

ECOLOGY, BEHAVIOR AND BIONOMICS

Horário de Oviposição e Ritmo Diário de Emergência de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) em Laboratório

ANA L.G.C. PARRA¹, EVALDO F. VILELA² E JOSÉ M.S. BENTO¹

¹Depto. Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP, 13418-900, Piracicaba, SP

²Depto. Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, MG

Oviposition Time and Daily Emergence Rhythm of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Laboratory

ABSTRACT – The behavior of *Phyllocnistis citrella* Stainton was studied in relation to the time of oviposition and daily emergence rhythm in laboratory under controlled temperature, relative humidity and photoperiod conditions. A crepuscular and nocturnal egg-laying habit of *P. citrella* was recorded with approximately 95.4% eggs laid during the scotophase (10h). Out of the total eggs laid throughout 24h, about 45.4% was concentrated on the first two hours of scotophase. *P. citrella* adults had a synchronized emergence, with a male:female proportion of 1:1, with a consequent sexual ratio of 0.5.

KEY WORDS: Insecta, citrus leaf miner, reproductive behavior, bioecology.

RESUMO – Estudou-se o comportamento de *Phyllocnistis citrella* Stainton quanto ao horário de oviposição e ritmo diário de emergência, em laboratório sob condições controladas de temperatura, umidade relativa e fotoperíodo. Ficou caracterizado o hábito crepuscular e noturno de postura de *P. citrella*, com aproximadamente 95,4% dos ovos colocados durante a escotofase (10h). Do total de ovos nas 24h, cerca de 45,4% concentraram-se nas duas primeiras horas da escotofase. Adultos de *P. citrella* apresentaram um sincronismo na emergência, com uma proporção macho:fêmea de 1:1, e portanto, com uma razão sexual igual a 0,5.

PALAVRAS CHAVE – Insecta, minador-dos-citros, comportamento reprodutivo, bioecologia.

O minador-dos-citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, é originário da Ásia e atualmente encontra-se distribuído nos cinco continentes (Heppner 1993, Argov & Rössler 1996, Prates *et al.* 1996). No Brasil, foi constatado pela primeira vez em março de 1996, em viveiros na região de Campinas SP (Prates *et al.* 1996), constituindo-se desde então, em mais uma praga de importância econômica associada aos citros.

Fêmeas de *P. citrella* ovipositam em folhas novas de plantas cítricas; as lagartas ao eclodirem, penetram no mesófilo foliar e iniciam a alimentação formando uma galeria, inicialmente paralela à nervura central e depois bastante sinuosa, em forma de serpentina, sendo que a epiderme foliar atacada assume coloração prateada. Este tipo de ataque, em altas populações, pode afetar a fotossíntese e interromper o desenvolvimento das folhas jovens, inibindo a sua abertura e expansão, deformando-as completamente e podendo causar a sua queda (Peña & Duncan 1993).

Os hábitos dessas lagartas favorecem também a entrada de microorganismos patogênicos nos tecidos vegetais, principalmente da bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv.

citri, causadora do cancro-cítrico. Esta doença, conhecida mundialmente como “Asiatic Citrus Canker”, apresenta um potencial devastador para algumas espécies de citros, especialmente se elas forem cultivadas em áreas onde são registradas, simultaneamente, chuva em abundância e temperaturas elevadas (Pruvost *et al.* 1997).

O minador-dos-citros apresenta grande número de inimigos naturais; entretanto, para a supressão de suas populações tem predominado o controle químico, embora o parasitóide importado, *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya, tenha se adaptado satisfatoriamente nas diversas regiões paulistas, quatro anos após sua introdução no país. O uso de inseticidas não seletivos e de forma indiscriminada, além de causar desequilíbrios pela eliminação dos inimigos naturais, com freqüentes explosões populacionais da praga, pode selecionar linhagens resistentes da mesma. O objetivo desta pesquisa foi verificar o horário de oviposição e o ritmo diário de emergência de machos e fêmeas de *P. citrella*, parâmetros importantes para o futuro planejamento de estratégias, visando ao controle da praga com base em características dos adultos.

