

MIRIAN FERNANDES FURTADO MICHEREFF

COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DO BICHO-MINEIRO-DO-
CAFEEIRO, *Leucoptera coffeella* (GUÉRIN-MÈNEVILLE, 1842)
(LEPIDOPTERA: LYONETIIDAE)

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

VIÇOSA

MINAS GERAIS-BRASIL

JUNHO - 2000

MIRIAN FERNANDES FURTADO MICHEREFF

COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DO BICHO-MINEIRO-DO-
CAFEEIRO, *Leucoptera coffeella* (GUÉRIN-MÈNEVILLE, 1842)
(LEPIDOPTERA: LYONETIIDAE)

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

APROVADA: 25 de fevereiro de 2000.

Profa. Terezinha M.C. Della Lucia
(Conselheira)

Prof. Raul N.C. Guedes
(Conselheiro)

Prof. José Eduardo Serrão

Dr. Paulo Rebelles Reis

Prof. Evaldo Ferreira Vilela
(Orientador)

Aos meus amados pais, Fausto e Ana.
Aos meus queridos irmãos, Marcelo e Carolina.
Ao meu amor e grande amigo, Miguel.

AGRADECIMENTO

A Deus, por Seu eterno amor e zelo e pelas bênçãos recebidas.

Aos meus amados pais, Fausto e Ana, por terem me ensinado a ser gente, pelo eterno apoio, carinho, amor e pela compreensão sempre dedicados, sendo infinitas as palavras para expressar toda minha gratidão e o meu amor por vocês.

Ao meu amado marido, Miguel, pelos dias no campo, pelas noites em claro, pela paciência, pelos ensinamentos, pelo incentivo, carinho e amor.

Aos meus queridos e amados irmãos, Marcelo e Carolina, pelo carinho e por fazerem do nosso lar um convívio feliz e agradável.

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

Ao professor Evaldo Ferreira Vilela, pela oportunidade de trabalhar sob sua orientação e pelos ensinamentos transmitidos.

À professora Terezinha Della Lucia, pelas contribuições dadas a este trabalho, por toda atenção e pelo carinho.

Ao professor Raul Narciso Guedes, pela maravilhosa disciplina de Fisiologia dos Insetos, pelas conversas informais e sugestões dadas a este trabalho.

Ao professor José Tarcísio Thièbaut, pela ajuda nas análises estatísticas e pelas sugestões dadas no trabalho.

Ao professor José Eduardo Serrão e ao pesquisador Paulo Rebelles Reis, pelas sugestões apresentadas ao trabalho e por terem participado da banca.

Às grandes e eternas amigas, Tati, Let e Dê, pela força, pela paciência, pelo carinho e pela presença marcante, repleta de boas lembranças.

À D. Paula, secretária da pós-graduação em Entomologia, pela paciência, gentileza, eficiência e presteza ao nos atender .

Aos estagiários Cláudio, Arley e, em especial, Daniela, pela grande ajuda concedida na criação dos insetos.

Aos colegas de curso e amigos, pelas idéias trocadas durante as disciplinas e por terem, de alguma maneira, tornado um pouco mais agradável o convívio nesta terra.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

MIRIAN FERNANDES FURTADO MICHEREFF, filha de Fausto Eustáquio Furtado e Ana Fernandes Furtado, nasceu em 5 de maio de 1974, na cidade de Brasília, DF.

Em 1993, iniciou o curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal de Viçosa, onde foi bolsista de Iniciação Científica, sob a orientação do Prof. Evaldo Ferreira Vilela, concluindo o curso de Bacharelado e Licenciatura em dezembro de 1997.

Em março de 1998, iniciou o Curso de Mestrado em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em 25 de fevereiro de 2000.

CONTEÚDO

	Página
EXTRATO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	6
2.1. Criação de <i>Leucoptera coffeella</i>	6
2.2. Experimentos	7
2.2.1. Periodicidade de captura dos machos	7
2.2.2. Periodicidade de acasalamento	8
2.2.3. Comportamento de chamamento das fêmeas, corte dos machos e cópula	8
2.2.4. Efeito da idade do macho na fecundidade das fêmeas e na fertilidade dos ovos	9
2.2.5. Efeito da idade da fêmea na sua fecundidade e na fertilidade dos OVOS	9

2.2.6. Efeito do número dos acasalamentos prévios do macho na fecundidade das fêmeas e na fertilidade dos ovos	10
2.2.7. Reacasalamento de fêmeas previamente acasaladas com machos de diferentes idades	11
2.2.8. Reacasalamento de fêmeas acasaladas com diferentes idades	11
2.2.9. Efeito do número dos acasalamentos prévios do macho no reacasalamento das fêmeas	12
2.2.10. Seleção da folha hospedeira para oviposição	12
2.2.11. Análises estatísticas	12
3. RESULTADOS	14
3.1. Periodicidade de captura dos machos	14
3.2. Periodicidade de acasalamento	14
3.3. Comportamento de chamamento das fêmeas, corte dos machos e cópula	18
3.4. Efeito da idade do macho na fecundidade das fêmeas e na fertilidade dos ovos	20
3.5. Efeito da idade da fêmea na sua fecundidade e na fertilidade dos ovos	21
3.6. Efeito do número dos acasalamentos prévios do macho na fecundidade das fêmeas e na fertilidade dos ovos	22
3.7. Reacasalamento de fêmeas previamente acasaladas com machos de diferentes idades	23
3.8. Reacasalamento de fêmeas acasaladas com diferentes idades	24
3.9. Efeito do número dos acasalamentos prévios do macho no reacasalamento das fêmeas	24

3.10. Seleção da folha hospedeira para a oviposição	25
4. DISCUSSÃO	28
5. RESUMO E CONCLUSÕES	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

EXTRATO

MICHEREFF, Mirian Fernandes Furtado. M.S., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2000. **Comportamento reprodutivo do bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae).** Orientador: Evaldo Ferreira Vilela. Conselheiros: Terezinha Maria Castro Della Lucia e Raul Narciso Carvalho Guedes.

Neste trabalho, estudou-se o comportamento reprodutivo de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville). A periodicidade de captura dos machos foi avaliada em 0,7 ha de café cv. Catuaí, onde foram instaladas armadilhas do modelo Delta, a 0,5 m do solo e com dois atraentes: fêmeas virgens (um dia de idade) e septos de borracha impregnados com o feromônio sexual sintético. A contagem dos insetos capturados foi realizada das 6 às 18 h. A periodicidade de acasalamento foi avaliada em laboratório com casais virgens de diferentes idades. Parâmetros do comportamento de acasalamento (chamamento, corte e cópula) foram observados e filmados, utilizando-se casais virgens com um dia de idade. A fecundidade das fêmeas, a fertilidade dos ovos e a frequência de reacasalamento das fêmeas foram avaliadas, em razão de diferentes idades do macho e da fêmea no primeiro acasalamento. No caso de fêmeas virgens que se acasalaram com machos já acasalados, determinou-se o efeito do número prévio de acasalamentos dos machos sobre a fecundidade das fêmeas, a fertilidade dos

ovos e a frequência de reacasalamento das fêmeas. A seleção da folha hospedeira para oviposição foi estudada com a liberação de adultos em gaiolas contendo folhas com e sem ovos e folhas minadas com e sem lagartas. A maior captura foi às 12 e 13 h, por armadilhas com fêmeas virgens e feromônio sintético, respectivamente. A periodicidade de acasalamento variou com as idades, e machos e fêmeas não fugiram do padrão comportamental observado entre os Lepidoptera. O atraso no acasalamento do macho afetou tanto a fecundidade como a fertilidade, enquanto a idade de acasalamento da fêmea afetou somente sua fecundidade. A idade do macho não teve influência sobre o reacasalamento das fêmeas, porém fêmeas mais velhas demonstraram maior frequência de reacasalamento. Fêmeas acasaladas com machos acasalados três vezes tiveram menor fecundidade, menor fertilidade dos ovos e maior frequência de reacasalamento. As fêmeas de *L. coffeella* preferiram ovipositar nas folhas isentas de ovos a fazê-lo nas folhas previamente ovipositadas e folhas minadas, com ou sem lagartas.

ABSTRACT

MICHEREFF, Mirian Fernandes Furtado. M.S., Universidade Federal de Viçosa, June, 2000. **Reproductive behavior of coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae)** Adviser: Evaldo Ferreira Vilela. Committee members: Terezinha Maria Castro Della Lucia and Raul Narciso Carvalho Guedes.

The reproductive behavior of the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) was studied. Male activity was studied in a 0.7 ha coffee plantation, cv. Catuaí, where Delta traps were installed at 0.5 m above ground, using either virgin females or rubber septa impregnated with the synthetic sexual pheromone as a lure. Caught insects were recorded each hour during the daytime. In laboratory, we observed the periodicity of mating with virgin couples of different ages. Mating behavior (calling, courtship and copulation) were recorded, using virgin couples aged one day. Fecundity, egg fertility and female remating were evaluated as a function of different ages of both male and female, at the first mating. Males previously mated, were put together with virgin females to verify the effect of the number of previous mating of the male in the fecundity, egg fertility and female remating. Host selection for oviposition were also observed, in cages containing leaves with and without eggs, and mined leaves with and without the caterpillar. The highest male capture occurred at

12:00 p.m. (traps with virgin females) or 1:00 p.m., (traps with the synthetic pheromone lures). The mating periodicity varied among ages, and mating behavior was not different from what is known for other Lepidoptera. Male delay in mating affected the fecundity and fertility, while the ages females mated affected only the fecundity. The age of males did not influence the female remating, but old females showed high frequency of remating. Females that mated with males which had already mated three times, had the smallest fecundity and egg fertility, but the highest frequency of remating. Females of *L. coffella* showed preference to lay eggs on leaves without eggs in a choice bioassay containing also leaves with eggs, mined leaves with and without caterpillars.

1. INTRODUÇÃO

Os insetos restringem suas atividades a certos períodos do dia, respondendo a um ritmo circadiano que determina os momentos em que estas atividades ocorrerão (SAUNDERS, 1982). Essas atividades rítmicas estão sob o controle de vários componentes endógenos, porém são continuamente afetadas pelos efeitos diretos de fatores abióticos, como a temperatura e o fotoperíodo (SAUNDERS, 1982; HICKEL e VILELA, 1991). Na ordem Lepidoptera existem vários casos em que a liberação dos feromônios e a resposta a eles são mais evidentes em determinada hora do dia ou da noite, retratando a periodicidade de acasalamento da espécie (SHOREY, 1974).

Um atraso no acasalamento ou na oviposição pode ter conseqüências para o sucesso reprodutivo da fêmea. O atraso no acasalamento não só limita o tempo que a fêmea tem para ovipositar, como pode causar mudanças fisiológicas capazes de induzi-la a colocar ovos inférteis (LINGREN et al., 1988), resultando em baixas taxas de fecundidade e fertilidade ao longo da sua vida (VICKERS, 1997). Em *Copitarsia consueta* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), fêmeas mais velhas depositaram menos ovos que as mais novas, e a fertilidade destes também diminuiu com o aumento da idade daquelas (ROJAS e CIBRIAN-TOVAR, 1994). Nos lepidópteros, a idade do macho mostra-se pouco influente sobre o potencial reprodutivo das fêmeas; porém, em algumas espécies, o macho pode

contribuir de alguma maneira para o sucesso reprodutivo (PROSHOLD e BERNON, 1994).

Durante a cópula, machos de Lepidoptera produzem o espermátóforo, que possui espermatozóides e produtos das glândulas acessórias. Quando o ejaculado contém nutrientes tanto quanto esperma, a transferência do espermátóforo para a fêmea pode representar elevado investimento para o macho (BISSOONDATH e WIKLUND, 1995). Na estratégia reprodutiva em que fêmeas geralmente possuem somente um acasalamento, os machos costumam fazer alto investimento na sua primeira cópula. Como consequência, machos previamente acasalados apresentam redução na quantidade e na qualidade do material ejaculado, podendo acarretar baixa fertilidade de ovos nas próximas fêmeas que copularem (BISSOONDATH e WIKLUND, 1996). Os machos também precisam de tempo suficiente para mobilizar e, ou, reabastecer os constituintes do material ejaculado (FITZPATRICK e McNEIL 1989; SVÄRD, 1985). Em razão disso, em *Pieris napi* L. e *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae), a duração da cópula foi maior e o ejaculado menor quando os acasalamentos obtidos envolveram machos recentemente acasalados (BISSOONDATH e WIKLUND, 1996).

