**Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
Universidade de São Paulo**

**Resistência de genótipos de citros a lagarta-minadora-dos-citros *Phyllocnistis
citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae)**

Mônica Silva Santos

**Tese apresentada para obtenção de título de
Doutor em Ciências, Área de concentração:
Entomologia**

**Piracicaba
2009**

Mônica Silva Santos
Bióloga

Resistência de genótipos de citros a lagarta-minadora-dos-citros *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae)

Orientador:
Prof Dr. **JOSÉ DJAIR VENDRAMIM**

**Tese apresentada para obtenção de título de
Doutor em Ciências, Área de concentração:
Entomologia**

**Piracicaba
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Santos, Mônica Silva

Resistência de genótipos de citros a lagarta-minadora-dos-citros *Phyllocnistis citrella*
Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae) / Mônica Silva Santos. - - Piracicaba, 2009.
133 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2009.
Bibliografia.

1. Frutas Cítricas 2. Genótipos 3. Insetos minadores 4. Lagartas 5. Resistência genética
vegetal I. Título

CDD 634.3
S237r

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

AGRADEÇO

A Deus, acima de tudo, pelo dom da vida, força e determinação.

DEDICO

À minha família,

Em especial à minha mãe Maria Hildete, minha madrinha Lícia Marina e minha prima Cristina Lícia, pelo incentivo, apoio, carinho, dedicação e força com palavras sábias mesmo estando distantes.

OFEREÇO

Ao meu futuro esposo Luciano César, pelo amor, compreensão, apoio, companheirismo e, acima de tudo, paciência.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. José Djair Vendramim, pelas sugestões, apoio, dedicação, paciência na orientação desta pesquisa, amizade e convivência.

AGRADECIMENTOS

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP, em especial ao Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, pela oportunidade concedida para a realização do curso.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP, pelos conhecimentos transmitidos.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Dr. André Luiz Lourenção, pesquisador do Centro de Fitossanidade do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), pela ajuda na seleção dos genótipos testados e valiosas sugestões.

Ao Dr. Marcos A. Machado pesquisador do Centro APTA Citros Sylvio Moreira (Cordeirópolis-SP), pela concessão das mudas dos diferentes genótipos de citros.

A Dr^a. Mariângela Cristofani Yaly, pesquisadora do Centro APTA Citros Sylvio Moreira, pela prestatividade, ajuda e valiosas sugestões.

Aos funcionários do Centro APTA Citros Sylvio Moreira, Benedito Vanderley da Cunha, pelas dicas de adubação e manutenção das mudas e Osvaldo Betti, pela enxertia dos genótipos utilizados na pesquisa.

Ao Prof. Dr. José Roberto Postali Parra, pela cessão de casa-de vegetação e equipamentos do Laboratório de Biologia de Insetos para o desenvolvimento de algumas fases do trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia, Fitopastologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP, em especial, à Marta e Regina pelos auxílios prestados;

Aos funcionários de campo do setor de Entomologia José Carlos Rodrigues Castilho, Horozino Rodrigues dos Santos e Vitor Celso da Silva, pela ajuda sempre que necessário;

Ao meu amigo Paulo Bogorni, pelas idas e vindas ao IAC e pela grande ajuda.

À Adriana M. Nascimento, pelas dicas na criação e manutenção de *Phyllocnistis citrella*;

Aos bolsistas de Iniciação Científica, Danila e Elton, pela colobaração na execução de algumas fases desta pesquisa;

À Sheila Carvalho que, mesmo como estagiária voluntária, esteve sempre presente colaborando com dedicação na execução de alguns ensaios;

Aos meus amigos “resistentes” e “tolerantes” do laboratório Angelina, Ana Paula, Eliane, Maria Auxiliadora, Cristina, Márcio, Gerane e Leandro, pela maravilhosa convivência, em especial, Fátima, Marcos e Rafael pela ajuda constante, troca de informações, palavras de conforto e incentivo e pela amizade. Galera!!! Com todos vocês formamos uma equipe de peso.

Novamente ao meu amigo Rafael Major Pitta, pela grande ajuda na realização das análises estatísticas;

À Gerane Celly, pela amizade e convivência nestes anos que moramos juntas;

À amiga Claudia Marinho, por ter sempre aquela palavra de conforto e incentivo;

Ao amigo Anderson Ferreira, pelo auxílio na condução de alguns experimentos;

A Patrícia Milano, pela confecção da ilustração científica presente neste trabalho;

A todos os amigos, cujos muitos nomes estão omitidos, por tornar a jornada do doutorado mais leve e alegre;

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

A todos vocês o meu

Muito Obrigada!!!

“O sucesso é o estado de espírito resultante da consciência que você tem de haver se empenhado para ser o melhor que é capaz de ser”.

Bernardinho

“Eu trabalhei tanto e tão bem quanto pude, e ninguém pode fazer até o momento mais do que isso”.

Adaptado de Charles Darwin

SUMÁRIO

RESUMO.....	15
ABSTRACT.....	17
1 INTRODUÇÃO.....	25
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	27
2.1 Aspectos da citricultura no Brasil.....	27
2.1.1 Aspectos gerais sobre <i>Citrus</i> e gêneros afins.....	28
2.2 Considerações gerais sobre <i>Phyllocnistis citrella</i>	31
2.2.1 Características bioecológicas.....	31
2.2.2 Distribuição geográfica.....	34
2.2.3 Plantas hospedeiras.....	35
2.2.4 Sintomas de ataque e danos.....	35
2.2.5 Interação com o cancro cítrico.....	36
2.2.6. Métodos de controle.....	38
2.2.6.1 Controle químico.....	38
2.2.6.2 Controle biológico.....	39
2.2.6.3 Controle cultural.....	42
2.2.6.4 Controle por Semioquímicos.....	43
2.3 Resistência de citros a <i>P. citrella</i>	45
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	49
3.1 Criação de manutenção de <i>P. citrella</i>	49
3.2 Genótipos de citros avaliados.....	51
3.3 Avaliação do tempo de exposição e do número de casais de <i>P. citrella</i> por planta adequados para estudos de resistência.....	54
3.4 <i>Screening</i> para identificação dos genótipos resistentes a <i>P. citrella</i>	55
3.5 Não-preferência para oviposição de <i>P. citrella</i> nos genótipos selecionados.....	56
3.5.1 Não-preferência com chance de escolha.....	57
3.5.2 Não-preferência sem chance de escolha (confinamento).....	58

3.6 Efeito dos genótipos selecionados sobre a biologia de <i>P. citrella</i>	58
3.6.1 Avaliação do tamanho e peso pupal.....	59
3.6.2 Avaliação da razão sexual e da longevidade dos adultos.....	60
3.6.3 Avaliação da fecundidade e fertilidade.....	61
3.6.4 Cálculo do Potencial Reprodutivo Corrigido.....	62
3.7 Avaliação da tolerância dos genótipos a <i>P. citrella</i>	62
3.7.1 Teste preliminar com o genótipo padrão.....	62
3.7.1.1 Avaliação do comprimento das folhas e dos ramos e largura das folhas.....	63
3.7.1.2 Avaliação do número de larvas.....	64
3.7.1.3 Avaliação do número de brotações novas.....	64
3.7.1.4 Avaliação dos pesos fresco e seco dos ramos.....	64
3.7.1.5 Avaliação do dano nas folhas.....	64
3.7.2 Bioensaio com os genótipos selecionados.....	65
3.8 Análise estatística.....	67
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	69
4.1 Avaliação do tempo de exposição e do número de casais de <i>P. citrella</i> por planta adequados para estudos de resistência.....	69
4.2 <i>Screening</i> para identificação dos genótipos resistentes a <i>P. citrella</i>	71
4.3 Não- preferência para oviposição de <i>P. citrella</i> nos genótipos selecionados.....	77
4.3.1 Não-preferência com chance de escolha.....	77
4.3.2 Não-preferência sem chance de escolha (confinamento) (confinamento).....	78
4.4 Efeito dos genótipos selecionados sobre a biologia de <i>P. citrella</i>	81
4.4.1 Duração e viabilidade da fase embrionária.....	81
4.4.2 Duração e viabilidade da fase larval.....	82
4.4.3 Duração e viabilidade da fase pupal.....	84
4.4.4 Duração e viabilidade da fase imatura.....	85
4.4.5 Avaliação do tamanho e peso pupal.....	86

4.4.6 Avaliação da razão sexual e da longevidade dos adultos.....	88
4.4.7 Fecundidade e fertilidade.....	91
4.4.8 Cálculo do Potencial Reprodutivo Corrigido (PRC).....	96
4.5 Avaliação da tolerância dos genótipos a <i>P. citrella</i>	97
4.5.1 Teste preliminar com o genótipo padrão.....	97
4.5.1.1 Comprimento das folhas e dos ramos e largura das folhas.....	97
4.5.1.2 Número de larvas.....	97
4.5.1.3 Número de brotações novas.....	98
4.5.1.4 Pesos fresco e seco dos ramos.....	98
4.5.1.5 Avaliação do dano nas folhas.....	100
4.5.2 Bioensaio com os genótipos selecionados.....	102
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	111
6 CONCLUSÕES.....	113
REFERÊNCIAS.....	115

RESUMO

Resistência de genótipos de citros à lagarta-minadora-dos-citros *Phyllocnistis citrella* STAINTON, 1856 (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE)

Avaliou-se o efeito de diferentes cultivares, híbridos e gêneros afins de *Citrus* sobre o comportamento e biologia da lagarta minadora-dos-citros (LMC) *Phyllocnistis citrella* e o efeito do inseto sobre alguns destes materiais com a finalidade de encontrar, dentre os materiais testados, genótipos resistentes que afetem o comportamento de alimentação e de oviposição, e/ou a biologia da LMC, assim como genótipos que sejam menos danificados por *P. citrella*. Para a criação e manutenção de *P. citrella*, em laboratório, utilizaram-se gaiolas e como planta hospedeira, mudas de limão 'Cravo' (*Citrus limonia* L. Osbeck). Inicialmente, foi feito o *screening* com 23 genótipos de citros por meio da exposição de mudas destas plantas a adultos da praga. Como padrão suscetível utilizou-se o limão 'Rugoso' (*C. jambhiri*). Com base no número de ovos e de pupas encontrados em cada planta, cinco genótipos mostraram-se mais promissores: tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tanaka), os híbridos C x R₄ (*C. sunki* x *Poncirus trifoliata*), C x R₃₁₅ (*C. sunki* x *P. trifoliata*), M x P₂₂₂ (*C. sinensis* x Tangor Murcott) e o gênero afim Trifoliata Limeira (*P. trifoliata*). A seguir, avaliou-se a preferência para oviposição, o desenvolvimento e a reprodução dos insetos criados nestes seis genótipos. No teste de preferência para oviposição com chance de escolha o híbrido C x R₃₁₅ e o gênero afim Trifoliata Limeira foram os genótipos menos preferidos pela LMC, enquanto no teste sem chance de escolha, o efeito dos genótipos foi menos evidente, constatando-se diferença apenas entre os genótipos Trifoliata Limeira, o menos ovipositado e o limão 'Rugoso', o mais ovipositado. Os diferentes genótipos de citros não influenciaram a duração e a viabilidade das fases de ovo, larva e pupa de *P. citrella*. Observou-se, contudo, influência dos genótipos no tamanho e peso de pupas, destacando-se o híbrido C x R₄ como o menos adequado. Fêmeas provenientes de lagartas criadas nos híbridos C x R₄ e C x R₃₁₅ foram as menos fecundas. No teste de tolerância, concluiu-se que dano foliar foi o parâmetro que melhor discriminou os genótipos em relação ao ataque de *P. citrella*, assim como, pesos fresco e seco não foram parâmetros adequados para estudos de tolerância. Os genótipos Trifoliata Limeira e o seu híbrido C x R₄ se comportaram como tolerantes à LMC, enquanto a tangerina 'Sunki' e o limão 'Rugoso' foram suscetíveis.

Palavras-chave: Resistência; *Citrus*, Genótipos; Lagarta-minadora; *Phyllocnistis citrella*

ABSTRACT

Resistance of citrus genotypes to the Citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae)

The objective this study was to evaluate the effect of different cultivars, hybrids and genera related to *Citrus* on behavior and biology of the citrus leafminer (CLM), *Phyllocnistis citrella*. The effect of the host plant on feeding (nutritional) and oviposition behavior, and/or the biology of CLM was assessed to find resistant or tolerant genotypes. The insects were maintained in laboratory in cages. Lemon (*Citrus limonia* L. Osbeck) 'Cravo' seedlings were used as host plant. Initially, 23 genotypes of citrus were screened by exposing the seedlings of these plants to adults of this pest. The susceptible lemon (*C. jambhiri*) 'Rugoso' was used as control. Based on the number of eggs and pupae obtained on each plant, five genotypes were selected as the most promising: tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tanaka), the hybrids C x R₄ (*C. sunki* x *Poncirus trifoliata*), C x R₃₁₅ (*C. sunki* x *P. trifoliata*), M x P₂₂₂ (*C. sinensis* x Tangor Murcott) and *P. trifoliata* (Trifoliata Limeira). So, the oviposition preference, and the development and reproduction of the insect were evaluated on these six genotypes. In the free-choice oviposition preference test the hybrid C x R₃₁₅ and Trifoliata Limeira were the least preferred by CLM. In the no-choice test, the effect of genotypes was less evident occurring less oviposition in Trifoliata Limeira than in lemon 'Rugoso'. The different genotypes of citrus did not influence the duration and viability of egg, larval and pupal stages of *P. citrella*. It was therefore observed that genotypes influenced size and pupal weight, being the hybrid C x R₄ the least adequate. Females from larvae reared on hybrids C x R₄ and C x R₃₁₅ oviposited the least numbers of eggs. In the tolerance test, it was concluded that leaf damage was the better parameter for discriminating the genotypes in relation to attack by *P. citrella*. The fresh and dry weight were not adequate parameters for tolerance study. The genotypes Trifoliata Limeira and its hybrid C x R₄ were tolerant to CLM while tangerina 'Sunki' and the lemon 'Rugoso' were susceptible.

Keywords: Resistance; *Citrus*, Genotypes; Leafminer; *Phyllocnistis citrella*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Gaiolas utilizadas para criação da lagarta-minadora em laboratório. A: vista frontal. B: vista lateral da gaiola. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas.....	51
Figura 2 -	Vista geral da gaiola com o genótipo padrão em cada lado (A). Detalhe de como foi feita a divisão da gaiola para montagem de dois experimentos simultâneos (B).....	55
Figura 3 -	<i>Screening</i> inicial para escolha dos genótipos mais promissores. Distribuição dos genótipos nas gaiolas.....	56
Figura 4 -	Parte terminal do abdome de macho e fêmea de <i>Phyllocnistis citrella</i> . (A e B) Detalhe da parte externa e interna do macho. (C) Detalhe da parte externa da fêmea com faixa de escamas pretas no pigídio.....	57
Figura 5 -	Gaiolas confeccionadas com recipiente plástico descartável para obtenção de adultos virgens de <i>Phyllocnistis citrella</i> para estudo de longevidade com e sem alimento. A: detalhe da gaiola e B: vista geral da disposição das gaiolas.....	60
Figura 6 -	Gaiolas utilizadas nos testes de fecundidade de <i>Phyllocnistis citrella</i> . A: detalhe da gaiola e B: Vista geral da disposição das gaiolas com as repetições de cada genótipo.....	62
Figura 7 -	Categorias de classificação para folhas de limão ‘Rugoso’ em relação ao ataque de <i>Phyllocnistis citrella</i> : atacadas e não enroladas (A), parcialmente enroladas (B) e enroladas (C).....	65
Figura 8 -	Categorias de classificação para os genótipos de citros em relação ao ataque de <i>Phyllocnistis citrella</i> : folhas trifoliolada enrolada (A), parcialmente enrolada (B) e atacada e não enrolada (C).....	66

Figura 9 -	Índice de resistência (IR) para oviposição de <i>Phyllocnistis citrella</i> em diferentes genótipos de citros. Em cinza os menos preferidos e em preto os neutros, de acordo com o intervalo de classificação. A: Em relação ao número de ovos. B: Em relação ao número de pupas. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas.....	76
Figura 10 -	Número médio de ovos de <i>Phyllocnistis citrella</i> em testes de não-preferência para oviposição com chance de escolha em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas	78
Figura 11	Número médio de ovos de <i>Phyllocnistis citrella</i> em testes de não-preferência para oviposição sem chance de escolha em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas.....	81
Figura 12 -	Larva morta, após o 13º dia de infestação, em folhas do híbrido C x R ₄ (A) e de Trifoliata Limeira (B).....	84
Figura 13 -	Valores de fecundidade (a cada dois dias) de adultos de <i>Phyllocnistis citrella</i> provenientes de lagartas alimentadas em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas.....	95
Figura 14 -	Gráfico com a distância de ligação dos grupos com a utilização do método de aglomeração <i>Plot of Linkage Distances across Steps</i> e medida de distância de dissimilaridade euclidiana baseado nos parâmetros quantitativos e qualitativos de diferentes genótipos de citros sob infestação de <i>Phyllocnistis citrella</i>	108
Figura 15 -	Fenograma baseado nos parâmetros quantitativos e qualitativos de diferentes genótipos de citros sob infestação de <i>Phyllocnistis citrella</i> com utilização do método de aglomeração <i>Unweighted pair-group average</i> e medida de distância de dissimilaridade euclidiana.....	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Genótipos avaliados para resistência à lagarta-minadora-dos-citros (<i>Phyllocnistis citrella</i>).....	53
Tabela 2 -	Número médio de ovos de <i>Phyllocnistis citrella</i> por planta de limão 'Rugoso' com diferentes densidades de casais por planta em diferentes períodos de exposição. Temp.: 25±1°C; UR: 70±10% e fotofase: 14 horas.....	70
Tabela 3 -	Média, índice de resistência (média ± desvio padrão), intervalo de classificação e a classificação dos genótipos em relação ao número de ovos de <i>Phyllocnistis citrella</i> nas brotações. Temp.: 25±1°C; UR: 70±10% e fotofase: 14 horas.....	74
Tabela 4 -	Média, índice de resistência (média ± desvio padrão), intervalo de classificação e a classificação em relação ao número de pupas de <i>Phyllocnistis citrella</i> nas brotações de diferentes genótipos. Temp.: 25±1°C; UR: 70±10% e fotofase: 14 horas.....	75
Tabela 5 -	Médias ± erro padrão da duração (dias) e viabilidade (%) da fase de ovo de <i>Phyllocnistis citrella</i> em diferentes genótipos de citros. Temp.: 25±1°C; UR: 70±10% e fotofase: 14 horas.....	82
Tabela 6 -	Médias ± erro padrão da duração (dias) e viabilidade (%) da fase larval de <i>Phyllocnistis citrella</i> alimentada em diferentes genótipos de citros. Temp.: 25±1°C; UR: 70±10% e fotofase: 14 horas.....	83
Tabela 7 -	Médias ± erro padrão da duração (dias) e viabilidade (%) da fase de pupa de <i>Phyllocnistis citrella</i> proveniente de lagartas alimentadas em diferentes genótipos de citros. Temp.: 25±1°C; UR: 70±10% e fotofase: 14 horas.....	85

Tabela 8 -	Médias $\pm$ erro padrão da duração (dias) e viabilidade (%) da fase imatura (ovo à emergência do adulto) de <i>Phyllocnistis citrella</i> criada em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas.....	86
Tabela 9 -	Médias $\pm$ erro padrão do tamanho e peso pupal de <i>Phyllocnistis citrella</i> provenientes de lagartas criadas nos diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas.....	88
Tabela 10 -	Médias $\pm$ erro padrão da longevidade de adultos (fêmeas e machos) de <i>Phyllocnistis citrella</i> , mantidos com e sem alimento provenientes de lagartas alimentadas em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas.....	90
Tabela 11 -	Médias $\pm$ erro padrão da fecundidade e fertilidade de adultos de <i>Phyllocnistis citrella</i> provenientes de lagartas alimentadas em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas.....	92
Tabela 12 -	Médias $\pm$ erro padrão da fecundidade (dias) de adultos de <i>Phyllocnistis citrella</i> provenientes de lagartas alimentadas em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas.....	94
Tabela 13 -	Potencial Reprodutivo Corrigido (PRC) de <i>Phyllocnistis citrella</i> , em diferentes genótipos de citros, para os períodos de 60 dias. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas.....	96

Tabela 14 - Média $\pm$ erro padrão do comprimento das folhas (CF), largura das folhas (LF), crescimento dos ramos (CR), número de larvas/planta, número de brotações novas por planta, e peso fresco e peso seco dos ramos de limão 'Rugoso' com diferentes densidades de infestação de adultos de <i>Phyllocnistis citrella</i> . Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas.....	99
Tabela 15 - Média $\pm$ erro padrão das porcentagens de folhas enroladas (FE), folhas parcialmente enroladas (FPE), folhas atacadas e não enroladas (FANE) e dano total (DT= FE + FPE) em limão 'Rugoso' com diferentes densidades de infestação de adultos de <i>Phyllocnistis citrella</i> . Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas.....	101
Tabela 16 - Número médio $\pm$ erro padrão de brotações novas (BN) em diferentes genótipos de citros sem e com infestação por <i>Phyllocnistis citrella</i> e valores de (T) e (P) Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas.....	102
Tabela 17 - Média $\pm$ erro padrão de peso fresco (PF) dos diferentes genótipos de citros sem e com infestação por <i>Phyllocnistis citrella</i> e valores de (T) e (P) Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas.....	103
Tabela 18 - Média $\pm$ erro padrão de peso seco (PS) com e sem infestação por <i>Phyllocnistis citrella</i> dos diferentes genótipos de citros e valores de (T) e (P). Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas.....	104
Tabela 19 - Média $\pm$ erro padrão das porcentagens de folhas enroladas (FE), folhas parcialmente enroladas (FPE) e folhas atacadas e não enroladas (FANE) e dano total (DT = FE + FPE) nos diferentes genótipos de citros com infestação de <i>Phyllocnistis citrella</i> . Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas.....	106

1 INTRODUÇÃO

Devido às melhores condições encontradas no Brasil do que nas próprias regiões de origem para vegetar e produzir, as plantas cítricas se expandiram por todo o país, tornando-se até supostamente “nativas” em certos lugares, como no estado do Mato Grosso (DONADIO et al., 2005).

A citricultura constitui importante segmento na estrutura sócio-econômica do Brasil, podendo ser caracterizada como uma das mais típicas atividades agro-industriais do país. O Brasil assumiu nas últimas décadas a liderança mundial de produção de laranjas, tendo produzido na safra 2007/08, aproximadamente 15,9 milhões de toneladas seguido pelos EUA, com aproximadamente 9,2 milhões de toneladas (Agrianual, 2009). No Brasil, o estado de São Paulo se destaca como o maior produtor nacional, com aproximadamente 87,44% da produção total do país (Agrianual, 2009).

Entretanto, a citricultura paulista vem sendo constantemente ameaçada por graves problemas fitossanitários. Entre as diversas pragas que atacam o citros, destaca-se a lagarta-minadora-dos-citros (LMC), *Phyllocnistis citrella*, que ataca folhas novas de citros, formando galerias no limbo e causando atrofiamento do tecido foliar. Os danos diretos causados por esta praga são representados pela redução da fotossíntese, queda prematura das folhas e redução no desenvolvimento de brotações novas destas plantas, refletindo, conseqüentemente, no potencial de produção do pomar (HEPPNER, 1993; PRATES et al., 1996). Devido ao seu hábito minador, causa também danos indiretos, pois os ferimentos abundantes produzidos pela LMC servem de porta de entrada para microorganismos, como *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Xac) e fungos saprófitas, como *Alternaria* spp. e *Paecilomyces* spp. (COOK, 1988).

A LMC apresenta diversos inimigos naturais, mas para supressão de suas populações tem predominado a utilização de métodos de controle baseados em defensivos químicos. Considerando os aspectos negativos deste tipo de controle, há uma preocupação por parte dos pesquisadores em descobrir outros métodos para controlar esta praga, por exemplo, a utilização de inimigos naturais, como por exemplo, o parasitóide importado *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya, 1983 (PARRA et al., 2001). Dentro da filosofia de manejo integrado, a resistência de plantas a insetos pode ser

uma opção complementar de controle e tem merecido atenção por parte dos entomologistas.

Estudos envolvendo a busca de fatores de resistência em variedades de citros têm sido desenvolvidos em outros países, como por exemplo, Índia, EUA, Espanha e Argentina, os quais resultaram na identificação de fatores de resistência a esta praga em algumas das variedades testadas (BATRA; SANDHU, 1983; PEÑA; DUCAN, 1993; GARIJO; GARCIA, 1994; URRUTIA; MARÍ, 2002; GOANE et al., 2008). No Brasil, são escassas as informações a respeito da resistência de citros a *P. citrella*. Levando em consideração o papel econômico e social da cultura de citros, não somente no estado de São Paulo, mas em todo o país, e o comportamento variável da lagarta-minadora em relação às variedades de citros, é de suma importância determinar se ocorre resistência varietal entre os genótipos existentes no Brasil. Assim, o presente estudo tem como objetivo identificar genótipos de citros que afetem o comportamento de alimentação e oviposição e a biologia da lagarta-minadora-dos-citros, bem como genótipos que sejam menos danificados por *P. citrella* visando fornecer subsídios para o manejo integrado dessa praga.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos da citricultura no Brasil

A citricultura brasileira pode ser caracterizada como uma das mais típicas atividades agro-industriais, apoiada em demanda de produtos *in natura*, ou seja, frutas frescas, e produtos processados, representados por suco concentrado, pectina e óleos essenciais (INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA, 1997).

Entre os principais grupos de frutas no mundo, os citros ocupam o primeiro lugar em volume de produção, com aproximadamente 105,4 milhões de toneladas seguidos pelas culturas de banana, uva e maçã (FAO, 2008). Em 2007/08, o Brasil produziu aproximadamente 15,9 milhões de toneladas de laranja mantendo a posição de maior produtor e exportador de suco concentrado e congelado (SLCC), superando a produção da Flórida (EUA), maior concorrente brasileiro no mercado de sucos de laranja, em quantidade de frutas e suco concentrado. O volume produzido pela Flórida na safra de laranja 2007/08 foi estimado em 9,2 milhões de toneladas, número abaixo do esperado pelo setor (Agrianual, 2009).

São Paulo é o estado brasileiro com maior produção de laranja, com aproximadamente 87,44% da produção total do país (Agrianual, 2009). Em 2008, a produção de laranjas foi estimada em torno de 360 milhões de caixas de 40,8 Kg. Entre os demais estados brasileiros produtores, destacam-se Bahia, Sergipe, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Pará e Santa Catarina (Agrianual, 2009).

De acordo com Souza (2001), além do suco e dos frutos *in natura*, são comercializados subprodutos da laranja obtidos durante o processo de industrialização, como farelo, células congeladas, óleos essenciais e líquidos aromáticos. Estes produtos são usados como solvente industrial, componentes aromáticos, na obtenção de sabores artificiais, na indústria farmacêutica e alimentícia e na fabricação de adesivos. Também merecem destaque as propriedades medicinais dos citros, como combate ao escorbuto, fornecimento de ácido ascórbico e outros complexos vitamínicos, inibição do crescimento de células de câncer de mama e combate ao colesterol.

As empresas que atuam neste setor se caracterizam pelo bom nível tecnológico empregado, tanto na produção quanto no processamento dos produtos, o que torna o Brasil o maior produtor mundial de frutas cítricas e um dos países mais competitivos. Ao longo da história, o parque industrial brasileiro vem mostrando declínio, principalmente na produção do suco de laranja paulista.

A citricultura nacional tem se mostrado bastante vulnerável aos diversos problemas fitossanitários que têm surgido ao longo da sua história e que são responsáveis por grandes perdas para a cultura. Entre outros fatores, essa vulnerabilidade pode estar associada a pouca diversidade de cultivares copa/porta-enxerto e a ocorrência de, doenças e insetos-praga. *P. citrella* está entre os principais responsáveis por esses problemas, pois além dos danos diretos, causa danos indiretos, já que os ferimentos produzidos pela LMC servem de porta de entrada para microorganismos, principalmente a bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Xac) que causa lesões típicas nas folhas afetando o desenvolvimento das plantas e acarretando, conseqüentemente, perda de qualidade de frutos.

2.1.1 Aspectos gerais sobre *Citrus* e gêneros afins

O gênero *Citrus* pertence à família Rutaceae, subfamília Aurantioideae, tribo Citreae e subtribo Citrinae e teria surgido no leste asiático em território que atualmente pertence à Índia, China, Butão, Birmânia e Malásia. Da Ásia, foi levado para o norte da África, e daí, para o Sul da Europa, de onde foi trazido para a América, antes de 1500 (SWINGLE; REECE, 1967; HASSE, 1987).