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Piracicaba, da Universidade de São Paulo (USP).

Criação de Manutenção dos Insetos. Os adultos de *P. citrella*, utilizados nos experimentos foram criados em laboratório a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $65 \pm 10\%$ e fotofase de 14h, baseando-se na metodologia de Chagas & Parra (2000).

Horário de Oviposição. Este experimento foi realizado para se determinar o horário de oviposição de *P. citrella*, em laboratório mantido a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $65 \pm 10\%$ e fotofase de 14h, com iluminação das 6:00h às 20:00h. Foram instalados dois ensaios: (1) Ensaio preliminar – Contagem dos ovos a cada quatro horas durante dois dias consecutivos. Foram utilizadas plantas de limão cravo (*Citrus limonia* L. Obseck) com 25 a 30 cm de altura, cultivadas em tubetes plásticos pretos de 20 cm de altura por 1,5 cm de diâmetro, contendo substrato de vermiculita e composto vegetal (1:1) e gaiola de poliestireno de 60 x 48 x 40 cm para a obtenção das posturas. Vinte plantas, com brotações, foram colocadas dentro das gaiolas, sendo liberados 30 casais de *P. citrella* com 48h de idade, já acasalados. Foram realizadas contagens do número de ovos a cada quatro horas, retirando-se as plantas da gaiola e observando-se as posturas em microscópio estereoscópico provido de iluminador de fibra ótica. Tais plantas foram substituídas, a cada contagem, por outras 20 plantas, repetindo-se o procedimento até serem completadas 48h de avaliação; (2) Ensaio definitivo – Uma vez definida a faixa de horário de maior concentração de ovos, no ensaio preliminar, utilizando-se a mesma metodologia, foram realizadas contagens do número de ovos nas folhas das plantas a cada duas horas, do início ao término desta faixa de horário, por dois dias consecutivos.

Ritmo Diário de Emergência. Este experimento foi realizado para se verificar se ambos os sexos emergem simultaneamente ou se há assincronia nesta emergência. Foram utilizadas 280 plantas de limão cravo em tubetes, as quais foram colocadas dentro de gaiola de madeira de 60x60x60 cm, com a parte superior de tela de náilon e a parte frontal, de vidro, com uma abertura de 25 cm de diâmetro, à qual se prendeu uma manga de tecido fino do tipo *voile*, possibilitando o manuseio das plantas no seu interior. Foram liberados dentro da gaiola 140 adultos de *P. citrella*, sendo as plantas expostas à oviposição por 24h. Após este período, as plantas contendo ovos do mesmo dia, foram retiradas da gaiola e mantidas em câmaras climatizadas reguladas a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $65 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. Doze dias após a oviposição, quando as folhas já apresentavam pupas próximas à emergência, foram recortadas com tesoura, e em seguida, cada pupa foi individualizada sem retirá-la da folha, para evitar a dessecação. As pupas foram mantidas em tubos de vidro de 8 x 1 cm de diâmetro, contendo um pequeno pedaço de papel de filtro umedecido para manter a folha

túrgida e tampado com filme plástico de PVC (Magipack®). Os tubos foram mantidos na vertical, em grades de metal, no interior de câmara climatizada regulada a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $65 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. Diariamente, foi observada a emergência dos adultos, e em seguida, feita a separação por sexo de acordo com Jacas & Garrido (1996).

Delineamento Experimental e Análise Estatística. O experimento de horário de oviposição de *P. citrella* foi conduzido em blocos ao acaso com quatro repetições, sendo os valores em porcentagem transformados em log (X+5) e posteriormente submetidos à análise de variância, com as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Os resultados do experimento de ritmo diário de emergência foram avaliados pelo teste de qui-quadrado, para verificar se havia sincronia na emergência de machos e fêmeas de *P. citrella*.

