

RICARDO SIQUEIRA DA SILVA

RESISTÊNCIA DE CLONES DE CAFÉ CONILON A *Oligonychus ilicis*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S586r
2012

Silva, Ricardo Siqueira da, 1986-

Resistência de clones de café conilon a *Oligonychus ilicis* /
Ricardo Siqueira da Silva. – Viçosa, MG, 2012.
viii, 29f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Marcelo Coutinho Picanço.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 24-29

1. Café - Doenças e pragas. 2. Ácaro. 3. Pragas agrícolas -
Controle. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 633.73958

RICARDO SIQUEIRA DA SILVA

RESISTÊNCIA DE CLONES DE CAFÉ CONILON A *Oligonychus ilicis*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 16 de Julho de 2012.



Eliseu José Guedes Pereira



Júlio Cláudio Martins



Lessando Moreira Gontijo



Marcelo Coutinho Picanço
(Orientador)

A Deus, a quem devo tudo.

Agradeço

Aos meus pais, João Batista da Silva (sempre presente), Maria Aparecida

Siqueira Barbosa da Silva, pelo amor, dedicação e incentivos;

*Aos meus irmãos, Renato Siqueira da Silva e Regiane Siqueira da Silva, pela
amizade;*

À minha namorada, Ana Mara Fonseca Nunes, pelo amor e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de realização deste curso.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (Capes), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Programa Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento do Café da Embrapa café (PNP&D/Café) pelas bolsas e recursos concedidos.

Ao professor Marcelo Coutinho Picanço, pela orientação e amizade ao longo desses anos de convívio. À sua família pelos momentos agradáveis proporcionados.

Aos professores responsáveis pelos conhecimentos adquiridos durante a minha formação.

Aos membros da banca de tese: Júlio Cláudio Martins, Lessando M. Gontijo e Eliseu J. G. Pereira pelas críticas, sugestões e dedicação na melhoria do trabalho.

Às secretárias do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Tatiani Gomes e Rafaela Alves, pela dedicação e seriedade.

Ao funcionário José Evaristo, pela amizade e por sempre estar à disposição em ajudar.

Aos colegas da Pós-graduação do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas: Antônio, Gerson, Jander, Jorgiane, Matheus, Nilson, Renata, Rogério, Tarcísio e Vânia pelo convívio, troca de conhecimentos e especialmente pela ajuda neste trabalho.

Aos mestres e doutores que passaram pelo Laboratório de Manejo Integrado de Pragas: Bacci, Darley, Elisa, Elisangela, Ézio, Emerson, Flávio,

Hudson, Jardel, Mateus Campos, Pablo e Renan. Em especial ao Altair por ter me apresentado e indicado o estágio neste laboratório.

Aos estagiários do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas: Adriano, Dalton, Elizeu, Gepoliano, Geverson Aelton, Izailda, João, Jorgiane, Mayara, Mirian, Obiratânia, Paulo, Reginaldo, Rodrigo, Silvério, Suzana e Thadeu, pela amizade e valiosa ajuda durante a execução deste trabalho.

Ao professor Laércio Zambolim por conceder as mudas de café para a pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Acarologia, especialmente ao Cleber pela ajuda e sugestões na criação do ácaro.

A professora Maria Goreti e seus orientados, Camila, Eduardo, Rita, Verônica, em especial ao Fabrício por ensinar os procedimentos das análises no Laboratório de Enzimologia, Bioquímica de Proteínas e Peptídeos do BIOAGRO da UFV.

Aos colegas do curso de Agronomia 2006 pela amizade e o agradável convívio durante a graduação.

Aos colegas do curso de mestrado e doutorado pelo agradável convívio durante as disciplinas.

A toda a minha família pelo apoio.

Por fim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

RICARDO SIQUEIRA DA SILVA, filho de João Batista da Silva e Maria Aparecida Siqueira Barbosa da Silva, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, no dia 07 de outubro de 1986.

Em dezembro de 2004, concluiu o segundo grau na Escola Estadual Effie Rolfs.

Em maio de 2006, ingressou no curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em julho de 2010. Durante a graduação, de setembro de 2006 a julho de 2010 foi estagiário no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Setor de Entomologia do DBA/UFV, sob orientação do Prof. Marcelo Coutinho Picanço. Neste período desenvolveu vários trabalhos na área de Manejo Integrado de Pragas em diversas culturas. Foi bolsista de Iniciação Científica do pelo PNP&D-café, da Embrapa café, pelo programa PIC-CAIXA/UFV e PROBIC/FAPEMIG. Foi ainda monitor da disciplina de Entomologia Agrícola por três semestres coordenado pelo Prof. Marcelo Coutinho Picanço. Em julho de 2010 ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, defendendo tese em julho de 2012.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	4
3. RESULTADOS	12
4. DISCUSSÃO	20
5. CONCLUSÕES	23
6. BIBLIOGRAFIA	24

RESUMO

SILVA, Ricardo Siqueira da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2012. **Resistência de clones de café conilon a *Oligonychus ilicis***. Orientador: Marcelo Coutinho Picanço.

Na obtenção de cultivares resistentes às pragas é importante a seleção de fontes e a determinação dos mecanismos, modos de expressão, causas da resistência e a persistência da resistência ao longo do tempo. *Coffea canephora* Pierre é conhecida como café conilon e ela é a segunda espécie de café mais cultivada no mundo. Dentre as principais pragas de *C. canephora* está o ácaro vermelho *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae). Assim neste trabalho foram conduzidos bioensaios com o objetivo de: (i) selecionar clones de *C. canephora* resistentes a *O. ilicis*, (ii) verificar a persistência da resistência quando este ácaro se desenvolve por várias gerações no café conilon e (iii) relacionar a concentração de proteínas e inibidores de proteases das folhas com o desempenho demográfico de *O. ilicis* em clones de *C. canephora*. Nos bioensaios foram usados 14 clones de *C. canephora* da cultivar Vitória. Os 14 clones de *C. canephora* não apresentaram resistência por antixenose a *O. ilicis*. Os clones 1, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13 e 501 de *C. canephora* apresentaram resistência por antibiose a *O. ilicis*. Entre estes, os clones 1 e 10 apresentaram resistência com maior persistência ao longo do tempo. A resistência nos clones de *C. canephora* a *O. ilicis* não esteve correlacionada com a concentração de proteínas e inibidores de proteases nas folhas destas plantas.

ABSTRACT

SILVA, Ricardo Siqueira da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2012. **Resistance of clones of conilon coffee to *Oligonychus ilicis***. Adviser: Marcelo Coutinho Picanço.

To obtain plant cultivars resistant to pests it is important to search for sources of resistance, and determine its mechanisms and modes of expression, and furthermore, evaluate its persistence over time. *Coffea canephora* Pierre is known as conilon coffee and it is the second most widely cultivated species of coffee in the world. Among some of the major pests of *C. canephora* is the red mite *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae). The main objectives of this study were: (i) select clones of *C. canephora* resistant to *O. ilicis*, (ii) determine the persistence of resistance when this mite reproduces over several generations on conilon coffee and (iii) correlate the concentration of proteins and serine protease inhibitors of the leaves with the the population growth of *O. ilicis* on *C. canephora*. In the bioassays, 14 clones of *C. canephora* cv Vitória were tested. The 14 clones of *C. canephora* showed no antixenosis resistance to *O. ilicis*. The clones 1, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13 and 501 of *C. canephora* exhibited an antibiosis effect upon the development of *O. ilicis*. Among all these clones, 1 and 10 showed resistance to the mites with the highest persistence over time. Nonetheless, the resistance in clones of *C. canephora* to *O. ilicis* was not correlated with neither the concentration of proteins nor the protease inhibitors in the leaves of these plants.

1. INTRODUÇÃO

Na obtenção de cultivares resistentes às pragas é importante a seleção de fontes e a determinação dos mecanismos, modos de expressão, causas da resistência e a persistência da resistência ao longo do tempo. São três os mecanismos da resistência de plantas aos artrópodes fitófagos: antixenose, antibiose e tolerância. Quando a resistência é por antixenose o comportamento do artrópode é afetado, levando a menor alimentação ou oviposição na planta resistente comparado com a planta suscetível. Já quando a planta é resistente por antibiose o artrópode tem menor sobrevivência, desenvolvimento e/ou fecundidade ao se alimentar da planta resistente do que quando ela se alimenta da planta suscetível. Por outro lado, as plantas resistentes por tolerância suportam mais o ataque da praga do que as plantas suscetíveis embora elas possuam intensidades de ataque da praga semelhantes (Smith & Clement, 2012).