Além de *Citrus*, as frutas cítricas estão incluídas em outros gêneros como: *Severinia*, *Pleiospermium*, *Burkillanthus*, *Limnocitrus* e *Hesperetusa* considerados os mais primitivos; *Citropsis* e *Atalantia*, mais evoluídos que os anteriores, e *Poncirus*, *Fortunella*, *Microcitrus*, *Eremocitrus* e *Clymenia*. Estes últimos, em conjunto com *Citrus*, compõem o grupo das verdadeiras frutas cítricas, por possuírem frutos semelhantes à laranja ou ao limão (SWINGLE; REECE, 1967)

Os citros apresentam uma grande diversidade de espécies, variedades e clones. Um dos sistemas de classificação mais utilizado, proposto por Swingle (1943),

reconhece 16 espécies de *Citrus* (ARAÚJO; ROQUE, 2005) e, entre elas, estão as frutas cítricas que formam o grupo das laranjas doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck), tangerinas (*C. reticulata* Blanco, *C. clementina* hort. ex Tanaka, *C. tangerina* hort. ex Tanaka) e limões (*C. limon* L. Burm. f.) (SWINGLE; REECE, 1967). Ainda reúne dois gêneros com importância econômica: *Fortunella* cultivado em pequena escala e *Poncirus* utilizado como porta-enxerto (DONADIO; STUCHI; CYRILLO, 1998).

As plantas cítricas produzem flores perfeitas e as espécies e gêneros interpolinizam livremente. Esta grande afinidade entre espécies e gêneros permite que eles se cruzem naturalmente, com obtenção de híbridos férteis e alguns de valor comercial (CAMERON; SOOST, 1969; MOREIRA; PIO, 1991).

As plantas cítricas raramente são cultivadas no sistema de “pé-franco” e o método de propagação mais usual é a enxertia, ou seja, a união da variedade copa com um porta-enxerto mais adaptado a condições adversas, resultando em tolerância a estresses diversos, melhoria da qualidade dos frutos e aumento da produção (GROSSER; GMITTER JUNIOR, 1990).

A variabilidade genética presente nesses gêneros é bastante expressiva, podendo ser de grande utilidade particularmente em programas de melhoramento genético. O melhoramento dos citros para variedades de porta-enxerto ou copa pode ser realizado por seleção de genótipos superiores ou por cruzamentos controlados (hibridização). A facilidade em formar híbridos entre os *Citrus* e gêneros relacionados tem criado plantas com boas características para melhoramento. Vários estudos vêm sendo realizados com a finalidade de produzir novas combinações de cultivares copa e porta-enxertos, visando explorar, via cruzamentos, a variabilidade existente nas diferentes espécies de citros (CRISTOFANI, 1997; SIVIERO, 2001; SORES FILHO et al., 2003).

Apesar da facilidade de cruzamento, a obtenção de novas variedades de *Citrus* tem sido prejudicada por uma série de fatores relacionados à biologia reprodutiva como: ciclo longo, alta heterozigose, esterilidade de pólen e óvulo, sistemas de incompatibilidade gametofítica, ocorrência de apomixia facultativa via embrionia nucelar que resulta freqüentemente na ocorrência de sementes poliembrionias, e longa fase juvenil, com período mínimo de cinco anos para o aparecimento das primeiras flores e

frutos (FROST; SOOST, 1968; AMARAL et al., 2001). Essas características limitaram o impacto do melhoramento tradicional, por meio de cruzamentos controlados, no lançamento de novas variedades de citros (GROSSER; GMITTER JUNIOR, 1990). Outro fator que dificulta os trabalhos de melhoramento é o desconhecimento do modo de herança das características desejadas (CRISTOFANI, 1997). Mutações espontâneas são freqüentes em citros e tiveram um papel muito importante no seu processo evolutivo (NYBOM; KOCH, 1965). Práticas como a enxertia e a estaquia, comumente utilizadas na cultura, facilitaram a conservação e acumulação destas mutações, as quais foram as principais responsáveis pelo desenvolvimento de grande parte da variabilidade existente atualmente (DANTAS et al., 2001).

O melhoramento de citros tem como principais objetivos os relacionados à resistência a fatores abióticos (baixas temperaturas, alta salinidade do solo, estresse hídrico etc.) e bióticos (resistência a pragas e doenças). Características hortícolas tais como: coloração de frutos, menor número de sementes e ampliação do período de safra também são importantes nos programas de melhoramento. Algumas características são influenciadas pelo porta-enxerto, destacando-se o porte da planta, a precocidade da produção, a qualidade dos frutos, a tolerância a estresses e a tolerância ou resistência a doenças (POMPEU JÚNIOR, 1991).

Em relação aos porta-enxertos, além do limão 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck) e da laranja 'Azeda' (*C. aurantium* L.), inclui-se *Poncirus trifoliata*, que tem sido explorado em programas de melhoramento genético de citros em cruzamentos com diferentes espécies de *Citrus*, resultando na obtenção de inúmeras variedades porta-enxertos, entre as quais se encontram os citranges 'Carrizo' e 'Troyer' [*C. sinensis* (L.) Osbeck x *P. trifoliata*] e o citrumelo 'Swingle' (*C. paradisi* Macfad. x *P. trifoliata*), de ampla utilização comercial (SOOST; ROOSE, 1996).

O porta-enxerto predominante na citricultura brasileira, principalmente após a entrada do vírus da tristeza dos citros (CTV) na década de 40, é o limão 'Cravo', devido às suas características hortícolas muito favoráveis. É altamente tolerante à seca devido ao sistema radicular vigoroso e profundo, além de ser tolerante ao CTV (ROSSETTI, 1991), parcialmente tolerante à gomose de *Phytophthora* (AMORIM, 1997), embora suscetível ao declínio (POMPEU JÚNIOR, 2001). Entre os demais porta-

enxertos utilizados, citam-se a tangerina 'Cleopatra', *P. trifoliata* e o citrumelo 'Swingle' (SALVA, 2001).

P. trifoliata é um dos porta-enxertos mais usados na citricultura mundial, ocupando posição de destaque em alguns países como Japão, Austrália, Nova Zelândia, Argentina, Uruguai e EUA. A preferência por esta espécie dá-se em função de certas peculiaridades induzidas como as combinações copa/porta-enxerto de que participa que resultam em porte anão, tolerância à gomose, tolerância ao vírus da tristeza e a nematóides, produção de frutos de excelente qualidade, embora com média produtividade e baixa tolerância à seca (CASTLE et al., 1989). No Brasil, *P. trifoliata* é utilizado nas regiões de clima tropicais e temperados (FRANG et al, 1997). Na região Sul do país, os porta-enxertos Trifoliata Limeira e limão 'Cravo' têm sido os mais utilizados no Rio Grande do Sul, sendo importante à diversificação (OLIVEIRA et al., 2005). Estima-se que 90% das mudas produzidas neste Estado estão enxertadas sobre *P. trifoliata* (SCHÄFER; DORNELLES, 2000), principalmente por conferir tolerância ao frio (HERRERO et al., 1996). Apesar de sua baixa tolerância à seca, é utilizado sem irrigação com resultados satisfatórios (Citrolima, 2009). Segundo esta fonte, a suscetibilidade à seca pode ser favorável por evitar brotações contínuas que atraem mais pragas e são mais sujeitas a geadas, e por induzir safras mais tardias, além de contribuir para a redução do tamanho da copa a níveis de manejo e colheita mais fáceis.

2.2 Considerações gerais sobre *Phyllocnistis citrella*

2.2.1 Características bioecológicas

A lagarta-minadora-dos-citros *P. citrella*, também conhecida por minador-dos-citros ou larva-minadora-asiática, é um microlepidóptero de hábito minador, pertencente à família Gracillariidae e subfamília Phyllocnistinae (CÔNSOLI; ZUCCHI; LOPES, 1996). Em Lepidoptera, são encontrados organismos minadores em 34 famílias, com maior número de espécies em Gracillariidae. Estes organismos caracterizam-se por simultaneamente alimentar-se e habitar as folhas durante um ínstar larval ou um

período larval inteiro. Em todos os taxa de organismos minadores, apenas a larva se alimenta dentro das minas (AUERBACH; CONNOR; MOPPER, 1995).

O adulto de *P. citrella* é uma mariposa pequena que apresenta aproximadamente 4,0 mm de envergadura. Nas asas anteriores, observam-se escamas de coloração branca a prata, brilhantes, plumosas, com pêlos escuros distribuídos longitudinal e transversalmente. Estas são mais estreitas e apresentam uma mancha preta na região apical, característica da espécie (HEPPNER, 1993; ALBA, 1996, GALLO et al., 2002). Os adultos apresentam hábito noturno, período em que ocorre a cópula e oviposição, sendo que a emergência destes ocorre ao amanhecer. A cópula inicia-se num período de 9 a 72 h após sua emergência, com duração variável de 30 minutos a 9 horas (PANDEY; PANDEY, 1964; BATRA et al., 1988; KNAPP et al., 1994).

O dimorfismo sexual entre os adultos não é evidente (ALBA, 1996; JACAS; GARRIDO, 1996), embora a parte terminal do abdome das fêmeas apresente duas pequenas faixas escuras de escamas que se estendem do sétimo ao nono segmento abdominal, podendo ser visualizadas lateralmente no lóbulo do ovipositor, com auxílio de microscópio estereoscópico. A separação do sexo também pode ser efetuada na fase de pupa, onde se observa que 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 (JACAS; GARRIDO, 1996). A separação dos sexos na fase adulta é recomendada visando evitar o manuseio das frágeis pupas.

A oviposição é feita somente em folhas novas e preferencialmente na superfície abaxial das folhas. Os ovos concentram-se (mais de 80%) nas porções mediana e apical das folhas, principalmente na nervura principal (72,8%). Em casos de altas infestações, é comum se encontrarem ovos nos dois lados do limbo foliar (CHAGAS; PARRA, 2000).

Os ovos de *P. citrella* são de difícil visualização a olho nu, sendo convexos, translúcidos e medindo aproximadamente 0,3 mm. Tornam-se mais visíveis próximos à eclosão, quando assumem coloração amarelo-opaco (BATRA et al., 1988; GARIJO; GARCIA, 1994; ALBA, 1996). O tempo de duração do estágio de ovo é de 2,1 dias, a 25°C (CHAGAS; PARRA, 2000).

Após a eclosão, as lagartas penetram rapidamente no tecido foliar rompendo células epidérmicas e alimentando-se dos líquidos celulares liberados, iniciando a construção da mina na folha, onde permanecem por todo o desenvolvimento larval (GARIJO; GARCIA, 1994; WILLINK; SALAS; COSTILLA, 1996). *P. citrella*, na fase imatura, apresenta quatro ínstares, com duração de 1,5; 1,7; 1,6; 0,8 dia, respectivamente, a 25°C (CHAGAS; PARRA, 2000).

As minas da LMC apresentam formato peculiar de serpentina e coloração prateada e causam a separação da epiderme e do parênquima, espaço que é ocupado por ar e excrementos da larva, o que torna as folhas retorcidas no final do ataque sendo normalmente localizadas na superfície abaxial da folha. Normalmente, apenas uma lagarta se desenvolve por folha, podendo esse número aumentar para 2 ou 3 em altas infestações. Embora *P. citrella* tenha preferência por folhas novas, as lagartas podem se desenvolver no interior do pecíolo de brotações (SPONAGEL; DÍAZ, 1994) ou até mesmo em frutos (SPONAGEL; DÍAZ, 1994; HEPPNER, 1995). O desenvolvimento pupal ocorre dentro da mina, em uma célula pupal característica, localizada na margem da folha, formada pelo enrolamento de sua borda, unida por fios de seda. As pupas são obteatas, 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).

De acordo com Chagas e Parra (2000), os estádios de desenvolvimento da LMC são afetados pela temperatura. O tempo total de duração do ciclo varia entre 13 e 52 dias: a incubação leva entre 2 e 10 dias, a fase larval dura de 5 a 20 dias e a pupal de 6 a 22 dias. O número de gerações por ano pode variar entre 4 e 13 (HEPPNER, 1993; GARIJO; GARCIA, 1994; WILLINK; SALAS; COSTILLA, 1996; HOY; NGUYEN, 1997). Em condições favoráveis, o ciclo total deste inseto pode variar de 14 a 18 dias (SABINE, 1971). Batra et al. (1988) observaram grande intervalo na duração do ciclo da LMC, entre 14,4 e 54,5 dias, quando criada sob condições médias de temperatura de 31,5° e 13,7°C, respectivamente. Esta variação se deve à grande influência que os fatores ambientais exercem sobre o desenvolvimento das larvas. 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) (BATRA et al., 1988; WILSON, 1991; GARIJO; GARCIA, 1994).

2.2.2 Distribuição geográfica

P. citrella foi descrita por Stainton, em 1856, a partir de espécimes coletados na Índia. Apesar de existirem relatos na literatura que indiquem a ocorrência desta praga no Irã e no Iraque desde os anos 500 a.C., este inseto é originário do sudeste da Ásia (HEPPNER, 1993).

A LMC permaneceu sem expansão até 1986, restringindo-se aos países do leste da África, Ásia, Austrália, China, Índia, Japão, Filipinas, Tailândia, Nova Guiné e Ilhas do Pacífico, até Heppner (1993) registrá-la pela primeira vez em pomares de citros da Flórida (EUA). A partir daí, essa praga foi se dispersando para vários estados americanos (ARGOV E RÖSSLER, 1998), constituindo-se numa praga de importância econômica, especialmente, quando infesta plantios novos em pleno desenvolvimento vegetativo. Posteriormente, invadiu países do Mediterrâneo e da América Central como México (LEGASPI et al., 2001) e Cuba (VAZQUEZ MORENO; PEREZ VICENTE, 1997).

Em 1995, a LMC foi detectada na Colômbia (GARRIDO, 1995), Equador, Uruguai e Peru (SACARIAS; CANALES, 1999).

No Brasil, a LMC foi constatada pela primeira vez em março de 1996, na região de Limeira, no sul do estado de São Paulo (FEICHTENBERGER; RAGA, 1996). No final do mesmo ano, a praga foi encontrada no Piauí, no sul de Minas Gerais, a oeste do Paraná e de Santa Catarina, no Rio Grande do Sul, Bahia, Goiás, estando atualmente em todas as regiões citrícolas do país (CHIARADIA; MILANEZ, 1997; LOLATO; MORAES, 1997; LOPES; PAMPLONA; TELES, 1997; LIMA; AGUIAR, 1997; MOREIRA; MEDEIROS; DUARTE, 1997; SILVA et al., 1997; NASCIMENTO; VIDAL, 1998; RODRIGUES et al, 1998; MORAES et al., 1999). Ao final de 1996, também foi encontrada na Argentina e dispersou-se rapidamente por todo o país (SACARIAS; CANALES, 1999).

Segundo Hoy e Nguyen (1997), os fatores que contribuíram para esta ampla e rápida dispersão de *P. citrella* foram as altas taxas reprodutivas do inseto, com múltiplas

gerações por ano, o transporte de indivíduos das fases imaturas por mudas ou folhagens infestadas, o aumento do transporte global via navios e aviões e a boa capacidade de dispersão que os adultos parecem ter.

2.2.3 Plantas hospedeiras

P. citrella é comumente encontrada em plantas da família Rutaceae, sendo atraída principalmente por plantas de gênero *Citrus*, atacando todas as espécies e híbridos (HEPPNER, 1993; ARGOV; ROSSLER, 1996). Entretanto, também ocorre em plantas de outros gêneros da mesma família, como *Fortunella* spp., *Murraya* sp., *Poncirus* sp. e *Severiana* sp., e outras plantas alternativas pertencentes às famílias Oleaceae, Loranthaceae, Leguminosae e Lauraceae (HEPPNER, 1993; PRATES; NAKANO; GRAVENA 1996; WILLINK; SALAS; COSTILLA, 1996). Apesar de ser evidenciada a presença da LMC em várias espécies vegetais destas quatro últimas famílias citadas, o desenvolvimento completo do inseto até seu estágio adulto não ocorre nestes hospedeiros (CÔNSOLI et al., 2000).

2.2.4 Sintomas de ataque e danos

Embora *P. citrella* tenha preferência por folhas novas, há registros dessa praga atacando frutos e pecíolo das brotações, especialmente em variedades que apresentam ramos mais tenros (SPONAGEL; DÍAZ, 1994; HEPPNER, 1995). Os danos causados à planta dependem do nível de infestação da lagarta. Em situações de alta intensidade de ataque, há seguramente reflexos negativos no potencial produtivo do pomar (HEPPNER, 1993; PRATES, NAKANO; GRAVENA, 1996).

A LMC alimenta-se do tecido paliçádico de folhas novas, formando galerias (minas) entre a epiderme e o parênquima. As folhas infestadas enrolam-se e tornam-se cloróticas ou até necróticas, reduzindo a sua capacidade fotossintética. Na planta, ocorre queda prematura de folhas, redução no desenvolvimento de brotações novas, assim como perdas na produtividade (PENA; DUNCAN; BROWNING, 1996; MORAES et al., 1999; NASCIMENTO; SANTOS; CASSINO, 2000). Entretanto, os danos indiretos

são os mais preocupantes, pois os ferimentos abundantes produzidos pela lagarta expõem o mesófilo foliar servindo de porta de entrada para microorganismos, como a bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* e fungos saprófitas, como *Alternaria* spp. e *Paecilomyces* spp. (COOK, 1988). Segundo Gravena (2005), estas lesões também servem de abrigo para o ácaro-da-leprose.

2.2.5 Interação com o cancro cítrico

A citricultura já provocou vários impactos na economia brasileira, na maioria das vezes, relacionados a doenças. Em 1957, a citricultura no Brasil teve uma perda significativa com o surgimento do cancro cítrico, trazido do Japão para o estado de São Paulo, onde 300 mil plantas foram erradicadas.

Esta doença, causada por *X. axonopodis* pv. *citri* (Xac), causa lesões necróticas típicas nas folhas, galhos e frutos. Severas infecções nos citros causam desfolhação, queda prematura de frutos, seca de ponteiros e declínio generalizado da planta. Em adição à debilitação do citros e à perda de qualidade de frutos, a doença causa restrições na comercialização nacional e internacional de mudas e frutos *in natura* para regiões livres de patógenos. Essa doença conhecida mundialmente como *Asiatic Citrus Canker*, tem grande potencial devastador para algumas espécies de citros, cultivadas em áreas onde são registradas, simultaneamente, chuvas em abundância e temperaturas elevadas (PRUVOST et al., 1997).

Na tentativa de conter e erradicar a doença do parque cítricola brasileiro, foi criada a Campanha Nacional de Erradicação do Cancro Cítrico, utilizada até hoje pelo estado de São Paulo. A campanha de erradicação em São Paulo, apesar de não conseguir eliminar o cancro cítrico de seus pomares, permitiu durante várias décadas um relativo controle da doença e impediu a sua introdução na área nobre da citricultura paulista (FEICHTENBERGER; MÜLLER; GUIRADO, 1997).

Após o sinergismo da interação Xac e *P. citrella*, houve mudança no padrão de distribuição do cancro e, provavelmente, esta mudança esteja relacionada com a introdução, no país, em 1996, da LMC (LARANJEIRA et al., 2005), pois as injúrias provocadas por esta praga constituem-se num fator de aumento na intensidade do

cancro cítrico (CHAGAS et al., 2001; COOK, 1988; GOTTWALD; GRAHAM; SCHUBERT, 1997). Os ferimentos presentes nas plantas infestadas pelas lagartas facilitam a propagação da doença, e o inóculo transportado por respingos de chuvas, ventos e aerossóis tornou-se mais efetivo em infectar pomares localizados a distâncias maiores da fonte de inóculo inicial, havendo uma alteração na metodologia de erradicação do cancro cítrico no estado de São Paulo (BERGAMIN FILHO et al., 2001).

A LMC pode interagir com a Xac por dois caminhos: no primeiro, durante o processo de alimentação e formação de galerias, o mesófilo da folha fica exposto e a bactéria, quando em contato com a injúria da lagarta, penetra diretamente pelo mesófilo, causando infecção na folha. No segundo caminho, a LMC pode entrar em contato com a bactéria e a mesma ser transportada durante o processo de construção da mina, disseminando-a por todo interior da galeria (GOTTWALD; GRAHAM, 1992; GOTTWALD et al., 1993; GOTTWALD; GRAHAM; SCHUBERT, 1997).

Com o surgimento da LMC houve considerável aumento na severidade do cancro cítrico e mudança do comportamento da doença em pomares do Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo, assim como também na Flórida, EUA (GOTTWALD; GRAHAM; SCHUBERT, 1997; RODRIGUES et al., 1998; BERGAMIN FILHO et al., 2001).

Levantamentos realizados em pomares com Xac em outros países têm demonstrado significativa associação entre injúrias de LMC e a incidência do cancro. Folhas com galerias de LMC apresentam incidência e número de lesões de cancro maiores do que em folhas livres de LMC (COOK, 1988; HEPPNER, 1993). As pústulas de cancro cítrico desenvolvem-se, geralmente, somente em um dos lados da folha, coincidindo com as minas da LMC. Na maioria das vezes, as lesões coincidentes localizam-se na página inferior das folhas (COOK, 1988).

Segundo Venkateswarlu e Ramapandu (1992), amostragens em laranja doce na Índia revelaram que 48,35% das folhas com danos de *P. citrella* apresentaram também lesões do cancro cítrico. Por outro lado, apenas 3,18% das folhas sem danos da LMC apresentavam lesões de cancro cítrico. Os autores também avaliaram o número de lesões de cancro/folha e sua relação com a ocorrência do inseto. O número

médio de lesões de cancro foi de 3,9/folha, em folhas com danos do inseto, e de 1,36 para folhas livres de danos da praga.

Chagas et al. (2001) puderam observar que as fases imaturas da LMC foram responsáveis pelo aumento do cancro cítrico, pois em plantas inoculadas contendo lagartas de 2º e 3º ínstaes ou pupas, ocorreram elevados percentuais de folhas infectadas pela bactéria, da ordem de 94,3; 98,3 e 100%. Entretanto, indícios de aquisição de Xac por adultos de *P. citrella* e, conseqüentemente, a transmissão da bactéria por esta fase do inseto, não foi até o presente momento, constatada.

De acordo com o levantamento divulgado pelo Fundecitrus no ano de 2007, a incidência de cancro cítrico nos pomares do parque cítricola foi de 0,1%, sendo o menor número desde o ano de 2002, mas mesmo havendo esta diminuição no índice geral de contaminação de cancro cítrico nos pomares, o levantamento apontou novos focos da doença em duas regiões do estado de São Paulo (Fundecitrus, 2007). Desse modo, se faz necessário o incremento de estudos em alternativas de controle da LMC e, conseqüentemente, do cancro cítrico.

2.2.6. Métodos de controle

2.2.6.1 Controle químico

Na agricultura, um dos métodos de controle mais utilizados é o químico e em pomares cítricos esse método de controle tem predominado como medida de supressão populacional da LMC, principalmente através da utilização de compostos sintéticos (KNAPP et al., 1994). Baseando-se 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 e imidacloprid.

Prates; Nakano; Gravena (1996) recomendaram a utilização de imidacloprid, abamectin e 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 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.

Yamamoto; Roberto; Pria Jr. (2000) confirmaram a eficiência de acetamiprid e imidacloprid no controle de *P. citrella*.

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

O uso de produtos químicos, em princípio, parece vantajoso, pois modifica rapidamente, o nível populacional de um inseto-praga, reduzindo o dano num curto espaço de tempo, mas, da mesma forma que modificam as populações das pragas, também modificam as populações dos agentes naturais de controle, além do que a solução obtida com o uso de inseticidas é temporária (BERTI FILHO, 1994). Além disso, estudos têm mostrado que *P. citrella* tem desenvolvido um alto grau de resistência a uma gama de inseticidas (VILLANUEVA-JIMÉNEZ; HOY, 1998).

Nos EUA, já foi discutida a possibilidade de ocorrência de desequilíbrios na população de ácaros e cochonilhas, no caso de aplicações sucessivas de inseticidas de amplo espectro para controle de *P. citrella*. Diante disto, foram propostas pesquisas para a 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, estes últimos introduzidos da Ásia e Austrália (LOURENÇÃO; MÜLLER; PRATES, 1994).

2.2.6.2 Controle biológico

Os dados obtidos na literatura indicam que levantamentos sobre parasitóides e predadores, como possíveis agentes de controle da LMC, foram realizados em quase

todos os países produtores de citros que tiveram pomares invadidos por este inseto-praga.

Aproximadamente 80 parasitóides atacam a LMC em diferentes regiões do mundo, além de predadores, como crisopídeos, antocorídeos, formigas, vespas, aranhas entre outros (PARRA et al., 2005). No Brasil, é relatado também grande número destes inimigos naturais atacando esta praga. Em estudos preliminares realizados após a chegada de *P. citrella* ao país, foram apontados como parasitóides larvais e/ou pupais da LMC os microhimenópteros *Cirrospilus* spp. (Eulophidae), *Pachyneuron* sp. (Pteromalidae) e *Telenomus* sp. (Scelionidae) (PENTEADO-DIAS et al., 1997), *Elasmus* sp. (Elasmidae), *Eupelmus* sp. (Eupelmidae), *Conura* sp. (Chalcididae) e *Horismenus* spp. (Eulophidae) (COSTA et al., 1999; SÁ et al., 2000a), além de *Galeopsomyia fausta* (Eulophidae) (SÁ et al., 2000a), um parasitóide nativo e eficiente agente controlador da lagarta-minadora. Entre os predadores da LMC, citam-se crisopídeos e aranhas (RIBEIRO, 2002).

O parasitóide *Ageniaspis citricola* (Encyrtidae) também tem sido encontrado parasitando esta praga nos pomares citrícolas do estado de São Paulo. Após sua introdução em Jaguariúna, em 1998, esse parasitóide tornou-se predominante, representando 60,1% do total de parasitóides identificados, seguido por *G. fausta* com 38,3% (SÁ et al., 2000a). No entanto, a porcentagem de parasitismo destas duas espécies é diferente em outras regiões de São Paulo, onde as condições climáticas são semelhantes (Sá et al., 2000b).

Segundo Pomerinke; Stansly (1998), na Flórida, também ocorre a predominância de *A. citricola* sobre os parasitóides nativos. Nestes países, o parasitismo por esta espécie passou de 2 para 86% num período de 18 meses, enquanto que o parasitismo pelos parasitóides nativos caiu de 30 para 2% no mesmo período. A literatura mostra claramente a eficiência desta espécie, pois este parasitóide de ovos e lagartas de 1º instar de *P. citrella* é capaz de dispersar-se rapidamente promovendo, na maioria das vezes, altas porcentagens de controle, motivo pelo qual ele tem sido utilizado em programas de controle da LMC em vários países.

A atuação de predadores na mortalidade de *P. citrella* é menos estudada do que a de parasitóides, no entanto, atenção crescente tem sido dada ao papel de

predadores generalistas como reguladores de insetos herbívoros em agroecossistemas (AMALIN et al., 2002).

Browning e Peña (1995), estudando impactos de espécies nativas de inimigos naturais da LMC em pomares cítricos na Flórida e Honduras, observaram que *Chrysoperla rufilabris* (Chrysopidae), após três semanas de liberação, reduziu a população de *P. citrella* e que *Chrysopa bonensis* (Chrysopidae), em seu estágio larval, alimentou-se de 149 lagartas durante seu desenvolvimento. Os autores também relataram a ação de formigas, aranhas, tripes e percevejos como predadores das lagartas do minador. Entretanto, para o sucesso de programas de controle, sugerem que o controle biológico por estes agentes seja incrementado através da conservação e liberação suplementar, aumentando assim suas populações no campo para que sejam considerados efetivos no controle natural da praga.

Amalin et al. (2001), na Flórida, observaram o comportamento de predação das aranhas *Chiracanthium inclusum* (Clubionidae), *Trachelas volutus* (Corinnidae) e *Hibana velox* (Anyphaenidae) sobre a LMC e verificaram que todas têm atividade noturna e são capazes de localizar a presa por vibrações nas folhas decorrentes dos movimentos de larvas e pré-pupas do minador. Os autores também constataram que as duas primeiras espécies de aranhas conseguem completar seu desenvolvimento alimentando-se unicamente de *P. citrella*.

No Brasil, Gravena (1996) cita como predadores presentes na fauna de citros, o crisopídeo *Chrysoperla externa*, a formiga *Solenopsis saevissima*, as vespas *Brachygastra lecheguana*, *Protonectarina silvaire* e *Polybia* spp. e as aranhas *Oxyopes salticus* (Oxyopidae), *Phydipus audax* (Salticidae), *Cheirachantium inclusum* (Miturgidae) e *Misumenopsis* spp. (Thomisidae). Este mesmo autor (2001) observou que a presença de formigas e vespas anulou a ação de *A. citricola* em áreas de vegetação natural altamente diversificada, com porcentagem de predação de 62 e 68%, respectivamente, em duas fazendas no estado de São Paulo.

Embora a ação de predadores seja importante no controle de *P. citrella*, tem sido maior a utilização de parasitóides nativos ou introduzidos devido à facilidade de criação dos mesmos em laboratório.