Resultados e Discussão

Horário de Oviposição. No ensaio preliminar, *P. citrella* colocou cerca de 98,8% dos ovos das 20:00h às 8:00h, correspondendo a todo o período da escotofase mais as duas primeiras horas da fotofase. A partir daí, a taxa de oviposição foi drasticamente reduzida, representando 1,2% do total colocado nas 24h estudadas. Uma vez definida a faixa de horário de postura para *P. citrella*, demonstrou-se, no ensaio definitivo, que cerca de 95,4% dos ovos foram colocados durante a escotofase, sendo que $45,5 \pm 1,1\%$ foram concentrados no período das 20:00h às 22:00h, diferindo estatisticamente dos demais horários (Fig. 1). Desse modo, ficou evidente o hábito crepuscular e noturno na oviposição de *P. citrella* com predominância dessa atividade nas duas primeiras horas da escotofase. De acordo com Pandey & Pandey (1964), Badawy (1967) e Heppner (1993), *P. citrella* oviposita no crepúsculo e durante a noite. Entretanto, os autores não quantificaram os resultados por horário, como realizado na presente pesquisa.

Na maioria dos lepidópteros, a luz tem grande influência sobre o comportamento reprodutivo e sexual, e a diminuição na intensidade de luz durante o entardecer estimula essas atividades para muitas espécies (Meyer 1969). Em *P. citrella*, a presença de luz nitidamente inibiu a oviposição, demonstrando que o inseto é sensível a esse estímulo. Além da ausência de luz, a oviposição de *P. citrella* aparentemente é estimulada pela presença de folhas novas de citros, uma vez que não se notaram posturas em folhas maduras (Hutson & Pinto 1934, Pandey & Pandey 1964, Badawy 1967). Chagas & Parra (2000) demonstraram que cerca de 93,6% dos ovos foram depositados em folhas novas de até 3 cm, especialmente na superfície abaxial (81,5%) e junto à nervura central (72,8%).

Ritmo Diário de Emergência. Houve sincronismo na emergência de machos e fêmeas de *P. citrella*, não sendo observada diferença significativa para ambos os sexos durante os quatro dias de emergência ($X^2_3 = 1,05$) (Fig. 2). Este resultado indica não haver protandria (machos emergirem antes das fêmeas) nessa espécie. A proporção macho:fêmea

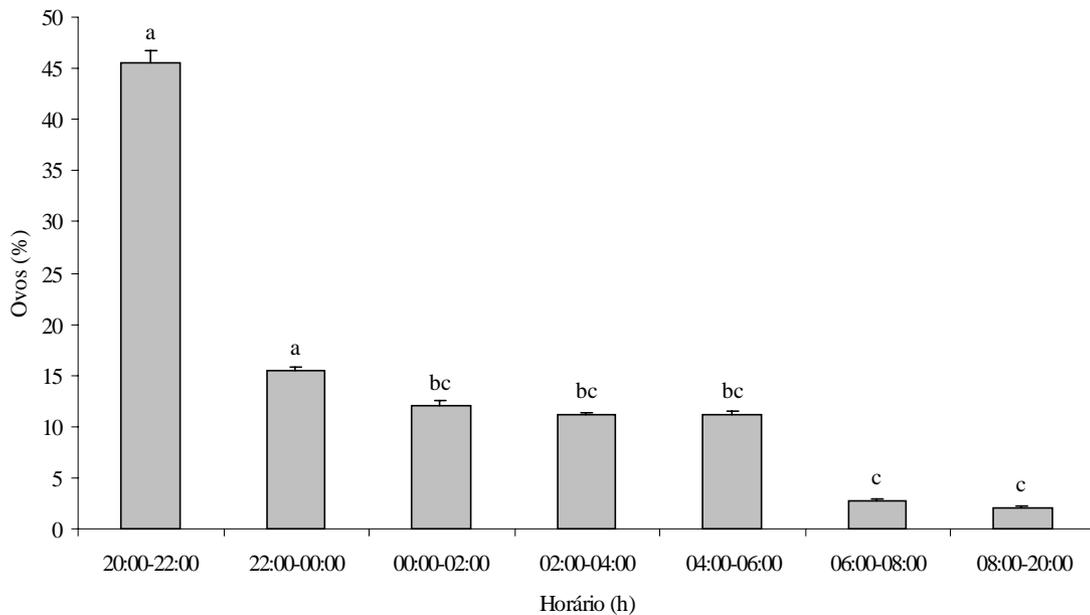


Figura 1. Porcentagem média (\pm E.P.) de ovos colocados por *P. citrella* em função do horário. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $65 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. Médias transformadas em $\log(X+5)$.

