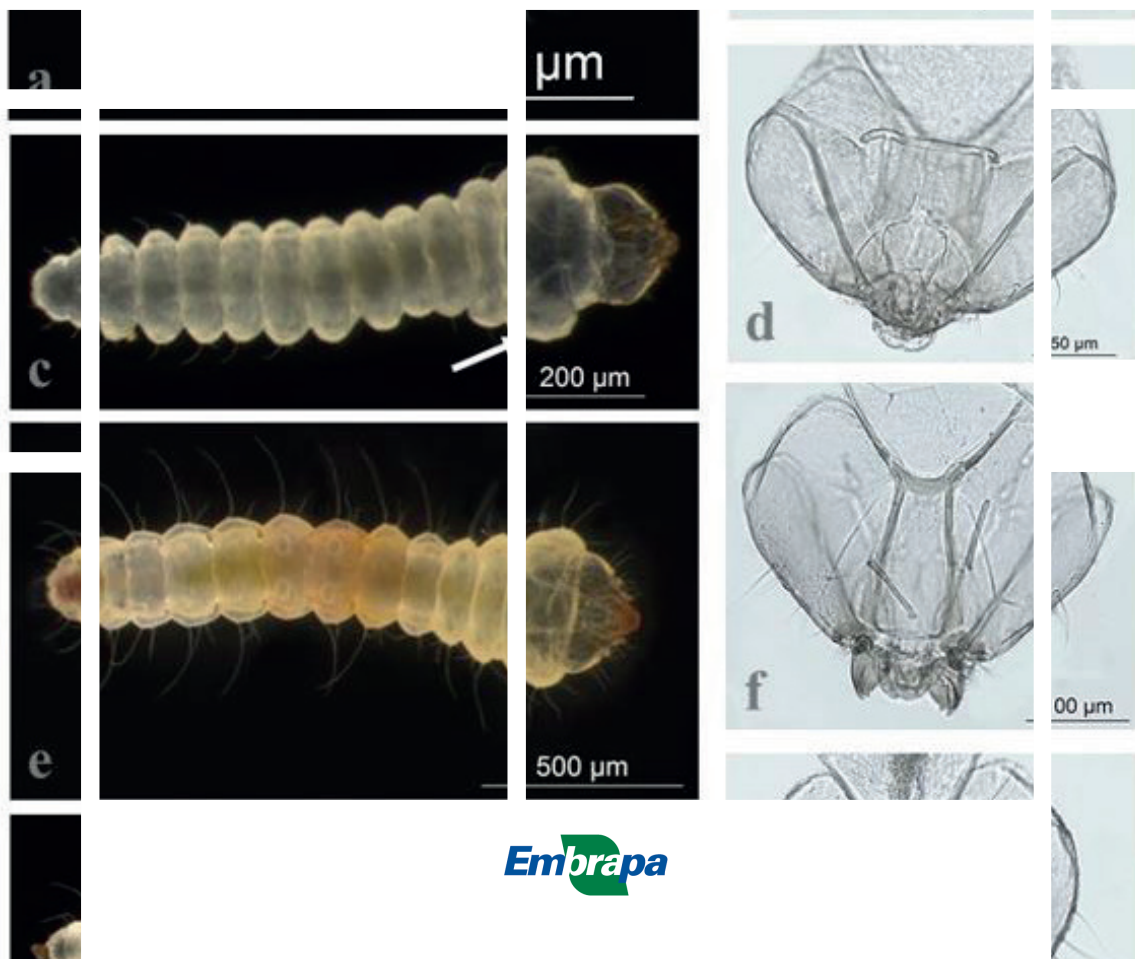


Caracterização morfológica dos instares larvais e das genitálias masculina e feminina do bicho-mineiro do cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae)



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
368**

**Caracterização morfológica dos instares
larvais e das genitálias masculina e
feminina do bicho-mineiro do cafeeiro,
Leucoptera coffeella (Guérin-Mèneville
& Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae)**

*Juliana Dantas de Almeida
Isabela de Oliveira Motta
Leonardo de Amorim Vidal
João Felix Bílio
José Roberto Pujol-Luz
Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Parque Estação Biológica
PqEB, Av. W5 Norte (final)
70970-717 , Brasília, DF
Fone: +55 (61) 3448-4700
Fax: +55 (61) 3340-3624
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Wagner Alexandre Lucena

Secretária-Executiva
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Membros
Bruno Machado Teles Walter; Daniela Aguiar de Souza; Eudes de Arruda Carvalho; Luiz Joaquim Castelo Branco Carvalho; Marcos Aparecido Gimenes; Solange Carvalho Barrios Roveri Jose; Márcio Martinello Sanches; Sérgio Eustáquio de Noronha

Supervisão editorial
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Revisão de texto
Juliana Dantas de Almeida

Normalização bibliográfica
Ana Flávia do N. Dias Côrtes - (CRB-1999)

Tratamento das ilustrações
Adilson Werneck

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Adilson Werneck

Foto da capa
Isabela Oliveira Motta

1ª edição
1ª impressão (ano): tiragem

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Caracterização morfológica dos instares larvais e das genitálias masculina e feminina do bicho-mineiro do cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae) / Juliana Dantas de Almeida [et al.] ... – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2020.

28 p. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 368).

ISSN: 0102-0110

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader Modo de Acesso: World Wide Web

1. Praga. 2. Café. 3. Larva. I. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. IX. Série..

632.96 – CDD 21

Ana Flávia do N. Dias Côrtes(CRB-1999)

© Embrapa, 2020

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	7
Material e Métodos	10
Resultados e Discussão	12
Conclusão.....	20
Agradecimentos.....	21
Referência Bibliográfica.....	21

Caracterização morfológica dos instares larvais e das genitálias masculina e feminina do bicho-mineiro do cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae)

Juliana Dantas de Almeida¹

Isabela de Oliveira Motta²

Leonardo de Amorim Vidal³

João Felix Bílio⁴

José Roberto Pujol-Luz⁵

Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire⁶

Resumo – O bicho-mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella* Guérin-Mèneville & Perrottet) é uma praga-chave nos países produtores de café. Durante o seu desenvolvimento, as larvas se alimentam do parênquima paliçádico das folhas formando minas e causando necrose no tecido. Dessa forma, diminuem a área fotossintética da planta e, conseqüentemente, afetam a produção do cafeeiro. Apesar do sério dano causado, a caracterização dos instares larvais e da genitália dos adultos carece de detalhamento. Esses conhecimentos são importantes para diferentes estudos com este inseto praga, principalmente aqueles orientados a desenvolver métodos de controle. Este trabalho apresenta pela primeira vez as medidas da cápsula cefálica e o detalhamento morfológico dos quatro instares larvais, assim como a morfologia das genitálias de machos e fêmeas. A média da cápsula cefálica do 1º instar foi $0,14 \pm 0,03$, 2º instar $0,25 \pm 0,04$, 3º instar $0,32 \pm 0,03$ e 4º instar $0,42 \pm 0,03$ (Média \pm DP). As características larvais analisadas foram cerdas primárias, falsas pernas (“*prolegs*”), colchetes e linha ecdisial

¹ Bióloga, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

² Bióloga, mestre em Zoologia, bolsista Consorcio Café, Brasília, DF.