Embora o controle natural da LMC por algumas espécies de parasitóides e predadores seja considerado alto, vale ressaltar a importância dos entomopatógenos como potenciais agentes de controle. Apesar de poucos relatos na literatura sobre esses agentes, a possibilidade do uso de entomopatógenos que tenham atividade contra outros insetos é promissora. Campos; Sepúlveda; Tume (2007) avaliaram a patogenicidade das bactérias *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* e *Pseudomonas mendocina* associadas aos insetos-praga *Anastrepha fraterculus*, *Ceratitis capitata* e *Rhynchophorus palmarum*, respectivamente, contra a LMC. Neste estudo, *P. mendocina* induziu a maior mortalidade (66,7%), enquanto que as outras provocaram 46,7% de mortalidade.

Apesar de sua importância, o controle biológico em muitas situações não é suficiente para manter a praga em nível de equilíbrio, havendo necessidade de se lançar mão de outros métodos que possam auxiliar no controle desta praga.

2.2.6.3 Controle cultural

Como medida de controle cultural para a LMC, a poda de brotações visando uniformizar os fluxos de crescimento, redução na fertirrigação e níveis de irrigação no verão e no outono quando ocorrem altas populações da praga é uma forma de minimizar os danos (KNAPP et al., 1995). Entretanto, nas condições da Flórida, têm-se encontrado dificuldades para implantação dessas medidas devido às grandes tempestades que ocorrem na região.

Na China, há décadas, foram adotadas práticas culturais para o minador com grande eficácia: eliminação de brotações novas na primavera, verão e outono; coletas e destruição das folhas caídas e fertilização e irrigação ótimas (ZHANG; O'LEARY; QUARLES, 1994). Estes autores recomendam também estas práticas culturais para plantações de citros nos EUA.

A poda em plantas de citros, caracterizada principalmente pela retirada de ramos e brotos, é uma prática cultural realizada principalmente nos EUA e nos principais países produtores de frutas cítricas para mesa (LEWIS; MCCARTY, 1973, citados por CARVALHO et al., 2005).

No Brasil, é uma prática cultural de uso restrito e pouco freqüente. Seu uso cresceu com o objetivo de auxiliar no arejamento dos pomares adensados e no controle da Clorose Variegada dos Citros (CVC) (CARVALHO et al., 2005).

2.2.6.4 Controle por semioquímicos

A comunicação é parte integrante do comportamento animal, e diferentemente dos outros animais que utilizam amplamente a visão e a audição, os insetos utilizam o sistema olfativo, através de sinais químicos, como fonte primária de informação (BENTO; PARRA-PEDRAZZOLI, 2006). Para os insetos, estes sinais são utilizados para a localização de presas, defesa, seleção de plantas hospedeiras, escolha dos locais para oviposição, corte e acasalamento (TEGONI; CAMPANACCI; CAMBILLAU, 2004).

Odores químicos denominados semioquímicos (“sinais químicos”) são especialmente importantes tanto na comunicação interespecífica quanto na intraespecífica. Esta última em particular, bem desenvolvida nos insetos, envolve o uso de substâncias químicas denominadas feromônios (GULLAN; CRANSTON, 2008).

Os machos e fêmeas de insetos da mesma espécie comunicam-se com freqüência por meio de feromônios sexuais (GULLAN; CRANSTON, 2008). Estudos de comportamento de insetos visando à obtenção e síntese desses feromônios vêm aumentando muito nos últimos anos principalmente entre os insetos da ordem Lepidoptera e, mais freqüentemente, entre os microlepidópteros. O uso destes feromônios tem se mostrado eficiente e promissor para o manejo de insetos-praga em um grande número de culturas (VILELA, 1988; LIMA FILHO; RISCADO, 1988; BOTELHO et al., 1993; ATTYGALLE et al. 1995; UNELIUS et al, 1996; LEAL et al 2001; BENTO et al., 2001; ALI MAFI et al., 2005).

Estudos relacionados ao feromônio sexual da LMC têm sido relatados desde os anos 80. Ando et al. (1985), no Japão, descobriram acidentalmente num ensaio de seleção de atraentes para espécies de Gelechiidae, que o composto (Z,Z)-7,11-hexadecadienal (Z7Z11-16Ald) poderia atrair essa praga. Desde então, este composto vinha sendo sugerido erroneamente por diversos autores como atraente sexual da LMC

(UJIYE, 1990; YEN; CHANG, 1991). Somente no final da década de 80, Du et al. (1989) demonstraram que esse composto tratava-se, na verdade, de um forte atraente sexual para *Phyllocnistis wampella* Liu et Zeng, mostrando-se pouco atrativo para *P. citrella*. Este composto foi testado em outras partes do mundo como China, Espanha, Flórida e Itália, tendo sido verificado que, de fato, a substância não foi atrativa para *P. citrella* (DU et al., 1989; JACAS; PENA, 2002; SANT'ANA et al., 2003).

No Brasil foi investigada a atração de machos da LMC ao composto (Z,Z)-7,11-hexadecadienal e ao seu isômero (Z,E)-7,11-hexadecadienal em diferentes quantidades: 1, 100 e 1000 mg/septo no estado de São Paulo e 100 mg/septo no Rio Grande do Sul. Em São Paulo, o septo mais atraente foi o que continha 100 mg e o composto (Z,Z)-7,11-hexadecadienal atraiu 3,23% em contraste com a testemunha (96,77%) constituída por fêmeas virgens. No Rio Grande do Sul, os aldeídos (Z,Z) e (Z,E)-7,11-hexadecadienal não deferiram entre si (10,86 e 8,23%), mas propiciaram capturas significativamente maiores em relação à testemunha (0,63%) Para as duas localidades, os pesquisadores consideraram baixa a atratividade dos isômeros. (SANT'ANA et al., 2003).

Moreira; Steven Mcelfresh; Millar (2006), em estudos realizados nos EUA, relataram que (7Z,11Z)-hexadecadienal é somente um componente do feromônio da LMC e, isoladamente, não induz resposta do inseto. Entretanto, no mesmo estudo, foi registrado pela primeira vez que um outro componente análogo ao primeiro, o (7Z,11Z, 13E)-hexadecatrienal, é essencial para atração dos insetos. Os autores sintetizaram estereoisômeros dos dois compostos e alguns análogos e observaram que, em campo, nenhum composto, isoladamente, foi atrativo para machos, mas a mistura dos dois foi altamente atrativa. Relatam ainda que a adição do isômero (7Z,11Z, 13Z)-hexadecatrienal causou a inibição do poder de atração dos dois componentes da mistura.

Entre vários estudos voltados para o comportamento deste inseto realizados por Parra-Pedrazzoli et al. (2006), foi observada a existência de um feromônio sexual mediando o acasalamento de *P. citrella*, pois mais de 60% dos machos foram atraídos para papel de filtro contendo o extrato natural do feromônio enquanto que 5% foram atraídos para papel sem extrato (controle). Relatam ainda que a resposta dos machos

em relação ao feromônio sexual foi imediata e que, além da forte atração, os machos permaneceram sobre o papel filtro contendo o feromônio sexual. Os resultados desta pesquisa foram primordiais para a identificação e síntese do feromônio sexual da LMC.

Em estudo realizado para a identificação e síntese do feromônio sexual de *P. citrella*, foi verificado que Z7Z11E13-16Ald e Z7Z11-16Ald são os componentes principais do feromônio da LMC, pois a sua mistura, na proporção de 3:1, capturou um grande número de machos da espécie, sendo este número dez vezes superior ao número de machos capturados pelas próprias fêmeas virgens (PARRA-PEDRAZZOLI, 2006).

Lapointe et al. (2006) testaram os dois componentes citados anteriormente em área experimental na Flórida e também obtiveram uma resposta significativa na captura de machos da LMC. Além disso, testaram as alturas de captura de 0,7, 1,3 e 2,0 m não obtendo diferença significativa entre os tratamentos em seis dias de avaliação. Assim, comprova-se a eficiência desse feromônio, o qual poderá ser utilizado em pomares para monitorar a população da LMC.

O componente 7Z, 11Z - 16Ald e compostos estruturalmente relacionados com ele foram testados em diferentes misturas não sendo observado efeito sinérgico, porém os derivados monoenil inibiram fortemente a atividade do componente dienil do feromônio. Além disso, em experimentos conduzidos em campo, com o objetivo de desenvolver um método de interrupção no acasalamento de LMC, não foi observada captura de machos nos tratamentos utilizando recipiente de polietileno enquanto que o tratamento controle capturou de 27-127 machos, porém não houve diferença significativa com relação ao número de ovos e larvas nas brotações (ALI MAFI et al., 2005).

2.3 Resistência de citros a *P. citrella*

Entre outros métodos que podem auxiliar no controle da LMC, cita-se o emprego de plantas resistentes a insetos considerado o método ideal de controle pela possibilidade de permitir a manutenção da praga em níveis inferiores ao de dano econômico, sem causar prejuízos ao ambiente e sem custo adicional ao agricultor. Além

disso, devido sua compatibilidade com os demais métodos de controle, torna-se uma técnica ideal para ser utilizada em qualquer programa de manejo de pragas (GALLO et al., 2002).

Muitas são as variedades cítricas hospedeiras de *P. citrella* (HEPPNER, 1993) entre as quais, algumas têm sido utilizadas para criação em laboratório, como: limão 'Rugoso' (*Citrus jambhiri* Lush) (ARGOV; RÖSSLER, 1998; SACARIAS; CANALES, 1999); limão [*Citrus limon* (L.) Osbeck], laranjas (*Citrus sinensis* Osbeck), citrumelo 'Swingle' (*P. trifoliata* x *Citrus paradisi*) e limas ácidas [*C. latifolia* e *C. aurantiifolia*] (SMITH; HOY, 1995); limão 'Volkameriano' (*Citrus volkameriana*) e limão 'Cravo' [*Citrus limonia* (L.) Osbeck] (ARGOV; RÖSSLER, 1998; CHAGAS; PARRA, 2000); tangerina 'Cleópatra' (*Citrus reshni* hort. Ex. Tanaka), trifoliata (*P. trifoliata*) (SACARIAS; CANALES, 1999) entre outras.

Alguns estudos já foram feitos na tentativa de se encontrarem variedades cítricas resistentes ao ataque da LMC por antibiose ou não-preferência para oviposição (BATRA E SANDHU, 1983; BATRA et al., 1988; WILSON, 1991).

Em estudo para verificar a resistência em diferentes variedades de citros verificou-se que a sobrevivência das larvas de *P. citrella* foi menor nas plantas de citrange 'Troyer' (*Citrus sinensis* x *Poncirus trifoliata*) (22,4%) do que no porta-enxerto *C. jambhiri* 'Jatti Khatti' (67,2%). Os estágios larval e pupal tiveram duração maiores em 'Troyer' do que em 'Jatti Khatti', indicando resistência na primeira cultivar citada (BATRA; SANDHU, 1983).

Foram realizadas avaliações na Índia com 80 genótipos de citros e destes apenas o híbrido Rubidoux Califórnia e *P. trifoliata* (cv. Trifoliata Austrália) foram classificadas como resistentes, pois não sofreram infestação. Dos restantes, 10 variedades foram classificados como altamente suscetíveis, 24 como suscetíveis, três moderadamente resistentes e 41 moderadamente tolerantes à LMC (VERMA, 1989).

Wilson (1991) testou quatro variedades de citros, baseando-se na proporção de folhas minadas pela LMC e constatou que o pomelo 'Marsh Seedless' (*Citrus paradisi* Macfad.) teve maior dano na área foliar, tanto na superfície adaxial quanto na abaxial, do que as demais plantas testadas: os limões 'Lisboa' e 'Meyer' [*C. limon* (L.) Burm. F.] e pomelo 'Wheeney' (*C. paradisi*).

Testes realizados na Flórida por Peña e Ducan (1993) determinaram que o citrumelo 'Swingle' foi classificado como resistente ao ataque da LMC, quando comparado às outras 35 cultivares observadas.

Na Espanha, estudos neste sentido constataram que *P. citrella* atacou todas as variedades cítricas, embora tenha se observado menor porcentagem de ataque em *P. trifoliata* (GARIJO; GARCIA, 1994).

Padmanaban (1994), testando 31 variedades ou espécies de citros, em relação ao ataque da lagarta-minadora, em dois anos consecutivos, constatou que, em ambos os anos, todas as variedades testadas, com exceção de *P. trifoliata* apresentaram infestação. No primeiro ano, a infestação média para as diferentes variedades ou espécies de citros mostrou que duas espécies (*Citrus taiwanica* e *P. trifoliata*) foram menos suscetíveis (< 5%) enquanto que, dois híbridos (*P. trifoliata* x *Citrus sinensis* e tangerina 'Kinnow' e cinco espécies (*C. latipes*, *C. volkameriana*, *C. reshni*, *C. limon* e *C. sinensis*) foram suscetíveis (< 20%) à LMC. No segundo ano, o genótipo mais suscetível foi o híbrido Dulcis Malta (73,34% de infestação) e o menos foi a tangerina 'Kinnow' (8,34%). Nos dois anos, *Citrus karna* e *P. trifoliata* (8,5 e 23,9% de infestação, respectivamente) mostraram-se menos suscetíveis a esta praga.

Jacas et al. (1997) estudaram 11 espécies e 635 porta-enxertos de citros em laboratório e em campo e constataram que quase todas as espécies testadas foram suscetíveis à LMC. Das 11 espécies testadas em laboratório, somente duas (*Murraya koenigii* e *Glycosmis pentaphylla*) mostraram efeitos antibióticos sobre as larvas de *P. citrella*. Dos 635 porta-enxertos testados, nenhum mostrou resistência substancial à LMC, embora cinco destes tenham escapado da infestação do inseto, devido ao modelo especial de suas brotações. Embora não tenham encontrado resultados satisfatórios neste estudo, os autores não descartaram a possibilidade de associação das variedades promissoras com o controle biológico no combate a esta praga, o que reduziria a utilização de produtos químicos.

Em estudos realizados em condições de semi-campo em cinco cultivares de limas ácidas - lima ácida 'Kagzi' (*C. aurantifolia*), lima ácida 'Galego', lima 'Seedless', lima 'Zumukhiya', e lima 'Addinimma' -, Patel e Patel (2001) observaram diferenças no desenvolvimento da LMC.

Díaz et al. (2006) avaliaram o comportamento populacional da LMC em viveiros e observaram maior preferência pelo limão 'Rugoso' seguido pelo citrange 'Carrizo' e uma menor pelo citrange 'Troyer'.

Bernet et al. (2005) analisaram geneticamente uma progênie de citros derivada do cruzamento de *Citrus aurantium* e *P. trifoliata* e detectaram dois locus de características quantitativas (LCQ) para antibiose e seis para antixenose de uma amostragem de 42 destas espécies. Descreveram que em *P. trifoliata* encontra-se um importante gene para antibiose e um alelo associado com antixenose, além de um marcador (TAA52) não agrupado para esta mesma característica. Para *C. aurantium*, relatam a existência de um gene para antibiose e quatro para antixenose em relação à LMC.

No Brasil, Milano (2002) observou o comportamento de oviposição em quatro genótipos de citros: limão 'Volkameriano', *P. trifoliata*, citrange 'Carrizo' e citrumelo 'Swingle' com e sem chance de escolha e verificou que, em teste de livre escolha, houve preferência de *P. citrella* pelo limão 'Volkameriano' em relação aos outros genótipos, com média de 10,8 ovos por planta.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no laboratório de Resistência de Plantas a Insetos e em casa-de-vegetação do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP), com a lagarta-minadora *Phyllocnistis citrella* Station, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae) em 23 genótipos de citros.

3.1 Criação de manutenção de *P. citrella*

A criação da lagarta-minadora-dos-citros (LMC) foi estabelecida em laboratório baseando-se na metodologia proposta por Chagas; Parra (2000). Para tal, foram utilizadas gaiolas cúbicas de alumínio com 50 cm de aresta, com paredes superior, posterior e laterais recobertas por tela branca anti-afídeo. Na parte frontal da gaiola, confeccionada em acrílico, foi instalada uma “manga” feita de tecido *voil*, em uma abertura circular de 20 cm de diâmetro para facilitar a liberação dos insetos e a retirada de plantas do seu interior e duas portas de 30 x 50 cm para facilitar o manuseio das grades de metal onde eram acondicionadas as plantas evitando assim, a fuga dos adultos (Figura 1). As gaiolas foram dispostas em estantes de metal.

O hospedeiro da LMC utilizado na criação foi limão ‘Cravo’ (*Citrus limona* L. Osbeck) fornecidas pelo Centro APTA Citros Sylvio Moreira e pela Citrograf. As plantas foram cultivadas em “tubetes” plásticos de 20 cm de altura por 1,5 cm de diâmetro em substrato contendo vermiculita e composto vegetal (1:1) e utilizadas quando atingiam 25 a 30 cm de altura (Figura 1).

As plantas foram mantidas em bandejas de isopor com capacidade para 60 unidades sobre bancadas em casa-de-vegetação, onde sofreram podas a 1/3 do ápice, e foram adubadas com Miracle-Gro® (15-30-15 de NPK, contendo os micronutrientes boro, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco). Posteriormente, foram acondicionadas em bandejas plásticas de 35 cm x 40 cm x 8 cm, contendo uma solução nutritiva (2g de adubo/2 L de água) sobre bancadas de ferro em casa-de-vegetação por cinco dias. Após este período, foram retiradas e mantidas em bandejas de isopor com capacidade para 60 plantas sobre bancadas no mesmo local por 15 a 17 dias, quando

surgiram as primeiras brotações, as quais foram expostas à infestação por *P. citrella*, nas gaiolas de postura.

As mudas de limão 'Cravo' foram expostas à infestação de *P. citrella* por dois dias, liberando-se um casal do inseto para cada grupo de três plantas. A alimentação dos insetos foi constituída de pequenos "filetes" de mel puro, distribuídos nas paredes de acrílico das gaiolas. Após este período, as mudas foram vistoriadas para detectar a presença dos ovos, visíveis somente através de um foco de luz. Uma vez constatada a presença dos ovos nas mudas, estas foram transferidas para bandejas plásticas contendo água e acondicionadas em prateleiras nas condições ambientais citadas anteriormente para o desenvolvimento do inseto.

Ao 13º dia, dois dias antes da emergência, prevista com base em Chagas; Parra (2000), as folhas contendo pupas da LMC foram cortadas e mantidas em "câmaras de emergência", formadas por recipientes plásticos de 18 cm x 30 cm x 6 cm, forrados com papel filtro umedecido na base. As tampas dos recipientes eram providas de três a quatro aberturas circulares de 2,5 cm de diâmetro, recobertos com tecido "voil" para permitir a aeração, evitar o excesso de umidade e impedir a fuga dos adultos. Para alimentação dos adultos, foram colocadas gotículas de mel nas tampas dos recipientes. As "câmaras de emergência" foram mantidas em câmaras climatizadas do tipo BOD, em temperaturas variadas, para atender ao cronograma da criação. Os adultos foram coletados das câmaras com o auxílio de tubos de vidro de 10 mm x 0,75 mm de diâmetro, separados por sexo para posterior liberação nas gaiolas de teste.

Figura 1 - Gaiolas utilizadas para criação da lagarta-minadora em laboratório. A: vista frontal. B: vista lateral da gaiola. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas

3.2 Genótipos de citros avaliados

Nessa etapa foram avaliados 23 genótipos (Tabela 1). As plantas dos genótipos utilizados nos testes foram multiplicadas no Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC. Estas foram cultivadas em sacos plásticos pretos de 20 cm x 35 cm de altura por 20 cm de diâmetro, com capacidade para 3,8 L, contendo substrato comercial constituído de casca de pinus compostada e vermiculita com densidade de 500 kg m^{-3} .

As mudas foram mantidas em casa-de-vegetação, onde sofreram podas a 1/3 do ápice, e fertirrigadas a fim de serem supridas nutricionalmente. Na fertirrigação, os

nutrientes foram aplicados em forma de solução nutritiva, com a seguinte composição final em mg.L^{-1} : $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 = 58,2$; $\text{Fe} = 10,8$; $\text{K}_2\text{SO}_4 = 5,4$; $\text{KNO}_3 = 40$; $\text{MAP} = 10,8$; $\text{MgSO}_4 = 16,4$; $(\text{NH}_4)^+(\text{NO}_3)^- = 1,4$, $\text{ZnSO}_4 = 2,73$. A solução foi preparada com base na formulação utilizada pelo Centro APTA Citros Sylvio Moreira. A fertirrigação era aplicada duas vezes por semana (às segundas e quartas-feiras), empregando-se um volume de 150 ml por planta (300 ml semanalmente). Uma vez por semana (às sextas-feiras) aplicava-se a mesma quantidade (150 ml) de água por planta.

Para realização dos testes, os genótipos foram escolhidos de acordo com a padronização das brotações, as quais foram inicialmente lavadas, em água corrente. Quando necessário, utilizava-se água e detergente, a fim de eliminar ácaros e/ou insetos (pulgões, moscas-brancas, entre outros) uma vez que, na presença destes artrópodes, a fêmea da LMC não realiza postura. Após este procedimento, as plantas com aproximadamente 50 cm de altura foram dispostas em gaiolas para posterior infestação por *P. citrella*.

Tabela 1 - Genótipos avaliados para resistência à lagarta-minadora-dos-citros (*Phyllocnistis citrella*)

Grupo	Gênero/espécie	Nome comum
Laranjas	<i>Citrus sinensis</i> L. (Osbeck)	Laranja 'Pêra'
	<i>C. sinensis</i> L. (Osbeck)	Laranja 'Valência'
	<i>C. sinensis</i> L. (Osbeck)	Laranja 'Hamlin'
	<i>C. sinensis</i> L. (Osbeck)	Lima 'Sorocaba'
	<i>Citrus aurantium</i> L. (Osbeck)	Laranja 'Azeda São Paulo'
Toranja	<i>Citrus grandis</i> L. (Osbeck)	Toranja 'Ogamé'
Tangerinas	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	Tangerina 'Cravo'
	<i>C. reticulata</i> Blanco	Tangerina 'Ponkan'
	<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tanaka	Tangerina 'Sunki'
Limas ácidas	<i>Citrus latifolia</i> Tanaka	Lima ácida 'Tahiti'
	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.	Lima ácida 'Siciliano'
Pomelo	<i>Citrus paradisi</i> Macf.	Pomelo 'Marsh Seedless'
Híbridos	<i>C. sinensis</i> x <i>C. reticulata</i>	Tangor 'Murcott'
	<i>C. paradisi</i> x <i>P. trifoliata</i> (L.) Raf.	Citrumelo 'Swingle'
	<i>C. sinensis</i> x <i>P. trifoliata</i>	Citrange 'Troyer'
	<i>C. sunki</i> x <i>P. trifoliata</i>	C x R ₄
	<i>C. sunki</i> x <i>P. trifoliata</i>	C x R ₃₁₅
	<i>C. sinensis</i> x Tangor Murcott	M x P ₃₃
	<i>C. sinensis</i> x Tangor Murcott	M x P ₁₂
	<i>C. sinensis</i> x Tangor Murcott	M x P ₂₂₂
Gêneros afins	<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.	Trifoliata Limeira
	<i>Fortunella</i> sp.	Fortunella
	<i>Calamondin</i> sp.	Calamondin
Testemunha	<i>Citrus jambhiri</i> Lush	Limão 'Rugoso'

3.3. Avaliação do tempo de exposição e do número de casais de *P. citrella* por planta adequados para estudos de resistência

Em razão da necessidade de padronizar as condições para realização dos ensaios subseqüentes, foi feito um teste a fim de definir o tempo e número ideal de casais por planta. Para realização deste bioensaio, utilizaram-se os tratamentos (nº de casais/plantas) nas proporções de 2:1, 3:1 e 4:1 por três períodos (48, 72 e 96 horas).

O bioensaio foi realizado em gaiolas cúbicas de alumínio descritas no item 3.1 diferenciando apenas na altura (60 cm, nesse teste). No interior de cada gaiola foi colocada uma folha de isopor, fitas adesivas e cola de isopor para vedar, de modo que dividisse a gaiola em duas partes, impedindo a passagem dos insetos de um lado para o outro e, possibilitando, assim a montagem de dois testes simultaneamente (Figura 2). Em cada lado colocou-se uma planta de limão 'Rugoso' em brotação com 50 cm de altura e foram liberados os números de casais por planta de acordo com os tratamentos descritos anteriormente. Os insetos foram alimentados com "filetes" de mel distribuídos de forma aleatória na porta das gaiolas.

Os ensaios foram conduzidos à temperatura de $25\pm1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm10\%$ e fotofase de 14 horas sendo realizadas seis repetições para cada tratamento. Após os períodos determinados, foi realizada a contagem do número de ovos do inseto com o auxílio de um foco luminoso.

Divisão da gaiola confeccionada com folha de isopor.

Figura 2 - Vista geral da gaiola com o genótipo padrão em cada lado (A). Detalhe de como foi feita a divisão da gaiola para montagem de dois experimentos simultâneos (B)

3.4 Screening para identificação dos genótipos resistentes a *P. citrella*

Para a realização deste teste, as mudas dos 23 genótipos descritos (Tabela 1) foram distribuídas em gaiolas (iguais às descritas no item 3.1) em laboratório à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Foram montados sete blocos contendo cinco gaiolas. Em quatro gaiolas foram colocados cinco genótipos testes mais o genótipo padrão (limão 'Rugoso') por gaiola, e em uma das gaiolas três genótipos testes mais o genótipo padrão (Figura 3). Estes foram distribuídos nos blocos de forma aleatória e equidistantes entre si. Cada gaiola constituiu uma repetição. No interior destas, foram liberados os adultos de *P. citrella*, na proporção de três casais por planta. Para cada grupo de seis (cinco referentes aos testes e um padrão) e quatro genótipos (três referentes aos testes e um padrão), foram realizadas sete repetições.

Os adultos permaneceram na gaiola por 72 horas, período determinado preliminarmente (item 3.3) como ideal para que ocorra a oviposição. Após este período, os adultos foram retirados, os ovos contados e as plantas deixadas em laboratório para eclosão das lagartas. As plantas foram vistoriadas a cada 48 horas para verificar se

havia pupas antes do 13º dia. Treze dias após a infestação, foi feita a contagem do número de pupas em cada genótipo.

Para comparar os materiais, aplicou-se um Índice de Resistência (IR) adaptado de SMITH; BRIM (1979), para todos os genótipos testados, levando-se em conta, separadamente, o número de ovos e o número de pupas. O IR foi calculado pela fórmula: $IR = [(A - B) / (A + B)] \times 100$, onde: A = número de ovos ou de pupas no genótipo teste; B = número de ovos ou de pupas no genótipo padrão.

Desse modo, o índice, que varia de -100 (alta resistência) a +100 (alta suscetibilidade), permite a comparação entre todos os genótipos testados, mesmo que avaliados em grupos distintos.

Figura 3 - *Screening* inicial para escolha dos genótipos mais promissores. Distribuição dos genótipos nas gaiolas

3.5 Não-preferência para oviposição de *P. citrella* nos genótipos selecionados

Visando avaliar a não-preferência de oviposição de *P. citrella* com chance de escolha, foram utilizadas mudas dos cinco genótipos selecionados (com base nos dados obtidos no item 3.4) como resistentes à praga: tangerina 'Sunki', os híbridos de *Citrus* C x R₄; C x R₃₁₅, M x P₂₂₂ e o gênero afim *P. trifoliata* (Trifoliata Limeira). Além desses materiais, incluiu-se o limão 'Rugoso' como padrão de suscetibilidade para

condução dos testes de livre escolha e sem chance de escolha (confinamento), em condições de laboratório.

3.5.1 Não-preferência com chance de escolha

Inicialmente, adultos recém-emergidos com 0 a 24 horas após a emergência foram sexados para a formação de casais. A separação dos sexos de *P. citrella* foi realizada pela observação do final do abdome das mariposas, em microscópio estereoscópico, considerando que a fêmea possui dois “tufos” de escamas negras laterais, no sétimo segmento abdominal, na região do pigídeo, característica ausente no macho (Jacas; Garrido, 1996) (Figura 4).

Para obtenção das posturas, plantas de cada genótipo foram dispostas nas gaiolas de forma aleatória e equidistantes entre si usando a densidade de três casais de *P. citrella* por planta (conforme descrito no item 3.3), totalizando 18 casais, que permaneceram nas gaiolas por 72 horas. Após este período, os adultos foram retirados e os ovos contados com auxílio de foco luminoso e, quando necessário, sob microscópio estereoscópico.

Os ensaios foram conduzidos à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas em sete repetições, onde cada repetição foi composta pelos seis genótipos, incluindo a testemunha (padrão suscetível).

Figura 4 – Parte terminal do abdome de macho e fêmea de *Phyllocnistis citrella*. (A e B) Detalhe da parte externa e interna do macho. (C) Detalhe da parte externa da fêmea com faixa de escamas pretas no pigídio

3.5.2 Não-preferência sem chance de escolha (confinamento)

Para esse bioensaio, foram utilizadas gaiolas cúbicas iguais às descritas no item 3.3, separadas por folha de isopor (Figura 2). Em cada lado colocou-se uma planta de um dos genótipos em brotação com 50 cm de altura e foram liberados três casais por planta. Os insetos permaneceram por 72 horas e foram alimentados com “filetes” de mel distribuídos de forma aleatória na porta das gaiolas. Após este período, foi realizada a contagem dos ovos do minador com o auxílio de um foco luminoso e, quando necessário, sob microscópio estereoscópico.

