmicas e nas normais térmicas das 5 regiões citrícolas consideradas, pôde-se estimar, para o período em que há brotação de *Citrus*, e que coincide com a época em que existem melhores condições para a ocorrência de *P. citrella* (setembro a abril) (Roberto, 1998), uma variação de 12,1 (Limeira) a 14,1 gerações (São José do Rio Preto) da praga (Figura 7). A constatação do período inicial de infestação do minador-dos-citros (em setembro), foi confirmada por Costa et al. (1998), que correlacionaram o aumento populacional da praga na região de Jaboticabal, SP (região central), ao início do período de chuvas e elevação da temperatura. Assim,

comparando-se estes valores com os dados da literatura (número variável de 5 a 13 gerações ao ano), apresentados por Clausen (1931), Pandey & Pandey (1964) e Huang et al. (1989a), para outros países, fica demonstrado o grande potencial de desenvolvimento dessa praga nos agroecossistemas brasileiros.

A análise macroclimática das 5 regiões (Araraquara, Barretos, Bebedouro, Limeira e São José do Rio Preto) revela que a umidade relativa não deverá ter tanta influência sobre o minador-dos-citros, desde que, no período de brotação, há excedente hídrico no solo (que favorece o fluxo de brotações) (Figura 7) e a umidade relativa é elevada (superior a 60% em todas as regiões) (Figura 8). No entanto, há de se considerar que o período e/ou intensidade do referido estágio fenológico (brotações), poderá variar também, em função da idade e vigor das plantas, variedade cultivada, espécie cítrica, bem como as condições microclimáticas locais.

Assim, levando-se em conta que o desenvolvimento de *P. citrella* depende muito da temperatura, a qual proporciona maior número de gerações nas regiões mais quentes (São José do Rio Preto, Barretos e Bebedouro) em relação a Araraquara e Limeira, é esperada uma evolução populacional mais acentuada nas três primeiras regiões, implicando em maiores danos diretos às folhas. Ressalta-se entretanto que, além do efeito da temperatura (e umidade), outros fatores (bióticos e/ou abióticos) poderão determinar a intensidade de dano do minador-dos-citros nos pomares dessas regiões. Tais fatores não são conhecidos, devido ao pouco tempo em que a praga foi introduzida no Brasil, principalmente no que diz respeito ao efeito da entomofauna benéfica presente sobre a evolução da praga nestas regiões, e, em outras áreas do Brasil.

Levando-se em consideração o maior potencial de dano de *P. citrella* nas regiões mais quentes e sua estreita relação com a bactéria do cancro cítrico, *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*, sugere-se atenção redobrada quanto à implementação de manejo da praga e de medidas preventivas capazes de impedir a introdução do cancro nas áreas livres da doença, uma vez que tais condições climáticas, são também muito favoráveis ao desenvolvimento desse fitopatógeno.

Figura 7. Balanço hídrico para as cinco regiões representativas da citricultura paulista, com respectivas médias de temperatura (normais climatológicas de temperatura) e número potencial de gerações no período de setembro a abril.

Figura 8. Médias das umidades relativas (normais climatológicas de umidade) em cinco regiões citrícolas do Estado de São Paulo.

4.4 Influência da alternância de temperaturas, nas fases imaturas e adulta, sobre a fecundidade de *P. citrella*

Os valores obtidos no experimento, correspondentes ao período de pré-oviposição do minador, variaram de 3,31, quando criado sempre a 25°C (tratamento E), a 7,20 dias quando criado à 18°C durante o ciclo todo (18-18°C) (tratamento A) (Tabela 6).

Excetuando-se o caso extremo, em que o inseto foi constantemente mantido a 18°C, o que levou a um aumento do período de pré-oviposição (Tabela 6), não houve influência da temperatura, na faixa estudada, sobre este parâmetro biológico.

Assim, pôde-se observar, de um modo geral, que o tempo exigido pelo minador-dos-citros para o início da oviposição independe da condição térmica sobre a qual os estágios imaturos desenvolveram-se. Isto pode ser comprovado, mesmo quando se observaram os valores obtidos nas condições de criação sob temperaturas extremas (18-30°C) e (30-18°C), nas quais, registraram-se durações bastante próximas. De um modo geral, quando o adulto foi mantido a 25°C, independente da temperatura em que as formas imaturas foram criadas, houve uma redução do período de pré-oviposição (Tabela 6 e Figura 9).

Tabela 6. Período de pré-oviposição, fecundidade e longevidade de machos e fêmeas de *P. citrella*, criado sob temperaturas alternantes, durante as fases imaturas e adulta. UR: $60 \pm 10\%$; Fotofase: 14 h.