foi de 1:1, sendo, portanto, a razão sexual de 0,5, tal como constatado por Huang *et al.* (1989) e Raga *et al.* (1998). Em relação ao dia de emergência, todos os adultos nasceram no período compreendido entre um e quatro dias, sendo que mais de 85% dos machos e fêmeas nasceram entre o 2º e o 3º dia após o início da emergência (Fig. 2).

A técnica desenvolvida neste trabalho, para a individualização das pupas de *P. citrella*, mostrou-se adequada para o manuseio do inseto, pois garantiu a separação por idade e sexo, e impediu que houvesse fugas e

esmagamentos, fatores que poderiam mascarar os resultados. Essa técnica pode ainda ser apropriada para futuros trabalhos visando a obtenção de insetos virgens para estudos com feromônio sexual e observações mais detalhadas da biologia e interação com inimigos naturais.

Não foi observada protandria em *P. citrella*, havendo sincronismo de machos e fêmeas durante a emergência. Para alguns lepidópteros a emergência de machos dias antes das fêmeas pode conferir uma vantagem adaptativa para o sucesso no acasalamento, especialmente quando os machos competem

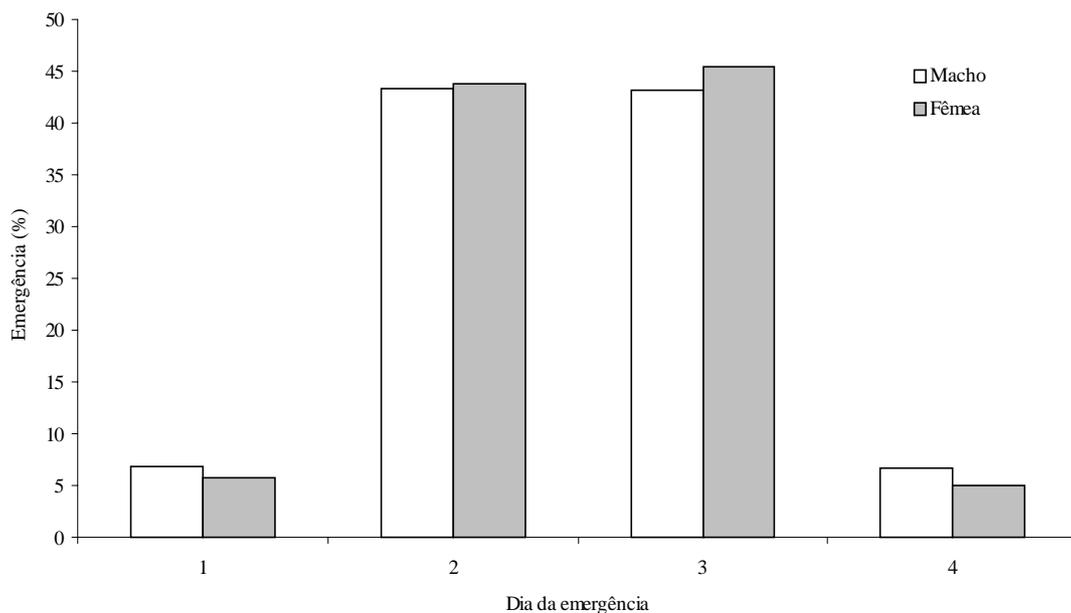


Figura 2. Ritmo de emergência de machos e fêmeas de *P. citrella*. Temperatura $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $65 \pm 10\%$ e fotofase de 14h.

pelas fêmeas (Zonneveld 1997, Carvalho *et al.* 1998); muito embora nem sempre exista essa vantagem, que varia de espécie para espécie (Baughman 1991). O estudo de sincronia na emergência de machos e fêmeas pode ser importante, especialmente visando ao uso de feromônio sexual, num programa de monitoramento, já que para insetos que apresentam protandria a captura inicial de machos pode ser muito grande, superestimando a população da praga na área, e de forma análoga, dependendo da época, esta população pode ser subestimada (Stockel & Peypelut 1984).