Os ensaios foram conduzidos à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas, em blocos ao acaso sendo realizadas sete repetições para cada tratamento.

3.6 Efeito dos genótipos selecionados sobre a biologia de *P. citrella*

Neste experimento objetivou-se avaliar o efeito dos seis genótipos selecionados no item 3.4 sobre o ciclo biológico (ovo à morte do adulto) de *P. citrella*.

Para obtenção das posturas, três casais foram confinados em gaiolas denominadas câmaras nupciais por 24 horas para adaptação e acasalamento. Estas foram confeccionadas com recipiente plástico “PS” (poli-estireno) com capacidade para 100 ml com tampas e forrados com disco de papel filtro umedecido. As tampas dos recipientes eram providas de uma abertura circular de 0,75 mm de diâmetro no centro, onde foi acoplado um tubo de vidro de 10 mm de altura x 0,75 mm de diâmetro (Figura 5). Para permitir a aeração, evitando assim o excesso de umidade, foram feitos furos com alfinete entomológico em toda a superfície da tampa. Após este período adaptativo, os adultos foram transferidos para as gaiolas de postura permanecendo por 48 horas, completando assim as 72 horas necessárias para obtenção de uma quantidade adequada de ovos, conforme constatado no item 3.3. Após este período, os adultos foram retirados e os ovos presentes nas folhas contados sob microscópio estereoscópico.

Para este bioensaio, foi utilizado o número de ovos disponíveis nas folhas. Após a contagem dos ovos, as plantas foram devolvidas as gaiolas devidamente limpas evitando assim contato com insetos que porventura pudessem ter escapado. As plantas foram observadas diariamente para saber o dia exato da emergência e mortalidade das larvas, formação e mortalidade das pupas e emergência dos adultos.

O experimento foi realizado em delineamento em blocos ao acaso, considerando os seis genótipos como tratamentos, sendo cada planta uma repetição, totalizando cinco repetições com número variável de ovos por tratamento (cerca de 15 a 40 ovos/planta) dependendo do genótipo.

No 13º dia após infestação, as folhas contendo pupas da LMC foram cortadas e transferidas para a câmara de emergência individual idêntica às utilizadas para acasalamento dos casais (Figura 5 A) e mantidas no laboratório à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas até a emergência dos adultos para realização do teste de longevidade. As plantas contendo insetos que ainda não tinham se transformado em pupa foram recolocadas nas gaiolas de postura para que o restante das larvas completasse essa fase.

Neste experimento foram avaliados os seguintes parâmetros: duração e viabilidade das fases larval e pupal, peso e tamanho das pupas, longevidade de adultos (macho e fêmea), fecundidade e razão sexual.

A mortalidade da fase de ovo-larva foi avaliada pela diferença entre o número de pupas e a quantidade de ovos encontrados inicialmente nas folhas.

3.6.1 Avaliação do tamanho e peso pupal

O tamanho e o peso das pupas foram avaliados ao 13º dia após a infestação. Essa padronização foi adotada para se garantir que a grande maioria das larvas tinha se transformado em pupa neste período, já que se tratava de diferentes genótipos. Para a avaliação destes dois parâmetros, as plantas foram infestadas com três casais de adultos da LMC por 72 horas em cinco repetições. Após este período, os adultos foram retirados e as plantas permaneceram nas gaiolas até o 13º dia. Neste dia, as pupas foram retiradas da câmara pupal (confeccionada nas folhas), pesadas e medidas. Para

a obtenção do peso médio, as pupas foram agrupadas em lotes e pesadas através de uma balança analítica com precisão de 0,1 mg e o tamanho medido através de um dispositivo digital de medição de cápsula cefálica (marca Wild modelo MMS 235, acoplado ao microscópio).

3.6.2 Avaliação da razão sexual e da longevidade dos adultos

Para determinar o efeito dos genótipos sobre a longevidade dos adultos de *P. citrella*, pupas oriundas de cada genótipo foram individualizadas em gaiolas iguais às utilizadas anteriormente (item 3.6; Figura 5 A e B) com e sem alimento, sendo utilizadas 35 pupas para cada tratamento. Após a emergência dos insetos, foram feitas observações diárias para saber o dia exato da emergência e morte dos mesmos. A sexagem foi feita por ocasião da emergência dos adultos com auxílio de microscópio estereoscópico.

Figura 5 - Gaiolas confeccionadas com recipiente plástico descartável para obtenção de adultos virgens de *Phyllocnistis citrella* para estudo de longevidade com e sem alimento. A: detalhe da gaiola e B: vista geral da disposição das gaiolas

3.6.3 Avaliação da fecundidade e fertilidade

Para avaliar o número de ovos dos indivíduos provenientes de cada genótipo, plantas foram infestadas com três casais da LMC por 72 horas. Após este período, os adultos foram retirados e as plantas permaneceram nas gaiolas até o 13º dia. Em seguida, as folhas foram cortadas e transferidas para câmaras de emergência devidamente etiquetadas. Estas câmaras eram vistoriadas diariamente e, assim que era constatada a emergência dos adultos, estes eram sexados para formação de casais. Para cada genótipo foram formados um total de 20 casais sendo distribuídos dois por planta. Estes foram colocados em gaiolas confeccionadas com garrafas “PET” poli (tereftalato de etileno) transparentes (Figura 6 A e B). Para tal, foram retirados os fundos das garrafas para facilitar a adaptação em placas de Petri médias e feita uma abertura na parte frontal da gaiola, a qual foi vedada com *voil*. Na boca da garrafa também foi colocado *voil* preso com elástico. Dentro de cada garrafa foi colocado um genótipo comum a todos, limão ‘Cravo’ (*Citrus limonia* L. Osbeck), preso em um suporte constituído de um pote plástico descartável e areia lavada estéril. Nas paredes da gaiola foram distribuídos pequenos “filetes” de mel puro para alimentação dos adultos. Os “tubetes” eram substituídos a cada 48 horas, num total de 10 repetições. A cada substituição, os ovos eram contados e no 5º dia uma nova contagem foi realizada para a avaliação da fertilidade. Os ensaios foram conduzidos, à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas, em delineamento em blocos ao acaso.

Figura 6 - Gaiolas utilizadas nos testes de fecundidade de *Phyllocnistis citrella*. A: detalhe da gaiola e B: Vista geral da disposição das gaiolas com as repetições de cada genótipo

3.6.4 Cálculo do Potencial Reprodutivo Corrigido (PRC)

Para facilitar as conclusões referentes aos efeitos dos genótipos sobre o desenvolvimento e reprodução do inseto, foi calculado o Potencial Reprodutivo Corrigido (PRC) segundo Vendramim; Fancelli (1988).

De acordo com o PRC obtido, foi definido o impacto que cada genótipo causa sobre o crescimento populacional desta praga, permitindo, desta forma identificar, o grau de resistência de cada genótipo.

3.7 Avaliação da tolerância dos genótipos a *P. citrella*

3.7.1 Teste preliminar com o genótipo padrão

O objetivo deste teste preliminar foi o de determinar a densidade do inseto (número de insetos/planta) capaz de provocar danos significativos à planta e a seleção dos melhores parâmetros para avaliar tolerância de citros ao ataque da LMC em laboratório. Para tanto, foram utilizadas plantas de limão ‘Rugoso’ com

aproximadamente 50 cm de altura apresentando brotações. Destas foram selecionados quatro ramos com dimensões padronizadas, sendo os mesmos marcados em sua base com marcador de tinta permanente de diferentes cores para avaliação dos diversos parâmetros. As plantas foram individualizadas em gaiolas semelhantes às utilizadas nos testes de preferência para oviposição em confinamento (item 3.3). Em cada lado da gaiola, colocou-se uma planta, liberando-se no interior deste compartimento o inseto em diferentes densidades (tratamentos): 0, 3, 6, 9 e 12 (casais/planta). Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. A parcela constou de uma planta (infestada com ovos) mantida no interior da gaiola por 13 dias. Durante este período, as plantas eram inspecionadas para avaliação do número de larvas, comprimento e largura das folhas, pois estes eram mais bem caracterizados antes de 13º dia. Os ensaios foram conduzidos à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Nesta etapa, foram avaliados os seguintes parâmetros: comprimento dos ramos, comprimento e largura das folhas, número de folhas por ramo, número de larvas nas folhas, danos nas folhas, brotações novas por planta e peso fresco e seco dos ramos.

3.7.1.1 Avaliação do comprimento das folhas e dos ramos e largura das folhas

Para determinar a alteração de crescimento dos ramos, o comprimento destes, foi medido no 1º e no 13º dia com auxílio de uma régua de 40 cm, obtendo assim, as medidas iniciais e finais. O mesmo procedimento foi adotado para obter o comprimento e largura das folhas, modificando apenas o dia de avaliação final para o 8º dia, pois a partir do 9º dia as folhas iniciavam o processo de enrolamento o que poderia dificultar a avaliação destes parâmetros.

3.7.1.2 Avaliação do número de larvas

No 5º dia após infestação da LMC, foi computado o número de larvas nas folhas, tanto na parte adaxial como na abaxial.

3.7.1.3 Avaliação do número de brotações novas

A contagem do número de brotações novas foi realizada em toda planta no 13º dia.

3.7.1.4 Avaliação dos pesos fresco e seco dos ramos

Para esta avaliação, os ramos foram individualizados em envelopes de papel devidamente etiquetados e utilizou-se uma balança analítica com precisão de 0,1 mg. A pesagem foi feita imediatamente após o corte dos ramos para obtenção do peso fresco de cada tratamento. Em seguida, estes foram colocados em estufa à 40°C por 48 horas e após este período cada ramo foi novamente pesado obtendo-se assim o peso seco.

3.7.1.5 Avaliação do dano nas folhas

Para definir o dano nas folhas estas foram avaliadas visualmente. Foi atribuída às folhas atacadas a seguinte classificação: atacadas e não enroladas (ANE), parcialmente enroladas (PE), enroladas (EN) (Figura 7).

Figura 7 - Categorias de classificação para folhas de limão 'Rugoso' em relação ao ataque de *Phyllocnistis citrella*: atacadas e não enroladas (A), parcialmente enroladas (B) e enroladas (C)

3.7.2 Bioensaio com os genótipos selecionados

Com base nos resultados do teste preliminar, foi determinado para o bioensaio com os genótipos selecionados (item 3.4) o uso de seis casais/planta como o número de insetos adequado para provocar dano significativo e 20 larvas por planta para avaliação dos parâmetros nos genótipos testes.

Para tal, foram testados os genótipos: tangerina 'Sunki', os híbridos C x R₄; C x R₃₁₅, M x P₂₂₂ e o gênero afim Trifoliata Limeira, incluindo-se ainda o limão 'Rugoso' como padrão de suscetibilidade. Cada genótipo foi individualizado em gaiolas, onde foram liberados os casais de *P. citrella* para a oviposição. As plantas permaneceram nas gaiolas por três dias, e após este período os insetos foram retirados. No 5º dia, as larvas foram contadas, mantendo-se um total de 20 larvas por planta, sendo as excedentes eliminadas com o auxílio de estilete confeccionado com alfinete entomológico nº zero e bambu. As plantas foram acondicionadas novamente nas gaiolas e retiradas no 13º dia para avaliação.

Apesar de apenas o parâmetro quantitativo, número de brotações novas e o qualitativo, dano foliar, terem sido significativos entre os tratamentos no teste preliminar,

optou-se também por continuar a avaliar o peso fresco e seco, já que se tratava de genótipos diferentes. Para a avaliação destes parâmetros utilizou-se a mesma metodologia do teste preliminar.

Considerando-se a diferença entre os genótipos principalmente em relação à morfologia das folhas nos genótipos Trifoliata Limeira e seus híbridos C x R₄ e C x R₃₁₅, as quais são trifolioladas, utilizaram-se para estes genótipos as categorias de danos para folhas enroladas (EN), parcialmente enroladas (PE), atacadas e não enroladas (ANE) conforme ilustrado na Figura 8. Para a classificação do dano foliar nos genótipos tangerina 'Sunki', e o híbrido M x P₂₂₂, contudo, manteve-se a mesma classificação (Figura 7) adotada no teste preliminar com limão 'Rugoso', pois estes três materiais possuem folhas unifoliadas e morfologicamente semelhantes.

Figura 8 - Categorias de classificação para os genótipos de citros em relação ao ataque de *Phyllocnistis citrella*: folhas trifoliolada enrolada (A), parcialmente enrolada (B) e atacada e não enrolada (C)

Sabendo-se que cada genótipo apresenta diferentes taxas de crescimento, para fins de comparação foram utilizadas como padrão, plantas sem infestação dos respectivos genótipos. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com cinco repetições para cada tratamento, representando cada planta uma repetição.

3.8 Análise estatística

Os dados de todos os experimentos foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk para verificar se apresentavam distribuição normal. Quando isso ocorria, foram utilizados testes paramétricos e quando os dados não apresentavam distribuição normal, eles foram transformados a fim de normalizá-los e, em seguida, analisado por meio de testes não paramétricos para contrastar diferenças entre os genótipos.

Para a realização das análises paramétricas e não paramétricas utilizou-se o software estatístico R, e para a construção do fenograma visando o agrupamento dos genótipos mais similares nos experimentos de tolerância utilizou-se o software STATISTICA 6.0.

Com a finalidade de definir os genótipos mais promissores utilizou-se o Índice de Resistência (IR) e o desvio padrão de cada genótipo para determinar o intervalo de classificação (ICI) para as médias dos tratamentos (genótipos) pela fórmula:

$$ICI = 0 \pm t_{(n-1; \alpha=0,05)} \times \frac{DP}{\sqrt{n}}, \text{ onde: } t = \text{valor de "t" tabelado; DP = Desvio padrão e } \sqrt{n} =$$

número de repetições. Com base nessa fórmula, os genótipos foram considerados neutros quando os valores de IR estiveram dentro do intervalo de classificação, não-preferidos (resistentes) quando estiveram abaixo desse intervalo e preferidos (suscetíveis) quando estiveram acima deste. A partir desta avaliação foi possível selecionar os genótipos mais promissores (resistentes).

Para o cálculo do Potencial Reprodutivo Corrigido (PRC) utilizou-se a fórmula: $PRC = (rs \times A)^n$, onde: rs = razão sexual = n° de ♀ / (n° de ♀ + n° de ♂); A = número de adultos aptos à reprodução; n = número de gerações que o inseto apresenta durante o período para o qual está sendo determinado o PRC.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação do tempo de exposição e do número de casais de *P. citrella* por planta adequados para estudos de resistência

Com base nos resultados obtidos (Tabela 2), verifica-se que não foi significativa a interação entre os fatores número de casais de *P. citrella* e tempo de exposição ($F=1,28$). Em relação ao número de casais/planta (com 50 a 70 cm de altura), constatou-se que o número médio de ovos (considerando-se as três densidades de casais) foi menor (3,05 ovos/planta) após 48 horas de exposição da planta aos insetos em comparação com os tratamentos em que as plantas ficaram expostas por 72 horas (32,89 ovos/planta) e 96 horas (28,67 ovos/planta) (Tabela 2). Assim, considerando-se a baixa oviposição verificada com 48 horas de exposição, pode-se inferir que este tempo não é recomendado para realização de testes de oviposição em plantas com mais de 50 cm de altura, pois nesse estágio de desenvolvimento, a área foliar é relativamente maior requerendo, conseqüentemente, maior tempo para exploração do local adequado para oviposição. A menor oviposição com 48 horas também pode estar relacionada com a manipulação dos insetos para montagem das gaiolas, o que pode lhes causar estresse o que poderia requerer um certo tempo para readaptação.

Já na comparação entre as densidades de adultos por planta, os valores médios de número de ovos/planta (considerando-se os três tempos de exposição) também diferiram entre si, constatando-se o menor valor (14,17 ovos por planta) na menor densidade (2 casais/planta) em comparação com as duas maiores densidades em que os valores foram de 25,78 ovos/planta (densidade de 3 casais/planta) e 24,67 ovos/planta (densidade 4 casais/planta) (Tabela 2).

Segundo Milano (2002), para plantas a partir de 60 cm de altura é necessário um número maior do que 2 casais de *P. citrella* por planta para se obter um número adequado de posturas, em razão da superfície foliar relativamente alta apresentada por plantas com esse porte.

Embora em princípio se pudesse esperar um maior número de ovos quanto maior o número de casais e maior o tempo de exposição isso não aconteceu na

comparação entre os dois maiores tempos e entre as duas maiores densidades. O não aumento no número de ovos na maior densidade (4 casais/planta) em relação à densidade intermediária provavelmente tenha sido devido à baixa variação entre essas duas densidades. Provavelmente, o número de casais utilizado não tenha sido suficientemente alto para que as folhas fossem totalmente utilizadas para a oviposição, situação em que diferenças nos resultados poderiam ser observadas.

Greve; Redaelli (2005), comparando a distribuição da lagarta-minadora-dos-citros (LMC) em pomares orgânico e convencional, não encontraram diferença no nível populacional da praga entre os dois locais, atribuindo isso ao fato de que a população da praga não tenha sido suficientemente alta para que o recurso (folhas) fosse utilizado de forma homogênea.

Já Rao; Pathak; Shylesha (2002) relataram que a distribuição da LMC em campo com baixas e altas densidades mostraram-se diferentes. É provável que, nesse caso, a diferença tenha ocorrido devido ao fato de que, nos níveis populacionais elevados, as folhas tenham sido totalmente utilizadas, não havendo possibilidade de escolhas pelos melhores locais de oviposição.

Assim, baseando-se nos resultados para realização dos testes seguintes foi utilizada a proporção de 3 casais/planta e o tempo de exposição de 72 horas.

Tabela 2 - Número médio de ovos de *Phyllocnistis citrella* por planta de limão 'Rugoso' com diferentes densidades de casais por planta em diferentes períodos de exposição. Temp.: 25±1°C; UR: 70±10% e fotofase: 14 horas

Nº de casais/planta	Tempo (horas)			Média
	48	72	96	
2	0,50	19,83	22,17	14,17 b
3	5,83	37,50	34,00	25,78 a
4	2,83	41,33	29,83	24,67 a
Média	3,05 b	32,89 a	28,67 a	-----

Médias seguidas pela mesma letra na linha e na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

4.2 Screening para identificação dos genótipos resistentes a *P. citrella*

Embora tenham sido observadas posturas nas brotações de todas as espécies testadas, houve variação entre os genótipos em função dos valores do IR tanto em relação ao número de ovos (Tabela 3 e Figura 9 A), como em relação ao número de pupas (Tabela 4 e Figura 9 B).

Com base nos resultados referentes à oviposição de *P. citrella* nos 23 genótipos testados e considerando os valores médios dos IRs obtidos, os genótipos tangerina 'Sunki', os híbridos C x R₄, C x R₃₁₅, M x P₂₂₂ e Trifoliata Limeira, que tiveram IRs negativos abaixo do intervalo de -32,3 a -66,2 (Tabela 3) podem ser considerados como menos preferidos para oviposição.

Para os híbridos C x R₄, C x R₃₁₅ e para Trifoliata Limeira, a não-preferência pode estar relacionada ao tipo de folhas, que são trifolioladas com superfície foliar relativamente estreita. Segundo Jacas et al. (1997), as espécies de *Citrus* apresentam diferentes padrões de brotação durante o ano, o que, juntamente com algumas diferenças interespecíficas no padrão foliar, pode afetar o uso do hospedeiro pela LMC.

Para os demais genótipos (tangerina 'Sunki' e o híbrido M x P₂₂₂), apesar de terem o mesmo formato de folhas, eles se diferenciam no tamanho de área foliar. Além dessa diferença, é possível que a menor preferência por essas variedades esteja relacionada a outros fatores morfológicos, físicos e químicos, os quais podem estar atuando sobre o inseto interferindo na preferência para oviposição em alguns dos genótipos.

Todos os demais materiais (laranjas 'Pêra', 'Valência', 'Hamlin', 'Lima Sorocaba' e 'Azeda São Paulo'; toranja 'Ogamé'; tangerinas 'Ponkan' e 'Cravo'; pomelo 'Marsh Seedless'; limas ácidas 'Tahiti' e 'Siciliano'; os híbridos tangor 'Murcott', citrumelo citrange 'Troyer', M x P₃₃ e M x P₁₂, e os gêneros afins *Fortunella* e *Calamondin*) foram classificados como neutros quanto ao número de ovos, não se constatando, em relação a esse parâmetro, nenhum genótipo suscetível (Tabela 3).

Dos genótipos classificados como neutros neste estudo, a laranja 'Azeda São Paulo', testada na Espanha, em condições de laboratório, foi a terceira mais ovipositada

entre sete genótipos testados (URRUTIA; MARÍ, 2002). No presente estudo, esse genótipo tendeu a ser um dos mais ovipositados dentro do grupo em que foi testado.

Em ensaios de campo no Rio Grande do Sul, em pomar orgânico, com o objetivo de avaliar a dinâmica populacional da LMC, foi observado que no híbrido tangor 'Murcott' foram registrados os menores números de minas/folha (1,5) e de larvas/folha (0,85) em relação a *Citrus deliciosa* (cv. Montenegrina) (JESUS; REDAELLI; DAL SOGLIO, 2008). No presente estudo, este mesmo genótipo foi o mais ovipositado dentro do grupo no qual foi testado. Diante da diferença nos resultados encontrados, vale ressaltar que para ensaios em campo só a presença de folhas jovens nas plantas não é um fator determinante para a escolha do local de oviposição pela LMC, já que vários outros fatores como densidade populacional da praga, condições climáticas e presença de inimigos naturais, entre outros, também interferem na oviposição do inseto.

Em estudos realizados na Argentina, em condições de laboratório, com laranja 'Valência', limão 'Eureka' e pomelo 'Ducan', em teste com e sem chance de escolha, não foi encontrada diferença significativa entre a densidade de ovos colocados pela LMC. Nos testes de campo, entretanto, com os mesmos genótipos, a LMC teve preferência por plantas de limão (GOANE; VALLADARES; WILLINK, 2008).

No que se refere ao número de pupas, os genótipos menos preferidos pela LMC também foram: tangerina 'Sunki', os híbridos C x R₄, C x R₃₁₅, M x P₂₂₂ e Trifoliata Limeira para os quais os valores de IR variaram de -29,5 a -68,3 (Tabela 4).

Os demais genótipos (laranjas 'Pêra', 'Valência', 'Hamlin', 'Lima Sorocaba' e 'Azeda São Paulo'; toranja 'Ogamé'; tangerinas 'Ponkan' e 'Cravo'; pomelo 'Marsh Seedless'; limas ácidas 'Tahiti' e 'Siciliano'; híbridos tangor 'Murcott', citrumelo 'Swingle', citrange 'Troyer', M x P₃₃ e M x P₁₂, e os gêneros afins *Fortunella* e *Calamondin*) se comportaram como neutros em relação aos valores de IR (Tabela 4). De modo análogo ao que tinha sido observado para o número de ovos, também nesse caso, com base no IR, nenhum genótipo se comportou como suscetível a *P. citrella*.

Assim, de acordo com os resultados obtidos, observa-se que a tangerina 'Sunki'; os híbridos C x R₄, C x R₃₁₅, M x P₂₂₂ e Trifoliata Limeira comportaram-se como menos preferidos tanto em relação ao número de ovos como em relação ao número de

pupas. Da mesma forma as laranjas 'Pêra', 'Valência', 'Hamlim', 'Lima Sorocaba' e 'Azeda São Paulo'; a toranja 'Ogamé'; as tangerinas 'Ponkan' e 'Cravo'; o pomelo 'Marsh Seedless'; as limas ácidas 'Tahiti' e 'Siciliano'; os híbridos tangor 'Murcott', citrumelo 'Swingle', citrange 'Troyer', M x P₃₃ e M x P₁₂, e os gêneros afins *Fortunella* e *Calamondin* comportaram-se como neutros considerando-se os dois parâmetros de avaliação (Tabelas 3 e 4).

Assim, de modo geral, constatou-se que, os 23 genótipos testados, apresentaram o mesmo tipo de comportamento (resistente ou neutro) para os dois parâmetros testados (Tabelas 3 e 4; Figura 9 A e B).

Em teste de laboratório, na Espanha, Jacas et al. (1997) observaram que, entre 12 genótipos testados, *P. trifoliata* e *P. trifoliata* var. *monstrosa* foram as que tiveram menor área foliar consumida. No presente trabalho, entre os materiais avaliados, *P. trifoliata* (Trifoliata Limeira) foi o que teve o menor IR, caracterizando-se assim como um dos menos preferidos, tanto para número de ovos (-66,2) como para número de pupas (-68,3), o que o torna um genótipo promissor para ser empregado como porta-enxerto resistente à LMC no Brasil.

Tabela 3 - Média, índice de resistência (média $\pm$ desvio padrão), intervalo de classificação e a classificação dos genótipos em relação ao número de ovos de *Phyllocnistis citrella* nas brotações. Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas

Genótipos	Média (M)	IR ² (M $\pm$ DP)	ICI ³	CI ⁴
Padrão ¹	54,6	-----	-----	-----
Tangerina 'Ponkan'	30,0	-36,9 $\pm$ 48,77	$\pm$ 48,73	N
Híbrido M x P ₁₂	26,6	-31,6 $\pm$ 36,96	$\pm$ 36,93	N
Laranja 'Hamlin'	31,0	-29,1 $\pm$ 43,24	$\pm$ 43,20	N
Fortunella	35,0	-28,4 $\pm$ 50,80	$\pm$ 50,76	N
Laranja 'Pêra'	40,9	-13,1 $\pm$ 42,82	$\pm$ 42,79	N
Padrão ¹	42,3	-----	-----	-----
Híbrido M x P ₂₂₂	11,1	-62,4 $\pm$ 45,34	$\pm$ 45,30	R
Tangerina 'Sunki'	20,0	-32,3 $\pm$ 17,08	$\pm$ 17,07	R
Tangerina 'Cravo'	36,4	-19,2 $\pm$ 45,45	$\pm$ 45,41	N
Calamondin	39,6	-17,3 $\pm$ 42,60	$\pm$ 42,56	N
Laranja 'Azeda São Paulo'	36,9	-16,5 $\pm$ 54,71	$\pm$ 54,67	N
Padrão ¹	38,4	-----	-----	-----
Trifoliata Limeira	6,1	-66,2 $\pm$ 20,08	$\pm$ 20,06	R
Híbrido C x R ₄	9,1	-56,3 $\pm$ 32,44	$\pm$ 32,42	R
Híbrido C x R ₃₁₅	11,4	-55,4 $\pm$ 46,00	$\pm$ 45,96	R
Híbrido citrange 'Troyer'	20,9	-29,0 $\pm$ 46,54	$\pm$ 46,50	N
Híbrido citrumelo 'Swingle'	31,7	-25,0 $\pm$ 58,86	$\pm$ 58,81	N
Padrão ¹	25,6	-----	-----	-----
Laranja 'Lima Sorocaba'	54,4	+20,3 $\pm$ 55,67	$\pm$ 55,63	N
Lima ácida 'Siciliano'	47,0	+19,6 $\pm$ 58,80	$\pm$ 58,75	N
Híbrido M x P ₃₃	22,1	-16,9 $\pm$ 35,11	$\pm$ 35,08	N
Lima ácida 'Tahiti'	50,4	+13,0 $\pm$ 43,89	$\pm$ 45,85	N
Toranja 'Ogamé'	32,4	+2,2 $\pm$ 67,62	$\pm$ 57,01	N
Padrão ¹	30,3	-----	-----	-----
Pomelo 'Marsh seedles'	20,6	-33,7 $\pm$ 35,18	$\pm$ 35,15	N
Laranja 'Valência'	41,6	+21,8 $\pm$ 22,31	$\pm$ 22,29	N
Híbrido tangor 'Murcott'	44,7	+10,1 $\pm$ 52,36	$\pm$ 52,32	N

1. Limão 'Rugoso'

2. Índice de resistência

3. Intervalo de classificação

4. Classificação: R= resistente; N= neutro; S= suscetível.

Tabela 4 - Média, índice de resistência (média $\pm$ desvio padrão), intervalo de classificação e a classificação em relação ao número de pupas de *Phyllocnistis citrella* nas brotações de diferentes genótipos. Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas

Genótipos	Média (M)	IR ² (M $\pm$ DP)	ICI ³	CI ⁴
Padrão ¹	47,7	-----	-----	-----
Tangerina 'Ponkan'	20,7	-42,0 $\pm$ 44,55	$\pm$ 44,51	N
Fortunella	22,9	-35,0 $\pm$ 43,32	$\pm$ 43,28	N
Híbrido M x P ₁₂	22,9	-32,2 $\pm$ 36,46	$\pm$ 36,43	N
Laranja 'Hamlin'	27,3	-30,8 $\pm$ 38,02	$\pm$ 37,99	N
Laranja 'Pêra'	32,4	-17,1 $\pm$ 43,10	$\pm$ 43,07	N
Padrão ¹	31,1	-----	-----	-----
Híbrido M x P ₂₂₂	8,9	-60,4 $\pm$ 45,48	$\pm$ 45,45	R
Calamondin	29,9	-14,3 $\pm$ 42,39	$\pm$ 42,35	N
Tangerina 'Sunki'	15,9	-29,5 $\pm$ 18,19	$\pm$ 18,17	R
Tangerina 'Cravo'	24,1	-20,3 $\pm$ 45,19	$\pm$ 45,15	N
Laranja 'Azeda São Paulo'	33,9	-14,3 $\pm$ 45,74	$\pm$ 45,70	N
Padrão ¹	34,6	-----	-----	-----
Trifoliata Limeira	5,6	-68,3 $\pm$ 20,22	$\pm$ 20,20	R
Híbrido C x R ₄	7,9	-58,3 $\pm$ 28,40	$\pm$ 28,38	R
Híbrido C x R ₃₁₅	10,4	-55,5 $\pm$ 42,85	$\pm$ 42,81	R
Híbrido citrange 'Troyer'	18,0	-33,5 $\pm$ 44,60	$\pm$ 44,56	N
Híbrido citrumelo 'Swingle'	25,4	-30,9 $\pm$ 49,43	$\pm$ 49,39	N
Padrão ¹	20,9	-----	-----	-----
Híbrido M x P ₃₃	16,6	-22,7 $\pm$ 30,31	$\pm$ 30,28	N
Laranja 'Lima Sorocaba'	35,4	+18,8 $\pm$ 49,37	$\pm$ 49,33	N
Lima ácida 'Siciliano'	42,1	+20,4 $\pm$ 58,00	$\pm$ 57,95	N
Toranja 'Ogamé'	29,9	+5,3 $\pm$ 60,91	$\pm$ 60,86	N
Lima ácida 'Tahiti'	38,6	+12,5 $\pm$ 42,83	$\pm$ 42,80	N
Padrão ¹	27,7	-----	-----	-----
Pomelo 'Marsh seedles'	19,0	-33,1 $\pm$ 33,15	$\pm$ 33,12	N
Laranja 'Valência'	33,4	+17,0 $\pm$ 27,89	$\pm$ 27,86	N
Híbrido tangor 'Murcott'	36,4	+2,6 $\pm$ 51,24	$\pm$ 51,20	N

1. Limão 'Rugoso'

2. Índice de resistência

3. Intervalo de classificação

4. Classificação: R= resistente; N= neutro; S= suscetível.

Figura 9 - Índice de resistência (IR) para oviposição de *Phyllocnistis citrella* em diferentes genótipos de citros. Em cinza os menos preferidos e em preto os neutros, de acordo com o intervalo de classificação. **A:** Em relação ao número de ovos. **B:** Em relação ao número de pupas. Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14 horas

4.3 Não-preferência para oviposição de *P. citrella* nos genótipos selecionados

4.3.1 Não-preferência com chance de escolha

Com base nos resultados obtidos, foram constatadas diferenças significativas entre os genótipos de citros em relação ao número de ovos no teste com chance de escolha ($F= 13,59$; $P=0,001$). O híbrido C x R₃₁₅ e Trifoliata Limeira foram os genótipos menos preferidos pela LMC com número médio de 17,86 e 18,43 ovos/planta, respectivamente, valores significativamente menores que os registrados nos demais materiais com exceção do híbrido C x R₄ (22,14 ovos/planta). A tangerina 'Sunki' (53,43 ovos/planta) foi intermediária no que se refere à oviposição pela LMC não diferindo do híbrido C x R₄ e, tampouco, da testemunha limão 'Rugoso' e do híbrido M x P₂₂₂ que apresentaram, respectivamente, 85,43 e 91,29 ovos/planta e foram os materiais mais preferidos para oviposição do inseto (Figura 10).