TEMPERATURA (°C)	PRÉ-OVIPOSIÇÃO ¹ (dias)	FECUNDIDADE ² (ovos/fêmea)	LONGEVIDADE ¹ (dias)	
			Machos	Fêmeas
18-18	$7,20 \pm 0,58$ a	$22,93 \pm 2,77$ c	$19,92 \pm 1,57$ a	$22,41 \pm 2,26$ ab
18-25	$3,44 \pm 0,35$ b	$42,78 \pm 5,79$ abc	$10,35 \pm 0,54$ bc	$11,50 \pm 0,67$ d
18-30	$4,36 \pm 0,51$ b	$39,09 \pm 5,60$ abc	$6,60 \pm 0,88$ c	$8,30 \pm 0,74$ d
25-18	$4,41 \pm 0,47$ b	$61,18 \pm 6,48$ a	$20,31 \pm 2,11$ a	$25,94 \pm 1,41$ a
25-25	$3,31 \pm 0,30$ b	$62,47 \pm 4,41$ a	$10,79 \pm 0,79$ bc	$12,43 \pm 0,68$ cd
25-30	$5,17 \pm 0,64$ ab	$50,25 \pm 7,39$ ab	$9,18 \pm 0,92$ bc	$11,78 \pm 0,92$ cd
30-18	$5,20 \pm 0,57$ ab	$40,44 \pm 4,36$ abc	$12,71 \pm 1,33$ b	$17,36 \pm 1,52$ bc
30-25	$3,58 \pm 0,31$ b	$55,89 \pm 3,90$ ab	$11,15 \pm 0,96$ bc	$12,43 \pm 0,64$ cd
30-30	$3,67 \pm 0,46$ b	$36,83 \pm 3,61$ bc	$7,79 \pm 0,76$ bc	$9,00 \pm 0,69$ d

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

.¹ Dados transformados para $1/X$.

.² Dados transformados para $X^{1/2}$.

Mesmo considerando-se as diferentes condições térmicas nas quais os insetos foram criados, os resultados obtidos nesta pesquisa estão situados próximos do período de pré-oviposição (5 a 8 dias) relatado por Badawy (1967). Por outro lado, diferem daqueles relatados por Pandey & Pandey (1964), cujo período variou de 1 a 6 dias. As diferenças assinaladas podem ser atribuídas, provavelmente, à influência de condições bióticas e/ou abióticas nas quais esses trabalhos foram desenvolvidos, uma vez que as mesmas não foram mencionadas.

A fecundidade de *P. citrella* foi influenciada pela variação térmica exercida sobre as diferentes fases de desenvolvimento. O número médio de ovos variou de 22,96 (18-18°C) a 62,47 na temperatura de (25-25°C), o correspondente a 2,7 vezes mais ovos em relação à aquela temperatura. Os quatro menores valores de fecundidade (22,93, 36,83, 39,09 e 40,44 ovos), foram obtidos nos tratamentos envolvendo a combinação das temperaturas extremas (Tabela 6).

No geral, pode-se considerar que a capacidade de postura do minador-dos-citros foi favorecida pela condição térmica de 25°C, exercida, não somente sobre os adultos, mas também sobre suas fases imaturas, independente da combinação de temperaturas utilizada durante o desenvolvimento. Comportamento semelhante foi observado por Bianchi & Parra (1989) em estudo realizado com *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865), os quais também constataram ser a condição térmica de 25°C, a mais favorável à postura desta espécie, independente da temperatura, na qual, as fases imaturas desenvolveram-se. A condição térmica favorável observada neste trabalho, com o minador-dos-citros, coincidiu com as informações apresentadas, em estudo de campo, por Patel et al. (1994) e Bagmare et al. (1995), com espécies de minadores, onde foram observados incremento populacional do inseto nas condições térmicas próximas a 26°C.

É importante ressaltar que, as alterações bruscas de temperatura ocorridas na presente pesquisa, com a associação térmica de 18 e 30°C, muito embora tenham contribuído para uma considerável redução na fecundidade do minador em relação às obtidas de insetos criados à 25-18 e 25-25°C, não afetaram, significativamente, a fecundidade dessa espécie (Tabela 6 e Figura 9).

Os valores relativos à capacidade de postura do minador-dos-citros apresentados nesta pesquisa, situam-se dentro da faixa de fecundidade (7 a 108 ovos /fêmea) relatada por Pandey & Pandey (1964), Radke & Kandalkar (1987) e Huang et al. (1989a).