³ Graduando em Agronomia, estudante na Universidade de Brasília, Brasília, DF.

⁴ Graduando em agronomia, estudante na Universidade de Brasília, Brasília, DF.

⁵ Biólogo, doutor em Zoologia, Professor titular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, Brasília, DF.

⁶ Bióloga, doutora em Biologia Celular e Molecular, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

da cápsula cefálica. As estruturas encontradas da genitália masculina foram bulbo ejaculatório, coremata, valva, anelo, *gnatho* e edeago, e na genitália feminina foram ovíscapo, esclerito e corpo da bursa.

Termos para indexação: Bicho-mineiro do cafeeiro, instares larvais, genitália feminina, genitália masculina.

Morphological characterization of larval instars and male and female genitalia of coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae)

Abstract – The coffee leaf miner (*Leucoptera coffeella* Guérin-Mèneville & Perrottet) is a key pest in coffee-producing countries. During their development, the larvae feed on the parenchyma of the leaves forming mines. Thus, they reduce the photosynthetic area of the plant and, consequently, affect coffee production. Despite the serious damage caused, there is poor information regarding larval instars and adult genitalia, knowledge that may be important for pest control methods. This work presented for the first time the measurements of the cephalic capsule, the morphological detailing of the four larval instars, and the morphology of the genitalia of males and females. The mean of the cephalic capsule at the 1st instar was 0.14 ± 0.03 , 2nd instar 0.25 ± 0.04 , 3rd instar 0.32 ± 0.03 and 4th instar 0.42 ± 0.03 (Mean \pm SD). The larval features analyzed were primary bristles, prolegs, brackets and ecdysial line of the cephalic capsule. The structures described on the male genitalia were bulbus ejaculatorius, coremata, valva, anellus, gnathos and aedeagus, and in the female genitalia were ovíscapo, sclerite and corpus bursae.

Index terms: Mango, mango seed weevil kairomones, organoleptic.

Introdução

Anualmente, mais de 160 milhões de sacas de café são consumidos em todos os continentes. (Conselho..., 2019). Entretanto, o café ainda enfrenta a ameaça do bicho-mineiro do cafeeiro (BMC) *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville; Perrottet, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae), uma importante praga que impacta severamente a produção da planta e a qualidade do grão de café (Gallo et al., 1988).

A ocorrência dessa mariposa é preponderantemente neotropical (Mey, 1994; Pereira et al., 2007). O bicho-mineiro do cafeeiro (BMC) foi descrito pela primeira vez nas Antilhas em 1842 por Guérin-Méneville e Perrottet. O seu impacto na produção do café despertou um forte interesse em sua distribuição geográfica, ciclo de vida e morfologia. No Brasil, maior produtor mundial de café, essa praga é encontrada em todas as regiões produtoras (Parra et al., 1981; Pantoja-Gomez et al., 2019) (Fig 1).

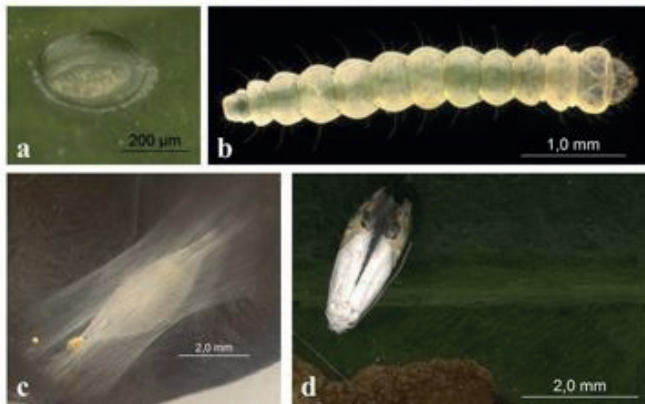


Autor: Isabela Oliveira Motta

Fig 1 Estados do Brasil com a incidência de *Leucoptera coffeella*. Rondônia (RO), Mato Grosso (MT), Pará (PA), Goiás (GO), Distrito Federal (DF), Bahia (BA), Minas Gerais (MG), Espírito Santo (ES), São Paulo (SP), Rio de Janeiro (RJ), Paraná (PR), Santa Catarina (SC).

O BMC é uma praga monófaga (Reis; Souza, 1986) que se alimenta exclusivamente de folhas de cafeeiro, comprometendo seriamente a saúde da planta. Em média, o BMC causa queda na produtividade de 50% (Reis; Souza, 1996). Em casos mais agudos, pode comprometer quase a totalidade da produção (Medina Filho et al., 1977).

O ciclo de vida do BMC é holometabólico pois inclui os estádios de ovo, larva, pupa e adulto na sua forma alada (Box, 1923) (Fig 2).



Autor: Isabela Oliveira Motta

Figura 2. Fases do ciclo de vida de *Leucoptera coffeella*. **a** Fase de ovo. **b** Fase larval. **c** Fase de pupa. **d** Adulto.

As formas do desenvolvimento no ciclo de vida foram relatadas por Guérin-Mêneville e Perrottet em 1842. Neste trabalho, foi observado que a fase larval penetra no parênquima paliçádico das folhas, onde se alimenta formando minas. A descrição taxonômica das formas imaturas (larva e pupa) e dos demais estádios do BMC foi feita por Harold Box (1923) e neste trabalho a praga foi denominada *white coffee leaf miner* (bicho-mineiro branco do cafeeiro).

O principal sintoma do ataque do BMC consiste em manchas na folha que progridem da coloração verde-claro a marrom, conforme a larva se desenvolve e se desloca no sítio de alimentação (Fig 3). As lesões causadas pelas larvas provocam necroses foliares que diminuem a área fotossintetizante, podendo causar severa desfolha em genótipos de cafeeiro mais sensíveis, como *Coffea arabica* (Medina Filho et al., 1977; Ramiro et al., 2004).

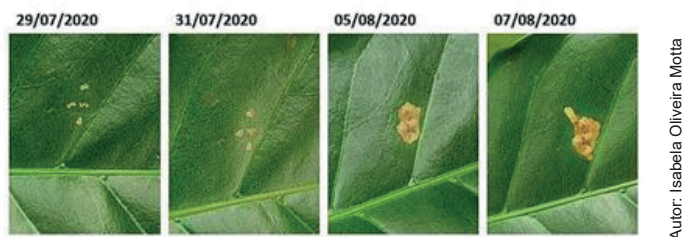


Figura 3. Progressão de minas formadas pelo bicho-mineiro do cafeeiro: a partir do ponto inicial da eclosão do ovo, as larvas se alimentam do parênquima paliçádico da folha, formando inicialmente túneis lineares verde-claros que vão se alargando ao longo dos dias, quando se tornam manchas amarronzadas.

O conhecimento das fases do ciclo de vida e a sexagem dos adultos são necessários para a realização de estudos para o combate de pragas. Ínstares larvais específicos foram utilizados em estudos de diferentes espécies de Lepidoptera, visando o controle biológico, o transcriptoma, o controle químico e a resistência de plantas às pragas (Wheatley; Crowe, 1964; Draganova; Tomov, 1998; Fragoso et al., 2002; Perthuis et al., 2005; Zhang et al., 2016; Meriño-Cabrera et al., 2018; Takeda et al., 2019). A sexagem dos adultos é utilizada em experimentos que visam taxa de mortalidade de fêmeas e machos, criação em laboratório, comportamento sexual e utilização de feromônios (Notley, 1948; Katiyar; Ferrer, 1968; Michereff et al., 2007; Malo et al., 2009). Embora exista dimorfismo sexual entre adultos de *L. coffeella* (Parra, 1985), não há informações disponíveis na literatura acerca das genitálias de macho e fêmea dessa espécie. Quanto aos instares larvais, Notley (1948) afirmou a presença de quatro instares em *L. coffeella* sem, contudo, fornecer detalhamento das características morfológicas das larvas de cada ínstar.