Em relação ao modo de expressão a resistência pode ser: constitutiva ou induzida. Quando a resistência é constitutiva a planta exibe a característica de resistência independente do ataque ou não da praga. Já na resistência induzida a característica de resistência só é expressa quando a planta é atacada pela praga (Schaller, 2008).

As causas da resistência das plantas às pragas podem ser morfológicas, químicas ou bioquímicas. Dentre as características morfológicas que podem estar envolvidas na resistência estão a espessura e dureza da epiderme, camada de cutícula e tricomas das folhas. Já as causas químicas da resistência são toxinas e substâncias de contato ou voláteis que podem afetar o comportamento e desempenho biológico da praga (Bernays & Chapman, 1994; Wei et al. 2000; Peeters, 2002; Schaller, 2008). Entre as causas

bioquímicas da resistência estão os inibidores de enzimas digestivas e compostos envolvidos na nutrição da praga. Entre as substâncias mais importantes da nutrição dos artrópodes estão as proteínas. Elas podem ser enzimas ou serem fontes de aminoácidos essenciais aos artrópodes (Amirhusin et al. 2007). Entre os principais inibidores digestivos que estão envolvidos na defesa das plantas aos artrópodes estão os inibidores de proteases (Ryan, 1990). Neste contexto, a tripsina é uma das principais enzimas do sistema digestivo de artrópodes. A inibição desta enzima pode dificultar a digestão de proteínas e a assimilação de nutrientes no intestino dos artrópodes fitófagos, afetando assim, o desenvolvimento, reprodução e sobrevivência destes herbívoros (Vila et al. 2005; Marsaro Júnior et al. 2006; Sarmiento et al. 2011).

Outro aspecto importante nos estudos de resistência das plantas aos artrópodes é a persistência da resistência ao longo do tempo. Neste contexto, o cultivo intensivo e em larga escala de genótipos de plantas resistentes pode selecionar biótipos da praga que sejam capazes de suplantar a resistência hospedeira. Assim, devem ser selecionados genótipos que tenham resistência que seja durável ao longo do tempo e/ou se planejar áreas de refúgio para as pragas com o plantio de hospedeiros suscetíveis para minimizar a seleção de biótipos capazes de suplantar a resistência (Smith, 2005; Romeis et al. 2008).

Coffea canephora Pierre é conhecida como café conilon e ela é a segunda espécie de café mais cultivada no mundo. A área cultivada e a produção de *C. canephora* vêm crescendo no Brasil e no mundo. Atualmente *C. canephora* é responsável por 27 e 40% da produção brasileira e mundial de café, respectivamente. Os principais países produtores de *C. canephora* são Vietnã e Brasil. Já os principais estados brasileiros produtores de café conilon são Espírito Santo e Rondônia (Fassio & Silva, 2007)

As cultivares de café conilon podem ser provenientes de sementes ou de variedades clonais. Devido à alta taxa de alogamia de *C. canephora* (100% de fecundação cruzada) as variedades de café conilon formadas a partir de sementes apresentam alta taxa de heterozigose e suas plantas são desuniformes. Já as variedades clonais são mais uniformes e com maior potencial de produção em termos quantitativos e qualitativos. Normalmente as variedades clonais são constituídas por vários clones (Fassio & Silva, 2007). Dentre as variedades clonais de café conilon a cultivar Vitória se destaca por possuir produtividade média 20% superior às demais variedades (Ferrão et al. 2007).

Entre os principais problemas que afetam o café conilon está o ataque de pragas. Dentre as principais pragas de *C. canephora* está o ácaro vermelho *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae). Este ácaro ataca a face superior das folhas onde ele rompe a parede e a membrana das células e succiona o conteúdo celular. Devido ao seu ataque ocorrem bronzeamento e queda de folhas e redução do crescimento das plantas, sobretudo em lavouras em fase de formação (Reis et al. 1997; Matiello, 1998; Moraes & Flechtmann, 2008).

Apesar da importância de *O. ilicis* como praga de *C. canephora* e do potencial de uso da resistência de plantas no manejo deste ácaro nenhum trabalho existe sobre este assunto. Assim neste trabalho foram conduzidos bioensaios com o objetivo de: (i) selecionar clones de *C. canephora* resistentes a *O. ilicis*, (ii) verificar a persistência da resistência quando este ácaro se desenvolve por várias gerações no café conilon e (iii) relacionar a concentração de proteínas e inibidores de proteases das folhas com o desempenho demográfico de *O. ilicis* em clones de *C. canephora*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Cultivo das plantas

Nos bioensaios foram usados os 14 clones de *C. canephora* da cultivar Vitória, aqui identificados como clones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 501 e 502. Estes clones foram selecionados para realização deste trabalho devido a eles estarem entre os principais genótipos de *C. canephora* plantados pelos cafeicultores brasileiros (Ferrão et al. 2007). Para criação de *O. ilicis* foram usadas folhas de plantas de *Coffea arabica* cv. IAC 15 e de *C. canephora* cv. Conilon. As mudas de café foram produzidas no viveiro do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Quando as mudas possuíam seis meses de idade elas foram transplantadas para vasos plásticos de 5 litros contendo solo (65%) e esterco bovino (35%) nas casas de vegetação do Departamento de Entomologia da UFV. As plantas foram cultivadas de acordo com (Prezotti et al. 2007) durante dois anos até que elas atingissem tamanho suficiente para realização deste trabalho, sendo que as plantas possuíam em média 25 ramos e 110 cm altura. Não foi aplicado nenhum pesticida nas plantas. A folha usada nos experimentos foi à segunda folha mais apical do quinto ramo a partir da base da planta.

2.2. Condições experimentais

A criação de *O. ilicis* e os bioensaios ocorreram em sala climatizada a temperatura de $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $60 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 horas. Nas avaliações de *O. ilicis* se utilizou microscópio estereoscópico (Olympus SZ40) equipado com lente de aumento de 100x.

2.3. Criação de *O. ilicis*

Os ácaros foram criados em bandejas plásticas brancas (40×25×7 cm) contendo no seu fundo espuma hidrofílica (3 cm de espessura) umedecida com água destilada. Na espuma foram inseridas seis folhas totalmente expandidas coletadas na parte apical de plantas de café com dois anos de idade. Para o estabelecimento da criação cerca de 100 ácaros foram transferidos para cada folha usando pincel de crina de cavalo (nº 0). A cada sete dias as folhas foram substituídas.

A criação foi dividida em duas partes. Numa parte da criação os ácaros foram alimentados com folhas de *C. arabica* cv. IAC 15 e na outra parte eles foram alimentados com folhas de *C. canephora* cv. Conilon. Os ácaros provenientes da criação em *C. arabica* foram usados para que não ocorresse um condicionamento pré-imaginal, e isso afetasse na seleção dos clones de *C. canephora* resistentes a *O. ilicis*. Já os ácaros provenientes da criação em *C. canephora* foram usados para avaliação da persistência da resistência quando *O. ilicis* se desenvolve no café conilon.

2.4. Avaliação da resistência por antixenose

Nesta parte do trabalho foi realizada a avaliação da preferência do ácaro aos 14 clones de *C. canephora* em teste de livre escolha com seis repetições. Neste bioensaio foram usadas arenas constituídas por dois recipientes plásticos (35 cm de diâmetro × 10 cm de altura). Um recipiente constituiu a parte basal da arena e o outro a tampa de vedação da arena. No recipiente basal da arena foi colocada uma camada de 5 cm de água destilada. Sobre a camada de água foi colocado um disco de isopor branco de 30 cm de diâmetro e 20 mm de espessura. A 15 cm do centro da arena foram feitas 14 perfurações de 50 mm de largura no disco de isopor. Em cada perfuração foi inserida em posição vertical uma folha de cada clone de *C. canephora* cv. Vitória. Cada folha ficou equidistante das duas folhas vizinhas 6,7 cm (Figura 1).