De modo semelhante ao constatado para o período de pré-oviposição, a longevidade do minador-dos-citros independeu da temperatura sobre a qual sua fase imatura foi criada. As longevidades (de machos e de fêmeas) decresceram com a elevação da temperatura e os adultos viveram cerca de 3 vezes menos, quando mantidos sob as condições de temperaturas mais elevadas (Figura 9), devido à sua maior atividade metabólica nessas condições. Este fato já foi registrado por Parra et al. (1991) para espécies de parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma*.

Comparando-se esses dados, com os valores variáveis de 1 a 7,5 e 1 a 22,5 dias relatados por Radke & Kandalkar (1987) e Huang et al., (1989b), respectivamente, pôde-se constatar que, mesmo as menores durações, observadas nas temperaturas mais elevadas, superaram os limites mínimos determinados por esses autores, indicando como provável causa dessas diferenças, as condições distintas de condução dos experimentos, e os “strains” de *P. citrella* envolvidos. Os dados indicam que a melhor condição térmica para manutenção de fases imaturas e adulta de *P. citrella*, visando a produção contínua do inseto em laboratório, é a de 25°C.

Figura 9. Períodos de pré-oviposição (Ppo), fecundidade (Fec) e longevidades de machos (LongM) e de fêmeas (LongF), obtidos em temperaturas alternadas durante as fases imaturas e adulta de *P. citrella*.

4.5 Efeito da umidade relativa na fecundidade e longevidade de *P. citrella*

O período de pré-oviposição não foi afetado pelas diferentes umidades relativas (UR), sendo exigidos aproximadamente, três dias para o início da oviposição (Tabela 7 e Figura 10).

Por outro lado, pôde-se constatar uma influência marcante da UR sobre a fecundidade de *P. citrella*, visto que, as fêmeas mantidas a 30% de UR, foram 4,2 vezes menos fecundas do que aquelas criadas sob a umidade relativa de 70%, as quais

apresentaram um potencial médio de postura de 90,5 ovos, valor significativamente superior às demais UR.

A fecundidade foi crescente com a elevação da UR até 70% (Tabela 7). Altas UR (90%) afetaram a capacidade de postura, que retornou, nesta condição, aos níveis obtidos a 50% (Figura 10). Estes resultados não coincidem com os relatos de Patel et al. (1994) e Bagmare et al. (1995), cujo incremento populacional da praga em campo foi atribuído, entre outros fatores abióticos, à elevação da umidade (próxima a 90%).

A viabilidade dos ovos, embora ainda elevada, foi menor a 30% de UR (Tabela 7 e Figura 10). Na faixa de 50 a 90%, a mortalidade de embriões foi inferior a 10%. A alta viabilidade obtida a 30%, mostra que os ovos de *P. citrella* são muito resistentes à dessecação.

Tabela 7. Período de pré-oviposição, fecundidade, viabilidade de ovos e longevidade de machos e fêmeas de *P. citrella* em diferentes unidades relativas. Temperatura: $25 \pm 1^\circ\text{C}$; Fotofase: 14 h.

UNIDADE (%)	PRÉ-OVIPOSIÇÃO ¹ (dias)	FECUNDIDADE ² (ovos/fêmea)	VIABILIDADE DE OVOS ³ (%)	LONGEVIDADE ¹ (dias)	
				Machos	Fêmeas
30	$3,00 \pm 0,13$ a	$21,35 \pm 3,10$ a	$78,30 \pm 5,76$ a	$3,47 \pm 0,39$ a	$4,67 \pm 0,40$ a
50	$3,21 \pm 0,30$ a	$58,65 \pm 3,40$ b	$91,91 \pm 2,50$ b	$8,70 \pm 0,57$ b	$10,75 \pm 0,62$ b
70	$2,84 \pm 0,24$ a	$90,53 \pm 8,61$ c	$90,35 \pm 3,07$ b	$12,39 \pm 1,07$ c	$14,74 \pm 1,09$ c
90	$3,21 \pm 0,33$ a	$53,65 \pm 4,11$ b	$93,95 \pm 2,29$ b	$10,18 \pm 1,14$ ab	$10,35 \pm 0,96$ b

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

. ¹ Dados transformados para $1/X$.

. ² Dados transformados para $X^{1/2}$.

. ³ Dados transformados para X^2 .

A longevidade de machos e fêmeas também foi menor na menor UR (30%), pois nesta condição eles viveram de 2 a 3 vezes menos em relação àqueles criados em UR mais elevadas. Mais uma vez ficou demonstrada que a UR de 70% é a mais adequada ao inseto (Tabela 7 e Figura 10). Garcia (1998) encontrou uma estreita correlação entre o aumento de UR e a capacidade de postura do bicho furão dos citros, *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927), bem como uma relação direta com a longevidade. Neste caso, as umidades de 90% favoreceram o inseto, aumentando a sua postura e longevidade.