O acasalamento múltiplo (poliandria) é um fenômeno comum entre os insetos, especialmente em Lepidoptera (DRUMMOND, 1984). Várias hipóteses têm sido sugeridas para explicar o significado adaptativo do acasalamento múltiplo das fêmeas (THORNHILL e ALCOCK, 1983). Dentre elas destacam-se: *i*) o reabastecimento de esperma, que é a explicação mais direta para a ocorrência do reacasalamento, uma vez que o esperma fornecido pelo primeiro macho pode não ser suficiente para fertilizar todos os ovos produzidos pela fêmea, ou a qualidade do esperma transferido pode ser baixa ou sua viabilidade diminuir durante seu estoque; *ii*) acasalamentos múltiplos com diferentes machos podem levar à múltipla paternidade e, assim, aumentar a variabilidade genética da prole; e *iii*) as fêmeas podem adquirir benefícios nutricionais dos acasalamentos repetidos, recebendo nutrientes com o espermátóforo, que poderão ajudar a aumentar sua fecundidade e sua longevidade (THORNHILL e ALCOCK, 1983).

Acasalamentos repetidos podem ter um custo considerável às fêmeas.

Caso venham se acasalar com machos previamente acasalados, elas correm o risco de permanecer maior tempo em cópula, receber um ejaculado pequeno e com poucos nutrientes, levando à necessidade de novo acasalamento. Enquanto a fêmea se encontra em cópula, ela não pode forragear e, ou, ovipositar e possivelmente se expõe mais aos seus inimigos naturais (BISSOONDATH e WIKLUND, 1996), reduzindo o sucesso reprodutivo.

O espermatóforo fornecido pelo macho pode afetar a duração do período refratário da fêmea após um acasalamento, o qual aumenta de acordo com o tamanho do ejaculado recebido (KAITALA e WIKLUND, 1994). Assim, machos que transferem o maior ejaculado terão a chance de fertilizar uma proporção maior de ovos. Em *P. napi*, a duração do período refratário da fêmea depois do acasalamento depende da história reprodutiva do seu primeiro macho. Fêmeas acasaladas com machos virgens levaram seis dias para o próximo acasalamento, enquanto fêmeas acasaladas com machos previamente acasalados levaram dois dias (KAITALA e WIKLUND, 1995). Além disso, fêmeas acasaladas somente com machos virgens tiveram menor frequência de reacasalamento que fêmeas acasaladas somente com machos acasalados (KAITALA e WIKLUND, 1994).

Diversos feromônios de oviposição têm sido identificados nas principais ordens de insetos. Dentro da ordem Lepidoptera, em *Pieris brassicae* (F.) (Lepidoptera: Pieridae), o feromônio envolvido no comportamento de deterrência da oviposição mostra-se ativo por mais de 14 dias, tempo máximo necessário para a incubação dos ovos (SCHOONHOVEN et al., 1981). Substâncias deterrentes da oviposição podem também ser liberadas pelas fezes das lagartas, ou ainda serem produzidas por exsudados de tecidos injuriados do hospedeiro (RENEWICK, 1989). A existência de substâncias deterrentes à oviposição pode conferir valor adaptativo às espécies que as possuem, pois tendem a reduzir a competição intra-específica em situações de escassez de recursos, auxiliando a sobrevivência individual das fases imaturas dos insetos (THOMPSON e PELLMYR, 1991).

O bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae), é, segundo SOUZA e REIS (1992), a principal praga do café no Brasil, mais especificamente em Minas Gerais, devido a sua

ocorrência generalizada e aos prejuízos econômicos causados.

Apesar da sua importância para a cafeicultura, poucos estudos têm abordado a reprodução desta espécie, gerando lacunas principalmente a respeito dos comportamentos de acasalamento e oviposição. Esses conhecimentos mostram-se relevantes para o desenvolvimento de novas estratégias de controle, compatíveis com a filosofia do manejo integrado de pragas (DENT, 1991).

O uso do feromônio sexual sintético de *L. coffeella* para monitoramento populacional e controle mostra-se muito promissor (LIMA et al., 1999). A aplicação do feromônio pode contribuir para a racionalização das pulverizações, a redução de resíduos tóxicos nos produtos agrícolas e a preservação dos inimigos naturais nos agroecossistemas (JUTSUM e GORDON, 1989).

Componentes do sistema de monitoramento, como horário de manipulação das armadilhas e avaliação das capturas, somente podem ser determinados e, ou, corrigidos conhecendo-se previamente o período de acasalamento do inseto (SHOREY, 1977; WEBSTER et al., 1986).

O número de acasalamentos e os fatores que afetam a fertilidade e a fecundidade das fêmeas são pontos-chave para o entendimento da dinâmica populacional da espécie (HUFFAKER e RABB, 1984), para a eficiência de amostragem com armadilhas de feromônio e para o sucesso de técnicas que visam ao atraso ou à redução dos seus acasalamentos, como a coleta massal, a interrupção dos acasalamentos e o atrai-e-mata (McNEIL, 1991; CARDÉ e MINKS, 1997).

Aspectos relacionados com a seleção da planta hospedeira para oviposição são fundamentais para a compreensão das estratégias de dispersão e sobrevivência dos indivíduos, da auto-regulação da população, dos mecanismos de defesa contra inimigos naturais e da intensidade de ataque em relação à preferência entre cultivares (THOMPSON e PELLMYR, 1991; BERNAYS e CHAPMAN, 1994).

Nesse contexto, este trabalho teve como objetivos: *i*) caracterizar o comportamento de acasalamento do bicho-mineiro-do-cafeeiro, enfatizando-se o chamamento da fêmea, a corte do macho e a cópula; *ii*) determinar a periodicidade do acasalamento; *iii*) determinar os efeitos do atraso no acasalamento e da história reprodutiva do macho na fecundidade, na fertilidade dos ovos e na frequência de

reacasalamento das fêmeas; e *iv*) determinar a preferência para oviposição, em razão da presença de coespecíficos e de injúrias na folha do cafeeiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Criação de *Leucoptera coffeella*

Folhas do cafeeiro minadas pelo bicho-mineiro foram coletadas semanalmente em cafezais da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, e acondicionadas em caixas de acrílico (11,0 x 11,0 x 3,5 cm, Gerbox) contendo uma esponja cortada em fendas paralelas, onde os pecíolos das folhas foram fixados. Estas esponjas ficaram imersas em solução de hormônio de crescimento Benzil Adenina, na concentração de 10^{-6} g/litro (REIS JR., 1999), mantendo-se as folhas túrgidas por mais de três semanas. Os recipientes contendo as folhas foram mantidos no Laboratório de Feromônio e Comportamento de Insetos do Núcleo de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV), sob regime de 12L:12E, a 23 ± 1 °C e $70 \pm 2\%$ U.R.

Diariamente, as folhas foram examinadas em busca de pupas do inseto, as quais foram retiradas das folhas e acondicionadas, individualmente, em tubos plásticos (2,5 cm de \varnothing x 6,0 cm de altura) até a emergência dos adultos. Estes foram sexados conforme WOLCOTT (1947), e parte deles foi utilizada para a manutenção da criação em gaiolas de madeira (32 x 32 x 32 cm) cobertas com organza, contendo caixas de acrílico com folhas limpas do cafeeiro, que serviam como sítio de oviposição para as fêmeas que se acasalassem nas gaiolas. A outra

parte foi empregada nos experimentos. Os experimentos de laboratório foram realizados em sala separada da criação de manutenção, nas mesmas condições de fotoperíodo, temperatura e umidade relativa do ar.

2.2. Experimentos

Os experimentos foram realizados no campo e no laboratório, no período de março a setembro de 1999.

2.2.1. Periodicidade de captura dos machos

Este estudo teve por finalidade determinar o momento em que os acasalamentos de *L. coffeella* ocorrem, observando a atividade dos machos. O experimento foi conduzido de 14 a 18 de junho de 1999, no Viveiro de Café da UFV, em uma área de 0,7 ha com a variedade Catuaí cultivada há sete anos, no espaçamento de 4,0 x 1,0 m.

Foram utilizadas armadilhas de feromônio, modelo Delta, providas com cartão adesivo (20 x 20 cm), além de dois tipos de iscas: a) três fêmeas virgens com um dia de idade, mantidas numa gaiola plástica (3 cm de Ø x 4 cm de comprimento) envolvida por meia feminina de náilon transparente, contendo no seu interior chumaço de algodão umedecido com água; e b) um septo de borracha impregnado com feromônio sexual sintético do bicho-mineiro, na dose de 300 µg da mistura racêmica do 5,9-dimetilpentadecano (FRANCKE et al., 1988), cuja formulação foi fornecida pela empresa Fuji Flavors, Japão.

As armadilhas foram instaladas na altura de 0,5 m e arranjadas em duas linhas paralelas (duas ruas do cafezal), que por sua vez foram dispostas transversalmente ao vento e distanciadas em 20 m. Cada rua, constituída por duas armadilhas distanciadas em 10 m, representou um tipo de isca.

Como os acasalamentos de *L. coffeella*, em laboratório, ocorreram predominantemente durante a fotofase (estudos preliminares), as capturas de machos foram registradas a cada hora, no período das 6 às 18 h, durante cinco dias

consecutivos. Os insetos foram contados, retirados das armadilhas e sexados, em laboratório, com o auxílio de microscópio estereoscópico. Os dados foram expressos em total de machos capturados por horário e por tipo de isca, mediante o somatório das capturas obtidas nas armadilhas e nas datas de avaliação. A temperatura média diária foi de $16,7 \pm 0,4$ °C e a umidade relativa, de $87,7 \pm 2,4\%$.

2.2.2. Periodicidade de acasalamento

A periodicidade de acasalamento foi avaliada em laboratório, para se determinar o período em que os acasalamentos ocorrem, em razão da idade dos adultos. Para isso, foram utilizados insetos virgens com seis idades: 27 casais com zero dia (0-12 h após a emergência); 29 casais com um dia (12-24 h); 28 casais com dois dias (24-48 h); 27 casais com três dias (48-72 h); 22 casais com quatro dias (72-96 h); e 28 casais com cinco dias (96-120 h após a emergência).

Os casais foram individualizados em tubos plásticos transparentes (2,5 cm de \varnothing x 6,0 cm de altura), sendo providos com gotas de água depositada na borda superior do recipiente.

As avaliações foram realizadas durante todo o período de acasalamento (3 até 9 h da fotofase), indicado por observações preliminares e confirmado pelo experimento anterior, considerando-se o início da fotofase no mês de junho às 6 h.

2.2.3. Comportamentos de chamamento das fêmeas, corte dos machos e cópula

Foram utilizados 25 casais virgens e com um dia de idade (12-24 h), individualizados em tubos plásticos transparentes (2,5 cm de \varnothing x 6,0 cm de altura) e providos com gotas de água depositadas na borda superior do recipiente.

Os principais eventos comportamentais do acasalamento (chamamento das fêmeas, corte dos machos e cópula) foram descritos a partir de observação direta

dos casais e de filmagens realizadas entre 3 e 9 h da fotofase, coincidindo com o período de captura dos machos no campo.

As observações e as filmagens foram efetuadas, simultaneamente, mediante um monitor de vídeo em preto e branco, uma câmera filmadora e um videocassete acoplados a um microscópio estereoscópico com aumento de 10 vezes.

2.2.4. Efeito da idade do macho na fecundidade das fêmeas e na fertilidade dos ovos

Fêmeas virgens com um dia de idade (12-24 h) foram colocadas em recipientes individuais para se acasalarem com machos virgens nas idades de dois (n = 46), três (n = 44) e cinco (n = 40) dias após a emergência. Cada conjunto de idades foi avaliado por dia. Após o período de observação dos acasalamentos (3-9 h da fotofase), machos e fêmeas que se acasalaram foram separados, sendo os machos descartados e as fêmeas individualizadas em recipiente plástico (2,5 cm de \varnothing x 6,0 cm de altura) contendo uma folha do cafeeiro, que serviu como substrato para a oviposição.