A escolha do hospedeiro pela fêmea pode acarretar implicações ecológicas e evolucionárias para a progênie e a performance larval pode ser fortemente afetada por essa escolha (THOMPSON, 1988). Essa pressão seletiva para que as fêmeas coloquem seus ovos em hospedeiros com alta qualidade de recursos para alimentação parece ser particularmente forte em insetos de hábito minador, pois muitos deles são restritos a se alimentar nos locais de oviposição (PRINCE, 1997), como é o caso da LMC. Desse modo, insetos que se alimentam de uma gama de espécies de plantas tendem a mostrar preferência hierárquica, preferindo colocar seus ovos em hospedeiro onde a adequação para sua prole seja maior (WEST; CUNNINGHAM, 2002). Isso pode explicar a maior preferência da LMC pelo híbrido M x P₂₂₂ no teste com chance de escolha.

O hábito alimentar dos insetos fitófagos minadores requer uma maior superfície para que eles possam se movimentar e se manter nutridos. Assim, sugere-se que a maior preferência para oviposição nos genótipos limão 'Rugoso', M x P₂₂₂ e tangerina 'Sunki', deve-se ao fato de eles apresentarem folhas mais largas e, deste modo, poderem oferecer melhores condições de sobrevivência para a progênie. Já os genótipos C x R₄, C x R₃₁₅ e Trifoliata Limeira possuem folhas trifolioladas, mais

estreitas, o que pode ter contribuído para a menor preferência para oviposição da LMC nos referidos materiais.

Castro et al. (2002) relatam que os genótipos citrangeres 'Carrizo' e 'Troyer' mostraram resistência a infestações de folhas jovens pela LMC. Embora estes materiais não tenham sido testados nesta etapa dos testes, ambos apresentam arquitetura foliar semelhante aos híbridos C x R₄, C x R₃₁₅ e ao genótipo Trifoliata Limeira.

Figura 10 - Número médio de ovos de *Phyllocnistis citrella* em testes de não-preferência para oviposição com chance de escolha em diferentes genótipos de citros. Temp.: 25±1°C; UR: 70±10% e fotofase: 14 horas

4.3.2 Não-preferência sem chance de escolha (confinamento)

Já no teste sem chance de escolha, o efeito dos genótipos foi bem menos evidente, constatando-se diferença ($F= 2,56$; $P=0,04$) apenas entre os genótipos Trifoliata Limeira, menos ovipositado, com 18,14 ovos/planta e o limão 'Rugoso', mais ovipositado, com 35,71 ovos/planta, sendo que a postura nos outros quatro genótipos

(variável de 21,71 a 28,86 ovos/planta) não diferiu dos valores registrados naqueles materiais (Figura 11).

Díaz et al. (2006), em estudos de semi-campo (viveiro comercial) em Cuba, também determinaram o efeito de genótipos de citros na postura da LMC. Neste estudo, *P. citrella* mostrou maior preferência pelo limão 'Rugoso'. Esta referência baseada em observações de semi-campo corroboram os resultados obtidos neste trabalho, onde este genótipo, utilizado com padrão, foi o segundo mais preferido no teste com chance e o mais preferido no teste sem chance de escolha.

Em estudo realizado por Radmann et al. (2002), em ambiente telado com os porta-enxertos Trifoliata Limeira e limão 'Cravo', os autores observaram que Trifoliata Limeira não apresentou qualquer tipo de lesão nas folhas enquanto que 86% das folhas de limão 'Cravo' apresentavam sintomas do ataque da praga. Também nesse caso os dados de literatura corroboram os obtidos na presente pesquisa uma vez que o genótipo Trifoliata Limeira foi um dos menos ovipositados tanto no teste com chance como no teste sem chance de escolha.

Estudos realizados sob condições de campo em outros países com outras seleções de Trifoliata Limeira (BATRA et al., 1988; VERMA, 1989; BATRA et al., 1992; JACAS et al., 1997; CAI, 1999) também corroboram os dados obtidos neste estudo. Embora ainda não se conheça o fator presente neste genótipo que leva a uma menor oviposição pela LMC, é provável que a morfologia das folhas com menor área foliar possa causar essa não-preferência, não se excluindo, no entanto, outros fatores de resistência que possam estar ocorrendo conjuntamente.

Como o híbrido C x R₃₁₅ também foi menos preferido pela LMC no teste com chance de escolha e tendeu a apresentar esse comportamento no teste em confinamento, pode-se sugerir que Trifoliata Limeira possa estar transferindo características genéticas que possam conferir fator de resistência à referida praga. Este dado é de suma importância, pois servirá de base científica para elaboração de estudos futuros para o uso de outros porta-enxertos com possíveis fatores de resistência à LMC já que limão 'Cravo', o porta-enxerto mais utilizado no Brasil, apesar de ser vigoroso, é suscetível a *P. citrella*, enquanto que Trifoliata Limeira, menos ovipositada no presente trabalho, ainda tem a vantagem de apresentar resistência ao vírus da tristeza, à

gomose de *Phytophthora* e aos nematóides dos citros, além de ser tolerante a baixas temperaturas e proporcionar melhor qualidade do fruto (FRANG et al., 1997), embora tenha baixa tolerância à seca e média produtividade (CASTLE et al.; 1989).

Embora as superfícies foliares não tenham sido comparadas quanto ao número de ovos, observa-se, visualmente, que os ovos foram colocados tanto na face abaxial como na adaxial, mas com mais frequência na abaxial. Estas observações estão de acordo com os dados obtidos por Chagas; Parra (2000), os quais relatam que mais de 80% das posturas de *P. citrella* foram colocadas na superfície abaxial das folhas. Verificaram ainda que a LMC tem preferência pelas porções mediana e apical das folhas e pela nervura principal. Resultados semelhantes foram verificados por Greve; Radaelli (2005). Em contrapartida, Vivas; López (1995) relatam que a LMC escolhe o substrato a partir de uma determinada dimensão da folha, realizando postura indistintamente tanto na face abaxial como na adaxial. Díaz et al. (2006) observaram que as fêmeas podem ovipositar em ambas superfícies das folhas.

Figura 11- Número médio de ovos de *Phyllocnistis citrella* em testes de não-preferência para oviposição sem chance de escolha em diferentes genótipos de citros. Temp.: 25±1°C; UR: 70±10% e fotofase: 14 horas

4. 4 Efeito dos genótipos selecionados sobre a biologia de *P. citrella*

4.4.1 Duração e viabilidade da fase embrionária

Para o parâmetro duração da fase de ovo de *P. citrella* não foi encontrada diferença significativa ($F=1,17$; $P=0,35$), com os valores médios nos diferentes genótipos variando entre 4,2 e 4,5 dias (Tabela 5).

Os resultados do presente trabalho assemelham-se aos encontrados por Patel; Patel (2001) que, avaliando o desenvolvimento da LMC em condições de semi-campo, em cinco cultivares de limas ácidas, observaram a maior duração (dias) do estágio de ovo em lima 'Addinimma' (3,98) e os menores valores em lima ácida 'Kagzi' (*C. aurantifolia*) (3,18), lima ácida Galego (3,49), lima 'Seedless' (3,57) e lima 'Zumukhiya' (3,72).

Wilson (1991), analisando cinco cultivares de citros, em condições de campo, encontrou para a fase de ovo duração variando de 2 a 4 dias.

Já trabalhando em condições de laboratório, Chagas; Parra (2000), observaram um período de incubação menor (2,1 dias) à temperatura de 25°C em plantas de limão 'Cravo'.

Entretanto, Ba-Angood (1978), à temperatura de 25°C, relatou período médio de incubação de 7,5 dias, resultado bem superior aos obtidos nos outros trabalhos citados. Ressalta-se que esse resultado foi obtido em um genótipo diferente dos avaliados nos outros trabalhos, inclusive nos utilizados no presente estudo.

Também com relação à viabilidade da fase embrionária não houve diferença significativa entre os seis genótipos avaliados ($F=2,28$; $P=0,08$). A viabilidade média dos ovos variou entre 89,3 e 100% (Tabela 5). Os valores obtidos neste trabalho foram semelhantes aos encontrados por Chagas; Parra (2000) que encontraram viabilidade dos ovos em torno de 97,5%. Entretanto, foram encontrados em outros estudos valores de viabilidade inferiores aos citados anteriormente, como os obtidos por Patel; Patel (2001) (82 a 87%) e por Wilson (1991) (79,9%).

Tabela 5 - Médias $\pm$ erro padrão da duração (dias) e viabilidade (%) da fase de ovo de *Phyllocnistis citrella* em diferentes genótipos de citros. Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas

Genótipos	Duração (*)	Viabilidade (*)
Trifoliata Limeira	4,5 $\pm$ 0,19 a	97,0 $\pm$ 1,84 a
Híbrido C x R ₃₁₅	4,4 $\pm$ 0,09 a	97,5 $\pm$ 5,23 a
Híbrido M x P ₂₂₂	4,4 $\pm$ 0,16 a	89,3 $\pm$ 2,40 a
Híbrido C x R ₄	4,3 $\pm$ 0,09 a	100,0 $\pm$ 1,20 a
Tangerina 'Sunki'	4,3 $\pm$ 0,07 a	98,8 $\pm$ 0,00 a
Limão 'Rugoso'	4,2 $\pm$ 0,06 a	98,2 $\pm$ 1,11 a
CV (%)	6,14	5,90

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste de Tukey).

4.4.2 Duração e viabilidade da fase larval

Para a duração da fase larval da LMC, também não ocorreu diferença significativa entre as médias ($F=1,21$; $P=0,33$), observando-se entre os valores variação

de 6,9 a 8,3 (Tabela 6). Os valores obtidos são um pouco inferiores aos observados por Patel; Patel (2001), que encontraram valores de 8,65; 9,04; 9,30 dias para a fase larval nas limas 'Kagzi', 'Mexicana' e 'Seedless', respectivamente. Neste mesmo estudo, detectaram um alongamento da fase larval nas limas 'Zumukhiya' (10,07 dias) e 'Addinimma' (10,56 dias). A duração dessa fase, verificada por Wilson (1991), variou de 6 a 7 dias, enquanto nos ensaios realizados por Chagas; Parra (2000), a duração foi de 6,3 dias, valor menor do que os encontrados nos demais estudos.

No que diz respeito à viabilidade larval também não ocorreu diferença entre as médias ($F=0,91$; $P=0,49$) com valores variáveis entre 84,0 e 98,5%. Em relação a este parâmetro, os dados obtidos neste estudo foram semelhantes aos de Chagas; Parra (2000) que obtiveram viabilidade de 97,4%, mas superiores aos obtidos por Patel; Patel (2001) que registraram médias variando de 62,14 a 75,87% (Tabela 6).

Ainda em relação a este parâmetro, notou-se que em dois genótipos (C x R₄ e Trifoliata Limeira) ocorreu mortalidade no 13º dia (Figura 12), período no qual as lagartas em quase todos os genótipos já tinham se transformado em pupas. Nos outros genótipos avaliados a mortalidade ocorreu no início do desenvolvimento da fase. No genótipo Trifoliata Limeira observou-se que este evento ocorreu com maior incidência do que em C x R₄. Embora tenha sido observada variação na época de ocorrência da mortalidade larval, isto não foi suficiente para ter ocasionado efeito na viabilidade a ponto de promover uma diferença significativa entre os genótipos.

Tabela 6- Médias $\pm$ erro padrão da duração (dias) e viabilidade (%) da fase larval de *Phyllocnistis citrella* alimentada em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^\circ\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas

Genótipos	Duração (*)	Viabilidade (*)
Híbrido C x R ₄	8,3 $\pm$ 0,40 a	92,0 $\pm$ 4,19 a
Tangerina 'Sunki'	7,5 $\pm$ 0,50 a	91,6 $\pm$ 4,15 a
Híbrido C x R ₃₁₅	7,3 $\pm$ 0,30 a	90,1 $\pm$ 9,57 a
Trifoliata Limeira	7,1 $\pm$ 0,30 a	87,5 $\pm$ 4,65 a
Limão 'Rugoso'	7,1 $\pm$ 0,55 a	98,5 $\pm$ 0,87 a
Híbrido M x P ₂₂₂	6,9 $\pm$ 0,55 a	84,0 $\pm$ 3,02 a
CV (%)	13,56	12,65

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste de Tukey).

Figura 12 - Larva morta, após o 13º dia de infestação, em folhas do híbrido C x R₄ (A) e de Trifoliata Limeira (B)

4.4.3 Duração e viabilidade da fase pupal

Também para a duração da fase de pupa não ocorreu diferença significativa entre as médias ($F=0,60$; $P=0,70$), com valores variando entre 8,1 e 9,6 dias nos diferentes genótipos (Tabela 7). Comparando-se com os dados na literatura, nota-se uma semelhança com os obtidos por Patel; Patel (2001) que verificaram que para três cultivares não houve diferença neste período com valores variando entre 8,00 e 8,47 dias. Estes autores observaram, no entanto, um período maior para as demais cultivares (9,00 e 9,49 dias). Outros estudos observaram para a duração desta fase uma variação de 6 a 8,1 dias (WILSON, 1991; CHAGAS; PARRA, 2000).

A viabilidade dessa fase também não apresentou diferença significativa ($F=0,88$; $P=0,51$), com valores variando de 92,9 a 100% (Tabela 7). Confrontando-se estes resultados com aqueles apresentados na literatura, constata-se que a viabilidade desta fase assemelhou-se à obtida por Chagas; Parra (2000), onde as pupas tiveram viabilidade de 97% em plantas de limão 'Cravo'.

Tabela 7 - Médias $\pm$ erro padrão da duração (dias) e viabilidade (%) da fase de pupa de *Phyllocnistis citrella* proveniente de lagartas alimentadas em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm10\%$ e fotofase: 14 horas

Genótipos	Duração (*)	Viabilidade (*)
Híbrido C x R ₃₁₅	9,6 $\pm$ 0,39 a	94,8 $\pm$ 2,18 a
Trifoliata Limeira	9,1 $\pm$ 0,84 a	97,0 $\pm$ 3,00 a
Híbrido M x P ₂₂₂	9,0 $\pm$ 0,59 a	96,9 $\pm$ 3,89 a
Tangerina 'Sunki'	8,9 $\pm$ 0,72 a	96,3 $\pm$ 2,99 a
Limão 'Rugoso'	8,8 $\pm$ 0,87 a	100,0 $\pm$ 0,00 a
Híbrido C x R ₄	8,1 $\pm$ 0,41 a	92,9 $\pm$ 1,56 a
CV (%)	16,69	6,02

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste de Tukey).

4.4.4 Duração e viabilidade da fase imatura

Quanto à duração da fase imatura (ovo à emergência do adulto) novamente não foi constatada diferença significativa ($F=0,59$; $P=0,71$), com medias variando de 20,0 a 21,4 dias (Tabela 8). Estes valores são superiores aos obtidos por Chagas; Parra (2000) para a temperatura de 25°C , que encontraram 16,49 dias para a duração dessa fase.

Já no que se refere à viabilidade da fase imatura, ocorreu diferença significativa entre as médias ($F=2,30$; $P=0,08$), com o menor valor (72,3%) registrado no híbrido M x P₂₂₂ e o maior (96,8%) na testemunha limão 'Rugoso' (Tabela 8). Nos demais genótipos os valores foram intermediários não diferindo entre si e tampouco dos valores extremos. Os valores obtidos neste estudo estão próximos dos obtidos por Chagas; Parra (2000), que encontraram 86,43% para a viabilidade dessa fase.

Embora no híbrido M x P₂₂₂ tenha ocorrido uma viabilidade total do ciclo inferior à registrada no limão 'Rugoso', isso não significa necessariamente que esteja ocorrendo resistência naquele material, uma vez que esse menor valor pode estar relacionado ao abortamento das folhas infestadas afetando indiretamente a viabilidade do ciclo. Dessa forma, se este genótipo não apresentasse esse tipo de comportamento, talvez a viabilidade sem o abortamento tivesse sido superior ao resultado encontrado. Esta foi uma dificuldade encontrada para o estudo de desenvolvimento da praga neste híbrido em condições de laboratório. Segundo Gallo et al. (2002), ataques de larvas

minadoras induzem produção e acúmulo de etileno, no tecido do pecíolo foliar, induzindo à abscisão foliar.

Tabela 8 – Médias $\pm$ erro padrão da duração (dias) e viabilidade (%) da fase imatura (ovo à emergência do adulto) de *Phyllocnistis citrella* criada em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm1^\circ\text{C}$; UR: $70\pm10\%$ e fotofase: 14 horas

Genótipos	Duração (*)	Viabilidade (*)
Híbrido C x R ₃₁₅	21,4 $\pm$ 0,59 a	82,8 $\pm$ 9,78 ab
Trifoliata Limeira	20,8 $\pm$ 0,61 a	82,7 $\pm$ 6,41 ab
Tangerina 'Sunki'	20,6 $\pm$ 0,64 a	86,8 $\pm$ 4,56 ab
Híbrido C x R ₄	20,6 $\pm$ 0,48 a	85,1 $\pm$ 4,42 ab
Híbrido M x P ₂₂₂	20,3 $\pm$ 0,66 a	72,3 $\pm$ 2,63 b
Limão 'Rugoso'	20,0 $\pm$ 0,65 a	96,8 $\pm$ 1,64 a
CV (%)	6,57	14,77

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste de Tukey).

Nas condições em que foram realizados os ensaios, estes parâmetros, considerados como bons indicadores de resistência por antibiose e/ou antixenose alimentar, não foram afetados (com exceção da viabilidade total) pelos genótipos em que a LMC foi criada, o que sugere, com base apenas nesses dados, a não ocorrência destes dois tipos de resistência à referida praga nos seis genótipos de citros testados.

Estudos com diferentes genótipos de citros para avaliação da resistência têm sido relatados na Índia (Batra; Sandhu, 1983; Patel; Patel 2001), Austrália (Wilson, 1991), Espanha (Jacas et al., 1997) e Argentina (Goane et al., 2008). Wilson (1991) não caracterizou nenhum tipo de resistência, porém como nos outros estudos demonstrou diferença dentre os genótipos testados. Por outro lado, Goane et al. (2008) tentaram caracterizar os possíveis tipos de resistência, mas não conseguiram obter diferença entre três espécies de citros.

4.4.5 Tamanho e peso pupal

No que se refere ao tamanho de pupas, nota-se uma diferença altamente significativa entre as médias ($F=13,52$; $P=1,664^{-8}$) com valores médios variando de 1,7 a 2,4 mm (Tabela 9). Observa-se que o menor tamanho (1,7 mm) ocorreu para insetos

criados no híbrido C x R₄, o qual diferiu dos valores obtidos em todos os demais genótipos com exceção do híbrido C x R₃₁₅ onde se registrou o segundo menor valor (1,9 mm). As pupas provenientes de lagartas criadas no limão 'Rugoso' e em Trifoliata Limeira apresentaram valores intermediários (2,0 e 2,1 mm, respectivamente), que diferiram daqueles registrados no híbrido M x P₂₂₂ onde as pupas apresentaram 2,4 mm, valor superior a todos os genótipos com exceção de tangerina 'Sunki' onde as pupas mediram 2,2 mm. Verifica-se que o híbrido C x R₄ diferiu dos outros genótipos inclusive de Trifoliata Limeira, do qual é originária (Tabela 9), o que pode ter ocorrido devido à recombinação e ou segregação genética durante o processo de obtenção do referido híbrido.

Os dados da atual pesquisa estão próximos dos observados por Jacas et al. (1997) que testaram 11 variedades e espécies de citros e encontraram diferenças entre os materiais com relação ao tamanho de pupa, constatando o menor tamanho (2,05mm) em *P. trifoliata* e o maior (2,79 mm) em *Balsamocitrus dawei*. Vale ressaltar que o híbrido de *P. trifoliata* (C x R₄) usado nesta pesquisa foi o que ocasionou o menor tamanho pupal. Em outro estudo, utilizando laranja, limão e pomelo, foram encontrados valores um pouco superiores para o tamanho pupal que variaram de 2,59 a 2,77 mm (Goane et al., 2008).

Em relação ao parâmetro peso de pupa, também foi constatada diferença significativa entre as médias ($F=2,17$; $P=0,09$), com valores variando de 0,1 a 0,4 mg (Tabela 9). Novamente, o menor peso (0,1 mg) ocorreu para insetos criados no híbrido C x R₄, que, no caso desse parâmetro, diferiu apenas do valor registrado em tangerina 'Sunki', onde verificou-se o maior peso (0,4 mg). Nos demais genótipos as pupas apresentaram pesos intermediários, variáveis entre 0,2 e 0,3 mg, que não diferiram entre si e tampouco dos valores extremos (Tabela 9). Este parâmetro, embora pouco utilizado nos estudos com a LMC, foi um dos poucos que evidenciaram o efeito dos genótipos no desenvolvimento de *P. citrella*.

O fato de o menor tamanho e o menor peso pupal terem sido registrados no genótipo C x R₄ sugere que este genótipo apresenta um ou mais fatores que estariam agindo sobre a população larval da LMC, como, por exemplo, a qualidade nutricional ou

a presença de aleloquímicos que estariam propiciando defesa química da planta contra a praga.

Tabela 9 - Médias $\pm$ erro padrão do tamanho e peso pupal de *Phyllocnistis citrella* provenientes de lagartas criadas nos diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^\circ\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas

Genótipos	Tamanho (mm) ^(*,1)	Peso (mg) ^(*,1)
Híbrido C x R ₄	1,7 $\pm$ 0,06 d	0,1 $\pm$ 0,02 b
Híbrido C x R ₃₁₅	1,9 $\pm$ 0,07 cd	0,2 $\pm$ 0,03 ab
Limão 'Rugoso'	2,0 $\pm$ 0,02 bc	0,2 $\pm$ 0,02 ab
Trifoliata Limeira	2,1 $\pm$ 0,07 bc	0,2 $\pm$ 0,02 ab
Tangerina 'Sunki'	2,2 $\pm$ 0,09 ab	0,4 $\pm$ 0,19 a
Híbrido M x P ₂₂₂	2,4 $\pm$ 0,05 a	0,3 $\pm$ 0,04 ab
CV (%)	8,90	40,65

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste de Tukey);

¹. Dados originais (transformados em $\sqrt{x}$ para análise estatística).

4.4.6 Razão sexual e longevidade dos adultos

Dados obtidos para a razão sexual de *P. citrella* mostraram que não houve diferença significativa entre os genótipos ($F=0,58$; $P=0,72$) com médias variando de 0,4 a 0,5 (Tabela 10). Outros estudos realizados com a LMC encontraram razão sexual de 0,5 semelhante ao valor observado na presente pesquisa (RAGA et al., 1998; PARRA et al., 2002). Goane et al. (2008), entretanto, encontraram uma razão sexual de 0,68 e 0,70 em limão, laranja, e pomelo, valores superiores aos encontrados por outros autores e nesta pesquisa.

Para a longevidade de adultos com alimento observaram-se diferenças significativas entre as médias apenas para fêmeas ($F=6,33$; $P=5,84^{-5}$), verificando-se que aquelas provenientes de limão 'Rugoso' viveram em média 25,5 dias, valor superior aos encontrados nos demais genótipos para os quais as médias variaram entre 11,6 e 18,2 dias (Tabela 10). Para os machos alimentados, em que não ocorreram diferenças significativas entre as médias ($F=0,44$; $P=0,82$) os valores variaram entre 14,7 e 18,0 dias (Tabela 10).

Os resultados obtidos nesta pesquisa foram superiores ao encontrados por Chagas; Parra (2000). No referido estudo, os autores trabalhando também com insetos

alimentados em diferentes temperaturas, encontraram para 25°C, 12,43 dias para fêmeas e 10,79 dias para machos. As diferenças encontradas podem ser atribuídas aos diferentes genótipos dos quais estes adultos se originaram, já que esse fator altera a longevidade dos adultos como pode ser visto na presente pesquisa onde a variação de longevidade das fêmeas em função do genótipo apresentou amplitude de cerca de 10 dias.

As fêmeas adultas que não receberam alimento também foram afetadas pelo genótipo utilizado constatando-se, assim, diferença significativa entre as médias ($F=2,87$; $P=0,01$). Para este parâmetro, os valores variaram de 2,2 a 3,1 dias (Tabela 10). Observa-se que os híbridos C x R₄ e M x P₂₂₂ apresentaram diferenças entre as médias, sendo que fêmeas oriundas do primeiro genótipo foram menos longevas (2,2 dias) que as do segundo (3,1 dias). Nos demais genótipos, incluindo a testemunha, ocorreram valores intermediários que não diferiram entre si e tampouco dos valores extremos (Tabela 10). Para os machos mantidos sem alimentação, novamente verificou-se diferença significativa ($F=3,50$; $P=0,005$) com médias variando de 1,8 a 2,6 dias (Tabela 10). Notou-se que os machos provenientes da testemunha limão 'Rugoso' mantiveram-se vivos por 1,8 dias, em média, valor que diferiu daquele obtido para os machos oriundos dos híbridos C x R₃₁₅ e M x P₂₂₂ (2,6 dias), que foram os mais longevos, registrando-se nos demais genótipos valores intermediários que não diferiram entre si (Tabela 10).

Comparando-se a longevidade das fêmeas sem alimento em relação as que foram alimentadas observou-se uma diminuição que variou de 75,4 a 90,5%. Com relação aos machos essa diminuição variou de 84,7 a 89,6%.