Figura 10. Período de pré-oviposição (Ppo), fecundidade (Fec), viabilidade de ovos (Viab) e longevidades de machos (LongM) e de Fêmeas (LongF) de *P. citrella* obtidos em diferentes UR. Temperatura: $25 \pm 1^\circ\text{C}$; Fotofase: 14h.

4.6 Características de postura de *P. citrella*

4.6.1 Distribuição espacial dos ovos

O minador-dos-citros colocou seus ovos em ambas as superfícies das folhas, registrando-se entretanto, preferência pela superfície abaxial, onde mais de 80% dos ovos foram colocados (Figura 11). O valor obtido neste trabalho, não coincide com o observado por Wilson (1991) (67,3%), provavelmente, em razão do mesmo ter sido registrado em condições de campo, sujeito à interferência de fatores abióticos e/ou àqueles relativos à morfologia ou fisiologia da espécie hospedeira, conforme mencionado por Ba-Angood (1977).

Pôde-se constatar maior concentração de postura nos terços mediano e apical das folhas, os quais, receberam mais de 85% dos ovos. Os ovos são colocados, preferencialmente (mais de 70%), junto à nervura principal, visto que, nessa área concentra-se o maior número de estômatos (Latif & Yunus, 1951), bem como o fluxo mais intenso de seiva, contendo certamente, maior quantidade de nutrientes essenciais às lagartas no início de seu desenvolvimento.

Esse comportamento de postura explica o fato do minador apresentar o hábito de se alimentar, logo após a eclosão, em galerias tangenciando as nervuras principais em direção à base das folhas, até o início do segundo ínstar larval. A partir daí, as lagartas confeccionam minas em forma de serpentina, em direção ao ápice das folhas até completar o estágio larval.

Figura 11. Distribuição espacial (%) de ovos de *P. citrella* em folha de limão-cravo.

4.6.2 Efeito do tamanho de folhas na postura

As posturas de *P. citrella* em limão-cravo, concentraram-se em folhas de comprimento entre 0,6 a 2,0 cm.

Nessa faixa, pôde-se registrar cerca de 70% do total dos ovos, observando-se, entretanto, uma preferência para oviposição em folhas com tamanho variável de 1,1 a 1,5 cm. Fora destes valores, houve uma tendência de redução de postura (Figura 12). Esta preferência pode estar associada, segundo observações apresentadas por Latif & Yunus (1951) e Ba-Angood (1977), as características

morfológicas do hospedeiro tais como, espessura da camada epidermal, quantidades de glândulas de óleo e de tecido paliçádico, espaços intracelulares e/ou quantidade de estômatos. Sugerem-se pesquisas sobre as inter-relações entre tais parâmetros e a postura de *P. citrella*.

Figura 12. Distribuição da postura de *P. citrella* em folhas de limão-cravo de diferentes tamanhos, em telado, sem controle do ambiente.

4.7 Papel do minador-dos-citros na disseminação da bactéria do cancro cítrico, *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*

Pôde-se constatar que as fases imaturas do minador-dos-citros foram responsáveis pelo aumento do cancro cítrico, pois nas plantas inoculadas contendo lagartas de 2^o e 3^o ínstaes ou pupas, ocorreram elevados percentuais de folhas infectadas pela bactéria, ou seja da ordem de 94,3, 98,3 e 100%, respectivamente, sem diferenças estatísticas entre estes três tratamentos (Figura 13). A taxa de infecção foliar por *X. axonopodis* pv *citri*, quando a folha estava lesionada, foi semelhante àquela observada em folhas onde se produziram danos mecânicos e posterior inoculação da bactéria, ou seja, entre 94,1 a 97% de folhas com pústulas bacterianas (Figura 13)

Ficou evidente que através dos estômatos a bactéria também pode penetrar (tratamento B); entretanto, aos sete dias após a inoculação, constatou-se uma taxa de infecção 11 vezes menor nestas folhas que não foram lesionadas pelo inseto. O percentual de folhas com cancro aumentou aos 15 dias para 41,2%; mesmo assim este valor é cerca de 50% menor se comparado às folhas que foram atacadas pelo inseto. Desta forma, ficou demonstrado a importância dos danos provocados pelo minador-dos-citros, no aumento do cancro cítrico, uma vez que as condições favoráveis de temperatura e umidade relativa no interior das minas construídas pelas lagartas, contribuem para um melhor desenvolvimento da bactéria. Isto pode ser visualizado através do incremento de pústulas bacterianas (maior coalescência) nas folhas que foram atacadas, em relação àquelas infectadas via estômatos, ou até mesmo, através de inoculação mecânica, culminando assim, com aumento da fonte de inóculo (Figura 14). Portanto, pode-se inferir que o aumento da área de cancro cítrico no Estado de São Paulo, está diretamente associado ao ataque de *P. citrella*, pois este problema ressurgiu neste Estado após a introdução da praga em março de 1996, fato já mencionado neste trabalho.