Agradecimentos

A Rita de Cássia R.G. Gervásio, ESALQ/USP, pelo auxílio nas análises estatísticas. Ao Prof. Dr. José Roberto P. Parra, ESALQ/USP, pela revisão crítica deste trabalho. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela bolsa de pesquisa para o primeiro autor. Ao Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus), pelo suporte financeiro e apoio logístico.

Literatura Citada

- Argov, Y. & Y. Rössler. 1996.** Introduction, release and recovery of several exotic natural enemies for biological control of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Israel. *Phytoparasitica* 24: 33-38.
- Badawy, A. 1967.** The morphology and biology of *Phyllocnistis citrella* Stainton, a citrus leaf-miner in the Sudan. *Bull. Soc. Entomol. Egypt* 51: 95-103.
- Baughman, J.F. 1991.** Do protandrous males have increased mating success? The case of *Euphydryas editha*. *Am. Nat.* 138: 536-542.
- Carvalho, M.C., P.C.D. Queiroz, A. Ruzszyk. 1998.** Protandry and female size-fecundity variation in the tropical butterfly *Brassolis sophorae*. *Oecologia* 116: 98-102.
- Chagas, M.C.M. & J.R.P. Parra. 2000.** *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): técnica de criação e biologia em diferentes temperaturas. *An. Soc. Entomol. Brasil* 29: 227-235.
- Heppner, J.B. 1993.** Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Florida (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae). *Trop. Lepid.* 4: 49-64.
- Huang, M.L., Y.S. Lu, Z.S. Qiu, Q.M. Zhou, Y.J. Men, S.G. Lin. 1989.** Life history of *Phyllocnistis citrella* Stainton, and its occurrence. *Acta Phytophylactica Sin.* 16: 159-162.
- Hutson, J.C. & M.P.D. Pinto. 1934.** Two caterpillar pests of citrus. *Trop. Agric.* 83: 188-193.
- Jacas, J.A. & A. Garrido. 1996.** Differences in the morphology of male and female of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Fla. Entomol.* 79: 603-606.
- Meyer, D. 1969.** Der Einfluss von Licht und Temperaturschwankungen auf Verhalten und Fekundität des Lärchenwicklers *Zeiraphera diniana* (Gn.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Rev. Suisse Zool.* 76: 93-141.
- Pandey, N.D. & Y.D. Pandey. 1964.** Bionomics of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Indian J. Entomol.* 26: 417-426.
- Peña, J.E. & R. Duncan. 1993.** Control of citrus leafminer in Florida. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* p. 47-51.
- Prates, H.S., O. Nakano, S. Gravena. 1996.** A "minadora das folhas de citros" *Phyllocnistis citrella*, Stainton, 1856. Campinas: CATI, 3p. (Comunicado Técnico, 129).
- Pruvost, O., C. Vernière, J. Hartung, T.R. Gottwald, H. Quetelard. 1997.** Towards an improvement of citrus canker control in Reunion Island. *Fruits* 52: 375-382.
- Raga, A., L. C. Ceravolo, M. F. D. Souza Filho, S. Montes, A. C. Rossi, M. E. Sato, M. F. De Souza Filho. 1998.** Efeitos de inseticidas sobre *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep.: Gracillariidae) em laranja Pera (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Rev. Agric.* 73: 142-151.
- Stockel, J. & L. Peypelut. 1984.** Importance of protandry in effectiveness of using pheromone traps to estimate the numerical importance of males of the European cornborer *Ostrinia nubilalis* (Lep Pyralidae). *Oecol. Appl.* 5: 235-243.
- Zonneveld, C. 1997.** Being big or emerging early? Polyandry and the trade-off between size and emergence in male butterflies. *Am. Nat.* 149: 946-965.

Received 17/12/01. Accepted 30/05/02.