Tabela 10 - Médias $\pm$ erro padrão da razão sexual e longevidade de adultos (fêmeas e machos) de *Phyllocnistis citrella*, mantidos com e sem alimento provenientes de lagartas alimentadas em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^\circ\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas

Genótipos	Razão sexual ^(*)	Longevidade (dias) ^(*)					
		Fêmeas			Machos		
		C/ alimento	S/ alimento	Comparativo (%)	C/ alimento	S/ alimento	Comparativo (%)
Híbrido C x R ₄	0,4 $\pm$ 0,04 a	14,5 $\pm$ 1,26 b	2,2 $\pm$ 0,21 b	84,8	14,7 $\pm$ 2,50 a	2,1 $\pm$ 0,14 ab	85,7
Híbrido C x R ₃₁₅	0,5 $\pm$ 0,06 a	16,5 $\pm$ 2,18 b	2,5 $\pm$ 0,18 ab	84,9	17,6 $\pm$ 2,98 a	2,6 $\pm$ 0,26 a	85,1
Híbrido M x P ₂₂₂	0,5 $\pm$ 0,06 a	15,9 $\pm$ 2,13 b	3,1 $\pm$ 0,11 a	80,8	18,0 $\pm$ 1,70 a	2,6 $\pm$ 0,18 a	85,6
Tangerina 'Sunki'	0,5 $\pm$ 0,07 a	11,6 $\pm$ 2,32 b	2,7 $\pm$ 0,14 ab	75,4	17,8 $\pm$ 2,94 a	2,3 $\pm$ 0,14 ab	87,1
Limão 'Rugoso'	0,5 $\pm$ 0,03 a	25,5 $\pm$ 1,87 a	2,4 $\pm$ 0,23 ab	90,5	16,9 $\pm$ 2,49 a	1,8 $\pm$ 0,15 b	89,6
Trifoliata Limeira	0,5 $\pm$ 0,10 a	18,1 $\pm$ 1,84 b	2,8 $\pm$ 0,23 ab	84,7	14,9 $\pm$ 0,89 a	2,3 $\pm$ 0,18 ab	84,7
CV (%)	26,35	41,00	26,80	-----	57,06	33,00	-----

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste de Tukey).

4.4.7 Fecundidade e fertilidade

Os valores correspondentes à fecundidade demonstraram diferenças significativas ($P=0,003$) com variação nos valores médios de 92,1 a 153,0 ovos por fêmea de *P. citrella* (Tabela 11). Os menores valores de fecundidade foram obtidos para as fêmeas provenientes de lagartas criadas nos híbridos C x R₄ e C x R₃₁₅ (92,1 e 94,6 ovos, respectivamente), diferindo, entretanto, apenas do valor registrado no limão 'Rugoso' (153,0 ovos). Nos demais genótipos os valores, variáveis entre 113,7 e 125,9 ovos, não diferiram entre si e tampouco dos valores extremos (Tabela 11). Os valores de fecundidade da LMC obtidos neste trabalho, mesmo nos materiais menos adequados ao desenvolvimento do inseto, são superiores aos encontrados por Chagas (1999), que nas mesmas condições de temperatura e umidade, encontrou fecundidade média de 62,47 ovos/fêmea. Todavia, esse menor valor para número de ovos foi observado para limão 'Cravo', material não avaliado na presente pesquisa em relação a este parâmetro. Entretanto, como esta cultivar de limão é suscetível à LMC, seria esperado que a fecundidade dos insetos criados neste genótipo fosse elevada. Desde modo, tais diferenças provavelmente sejam devidas a variações fisiológicas e genéticas entre as duas populações de insetos estudados.

Os resultados encontrados nesta pesquisa são importantes em termos de diminuição populacional da praga, pois nos híbridos C x R₄ e C x R₃₁₅ as fêmeas apresentaram em média cerca de 40% menos ovos do que em limão 'Rugoso', utilizado como padrão de suscetibilidade.

Também para o parâmetro fertilidade foi constatada diferença significativa entre as médias ($F=9,20$; $P=2,22^{-06}$) (Tabela 11). Observou-se que os ovos provenientes de fêmeas criadas no híbrido C x R₃₁₅ e em Trifoliata Limeira foram menos férteis (94,0 e 96,0%, respectivamente), diferindo dos valores encontrados nos demais genótipos, com exceção do dado obtido no híbrido C x R₄ (Tabela 11).

Diante dos resultados observados na avaliação da capacidade reprodutiva de *P. citrella* nos genótipos estudados, pode-se destacar o híbrido C x R₃₁₅ como aquele que interferiu de forma mais significativa nos dois parâmetros avaliados, mostrando-se

como material promissor para utilização em programas de melhoramento de citros à LMC.

Tabela 11 - Médias $\pm$ erro padrão da fecundidade e fertilidade de adultos de *Phyllocnistis citrella* provenientes de lagartas alimentadas em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm1^\circ\text{C}$; UR: $70\pm10\%$ e fotofase: 14 horas

Genótipos	Fecundidade ^(*) (ovos/fêmea)	Fertilidade ⁽¹⁾ (%)
Híbrido C x R ₄	92,1 $\pm$ 10,20 b	98,0 $\pm$ 0,62 ab
Híbrido C x R ₃₁₅	94,6 $\pm$ 12,31 b	94,0 $\pm$ 1,08 b
Trifoliata Limeira	113,7 $\pm$ 5,30 ab	96,0 $\pm$ 0,90 b
Tangerina 'Sunki'	116,5 $\pm$ 10,77 ab	99,0 $\pm$ 0,47 a
Híbrido M x P ₂₂₂	125,9 $\pm$ 11,02 ab	99,0 $\pm$ 0,34 a
Limão 'Rugoso'	153,0 $\pm$ 12,06 a	99,0 $\pm$ 0,28 a
CV (%)	-----	2,21

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste de Kruskal Wallis);

¹. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste de Tukey).

As análises realizadas com os genótipos avaliando a fecundidade a cada dois dias demonstraram diferenças significativas, com valores de $P=3,458^{-16}$ para limão 'Rugoso', $P=5,563^{-16}$ (híbrido M x P₂₂₂), $P=6,711^{-12}$ (Tangerina 'Sunki'), $P=4,861^{-09}$ (híbrido C x R₃₁₅), $P=3,064^{-11}$ (híbrido C x R₄) e $P=6,038^{-14}$ (Trifoliata Limeira). A quantidade de ovos nestes genótipos ao longo do período de oviposição variou de 0,2 a 27,1 (ovos/cada dois dias) (Tabela 12). Observou-se que o pico de oviposição ocorreu entre o 4º e o 12º dia para todos os genótipos. A partir do 18º dia houve queda significativa no número de ovos depositados pelas fêmeas de *P. citrella* em todos os genótipos avaliados.

Uma análise mais detalhada por genótipo revela que, para as fêmeas provenientes de lagartas alimentadas no limão 'Rugoso' e na tangerina 'Sunki', o pico de oviposição ocorreu no 4º e 6º dias, períodos em que os valores diferiram dos registrados a partir do 18º dia, havendo a partir desse dia uma tendência de decréscimo na fecundidade até o final da avaliação (28º dia no limão 'Rugoso' e 26º dia em tangerina 'Sunki') (Tabela 12; Figura 13).

Padrão de postura semelhante ocorreu com as fêmeas criadas nos híbridos M x P₂₂₂ e C x R₃₁₅, em que o maior valor de oviposição ocorreu no 6º dia, o qual apresentou diferença significativa dos valores obtidos a partir do 18º dia. Já no híbrido C x R₄, o maior valor ocorreu no 4º dia, diferindo do dado obtido na primeira avaliação (2 dias) e daqueles registrados a partir do 16º dia. Finalmente, em relação à Trifoliata Limeira ocorreu um pico de oviposição entre o 4º e o 8º dia, sendo que os valores obtidos nesse período diferiram daqueles constatados a partir do 18º dia (Tabela 12 e Figura 13).

A oviposição até o 28º dia, entretanto, foi observada apenas para as fêmeas provenientes de lagartas criadas no limão 'Rugoso'. Para aquelas criadas no híbrido M x P₂₂₂, na tangerina 'Sunki' e em Trifoliata Limeira, a postura ocorreu até o 26º dia, enquanto que nos híbridos C x R₃₁₅ e C x R₄ isso se deu até o 24º dia (Tabela 12 e Figura 13).

Quanto à comparação entre os genótipos não se observou diferenças significativas entre 2º e o 28º dias de observações ($P=0,28$; $P=0,14$; $P=0,20$; $P=0,27$; $P=0,10$; $P=0,29$; $P=0,12$; $P=0,70$; $P=0,57$; $P=0,93$; $P=0,90$; $P=0,76$; $P=0,06$ respectivamente) com exceção do 8º dia ($P=0,02$), em que o número de ovos (11,2 ovos) constatado para os adultos provenientes do híbrido C x R₄ foi menor que o encontrado para adultos oriundo do limão 'Rugoso' (22,9 ovos), não diferindo dos dados obtidos com os demais genótipos (Tabela 12 e Figura 13).

Tabela 12 - Médias $\pm$ erro padrão da fecundidade (dias) de adultos de *Phyllocnistis citrella* provenientes de lagartas alimentadas em diferentes genótipos de citros. Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas

Período de oviposição (Dias)	Genótipos					
	Limão 'Rugoso'	Híbrido M x P ₂₂₂	Tangerina 'Sunki'	Híbrido C x R ₃₁₅	Híbrido C x R ₄	Trifoliata Limeira
2	14,1 $\pm$ 3,54abcdA	11,1 $\pm$ 3,54abcdA	12,5 $\pm$ 3,72abcA	9,9 $\pm$ 2,91abcA	5,2 $\pm$ 2,06bcdA	7,3 $\pm$ 1,53abA
4	27,1 $\pm$ 3,00aA	20,5 $\pm$ 2,33aA	20,9 $\pm$ 3,19aA	14,3 $\pm$ 2,91abA	20,7 $\pm$ 2,54aA	18,6 $\pm$ 3,22aA
6	25,6 $\pm$ 3,24aA	25,6 $\pm$ 2,42aA	23,4 $\pm$ 2,70aA	19,6 $\pm$ 2,47aA	17,5 $\pm$ 2,5abA	21,3 $\pm$ 3,95aA
8	22,9 $\pm$ 2,90abA	20,0 $\pm$ 3,02abAB	13,4 $\pm$ 2,22abAB	13,7 $\pm$ 2,09abAB	11,2 $\pm$ 1,40abB	18,4 $\pm$ 2,65aAB
10	17,0 $\pm$ 2,89abcA	14,5 $\pm$ 0,91abcA	11,6 $\pm$ 1,77abA	11,5 $\pm$ 2,74abcA	11,3 $\pm$ 2,10abcA	13,2 $\pm$ 1,81abA
12	13,6 $\pm$ 2,58 abcdA	13,4 $\pm$ 1,94abcA	9,7 $\pm$ 1,79 abcA	7,4 $\pm$ 1,72abcA	8,0 $\pm$ 1,44abcdA	11,7 $\pm$ 1,37abA
14	11,2 $\pm$ 1,72 abcdA	7,9 $\pm$ 1,23abcdeA	9,8 $\pm$ 1,89 abcA	6,6 $\pm$ 2,11abcA	5,9 $\pm$ 1,04abcdA	8,2 $\pm$ 1,65abcA
16	8,8 $\pm$ 1,08 abcdA	4,4 $\pm$ 1,21bcdeA	5,8 $\pm$ 1,63 abcA	4,8 $\pm$ 1,65abcA	4,3 $\pm$ 1,00bcdA	6,2 $\pm$ 1,36abcA
18	4,7 $\pm$ 1,08 bcdA	3,5 $\pm$ 1,04bcdeA	3,5 $\pm$ 1,38bcA	2,5 $\pm$ 1,00 bcA	4,3 $\pm$ 1,23bcdA	3,2 $\pm$ 0,76 bcA
20	4,0 $\pm$ 1,10cdA	3,0 $\pm$ 0,73cdeA	2,6 $\pm$ 1,05bcA	1,8 $\pm$ 0,83 cA	1,9 $\pm$ 0,80 cdA	2,9 $\pm$ 1,09 bcA
22	1,4 $\pm$ 0,52dA	0,8 $\pm$ 0,42deA	1,8 $\pm$ 0,77bcA	0,9 $\pm$ 0,46 cA	0,8 $\pm$ 0,33dA	1,1 $\pm$ 0,48cA
24	0,7 $\pm$ 0,33dA	0,3 $\pm$ 0,21eA	0,6 $\pm$ 0,43cA	0,9 $\pm$ 0,46 cA	0,6 $\pm$ 0,31dA	0,8 $\pm$ 0,42cA
26	0,4 $\pm$ 0,22dA	0,2 $\pm$ 0,20eA	0,5 $\pm$ 0,40cA	-----	-----	0,5 $\pm$ 0,27cA
28	1,3 $\pm$ 0,76dA	-----	-----	-----	-----	-----

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste de Kruskal Wallis).

---- Sem oviposição

Figura 13 – Valores de fecundidade (a cada dois dias) de adultos de *Phyllocnistis citrella* provenientes de lagartas alimentadas em diferentes genótipos de citros. Temp.: $25\pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas

Dessa forma, analisando-se os parâmetros individualmente, constata-se que o tamanho e o peso de pupas, a longevidade e a fecundidade dos adultos foram aqueles que melhor caracterizaram a influência dos genótipos sobre o desenvolvimento de *P. citrella*. Assim, com base nesses resultados, pode-se inferir que os híbridos C x R₃₁₅ e C x R₄ possuem fatores de resistência à LMC. Estes resultados são importantes para a seleção de novos materiais que poderão ser utilizados em estudos de melhoramento.

Levando em consideração que esses híbridos são derivados do cruzamento de *C. sunki* x *P. trifoliata* e que este último genótipo, analisado geneticamente por Bernet et al. (2005), apresentam um gene de resistência que causa antibiose, infere-se que esta possível base genética de resistência encontrada em *P. trifoliata* possa ter sido transmitida para seus híbridos no presente trabalho.

As variações encontradas entre os resultados da literatura e os obtidos em relação aos genótipos estudados nesta pesquisa podem ser atribuídas a vários fatores como diferenças varietais, diferenças nas metodologias e diferenças nas condições

ambientais nas quais as plantas foram testadas. Deve-se também levar em conta a origem das populações de *P. citrella* utilizadas nos diferentes trabalhos, que pode ter inferência nos resultados.

4.4.8 Cálculo do Potencial Reprodutivo Corrigido (PRC)

Mediante análises dos parâmetros duração e viabilidade de cada fase, período de pré-oviposição, razão sexual e fecundidade dos adultos nos diferentes genótipos de forma conjunta, através do PRC, registrou-se para o híbrido C x R₃₁₅ o menor valor para este índice (Tabela 13) para 60 dias, o que permite concluir que, neste genótipo, teoricamente ao longo do tempo, ocorrerá um menor incremento populacional da praga.

A seguir, em ordem crescente de PRC, situaram-se o híbrido C x R₄, Trifoliata Limeira (um dos progenitores deste híbrido), tangerina 'Sunki' e o híbrido M x P₂₂₂. O maior valor de PRC, como era esperado, ocorreu no limão 'Rugoso', genótipo que, na presente pesquisa, foi utilizado como padrão de suscetibilidade à LMC. (Tabela 13).

Estes resultando vêm a confirmar as tendências observadas nas análises individuais de alguns dos parâmetros estudados em que os genótipos considerados menos adequados à LMC foram justamente os que propiciaram os menores valores de PRC.

Tabela 13 - Potencial Reprodutivo Corrigido (PRC) de *Phyllocnistis citrella*, em diferentes genótipos de citros, para os períodos de 60 dias. Temp.: 25±1°C; UR: 70±10% e fotofase: 14 horas

Genótipos	PRC	
	Valor absoluto	Valor relativo
	60 dias	60 dias
Híbrido C x R ₃₁₅	9.937	1
Híbrido C x R ₄	11.067	1,1
Trifoliata Limeira	14.730	1,5
Tangerina 'Sunki'	23.048	2,3
Híbrido M x P ₂₂₂	26.698	2,7
Limão 'Rugoso'	92.539	9,3

4.5 Avaliação da tolerância dos genótipos a *P. citrella*

4.5.1 Teste preliminar com o genótipo padrão

Considerando-se os 9 parâmetros avaliados, constatou-se efeito da densidade de insetos infestados (0, 3, 6, 9, 12 casais de *P. citrella* por planta de limão 'Rugoso') apenas em relação aos parâmetros número de larvas/planta e número de brotações novas entre os parâmetros quantitativos (Tabela 14) e dano nas folhas (parâmetro qualitativo) nas quatro categorias avaliadas (folhas enroladas, folhas parcialmente enroladas, folhas atacadas e não enroladas e dano total (Tabela 15) .

4.5.1.1 Comprimento das folhas e dos ramos e largura das folhas

Analisando-se os dados relativos à diferença no comprimento e na largura das folhas considerando-se o valor inicial (obtido no dia da infestação) e o valor final (obtido após 13 dias), constata-se que, embora as médias para as diferentes densidades tenham variado de 3,2 a 4,4 cm (comprimento) e de 2,3 a 2,9 cm (largura), não ocorreu diferença significativa entre as mesmas ($F=0,52$; $P=0,724$ e $F=0,47$; $P=0,753$, respectivamente), indicando que nem mesmo a presença de 34,1 larvas de LMC/planta (no tratamento com maior densidade de adultos) foi suficiente para alterar o crescimento das folhas de limão 'Rugoso' (Tabela 14).

Também no que se refere ao crescimento dos ramos, embora com variação entre os tratamentos de 8,5 a 10,9 cm (comparando-se o início e o término do experimento), não ocorreu diferença significativa entre as médias ($F=0,36$; $P=0,833$), indicando mais uma vez que o aumento do número de casais infestantes e, conseqüentemente, do número de larvas atacando as folhas, não afetaram o crescimento dos ramos de limão 'Rugoso' (Tabela 14).

4.5.1.2 Número de larvas

Já no que se refere ao número de larvas/planta, constatou-se diferença significativa entre as médias ($F=16,14$; $P=2,603^{-05}$), embora tal diferença somente tenha ocorrido na comparação entre a menor (3 casais/planta) e a maior densidade (12 casais/planta), encontrando-se nesta última o maior valor médio de larvas/planta (34,1)

em contraste com o valor médio encontrado na menor densidade (12,8 larvas/planta). Os valores de número de larvas/planta nas densidades 6 e 9 casais (18,9 e 27,7, respectivamente) não diferiram entre si e nem do tratamento com 3 casais. Como era esperado, não foram registradas larvas no tratamento testemunha, evidenciando a não ocorrência de infestação acidental (Tabela 14).

4.5.1.3 Número de brotações novas

Também para os dados de número de brotações novas constatou-se diferença significativa entre as médias ($F=6,01$; $P=0,004$), verificando-se que o número médio de 6,5 brotações novas/planta registrado nas densidades de 6, 9 e 12 casais/planta foi significativamente superior que a observado no tratamento sem infestação (3,3 brotações novas/planta). Já na menor densidade de casais/planta, ocorreu um número intermediário de brotações novas/planta (4,0) não diferindo dos demais tratamentos (Tabela 14).

É possível que o maior número de brotações nos tratamentos com a presença da praga seja uma forma de compensar o dano causado uma vez que, conforme Lara (1991), a emissão de novos brotos é uma das formas de a planta tolerar o ataque de determinada praga.

4.5.1.4 Pesos fresco e seco dos ramos

Finalmente, ainda em relação aos parâmetros quantitativos, analisando-se os dados relacionados a peso fresco e peso seco dos ramos, verifica-se que, embora as médias tenham variado de 1,9 a 3,1 g (peso fresco) e 0,3 a 0,6 g (peso seco), não houve diferença significativa ($F=1,07$; $P=0,405$ e $F=1,21$; $P=0,347$ respectivamente), nem entre as diferentes densidades e tampouco entre estas e a testemunha (Tabela 14), indicando que o número de casais não influenciou o desenvolvimento da planta.

Tabela 14 - Média $\pm$ erro padrão do comprimento das folhas (CF), largura das folhas (LF), crescimento dos ramos (CR), número de larvas/planta, número de brotações novas por planta, e peso fresco e peso seco dos ramos de limão 'Rugoso' com diferentes densidades de infestação de adultos de *Phyllocnistis citrella*. Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas

Número de casais/planta	Parâmetros Quantitativos						
	CF (cm) ⁽²⁾	LF (cm) ⁽²⁾	CR (cm) ⁽²⁾	Nº de larvas/ planta ⁽³⁾	Nº de brotações novas/planta ⁽²⁾	Peso dos ramos	
	(F – I) ¹	(F – I) ¹	(F – I) ¹			Fresco (g)	Seco(g)
0	4,4 $\pm$ 0,43 a	2,9 $\pm$ 0,78 a	10,9 $\pm$ 2,18 a	0,0 $\pm$ 0,00 a	3,3 $\pm$ 0,58 a	2,8 $\pm$ 0,41 a	0,5 $\pm$ 0,11 a
3	3,7 $\pm$ 0,28 a	2,6 $\pm$ 0,62 a	8,5 $\pm$ 1,13 a	12,8 $\pm$ 2,19 b	4,0 $\pm$ 0,41 ab	2,2 $\pm$ 0,65 a	0,3 $\pm$ 0,09 a
6	3,2 $\pm$ 0,20 a	2,3 $\pm$ 0,34 a	9,9 $\pm$ 1,52 a	18,9 $\pm$ 4,59 ab	6,5 $\pm$ 0,87 b	3,1 $\pm$ 0,53 a	0,6 $\pm$ 0,15 a
9	3,4 $\pm$ 0,35 a	2,4 $\pm$ 0,63 a	10,6 $\pm$ 1,12 a	27,7 $\pm$ 7,06 ab	6,5 $\pm$ 0,96 b	1,9 $\pm$ 0,37 a	0,4 $\pm$ 0,10 a
12	3,6 $\pm$ 0,39 a	2,5 $\pm$ 0,72 a	9,4 $\pm$ 1,81 a	34,1 $\pm$ 6,37 c	6,5 $\pm$ 0,87 b	2,3 $\pm$ 0,17 a	0,5 $\pm$ 0,06 a
CV (%)	20,85	11,32	33,02	25,19	29,17	19,23	24,84

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste de Tukey);

¹ F = Final; I = Inicial;

²Dados originais (transformados em $\sqrt{x}$ para análise estatística);

³Dados originais (transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ para análise estatística).

4.5.1.5 Avaliação do dano nas folhas

Em relação ao parâmetro danos nas folhas, o qual foi dividido em quatro categorias, observa-se que para a categoria folhas enroladas (FE) não houve efeito da variação no número de casais de *P. citrella*, com valores variando de 15,2 a 46,2% de folhas enroladas, embora se perceba uma tendência de aumento nesse número com o aumento no número de casais infestantes. Constatou-se, por outro lado, que, com exceção da menor densidade de insetos (3 casais/planta), onde apenas 15,2% das folhas se encontravam enroladas, os valores obtidos para os demais tratamentos (32,5 a 46,2% de FE) diferiram significativamente da testemunha, onde, como era esperado, não foram encontradas folhas enroladas ($F=8,85$ e $P=0,001$) (Tabela 15).

Quando analisadas as porcentagens de folhas parcialmente enroladas (FPE), as médias, variando de 26,1 a 29,8%, novamente não diferiram em função da variação do número de casais (Tabela 15), observando-se que, nesse caso, sequer houve tendência de aumento desse percentual com o aumento da infestação inicial, constatando-se, por outro lado, que todos os tratamentos diferiram da testemunha ($F=18,81$ e $P=0,001$).

Para a categoria folhas atacadas e não enroladas (FANE), observa-se diferença significativa com médias variando de 14,5 a 30,5% ($F=4,32$ e $P=0,005$). O valor do tratamento com a menor densidade de casais infestantes foi superior ao valor zero registrado na testemunha, demonstrando que esta característica ocorre somente em menores infestações, e aumentando o número de casais (6, 9 e 12 casais/planta) esse percentual diminui justamente em função do aumento na porcentagem de folhas enroladas (Tabela 15).

Juntando-se as duas primeiras categorias de folhas atacadas (FE + FPE) pela LMC, ou seja, considerando-se o dano total (DT), verifica-se que não houve diferença entre os tratamentos com diferentes densidades iniciais de adultos, nos quais as médias variaram entre 45,1 e 72,3% ($F=45,39$ e $P=0,001$). Observa-se, contudo, que embora não tenha havido diferença significativa entre as médias, o valor de DT registrado para 12 casais/planta tendeu a ser superior aos demais (especialmente em comparação ao encontrado com 3 casais) (Tabela 15), o que tende a indicar que quanto maior o número de casais maior é o dano.

Tabela 15 - Média $\pm$ erro padrão das porcentagens de folhas enroladas (FE), folhas parcialmente enroladas (FPE), folhas atacadas e não enroladas (FANE) e dano total (DT= FE + FPE) em limão 'Rugoso' com diferentes densidades de infestação de adultos de *Phyllocnistis citrella*. Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas

Número de casais/planta	Parâmetros Qualitativos*			
	FE (%) ⁽¹⁾	FPE (%) ⁽¹⁾	FANE (%) ⁽¹⁾	DT (%) ⁽¹⁾
0	0,0 $\pm$ 0,00 a	0,0 $\pm$ 0,00 a	0,0 $\pm$ 0,00 a	0,0 $\pm$ 0,00 a
3	15,2 $\pm$ 2,42 ab	29,9 $\pm$ 3,15 b	30,5 $\pm$ 6,76 b	45,1 $\pm$ 2,39 b
6	32,5 $\pm$ 9,44 b	28,2 $\pm$ 2,20 b	14,5 $\pm$ 2,98 ab	60,6 $\pm$ 8,54 b
9	36,2 $\pm$ 14,76 b	28,9 $\pm$ 10,13 b	18,3 $\pm$ 6,72 ab	65,0 $\pm$ 10,37 b
12	46,2 $\pm$ 7,51 b	26,1 $\pm$ 2,50 b	21,5 $\pm$ 11,79 ab	72,3 $\pm$ 8,90 b
CV (%)	35,07	21,65	46,70	15,04

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (P $\leq$ 0,05, teste de Tukey);

¹Dados originais (transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ para análise estatística).

Baseando-se nos parâmetros onde ocorreu diferença significativa entre as médias como número de larvas, número de brotações novas e as diferentes categorias de folhas atacadas, e ainda considerando que baixas infestações da praga tendem a causar pouco dano à cultura, e grandes populações podem provocar danos elevados, podendo em ambas situações, segundo (Lara 1991), impossibilitar a discriminação entre variedades quanto ao grau de resistência, principalmente em ensaios de laboratórios, optou-se por usar a densidade de 6 casais (número intermediário entre as densidades) para avaliar a tolerância dos genótipos de citros selecionados anteriormente (item 3.4), evitando assim grande competição entre as larvas no caso de utilização de um número maior de casais, ou a não diferenciação dos genótipos quanto ao dano com o emprego de poucos casais.

Assim, os parâmetros selecionados para avaliar a tolerância dos genótipos foram: número de brotações novas, pesos fresco e seco e dano nas folhas dividido em quatro categorias (FE, FPE, FANE e DT). Embora os pesos fresco e seco não tenham sido significativamente afetados pela variação nas densidades de insetos neste teste preliminar, eles foram incluídos para utilização no experimento com os genótipos selecionados devido à utilização de diferentes genótipos e, visando assim, melhor estudar as características de cada um.

Padronizou-se, por outro lado, a densidade de 20 larvas correspondendo aproximadamente à média do número de larvas/planta (18,88) obtida no tratamento com 6 casais/planta (Tabela 14), que foi justamente a densidade selecionada para emprego no experimento de tolerância varietal.

4.5.2 Bioensaio com os genótipos selecionados

De acordo com os resultados obtidos para o número de brotações novas/planta, observou-se diferença significativa entre as plantas infestadas por *P. citrella* em relação às sem infestação apenas no híbrido C x R₃₁₅ em que o número de brotações novas na presença da praga foi menor (2,4) do que nas plantas sem infestação (5,4 brotações/planta). Para os demais genótipos, não houve diferença significativa entre plantas infestadas e não infestadas, com tendência de aumento no número de brotações nas plantas infestadas de tangerina 'Sunki' e no híbrido C x R₄ e de diminuição desse número em limão 'Rugoso', no híbrido M x P₂₂₂ e em Trifoliata Limeira (Tabela 16).

Tabela 16 - Número médio $\pm$ erro padrão de brotações novas (BN) em diferentes genótipos de citros sem e com infestação por *Phyllocnistis citrella* e valores de (T) e (P) Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas

Genótipos	Nº de brotações novas/planta*			
	Sem infestação	Com infestação	Teste 't'	Prob.
Limão 'Rugoso'	4,0 $\pm$ 0,32 A	3,8 $\pm$ 1,11 A	0,17	^{NS} (0,87)
Tangerina 'Sunki'	2,8 $\pm$ 0,37 A	3,0 $\pm$ 0,95 A	0,20	^{NS} (0,85)
Híbrido C x R ₄	1,6 $\pm$ 0,51 A	2,6 $\pm$ 1,03 A	0,87	^{NS} (0,42)
Híbrido C x R ₃₁₅	5,4 $\pm$ 1,03 B	2,4 $\pm$ 0,81 A	2,29	* (0,05)
Híbrido M x P ₂₂₂	2,8 $\pm$ 0,86 A	2,0 $\pm$ 0,63 A	0,75	^{NS} (0,48)
Trifoliata Limeira	1,4 $\pm$ 0,40 A	1,2 $\pm$ 0,73 A	0,24	^{NS} (0,82)

* Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste t);

^{NS} Não significativo;

* Significativo a 5% de probabilidade.