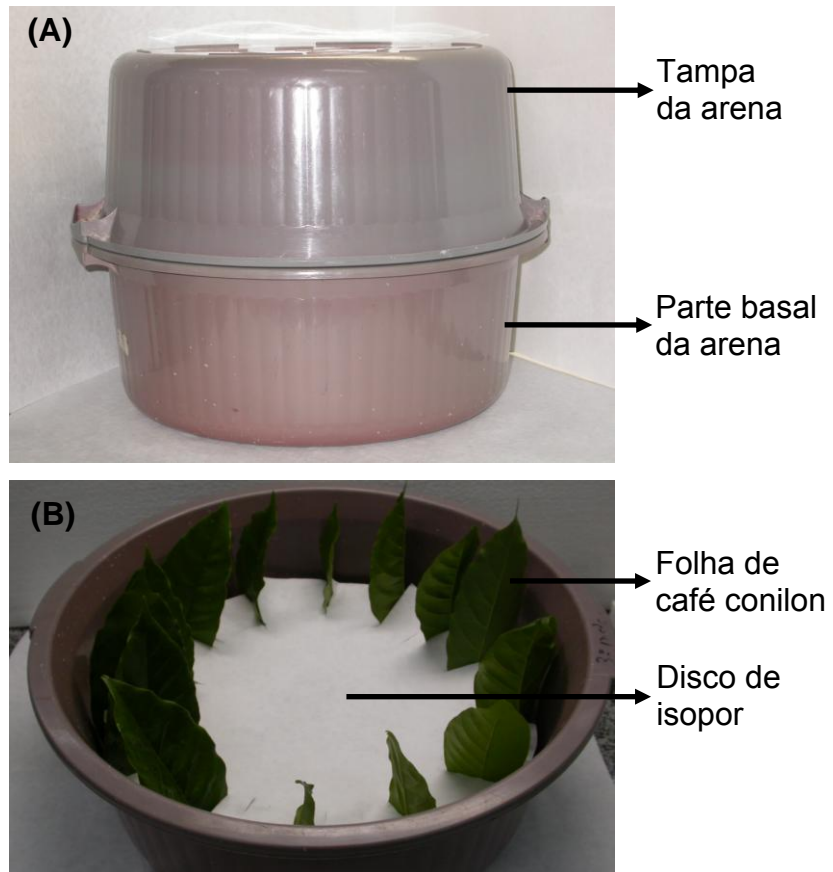


Figura 1. Arena usada no bioensaio de avaliação da resistência por antixenose. (A) Arena fechada e (B) parte basal da arena.

No centro de cada arena foram colocados 200 ácaros adultos. A arena foi fechada com tampa devido se ter verificado em bioensaio prévio que a luminosidade influencia a escolha do local para onde os ácaros se dirigem. Cada bloco foi constituído por uma arena. Após 1, 4, 8, 12, 24 e 48 horas da liberação dos ácaros se contou o número de ácaros em cada folha. O estabelecimento de 48 horas como o tempo máximo de avaliação foi devido se ter verificado em bioensaio prévio que após este período os ácaros já haviam caminhado e permanecido nas folhas.

2.5. Avaliação da resistência por antibiose

Nesta parte do trabalho se avaliou o desempenho demográfico de *O. ilicis* nos clones de *C. canephora* cv. Vitória. O delineamento experimental inteiramente casualizado com seis repetições. Cada repetição foi representada por uma placa de Petri (15 cm de diâmetro × 2 cm de altura) contendo cinco discos foliares (1,5 cm de diâmetro). Em cada placa foram inseridos cinco discos de espuma hidrofílica (1,5 cm de diâmetro × 1,0 cm de altura). Sobre cada disco de espuma foi colocado um disco foliar com a face adaxial voltada para cima. Para cada disco foliar 10 ovos de um dia de idade de *O. ilicis* foram transferidos usando pincel de crina de cavalo (nº 0). No fundo de cada placa de Petri foi colocada uma camada de 1 cm de espessura de água destilada para dificultar a fuga dos ácaros dos discos foliares (Figura 2). Nesta parte do trabalho foram realizados dois bioensaios. No primeiro bioensaio foi realizada seleção inicial dos clones de *C. canephora* resistentes por antibiose a *O. ilicis*. Já no segundo bioensaio foi realizada avaliação da persistência da resistência dos clones de *C. canephora* selecionados no bioensaio anterior.

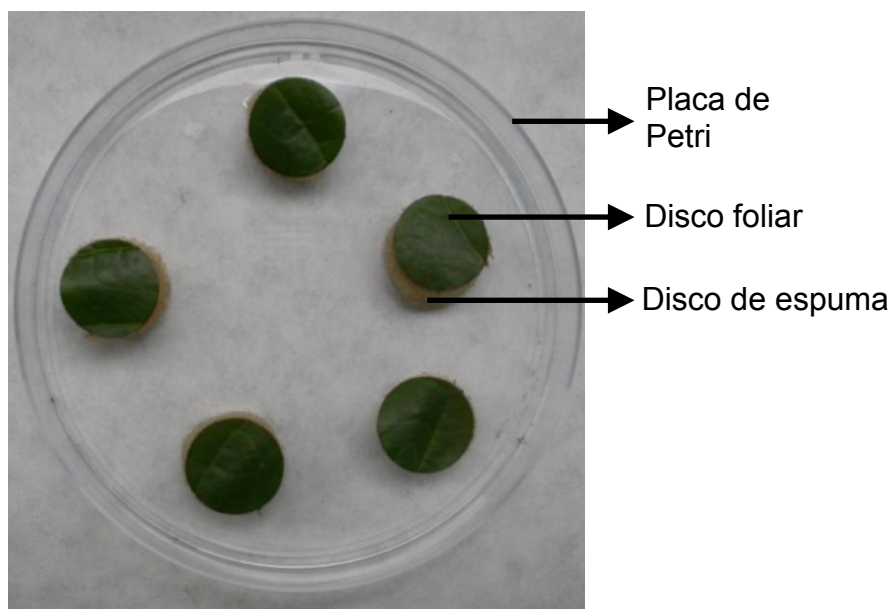


Figura 2. Placa de Petri usada no bioensaio de avaliação da resistência por antibiose.

2.5.1. Seleção inicial dos clones de *C. canephora* resistentes a *O. ilicis*

Os tratamentos foram os 14 clones de *C. canephora* cv. Vitória. Os ácaros utilizados neste bioensaio foram provenientes de criação em folhas de *C. arabica* cv. IAC 15 por 10 gerações. Três vezes ao dia, às 7, 14 e 20 horas, foram avaliadas a sobrevivência e o estágio de desenvolvimento de *O. ilicis* durante uma geração. Quando os ácaros atingiram a fase adulta foi avaliado o número de ovos. Esses ovos foram removidos dos discos foliares diariamente.

A partir dos dados de sobrevivência e reprodução de *O. ilicis* coletados se confeccionou uma tabela de vida de fertilidade e outra de esperança de vida para cada repetição conforme (Krebs, 1994). Utilizando os dados destas tabelas de vida foram calculados, para cada repetição, a fecundidade, o tempo de geração em dias (T), a taxa líquida reprodutiva por geração (R_0), a taxa intrínseca de crescimento populacional por dia (r_m) e o tempo letal para metade da população em dias (TL_{50}).

2.5.2. Avaliação da persistência da resistência dos clones de *C. canephora*

Os tratamentos foram os clones de *C. canephora* selecionados como resistentes a *O. ilicis* no bioensaio anterior. Os ácaros utilizados neste bioensaio foram provenientes de criação em folhas de *C. canephora* cv. Conilon por quatro gerações. A condução e as características avaliadas neste bioensaio foram semelhantes ao bioensaio anterior, quanto ao delineamento e variáveis respostas medidas.

2.6. Análises bioquímicas

Estas análises foram realizadas no Laboratório de Enzimologia, Bioquímica de Proteínas e Peptídeos do BIOAGRO da UFV. As variáveis em estudo foram os 14 clones de *C. canephora* cv. Vitória, a presença e não de dano de *O. ilicis* nas folhas nestes clones. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições. Cada repetição foi constituída por uma planta de café conilon. As análises foram realizadas em triplicata.

Foi avaliada a concentração total de proteínas e a taxa de inibição de tripsina. Foram usadas seis plantas de cada clone de *C. canephora* cv. Vitória. Três destas plantas sofreram dano de *O. ilicis* e as outras três não foram danificadas por este ácaro. Três destas plantas foram infestadas na segunda folha mais apical do quinto ramo a partir da base da planta com 100 ácaros. Oito dias após a folha ser infestada foi retirada da planta. Esta folha foi limpa para retirada dos ácaros, suas teias e fezes. A folha correspondente a essa nas plantas não infestadas com o ácaro foram também coletadas. As folhas foram acondicionadas em caixa de isopor contendo nitrogênio líquido. Esta caixa de isopor foi transportada para laboratório para o preparo dos extratos e realização das análises bioquímicas.