Por outro lado, não foi possível constatar, através da metodologia empregada, qualquer indício de aquisição do fitopatógeno pelo adulto do minador-dos-citros e, conseqüentemente, a transmissão da bactéria por esta fase do inseto.

Sugerem-se assim, pesquisas mais acuradas nessa linha, envolvendo inter relações com outras áreas, num programa multi e inter disciplinar, uma vez que, estudos desenvolvidos com diversos grupos de insetos, têm demonstrado que algumas espécies podem ser consideradas agentes de disseminação secundária de bacterioses em flores, brotações e/ou folhas de plantas exploradas economicamente. Como exemplo dessa relação, Johnson (1934) relatou a associação de lagartas de *Manduca Sexta paphus* (Cr.,1770) na disseminação da bactéria da mancha angular do fumo (*Phytopomonas angulata*), ficando comprovada a aquisição da bactéria através dos colchetes das pernas abdominais, em contato com pústulas bacterianas e, posteriormente, disseminadas às folhas sadias. Esse tipo de associação (transmissão mecânica) foi posteriormente confirmada por Emmett & Baker (1971), através de estudos de transmissão da bactéria da requeima das rosáceas, *Erwinia amylovora*. Os autores relataram mais de 14 espécies, de diferentes Ordens de insetos, relacionadas à disseminação desta bactéria, e que, a maior eficiência de transmissão estava associada ao tamanho do inseto. Assim, as abelhas foram mais eficientes na transmissão em relação aos dípteros (Anthomiidae), visto que elas, transportavam mais inóculo e mantinham um maior contato com as estruturas florais das macieiras e pereiras.

A exemplo da disseminação mecânica de bactérias, há relatos na literatura, envolvendo os insetos como vetores indiretos de outros fitopatógenos. No Quênia, himenópteros da família Platygasteridae, parasitóides de larvas de dípteros, minadores das folhas do cafeeiro, são “veiculadores” dos uredosporos de *Hemileia vastatrix*, responsável pela ferrugem do café [Grow (1963)² citado por Amante et al. (1971)], enquanto no Brasil, esse tipo de associação na transmissão desse fitopatógeno, foi verificada com *Drosophila* spp (Amante et al., 1971).

² Grow, T. J. Possible insect vectors of the uredospore of *Hemileia vastatrix* in Kênia. **Trans. Brit. Mycology Society**, v. 46, n. 1, 24-26, 1963.

Figura 13. Efeito de diferentes lesões de *P. citrella* na infecção da bactéria do cancro cítrico, *X. axonopodis* pv *citri*, em folhas de laranja caipira. A (sem inoculação da bactéria), B (inoculação via estômatos, s/ dano), C (inoculadas com lagartas de 2 dias), D (inoculadas c/ lagartas de 4 dias), E (inoculadas c/ pupas) e F (inoculadas c/ dano mecânico).

. Médias seguidas da mesma letra, nas respectivas barras, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 14. Folhas de laranja caipira apresentando lesões do minador-dos-citros em diferentes níveis, associadas à pústulas da bactéria do cancro cítrico, *X. axonopodis* pv *citri*, e penetração da bactéria via estômatos e após dano mecânico em relação à testemunha.

5 CONCLUSÕES

- a) A metodologia desenvolvida, utilizando-se plantas de limão-cravo (*Citrus limonia*), cultivadas em “tubetes” como hospedeiro de *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856, mostra-se adequada à criação contínua do inseto em laboratório;
- b) As condições térmicas adequadas à *P. citrella* variam com o estágio de desenvolvimento, sendo as temperaturas de 25, 30, e 32°C, favoráveis à postura, período embrionário e desenvolvimento das fases larval e pupal, respectivamente;
- c) Com base nas exigências térmicas do inseto, constata-se uma variação de 12,1 a 14,1 gerações no período de setembro a abril (período de brotações) nas regiões representativas da citricultura do Estado de São Paulo;
- d) A alternância de temperaturas, durante as fases imaturas e adulta de *P. citrella*, não tem influência sobre sua fecundidade;
- e) A umidade relativa mais adequada para o desenvolvimento de *P. citrella* é a de 70%;
- f) O minador-dos-citros prefere ovipositar na superfície abaxial e na nervura principal das folhas de citros, sendo tais ovos colocados em maior quantidade no terço apical e porção mediana da área foliar;

- g) Folhas entre 0,6 a 2,0 cm de comprimento são preferidas para oviposição de *P. citrella*;
- h) Existe uma estreita relação entre as lesões causadas pelas fases imaturas de *P. citrella* nas folhas e a infecção da bactéria do cancro cítrico, *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBA, C.G. El minador de los citricos, *Phyllocnistis citrella*, Stainton. introduccion y comportamiento en España. Descripción, daños y caracterización ecologica: estrategia de lucha. Malaga: Consejeria de Agricultura y Pesca, /1996?/18 p.