A fecundidade foi determinada três dias após o acasalamento, pela contagem do número de ovos na folha oferecida para cada fêmea. Posteriormente, estas folhas foram identificadas, acondicionadas em placas de acrílico contendo hormônio vegetal sintético e mantidas em uma incubadora do tipo B.O.D. ($26 \pm 2,2$ °C; 12L:12E; $70 \pm 4\%$ U.R.) durante 15 dias, para se determinar a fertilidade dos ovos (taxa de eclosão das lagartas). As avaliações foram realizadas a intervalos de 48 h, sendo cada mina recém-formada na folha considerada uma lagarta eclodida. Os casais que não se acasalaram e as fêmeas que não ovipositaram foram descartados, não sendo considerados na análise estatística.

2.2.5. Efeito da idade da fêmea na sua fecundidade e na fertilidade dos ovos

Machos virgens com um dia de idade foram colocados em recipientes individuais para se acasalarem com fêmeas virgens de idades um (n = 46), dois (n = 45), três (n = 41) e cinco (n = 40) dias após a emergência, sendo avaliado cada conjunto de idades por dia. Após o período dos acasalamentos, machos e fêmeas que se acasalaram foram separados, sendo os machos descartados e as fêmeas individualizadas em recipiente plástico (2,5 cm de Ø x 6,0 cm de altura) contendo uma folha do cafeeiro para a oviposição.

A fecundidade foi determinada três dias após o acasalamento, pela contagem do número de ovos na folha oferecida para cada fêmea. Posteriormente, estas folhas foram identificadas, acondicionadas em placas de acrílico contendo hormônio vegetal sintético e mantidas em uma incubadora do tipo B.O.D. ($26 \pm 2,7$ °C; 12L:12E; $71 \pm 3\%$ U.R.) durante 15 dias, para se determinar a fertilidade dos ovos. As avaliações foram realizadas a intervalos de 48 h, sendo cada mina recém-formada na folha considerada uma lagarta eclodida. Os casais que não se acasalaram e as fêmeas que não ovipositaram foram descartados, não sendo considerados na análise estatística.

2.2.6. Efeito do número dos acasalamentos prévios do macho na fecundidade das fêmeas e na fertilidade dos ovos

Machos que se acasalaram zero (n = 40), uma (n = 46), duas (n = 40) ou três (n = 37) vezes, previamente, foram colocados em recipientes individuais para se acasalarem com fêmeas virgens de um dia de idade. As fêmeas que se acasalaram, em cada tratamento, foram individualizadas em recipiente contendo uma folha do cafeeiro para a oviposição.

A fecundidade foi determinada três dias após o acasalamento, pela contagem do número de ovos na folha oferecida para cada fêmea. Posteriormente, estas folhas foram identificadas, acondicionadas em placas de acrílico contendo hormônio vegetal sintético e mantidas em uma incubadora do tipo B.O.D. ($25 \pm 2,1$

°C; 12L:12E; 70 ± 5% U.R.) durante 15 dias, para se determinar a fertilidade dos ovos. As avaliações foram realizadas a intervalos de 48 h, sendo cada mina recém-formada na folha considerada uma lagarta eclodida.

Os casais que não se acasalaram e as fêmeas que não ovipositaram foram descartados, não sendo considerados na análise estatística.

2.2.7. Reacasalamento de fêmeas previamente acasaladas com machos de diferentes idades

Neste estudo, a frequência de reacasalamento foi avaliada em razão da idade do macho no primeiro acasalamento da fêmea.

Machos virgens com um (n = 40), dois (n = 46), três (n = 44) e cinco (n = 40) dias da emergência foram colocados em recipientes individuais para se acasalarem com fêmeas virgens de um dia, sendo avaliado cada conjunto de idades por dia. Como nos ensaios preliminares nenhum reacasalamento ocorreu antes da primeira oviposição, após o acasalamento as fêmeas foram individualizadas em recipiente plástico contendo uma folha do cafeeiro, para ovipositarem,

Após dois dias, as fêmeas previamente acasaladas com machos de um, dois, três e cinco dias de idade foram colocadas em recipientes individuais para se acasalarem novamente com machos virgens de um dia. A frequência de reacasalamento foi registrada em cada categoria de fêmea durante o período dos acasalamentos.

2.2.8. Reacasalamento de fêmeas acasaladas com diferentes idades

A frequência de reacasalamento foi avaliada em razão da idade da fêmea no seu primeiro acasalamento.

Fêmeas virgens com dois (n = 46), três (n = 41), e cinco (n = 40) dias de idade foram colocadas em recipientes individuais para se acasalarem com machos virgens de um dia, sendo avaliado cada conjunto de idades por dia.

Os indivíduos que se acasalaram foram separados, sendo as fêmeas

individualizadas em recipiente plástico contendo uma folha do cafeeiro, para a oviposição.

Após dois dias, as fêmeas previamente acasaladas em diferentes idades foram colocadas em recipientes individuais para se acasalarem novamente com machos virgens de um dia. A frequência de reacasalamentos foi registrada em cada categoria de fêmea durante o período dos acasalamentos.

2.2.9. Efeito do número dos acasalamentos prévios do macho no reacasalamento das fêmeas

Machos que se acasalaram zero ($n = 37$), uma ($n = 38$), duas ($n = 30$) ou três ($n = 30$) vezes, previamente, foram colocados em recipientes individuais para se acasalarem com fêmeas virgens de um dia. As fêmeas que se acasalaram, em cada tratamento, foram individualizadas em recipiente plástico com folha do cafeeiro, para a oviposição. Após dois dias, as fêmeas já acasaladas previamente com machos acasalados uma, duas ou três vezes foram submetidas a novo acasalamento em recipientes individuais contendo macho virgem de um dia. A frequência de reacasalamentos foi registrada em cada categoria de macho durante o período dos acasalamentos.

2.2.10. Seleção da folha hospedeira para oviposição

Neste estudo, a preferência do tipo de folha para a oviposição de *L. coffeella* foi avaliada com os seguintes tratamentos: (1) folha isenta de ovos, (2) folha com ovos, (3) folha minada com lagarta e (4) folha minada sem lagarta. Trinta casais com um dia de idade (12-24 h) foram liberados dentro de gaiolas (50 x 50 x 50 cm) com moldura de madeira e laterais cobertas por organza, contendo três folhas de cada tratamento, distribuídas aleatoriamente. As folhas foram acondicionadas em tubos plásticos contendo hormônio vegetal sintético na concentração mencionada anteriormente. O número de ovos depositados por folha a cada avaliação foi registrado às 12, 24, 48 e 72 h após a liberação dos insetos, não tendo reposição dos indivíduos mortos. O delineamento experimental foi

inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e 15 repetições.

2.2.11. Análises estatísticas

Nos estudos de periodicidade de captura dos machos e dos acasalamentos de *L. coffeella* utilizaram-se procedimentos de estatística descritiva. Dados referentes ao número de ovos e percentagem de eclosão (fecundidade e fertilidade) foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparações múltiplas (ZAR, 1984), enquanto diferenças na percentagem de reacasalamentos entre tratamentos foram determinadas pelo teste de qui-quadrado (χ^2), mediante comparações pareadas com 1 grau de liberdade e a 5% de significância. A preferência do tipo de folha para oviposição, determinada pelo número de ovos/folha (Y) em cada tratamento, e as mudanças na seleção hospedeira ao longo do tempo (X) foram determinadas mediante análise de regressão, selecionando-se os modelos com significância estatística ($P < 0,05$) e com ajuste ao comportamento do padrão de oviposição. Após a confirmação do paralelismo entre as linhas de regressão dos tratamentos (tipos de folha) e da homogeneidade das variâncias, procedeu-se a comparação dos modelos pelo teste de identidade para modelos e de igualdade dos parâmetros de regressão, por meio de variáveis binárias. Por esse método, a existência de diferenças entre as regressões foi determinada pelo teste t ($P < 0,05$), considerando-se duas hipóteses: *i*) H_0 = as equações têm uma constante de regressão (a) comum e *ii*) H_0 = as equações têm os coeficientes de regressão idênticos.

3. RESULTADOS

3.1. Periodicidade de captura dos machos

Nenhum macho foi capturado no período noturno. Durante a fotofase houve diferença no padrão diário de captura entre armadilhas com fêmeas virgens e armadilhas com feromônio sexual sintético (Figura 1).

Nas armadilhas contendo fêmeas virgens, as capturas de machos ocorreram das 11 às 15 h, com pico de captura correspondendo às 12 h. As armadilhas com feromônio sexual sintético capturaram maior número de machos que as armadilhas com fêmeas virgens, assim como apresentaram um período de captura das 10 às 15 h e o pico de captura ocorreu às 13 h.

Com esses resultados pôde-se determinar o período para observação dos acasalamentos de *L. coffeella* em laboratório, o qual correspondeu ao período de 4 a 9 horas da fotofase, considerando-se o nascer do sol (mês de junho) às 6 h.

3.2. Periodicidade de acasalamento

Os acasalamentos de *L. coffeella*, em laboratório, foram influenciados pela idade do casal (teste χ^2 ; 1gl; $P < 0,05$) (Quadro 1). As maiores frequências

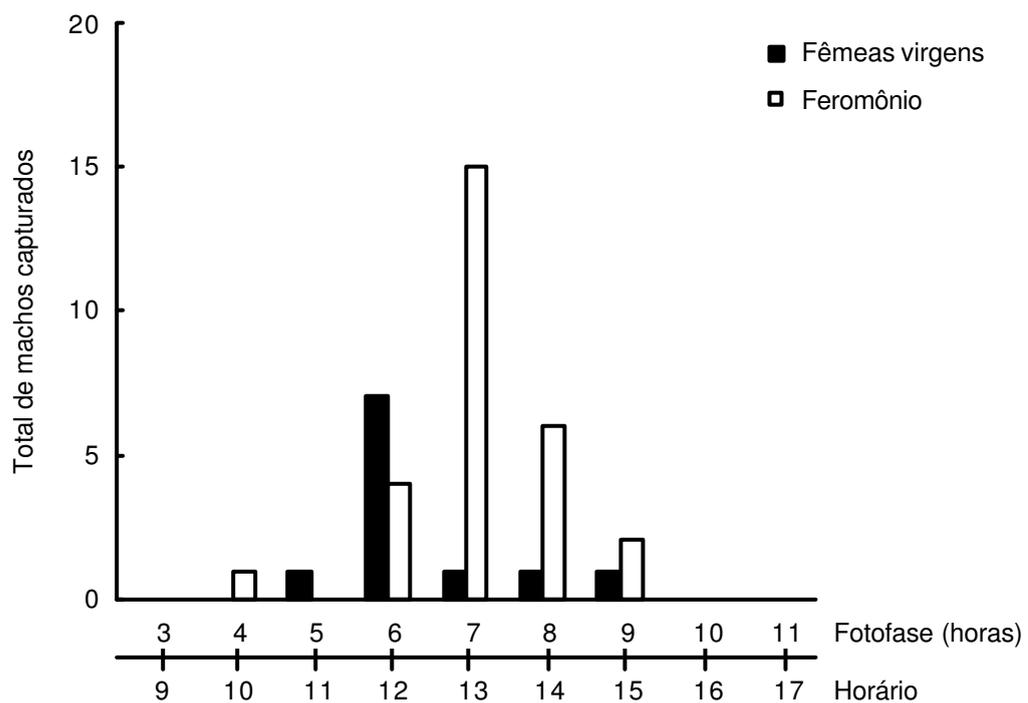


Figura 1 - Periodicidade de captura de machos de *Leucoptera coffeella* na cultura do cafeeiro, em Viçosa (MG). Barras representam o total capturado em duas armadilhas do modelo Delta, contendo três fêmeas virgens ou septo com feromônio sexual sintético. O início da fotofase ocorreu às 6 h.

de acasalamento foram constatadas nos insetos com um dia (12-24 h após a emergência) e três dias (48-72 h) de idade, apresentando 96,6% e 81,5% de casais em cópula, respectivamente, e sem diferença significativa entre si. Por outro lado, as menores frequências de acasalamento ocorreram nas idades de zero (0-12 h) e cinco dias (96-120 h), as quais diferiram estatisticamente. Já as idades de dois dias (24-48 h) e quatro dias (72-96 h) foram intermediárias e não diferiram entre si.

Quadro 1 - Percentagem de acasalamentos de *Leucoptera coffeella* em razão da idade do casal, em laboratório (12L:12E, 23 ± 1°C e 70 ± 2% U.R.)