A extração foi realizada a 4°C de acordo com o método descrito por (Ohta et al. 1986). O material vegetal foi pesado em balança analítica (modelo Metter AT200). Este material foi triturado usando pistilo e gral de porcelana até a obtenção de um pó. A este pó se adicionou polivinilpolipirrolidona (PVPP) a 1% [peso por volume (p/v)]. Logo a seguir, se adicionou a este material solução tampão Tris-HCl 0,1 M e 20 mM de CaCl₂ com pH 8,2 na proporção 1:3 (p/v). A mistura obtida foi homogeneizada com agitação no vórtex e centrifugada em microcentrífuga refrigerada (modelo CT 15000R) a 14.700 g por 30 minutos

(Batista et al. 2002) e o sobrenadante desta mistura foi coletado. O sobrenadante foi usado na determinação da concentração total de proteínas e da taxa de inibição de tripsina. A determinação da concentração total de proteínas foi realizada pelo método descrito por (Bradford, 1976). Nesta determinação foi feita uma curva padrão com solução de $0,2 \text{ mg.mL}^{-1}$ de soro albumina bovina.

A determinação da taxa de inibição de tripsina foi realizada utilizando tripsina bovina. Nesta determinação foram colocados em um tubo de ensaio: 25 μL do extrato foliar; 575 μL de Tris-HCl 0,1 M; 20 mM de CaCl_2 com pH 8,2 e 100 μL de solução de tripsina $4,7 \times 10^{-5}$ M. No controle desta determinação foram usados os mesmos reagentes e concentrações da mistura acima, entretanto sem a adição de extrato foliar e com o uso de 600 μL de Tris-HCl 0,1 M. A mistura de cada tubo (extrato e controle) foi incubada por cinco minutos à temperatura ambiente. Logo após, 500 μL da mistura do teste e do controle foram retirados. Cada uma destas misturas foram colocadas em um tubo com 500 μL Tris-HCl 0,1 M; 20 mM de CaCl_2 com pH 8,2 e 500 μL de solução de L-BApNA 1,2 mM. A absorbância da solução obtida foi determinada a 410 nm durante 2,5 minutos de reação utilizando espectrofotômetro (modelo Spectrum SP 2000 UV).

Os resultados obtidos foram convertidos em mg de tripsina inibida por grama de proteínas, de acordo com a seguinte equação:

Tripsina inibida (mg.g^{-1} de proteínas) = $(A \times B) \times (C \times P \times 1000)^{-1}$, onde:

A = (absorbância do controle) – (absorbância da amostra);

B = diluição da amostra;

P = concentração de proteínas dos extratos (g.mL^{-1}); e

C = fator de tripsina (produto da atuação de 1 μg de tripsina ativa sobre o substrato L-BApNA que dará leitura de 0,019 em 410 nm de absorbância) (Kakade et al. 1974).

2.7. Análises estatísticas

Em todas as análises as pressuposições da análise de variância foram verificadas não sendo necessária transformação dos dados. Os dados de densidade do ácaro (bioensaio de antixenose) e de total de ovos por fêmea, tempo letal para a metade da população, tempo de geração, taxa líquida reprodutiva e taxa intrínseca de crescimento populacional de *O. ilicis* (bioensaios de antibiose) foram submetidos à análise de variância a $p < 0,05$ utilizando o procedimento GLM do SAS (SAS Institute, 2001). As médias dos clones de *C. canephora* foram comparadas pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$ (Scott & Knott, 1974).

Os dados de concentração de proteínas e de inibidores de proteases nas folhas foram submetidos à análise de variância a $p < 0,05$ utilizando o procedimento GLM do SAS (SAS Institute, 2001). As médias dessas características nos clones de *C. canephora* foram comparadas pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$ (Scott & Knott, 1974). Já o efeito do dano do ácaro em cada clone de *C. canephora* sobre essas características foi analisado pelo teste F a $p < 0,05$ utilizando o procedimento GLM do SAS (SAS Institute, 2001).

Foram realizadas análises de correlação canônica entre o desempenho biológico de *O. ilicis* proveniente de *C. arabica* e de *C. canephora* com a concentração de proteínas e inibidor de proteases nos clones de *C. canephora* a $p < 0,05$ utilizando o procedimento CANCOR do SAS (SAS Institute, 2001).

3. RESULTADOS

3.1. Resistência dos clones por antixenose

Foram detectadas diferenças significativas no número de ácaros por folha em função dos tempos de avaliação ($F_{5;350} = 2,31$; $p = 0,044$). Entretanto não foram detectadas diferenças significativas no número de ácaros por folha em função dos clones de *C. canephora* ($F_{13;65} = 1,17$; $p = 0,3211$) e da interação entre o tempo de avaliação versus clones ($F_{65;350} = 0,80$; $p = 0,8628$).

3.2. Resistência dos clones por antibiose

3.2.1. Seleção inicial de clones de *C. canephora* resistentes por antibiose a *O. ilicis*

Verificaram-se diferenças significativas na fecundidade ($F_{13;70} = 4,21$; $p < 0,001$), taxa líquida reprodutiva ($F_{13;70} = 5,10$; $p < 0,001$) e taxa intrínseca de crescimento populacional ($F_{13;70} = 2,39$; $p = 0,009$) de *O. ilicis* em função dos clones de *C. canephora*. Entretanto, não se observaram diferenças significativas no tempo letal para metade da população ($F_{13;70} = 1,29$; $p = 0,2346$) e tempo de geração ($F_{13;70} = 1,33$; $p = 0,2135$) de *O. ilicis* em função dos clones de *C. canephora*.

Os clones de *C. canephora* podem ser subdivididos em três categorias quanto ao total de ovos por fêmea e à taxa líquida reprodutiva e em duas categorias quanto à taxa intrínseca de crescimento populacional de *O. ilicis*. A maior fecundidade e a maior taxa líquida reprodutiva do ácaro ocorreram no clone 2. As maiores taxas intrínsecas de crescimento populacional de *O. ilicis* ocorreram nos clones 2, 3, 8, 11 e 502. Já as menores fecundidades, taxas líquidas reprodutivas e taxas intrínsecas de crescimento populacional do ácaro ocorreram nos clones 1, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13 e 501 (Figura 3). Portanto, nestes clones de *C. canephora* foi menor a reprodução de *O. ilicis* já que estas três características medem o desempenho reprodutivo da espécie.