AMANTE, E.; VULCANO, M.A.; ABRAHÃO, J. Observações preliminares sobre a influência da entomofauna na dispersão dos uredosporos da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*). **O Biológico**, v. 37, p. 102-105, 1971.

ARGOV, Y.; RÖSSLER, Y. Introduction, release and recovery of several exotic natural enemies for biological control of the *citrus* leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Israel. **Phytoparasitica**, v.24, p.33-38, 1996.

ARGOV, Y.; RÖSSLER, Y. Rearing methods for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton, and its parasitoids in Israel. **Biological Control**, v. 11, p. 18-21, 1998.

BA-ANGOOD, S.A.S. A contribution to the biology and occurrence of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Sudan. **Zeitschrift fur Angewandte Entomologie**, v.83, p.106-111, 1977.

BA-ANGOOD, S.A.S. On the biology and food preference of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in PDR of Yemen. **Zeitschrift fur Angewandte Entomologie**, v. 86, p. 53-57, 1978.

- BADAWY, A. The morphology and biology of *Phyllocnistis citrella* Stainton, a citrus leaf-miner in the Sudan. **Bulletin de la Societi Entomologique du Egypte**, v.51, p.95-103, 1967.
- BAGMARE, A.; SHARMA, D.; GUPTA, A. Effect of weather parameters on the population build-up of various leaf miner species infesting different host plants. **Crop Research**, v.10, n. 3, p. 344-352, 1995.
- BATRA, R.C.; SANDHU, S.C.; SHARMA, S.C.; SINGH, R. Biology of the citrus leaf-miner on some rootstocks and its relationships with abiotic factors. **The Punjab Horticultural Journal**, v. 28, n. 1/2, p. 30-35, 1988.
- BIANCHI, V.; PARRA, J.R.P. Efeito de combinações térmicas na capacidade de postura de *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lepidoptera; Pyralidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 12., Belo Horizonte, 1989. **Resumos**. Belo Horizonte: SEB, 1989. p. 66.
- BROWNING, H.; PEÑA, J.E. Biological control of the citrus leafminer by its native parasitoids and predators. **Citrus Industry**, p.12, Apr., 1995.
- CHEN, M.S.; LE, X.N. A preliminary study on *Elachertus* sp.- an ectoparasite of *Phyllocnistis citrella*. **Journal of Fujian Agricultural college**, v.15, p.123-131, 1986.
- CLAUSEN, C.P. **Two citrus leafminers of the far east**. Washington: USDA, 1931. (USDA. Technical Bulletin, 252) 13p. /Resumo n.2 em **Review of Applied Entomology**, Ser. A., v.19, p. 649, 1931/.

- COOK, A.A. Association of citrus canker pustules with leaf miner tunnels in North Yemen. **Plant Disease**, v.72, p.546, 1988.
- COSTA, M.G.; FABIANO, L.A.; BUSOLI, A.C. Flutuação populacional de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera; Gracillariidae) na cultura de *Citrus* na região de Jaboticabal, SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., Rio de Janeiro, 1998. **Resumos**. Rio de Janeiro: SEB, 1998. p. 273.
- DIDONET, J.; AGUIAR, R.W.S.; PANATO, A. P. Ocorrência e infestação de larva minadora dos citros *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera; Gracillariidae) no Estado do Tocantins. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., Rio de Janeiro, 1998. **Resumos**. Rio de Janeiro: SEB, 1998. p. 217.
- EMMETT, B.J.; BAKER, L.A.E. Insect transmission of fireblight. **Plant pathology**, v. 20, p. 41-45, 1971.
- GARCIA, M.S. Biologia e potencial de controle de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima,1927) (Lepidoptera: Tortricidae), o bicho-furão-dos-citros, através de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879. Piracicaba, 1998. 118p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- GARIJO, C.; GARCIA, E.J. *Phyllocnistis citrella* (Stainton, 1856) (Insecta: Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae) en los cultivos de cítricos de Andalucía (Sur España): Biología, ecología y control de la plaga. **Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas**, v. 20, n.4, p.815-816, 1994.
- GOTTWALD, T.R.; GRAHAM, J.H.; SCHUBERT, T.S. An epidemiological analysis of the spread of citrus canker in urban Miami, Florida, and synergistic interaction with the Asian citrus leafminer. **Fruits**, v. 52, p. 383-390, 1997.