Idade do casal (horas da emergência)	Número de casais (N)	Acasalamentos (%) ¹
0-12	27	29,6 d
12-24	29	96,6 a
24-48	28	60,0 bc
48-72	27	81,5 ab
72-96	22	54,5 c
96-120	28	14,3 e

¹Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de χ^2 (comparações pareadas; 1gl; P > 0,05).

Os acasalamentos de *L. coffeella* ocorreram entre 4 e 6 h do início da fotofase (6 h da manhã), porém com frequências variáveis dentro desse período entre as idades (Figura 2).

No caso dos insetos com menos de 24 horas da emergência, a maioria dos acasalamentos ocorreu 6 h após o início da fotofase, diferindo das demais idades. Nas idades um e três dias, o maior número de acasalamentos ocorreu 5 h do início da fotofase, enquanto nas idades de dois e cinco dias, os acasalamentos ocorreram às 4 h. Já na idade quatro, os acasalamentos concentraram-se entre 4 e 5 h da fotofase.

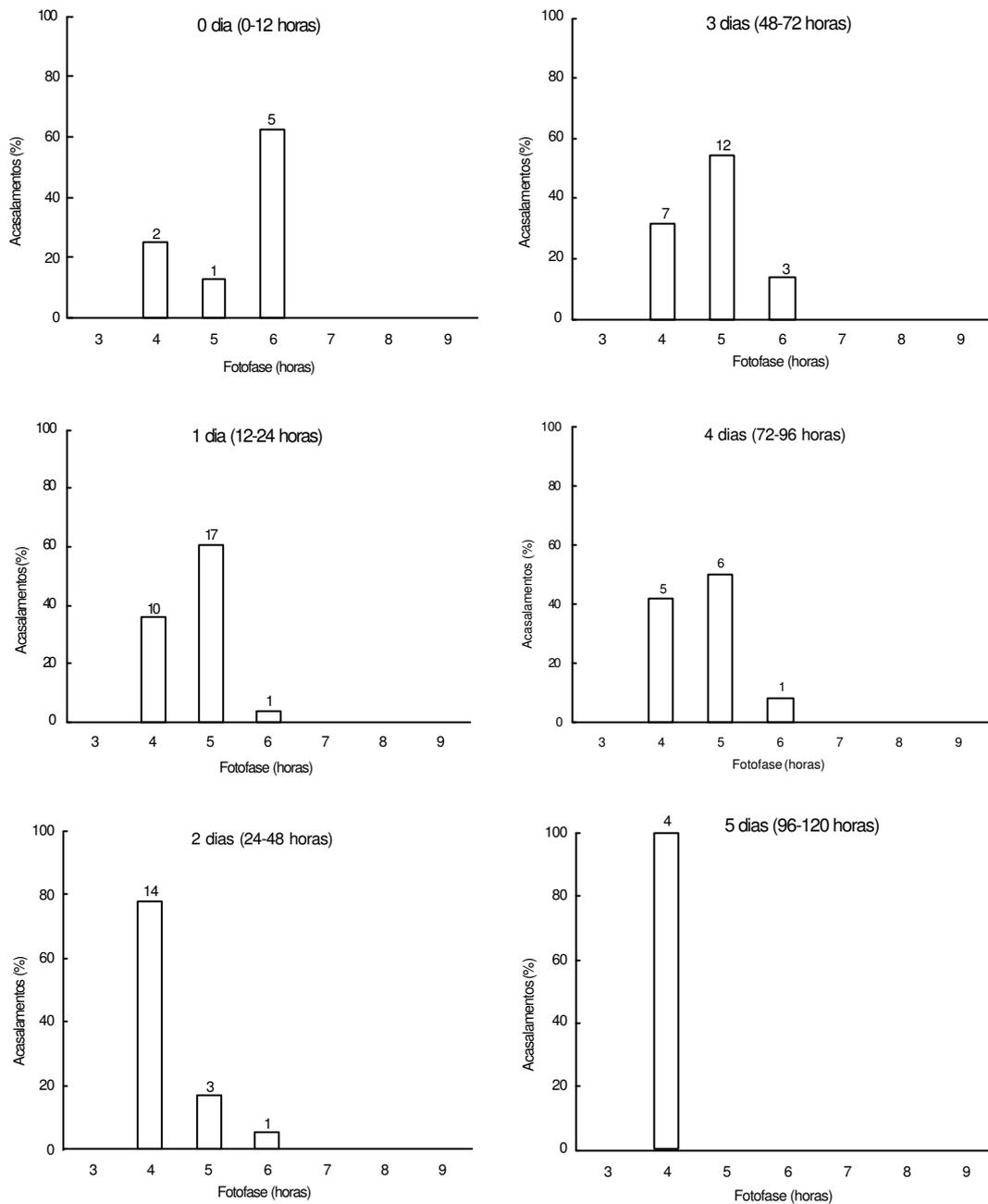


Figura 2 - Periodicidade de acasalamento de *Leucoptera coffeella* durante a fotofase, envolvendo casais com diferentes idades. Valores acima das barras indicam o número de acasalamentos observados.

3.3. Comportamentos de chamamento das fêmeas, corte dos machos e cópula

As fêmeas de *L. coffeella* durante o chamamento assumiram uma postura horizontal ao piso, permanecendo com as asas sobre o dorso, como se estivessem em posição de repouso, e as antenas para trás, próximas ao corpo (Figura 3). Suas pernas posteriores permaneceram pouco afastadas do corpo, enquanto o final do abdome foi levemente arqueado para baixo. Em seguida, a glândula de feromônio, em forma de saco, com aspecto molhado e brilhante, foi exposta e retraída em movimentos contínuos. Quando o recipiente no qual a fêmea estava sendo observada foi movimentado (virado de um lado para o outro), ela parou de chamar por alguns segundos, sendo retomado o comportamento logo em seguida.

Os machos encontravam-se parados quando as observações foram iniciadas. Ao ser estimulado pelo feromônio, o macho começou a fazer movimentos circulares com as antenas e procedeu o batimento de asas, permanecendo em seu lugar. Em seguida, o macho andou em direção à fêmea batendo as asas; tocou as antenas e o corpo da fêmea com suas antenas, enquanto batia as asas e andava ao redor dela. Em resposta ao contato do macho, a fêmea, parada, retraiu a glândula de feromônio e girou o corpo em direção ao macho.

Na tentativa de tocar a extremidade do abdome da fêmea, o macho também girou o corpo e ficou em sentido contrário a ela. Após o alinhamento dos insetos, o macho continuou batendo as asas sobre o dorso da fêmea, enquanto seu aedeago era exposto no final do abdome. Em resposta, a fêmea virou seu abdome em direção ao dele. Neste momento, as asas da fêmea continuaram em repouso, também cobrindo parte do abdome do macho, que, em seguida, introduziu seu aedeago na extremidade do abdome dela, dando início à cópula.

Durante o acasalamento, macho e fêmea realizavam toques recíprocos com suas pernas posteriores, também havendo batimento de asas por parte de alguns machos. Ao final da cópula, macho e fêmea se separaram, às vezes ficando um do lado do outro, em repouso. Foi observado um caso, no qual a

fêmea em chamamento não retrai a glândula de feromônio após o contato do macho, não permitindo que este introduzisse seu aedeago para a cópula.

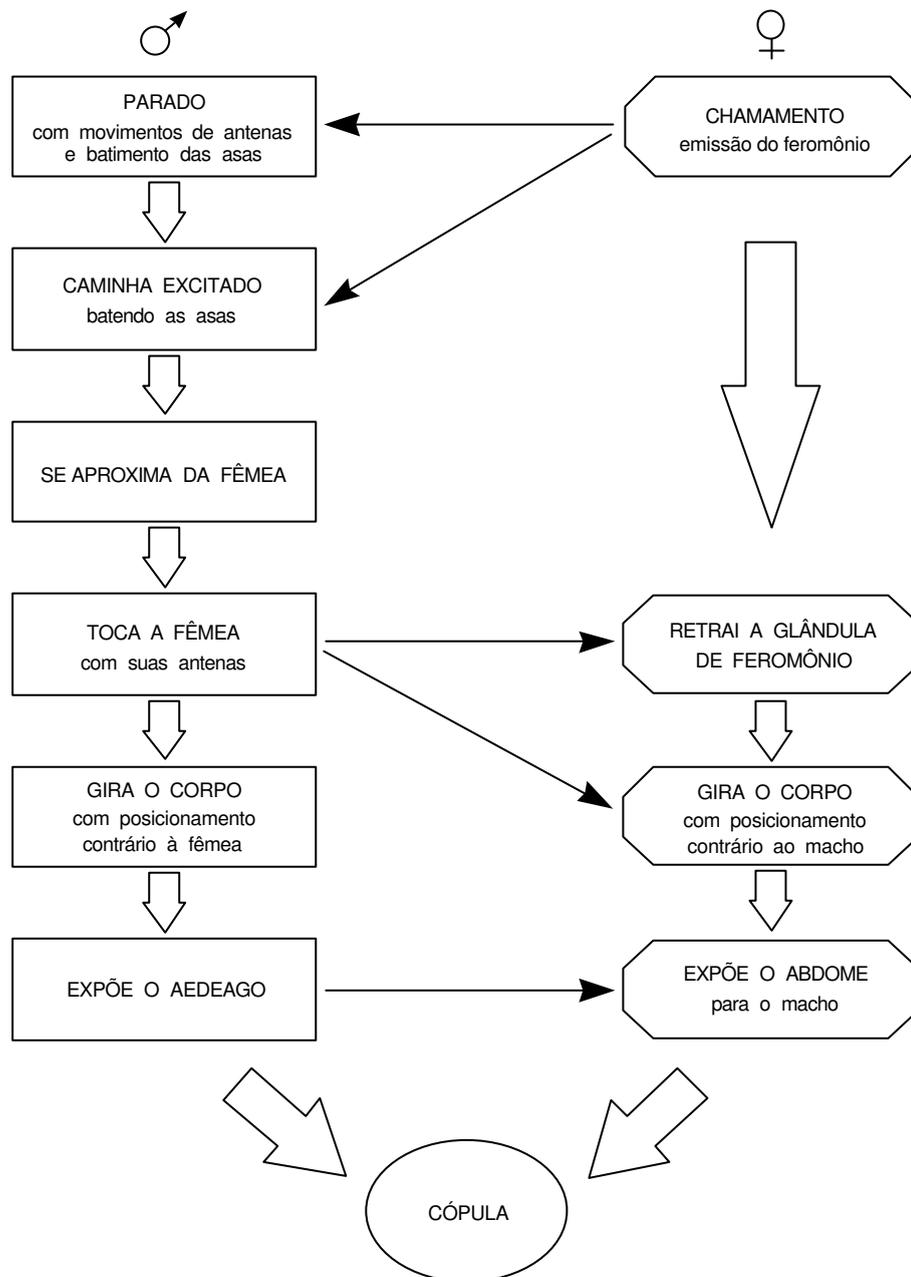


Figura 3 - Seqüência comportamental do chamamento da fêmea de *Leucoptera coffeella*, corte do macho e cópula.

3.4. Efeito da idade do macho na fecundidade das fêmeas e na fertilidade dos ovos

A idade do macho no momento do acasalamento afetou tanto a fecundidade como a fertilidade das fêmeas de *L. coffeella*, uma vez que houve diferença significativa na quantidade de ovos depositados por fêmea (Kruskal-Wallis; $H = 8,39$; 2 gl; $P = 0,02$) e na percentagem de eclosão das lagartas (Kruskal-Wallis; $H = 11,50$; 2 gl; $P = 0,003$).

Maior quantidade de ovos por fêmea foi obtida nos acasalamentos com machos de dois dias de idade (24-48 h após a emergência), diferindo significativamente das demais idades (Quadro 2). Não houve diferença estatística na produção de ovos entre as fêmeas acasaladas com machos de três (48-72 h) e cinco dias (96-120 h) de idade. Por outro lado, a fertilidade dos ovos foi maior nos acasalamentos com machos de dois dias e cinco dias de idade, enquanto a fertilidade nos acasalamentos com machos de três dias foi significativamente menor.