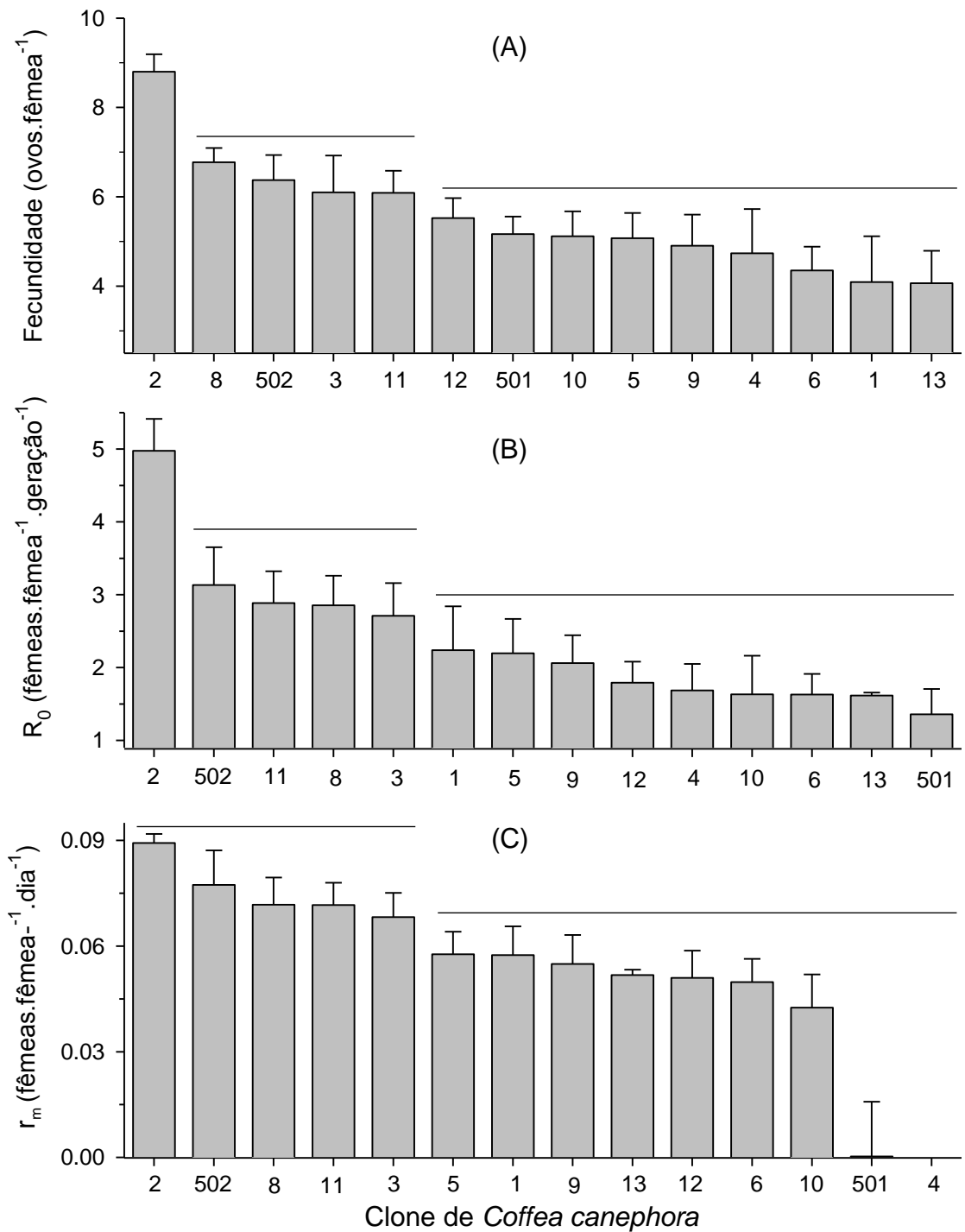


Figura 3. Média \pm erro padrão do desempenho demográfico de *Oligonychus ilicis* em 14 clones de *Coffea canephora* cv. Vitória. (A) fecundidade, (B) taxa líquida reprodutiva e (C) taxa intrínseca de crescimento populacional. Os ácaros usados foram provenientes de criação em *Coffea arabica*. Os histogramas ligados pela mesma linha possuem médias que não diferem, entre si, pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$.

3.2.2. Persistência da resistência dos clones de *C. canephora* por antibiose a *O. ilicis*

Verificaram-se diferenças significativas no tempo médio de sobrevivência para a metade da população ($F_{8;45} = 3,22$; $p = 0,0056$) e no total de ovos por fêmea ($F_{8;45} = 3,65$; $p = 0,0023$) de *O. ilicis* nos clones *C. canephora* (Figura 4). Verificaram-se que as maiores tempo letal para a metade da população ocorreram nos clones 5, 6, 12, 13 e 501. Já o menor tempo letal para a metade da população ocorreu nos clones 1, 4, 9 e 10 (Figura 4A). Verificaram-se que as maiores fecundidades ocorreram nos clones 4, 5, 6, 9, 12, 13 e 501. Já os menores totais de ovos por fêmea foram observados nos clones 1 e 10 (Figura 4B).

Verificaram-se diferenças significativas no tempo de geração ($F_{8;45} = 2,93$; $p = 0,0100$), taxa líquida reprodutiva ($F_{8;45} = 2,75$; $p = 0,0146$) e taxa intrínseca de crescimento populacional ($F_{8;45} = 3,85$; $p = 0,0015$) de *O. ilicis* em função dos clones de *C. canephora* (Figura 5). Os clones de *C. canephora* podem ser subdivididos em duas categorias quanto ao tempo de geração, taxa líquida reprodutiva e taxa intrínseca de crescimento populacional de *O. ilicis*. Os menores tempos de geração do ácaro ocorreram nos clones 1, 4, 9 e 10 (Figura 5A). As menores taxas líquidas reprodutivas de *O. ilicis* ocorreram nos clones 1, 4 e 10 (Figura 5B). Já as menores taxas intrínsecas de crescimento populacional de *O. ilicis* ocorreram nos clones 1 e 10 (Figura 5C).

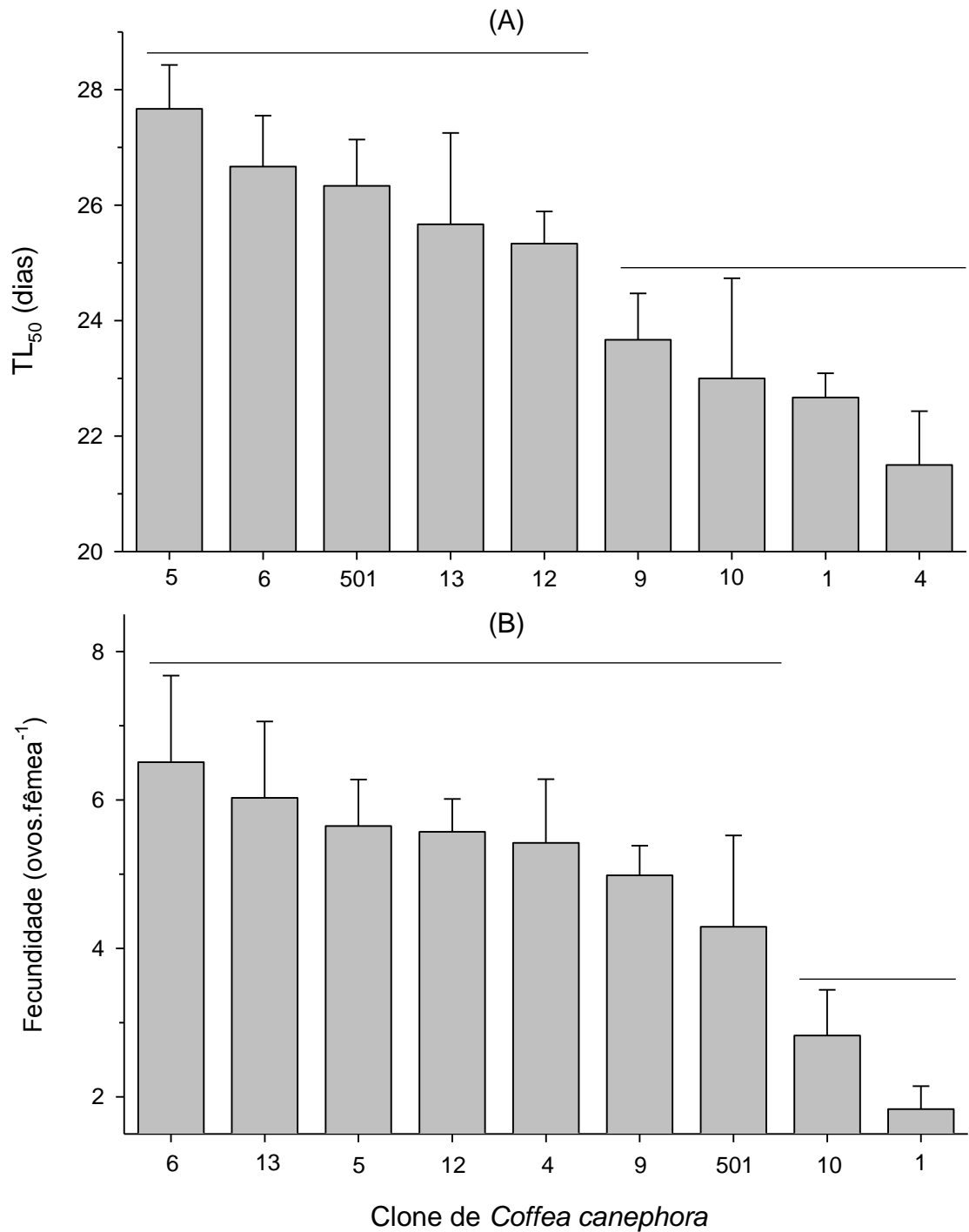


Figura 4. (A) Sobrevivência e (B) fecundidade de *Oligonychus ilicis* em nove clones de *Coffea canephora* cv. Vitória resistentes por antibiose no bioensaio com ácaros criados em *Coffea arabica*. Os ácaros usados foram provenientes de criação em *C. canephora*. Os histogramas ligados pela mesma linha possuem médias que não diferem, entre si, pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$.