Apesar da importância econômica e abrangência geográfica do BMC, faltam estudos mais aprofundados sobre as características morfológicas das larvas e do dimorfismo sexual de *L. coffeella*. Neste trabalho, apresentamos um estudo detalhado sobre a morfologia das larvas para a identificação dos quatro instares larvais e descrição das genitálias de machos e fêmeas de *L. coffeella*. Esses resultados podem contribuir para a determinação de marcadores morfológicos e concepção de estratégia de controle do bicho-mineiro nas plantações de café no Brasil.

Material e Métodos

Coleta e Criação de Insetos: As coletas de *L. coffeella* foram realizadas na Embrapa Cerrados - Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (Distrito Federal, Brasil, 15°36'15,1"S, 47°42'44,4" W) e na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Distrito Federal, Brasil, 15°43'52,8 "S , 47°54'10,2 "W) entre maio e agosto de 2020. Folhas com minas e pupas foram coletadas diretamente da planta do café ou em folhas caídas no solo ao redor da planta, região conhecida como "saia". As folhas com larvas e pupas, foram levadas para o laboratório onde foram colocadas em gaiolas de criação até a emergência dos adultos (Fig 4). Uma solução de água com açúcar industrializado (16% p/v) foi oferecida *ad libitum* para alimentação dos adultos.



Autor: Isabela Oliveira Motta

Figura 4. Vista frontal-lateral da gaiola utilizada na criação dos adultos de BMC. Na parte frontal da gaiola há manga de tecido que auxilia no manuseio interno da gaiola, já na lateral há rede voil para circulação de ar.

Caracterização das larvas: Para examinar as larvas e determinar o número de ínstars, as minas das folhas infestadas foram abertas com a utilização de pinças e bisturis e observadas com um estereomicroscópio Leica EZ-4©. As medidas da largura da cápsula cefálica e do comprimento do corpo (excetuando a cabeça) foram feitas por meio de imagens capturadas

em um estereomicroscópio Leica M205C© e processadas com o software para morfometria e obtenção das imagens Leica LAS© V3.8. Foram medidas a largura da cápsula cefálica e o comprimento do corpo de 50 larvas em cada um dos quatro ínstares larvais. As características morfológicas larvais, associadas às medidas da cápsula cefálica, foram determinadas segundo (Nielsen; Common, 1991). A distinção dos estágios larvais levou em consideração as seguintes características morfológicas: (1) presença de cerdas primárias corporais no primeiro ínstar, (2) presença ou ausência de falsas pernas (“*prolegs*”) no terceiro ínstar (3) presença ou ausência de colchetes no quarto ínstar (4) presença ou ausência da linha ecdisial na sutura frontal do quarto ínstar. Para observação destas estruturas, as cápsulas cefálicas foram diafanizadas com KOH 10% aquecido por cerca de 2 minutos, e larvas foram diafanizadas com KOH 10% por cerca de 6 minutos e posteriormente lavados em água. As imagens foram feitas com microscópio Leica DM-2000© acoplado a câmera fotográfica e analisados com o software Leica LAS© V3.8.

Caracterização das genitálias: As genitálias masculina e feminina foram processadas por diafanização do abdômen com KOH 10% aquecido a 70° C, por cerca de cinco minutos. Posteriormente, foram lavados em água e dissecados em álcool 70%. As fotografias foram tiradas com microscopia de luz (ML) usando câmera Leica DFC295 montada em estereomicroscópio Leica M205C e microscópio Leica DM2000. Os espécimes foram medidos (mm) com o software Leica LAS-V3.8 (Motta; Pujol-Luz, 2020; Schmitt et al., 1996).

Terminologia: A terminologia proposta por Nielsen; Common (1991) foi adotada para descrição da morfologia externa dos imaturos; a de Box (1923) para a morfologia externa de adultos; e a de Bradley; Carter (1982), Mey (1994) e Solis; Metz (2016) para genitália masculina. A terminologia proposta por Schmitt et al. (1996) e (Matthews; Miller, 2010) foram usadas para a genitália feminina.

Resultados e Discussão

Leucoptera coffeella pertence à família Lyonetiidae a qual é constituída por 204 espécies de lepidópteros distribuídas em 32 gêneros (Zhang, 2011). O gênero *Leucoptera* Hübner reúne espécies minadoras que causam danos econômicos em todo o mundo (Seven, 2006; Magalhães et al., 2010). As espécies mais estudadas são *Leucoptera malifoliella* por seu impacto econômico em plantações de maçã (Mey, 1994; Draganova; Tomov, 1998; Wu et al., 2012) e *Leucoptera spartifoliella* por ter sido utilizada como agente de controle biológico contra a planta daninha *Cytisus scoparius* (Memmott et al., 2000).

A determinação dos instares larvais de Lepidoptera pode se dar pelas medidas da cápsula cefálica (Dyar, 1890; Ecolé et al., 1999). Além disso, os instares podem apresentar características morfológicas distintas entre si (Nielsen; Common, 1991). Em Navarro-Gutiérrez; Gallardo-Covas (2009), os instares de *L. coffeella* foram determinados a partir do dia em que a mina surgiu, dessa forma, a uma temperatura média de 27°C, o instar 1 se daria com 3 dias, instar 2 com 7 dias, instar 3 com 11 dias e instar 4 com 13 dias. Contudo, a quantidade de dias pode variar de acordo com a temperatura e umidade, visto que em climas secos com temperaturas mais altas, o ciclo de vida do BMC é mais curto, quando comparado à temperaturas mais baixas com maior umidade (Wolcott, 1947; Notley, 1948; Costa et al., 2012).

Trabalhos que visavam o controle de *L. coffeella* com inseticidas utilizaram larvas do terceiro instar (Fragoso et al., 2002; Fragoso et al., 2003). Meriño-Cabrera et al. (2018) fizeram estudo com defesa de plantas como alternativa de controle do BMC, utilizando larvas do quarto instar. Apesar desta espécie possuir quatro instares larvais (Notley, 1948), maiores detalhes sobre a morfologia de cada umas das fases permanecem desconhecidos. Nesse trabalho características morfológicas e quetotaxia da cabeça e do tórax, foram utilizadas como marcadores morfológicos para identificar os quatro instares larvais de *L. coffeella*.