Quadro 2 - Efeito da idade do macho de *Leucoptera coffeella* no número de ovos por fêmea e na percentagem de eclosão (média \pm erro padrão)

Idade do macho (horas da emergência)	Casais (N)	Ovos/fêmea ¹	Eclosão (%)
24-48	28	21,8 \pm 1,8 a (44,8)	50,9 \pm 7,3 a (38,7)
48-72	20	14,4 \pm 1,5 b (29,7)	17,8 \pm 5,3 b (23,4)
96-120	23	15,1 \pm 2,2 b (30,8)	60,7 \pm 8,7 a (43,7)

¹As médias das ordens utilizadas nas análises estão indicadas entre parênteses. Valores seguidos pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de comparações múltiplas ($P > 0,05$).

3.5. Efeito da idade da fêmea na sua fecundidade e na fertilidade dos ovos

Houve diferença significativa na oviposição com relação à idade da fêmea no momento do acasalamento (Kruskal-Wallis; $H = 8,88$; 3 gl; $P = 0,03$), porém a percentagem de eclosão não foi afetada significativamente (Kruskal-Wallis; $H = 4,30$; 3 gl; $P = 0,23$). À medida que a idade da fêmea aumentou, houve decréscimo na quantidade de ovos depositados por fêmea (Quadro 3). A maior quantidade de ovos foi obtida por fêmeas acasaladas com dois dias de idade (24-48 h), enquanto aquelas com cinco dias (96-120 h) apresentaram menor oviposição, sendo estatisticamente diferentes entre si. As fêmeas acasaladas com um e três dias mostraram valores intermediários de oviposição. Apesar de não-significativa, a percentagem de eclosão foi variável entre as idades, de 44,8 e 53,2%.

Quadro 3 - Efeito da idade da fêmea de *Leucoptera coffeella* no número de ovos por fêmea e na percentagem de eclosão (média \pm erro padrão)

Idade da fêmea (horas da emergência)	Casais (N)	Ovos/fêmea ¹	Eclosão (%)
12-24	22	18,5 \pm 2,3 ab (43,4)	44,8 \pm 9,7 a (40,2)
24-48	13	21,2 \pm 2,3 a (51,8)	52,7 \pm 9,5 a (44,4)
48-72	22	15,7 \pm 1,6 ab (38,1)	30,2 \pm 7,3 a (31,6)
96-120	21	12,7 \pm 2,3 b (29,2)	53,2 \pm 9,6 a (44,0)

¹As médias das ordens utilizadas nas análises estão indicadas entre parênteses. Valores seguidos pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de comparações múltiplas ($P > 0,05$).

3.6. Efeito do número dos acasalamentos prévios do macho na fecundidade

das fêmeas e na fertilidade dos ovos

Houve diferença significativa tanto na oviposição (Kruskal-Wallis; $H = 12,02$; 3 gl; $P = 0,007$) quanto na percentagem de eclosão (Kruskal-Wallis; $H = 9,90$; 3 gl; $P = 0,02$) em relação ao número de vezes que o macho acasalou previamente. Não houve relação direta entre a fecundidade das fêmeas e a história reprodutiva do macho (Quadro 4). A maior quantidade de ovos produzidos por fêmea ocorreu com machos virgens, seguida pelo acasalamento com machos já acasalados três vezes, sem diferença significativa.

Quadro 4 - Efeito do número dos acasalamentos prévios do macho de *Leucoptera coffeella* no número de ovos por fêmea e na percentagem de eclosão (média \pm erro padrão)

Acasalamentos prévios do macho	Casais (N)	Ovos/fêmea ¹	Eclosão (%)
0	28	21,8 \pm 1,8 a (47,6)	50,9 \pm 7,3 a (44,2)
1	15	12,7 \pm 1,8 b (28,3)	41,5 \pm 8,7 ab (39,7)
2	18	13,6 \pm 2,1 b (29,5)	31,9 \pm 8,1 ab (32,9)
3	12	16,1 \pm 3,0 ab (34,4)	15,4 \pm 9,1 b (22,9)

¹As médias das ordens utilizadas nas análises estão entre parênteses. Valores seguidos pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de comparações múltiplas ($P > 0,05$).

Redução significativa na oviposição foi verificada nas fêmeas acasaladas com machos já acasalados uma e duas vezes, respectivamente, contudo, estes resultados não diferiram dos acasalamentos com machos previamente acasalados por três vezes. A fertilidade das fêmeas diminuiu à medida que o número de

acasalamentos prévios do macho aumentou. Todavia, somente houve diferença significativa na percentagem de eclosão entre acasalamentos com machos virgens e acasalamentos com machos previamente acasalados por três vezes.

3.7. Reacasalamento de fêmeas previamente acasaladas com machos de diferentes idades

Não houve diferença significativa na percentagem de reacasalamentos em razão da idade do macho no primeiro acasalamento (χ^2 ; 1 gl; $P > 0,05$), variando de 10 a 15% (Figura 4).

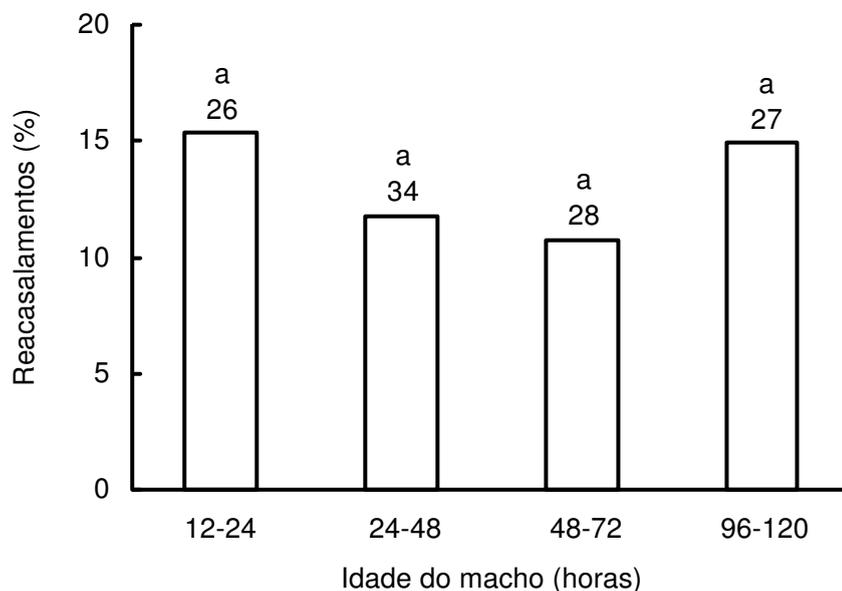


Figura 4 - Percentagem de reacasalamento de fêmeas de *Leucoptera coffeella* que copularam com machos virgens de diferentes idades. Os números em cima das barras representam o total de fêmeas observadas. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste χ^2 ($P > 0,05$).

3.8. Reacasalamento de fêmeas acasaladas com diferentes idades

A idade da fêmea no primeiro acasalamento afetou significativamente a percentagem de reacasalamentos (χ^2 ; 1 gl; $P < 0,05$). Fêmeas mais velhas, com cinco dias da emergência (96-120 h), reacasaram-se significativamente em maior proporção (29,6%) do que fêmeas com dois (6,45%) e três dias (3,84%) de idade, as quais não diferiram estatisticamente entre si (Figura 5).

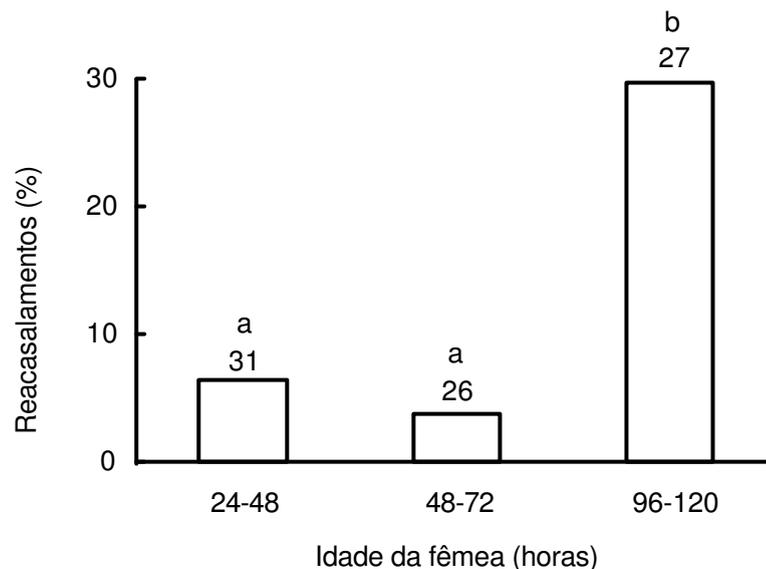


Figura 5 - Percentagem de reacasalamento de fêmeas de *Leucoptera coffeella* com diferentes idades que copularam com machos virgens. Os números em cima das barras representam o total de fêmeas observadas. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste χ^2 ($P > 0,05$).

3.9. Efeito do número dos acasalamentos prévios do macho no reacasalamento das fêmeas

O número prévio de acasalamentos dos machos influenciou a frequência de reacasalamento das fêmeas (χ^2 ; 1 gl; $P < 0,05$). Fêmeas que se acasalaram com machos três vezes acasalados tiveram maior proporção de reacasalamento (35%), do que aquelas acasaladas com machos virgens (11,8%) e com machos já acasalados uma vez (12,5%) (Figura 6). Fêmeas acasaladas com machos já

acasalados duas vezes apresentaram valor intermediário de reacasalamento (21,7%), enquanto os acasalamentos envolvendo machos já acasalados uma e duas vezes não diferiram significativamente.

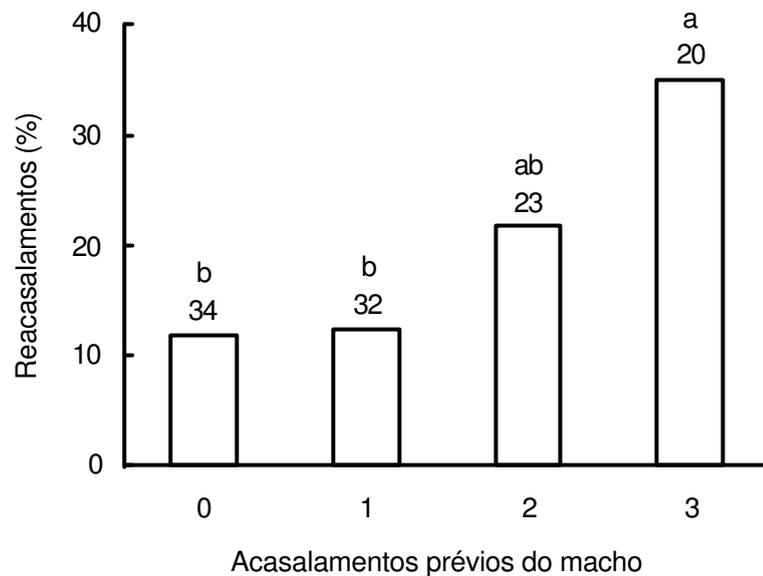


Figura 6 - Percentagem de reacasalamento de fêmeas de *Leucoptera coffeella* que copularam com machos previamente acasalados. Os números em cima das barras representam o total de fêmeas observadas. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste χ^2 ($P > 0,05$).

3.10. Seleção da folha hospedeira para a oviposição

Maior oviposição ocorreu nas primeiras 12 h após a liberação dos casais nas gaiolas, havendo uma redução progressiva na quantidade de ovos depositados por folha após este período (Figura 7). Este padrão de oviposição foi melhor caracterizado por modelos de regressão linear simples.