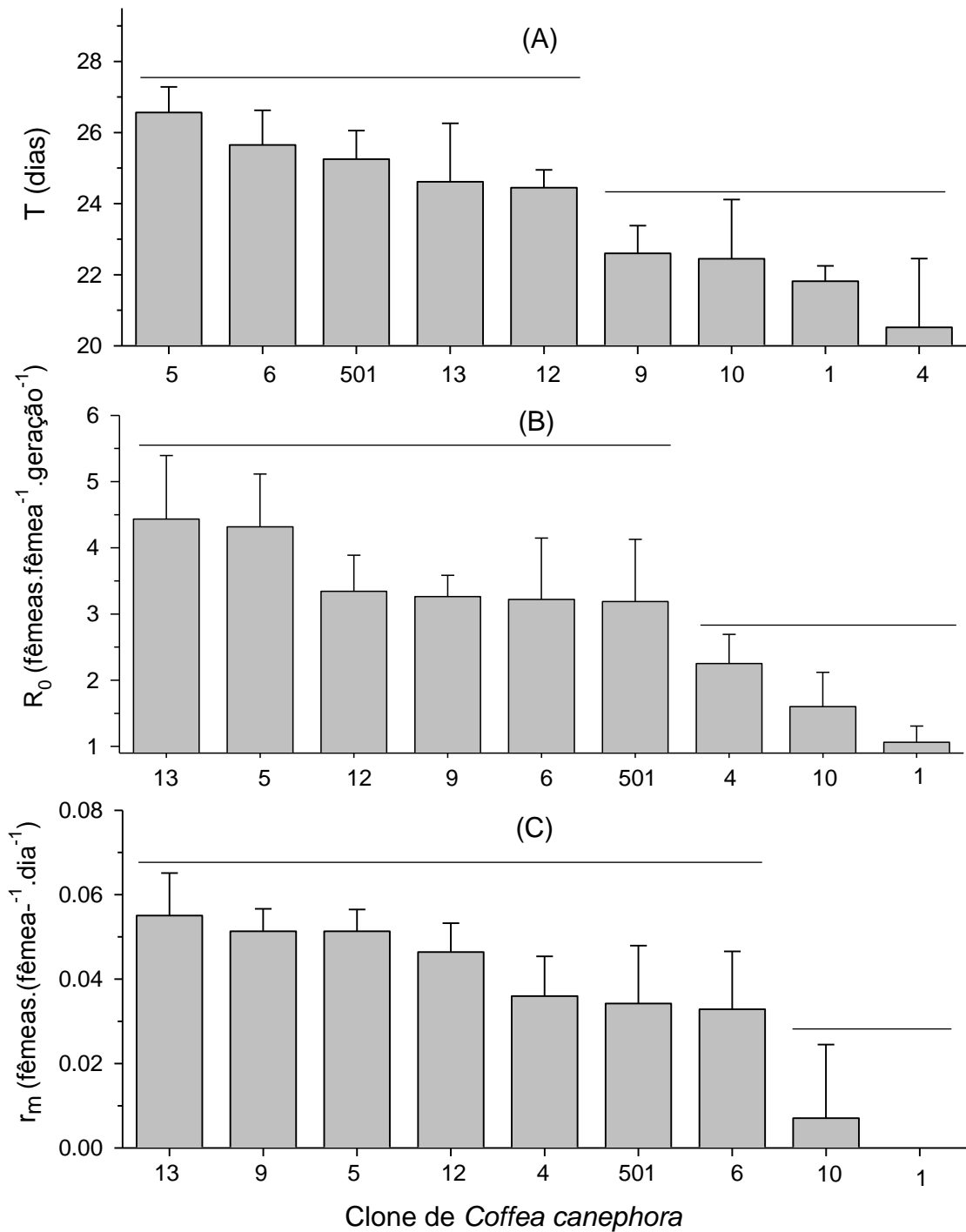


Figura 5. Média \pm erro padrão do desempenho demográfico de *Oligonychus ilicis* em nove clones de *Coffea canephora* cv. Vitória resistentes por antibiose no bioensaio com ácaros criados em *Coffea arabica*. (A) tempo de geração, (B) taxa líquida reprodutiva e (C) taxa intrínseca de crescimento populacional. Os ácaros usados foram provenientes de criação em *C. canephora*. Os histogramas ligados pela mesma linha possuem médias que não diferem, entre si, pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$.

3.3. Concentração de proteínas e inibidores de proteases nas folhas dos clones de *C. canephora*

Não foram detectadas diferenças significativas na concentração de proteínas em folhas infestadas e não infestadas pelos ácaros ($F_{1;56} = 2,63$, $p = 0,1100$). Entretanto, a concentração de proteínas variou entre os clones de *C. canephora* ($F_{13;56} = 19,07$; $p < 0,0001$) e houve interação dos clones com a infestação pelo ácaro ($F_{13;56} = 9,94$; $p < 0,0001$). A taxa de inibidor de protease variou entre os clones de *C. canephora* ($F_{13;56} = 31,96$; $p < 0,0001$), e foi afetada pela infestação do ácaro na folha ($F_{1;56} = 4,72$; $p < 0,0340$) e também pela interação entre estes dois fatores ($F_{13;56} = 28,89$; $p < 0,0001$).

Os clones de *C. canephora* podem ser subdivididos em quatro categorias quanto a concentração de proteínas e taxa de inibidor de protease nas folhas sem dano do ácaro. Já com relação a concentração de proteínas e taxa de inibidor de protease nas folhas com dano do ácaro os clones de *C. canephora* podem ser subdivididos em cinco e três categorias, respectivamente. Nas folhas sem dano do ácaro a maior concentração de proteínas ocorreu no clone 11 e as menores concentrações nos clones 1, 2, 3, 6, 8, 13 e 502. Já nas folhas com dano do ácaro a maior concentração de proteínas ocorreu no clone 3 e a menor concentração no clone 6. Nas folhas sem dano do ácaro a maior inibição de protease ocorreu no clone 12 e as menores inibições ocorreram nos clones 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 13, 501 e 502. Já nas folhas com dano do ácaro as maiores inibições de proteases ocorreram nos clones 2 e 8 e as menores inibições nos clones 1, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 501 e 502 (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração de proteínas e taxa de inibição de proteases em folhas dos 14 clones de *Coffea canephora* cv. Vitória infestada e não pelo ácaro *Oligonychus ilicis*.

Clone de <i>C. canephora</i>	Concentração de proteínas*($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		Atividade de inibidores de proteínas* (mg de tripsina inibida.g de proteínas $^{-1}$)	
	Folhas não danificadas	Folhas danificadas	Folhas não danificadas	Folhas danificadas
1	12,49 \pm 0,36 aD	16,23 \pm 0,32 aB	435,09 \pm 251,20 aB	68,51 \pm 39,55 bC
2	12,09 \pm 0,46 aD	11,33 \pm 0,22 aD	392,88 \pm 226,83 bB	721,70 \pm 416,67 aA
3	11,11 \pm 0,84 aD	19,52 \pm 0,13 aA	45,57 \pm 26,31 bD	360,25 \pm 207,99 aB
4	13,70 \pm 0,98 aC	12,10 \pm 0,40 aD	4,03 \pm 2,33 aD	17,86 \pm 10,31 aC
5	14,38 \pm 0,60 aC	13,03 \pm 0,34 aC	20,25 \pm 11,69 aD	0,00 \pm 0,00 bC
6	10,23 \pm 0,45 aD	9,60 \pm 0,28 aE	0,00 \pm 0,00 aD	0,00 \pm 0,00 aC
8	11,95 \pm 0,65 aD	13,72 \pm 0,09 aC	35,67 \pm 20,6 bD	617,01 \pm 356,23 aA
9	16,34 \pm 2,17 aB	13,99 \pm 0,88 aC	111,78 \pm 64,54 aD	135,33 \pm 78,13 aC
10	15,49 \pm 0,12 aB	17,42 \pm 0,30 aB	314,95 \pm 181,84 aC	99,65 \pm 57,53 bC
11	19,12 \pm 0,29 aA	14,32 \pm 0,60 aC	13,08 \pm 7,55 bD	157,18 \pm 90,75 aC
12	14,14 \pm 0,10 aC	12,72 \pm 1,32 aC	606,17 \pm 349,97 aA	4,95 \pm 2,86 bC
13	10,77 \pm 1,38 aD	11,22 \pm 0,87 aD	5,48 \pm 3,16 bD	345,85 \pm 199,68 aB
501	17,51 \pm 0,23 aA	17,53 \pm 0,36 aB	80,68 \pm 46,58 aD	0,00 \pm 0,00 bC
502	11,77 \pm 0,15 aD	14,52 \pm 0,21 aC	0,00 \pm 0,00 aD	0,00 \pm 0,00 aC

* As médias \pm erro padrão para cada característica seguidas pela mesma letra minúscula na linha ou maiúscula na coluna não diferem, entre si, pelos testes F e Scott-Knott a $p < 0,05$, respectivamente.