Formas imaturas: 1º instar larval (Figura 5a, b). Variação da cápsula cefálica 0,09–0,21 mm e variação do comprimento corporal 0,43–

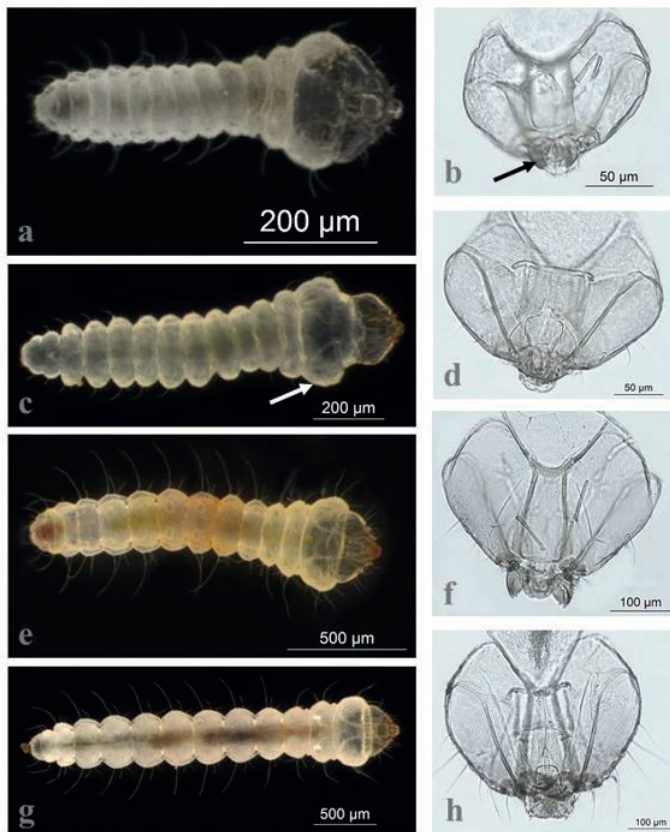
1,16 mm. Corpo com coloração esbranquiçada translúcida, cápsula cefálica amarela pálida com aparelho bucal do tipo mastigador definido (Figura 5b), setas primárias na lateral do corpo (Figura 6a) e sem falsas pernas. **2º instar larval** (Figura 5c, d). Variação da cápsula cefálica 0,19–0,32 mm e variação do comprimento corporal 0,71–1,70 mm. Corpo com coloração amarela pálida, primeiro segmento corporal mais largo do que a cápsula cefálica, setas corporais mais longas que no primeiro instar e sem falsas pernas. Aparelho bucal mastigador com pequenos espinhos (Figura 6b). **3º instar larval** (Figura 5e, f). Variação da cápsula cefálica 0,27–0,44 mm e variação do comprimento corporal 1,39–2,38 mm. Corpo e cápsula cefálica com coloração amarelada, setas corporais longas, presença de falsas pernas sem colchetes definidos (Figura 6c). **4º instar larval** (Fig 5g, h). Variação da cápsula cefálica 0,35–0,54 mm e variação do comprimento corporal 2,54–4,71 mm. Corpo com coloração amarelada, *prolegs* com colchetes em formato de círculo unicordinal (Figura 6d, e) e cápsula cefálica com linha ecdisial acima da sutura adfrontal (Figura 6f).

A morfometria das formas imaturas foi feita com base na largura da cápsula cefálica. A cabeça cresce em progressão geométrica e a largura aumenta em uma razão constante, mostrando que existe variação de tamanho da cabeça na mudança dos ínstaes larvais como demonstrado por Dyar (1890), Bigger (1969), Ecolé et al. (1999), Delbac et al. (2010). A largura média da cápsula cefálica e comprimento corporal dos diferentes ínstaes encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Médias da variação das medidas da cápsula cefálica e comprimento corporal nos 4 ínstaes de *Leucoptera coffeella*.

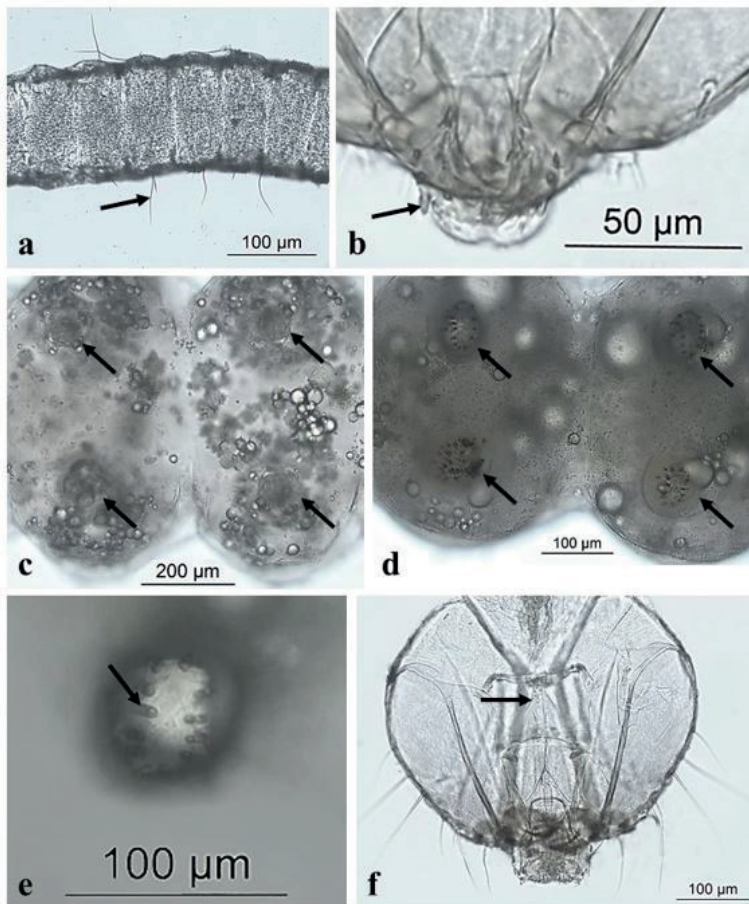
Ínstar Larval	N*	Largura da cápsula cefálica (mm)		Comprimento corporal (mm)	
		Variação	Média ± DP	Variação	Média ± DP
1º	50	0,09 - 0,21	0,14±0,03	0,43 - 1,16	0,64±0,15
2º	50	0,19 - 0,32	0,25±0,04	0,71 - 1,70	1,22±0,23
3º	50	0,27 - 0,44	0,32±0,03	1,39 - 2,83	2,06±0,37
4º	50	0,35 - 0,54	0,42±0,03	2,54 - 4,71	3,60±0,63

*Número de espécimes analisados de cada instar larval.



Autor: Isabela Oliveira Motta

Figura 5. Imaturos de *Leucoptera coffeella*. **a** Larva do primeiro ínstar. **b** Cápsula cefálica do primeiro ínstar larval. Seta indica aparelho mastigador. **c** Larva do segundo ínstar. Seta indica primeiro segmento corporal. **d** Cápsula cefálica do segundo ínstar larval. **e** Larva do terceiro ínstar. **f** Cápsula cefálica do terceiro ínstar larval. **g** Larva do quarto ínstar. **h** Cápsula cefálica do quarto ínstar larval.



Autor: Isabela Oliveira Motta

Figura 6. Características morfológicas externas das larvas do bicho-mineiro do cafeeiro. **a** Vista dorsal do corpo de larva do primeiro ínstar larval. Seta indica seta primária. **b** Aparelho mastigador do segundo ínstar larval. Seta indica espinho. **c** Vista ventral do terceiro ínstar larval. Setas indicam falsas pernas sem formação de colchetes. **d** Vista ventral do quarto ínstar larval. Setas indicam falsas pernas com colchetes. **e** Vista ventral de colchetes em formato de círculo uniordinal de larva do quarto ínstar. Seta indica colchete. **f** Cápsula cefálica do quarto ínstar larval. Seta indica linha ecdisial.