Pelo teste de identidade dos modelos, a seleção hospedeira para oviposição foi descrita por três equações distintas ($P < 0,05$), indicando a

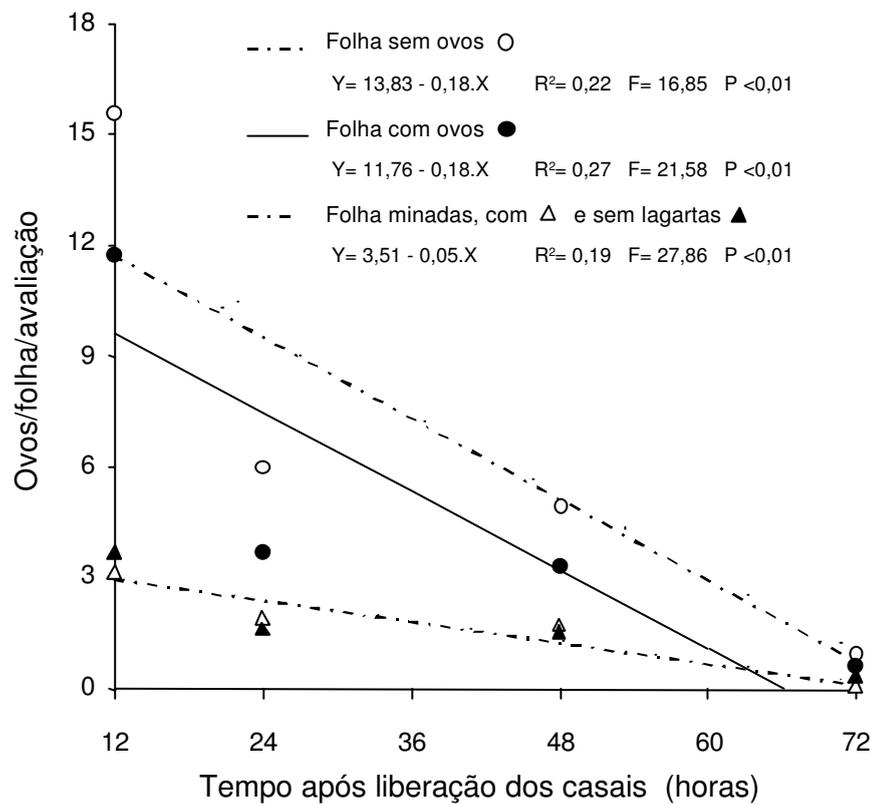


Figura 7 - Padrão temporal de oviposição e seleção da folha hospedeira por fêmeas de *Leucoptera coffeella*. Três modelos de regressão linear ($Y = a + bX$; $X = \text{tempo}$) diferiram significativamente entre si, pelo teste de identidade dos modelos ($P < 0,05$).

interação entre o tipo de folha e o tempo após liberação dos casais na gaiola.

A maior oviposição ocorreu no tratamento “folha isenta de ovos” [$Y = 13,83 - 0,18X$; $F = 16,85$; $gl = (1; 58)$; $P < 0,01$; $R^2 = 0,22$], diferindo significativamente do tratamento “folha previamente ovipositada” [$Y = 11,76 - 0,18X$; $F = 21,58$; $gl = (1; 58)$; $R^2 = 0,27$; $P < 0,01$], em relação à constante de regressão ($P < 0,05$). De forma oposta e com menores taxas de oviposição, os tratamentos “folha minada com lagarta” e “folha minada sem lagarta” apresentaram constante de regressão e coeficiente b idênticos ($P > 0,05$), sendo representados por $Y = 3,51 - 0,05X$ [$F = 27,86$; $gl = (1; 118)$; $P < 0,01$; $R^2 = 0,19$]. Os baixos coeficientes de determinação das equações indicam pequeno efeito do tempo na seleção da folha hospedeira, porém esta influência foi altamente significativa ($P < 0,01$).

Durante todo o período de observação, a oviposição nas folhas “isentas de ovos” e “previamente ovipositadas” correspondeu a 3,4 vezes a quantidade de ovos depositados nas folhas “minadas com e sem lagartas”.

4. DISCUSSÃO

Para várias espécies de Lepidoptera, o amanhecer ou o anoitecer são os sinais que desencadeiam o ritmo circadiano do comportamento de chamamento e a conseqüente emissão do feromônio sexual (BAKER e CARDÉ, 1979; HICKEL e VILELA, 1991; PIRES et al., 1994).

A captura de machos de *L. coffeella* nas armadilhas com fêmeas virgens e com feromônio sintético ocorreu entre as 10 e 15 h, indicando que a espécie tem acasalamentos diurnos, ao contrário do relatado na literatura (SPEER, 1949). Este padrão de comportamento não é uma exceção entre as mariposas, pois *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae) também se acasala próximo ao meio-dia (DOANE, 1968; PROSHOLD e BERNON, 1994). Entretanto, dentro da família Lyonetiidae, o período de acasalamento de *L. coffeella* difere daquele de *Bucculatrix thurberiella* Busck, que se acasala durante o período noturno, entre as 19 e 5 h (LINGREN et al., 1980).

As diferenças encontradas na captura dos machos entre armadilhas contendo fêmeas de *L. coffeella* e aquelas com o feromônio sintético podem estar relacionadas com mudanças no potencial de atração de cada isca ao longo do dia. A captura nas armadilhas com fêmeas virgens reflete, pelo menos em parte, a atividade de chamamento destas (McNEIL, 1991). Nestas armadilhas, a captura dos machos foi máxima ao meio-dia (6 h da fotofase), possivelmente devido ao maior número de fêmeas em chamamento. No entanto, a redução na captura a

partir das 13 h poderia estar associada à redução na quantidade de fêmeas em chamamento por causa do aumento da temperatura do ar.

As armadilhas com feromônio podem liberar o atraente durante as 24 h do dia e, por esta razão, retratam o ritmo de resposta dos machos, independentemente do período de chamamento das fêmeas (WALL, 1990). Isso explicaria a antecipação de 1 h na captura dos machos pelas armadilhas com feromônio sintético. Já a maior captura no período entre as 13 e as 15 h (7 e 9 h da fotofase) ocorreu, possivelmente, em razão da maior taxa de liberação do feromônio no ar e da redução da competição com fêmeas do campo, devido ao aumento da temperatura.

Os acasalamentos do bicho-mineiro ocorreram entre 4 e 6 h do início da fotofase. As diferenças verificadas na frequência dos acasalamentos entre as idades de *L. coffeella* poderiam ser explicadas por mudanças nas taxas de síntese e de liberação do feromônio sexual por parte das fêmeas e na habilidade de resposta ao feromônio por parte dos machos. Neste sentido, as maiores frequências de acasalamento nas idades de um (96,5%) e três dias (81,5%) estariam relacionadas com elevadas taxas de produção e liberação de feromônio sexual e com a maior receptividade e resposta dos machos aos estímulos, em virtude da maturidade sexual.

A situação inversa foi constatada nas idades de zero (29,6%) e cinco dias (14,3%), nas quais houve baixa frequência de acasalamentos. Assim, machos recém-emergidos de *L. coffeella* não estariam reprodutivamente maduros para desempenhar suas atividades sexuais, não respondendo ao feromônio sexual, como observado em *Spodoptera exempta* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) (KHASIMUDDIN, 1978), ou, ainda, sendo rejeitados pelas fêmeas por não exibirem o estímulo apropriado para o acasalamento, a exemplo de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (LEPPLA et al., 1987). Já os machos mais velhos de *L. coffeella* teriam perdido parte da capacidade de perceber os estímulos sexuais emitidos pelas fêmeas e responder a eles. SPURGEON et al. (1995) verificaram que a frequência de acasalamentos de *Eoreuma loftini* (Dyar) (Lepidoptera: Pyralidae) diminuiu à medida que a idade

dos insetos aumentou. Resultado semelhante foi obtido por ROGERS e MARTI, JR. (1994) em *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).

Embora não significativa, a redução dos acasalamentos nos adultos com dois dias de idade em relação aos insetos com um dia sugere que a síntese ou a liberação de feromônio pelas fêmeas não sejam contínuas entre as idades mais apropriadas para o acasalamento (12-72 h da emergência). Por esta hipótese, fêmeas que iniciassem o seu chamamento com um dia de idade teriam uma queda na sua atratividade nas 24 h subseqüentes. Em *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), alta quantidade de feromônio é mantida na glândula de feromônio durante todo o tempo, mas a periodicidade de liberação segue o transporte periódico do feromônio para a superfície da glândula (HUNT e HAYNES, 1990).

Variações na periodicidade dos acasalamentos entre idades de *L. coffeella* também poderiam ser explicadas por mudanças nos padrões temporais da síntese e liberação do feromônio sexual, assim como da resposta dos machos, em razão do estado fisiológico do inseto (McNEIL, 1991). Nas idades com maior frequência de cópulas, os picos de acasalamento ocorreram às 5 h da fotofase; entretanto, nos insetos mais velhos, com cinco dias de idade, todos os acasalamentos ocorreram às 4 h da fotofase. Esta antecipação dos acasalamentos sugere que as fêmeas mais velhas de *L. coffeella* poderiam iniciar o chamamento antes das fêmeas mais novas, como estratégia para aumentarem suas chances de atrair os machos, conforme proposto por vários autores (SWIER et al.,1977; WEBSTER e CARDÉ,1982).

No laboratório, os acasalamentos de *L. coffeella* ocorreram entre 4 e 6 h do início da fotofase, enquanto, no campo, as capturas foram baixas nos horários de 4 e 5 h da fotofase. Essa diferença pode estar relacionada com a proximidade em que os casais se encontraram no tubo utilizado para a realização do experimento em laboratório, não havendo necessidade de os machos dispensarem muito tempo à procura das fêmeas. Tal proximidade nem sempre ocorre no campo, levando o macho a gastar mais tempo à procura da fonte liberadora do feromônio, seja produzido pela fêmea ou liberado pelo septo de borracha.

Os comportamentos de chamamento e corte do bicho-mineiro-do-cafeeiro não fugiram do padrão normalmente encontrado entre os Lepidoptera. A posição das asas da fêmea junto ao corpo durante o chamamento e o leve arqueamento do final do abdome foram observados também em fêmeas de *Earias insulana* (Biodsuval) (Lepidoptera: Noctuidae) (TAMHANKAR, 1995). Em *L. dispar* (CHARLTON e CARDÉ, 1990), *Mamestra configurata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) (HOWLANDER e GERBER, 1986) e *B. thurberiella* (LINGREN et al., 1980), a posição das fêmeas durante o chamamento é mais evidente, pois estas levantam levemente suas asas e as abrem, expondo assim a glândula de feromônio.

O comportamento do macho de colocar suas asas sobre as da fêmea durante o acasalamento foi observado também por LINGREN et al. (1980) em *B. thurberiella*, não sendo observada a mesma semelhança quanto ao comportamento das fêmeas, como visto anteriormente. Os machos não possuem tufo de pêlo, que são expostos durante a corte, como foi observado em *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) (BACKER e CARDÉ, 1979). A liberação do feromônio por parte do macho pode ser importante durante o processo de acasalamento, para que a fêmea o reconheça e aceite o acasalamento, o que deve ser investigado para esta espécie.

A fecundidade foi afetada pela idade de acasalamento dos machos e das fêmeas, bem como pelo número de acasalamentos prévios dos machos.

O decréscimo na quantidade de ovos depositados à medida que as fêmeas de *L. coffeella* atrasaram o acasalamento poderia estar relacionado com a baixa quantidade de ovos maduros existentes até o momento da cópula. Isto porque, fêmeas desta espécie concentram até 50% de sua oviposição nos primeiros quatro dias de idade (NOTLEY, 1948). Para se manterem vivas até o acasalamento, estas fêmeas poderiam não só utilizar as reservas do corpo gorduroso, mas também reabsorver os ovos maduros ainda não fertilizados, conforme sugerido por DUNLAP-PIANKA et al. (1977).

A fecundidade foi alta nas fêmeas acasaladas com machos virgens, porém não houve uma relação direta, quando machos previamente acasalados

foram envolvidos. KAITALA e WIKLUND (1994) observaram que fêmeas de *P. napi* acasaladas com machos virgens foram mais fecundas que aquelas que se acasalaram com machos previamente acasalados. Por outro lado, WARD e LANDOLT (1995) verificaram que em *T. ni* o número de acasalamentos prévios do macho não afetou a fecundidade das fêmeas, indicando que acasalamentos prévios do macho não influenciaram a qualidade do material do espermátóforo passado para as fêmeas.

A fertilidade dos ovos não foi afetada pela idade das fêmeas de *L. coffeella*, ao contrário da idade e do número de acasalamentos prévios dos machos. KEHAT e GORDON (1977) observaram que, em *E. insulana*, tanto a fecundidade como a fertilidade não sofreram influência do atraso no acasalamento da fêmea. No entanto, no caso de *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), LINGREN et al. (1988) obtiveram decréscimo na fecundidade das fêmeas à medida que a idade aumentou, porém sem ocorrer diferença estatística para a fertilidade entre as diferentes idades. Em *Epiphyas postvittana* (Walker) (Lepidoptera: Tortricidae), a idade das fêmeas teve influência tanto na fecundidade como na fertilidade, visto que fêmeas mais velhas apresentam menor fecundidade e fertilidade em relação às jovens (FOSTER e AYERS, 1996; FOSTER e HOWARD, 1999).