3.4 Relação entre a concentração de proteínas e inibidores de proteases nas folhas com a resistência dos clones de *C. canephora* a *O. ilicis*

As concentrações de proteínas e a inibidores de proteases nas folhas não apresentaram correlações significativas com a resistência dos clones de *C. canephora* tanto quando o açúcar era proveniente de *C. arabica* (Wilk's lambda = 0,46; F = 1,42; $g_{\text{num/den}} = 6/18$; p= 0,2600) como quando o açúcar era proveniente de *C. canephora* (Wilk's lambda = 0,01; F = 3,49; $g_{\text{num/den}} = 10/4$; p= 0,1199).

4. DISCUSSÃO

Neste trabalho não foi observada resistência por antixenose a *O. ilicis* nos clones de *C. canephora*. Esta resistência afeta o comportamento do artrópode devido a fatores morfológicos ou substâncias químicas na planta resistente, resultando na seleção de outra planta hospedeira (Smith, 2005). Os resultados encontrados indicam que as características morfológicas e substâncias químicas não afetam o comportamento de escolha do ácaro *O. ilicis* entre os clones de *C. canephora*.

Os clones 1, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13 e 501 de *C. canephora* apresentaram resistência por antibiose a *O. ilicis* reduzindo a reprodução deste ácaro. Esta constatação é inédita já que não existe nenhum trabalho sobre este assunto. Embora os clones 4, 5, 6, 9, 12, 13 e 501 tenham sido resistentes a *O. ilicis* a resistência destes clones não persistiu após o ácaro se desenvolver por quatro gerações em café conilon. Isto possivelmente ocorreu devido a pressão seletiva a que a população do ácaro foi submetida quando ele se desenvolveu por gerações em *C. canephora*. Esta seleção pode ter aumentado a frequência de genes que codifiquem características que possibilitaram ao ácaro suplantar a resistência desses clones de *C. canephora* (Harris & Frederiksen, 1984).

A procura de fontes de resistência que persistam ao longo do tempo é uma prioridade nos programas de melhoramento genético de plantas (Várzea & Marques, 2005). Nestas fontes a resistência geralmente é horizontal e ela é governada por uma herança quantitativa (Parlevliet & Zadoks, 1977). Os clones 1 e 10 de *C. canephora* apresentaram resistência mais durável do que os demais clones de café conilon. Dado que a resistência destes dois clones persistiu mesmo quando os ácaros se desenvolveram em *C. canephora* por quatro gerações.

A observação de nove (1, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13 e 501) e dois (1 e 10) clones de *C. canephora* resistentes a *O. ilicis* quando os ácaros foram provenientes de *C. arabica* ou de *C. canephora*, respectivamente tem implicação na seleção dos clones de café conilon a serem cultivados. Assim, quando o café conilon é cultivado em locais onde só há o cultivo desta espécie de café deve-se plantar os clones 1 e 10 de *C. canephora*. Já nos locais onde há cultivo de café conilon próximo a *C. arabica* os clones 1, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13 e 501 de *C. canephora* podem ser plantados, pois os cultivos de *C. arabica* devem funcionar como área de refúgio para reduzir a pressão de seleção de biótipos de *O. ilicis* capazes de suplantar a resistência dos clones de *C. canephora*.

Neste trabalho foi verificado que a concentração de proteínas e a taxa de inibidores de proteases variaram entre os clones de *C. canephora*. Entretanto esta variação não se correlacionou com a resistência dos estudados e não estão relacionadas com a resistência por antibiose dos clones de *C. canephora* a *O. ilicis*. Assim, possivelmente, as causas envolvidas na resistência sejam químicas e/ou morfológicas. Entre os fitoquímicos que podem estar envolvidos na defesa do cafeeiro a pragas estão os compostos fenólicos como os ácidos clorogênicos e a cafeína e seus derivados (Bernays & Chapman, 1994). Já entre as estruturas morfológicas das folhas do cafeeiro que podem estar envolvidas na defesa planta a pragas estão a espessura e dureza da epiderme e a espessura camada de cutícula (Peeters, 2002).

Neste trabalho foi verificado que em quatro clones (2, 3, 8 e 13) foi maior a taxa de inibidores de proteases nas folhas com dano do ácaro do que nas folhas sem dano. Como a inibição de proteases geralmente está relacionada com a resistência induzida de plantas as pragas (Ryan, 1990; Abdeen et al. 2005; Lawrence et al. 2008) poderia se pensar que estes fenômenos

estivessem relacionados. Porém, isto não ocorreu já que os clones que apresentaram maior inibição de proteases não foram resistentes ao ácaro. Tal fato ocorreu, possivelmente, devido a capacidade do ácaro em usar outras proteases que não a tripsina na digestão de seu alimento (Jongsma et al. 1995).

A manipulação hospedeira é uma estratégia utilizada por herbívoros para contornar as defesas da planta. Como resultado desta estratégia, a planta atacada se torna um melhor recurso para os herbívoros do que as plantas não danificadas (Pieterse & Dicke, 2007; Zarate et al. 2007). Neste trabalho foi verificado que em alguns clones (1, 10, 12 e 501) de *C. canephora* foi menor o conteúdo de inibidores de proteases e maior a concentração de proteínas (clone 3) nas folhas com dano do ácaro do que nas folhas sem dano. Como estas características geralmente estão relacionadas à manipulação hospedeira de plantas de tomate por ácaros fitófagos (Sarmiento et al. 2011) poderia se pensar que este fenômeno tivesse ocorrido nestes clones de *C. canephora*. Entretanto tal fato não ocorreu já que nos clones com menores taxas de inibição de proteases e maiores concentrações de proteínas não foi maior o desempenho biológico de *O. ilicis*.

5. CONCLUSÕES

Os 14 clones de *Coffea canephora* cv. Vitória não apresentam resistência por antixenose a *O. ilicis*.

Os clones 1, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13 e 501 de *C. canephora* cv. Vitória apresentam resistência por antibiose a *O. ilicis*. Entre estes os clones 1 e 10 apresentam resistência com maior persistência ao longo do tempo.

A resistência dos clones de *C. canephora* não está correlacionada com a concentração de proteínas e inibidores de proteases nas folhas destas plantas.

6. BIBLIOGRAFIA

- Abdeen, A.; Virgos, A.; Olivella, E.; Villanueva, J.; Aviles, X.; Gabarra, R.; Prat, S. Multiple insect resistance in transgenic tomato plants over-expressing two families of plant proteinase inhibitors. **Plant Molecular Biology**, v.57, p.189-202. 2005.
- Amirhusin, B.; Shade, R.E.; Koiwa, H.; Hasegawa, P.M.; Bressan, R.A.; Murdock, L.L.; Zhu-Salzman, K. Protease inhibitors from several classes work synergistically against *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Insect Physiology**, v.53, p.734-740. 2007.
- Batista, R.B.; Oliveira, M.G.A.; Pires, C.V.; Piovesan, N.D.; Rezende, S.T.; Moreira, M.A. Caracterização bioquímica e cinética de lipoxigenases de plantas de soja submetidas à aplicação de ácidos graxos poliinsaturados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.1517-1524. 2002.
- Bernays, E.A.; Chapman, R.F. **Host-Plant Selection by Phytophagous Insects**. Chapman & Hall: New York. 1994. 312p.
- Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Chemistry**, v.72, p.248-254. 1976.
- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira café**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Brasília. 2012. 18p.
- Fassio, L.H.; Silva, A.E.S. Importância econômica e social do café conilon. In: Ferrão, R.G.; Fonseca, A.F.A.D.; Bragança, S.M.; Ferrão, M.A.G.; Muner, L.H.D. (Eds.). **Café Conilon**. Incaper: Vitória. 2007. p.35-49.