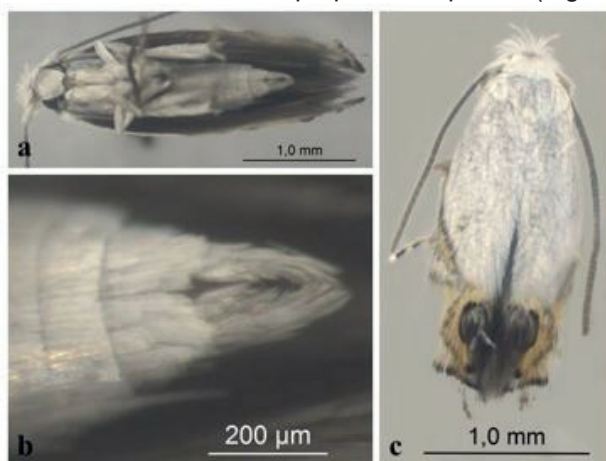
Além da caracterização morfológica dos estádios larvais apresentamos um estudo detalhado da genitália de machos e fêmeas. Em estudos sobre comportamento sexual, taxa de mortalidade de machos e fêmeas e utilização de feromônios para controle de *L. coffeella*, os adultos foram sexados (Notley,

1948; Katiyar; Ferrer, 1968; Michereff et al., 2007; Malo et al., 2009). Contudo, a metodologia de sexagem de machos e fêmeas não foi esclarecida. Alves et al. (2006) apresentou pela primeira vez a estrutura do sistema reprodutivo de machos de *L. coffeella*, contudo não incluiu informações a respeito da morfologia da genitália masculina. Assim apresentamos aqui a morfologia da genitália de machos e fêmeas dessa espécie, que ainda não era conhecida.

Observamos que as genitálias masculina e feminina de *L. coffeella* apresentam elementos recorrentes nas demais espécies de Lyonetiidae (Bradley; Carter, 1982; (Mey, 1994) (Figura 11). Quando comparada com *L. malifoliella*, as estruturas da genitália de machos em comum são o anelo, bulbo ejaculatório e edeago. Em *L. coffeella* foram observados tergito 8 com coremata setosa, esternito 8 bilobado, valva bipartida e setosa e *gnathos* alongados, formando dois braços finos. Já em *L. malifoliella* foram observados lóbulos pleurais, vinculum, pedúnculo, placa subanal, tuba anal e essa espécie não possui valva. As estruturas que foram identificadas na genitália feminina de *L. coffeella* são ovipositor bilobado, esclerito em formato cônico e corpo da bursa ovalado e com pequenos espinhos. Em Mey (1994) foi apresentada a estrutura geral da genitália de espécies de *Leucoptera* e nesta identificou o corpo da bursa. A estrutura do esclerito foi identificada em (Schmitt et al., 1996) na espécie *Lyonetia prunifoliella*, pertencente à família Lyonetiidae. Essa estrutura genital feminina foi caracterizada com um formato cruciforme em “T”, já em *L. coffeella* o esclerito apresenta um formato cônico (Figura 12).

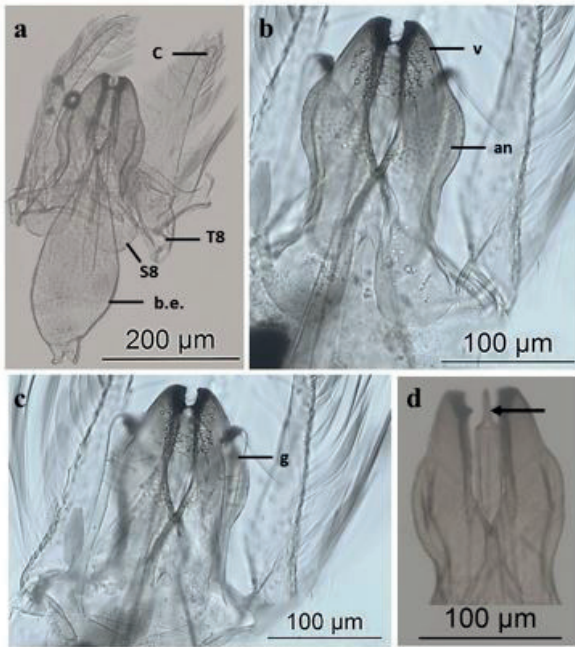
Imagos. Macho (Figura 7a). Comprimento corporal médio de 2 mm e envergadura média de 6,5 mm. **Cabeça**. Escamas brancas no ápice dorsal. Base da antena branca, com comprimento amarronzado. **Tórax**. Revestido por escamas brancas. **Pernas**. Longas escamas brancas. **Asas**. Longas e finas, com dois pontos pretos arredondados envolvidos por escamas amareladas. Ápice das asas com fileira de escamas preta, alargado lateralmente e com formato de “V” voltado para região posterior do corpo (Figura 7c). **Abdômen**. Tergitos com coloração branca. Em vista ventral, último segmento bipartido (Figura 7b) **Genitália masculina**. Tergito 8 com coremata, formando par de membros alongados com setas no ápice (Figura 8a). Esternito 8 bilobado, antepondo bulbo ejaculatório ovalado (Figura 8a). Valva bipartida, setosa e com pequenos dentes na região interna do ápice (Figura 8b). Anelo fundido medialmente e bipartido no ápice, recobrimdo a valva (Figura 8b). *Gnatho*

alongado, formando um par finos de braços (Figura 8c). Edeago curto, cilíndrico e esguio no ápice (Figura 8d). **Fêmeas** (Figura 9a). Similar ao macho, exceto: comprimento corporal médio de 2,25 mm e envergadura média de 5,75 mm. Ápice das asas mais estreito e com formato de “C” voltado para região anterior do corpo (Figura 9c). Em vista ventral, último segmento com formato tubular (Figura 9b). **Genitália feminina**. Ovipositor bilobado com longas cerdas apicais (Figura 10a). Esclerito do ducto da bursa afunilado apicalmente e alargado na região anterior; extremidades da região anterior são afinadas e com formato côncavo voltado para o ápice (Figura 10b). Corpo da bursa membranoso ovalado com pequenos espinhos (Figura 10c).



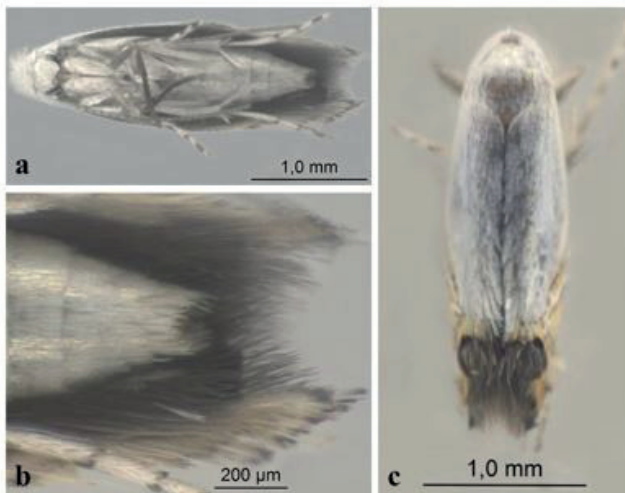
Autor: Isabela Oliveira Motta

Figura 7. Macho adulto. **a** Macho vista ventral. Coloração das escamas corporais brancas. **b** Ápice do abdômen masculino vista ventral. **c** Macho vista dorsal. Ápice da asa com pontos pretos rodeados por escamas amarelas, com formato em “V” voltado para região posterior do corpo.