- GRAHAM, J.H.; GOTTWALD, T.R.; BROWNING, H.W.; ACHOR, D.S. Citrus leafminer exacerbated the outbreak of Asiatic citrus canker in South Florida. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON *CITRUS LEAFMINER*, Orlando, 1996. **Proceedings**. Orlando: University of Florida, 1996. p.83.
- GRAVENA, S. “Minadora das folhas dos citros”: a mais nova ameaça da citricultura brasileira. **Laranja**, v.15, p.397-404, 1994.
- HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P. **Métodos para estimar os limites térmicos e a faixa ótima de desenvolvimento das diferentes fases do ciclo evolutivo dos insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1984. 12p. (Série Agricultura e Desenvolvimento)
- HEPPNER, J.B. Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Florida (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae). **Tropical Lepidoptera**, v.4, p.49-64, 1993.
- HEPPNER, J.B. Citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) on fruit in Florida. **Florida Entomologist**, v.78, n.1. p.182-186, 1995.
- HOY, M.A.; NGUYEN, R.; POMERINKE, M.A.; BULLOCK, R.C.; HALL, D.G.; KNAPP, J.L.; PEÑA, J.E. BROWNING, H.W.; STANSLY, P.A. Classical biological control of the citrus leafminer. **Citrus & Vegetable Proceedings**, n.109, p.20-25, 1997.
- HUANG, M.D.; LI, S.X. The damage and economic threshold of Citrus leaf miner, *Phyllocnistis citrella* Stainton to *Citrus*. In: **Studies on the integrated management of Citrus insect pest**. Guangzhou, Academic Book & Periodical Press, p.84-89, 1989.

- HUANG, M.L.; LU, Y.S.; QIU, Z.S.; ZHOU, Q.M.; MEN, Y.J.; LIN, S.G. Life history of *Phyllocnistis citrella* Stainton, and its occurrence. **Acta Phytophylactica Sinica**, v.16, p.159-162, 1989a.
- HUANG M.D.; DHENG, C.X.; LI S.X.; MAI, X.H.; TAN, W.C.; SZETU, J. Studies on population dynamics and control strategy of the citrus leafminer. **Acta Entomologica Sinica**, v.32, p.58-67, 1989b.
- HUTSON, J.C.; PINTO, M.P.D. Two caterpillar pests of citrus. **Tropical Agriculturist**, v.83, p.188-193, 1934.
- JACAS, J-A.; GARRIDO, A. Differences in the morphology of male and female of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, v.79, n.4 p.603-606, 1996.
- JOHNSON, E.M. Dissemination of angular leaf spot of tobacco by the southern tobacco worm. **Phytopathology**, v. 24, p.1381-1382, 1934.
- KNAPP. J.; PEÑA, J.; STANSLY, P.A.; HEPPNER, J.; YANG, Y. **The citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, a new pest of citrus in Florida**. Orlando: Cooperative Extension Service, 1994, 4p.
- LATIF, A.; YUNUS, C.M. Food plants of citrus leafminers in Punjab. **Bulletim of the Entomological Research**. v. 42, p.311-316, 1951.
- LOURENÇÃO, A.L.; MÜLLER, G.W.; PRATES, H.S. “**Minador das folhas dos citros**”: praga exótica potencialmente importante para a citricultura brasileira. Campinas: CATI, 1994. 2p. (CATI. Comunicado Técnico, 118).

- NASCIMENTO, A.S.; VIDAL, C.A.. Ocorrência de parasitóides e local de preferência para desenvolvimento da larva do minador das folhas dos citros *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856, em Cruz das almas, BA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., Rio de Janeiro, 1998. **Resumos**. Rio de Janeiro: SEB, 1998. p. 324.
- NEALE, C.; SMITH, D.; BEATTIE, G.A.C.; MILES, M. Importation host specificity testing rearing and release of three parasitoid of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera; Gracillariidae) in Eastern Australia. **Journal of The Australian Entomological Society**, v.34, p.343-348, 1995.
- PANDEY, N.D.; PANDEY, Y.D. Bionomics of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Indian Journal of Entomology**, v.26, p.417-426, 1964.
- PARRA, J.R.P. Biologia comparada de *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Ménéville, 1842)(Lepidoptera, Lyonetiidae) visando ao seu zoneamento ecológico no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.29, n.1, p.45-76, 1985.
- PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; SILVEIRA NETO, S.; HADDAD, M.L. Biology and thermal requirements of *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. distinctum* Zucchi, on two alternative hosts. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 3, San Antonio, 1990. **Trichogramma and other egg parasitoids**. San Antonio (Tx, USA): 1991. 81-84.
- PATEL, N.C.; VALAND, V.M.; SHEKH, A.M.; PATEL, J.R. Effect of weather factors on activity of citrus leaf-miner (*Phyllocnistis citrella*) infesting lime (*Citrus aurantifolia*). **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v.64, n.2, p.132-134, 1994.
- PEÑA, J.E. Update on control of the citrus leafminer. **Proceedings Florida State Horticultural Society**, v.107, p.72-75, 1994.