- Fernandes, F.L.; Picanço, M.C.; Gontijo, P.C.; Sena, M.E.F; Guedes, E.J.P; Semeão, A.A. Induced responses of *Coffea arabica* to attack of *Coccus viridis* stimulate locomotion of the herbivore. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.139, p.120-127. 2011.
- Ferrão, M.A.G.; Ferrão, R.G.; Fonseca, A.F.A.; Verdin Filho, C.V.; Volpi, P.S. Origem, dispersão geográfica, taxonomia e diversidade genética de *Coffea canephora*. In: Ferrão, R.G.; Fonseca, A.F.A.D.; Bragança, S.M.; Ferrão, M.A.G.; Muner, L.H.D. (Eds.). **Café Conilon**. Incaper: Vitória. 2007. p.65-91.
- Ferrão, R. G.; Fonseca, A.F.A.; Bragança, S.M.; Ferrão, M.A.G.; Verdin Filho, C.V.; Volpi, P. S. Cultivares de café conilon. In: Ferrão, R.G.;Fonseca, A.F.A.D.;Bragança, S.M.; Ferrão, M.A.G.; Muner, L.H.D. (Eds.). **Café Conilon**. Incaper: Vitória. 2007. p.203-225.
- Fornazier, M.J.; Fanton, C.J.; Benassi, V.L.R.M.; Martins, D.D.S. Pragas do Café Conilon. In: Ferrão, R.G.;Fonseca, A.F.A.D.;Bragança, S.M.; Ferrão, M.A.G.;Muner, L.H.D. (Eds.). **Café Conilon**. Incaper: Vitória, 2007. p.405-449.
- Frischknecht, P.M.; Ulmer-Dufek, J.; Baumann, T.W. Purine alkaloid formation in buds and developing leaflets of *Coffea arabica*: expression of an optimal defence strategy? **Phytochemistry**, v.25, p.613-616. 1986.
- Harris, M.K.; Frederiksen, R.A. Concepts and methods regarding host plant resistance to arthropods and pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v.22, p.247-72. 1984.
- Hower, G.A.; Jander, G. Plant immunity to insect herbivores. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, p.41-66. 2008.

- Jongsma, M. A.; Bakker, P.L.; Peters, J.; Bosch, D.; Stiekema, W.J. Adaptation of *Spodoptera exigua* larvae to plant proteinase-inhibitors by induction of gut proteinase activity insensitive to inhibition. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.92, p.8041-8045. 1995.
- Kakade, M.L.; Rackis, J.J.; Mcghee, J.E.; Puski, G. Determination of trypsin-inhibitor activity of soy products - collaborative analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**, v.51, p.376-382. 1974.
- Karban, R.; Baldwin, I.T. **Induced Responses to Herbivory**. University of Chicago: Chicago. 1997. 330p.
- Krebs, C.J. **Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance**. Harper & Row: New York. 1994. 801p.
- Lawrence, S.D.; Novak, N.G.; Ju, C.J.T.; Cooke, J.E.K. Potato, *Solanum tuberosum*, defense against colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say): microarray gene expression profiling of potato by colorado potato beetle regurgitant treatment of wounded leaves. **Journal of Chemical Ecology**, v.34, p.1013-1025. 2008.
- Marsaro Júnior, A.L.M.; Lazzari, S.M.N.; Pinto Júnior, A.R.P. Inibidores de enzimas digestivas de insetos-praga. **Revista Acadêmica**, v.4, p.57-61. 2006.
- Matiello, J.B. **Café Conilon: como plantar, tratar, colher, preparar e vender**. MM Produções Gráficas: Rio de Janeiro. 1998. 162p.
- Moraes, G.J.; Flechtmann, C.H.W. **Manual de Acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. Holos: Ribeirão Preto. 2008. 308p.

- Morais, E.G.F.; Picanço, M.C.; Barreto, R.W.; Silva, N.R.; Campos, M.R. Biological performance of *Diclidophlebia smithi* (Hemiptera: Psyllidae), a potential biocontrol agent for the invasive weed *Miconia calvescens*. **Biocontrol Science and Technology**, v.20, p.107-116. 2010.
- Nathanson, J.A. Caffeine and related methylxanthines: possible naturally occurring pesticides. **Science**, v.226, p.184-187. 1984.
- Ohta, H.; Ida, S.; Mikami, B.; Morita, Y. Changes in lipoxygenase components of rice seedlings during germination. **Plant and Cell Physiology**, v.27, p.911-918. 1986.
- Parlevliet, J.E.; Zadoks, J.C. The integrated concept of disease resistance, a new view including horizontal and vertical resistance in plants. **Euphytica**, v.26, p.5-21. 1977.
- Peeters, P.J. Correlations between leaf structural traits and the densities of herbivorous insect guilds. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.77, p.43-65. 2002.
- Pieterse, C.M.J.; Dicke, M. Plant interactions with microbes and insects: from molecular mechanisms to ecology. **Trends in Plant Science**, v.12, p.564-569. 2007.
- Prezotti, L.C.; Bragança, S.M.; Martins, A.G.; Lani, J.A. Pragas do café conilon. In: Ferrão, R.G.; Fonseca, A.F.A.D.; Bragança, S.M.; Ferrão, M.A.G.; Muner, L.H.D. (Eds.). **Café conilon**. Incaper: Vitória. 2007. p.331-343.
- Reis, P.R.; Alves, E.B.; Sousa, E.O. Biologia do ácaro vermelho do cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917). **Ciência e Agrotecnologia**, v.21, p.260-266. 1997.

- Romeis, J.; Shelton, A.M.; Kennedy, G.G. **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs**. Springer: Dordrecht, The Netherlands. 2008. 441p.
- Ryan, C.A. Protease inhibitors in plants - genes for improving defenses against insects and pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v.28, p.425-449. 1990.
- Sarmiento, R.A.; Lemos, F.; Bleeker, P.M.; Schuurink, R.C.; Pallini, A.; Almeida Oliveira, M.G.; Lima, E.R.; Kant, M.; Sabelis, M.W.; Janssen, A.A herbivore that manipulates plant defence. **Ecology Letters**, v.14, p.229-236. 2011.
- SAS Institute. **The SAS system for Windows, version 9.2**. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2008.
- Schaller, A. **Induced Plant Resistance to Herbivory**. Springer: Stuttgart, Germany. 2008. 462p.
- Schoonhoven, L.M.; van Loon, J.J.A.; Dicke, M. **Insect-Plant Biology**. Oxford: New York. 2005. 440p.
- Scott, A.J; Knott, M.A.A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30. p.507-512. 1974.
- Smith, C.M. **Plant Resistance to Arthropods Molecular and Conventional Approaches**. Springer: Manhattan. 2005. 421p.
- Smith, C.M.; Clement, S.L. Molecular bases of plant resistance to arthropods. **Annual Review of Entomology**, v.57, p.309-328. 2012.

USDA. **Production, supply and distribution online database**. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdHome.aspx>>. Acesso em 06 de julho de 2012.

Várzea, V.M.P.; Marques, D.V. Population variability of *Hemileia vastatrix* vs coffee durable resistance. In: Zambolim, L.; Zambolim, E.M.; Várzea, V.M.P. (Eds.). **Durable Resistance to Coffe Leaf Rust**. UFV: Viçosa. 2005.

Vila, L.; Quilis, J.; Meynard, D.; Breitler, J.C.; Marfa, V.; Murillo, I.; Vassal, J.M.; Messeguer, J.; Guiderdoni, E.; San Segundo, B. Expression of the maize proteinase inhibitor (mpi) gene in rice plants enhances resistance against the striped stem borer (*Chilo suppressalis*): effects on larval growth and insect gut proteinases. **Plant Biotechnology Journal**, v.3, p.187-202. 2005.

Volpicella, M.; Ceci, L.R.; Gallerani, R.; Jongsma, M.A.; Beekwilder, J. Functional expression on bacteriophage of the mustard trypsin inhibitor MTI-2. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.280, p.813-817. 2001.

Wei, J.N.; Zou, L.; Kuang, R.P.; He, L.P. Influence of leaf tissue structure on host feeding selection by pea leaf miner *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). **Zoological Studies**, v.39, p.295-300. 2000.

Zarate, S.I.; Kempema, L.A.; Walling, L.L. Silverleaf whitefly induces salicylic acid defenses and suppresses effectual jasmonic acid defenses. **Plant Physiology**, v.143, p.866-875. 2007.