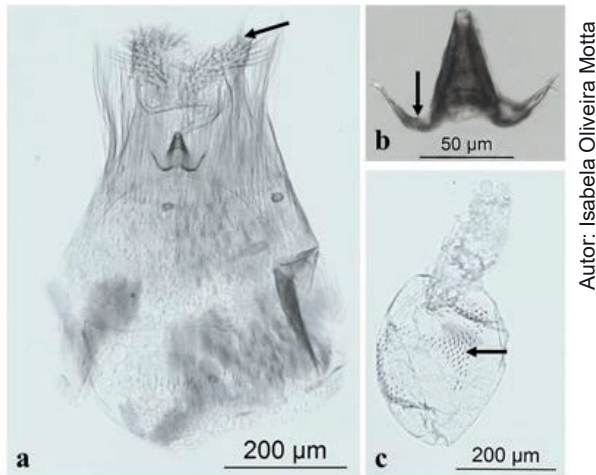
Autor: Isabela Oliveira Motta

Figura 8. Genitália masculina. **a** Tergito 8, coremata, esternito 8 e bulbo ejaculatório vista ventral. **b** Valva e anelo vista ventral. **c** *Gnatho* vista ventral. **d** Edeago vista dorsal. Seta indica ápice do edeago. C = coremata, T8 = tergito 8, S8 = esternito 8, b.e. = bulbo ejaculatório, v = valva, an = anelo, g = *gnatho*.



Autor: Isabela Oliveira Motta

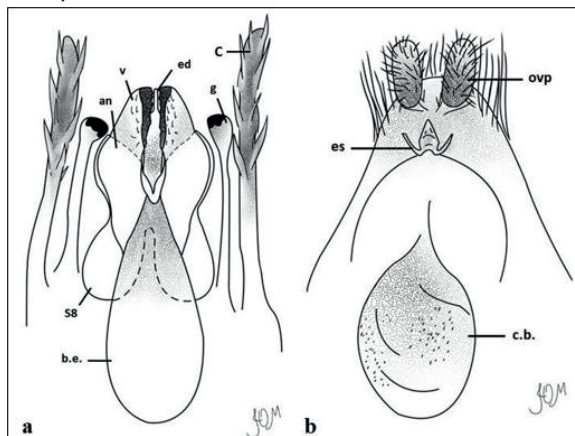
Figura 9. Fêmea adulta. **a** Fêmea vista ventral. **b** Ápice do abdômen feminino vista ventral. **c** Fêmea vista dorsal. Comprimento corporal mais estreito quando comparado à machos, ápice do abdômen com formato de “C” voltado para região anterior do corpo.



Autor: Isabela Oliveira Motta

Figura 10. Genitália feminina. **a** Oviscapo vista ventral. Seta indica lobo do ovipositor. **b** Esclerito vista ventral. Seta indica extremidade côncava do esclerito. **c** Corpo da bursa vista ventral. Seta indica espinhos.

O Brasil é o maior produtor mundial de café cujas safras são afetadas todos os anos pela praga chave dos cafezais no país, a *L. coffeella* (Medina Filho et al., 1977; Vieira et al., 2006; Consórcio..., 2020). Apesar dos sérios danos causados, o controle da praga demanda novos produtos mais eficazes e menos tóxicos. Assim, esse trabalho visou complementar e divulgar conhecimentos mais aprofundados a respeito da biologia desse microlepidoptero que possam auxiliar no desenvolvimento de soluções de controle no campo.



Autor: Isabela Oliveira Motta

Figura 11. Genitálias masculina e feminina de *Leucoptera coffeella*. **a** Genitália de macho vista

dorsal. **b** Genitália de fêmea vista ventral. an = anelo, b.e. = bulbo ejaculatório, c.b. = corpo da bursa, ed = eedeago, es = esclerito, g = *gnatho*, ovp = ovipositor, S8 = esternito 8, C = coremata, v = valva.

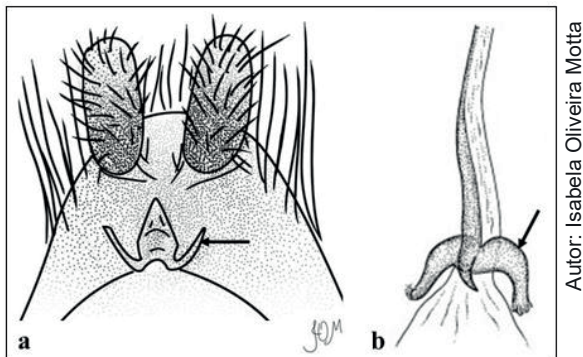


Figura 12. Esclerito de espécies da família Lyonetiidae. **a** Esclerito com formato cônico de *Leucoptera coffeella*. Seta indica esclerito. **b** Esclerito com formato cruciforme de *Lyonetia prunifoliella* (mod. Schmitt et al., 1996). Seta indica esclerito.

Com a descrição das genitálias, pudemos comparar as estruturas observadas com as descritas para outros lepidópteros. Assim, foi possível elaborar um roteiro do comportamento do inseto no momento da cópula. O macho pode utilizar o *gnatho* para fixação no ovipositor feminino e a valva para as funções mecânica e sensorial. O macho utiliza então o eedeago para a inseminação da fêmea, que ocorre pela passagem dos espermatozoides do bulbo ejaculatório para o esclerito. A fecundação ocorre nas estruturas internas do aparelho genital, dentre elas o *corpus bursae* (Powell; Opler, 2009; Cordero; Baixeras, 2015).

Conclusão

1. O BMC possui 4 instares larvais. O 1º apresenta cápsula cefálica de 0,14 mm, e setas primárias na lateral. O 2º apresenta cápsula cefálica de 0,25 mm e segundo segmento corporal mais largo que a cápsula cefálica, O 3º instar possui largura da cápsula cefálica de 0,32 mm e apresenta falsas pernas, o 4º instar possui largura média da cápsula cefálica de 0,42 mm, apresenta falsas pernas com colchetes definidos e linha ecdisial.

2. Os adultos de BMC apresentam dimorfismo sexual. Machos possuem o ápice das asas em formato de V e a genitália apresenta bulbo ejaculatório, coremata, valva, anelo, gnatho e edeago. A fêmea possui o ápice das asas em C e a genitália apresenta oviscarpo, esclerito e corpo da Bursa.

Agradecimentos

À Gabriela de Oliveira Motta pelo auxílio no desenho das genitálias de *Leucoptera coffeella*. À Fundação de Apoio à Pesquisa pela bolsa.

Referência Bibliográfica

ALVES, L.; MANCINI, K.; LINO-NETO, J.; DOLDER, H. Morphology of the male reproductive system and sperm ultrastructure of *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Acta Zoologica**, v. 87, n. 2, p. 131–139, 9 maio 2006.