- PEÑA, J.E.; DUNCAN, R.; BROWNING, H. Seasonal abundance of *Phyllocnistis citrella* (Lep.: Gracillariidae) and its parasitoids in South Florida citrus. **Environmental Entomology**, v.25, n.3, p.698-702, 1996.
- PENTEADO-DIAS, A.M.; GRAVENA, S.; PAIVA, P.E.B.; PINTO, R.A. Parasitóides de *Phyllocnistis citrella*, Stainton (Lepidoptera; Gracillariidae) no Estado de São Paulo. **Laranja**, v.18, n. 1, p. 79-84, 1997.
- PRATES, H.S.; NAKANO, O.; GRAVENA, S.A “**minadora das folhas de citros**” *Phyllocnistis citrella*, Stainton, 1856. Campinas: CATI, 1996. 3p. (CATI. Comunicado Técnico, 129).
- PRUVOST, O.; VERNIÈRE, C.; HARTUNG, J.; GOTTWALD, T.R.; QUETELARD, H. Towards an improvement of citrus canker control in Reunion island. **Fruits**, v.52, p. 375-382, 1997.
- RADKE S.G.; KANDALKAR, H.G. Bionomics of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). **PKV Research Journal**, v.11, p.91-92, 1987.
- RAGA, A.; CERÁVOLO, L.C.; SOUZA FILHO, M.F.; MONTES, S.M.N.M; ROSSI, A C.; SATO, M.E. Ação de inseticidas sobre *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep.; Gracillariidae) em citros (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 65, n.1, p. 35-42, 1998.
- ROBERTO, S.R. Flutuação populacional de cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) vetoras de *Xylella fastidiosa* em pomares de laranja doce no Estado de São Paulo. Jaboticabal, 1998. 106p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

ROLIM, G.S; SENTELHAS, P.C.; BARBIERI, V. Planilhas no ambiente EXCEL™ para os cálculos de balanços hídricos: normal e seqüencial, de culturas e de produtividade real e potencial. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**. v. 6, n. 1, p. 133-137, 1998.

SÁ, L.A.N. de; COSTA, V.A.; De NARDO, E.A.B.; ARELLANO, F.; FUINI, L.C. Parasitismo da larva minadora da folha dos citros, *Phyllocnistis citrella*, no município de Jaguariúna, SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., Rio de Janeiro, 1998. **Resumos**. Rio de Janeiro: SEB, 1998. p. 65.

SABINE, B.N.E., Citrus leaf miner. **Queensland Agricultural Journal**.v.20, p.127-129, Feb., 1971.

SINGH, B.P. Studies on the bionomics and control of citrus leaf miner *Phyllocnistis citrella* Stainton. **Pesticides**, v.18, p.46-50, 1984.

SMITH, J.M.; HOY, M.A. Rearing methods for *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Cirrospilus quadristriatus* (Hymenoptera: Eulophidae) released in a classical biological control program for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, v.78, n.4, p.601-608.1995.

SOHI, G.S.; SANDHU, M.S. Relationship between *Citrus leaf-miner* (*Phyllocnistis citrella* Stainton) injury and *Citrus* canker [*Xanthomonas citri* (Hasse) Dowson] incidence on *Citrus* leaves. **Journal of Research of the Punjab Agricultural University**, v.5, p.66-69, 1968.

SUBBA RAO, B.R.; RAMAMANI, S. Biology of *Cirrospiloides phyllocnistoides* (Narayanan) and description of a new species, *Scotolinx quadristriata* (Hymenoptera: Eulophidae) as parasites of *Phyllocnistis citrella* Stainton. **Indian Journal of Entomology**, v.27, p.408-413, 1965.

UJIYE, T. Parasitoid complex of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Phyllocnistidae) in several citrus-growing districts of Japan. **Proceedings of the Association for Plant Protection of Kyushu**, v.34, p.180-183, 1988.

WILSON, C.G. Notes on *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Phyllocnistidae) attacking four citrus varieties in Darwin. **Journal of the Australian Entomological Society**, v.30, p.77-78, 1991.