Na maioria dos lepidópteros, a idade da fêmea tem efeito maior sobre o potencial reprodutivo da espécie que a idade do macho, mesmo este contribuindo de alguma maneira para esse potencial. Contudo, em *L. dispar*, a idade do macho no primeiro acasalamento afetou a qualidade do espermátóforo transferido para as fêmeas durante o acasalamento (PROSHOLD e BERNON, 1994). Segundo ROGERS e MARTI JR. (1996), a idade dos machos de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) afetou tanto o número de ovos depositados quanto a sua fertilidade, sendo observado, no momento do acasalamento, decréscimo na fecundidade e na fertilidade com o aumento na idade dos machos. Em *Papilio glaucus* L. (Lepidoptera: Papilionidae), LEDERHOUSE et al. (1990) constataram que machos novos transferiram

espermátóforos maiores e o tamanho do espermátóforo diminuiu com a freqüência dos acasalamentos e com a idade dos machos.

Como não houve efeito da idade da fêmea na fertilidade dos ovos, a idade dos machos no acasalamento parece relevante para o potencial reprodutivo do bicho-mineiro. A queda na fertilidade dos acasalamentos sugere a existência de uma interação entre a idade do macho (três dias) e da fêmea (um dia), gerando alguma alteração fisiológica, que acarretou a baixa fertilidade dos ovos.

Machos de *L. coffeella* podem acasalar até quatro vezes consecutivas (SPEER, 1949), porém, neste estudo, a fertilidade das fêmeas diminuiu à medida que o número de acasalamentos prévios dos machos aumentou. Esta queda na fertilidade provavelmente está ligada à perda na quantidade e na qualidade do espermato transferido para as fêmeas durante a cópula. OBERHAUSER (1988) propôs que se um macho se acasala inúmeras vezes seguidas, ele pode transferir menos material no ejaculado do que um macho que tem um tempo maior entre um acasalamento e outro. HENNEBERRY e CLAYTON (1985) observaram que a história reprodutiva do macho de *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) afeta seu comportamento e a habilidade de suprir a quantidade de espermato funcional. Também, constataram que a percentagem de acasalamentos e a transferência de espermato funcional reduzem à medida que o número de acasalamentos aumenta. Esta perda na qualidade do material transferido à fêmea, segundo GIEBULTOWICZ (1999), pode ser resultante do tempo insuficiente para a produção apropriada de espermato e nutrientes, entre o primeiro e os acasalamentos seguintes, já que tal processo é controlado pelo ritmo circadiano do inseto.

Embora os machos de *L. coffeella* tenham se acasalado até quatro vezes, constatou-se baixa freqüência de reacasalamento das fêmeas (6 a 35%), não ultrapassando dois acasalamentos por fêmea durante sete dias, no laboratório. Isto também poderia ser extrapolado ao campo, visto que na natureza os adultos podem apresentar tempo de vida limitado, enquanto o tempo necessário para o encontro dos parceiros sexuais, ou mesmo o período refratário nas fêmeas, seja maior que o tempo (dois dias) utilizado neste trabalho. Entretanto, é possível que

a frequência de acasalamento múltiplo no campo seja maior do que observado, pois as fêmeas provavelmente não estão restritas a apenas um macho, principalmente em alta densidade populacional. Em *L. dispar*, as fêmeas normalmente não se reacasalam; porém, no campo, algumas fêmeas se acasalam mais de uma vez, quando a densidade populacional é alta (KOSHIO, 1996).

A frequência de reacasalamento em *L. coffeella* não foi afetada pela idade dos machos, ao contrário da idade da fêmea. Fêmeas velhas, com cinco dias de idade, reacasalaram-se em maior proporção que aquelas com dois e três dias da emergência. Contudo, não se pode descartar que machos de *L. coffeella*, com idades mais avançadas (> 5 dias), possam induzir o reacasalamento nas fêmeas.

Os nutrientes adquiridos por meio do acasalamento podem ser utilizados pelas fêmeas para produção de ovos e para sua própria manutenção (WIKLUND et al., 1993). Em alguns lepidópteros, o sucesso reprodutivo das fêmeas é dependente dos nutrientes fornecidos pelo macho. Como evidência, algumas fêmeas que possuem múltiplos acasalamentos têm maior rendimento reprodutivo e, ou, longevidade que fêmeas que se acasalam somente uma vez (WATANABE e ANDO, 1993). Fêmeas mais velhas de *L. coffeella*, possivelmente, tiveram maior frequência de reacasalamento em busca de nutrientes oriundos do macho, para maximizar seu tempo de sobrevivência, na tentativa de assegurar que pelo menos parte dos seus ovos fossem depositados, garantindo, assim, o sucesso reprodutivo.

SVÄRD e McNEIL (1994) observaram que, em *Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera: Noctuidae), o reacasalamento aumentou tanto a longevidade quanto a fecundidade das fêmeas. Caso similar foi constatado em fêmeas de *P. napi*, que, ao se acasalarem mais de uma vez, viveram mais que as fêmeas com apenas um acasalamento (WIKLUND et al., 1993).

O reacasalamento do bicho-mineiro também foi influenciado pelo número de acasalamentos prévios do macho. A frequência de reacasalamento aumentou com o número de acasalamentos do macho. Como discutido anteriormente, este fato pode estar associado com a demanda de esperma para a

fertilização dos ovos e a redução na quantidade e qualidade do material do macho transferido para a fêmea durante as cópulas, particularmente para machos com histórico de quatro acasalamentos.

Em borboletas poliândricas, a duração do período refratário nas fêmeas, ou seja, do tempo de predisposição para reacasalamento, parece depender do tamanho do ejaculado que ela recebe do macho. O espermátóforo transferido por um macho recém-acasalado pode ser consideravelmente menor que aquele liberado por um macho virgem (WIKLUND e KAITALA, 1995). Machos que transferem grandes ejaculados para as fêmeas atrasam a busca do novo acasalamento, podendo até mesmo evitar que este ocorra, garantindo assim que os ovos sejam fertilizados somente pelo seu espermatozoide (KAITALA e WIKLUND, 1995). Neste contexto, existem pelo menos dois fatores que controlam a receptividade em fêmeas de Lepidoptera: 1) mecanismo de pressão do ejaculado na *bursa copulatrix*, detectado pela extensão dos receptores (DRUMMOND, 1984) e pela liberação de um hormônio na hemolinfa (OBARA, 1982); e 2) pela presença de espermatozoides na espermateca (DRUMMOND, 1984).

Na seleção do tipo de folha para oviposição, as fêmeas de *L. coffeella* mostraram preferência por folhas isentas de ovos, em relação às folhas previamente ovipositadas e folhas minadas com ou sem lagartas, não ocorrendo mudanças na escolha ao longo de 72 horas. Isso sugere que as fêmeas são discriminatórias à existência de ovos coespecíficos em estágios mais avançados de desenvolvimento na folha, bem como à existência de minas e lagartas. Porém para *P. rapae*, TRAYNIER (1979), utilizando olfatometria, constatou que a postura não foi afetada pela presença de ovos no substrato de oviposição, bem como a preferência hospedeira não foi influenciada pelo nível de experiência adquirida pelas fêmeas.

A baixa oviposição nas folhas minadas com ou sem lagarta indica que a presença da mina na folha pode desempenhar efeito inibidor sobre a oviposição, independentemente da presença ou não da lagarta. Esta inibição pode ser devida a pistas visuais que seriam utilizadas pelas fêmeas durante a procura da folha hospedeira, ou ainda por substâncias liberadas (voláteis e não-voláteis) tanto pela

planta injuriada como pelas fezes de lagartas presentes no interior da mina, que seriam percebidas após o pouso e caminhar das fêmeas em cima do substrato (SCHURR e HOLDAWAY, 1970; RENWICK e RADKE, 1982).

Evolutivamente, a espécie poderia desenvolver mecanismos pelos quais as fêmeas copuladas fossem pouco atraídas para ovipositar em folhas danificadas e com lagartas, como forma de evitar a competição por recursos e a exploração de sítios de alimentação com baixa qualidade nutricional pela prole. Desse modo, tanto as lagartas já existentes teriam maior potencial de competição como o alimento disponível seria menor, quando eclodissem as lagartas da última postura feita na folha. Além disso, boa parte da folha já estaria lesada e, possivelmente, com maiores níveis de metabólitos secundários tóxicos ao inseto, como resposta da planta à herbivoria prévia (BERNAYS e CHAPMAN, 1994).

Novos estudos são necessários para elucidar as causas do múltiplo acasalamento das fêmeas de *L. coffeella*, sua incidência nas populações e os reflexos na dinâmica populacional da espécie. Neste sentido, seria possível esclarecer os resultados obtidos neste trabalho, relacionados principalmente à importância do macho no sucesso reprodutivo da espécie.

A seleção hospedeira para oviposição também merece maior atenção, considerando-se o envolvimento de compostos químicos no reconhecimento do melhor sítio para oviposição, dado o grande potencial de emprego de substâncias que interfiram em tal comportamento, como estratégia de controle populacional da espécie na cultura do café.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Neste trabalho foram realizados estudos para: *i)* determinar a periodicidade de acasalamento de *L. coffeella*; *ii)* caracterizar o comportamento de acasalamento da espécie; *iii)* avaliar os efeitos do atraso no acasalamento e da história reprodutiva do macho na fecundidade, fertilidade e frequência de reacasalamento; e *iv)* determinar a preferência para oviposição, em virtude da presença de coespecíficos e de injúrias na folha do cafeeiro. O acasalamento de *L. coffeella* ocorreu entre as 10 e 15 h, com maior frequência entre adultos com 12 a 24 h da emergência.

As idades do macho e da fêmea no primeiro acasalamento, bem como o número de acasalamentos prévios do macho influenciaram a fecundidade, a fertilidade e a frequência de reacasalamento. A combinação de idades, entre machos e fêmeas que se acasalaram, influenciou o potencial reprodutivo da espécie, porém o atraso no acasalamento dos machos mostrou-se mais significativo em relação ao atraso das fêmeas, uma vez que acasalamentos envolvendo machos mais velhos resultaram em baixa fecundidade das fêmeas e fertilidade dos ovos.

A maior frequência de reacasalamentos de fêmeas, tanto em razão da sua idade como do número de acasalamentos prévios do macho envolvido, poderia

estar associado à busca de nutrientes a partir do material ejaculado pelo macho, para a sobrevivência da fêmea e a fertilização dos ovos.

As fêmeas do bicho-mineiro-do-cafeeiro preferiram ovipositar nas folhas isentas de ovos ou, a fazê-lo nas folhas previamente ovipositadas ou minadas. Esta preferência por folhas limpas sugere a existência de mecanismos que minimizam a competição intra-específica e otimizam a seleção de hospedeiros com melhor qualidade nutricional para a prole.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BACKER, T.C., CARDÉ, R.T. Courtship behavior of the oriental fruit moth (*Grapholita molesta*): Experimental analysis and consideration of the role of sexual selection in the evolution of courtship pheromones in the Lepidoptera. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 72, n. 1, p. 173-188, 1979.
- BERNAYS, E.A., CHAPMAN, R.F. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York: Chapman & Hall, 1994. 312 p. (Contemporary Topics in Entomology, 2.)
- BISSOONDATH, C.J., WIKLUND, C. Protein content of spermatophores in relation to monandry/ polyandry in butterflies. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, New York, v. 37, n. 6, p.365-371, 1995.
- BISSOONDATH, C.J., WIKLUND, C. Effect of male mating history and body size on ejaculate size and quality in two polyandrous butterflies, *Pieris napi* and *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). **Functional Ecology**, Oxford, v. 10, n. 4, p. 457-464, 1996.
- CARDÉ, R.T., MINKS, A.K.. **Insect pheromone research: new directions**. New York: Chapman & Hall/International Thomson, 1997. 684 p.