BIGGER, M. Partial Resistance of Arabica Coffee to The Coffee Leaf Miner *Leucoptera Meyricki* Ghesq. (Lepidoptera, Lyonetiidae). **East African Agricultural and Forestry Journal**, v. 34, n. 4, p. 441–445, 1 abr. 1969.

BOX, H. E. The Bionomics of the White Coffee-leaf Miner, *Leucoptera coffeella*, Guér., in Kenya Colony. (Lepidoptera, Lyonetiidae.). **Bulletin of Entomological Research**, v. 14, n. 2, p. 133–145, 1923.

BRADLEY, J. D.; CARTER, D. J. A new Lyonetiid moth, a pest of winged-bean. **Systematic Entomology**, v. 7, n. 1, p. 1-9, jan., 1982.

CONSELHO NACIONAL DO CAFÉ. **Melhora nos preços pode fazer exportações de café crescerem ainda mais, dizem empresários - CNC - Conselho Nacional do Café**. Disponível em: <<http://www.cncafe.com.br/site/interna.php?id=15126>>. Acesso em: 30 nov. 2020.

CONSÓRCIO DE PESQUISA DO CAFÉ. **Exportações do café solúvel brasileiro atingem volume equivalente a 2,94 milhões de sacas de 60kg**

em nove meses. Disponível em: <<http://www.consorciopesquisacafe.com.br/index.php/imprensa/noticias/1018-2020-08-31-16-50-20>>. Acesso em: 21 out. 2020.

CORDERO, C.; BAIXERAS, J. Sexual Selection Within the Female Genitalia in Lepidoptera. In: PERETTI, A. V.; AISENBERG, A. (Eds.). **Cryptic Female Choice in Arthropods: patterns, mechanisms and prospects.** Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 325–350.

COSTA, J. N. M.; TEIXEIRA, C. A. D.; VIEIRA JUNIOR, J. R.; ROCHA, R. B.; FERNANDES, C. de F. **Informações para facilitar a identificação das diferentes fases do bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*) em campo.** Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2012. 4 p.

DELBAC, L.; LECHARPENTIER, P.; THIERY, D. Larval instars determination for the European Grapevine Moth (Lepidoptera: Tortricidae) based on the frequency distribution of head-capsule widths. **Crop Protection**, v. 29, n. 6, p. 623-630, jun. 2010.

DRAGANOVA, S. A.; TOMOV, R. I. Virulence of a strain *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hyphomycetes, Deuteromycotina) against larvae of *Leucoptera malifoliella* Costa (Lepidoptera, Lyonetiidae). **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 4, p. 435–439, 1998.

DYAR, H. G. The Number of Molts of Lepidopterous Larvae. **Psyche: A Journal of Entomology**, v. 5, n. 175–176, p. 420–422, 1 jan. 1890.

ECOLE, C. C.; ANJOS, N. dos; MICHEREFF FILHO, M. PIKANÇO, M. Determinação do número de instares larvais em *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 21, p. 331–335, 1999.

FRAGOSO, D. B.; JUSSELINO FILHO, P.; PALLINI FILHO, A.; BADJI, C. A. Ação de inseticidas organofosforados utilizados no controle de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) sobre o ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 3, p. 463–467, jul. 2002.

FRAGOSO, D. B.; GUEDES, R. N. C.; LADEIRA, J. A. Seleção na evolução de resistência a organofosforados em *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 2, p. 329–334, jun. 2003.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRANETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.;

VENDRAMIM, J. D. **Manual de entomologia agrícola**. 2. ed. Sao Paulo: Agronomica Ceres, 1988. 649 p.

GUÉRIN-MÉNEVILLE, F.; PERROTTET, S. **Mémoire sur un insect et um champignon qui ravagent les cafiers aux Antilles (1842)**. [s.l.]: Mme. Ve. Bouchard-Huzard, Imprimeur-Libraire, 1842.

KATIYAR, K. P.; FERRER, F. Rearing technique, biology and sterilization of the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* Guer. (Lepidoptera: Lyonetiidae). **International Atomic Energy Agency**, p. 165-175, 1968.

MAGALHÃES, S. T. V.; FERNANDES, F. L.; DEMUNER, A. J.; PICANÇO, M. C.; GUEDES, R. N. C. Leaf alkaloids, phenolics, and coffee resistance to the leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 4, p. 1438-1443, 1 ago. 2010.

MALO, E. A.; ROJAS, J. C.; LOPEZ-GUILLEN, G.; BARRERA, J. F. Chemical analysis of female volatiles and field response of the coffee leafminer moth (Lepidoptera: Lyonetiidae) to stereoisomers of its major sex pheromone component. **Florida Entomologist**, v. 92, n. 4, p. 548-553, dez. 2009.

MATTHEWS, D. L.; MILLER, J. Y. Notes on the Cacao Plume Moth in Honduras and description of the larvae and pupae (Lepidoptera: Pterophoridae). **Tropical Lepidoptera Research**, v. 20, p. 28-34, 1 jun. 2010.

MEDINA FILHO, H. P.; CARVALHO, A.; MÔNACO, L. C. Melhoria do cafeeiro: XXXVII - Observações sobre a resistência do cafeeiro ao bichomineiro. **Bragantia**, v. 36, n. 1, p. 131-137, 1977.

MEMMOTT, J.; FOWLER, S. V.; PAYNTER, Q.; SHEPPARD, A. W.; SYRETT, P. The invertebrate fauna on broom, *Cytisus scoparius*, in two native and two exotic habitats. **Acta Oecologica**, v. 21, n. 3, p. 213-222, 6 maio 2000.

MERIÑO-CABRERA, Y. ZANUNCIO, J. C.; SILVA, R. S. da; SOLIS-VARGAS, M.; CORDEIRO, G.; RAINHA, F. R.; CAMPOS, W. G.; PICANÇO, M. C.; ALMEIDA OLIVEIRA, M. G. de Biochemical response between insects and plants: an investigation of enzyme activity in the digestive system of *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) and leaves of *Coffea arabica* (Rubiaceae) after herbivory. **Annals of Applied Biology**, v. 172, n. 2, p. 236-243, 2018.

MEY, W. Taxonomische Bearbeitung der westpaläarktischen Arten der Gattung *Leucoptera* Hübner, '1825', s. 1. (Lepidoptera, Lyonetiidae) 'Taxonomic revision of the westpalaeartic species of the genus *Leucoptera* Hübner, "1825", s. 1. (Lepidoptera, Lyonetiidae)'. **Deutsche Entomologische Zeitschrift**, v. 41, n. 1, p. 173-234, 1994.

MICHEREFF, M. F. F.; MICHEREFF FILHO, M.; VILELA, E. F. Comportamento de acasalamento do bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 3, p. 376–382, jun. 2007.

MOTTA, I. DE O.; PUJOL-LUZ, J. R. Glyphidops (*Glyphidops*) *filosus* (Diptera: Neriidae) revisited, with special attention to the morphology of the male and female terminalia. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 60, p. e20206019–e20206019, 8 jun. 2020.

NAVARRO-GUTIÉRREZ, P.; GALLARDO-COVAS, F. Host Instar Preference of *Mirax Insularis* (Muesebeck) (Hymenoptera: Braconidae), a Koinobiont Parasitoid of *Leucoptera Coffeella* Guerin-Meneville (Lepidoptera: Lyonetiidae). **The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v. 93, n. 1-2, p. 139–142, 2009.