Para os dados obtidos para peso fresco não houve diferença significativa entre as médias (considerando-se as parcelas infestadas e não infestadas), com valores

variando de 0,7 a 2,0g e 0,9 a 2,5g respectivamente (Tabela 17). Com exceção da tangerina 'Sunki', em que, nas plantas infestadas ocorreu tendência de aumento de peso fresco em relação às não infestadas, nos demais genótipos ocorreu o inverso, ou seja, a infestação por *P. citrella* tendeu a reduzir o peso fresco das plantas em valores variáveis de 25% em Trifoliata Limeira a 9,1% no híbrido C x R₄.

Tabela 17 – Média $\pm$ erro padrão de peso fresco (PF) dos diferentes genótipos de citros sem e com infestação por *Phyllocnistis citrella* e valores de (T) e (P) Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas

Genótipos	Peso fresco (g)/planta*			
	Sem infestação	Com infestação	Teste 't'	Prob.
Híbrido C x R ₃₁₅	0,9 $\pm$ 0,18 A	0,7 $\pm$ 0,13 A	-1,01	^{NS} (0,34)
Híbrido C x R ₄	1,1 $\pm$ 0,23 A	1,0 $\pm$ 0,15 A	- 0,04	^{NS} (0,97)
Híbrido M x P ₂₂₂	1,4 $\pm$ 0,19 A	1,2 $\pm$ 0,13 A	- 0,56	^{NS} (0,59)
Trifoliata Limeira	1,6 $\pm$ 0,27 A	1,2 $\pm$ 0,33 A	- 0,87	^{NS} (0,40)
Tangerina 'Sunki'	1,7 $\pm$ 0,37 A	1,9 $\pm$ 0,33 A	0,27	^{NS} (0,79)
Limão 'Rugoso'	2,5 $\pm$ 0,22 A	2,0 $\pm$ 0,44 A	- 0,97	^{NS} (0,37)

* Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste t);

^{NS} Não significativo.

Também no que se refere ao peso seco, novamente não houve diferença significativa na comparação entre plantas infestadas por *P. citrella* e plantas sem infestação (Tabela 18), com valores médios variando de 0,1 a 0,4g e 0,2 a 0,5g, respectivamente. Em relação a esse parâmetro, contudo, verificou-se tendência de redução do peso seco das plantas infestadas (em comparação às não infestadas) apenas para Trifoliata Limeira (40%) e seu híbrido C x R₃₁₅ (50%), enquanto que para os demais genótipos as médias foram numericamente idênticas. Essa resposta diferenciada da maioria dos genótipos na comparação entre os pesos fresco e seco quando as plantas são submetidas ou não ao ataque da praga, provavelmente se deva a maior ou menor retenção de água nas folhas nos diferentes genótipos.

Tabela 18– Média $\pm$ erro padrão de peso seco (PS) com e sem infestação por *Phyllocnistis citrella* dos diferentes genótipos de citros e valores de (T) e (P). Temp.: $25\pm 1^\circ\text{C}$; UR: $70\pm 10\%$ e fotofase: 14 horas

Genótipos	Peso seco(g)/planta*			
	Sem infestação	Com infestação	Teste 't'	Prob.
Híbrido C x R ₃₁₅	0,2 $\pm$ 0,06 A	0,1 $\pm$ 0,02 A	- 0,89	^{NS} (0,41)
Híbrido M x P ₂₂₂	0,2 $\pm$ 0,04 A	0,2 $\pm$ 0,03 A	- 0,58	^{NS} (0,58)
Híbrido C x R ₄	0,2 $\pm$ 0,06 A	0,2 $\pm$ 0,04 A	- 0,09	^{NS} (0,93)
Tangerina 'Sunki'	0,3 $\pm$ 0,07 A	0,3 $\pm$ 0,04 A	0,80	^{NS} (0,45)
Trifoliata Limeira	0,5 $\pm$ 0,13 A	0,3 $\pm$ 0,09 A	- 1,23	^{NS} (0,26)
Limão 'Rugoso'	0,4 $\pm$ 0,06 A	0,4 $\pm$ 0,07 A	- 0,65	^{NS} (0,53)

* Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si ($P \leq 0,05$, teste t);

^{NS} Não significativo.

Resistência do tipo tolerância é a capacidade de uma planta manter a aptidão, em termos de crescimento ou produção, mesmo após intensa herbivoria, em relação a outros hospedeiros suscetíveis (SADASIVAM; THAYUMANAVAN, 2003). Segundo estes autores, a comparação de dano, a quantidade de plantas sobreviventes e a produção de biomassa em parcelas infestadas e não infestadas das diferentes cultivares também são fatores importantes para se determinar tolerância.

Em relação ao dano nas folhas, verificou-se para a categoria folhas enroladas (FE), a ocorrência de diferença significativa entre as porcentagens médias dos genótipos ($F=3,48$; $P=0,016$), constatando-se o menor valor em Trifoliata Limeira (21,0%), diferindo da tangerina 'Sunki' e do limão 'Rugoso', onde foram registrados respectivamente 67,0% e 58,0% de folhas com enrolamento, enquanto nos demais materiais os valores (variáveis entre 31,0 e 41,0%) foram intermediários não diferindo dos extremos (Tabela 19). Observa-se que entre Trifoliata Limeira e seus híbridos (C x R₄ e C x R₃₁₅, com 31,0 e 39,0% de folhas enroladas, respectivamente), não houve diferença significativa entre as médias, o que sugere que aquele progenitor tenha transmitido suas características de resistência aos seus descendentes.

Já na categoria folhas parcialmente enroladas (FPE), verifica-se que, embora tenha ocorrido variação de 16,0 (híbrido M x P₂₂₂) a 32,0% (híbrido C x R₃₁₅), não houve diferença significativa entre as médias dos genótipos ($F=1,20$; $P=0,338$) (Tabela 19).

Na categoria folhas atacadas e não enroladas (FANE), verifica-se diferença significativa entre as médias ($F=4,82$; $P=0,003$) com o maior valor (44,0%) sendo registrado em Trifoliata Limeira, o qual diferiu dos valores observados em tangerina 'Sunki' (10,0%), no híbrido M x P₂₂₂ (10,0%) e em limão 'Rugoso' (12,0%). Nos demais genótipos, os valores obtidos (26,0 e 36,0%) foram intermediários não diferindo dos extremos. Vale ressaltar que também em relação a esse parâmetro, não houve diferença entre Trifoliata Limeira e seus híbridos C x R₃₁₅ e C x R₄.

Finalmente em relação ao parâmetro dano total (FE + FPE), observa-se diferenças entre os genótipos com médias variando de 52,0 a 91,0% de folhas danificadas pela LMC ($F=4,61$; $P=0,004$) (Tabela 19). Os resultados permitem destacar o genótipo Trifoliata Limeira como aquele em que se registrou a menor porcentagem de folhas danificadas (52,0%), o qual diferiu significativamente das médias constatadas em tangerina 'Sunki' (91%) e no limão 'Rugoso' (84,0%). Formando o segundo grupo de genótipos menos danificados, incluem-se os híbridos C x R₄ (56,0%) e M x P₂₂₂ (57,0%) que não diferiram significativamente de Trifoliata Limeira, mas que apresentaram menor dano que tangerina 'Sunki' e limão 'Rugoso'. O híbrido C x R₃₁₅ com 71,0% das folhas danificadas comportou-se como intermediário não diferindo de nenhum dos demais genótipos testados.

O método de estimativas qualitativas é o mais utilizado nos estudos para determinar o dano em folhas e a porcentagem de área danificada pela LMC (KNAPP et al., 1995; PENA, 1994; WILSON, 1991; JACA et al., 1997). Outras metodologias, como análises de imagens, para prever a exatidão e a variabilidade das estimativas qualitativas têm sido empregadas (SCHAFFER et al., 1997). Observa-se que no presente estudo, o dano foliar foi o parâmetro que melhor discriminou os genótipos com tolerância ao ataque da LMC.

Diante dos resultados observados para tolerância dos genótipos entre as categorias selecionadas para este parâmetro, FPE parece não ser uma boa categoria

para avaliação de dano. FE, FANE e DT foram as categorias que melhor discriminaram os genótipos em estudo.

Para o parâmetro qualitativo, dano foliar, o porta-enxerto Trifoliata Limeira apresentou, em relação aos outros genótipos, menor porcentagem de FE, já que este é o principal sintoma do ataque da praga, pois este dano causado pelo inseto, entre outros, reduz a capacidade fotossintética de seus hospedeiros (NASCIMENTO; SANTOS; CASSINO, 2000). Observou-se ainda que este mesmo genótipo para a categoria FANE foi menos danificado pela praga em relação aos outros, assim como propiciou o menor valor para DT, o que indica tolerância deste material à LMC. O mesmo padrão foi observado em seu híbrido C x R₄ podendo-se classificá-lo também como tolerante ao ataque da LMC. O híbrido C x R₃₁₅ comportou-se como intermediário com base nas categorias citadas anteriormente. Por outro lado, os genótipos limão 'Rugoso', híbrido M x P₂₂₂ e tangerina 'Sunki' podem ser classificados como suscetíveis ao ataque da praga.

Tabela 19 - Média $\pm$ erro padrão das porcentagens de folhas enroladas (FE), folhas parcialmente enroladas (FPE) e folhas atacadas e não enroladas (FANE) e dano total (DT = FE + FPE) nos diferentes genótipos de citros com infestação de *Phyllocnistis citrella*. Temp.: 25 $\pm$ 1°C; UR: 70 $\pm$ 10% e fotofase: 14 horas

Genótipos	Parâmetros qualitativos*			
	FE ⁽¹⁾	FPE ⁽¹⁾	FANE ⁽¹⁾	DT ⁽¹⁾
	(%)	(%)	(%)	(%)
Trifoliata Limeira	21,0 $\pm$ 6,96 b	31,0 $\pm$ 6,60 a	44,0 $\pm$ 5,34 a	52,0 $\pm$ 4,06 c
Híbrido C x R ₄	31,0 $\pm$ 9,92 ab	25,0 $\pm$ 6,12 a	36,0 $\pm$ 6,78 ab	56,0 $\pm$ 5,34 bc
Híbrido C x R ₃₁₅	39,0 $\pm$ 6,04 ab	32,0 $\pm$ 3,74 a	26,0 $\pm$ 8,72 ab	71,0 $\pm$ 9,54 abc
Híbrido M x P ₂₂₂	41,0 $\pm$ 14,35ab	16,0 $\pm$ 3,67 a	10,0 $\pm$ 3,16 b	57,0 $\pm$ 11,90 bc
Limão 'Rugoso'	58,0 $\pm$ 3,74 a	26,0 $\pm$ 6,20 a	12,0 $\pm$ 3,74 b	84,0 $\pm$ 4,00 ab
Tangerina 'Sunki'	67,0 $\pm$ 3,74 a	24,0 $\pm$ 5,79 a	10,0 $\pm$ 4,18 b	91,0 $\pm$ 4,00 a
CV (%)	27,92	25,87	37,34	12,70

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si (P $\leq$ 0,05, teste de Tukey;

¹. Dados originais (transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ para análise estatística).

Para melhor visualizar os resultados, os parâmetros utilizados na avaliação deste ensaio com os genótipos selecionados foram agrupados em fenograma (Figura 15), que permite constatar uma nítida separação entre dois grupos. A altura euclidiana utilizada para definir a formação dos grupos foi 15, pelo fato de que foi nesta distância que houve uma maior diferenciação entre os grupos (Figura 14). A partir daí observou-se a formação do primeiro grupo na distância euclidiana de 11,9 constituído por tangerina 'Sunki' e limão 'Rugoso', formando um agrupamento bem definido, pois se agruparam na menor distância euclidiana quando se leva em conta o conjunto de parâmetros avaliados. O segundo agrupamento formou-se com o porta-enxerto Trifoliata Limeira e seu híbrido C x R₄ numa distância euclidiana de 14,9 mostrando serem os genótipos mais similares neste grupo. Os híbridos C x R₃₁₅ e M x P₂₂₂ ficaram separados evidenciando a disparidade de comportamento destes genótipos quando se levam em conta todos os parâmetros avaliados.

Mediante os resultados encontrados no fenograma (Figura 15) e com base nas análises individuais da maioria dos parâmetros obtidos, principalmente os relacionados ao dano foliar, pode-se inferir que os genótipos Trifoliata Limeira e o seu híbrido C x R₄ se comportaram como os mais tolerantes a LMC. Por outro lado, o limão 'Rugoso' e a tangerina 'Sunki' foram os genótipos menos tolerantes ou suscetíveis, confirmando as tendências observadas em vários dos parâmetros avaliados.

Figura 14 – Gráfico com a distância de ligação dos grupos com a utilização do método de aglomeração *Plot of Linkage Distances across Steps* e medida de distância de dissimilaridade euclidiana baseado nos parâmetros quantitativos e qualitativos de diferentes genótipos de citros sob infestação de *Phyllocnistis citrella*

Figura 15 - Fenograma baseado nos parâmetros quantitativos e qualitativos de diferentes genótipos de citros sob infestação de *Phyllocnistis citrella* com utilização do método de aglomeração *Unweighted pair-group average* e medida de distância de dissimilaridade euclidiana

Não foram encontrados na literatura pesquisas que relatem níveis de tolerância de genótipos de *Citrus* spp. ao ataque de pragas. Os estudos que relatam este tipo de resistência para estes genótipos dizem respeito apenas ao ataque de patógenos, como, por exemplo, *Phytophthora nicotianae* (CARPENTER; FULL, 1962; CAMERON et al., 1972; MEDINA FILHO et al., 2004). Nestes estudos, vários clones de *P. trifoliata* (L.) Ralf constituíram excelentes fontes de tolerância a este patógeno. Tem sido divulgado ainda que muitos dos híbridos de *P. trifoliata* expressaram em progênies clonais um alto grau de tolerância (MEDINA FILHO et al., 2004).

As defesas apresentadas pelas plantas são consideradas fundamentais na compreensão dos sistemas ecológicos, como o relacionamento entre estas e os

organismos a sua volta. Deste modo, o conhecimento destas interações torna-se uma ferramenta importante para o manejo dos insetos minadores presentes nos cultivos comerciais, principalmente neste momento em que se procura fazer um controle racional dos insetos, utilizando o manejo integrado de pragas (MIP). Apesar da grande importância de se ter conhecimento das relações entre insetos minadores e seus hospedeiros, principalmente as envolvidas no processo de seleção e localização das plantas hospedeiras, estudos sobre tolerância têm recebido pouca atenção em relação aos que descrevem antixenose e antibiose como fonte de resistência para diferentes culturas e pragas. Para genótipos de *Citrus* spp. e a LMC, isso não é diferente. Como os insetos minadores são considerados altamente especializados, ou seja, são atraídos para ovipositar ou alimentar em plantas específicas devido à textura, substâncias odoríferas entre outras, há uma necessidade de mais estudos neste sentido para servirem como ferramenta para auxiliar o controle destes insetos-praga.

Diante da escassez de informações a respeito da resistência de citros a *P. citrella* no Brasil e, levando em consideração o papel econômico e social desta cultura, não somente no estado de São Paulo, mas em todo o país, as informações contidas neste trabalho são importantes para futuras investigações que busquem determinar resistência varietal entre os genótipos existentes no país, principalmente em estudos que possam caracterizar germoplasma com base em estudos genéticos para obtenção de cultivares com fator de resistência que possam ser utilizados no manejo integrado dessa praga e, conseqüentemente, evitar a disseminação da bactéria XAC pv. *citri*, responsável pelo cancro cítrico.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A citricultura brasileira é de grande relevância para o agronegócio, mas a competitividade na produção do país é influenciada por várias barreiras e desafios, principalmente os relacionados a problemas fitossanitários, como a LMC, *Phyllocnistis citrella*, considerada um fator limitante na produção desta cultura, exigindo uma contante busca de conhecimentos científicos e tecnológicos. A utilização de plantas resistentes poderá ser uma importante estratégia para auxiliar o controle da LMC, pois tende a permitir a manutenção da praga em níveis inferiores ao de dano econômico, sem causar prejuízos ao ambiente e sem custo adicional ao agricultor. Além disso, torna-se uma técnica ideal para ser utilizada em qualquer programa de manejo devido sua compatibilidade com os demais métodos de controle.

Diante disso, a partir dos resultados do *screening* inicial, pôde-se verificar que alguns dos genótipos de citros podem interferir na população da LMC, sendo que estes podem influenciar com maior ou menor intensidade a dinâmica populacional do inseto. Dos 23 genótipos testados, cinco deles (tangerina 'Sunki', Trifoliata Limeira, os híbridos C x R₄, C x R₃₁₅ e M x P₂₂₂) apresentaram menores valores para o IR (índice de resistência) que foi avaliado com base no número de ovos e número de pupas de *P. citrella*, resultantes dessa oviposição, o que permitiu que eles fossem considerados promissores para estudos de resistência à LMC.

Entre estes cinco genótipos mais promissores, verificou-se nos testes de preferência para oviposição com e sem chance de escolha que Trifoliata Limeira foi o menos preferido pela LMC. No teste com chance de escolha, observou-se que seus híbridos C x R₄ e C x R₃₁₅ também foram menos ovipositados em relação ao híbrido M x P₂₂₂ e ao limão 'Rugoso'.

Mediante os dados sobre o efeito dos genótipos no desenvolvimento da LMC, houve efeito apenas no tamanho e peso de pupa e na longevidade e fecundidade dos adultos. Merece destaque, no entanto, os híbridos de *C. sunki* x *P. trifoliata*, C x R₄ e C x R₃₁₅, pois para ambas as fases estes mostraram características que podem afetar o desenvolvimento da praga.

Por fim, destaca-se a importância de parâmetros que antecedem a produção que possam caracterizar resistência do tipo tolerância, pois esta poderá ser o tipo mais interessante de resistência para dar início aos demais estudos com o objetivo de obtenção de variedades resistentes. No presente estudo, dano foliar foi o parâmetro que melhor discrimina os genótipos em relação à tolerância ao ataque de *P. citrella*, assim como, pesos fresco e seco foram menos parâmetros adequados. Os genótipos mais tolerantes ao ataque da LMC foram Trifoliata Limeira e seu híbrido C x R₄, pois foram os que apresentaram o menor dano foliar entre os genótipos testados. O conhecimento dos genótipos de citros com possíveis fontes de resistência irá fornecer subsídios aos programas de melhoramento, possibilitando, deste modo, um controle mais efetivo da LMC em condições de campo.

6 CONCLUSÕES

- ♣ Entre os 23 genótipos de citros submetidos a adultos de *P. citrella*, a tangerina 'Sunki'; os híbridos C x R₄, C x R₃₁₅, M x P₂₂₂ e o gênero afim Trifoliata Limeira são os que propiciam a menor oviposição e o menor número de pupas.
- ♣ Entre os genótipos tangerina 'Sunki'; os híbridos C x R₄, C x R₃₁₅, M x P₂₂₂ e o gênero afim Trifoliata Limeira, os menos preferidos para oviposição em condições de livre escolha são Trifoliata Limeira e seu híbrido C x R₃₁₅, sendo o híbrido M x P₂₂₂ o mais preferido seguido pelo limão 'Rugoso';
- ♣ Em condições de confinamento, entre estes cinco genótipos, Trifoliata Limeira é o menos preferido para oviposição e o limão 'Rugoso' o mais preferido;
- ♣ Tangerina 'Sunki'; os híbridos C x R₄, C x R₃₁₅, M x P₂₂₂, o gênero afim Trifoliata Limeira e o limão 'Rugoso' não afetam a duração e a viabilidade das fases de ovo, lagarta e pupa de *P. citrella*;
- ♣ Os híbridos C x R₄ e C x R₃₁₅ reduzem o tamanho e o peso de pupas;
- ♣ Fêmeas provenientes de lagartas criadas nos híbridos C x R₄ e C x R₃₁₅ foram as menos fecundas;
- ♣ O dano foliar é o parâmetro que melhor discrimina os genótipos em relação à tolerância ao ataque de *P. citrella*;
- ♣ Pesos fresco e seco não são parâmetros adequados para estudos de tolerância de citros a *P. citrella*;

- ♣ Entre os cinco genótipos testados, Trifoliata Limeira e o seu híbrido C x R₄ são os mais tolerantes ao ataque de *P. citrella* e o limão 'Rugoso' e a tangerina 'Sunki' os menos tolerantes.

REFERÊNCIAS

ALBA, C.G. **El minador de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton. Introducción y comportamiento en España Descripción, daños y caracterización ecológica: estrategia de lucha.** Malaga: Consejería de Agricultura Y pesca, 1996. 18 p.

ALI MAFI, S.; VANG, L. Van; NAKATA, Y.; OHBAYASHI, N.; YAMAMOTO, M.; ANDO, T. Identification of the sex pheromone of the Citrus leafminer (*Phyllocnistis citrella* Stainton, Lepidoptera: Gracillariidae) with a trial of control by the Communication Disruption Method. **Journal of Pesticide Science**, Osaka, v. 30, n. 4, p. 361-367, 2005.

AMALIN, D.M. PEÑA, J. E.; DUNCAN, R. E.; BROWNING, H. W.; MACSORLEY, R. Natural mortality factors acting on citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in lime orchards in South Florida. **BioControl**, Dordrecht, v. 47, n. 3, p. 327-347, 2002.

AMALIN, D.M.; REISKIND, J., PEÑA, J. E. ; MCSORLEY, R. Predatory behavior of three species of sac spiders attacking citrus leafminer. **Journal of Arachnology**, Lubbock, v. 29, n. 1, p. 72-81, 2001.

AMARAL, A.M.; MACHADO, M.A.; PAIVA, L.V. Uso prático da biotecnologia na citricultura. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 22, n.209, p.95-100, 2001.

AMORIM, E.P.R. Controle **biológico de *Phytophthora parasitica* Dastur e *Phytophthora citrophthora* (Smith & Smith) Leonian em plântulas de citros.** 1997. 113p. Tese (Doutorado na área de Fitotecnia e Fitossanidade) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 1997.

ANDO, T.; TAGUCHI, K.Y.; UCHIYAMA, M.; UJIYE, T.; KUROKO, H. (7z,11z)-7,11-Hexadecadienal - Sex Attractant of the Citrus Leafminer Moth, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera, Phyllocnistidae). **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 49, n. 12, p. 3633-3635, 1985.

ARAÚJO, E.F.; ROQUE, N. Taxonomia dos citros. In: MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, 2005. p. 127-143.

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**, Bet Dagan, v. 24, n. 1, p. 33-38, 1996.

ARGOV, Y.; RÖSSLER, Y. Rearing methods for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton, and its parasitoids in Israel. **Biological Control**, Orlando, v.11, n. 1, p.18-21, 1998.

ATTYGALLE, A.B.; JHAM, G.N.; SVATOS, A.; FRIGHETTO, R.T.S.; MEINWALD, J.; VILELA, E.F.; FERRARA, F.A.; UCHOA-FERNANDES, M.A. Microscale, random reduction: Application to the characterization of (3*E*, 8*Z*, 11*Z*)-3,8,11-tetradecatrienyl acetate, a new lepidopteran sex pheromone. **Tetrahedron Letters**, Oxford, v. 36, n. 31, p. 5471-5474, 1995.

AUERBACH, M.J.; CONNOR, E.F.; MOPPER, S. Minor miners and major miners: population dynamics of leaf-mining insects. In: N. Cappuccino; P.W. Price. **Population dynamics**. London: Academic Press, 1995. p. 83-105.

BA-ANGOOD, S.A.S. Biology and food preference of Citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Pdr-of-Yemen. **Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie**, Hamburg, v. 86, n. 1, p. 53-57, 1978.

BATRA, R.C.; SANDHU, S.C. Screening of citrus germplasm for citrus leafminer in the Punjab. **Journal Research Punjab Agricultural University**, Ludhiana, v. 18, p. 221-223, 1983.

BATRA, R.C.; SANDHU, S.C. Mechanism of resistance in Troyer citrange to citrus leafminer. *Journal of Research*, **Punjab Agricultural University**, Ludhiana, v. 20, p.558-559, 1983

BATRA, R.C.; SHARMA, S.C.; CHANANA, Y.R. Screening of citrus germplasm for their resistance against citrus leaf miner, *Phyllocnistis citrella* Stainton. **Journal of Insect Science**, Madison, v. 5, n. 2, p. 150-152, 1992.

BATRA, R.C.; SANDHU, S.C.; SHARMA, S.C.; SINGH, R. Biology of the citrus leafminer on some rootstocks and its relationships with abiotic factors. **The Punjab Horticultural Journal**, Patiala, v. 28, n. 1/2, p. 30-35, 1988.

BENTO, J.M.S.; PARRA-PEDRAZZOLI, A.L. Feromônios e o controle biológico de pragas. In: PINTO, A.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUSA, D.T. (Org.). **Controle biológico de pragas na prática**. Piracicaba: CP2, 2006, v. 1 p. 213-219.

BENTO, J.M.S.; PARRA, J.R.P.; VILELA, E.F.; WALDER, J.M.; LEAL, W.S. Sexual behaviour and diel activity of citrus fruit borer *Ecdytolopha aurantiana*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 27, n. 10, p. 2053-2065, 2001.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; GOTTWALD, T.R.; LARANJEIRA, F.F. Spatial distribution of citrus canker in São Paulo – Brazil. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON PLANT DISEASE EPIDEMIOLOGY, 8., 2001. Ouro Preto. **Proceedings...** Ouro Preto: International Society of Plant Pathology, 2001. p. 28-29.

BERNET, G.P.; MARGAIX, C.; JACAS, J.; CARBONELL, E.A.; ASINS, M.J. Genetic analysis of citrus leafminer susceptibility. **Theoretical of Applied Genetics**, Berlin, v. 110, n. 8, p. 1393-1400, 2005.

BERTI FILHO, E. Uso potencial e corrente de inimigos naturais no controle de pragas florestais In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 4., 1994, Gramado. **Anais...** Gramado: EMBRAPA-CPACT, 1994. p.183-188.

BOTELHO, P.S.M.; MAGRINI, E.A.; SILVEIRA NETO, S.; MACEDO, N.. Flutuação de machos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) através de armadilha de feromônio. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 293-297, 1993.

BROWNING, H.; PEÑA, J.E. Biological control of the citrus leafminer by its native parasitoids and predators. **Citrus Industry**, Tampa, v. 76, n. 4, p. 12-14, 1995.

CAI, Z.J. Study on the factors affecting the species changes of the citrus leafminer. **South China Fruits**, Shanghai, v. 28, n. 3, p. 12-13, 1999.

CAMPOS, Y.; SEPÚLVEDA, B.; TUME, P. Entomopathogenicity of native bacteria from *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* against the pest *Phyllocnistis citrella*. **Pesticide Management Science**, Sussex, v. 63, n. 4, p. 394-398, 2007.

CAMERON, J.W.; SOOST, R.K. Citrus. In: FERWERDA, F.P.; WIT, F. (Ed.). **Outlines of perennial crop breeding in the tropics**. N.V Wageningen: Veenman and Zonen, 1969. p.129-162.

CAMERON, J.W.; KLOTZ, L.J.; DeWOLFE, T.A.; SOOST, R.K. Estimates of the resistance of *Citrus x Poncirus* hybrids to feeder root infection by *Phytophthora* spp. By a greenhouse seedling test. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 56, n 2, p. 927-931, 1972.

CARPENTER, J.B.; FURR, J.R. Evaluation of tolerance to root rot caused by *Phytophthora parasitica* in seedlings of Citrus and related genera. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 52, n. 1, p. 1277-1285, 1962.

CARVALHO, J.E.B.; NEVES, C.S.V.J.; MENEGUCCI, J.L.P.; SILVA, J.A.A da. Práticas Culturais. In: MATTOS JUNIOR, D. de.; NEGRI, J.D. de.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, 2005. p. 451-482.

CASTLE, W.S.; TUCKER, D.P.H.; KREZDORN, A.H.; YOUTSEY, C.O. Rootstock selection: the first step to success. **Rootstock for Florida citrus**. Gainesville: University of Florida, Gainesville, 1989. p. 47.

CASTRO, O.; GONZÁLEZ, C.; BORGES, M.; ALONSO, E. The citrus leaf miner *Phyllocnistis citrella* Stainton. **Fruticetri**, Cuba, v. 119, n. 1, p. 10-11, 2002.

Citrolima. **Trifoliata**. São Paulo, 9 jan. 2009. Disponível em: <<http://www.citrolima.com.br/portaenxertos/trifoliata.htm>>. Acesso em: 9 jan. 2009.

CHAGAS, M.C.M. ***Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae): Bioecologia e relação com o cancro cítrico**. 1999. 67 p. Tese (Doutorado na área de Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

CHAGAS, M.C.M.; PARRA, J.R.P. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): técnica de criação e biologia em diferentes temperaturas. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 227-235, 2000.

CHAGAS, M.C.M. ;PARRA, J.R.P.; NAMEKATA, T.; HARTUNG, J.S.; YAMAMOTO, P.T. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) and its relationships with

the citrus canker bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv. Citri in Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 55-59, 2001.

CHIARADIA, L.A.; MILANEZ, J.M. "Lagarta minadora-dos-citros", uma nova praga na citricultura catarinense. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 10, n. 3, p. 20-21, 1997.

CÔNSOLI, F.L. Lagarta-minadora-dos-citros *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). In: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R.A.; CANTOR, F. **Histórico e impactos das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 23-30.

CÔNSOLI, F.L.; ZUCCHI, R.A.; LOPES, J.R.S. **A lagarta minadora dos citros *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae)**. Piracicaba: FEALQ, 1996. 39 p.

COOK, A.A. Association of citrus canker pustules with leafminer tunnels in North Yemen. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 72, n. 6, p. 544-546, 1988.

COSTA, V.A. SÁ, L.A.N. de; LASALLE, J.; NARDO, E.A.B. de; ARELLANO, F.; FUINI, L.C. Indigenous parasitoids (Hymenoptera: Chalcidoidea) of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Jaguariúna, São Paulo State, Brasil: preliminary results. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 123, n. 4, p. 237-240, 1999.

CRISTOFANI, M. **Mapas de ligação de Citrus sunki Hort. ex. Tan. e *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. cv. 'Rubidoux' e localização do gene de resistência ao vírus da tristeza**. 1997. 152p. Tese (Doutorado em Agronomia Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Universidade de São Paulo.

DANTAS, J.L.L.; SOARES FILHO, W.S.; OLIVEIRA, J.R.P.; CABRAL, J.R.S.; BARBOSA, L.V.; CUNHA, M.A.P.; RITZINGER, R.; SILVA, S.O. Melhoramento de fruteiras de clima tropical. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 549-602

DÍAZ, M.E.; FERNÁNDEZ, M.; ÁVILA, O.; PÉREZ, J.; GARCÍA, L.E.; COBAS, B. Comportamiento poblacional de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) em vivero de cítricos de la Isla de La Juventud. **Revista de Protección Vegetal**, San José de las Lajas Habana, v. 21, n. 1, p. 27-30, 2006.

DONADIO, L.C.; STUCHI, E.S.; CYRILLO, F.L.L. **Tangerinas ou mandarinas**. Jaboticabal: FUNEP, 1998. 40 p. (Boletim citrícola, 5).

DONADIO, L.C.; ALVES, F. de A.; FILHO, M.; MOREIRA, C.S. Centros de origem, distribuição geográfica das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. In: MATTOS JUNIOR, D. de.; NEGRI, J.D. de.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag. 2005. p. 1-18.

DU, T.Y.; XIONG, J.J.; WANG, Z.H.; KONG, F.L. (Z,Z)-7,11-Hexadecadienal: sex attractant of *Phyllocnistis wampella* Liu et Zeng. **Insect Knowledge**, Shanxi, v. 26, n. 3, p. 147-149, 1989.

FAO. **Oranges; tangerines, mandarins, clementines and satsuinias; lemons and limes, grapefruit and pumelos**. Roma. Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acesso: dez. 2008.

FEICHTENBERGER, E.; MÜLLER, G.W.; GUIRADO, N. Doenças dos citros (*Citrus* spp.). In: KIMATI, H. AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**: Doença das plantas cultivadas. São Paulo: Ceres, 1997. p. 261-296.

FEICHTENBERGER, E.; RAGA, A. First Record of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Brazil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14., 1996. Curitiba, **Anais...** Curitiba: SBF, 1996. p. 445.

FNP - CONSULTORIA & COMÉRCIO. Citrus. In: _____ **Agrianual 2009**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2009. p. 267-300.

FUNDECITRUS. **Fundo de defesa da citricultura**: Cancro cítrico. São Paulo, 2007. Av.23, n.140. p. 8-9, Jul/Ago 2007.

FRANG, D.Q.; ROOSE, M.L.; KRUEGER, R.R.; FEDERICI, C.T. Fingerprinting trifoliate orange germplasm accessions with isozymes, RFLPs, and inter-simple sequence repeat markers. **Theoretical and applied Genetics**, Berlin, v. 95, n. 1/2, p. 211-219, 1997.

FROST, H.B.; SOOST, R.K. Seed reproduction: development of gametes and embryos. In: REUTHER, W.; WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed). **The Citrus Industry**.

Berkeley: California Division of Agricultural Sciences, University of California, 1968. v.2, p.291-300.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVERA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, v. 10, 2002. 920 p.

GARIDO, A. *Phyllocnistis citrella* Stainton, aspectos ecológicos e enemigos naturales encontrados en España. **Levante Agrícola**, Valencia, v. 330, p. 13-21, 1995.

GARIJO, C.A.; GARCÍA, J.G. Minador de las hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton. **Phytoma**, Paris, v. 58, p. 220-223, 1994.

GOANE, L.; VALLADARES, G.; WILLINK, E. Preference and performance of *Phyllocnistis citrella* Station (Lepidoptera: Gracillariidae) on three Citrus Host: Laboratory and Field assessment. **Environmental Entomology**, College Park, v. 37, n. 4, p. 1025-1034, 2008.

GOTTWALD, T.R.; GRAHAM, J.H. A device for precise and nondisruptive stomatal inoculation of leaf tissue with bacterial pathogens. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 82, n. 9, p. 930-935, 1992.

GOTTWALD, T.R.; GRAHAM, J.H.; SCHUBERT, T.S. Citrus canker in urban Miami: an analysis of spread and prognosis for the future. **Citrus Industry**, Tampa, v. 78, n. 8, p. 72-78, 1997.

GOTTWALD, T.R.; GRAHAM, J.H.; CIVEROLO, E.L.; BARRETT, H.C.; HEARN, C.J. Differential host range reaction of citrus and citrus relatives to citrus canker and citrus bacterial spot determined by leaf mesophyll susceptibility. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 77, n. 10, p. 1004-1009, 1993.

GULLAN, P.J.; CRANSTON, P.S. Sistemas sensoriais e comportamento. In: GULLAN, P.J.; CRANSTON, P.S. **Os Insetos: Um resumo de entomologia**. São Paulo: Roca, 2008. p.76-98.

GRAVENA, S. Lagarta minadora dos citros no Brasil. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 17, n.1, p. 286-288, 1996.

GRAVENA, S. "Vespinhas importadas controla minadora": *Ageniaspis citricola*, a microvespa que veio da Flórida, se deu bem na citricultura brasileira e foi um sucesso no controle biológico da minadora dos citros. **Citricultura Atual**, Cordeirópolis, n. 22, p. 14-15, 2001.

GRAVENA, S.; BENNVENGA, S.R.; PAIVA, P. E.B.; SILVA, J.L. Efficiency of the insecticide Winner (imidacloprid) on control of some citrus pests and selectivity to natural enemies. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 13., 2000, Foz do Iguaçu. **Abstracts....** Foz do Iguaçu: EMBRAPA, 2000. p. 64.

GREVE, C.; REDAELLI, L.R. Distribuição especial de imaturos de *Phyllocnistis citrella*, (Lepidoptera, Gracillariidae) nos brotos e nas folhas de laranjeiras, *Citrus sinensis* var. Valência, mantidas sob dois sistemas de cultivo. **Iheringia Série Zoológica**, Porto Alegre, v. 95, n. 3, p. 305-310, 2005.

GROSSER, J.W.; GMITTER JUNIOR, F.G. Protoplast fusion and citrus improvement. **Plant Breeding Reviews**, Berlin, v. 8, p. 339-374, 1990.

HASSE, G.A. **A laranja no Brasil 1500-1987: a história da agroindústria cítrica brasileira, dos quintais coloniais às fábricas exportadoras de suco do século XX.** São Paulo: Duprat & Iobe Propaganda, 1987. p. 18-23.

HEPPNER, J.B. Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Florida (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae). **Tropical Lepidoptera**, Gainesville, v. 4, n. 1, p. 49-64, 1993.

HEPPNER, J.B. Citrus leafminer, (Lepidoptera: Gracillariidae) on fruit in Florida. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 78, n. 1, p. 182-186, 1995.

HERRERO, R.; ASÍNS, M.J.; CARBONELL, E.A.; NAVARRO, L. Genetic diversity in the orange subfamily Aurantioideae. I. Intraspecific and intragenus genetic variability. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 92, p. 599- 906, 1996.

HOY, M.A.; NGUYEN, R., Classical biological control of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): theory, practice, art and science. **Tropical Lepidoptera**, Gainesville, v. 8, n. 1, p. 1-19, 1997.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. **Os números da citricultura**. São Paulo: Secretaria da Agricultura e Abastecimento, 1997. 28 p.

JACAS, J.A.; GARRIDO, A. Differences in the morphology of male and female of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 79, n. 4, p. 603-606, 1996.

JACAS, J.A.; PEÑA, J.E. Calling behavior of two different field populations of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae): effect of age and photoperiod. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 85, n. 2, p. 378–381, 2002.

JACAS, J.A.; GARRIDO, A.; MARGAIX, C.; FORNER, J.; ALCAIDE, A.; PINA, J.A. Screening of different citrus rootstocks and citrus-related species for resistance to *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Crop Protection**, Guildford, v. 16, n. 8, p. 701-705, 1997.

JESUS, C.R. de; REDAELLI, L.R.; DAL SOGLIO, F.K. Flutuação populacional de *Phyllocnistis citrella* Stainton em *Citrus deliciosa* e no híbrido Murcott *Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 593-600, 2008.

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. 4 p.

KNAPP, J.L. ALBRIGO, L.G.; BROWNING, H.W.; BULLOCK, R.C.; HEPPNER, J.B.; HALL, D.G.; HOY, M. A., NGUYEN, R.; PEÑA, J.E.; STANSLY, P.A. **Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton: current status in Flórida**. Gainesville: Florida Cooperative Extensive Service-Institute of Food and Agricultural Science. 1995. 35 p.

LARA, F.M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ícone. 2 ed., 1991. 336 p.

LARANJEIRA, F.F.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; AGUILAR-VILDOSO, C.I.; COLETTA FILHO, H.D. Fungos, procariotos e doenças abióticas. In: MATTOS JUNIOR, D. de.; NEGRI, J.D. de.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag. 2005. p. 509-566.

LAPOINTE, S.L.; HALL, D.G.; MURATA, Y.; PARRA-PEDRAZZOLI, A.L.; BENTO, J.M.S.; VILELA, E.F. LEAL, W.S. Field evaluation of a synthetic female sex pheromone for the leafmining moth *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Florida citrus. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 89, n. 2, p. 274-276, 2006.

LEAL, W.S.; BENTO, J.M.S.; MURATA, Y.; ONO, M.; PARRA, J.R.P.; VILELA, E.F. Identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone of the citrus fruit borer *Ecdytolopha aurantiana* (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 27, n. 10, p. 2041-2051, 2001.

LEGASPI, J.C.; FRENCH, J.V.; ZUÑIGA, A.G.; LEGASPI JÚNIOR, B.C. Population dynamics of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae), and its natural enemies in Texas and Mexico. **Biological Control**, Orlando, v. 2, n. 2, p. 84-90, 2001.

LIMA, A.F.; AGUIAR, L.A. Ocorrência e infestação da larva minadora dos citros *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) no estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16, Salvador, 1997. **Anais...** Salvador: SEB, 1997. p. 229.

LIMA-FILHO, M.; RISCADO, G.M. Utilização de pupas fêmeas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) em armadilhas de feromônio sexual. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 29-43, 1988.

LOLATO, A.; MORAES, J.C. Ocorrência da “lagarta minadora das folhas de citros” *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae) em Lavras, sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 21, n. 4, p. 521-522, 1997.

LOPES, C.M.D.A.; PAMPLONA, A.M.S.R.; TELES, B.R. Ocorrência e levantamento do minador das folhas de citros *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) no estado do Amazonas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., Salvador, 1997. **Anais...** Salvador: SEB, 1997. p. 285.

LOURENÇÃO, A.L.; MÜLLER, G.W.; PRATES, H.S. “Minador das folhas de citros”: praga exótica potencialmente importante para a citricultura brasileira. Campinas: CATI, 1994. 2 p. (CATI. Comunicado Técnico, 118).

MILANO, P. Otimização da criação de *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya, 1983 (Hymenoptera: Encyrtidae) em laboratório e sua adaptação no estado de São

Paulo. 2002. 85 p. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de concentração em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo”, Piracicaba, 2002.

MEDINA FILHO, H.P.; BORDIGNON, R.; SIQUEIRA, W.J. FEICHTENBERGER, E.; CARVALHO, M.R.T. Tolerância de híbridos e de clones de porta-enxertos de citros à infecção de raízes por *Phytophthora nicotianae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 169-178, 2004.

MORAIS, L.A.H.; SOUZA, E.L.S.; BECKER, R.F.P.; BRAUN, J. Controle químico do minador-das-folhas dos citros *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 5, n. 1, p. 19-22, 1999.

MOREIRA, J.A.; STEVEN MCELFFRESH, J.; MILLAR, J.G. Identification, synthesis, and field testing of the sex pheromone of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 32, n. 1, p. 169-193, 2006.

MOREIRA, M.A.B.; MEDEIROS, R.D.; DUARTE, O.R. Ocorrência e avaliação do dano da lagarta minadora dos citros *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) em Roraima. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., Salvador, 1997. **Anais...** Salvador: SEB, 1997. p. 88.

MOREIRA, C.S.; PIO, R.M. Melhoramento de citros. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J.; AMARO, A.A. **Citricultura brasileira**. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p.116-144.

NASCIMENTO, F.N.; SANTOS, W.S.; CASSINO, P.C.R. Parasitismo em larvas de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) no Estado do Rio de Janeiro. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 377-379, 2000.

NASCIMENTO, A.S.; VIDAL, C.A. Ocorrência de parasitóides e local de preferência para o desenvolvimento da larva do minador das folhas de 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.

NYBOM, N.; KOCH, A. Induced mutations and breeding methods in vegetatively propagated plants. In: FAO e IAEA (Org.). **The used of induced mutations in plant breeding**. Dorking: Adlard, 1965. p.671-678.

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; JOÃO, P.L.; SOUZA, E.L.S. **Características dos principais porta-enxertos recomendados para citros no Rio Grande do Sul**. Pelotas-RS: EMBRAPA Clima Temperado, 2005. 6p. (Comunicado técnico, 128).

PADMANABAN, B. Screening of citrus germplasm for controlling citrus leaf-miner (*Phyllocnistis citrella*) (Lepidoptera: Phyllocnistidae). **Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Delhi, v. 64, n. 10, p. 723-726, 1994.

PAIVA, P.E.B.; BENVENGA, S.R.; GRAVENA, S. Observações sobre a lagarta minadora dos citros e seus parasitóides no Estado de São Paulo. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 19, n. 2, p. 285-292, 1998.

PANDEY, N.D.; PANDEY, Y.D. Bionomics of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Indian Journal of Entomology**, New Delhi, v. 26, p. 417-426, 1964.

PARRA, A.L.G.C.; VILELA, E.F.; BENTO, J.M.S. Horário de oviposição e ritmo diário de emergência de *Phyllocnistis citrella* Stainton, (Lepidoptera:Gracillariidae) em laboratório. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 365-368, 2002.

PARRA-PEDRAZZOLI, A.L.; COSSÉ, A.; MURATA, Y.; BENTO, J.M.S.; VILELA, E.F.; LEAL, W.S. Towards the identification and síntesis of the sex pheromone of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 12-18, 2006.

PARRA-PEDRAZZOLI, A.L. **Isolamento, identificação, síntese e avaliação de campo do feromônio sexual do minador-dos-citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera:Gracillariidae)**. 2006. 81 p. Tese (Doutorado em Ciências, Área de concentração em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo”, Piracicaba, 2006.

PARRA, J.R.P.; LOPES, J.R.S.; ZUCCHI, R.A.; GUEDES, J.V.C. Biologia de insetos pragas e vetores. In: MATTOS JUNIOR, D. de.; NEGRI, J.D. de.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag. 2005. p. 655-687.

PARRA, J.R.P.; CHAGAS, M.C.M.; GRAVENA, S.; MILANO P.; PARRA, A.L.G.C.; NASCIMENTO, A.M.; LEÃO, H.C de; FIALHO, A. *Ageniaspis citricola*: visão geral, três anos após sua introdução. In: SINCOBIOL – SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7, 2001. Poços de Caldas,. **Proceedings...** Poços de Caldas, 2001. 1 CD-ROM

PATEL, G.P.; PATEL, J.R. Biology of citrus leaf miner (*Phyllocnistis citrella*) on citrus cultivares. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Delhi, v. 71, n. 5, p. 329-331, 2001.

PEÑA, J.E. Update on control of the citrus leafminer. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Tallahassee, v. 107, n. 1, p. 72-75, 1994.

PATEL, G.P.; PATEL, J.R. Biology of citrus leaf miner (*Phyllocnistis citrella*) on citrus cultivares. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Delhi, v. 71, n. 5, p. 329-331, 2001.

PEÑA, J.E.; DUNCAN, F.J. Control of citrus leafminer in south Florida: production. **Proceedings of the Florida State for Horticultural Society**, Tallahassee, v. 106, n. 1, p. 47-51, 1993.

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

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

POMERINKE, M.A.; STANSLY, P.A. Establishment of *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) for biological control of *Phyllocnistis citrella* in Florida. **Florida Entomologist**, cidade, v. 81, n. 3, p. 361-372, 1998.

POMPEU JR., J. Porta-enxertos. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F., POMPEU JR., J.; AMARO, A.A. (Ed.) **Citricultura brasileira**. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p.265-280.

POMPEU JÚNIOR, J. Rootstocks and scions in the citriculture of de São Paulo State. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF CITRUS NURSERYMEN, 6, Ribeirão Preto, 2001. **Proceedings**. Ribeirão Preto: EECB/Fundecitrus, 2001. p. 75-82.

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

PRINCE, P.W. **Insect ecology**, 3rd ed. Wiley: New York. 1997. 853 p.

PRUVOST, O.; VERNIÈRE, C. HARTUNG, J.; GOTTWALD, T.R.; QUETELARD, H. Towards an improvement of citrus craker control in reunion island. **Fruits**, Paris, v. 52, n. 6, p. 375-382, 1997.

RADMANN, E.B.; OLIVEIRA, R. P. de; SCIVITTARO, W.B; SILVEIRA, M.L.S da. Resistência de porta-enxertos à lagarta minadora dos citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. 2002, Belém. **Proceedings...** Belém. 2002. 1 CD-ROM.

RAGA, A.; CERAVOLO, L.C.; SOUZA FILHO, M.F.; MONTES, S.M.N.M.; ROSSI, A.C.; SATO, M.E. Ação de inseticidas sobre *Phyllocnistis citrella* Stainton, (Lepidoptera: Gracillariidae) em citros (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Arquivos do Instituto Biológico**, Viçosa, v. 65, n. 1, p. 35-42, 1998.

RAO, R.K.; PATHAK, K.A.; SHYLESHA, S.A. Spatio-temporal changes in the infestation of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton in Meghalaya. **Entomon**, Trivandrum, v. 27, n. 2, p. 169-178, 2002.

RIBEIRO, L.J. **Inimigos naturais da lagarta minadora dos citros *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae) no Brasil**. 2002. 81 p. Tese (Doutorado em Ciências, Área de concentração em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

RODRIGUES, J.C.V.; ROSSETTI, V.; MACHADO, M.A.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; NOGUEIRA, N.L. Lagarta minadora dos citros: um fator do aumento de pragas e cancro cítrico. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 19, n.1, p. 49-60, 1998.

ROSSETTI, V. Clorose Variegada dos Citros (CVC). In: RODRIGUEZ, O.; VIEGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J.; AMARO, A.A. (Coord.). **Citricultura brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, v.2, p.715-720, 1991.

SÁ, L.A.N. de; COSTA, V.A. da; OLIVEIRA, W.P. de; ALMEIDA, G.R. de. Parasitoids of *Phyllocnistis citrella* in Jaguariúna, state of São Paulo, Brazil, before and after the introduction of *Ageniaspis citricola*. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 799-801, 2000a.

SÁ, L.A.N. de; COSTA, V.A. da; TAMBASCO, F.J.; OLIVEIRA, W.P. de; ALMEIDA, G.R. de.; PEREIRA, R.A.A. Pos-introduction of the natural enemy *Ageniaspis citricola* in citrus groves em Jaguariúna and Aguaí region, São Paulo State, Brazil: preliminary results. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 21., Foz de Iguaçu, 2000. **Abstract book...** Foz de Iguaçu, 2000b.

SACARÍAS, E.N.; CANALES, A.C. *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya, 1983 (Hymenoptera: Encyrtidae) controlador de *Phyllocnistis citrella* “minador de la hojas de los cítricos”: experiencia peruana. Lima: SENASA, 1999. 88 p.

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

SADASIVAM, S.; THAYUMANAVAN, B. **Molecular host plant resistance to pests**. New York: Marcel Dekker, 2003. 479 p.

SALVA, R. Citrus tree production in Brazil. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF CITRUS NURSERYMEN, 6., 2001. Ribeirão Preto. **Proceedings...** Ribeirão Preto: EECB/Fundecitrus, 2001. p. 11-16.

SANT'ANA, J.; CORSEUIL, E.; CORREA, A.G.E.; VILELA, E.F. Avaliação da atração de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae) a (Z,Z) e (Z,E)-7,11-hexadecadienal, em pomares de citros do Brasil. **Biociências**, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 77-181, 2003.

SCHÄFER, G.; DORNELLES, A.L.C. Produção de mudas cítricas no Rio Grande do Sul - Diagnóstico da região produtora. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.30, n.4, p.587-592, 2000.

SCHAFFER, B.; PEÑA, J.E.; COLLS, A.M.; HUNSBERGER, A. Citrus leafminer (Lepidoptera, Gracillariidae) in lime: assessment of leaf damage and effects on photosynthesis. **Crop Protection**, Guildford, v. 16, n. 4, p. 337-343, 1997.

SILVA, P.H.S.; SILVA, R.B.Q.; MENEZES, R.V.S.; COSTA, R.L. Ocorrência do minador dos citros *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1956 (Lepidoptera: Gracillariidae) em Teresina-PI. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 21, n. 3, p. 393-394, 1997.

SIVIERO, A. **Avaliação de métodos de inoculação de *Phytophthora parasítica* e mapeamento de QTLs de resistência em híbridos de *Citrus sunki* vs *Poncirus trifoliata* à gamose**. 2001. 117 p. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2001.

SMITH, C.M.; BRIM, C.A. Resistance to Mexican bean beetle and corn earworm in soybean genotypes derived from PI 227687. **Crop Science**, Madison, v. 19, n. 3, p. 313-314, 1979.

SMITH, J.M.; HOY, M.A. Rearing methods for *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Cirrospilus quadristriatus* (Hymenoptera: Eulophidae) realeased in classical biological control program for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 78, n. 4, p. 601-608, 1995.

SOARES FILHO, W.S.; VILARINHOS, A.D.; ALVES, A.L.A.C. SOBRINHO, A.P.C.; OLIVEIRA, A.A.R.; SOUZA, A.S.; LEDO, C.A.S.; CRUZ, J.L.; CASTRO NETO, M.T.; GUERRA FILHO, M.S.; PASSOS, O. S.; MEISSNER FILHO, P.E. **Programa de melhoramento genético de citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura: obtenção de híbridos**. EMBRAPA, 2003. 37 p. (EMBRAPA. Documentos, 106).

SOOST, R. K.; ROOSE, M. L. Citrus. In: JANICK, J.; MOORE, J. N (Eds.) **Fruit breeding**. New York: Wiley: 1996. p. 257–323

SOUZA, A. C. Frutas cítricas: singularidades do mercado. **Preços Agrícolas**, Piracicaba, 2001. p. 8 –10,

SPONAGEL, K.W.; DIAZ, F.J. **El minador de las hojas de los citros *Phyllocnistis citrella*, un insecto plaga de importancia económica en la citricultura de Honduras**. La Lima: FHA, 1994. 32 p.

SWINGLE, W.T. The botany of *Citrus* and its wild relatives of the orange subfamily (family Rutaceae, subf. Aurantioideae). In: WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed.). **The Citrus Industry**. Berkeley: University of California, 1943. v.1, p. 129-474.

SWINGLE, W.T.; REECE, P.C. The botany of *Citrus* and its wild relatives. In: REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D.; WEBBER, H.J. (Ed.). **The Citrus Industry**. Berkeley: University of California, 1967. p. 190-430.

TEGONI, M.; CAMPANACCI, V.; CAMBILLAU, C. Structural aspects of sexual attraction and chemical communication in insects. **Trends in Biochemical Sciences**, Amsterdam, v. 29, n. 5, p. 257-264, 2004.

THOMPSON, J.N. Evolutionary ecology of the relation-ship between oviposition preferente and performance of offspring in phytophagous insects. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 47, n. 1, p. 3-14, 1988.

UJIYE, T. Studies on the utilization of a sex attractant of the citrus leafminer moth, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Phyllocnistidae). 1. Analysis of seasonal populations trends and some behavioural characteristics of the male moth by the use of synthetic Sex attractants in the field. **Bulletin of the Tree Research Station**, Ibaraki, v. 18, p. 19-46, 1990.

UNELIUS, C.R.; EIRAS, A.; WITZGALL, P.; BENGTSSON, M.; KOVALESKI, A.; VILELA, E.F.; BORG-KARLSON, A.K. Identification and synthesis of the sex pheromones of *Phtheochroa cranaodes* (Lepidoptera: Tortricidae). **Tetrahedron Letters**, Oxford, v. 37, n. 10, p. 1505-1508, 1996.

URRUTIA, A.F.; MARÍ, G.F. Factores que afectan el comportamiento de puesta en adultos del minador de hojas de cítricos *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Boletín de sanidad vegetal-Plagas**, Madrid, v. 28, n. 4, p. 493-503, 2002.

VAZQUEZ MORENO, L.L.; PÉREZ VICENTE, I. Introducción y dispersión del minador de la hoja de los cítricos (*Phyllocnistis citrella* Stainton) em la región Neotropical. **Levante Agrícola**, Valencia, v. 36, n. 338, p. 4-7, 1997.

VENDRAMIN, J.D.; FANCELLI, M. Efeito de genótipos de milho na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 142-150, 1988.

VENKATESWARLU, C.; RAMAPANDU, S. Relationship between incidence of canker and leafminer in acid lime and sathgudi sweet orange. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 45, n. 3, p. 227-228, 1992.

VERMA, R.R. Studies on the tolerance of species and varieties of Citrus to the Citrus leaf-miner, *Phyllocnistis citrella* Stainton. **Agricultural Science Digest**, Lafayette, v. 9, n. 1, p. 31-33, 1989.

VILLANUEVA-JIMÉNEZ, J.A.; HOY, M.A. Constraints on developing an integrated pest management program for citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) in Florida nurseries. **Horticulture Technology**, Charlotte, v. 8, p. 332-345, 1998.

VILELA, E.F. Aplicação da biotecnologia no controle de pragas. **Biotecnologia**, Piracicaba, v. 19, p. 4, 1988.

VIVAS, A.G.; LÓPEZ, I.G. Distribución de fases inmaduras de *Phyllocnistis citrella* Stainton, según el tamaño de la hoja. **Boletín de sanidad vegetal-Plagas**, Madrid, v. 21, n. 4, p. 559-571, 1995.

WEST, S.A.; CUNNINGHAM, J.P. A general model for host plant selection in phytophagous insects. **Journal of Theoretical Biology**, London, v. 214, n. 3, p. 499-513, 2002.

WEST, S.A.; CUNNINGHAM, J.P. A general model for host plant selection in phytophagous insects. **Journal of Theoretical Biology**, London, 214:499-513, 2002.

WILLINK, E.; SALAS, H.; COSTILLA, M. A. El minador de la hoja de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* en el NOA. **Avance Agroindustrial**, Tucumán, v. 16, n. 65, p. 15-20, 1996.

WILSON, C.G. Notes on *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Phyllocnistinae) attacking four citrus varieties in Darwin. **Journal of the Australian Entomological Society**, Brisbane, v. 30, n. 1, p. 77-78, 1991.

YAMAMOTO, P.T., ROBERTO, S.R., PRIA JUNIOR W.D. Inseticidas sistêmicos aplicados via tronco para controle de *Oncometopia facialis*, *Phyllocnistis citrella* e

Toxoptera citricida em citros. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 415-420, 2000.

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

ZHANG, A.; O'LEARY, C.; QUARLES, W. Chinese IPM for citrus leafminer. **IPM Practitioner**, Berkeley, v. 16, n. 8, p. 10-13, 1994.