- CHARLTON R.E., CARDÉ, R.T. Behavioral interactions in the courtship of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Laham, v. 83, n. 1, p. 89-96, 1990.
- DENT, D. **Insect pest management**. Wallingford: CAB International, 1991. 604 p.
- DOANE, C.C. Aspects of mating behavior of the gypsy moth. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 61, n. 3, p. 768-773, 1968.
- DRUMMOND, B.C. Multiple mating and sperm competition in the Lepidoptera. In: SMITH, R.L. (Ed.). **Sperm competition and the evolution of animal mating systems**. New York: Academic, 1984. p. 291-370.
- DUNLAP-PIANKA, H., BOGGS, C., GILBERT, L. Ovarian dynamics in heliconiine butterflies: programmed senescence versus eternal youth. **Science**, Washington, v. 197, n. 4302, p. 487-489, 1977.
- FITZPATRICK, S.M., McNEIL, J.N. Lifetime mating potential and success in male of the true armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Haw.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Functional Ecology**, Oxford, v. 3, n. 1, p. 37-44, 1989.
- FOSTER, S.P., AYERS, R.H. Multiple mating and its effects in the lightbrown apple moth, *Epiphyas postvittana* (Walker). **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 42, n. 7, p. 657-667, 1996.
- FOSTER, S.P., HOWARD, A.J. The effects of mating, age at mating, and plant stimuli, on the lifetime fecundity and fertility of the generalist herbivore *Epiphyas postvittana*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 91, n. 2, p. 287-295, 1999.
- FRANCKE, W., TOTH, M., SZÖCS, G., KRIEG, W., ERNST, H., BUSCHMANN, E. Identifizierung and synthese von Dimethylalkanen als sexuellcokstoffe weiblicher miniermotten (Lyonetiidae). **Zeitschrift für Naturforschung**, Berlin, v. 43, n. 4, p. 787-789, 1988.

- GIEBULTOWICZ, J.M. Insect circadian clocks: is it all in their heads? **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 45, n. 9, p. 791-800, 1999.
- HENNEBERRY, T.J., CLAYTON, T.E. Tobacco budworm moths (Lepidoptera: Noctuidae): effect of time of emergency, male age, and frequency of mating on sperm transfer and egg viability. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 78, n. 1, p. 379-382, 1985.
- HICKEL, E.R., VILELA, E.F. Comportamento de chamamento e aspectos do comportamento de acasalamento de *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), sob condições de campo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 20, n. 1, p. 174-182, 1991.
- HOWLANDER, M.A., GERBER, G.H. Calling behavior of the bertha armyworm, *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae). **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 118, n. 8, p. 735-743, 1986.
- HUFFAKER, C.B., RABB, R.L. **Ecological entomology**. New York, John Wiley & Sons, 1984, 844p.
- HUNT, R.E., HAYNES, K.F. Periodicity in the quantity and blend ratios of pheromone components in glands and volatile emissions of mutant and normal cabbage looper moths, *Trichoplusia ni*. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 36, n.10, p. 769-774 1990.
- JUTSUM, A .R., GORDON, R.F.S. **Insect pheromone in plant protection**. Chichester: John Wiley & Sons, 1989. 369p.
- KAITALA, A., WIKLUND, C. Polyandrous female butterflies forage for matings. **Behavior Ecology and Sociobiology**, New York, v. 35, n. 6, p. 385-388, 1994.
- KAITALA, A., WIKLUND, C. Female mate choice and mating costs in the polyandrous butterfly *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 8, n. 3, p.355-363, 1995.

- KEHAT, M., GORDON, D. Mating ability, longevity and fecundity of the spiny bollworm, *Earias insulana* (Lepidoptera: Noctuidae). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 22, n. 3, p. 267-273, 1977.
- KHASIMUDDIN, S. Courtship and mating behavior of the African armyworm, *Spodoptera exempta* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **Bulletin of Entomological Research**, Wallingford, v. 68, n. 2, p. 195-202, 1978.
- KOSHIO, C. Pre-ovipositional behavior of the female gypsy moth, *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae). **Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v. 31, n. 1, p. 1-10, 1996.
- LEDERHOUSE, R.C., AYRES, M.P., SCRIBER, J.M. Adult nutrition affects male virility in *Papilo glaucus* L. **Functional Ecology**, Oxford, v. 4, n. 5, p. 743-751, 1990.
- LEPPLA, N.C., GUY, R.H., HEATH, R.R., DUEBEN, B. Laboratory studies of the courtship of the velvetbean caterpillar moth, *Anticarsia gemmatalis* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Entomological Society of America**, Lanham, v. 80, n. 2, p. 278-283, 1987.
- LINGREN, P.D., HENNEBERRY, T.J., BARIOLA, L.A., Nocturnal behavior of adult cotton leafperforators in cotton. **Annals of Entomological Society of America**, Lanham, v. 73, n. 1, p. 44-48, 1980.
- LINGREN, P.D., WARNER, W.B., HENNEBERRY, T.J. Influence of delayed mating on egg production, egg viability, mating, and longevity of female pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 17, n. 1, p. 86-89, 1988.
- LIMA, E.R., VILELA, E.F., KUWAHARA, S., LEAL, W.S. Evaluation of the sex pheromone of the coffee leaf miner, *Perileucoptera coffeella* Guérin-Méneville (Lepidoptera: Lyonetiidae), in different traps in the field. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE BIOTECNOLOGIA NA AGROINDÚSTRIA CAFEEIRA, 3, 1999, Londrina, **Resumos...** Londrina, PR, p. 13.

- McNEIL, J.N. Behavioral ecology of pheromone - mediated communication in moths and its importance in the use of pheromone traps. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 36, p. 407-430, 1991.
- NOTLEY, F.B. The *Leucoptera* leaf miners of coffee on Kilimanjaro. I *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville). **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 39, n. 3, p. 339-416, 1948.
- OBARA, Y. Mate refusal hormone in the cabbage white butterfly? **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 69, n. 3, p. 551-552, 1982.
- OBERHAUSER, K.S. Male monarch butterfly spermatophore mass and mating strategies. **Animal Behavior**, London, v.36, n. 5, p. 1384-1388, 1988.
- PIRES, C.C.S.S., VILELA, E.F., VIANNA, P.A. Comportamento de fêmeas de *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) associado à liberação de feromônio sexual. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 1-12, 1994.
- PROSHOLD, F.I., BERNON, G.L. Multiple mating in laboratory reared gypsy moths (Lepidoptera: Lymantriidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 87, n. 3, p. 661-666, 1994.
- REIS JR., R. **Interferência entre vespas e parasitóides de *Leucoptera coffeella* (Guérin- Meneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae)**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 38 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- RENWICK, J.A.A. Chemical ecology of oviposition in phytophagous insects. **Experientia**, Basel, v. 45, n. 3, p. 223-228, 1989.
- RENWICK, J.A A., RADKE, C.D. Activity of cabbage extracts in deterring oviposition by the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE INSECT-PLANT RELATIONSHIPS, 5, 1982, Wageningen. **Proceedings ...** Wageningen, p. 139-143.

- ROGERS, C.E., MARTI JR., O.G. Effects of age at first mating on the reproductive potential of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 23, n. 2, p. 322-325, 1994 .
- ROGERS, C.E., MARTI JR., O.G. Beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): effects of age at first mating on reproductive potential. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 79, n. 3, p. 344-352, 1996.
- ROJAS, J.C., CIBRIAN-TOVAR, J. Reproductive behavior of *Copitarsia consueta* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae): mating frequency, effect of age on mating, and influence of delayed mating on fecundity and egg fertility. **Pan-Pacific Entomologist**, San Francisco, v. 70, n. 4, p. 276-282, 1994.
- SAUNDERS, D.S. **Insect clocks**. Oxford: Pergamon Press, 1982. 409 p.
- SCHOONHOVEN, L.M., SPARNAY, T., VAN WISSEN, W. Seven week persistence of an oviposition-deterrent pheromone. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 7, n. 2, p. 583-588, 1981.
- SCHUR, K., HOLDAWAY, F.G. Olfactory responses of female *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyraustinae). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 13, n. 4, p. 455-461, 1970.
- SHOREY, H.H. Environmental and physiological control of insect sex pheromone behavior. In: BIRCH, M.C. (Ed.). **Pheromones**. Amsterdam: North Holland, 1974. p. 22-80.
- SHOREY, H.H. Manipulation of insect pests of agricultural crops. In: SHOREY, H.H., McKELVEY JUNIOR, J.J. (Eds.) **Chemical control of insect behavior: teory and application**. New York: John Wiley, 1977. 414p.
- SOUZA, J.C, REIS, P.R. **Bicho-mineiro: biologia, danos e manejo integrado**. Belo Horizonte: EPAMIG, 1992. 67p. (Boletim Técnico, 37).
- SPEER, M. Observações relativas à biologia do bicho mineiro das folhas do cafeeiro, *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera:

Buccolatricidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 19, n.1, p. 31-47, 1949.

SPURGEON, D.W., LINGREN, P.D., RAULSTON, J.R., SHAVER, T.N. Age specific mating activities of mexican rice borers (Lepidoptera: Pyralidae). **Environmental Entomologist**, Lanham, v. 24, n. 1, p. 105-109, 1995.

SVÄRD, L. Paternal investment in a monandrous butterfly, *Pararge aegeria*. **Oikos**, Copenhagen, v. 45, n. 1, p. 66-70, 1985.

SVÄRD, L., McNEIL, J.N. Female benefit, male risk: polyandry in the true armyworm *Pseudaletia unipuncta*. **Behavior Ecology and Sociobiology**, New York, v. 35, n. 5, p. 319-326, 1994.

SWIER, S.R., RINGS, R.W., MUSICK, G.J. Age-related calling behavior of the black cutworm, *Agrotis ipsilon*. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 70, n. 5, p. 919-924, 1977.

TAMHANKAR, A.J. Sex pheromone gland and calling behavior of female spiny bollworm *Earias insulana*. **Entomon**, New Delhi, v. 20, n. 1, p. 1-4, 1995.

THOMPSON, J.N., PELLMYR, O. Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 36, p. 65-89, 1991.

THORNHILL, R., ALCOCK, J. **The evolution of insect mating systems**. London: Harvard University Press, 1983. 547 p.

TRAYNIER, R.M.M. Long term changes in the oviposition behavior of the cabbage butterfly, *Pieris rapae*, induced by contact with plants. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 87-96, 1979.

VICKERS, R.A. Effect of delayed mating on oviposition pattern, fecundity and fertility in codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). **Australian Journal of Entomology**, Canberra, v. 36, n. 2, p. 179-182, 1997.

- WALL, C. Principles of monitoring. In: RIDGWAY, R.L., SILVERSTEIN, R.M., INSCOE, M.N. (Ed.). **Applications of pheromones and other attractants**. New York: Marcel Dekker, 1990. p. 9-23.
- WARD, K.E., LANDOLT, P.J. Influence of multiple matings on fecundity and longevity of female cabbage looper moths (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 88, n. 6, p. 768-772, 1995.
- WATANABE, M., ANDO, S. Influence of mating frequency on lifetime fecundity in wild females of the small white *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). **Japanese Journal of Entomology**, Tokio, v. 61, n. 4, p. 691-696, 1993.
- WEBSTER, R.P., CARDÉ, R.T. Relationships among pheromone titer, calling and age in the omnivorous leafroller moth (*Platynota stultana*). **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 28, n. 11, p. 925-933, 1982.
- WEBSTER, R.P., CHARLTON, R.E., SCHAL, C., CARDÉ, R.T. High efficiency pheromone trap for the european corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 99, n. 4, p. 1139-1142, 1986.
- WIKLUND, C., KAITALA, A. Sexual selection for large male size in a polyandrous butterfly: the effect of body size on male vs female reproductive success in *Pieris napi*. **Behavioral Ecology**, Cary, v. 6, n. 1, p. 6-13, 1995.
- WIKLUND, C., KAITALA, A., LINDFORS, V., ABENIUS, J. Polyandry and its effect on female reproduction in the green veined white butterfly (*Pieris napi* L.). **Behavior Ecology and Sociobiology**, New York, v. 33, n. 1, p. 25-33, 1993.
- WOLCOTT, G.N. A quintessence of sensitivity: the coffee leaf miner. **The Journal of Agriculture of University of Puerto Rico**, Rio Pedras, v. 31, n. 3, p. 215-219, 1947.
- ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. New Jersey, Prentice-Hall, 1984, 718 p.