NIELSEN, E.; COMMON, I. **The insects of Australia: a textbook for students and research workers**. [s.l.]: Melbourne University Press, 1991. v. 2

NOTLEY, F. B. The *Leucoptera* leaf miners of coffee on Kilimanjaro. I.—*Leucoptera coffeella*, Guér. **Bulletin of Entomological Research**, v. 39, n. 3, p. 399–416, dez. 1948.

PANTOJA-GOMEZ, L. M.; CORRÊA, A. S.; DE OLIVEIRA, L. O.; GUEDES, R. N. C. Common Origin of Brazilian and Colombian Populations of the Neotropical Coffee Leaf Miner, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 2, p. 924-931, 21 mar. 2019.

PARRA, J. Biología comparada de *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) (Lepidoptera, Lyonetiidae) visando ao seu zoneamento ecológico no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 29, n. 1, p. 45–76, 1985.

PARRA, J.; GONÇALVES, W.; PRECETTI, A. Flutuação populacional de parasitos e predadores de *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) em três localidades do estado de São Paulo. **Turrialba**, v. 31, n. 4, p. 357–364, 1981.

PEREIRA, E. J. G.; PICANÇO, M. C.; BACCI, L.; DELLA LUCIA, T. M. C.; SILVA, E. M.; FERNANDES, F. L. Natural mortality factors of *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) on *Coffea arabica*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, n. 5, p. 441–455, 1 jun. 2007.

PERTHUIS, B. PRADON, J. L.; MONTAGNON, C.; DUFOUR, M.; LEROY, T.

Stable resistance against the leaf miner *Leucoptera coffeella* expressed by genetically transformed *Coffea canephora* in a pluriannual field experiment in French Guiana. **Euphytica**, v. 144, p. 321-329, 1 ago., 2005.

POWELL, J.; OPLER, P. **Moths of Western North America**. Berkeley: University of California Press, 2009. v. 64

RAMIRO, D. A.; GUERREIRO-FILHO, O. QUEIROZ-VOLTAN, R. B.; MATTHIESEN, S. C. Caracterização anatômica de folhas de cafeeiros resistentes e suscetíveis ao bicho-mineiro. **Bragantia**, v. 63, n. 3, p. 363–372, dez. 2004.

REIS, P.; SOUZA, J. Pragmas do Cafeeiro. In: RENA, A. B.; MALAVOLTA, E.; ROCHA, M.; YAMADA, T. (Eds) **Cultura do Cafeeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba, SP: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1986.

REIS, P.; SOUZA, J. Manejo integrado do bicho-mineiro, *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Meneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae), e seu reflexo na produção de café. 'Integrated management of the leaf miner, *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Meneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae)'. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 25, n. 1, p. 77–82, 1996.

SCHMITT, J. J.; BROWN, M. W.; DAVIS, D. R. Taxonomy, morphology, and biology of *Lyonetia prunifoliella* (Lepidoptera: Lyonetiidae), a Leafminer of Apple. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 89, n. 3, p. 334–345, 1 maio 1996.

SEVEN, S. Lyonetiidae of Turkey with notes on their distribution and zoogeography (Lepidoptera). **Zootaxa**, v. 1245, n. 1, p. 53-58, 26 jun., 2006.

SOLIS, M. A.; METZ, M. A. An illustrated guide to the identification of the known species of *Diatraea* Guilding (Lepidoptera, Crambidae, Crambinae) based on genitalia. **ZooKeys**, n. 565, p. 73-121, 17 fev. 2016.

TAKEDA, S. YOZA, M.; AMANO, T.; OHSHIMA, I.; HIRANO, T.; SATO, M. H.; SAKAMOTO, T.; KIMURA, S. Comparative transcriptome analysis of galls from four different host plants suggests the molecular mechanism of gall development. **Plos One**, v. 14, n. 10, p. e0223686, 24 out. 2019.

VIEIRA, L. G. E.; ANDRADE, A. C.; COLOMBO, C. A.; MORAES, A. H. de A.; METHA, A.; OLIVEIRA, A. C. de; LABATE, C. A.; MARINO, C. L.; MONTEIRO-VITORELLO, C. de B.; MONTE, D. C.; GIGLIOTI, E.; KIMURA, E. T.; ROMANO, E.; KURAMAE, E. E.; LEMOS, E. G. M.; ALMEIDA, E. R. P. de; JORGE, E. C.; ALBUQUERQUE, E. V. S.; SILVA, F. R. da; VINECKY, F.;

SAWAZAKI, H. E.; DORRY, H. F. A.; CARRER, H.; ABREU, I. N.; BATISTA, J. A. N.; TEIXEIRA, J. B.; KITAJIMA, J. P.; XAVIER, K. G.; LIMA, L. M. de; CAMARGO, L. E. A. de; PEREIRA, L. F. P.; COUTINHO, L. L.; LEMOS, M. V. F.; ROMANO, M. R.; MACHADO, M. A.; COSTA, M. M. do C.; SÁ, M. F. G. de; GOLDMAN, M. H. S.; FERRO, M. I. T.; TINOCO, M. L. P.; OLIVEIRA, M. C.; VAN SLUYS, M-A.; SHIMIZU, M. M.; MALUF, M. P.; EIRA, M. T. S. da; GUERREIRO FILHO, O.; ARRUDA, P.; MAZZAFERA, P.; MARIANI, P. D. S. C.; OLIVEIRA, R. L. B. C. de; HARAKAVA, R.; BALBAO, S. F.; TSAI, S. M.; MAURO, S. M. Z. di; SANTOS, S. N.; SIQUEIRA, W. J.; COSTA, G. G. L.; FORMIGHIERI, E. F.; CARAZZOLLE, M. F.; PEREIRA, G. A. G. Brazilian coffee genome project: an EST-based genomic resource. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 95-108, mar. 2006.

WHEATLEY, P. E.; CROWE, T. J. Field studies of insecticides against the coffee leaf-miner *Leucoptera meyricki* Ghesq. (Lepidoptera, Lyonetiidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 55, n. 2, p. 193-203, ago. 1964.

WOLCOTT, G. A quintessence of sensitivity: the coffee leaf-miner. **The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v. 31, n. 3, p. 215–219, 1947.

WU, Y.-P. et al. The Complete Mitochondrial Genome of *Leucoptera malioliella* Costa (Lepidoptera: Lyonetiidae). **DNA and Cell Biology**, v. 31, n. 10, p. 1508-1522, 2 ago. 2012.

ZHANG, H. ZHAO, J.-L.; SU, T.-J.; JIE L. J.; YU, F.; CHESTERS, D.; FAN, R.-J.; CHEN, M.-C.; WU, C.-S.; ZHU, C.-D. Leaf-mining by *Phyllonorycter blancardella* reprograms the host-leaf transcriptome to modulate phytohormones associated with nutrient mobilization and plant defense. **Journal of Insect Physiology**, plant-reprogramming insects: from effector molecules to ecosystem engineering. v. 84, p. 114–127, 1 jan. 2016.

ZHANG, Z. Animal biodiversity: an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. **Zootaxa**, v. 3148, p. 1-237, 2011.



*Recursos Genéticos e
Biotecnologia*

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL