

MARCOS ANTÔNIO BARBOSA MOREIRA

**IDENTIFICAÇÃO, DINÂMICA DA PRODUÇÃO E POTENCIAL DE USO DO
FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DE *Pseudopiazurus obesus* (BOHEMAN, 1838)
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor, pelo Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Entomologia, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

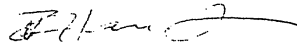
Orientador: Prof. Dr. Paulo H. G. Zarbin

Curitiba
2005

MARCOS ANTÔNIO BARBOSA MOREIRA

“IDENTIFICAÇÃO, DINÂMICA DA PRODUÇÃO E POTENCIAL DE USO DO FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DE *Pseudopiazurus obesus* (BOHEMAN, 1838) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE).”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de “Doutor em Ciências”, no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



Prof. Dr. Paulo Henrique Gorgatti Zarbin (Orientador)

UFPR



Prof. Dr. José Roberto Postali Parra

ESALQ/USP



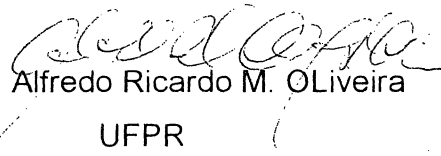
Dr. Antonio Ricardo Panizzi

Embrapa/Soja - Londrina PR



Profa. Dra. Lúcia Massutti de Almeida

UFPR



Prof. Dr. Alfredo Ricardo M. Oliveira

UFPR

Curitiba, 11 de agosto de 2005.

Agradecimentos

Ao orientador, prof. Dr. Paulo Henrique G. Zarbin, pela amizade, transparência e acuidade na orientação e por acreditar em mim no enfrentamento deste desafio e na realização deste sonho;

À Embrapa pelo vínculo empregatício e ajuda de custo;

Aos Departamentos de Química e de Ciências Biológicas/Entomologia da UFPR, os quais por meio do apoio logístico existente, viabilizaram em toda a sua plenitude, o presente treinamento;

Aos professores do curso de Entomologia, em especial atenção ao Dr. Germano H. Rosado-Neto pela sexagem das brocas e amizade e ao Dr. Vinalto Graff, pela identificação dos parasitóides;

Ao setor de recursos humanos da Embrapa-CPATC, pelo apoio logístico institucional;

Ao Dr. Wittko Francke, do Departamento de Química da Universidade de Hamburgo, Alemanha, pela importante colaboração na identificação e síntese do papaianol;

À direção da EMPARN, especialmente aos Drs. Guilherme, Marcone César e José Flamarion, que disponibilizaram laboratórios, pesquisadores e veículos para coleta de material em campo;

Ao meu irmão, Alexandre Magno Barbosa Moreira, pela generosidade na doação de passagens aéreas, equipamento de informática e ajuda financeira, os quais foram de grande relevância para a realização deste treinamento;

Ao prof. Dr. Alfredo Ricardo, pela genialidade em resolver os entraves laboratoriais;

Ao Dr. Domingo Haroldo - Embrapa Mandioca e Fruticultura, pela colaboração institucional na condução dos experimentos efetuados na Bahia;

À Dra. Marilene Fancelli - Embrapa Mandioca e Fruticultura, que gentilmente enviou várias remessas de insetos e pelo apoio logístico para a instalação e condução dos experimentos efetuados em campo na Bahia;

Aos técnicos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, José Carlos Néri e Nilton Leite pela colaboração nos experimentos de campo efetuados na Bahia e envio de material;

Ao Dr. Rômulo Carvalho - Embrapa Mandioca e Fruticultura, que gentilmente nos auxiliou na instalação e condução dos experimentos efetuados em campo na Bahia;

A EMATER-RN, especialmente ao Dr. José Francisco da Silva Sobrinho, pelas coletas e auxílio na instalação e condução dos experimentos no Rio Grande do Norte;

À Maria de Fátima P. Barreto e Ernesto Espínola Sobrinho, pelas coletas de material biológico e colaboração na instalação dos experimentos em campo realizados no Rio Grande do Norte;

A Florisvaldo Xavier, que gentilmente enviou várias remessas de insetos e pela companhia nas viagens de coleta de material em campo no Rio Grande do Norte;

À Dra. Miryan Denise Coracini, pela cessão de material bibliográfico e participação nos artigos;

Aos Drs. Ari e Mário Menezes, da Biocontrole que gentilmente nos cederam as armadilhas para a realização dos testes em campo na Bahia;

Ao Dr. Miguel Borges, Embrapa - Recursos Genéticos, pela sua colaboração e esforço pessoal junto à Embrapa, os quais contribuíram na nossa aprovação neste treinamento;

Aos produtores de mamão do RN e BA, que permitiram a instalação de experimentos e a coleta de material para a consecução das pesquisas;

Ao secretário Jorge, pela tramitação documental e apoio logístico durante o curso;

Aos colegas de curso de Entomologia, Alberto Marsaro Júnior, Amábilio Camargo, Marlon Palunch, Marion de Rocio, Lisete Lorini, Bianca Ambrogi, José Aldir, Adenomar, José Ricardo Mermudes, Marcela Monné, Gustavo Graciolli, Sílvio, Jaime, e Jonny Duque pela amizade e companheirismo;

Aos colegas do LEQSO/UFPR, Davi Silva, Carlos Delay, César Lenz, Celso Wosch, Edison Perevalo, Rogério Gariani, Fernanda Luise, Carine Poier, Jéferson Princival, José Augusto, Marcos de Oliveira, Alberto (polaco), Alcindo dos Santos e Ademir Zimmermann, pela amizade e apoio no enfrentamento das dificuldades junto às rotineiras análises laboratoriais e nos momentos de descontração junto ao “beer toldo.”

Às pessoas que indiretamente ajudaram a realizar este treinamento;

A Deus, pela saúde, proteção e por iluminar o meu caminho ao longo desta jornada.

Apresentação

A presente tese de doutorado está fundamentada na identificação, dinâmica da produção e potencial de uso do feromônio de agregação de *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae). Está composta por uma introdução sobre a praga e uma breve revisão bibliográfica sobre feromônios e dividida em cinco capítulos, os quais foram formatados, parcialmente, como artigos científicos visando a agilidade na ocasião da submissão destes para revistas e periódicos.

O capítulo I abordou os procedimentos usados para criação da broca-do-mamoeiro em condições de laboratório. O capítulo II evidenciou a existência de três compostos macho-específicos mediando a comunicação química da espécie. No capítulo III foi estabelecida a atribuição química dos compostos macho-específicos grandisal, grandisol e papaianol e avaliada a atividade biológica destes em função da resposta comportamental dos insetos. No capítulo IV determinou-se a dinâmica da produção dos compostos feromonais e a interferência dos fatores endógenos e exógenos na resposta comportamental dos insetos. Por fim, no capítulo V, avaliou-se a atratividade/captura dos espécimes em armadilhas com os compostos sintéticos em condições de campo.

SUMÁRIO

Agradecimentos.....	I
Sumário.....	IV
Apresentação.....	VII
Resumo.....	VIII
Abstract.....	IX
Introdução Geral.....	1
Referências Bibliográficas.....	11
CAPÍTULO I- Criação de insetos da broca-do-mamoeiro, <i>Pseudopiazurus obesus</i> (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae), em condições de laboratório.....	15
Resumo.....	16
Abstract.....	17
Introdução.....	18
Material e métodos.....	19
Resultados e discussão.....	24
Referências Bibliográficas.....	30

CAPÍTULO II- Evidências comportamentais e cromatográficas da mediação por semioquímicos na comunicação química da broca-do-mamoeiro, <i>Pseudopiazurus obesus</i> (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae).....	31
Resumo.....	32
Abstract.....	33
Introdução.....	34
Material e métodos.....	35
Resultados e discussão.....	39
Referências Bibliográficas.....	48

CAPÍTULO III - Identificação química dos compostos feromonais e avaliação da atividade biológica sobre o comportamento da broca-do-mamoeiro <i>Pseudopiazurus obesus</i> (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae)	51
Resumo.....	52
Abstract.....	53
Introdução.....	54
Material e métodos.....	56
Resultados e discussão.....	61
Referências Bibliográficas.....	81

CAPÍTULO IV- Dinâmica da produção do feromônio de agregação da broca-do-mamoeiro, <i>Pseudopiazurus obesus</i> (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae).....	82
Resumo.....	83
Abstract.....	84
Introdução.....	85
Material e métodos.....	86
Resultados e discussão.....	89
Referências Bibliográficas.....	100
CAPÍTULO V - Atratividade de armadilhas utilizando feromônios de agregação na captura da broca-do-mamoeiro, <i>Pseudopiazurus obesus</i> (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae), em condições de campo.....	102
Resumo.....	103
Abstract.....	104
Introdução.....	105
Material e métodos.....	106
Resultados e discussão.....	108
Referências Bibliográficas.....	116
CONCLUSÕES GERAIS.....	118
PERSPECTIVAS DE TRABALHO.....	120

Identificação, dinâmica da produção e potencial de uso do feromônio de agregação de *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae).

Resumo

A pesquisa objetivou identificar, determinar a dinâmica da produção e avaliar o potencial de uso do feromônio de agregação de *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838), (Coleoptera: Curculionidae), visando à possibilidade do uso desta alternativa no monitoramento e controle desta praga. O estudo consistiu em três fases, sendo a primeira envolvendo a criação dos insetos; a segunda a obtenção dos voláteis dos insetos e avaliação destes no comportamento dos co-específicos e a terceira abrangendo isolamento, identificação e avaliação da atividade biológica do feromônio sintético em laboratório. Ações complementares de pesquisa ainda foram desenvolvidas como a determinação da dinâmica da produção do feromônio e avaliação da captura dos espécimes em armadilhas a campo. Os principais resultados foram: machos e fêmeas são mais atraídos para voláteis de insetos machos adicionado a partes da planta hospedeira (caule fresco do mamoeiro), sugerindo ação sinérgica e potencializando a atratividade de co-específicos; a liberação do feromônio inicia a partir do 18^o DAE (dias após a emergência) e ocorre durante a escotofase, sendo observado o pico de produção 4 - 6 h após o seu início; machos virgens e acasalados são semelhantes quanto à produção de feromônio e esta é dependente da planta hospedeira; a duração da produção ocorre até aos 105 DAE; o feromônio é do tipo agregação; grandisal, grandisol e papaianol (composto majoritário, intermediário e minoritário, respectivamente), constituem as substâncias feromonais da espécie; as misturas ternárias e grandisal mostraram ser biologicamente ativos na atratividade de co-específicos; armadilhas colocadas a 1,50 m de altura capturaram mais espécimes em condições de campo.

Identify and production of dynamic and use potential of aggregation pheromone the papaya weevil, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838), (Coleoptera: Curculionidae)

Abstract

The aim of this study was to isolate and identify the aggregation pheromone the papaya weevil, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838), (Coleoptera: Curculionidae), in order to develop new monitoring and control methods against this pest. The study is based in three stages. The first stage was the rearing of papaya weevil; in the second stage, volatiles were obtained from males and females adults to be evaluated biological activity its in behavioral of the weevils; the third stage experiments were carried out isolation and identification of the aggregation pheromone and to evaluate the biological activity this compounds in behavioral of weevils. The main results was: male and female adults were attracted to volatiles obtained from male adults plus trunk pieces of the host plant. These results demonstrate that host plant volatiles, promote a synergistic effect when added to male extracts; the male adults are the main responsible for the pheromone release, which starts from the 18th day after emerging; pheromone emission occurs at the scotophase, with a higher emission from 4h to 6h after the onset of the scotophase; there is no difference between pheromone emission from virgin or mated males, but there is difference among volatiles collected from males with or without food; pheromone release is affected by the food quality and decrease within time; occurring until the 105 day of life; three male-specific compounds: grandisal (main pheromone component), grandisol and papaianol are the pheromonals compounds; the ternary mixtures and grandisal show biological activity in both sexes of the papaya weevil; traps localized in 1,50 meter higher show best performance in the captures of weevils in field conditions.

Dedico o presente trabalho em reconhecimento e eterna gratidão, aos esforços envidados pelos meus pais, Walter Lima Moreira (in memoriam) e Maria do Carmo Barbosa Moreira, que sacrificaram suas vidas para garantir a educação dos seus filhos, por acreditarem que esta seria a melhor alternativa para a formação pessoal e profissional. Foi uma longa e árdua caminhada em prol do conhecimento e incessante busca para o fortalecimento da competitividade profissional, a qual concretiza-se com este curso, abrindo-se novas possibilidades para outros desafios. Meus queridos e amados pais, vocês fazem parte deste meu caminho.

Ofereço este trabalho, aos meus filhos, Alessandra e Fábio Vinícius, razões e inspirações da minha vida e à querida esposa, Dinah Moreira, pela dedicação e resignação frente à administração familiar e pela complacente compreensão, durante as minhas habituais ausências motivadas pela profissão, me deu força e suporte não só para a concretização deste curso, mas acima de tudo, para o projeto de minha vida.

Introdução

O mamoeiro *Carica papaya* L. (Família, Caricaceae) é uma das fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Chen *et al.* 1991). Possui frutos aromáticos, ricos em vitamina C, utilizados amplamente em dietas alimentares pelo seu valor nutritivo e digestivo. Os países maiores produtores, considerando a área de plantio, são pela ordem: Nigéria, Índia, Brasil, Indonésia, México, Peru, República Democrática do Congo, Tailândia, Colômbia e China. A área total da cultura está em torno de 342.000 ha e o volume de produção é de 5,4 milhões de toneladas de frutos (Alves 2003). Cerca de 75% da produção mundial concentram-se em apenas cinco países e segundo Nakamae (2003), o Brasil é a nação que apresenta a maior produção de mamão, 1.440.000 t. O mamoeiro é cultivado em todo o território brasileiro, sendo a região Nordeste onde se concentra a maior área de plantio: cerca de 30 mil ha. Seguem pela ordem as regiões Sudeste com 7 mil ha; Norte, com 3 mil ha; Sul, com 484 ha; e Centro-Oeste, com 300 ha (Alves 2003).

O mamoeiro está sujeito ao ataque de várias pragas devido à sua baixa plasticidade genética, da qual se cultivam apenas três espécies de mamão (Luna 1986) e pela grande diversidade de agroecossistemas propiciados pela abertura de novas fronteiras agrícolas, como as Regiões Norte e Nordeste do país (Giacometti & Ferreira, 1988; Moreira *et al.* 2003). Dentre as pragas que estão associadas à cultura do mamão, existem três categorias em função da frequência dos surtos e dos prejuízos econômicos por elas provocados. Sendo assim, como pragas-chave ou principais consideram-se aquelas cujos surtos ocorrem com frequência, provocando danos econômicos e exigindo medidas de controle (Sanchez *et al.* 1995), destacando-se para o mamoeiro: o ácaro-branco ou do ponteiro, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904), o ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) e o pulgão verde, *Myzus persicae* (Sulzer, 1776). Os ácaros constituem as

mais sérias pragas da cultura causando danos e redução do vigor da planta e, conseqüentemente, limitando a produtividade (Gallo *et al.* 2002). O pulgão verde é o provável vetor de fitoviroses como o vírus do mosaico, a meleira e a macha angular, que são as mais expressivas doenças da cultura (Farias & Almeida, 1995). Entretanto, algumas espécies, mesmo consideradas de importância secundária como o mandarová, as cochonilhas e a broca do tronco, têm se apresentando em algumas regiões, esporadicamente ou com certa freqüência, causando danos consideráveis à cultura (Martins 2003).

Dentre as pragas secundárias, a espécie *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838), (Curculionidae), conhecida vulgarmente como broca-do-mamoeiro, vem se constituindo numa praga de importância econômica para as áreas produtoras das Regiões Norte e Nordeste (Moreira *et al.* 2003). A implantação e o desenvolvimento da Produção Integrada de Mamão no Brasil (Martins *et al.* 2003), que tem o controle integrado de pragas como um forte componente para racionalizar e minimizar a pressão química exercida pelos inseticidas químicos nesta cultura, irá reduzir significativamente o uso destas substâncias em função da rastreabilidade destes resíduos e das exigências dos mercados internos e externos. Com isso, especula-se que a curto-prazo, a broca-do-mamoeiro em função da freqüência dos seus surtos e pela expressividade dos danos, poderá mudar do status de praga secundária para praga-chave nesta cultura.

A broca-do-mamoeiro ocorre praticamente durante todo o ano, principalmente em pomares mal manejados e de baixo nível tecnológico, onde, sob essas condições, a praga é abundante servindo como potencial de inóculo para se disseminar para outras áreas (Moreira *et al.* 2003). Os danos podem ser caracterizados por lesões irreversíveis causadas na planta devido à ação das larvas que, ao se alimentarem, provocam a destruição dos tecidos meristemáticos e obstruem a passagem da seiva causando o broqueamento do caule, que sob alta infestação pode levar à morte da planta (Farias & Almeida, 1995). As plantas inicialmente atacadas apresentam

como sintomas característicos, manchas escuras no caule provocadas pelas perfurações dos ovipositores (Bondar 1948; Gallo *et al.* 2002).

As larvas possuem cor branca e corpo recurvado e se alimentam da porção cortical do caule, formando galerias no seu interior. Após três meses, as larvas, ainda nas galerias, constroem as câmaras pupais, na região do córtex da planta. O período pupal varia de 30 a 40 dias (Gallo *et al.* 2002). Os insetos adultos, tanto machos como fêmeas, medem 10 mm de comprimento por 6 mm de largura; possuem coloração cinza e hábito noturno; durante o dia podem ser encontrados em repouso sobre caules de mamoeiro, sob fendas naturais próximas aos frutos e sob a copa da planta (Gallo *et al.* 2002; Moreira *et al.* 2003).

O controle dessa broca por meio de inseticidas químicos, principalmente à base de produtos organofosforados e carbamatos, fica dificultado pelas características do seu ataque, uma vez que são coleobrocas e não são atingidos pelos inseticidas convencionais, utilizados em pulverizações e no pincelamento do caule (Moreira *et al.* 2003).

O uso exclusivo do controle químico de modo geral, originou vários problemas de contaminação ambiental, traduzindo-se no desequilíbrio ecológico entre as pragas e seus agentes de controle natural. Propiciou o aparecimento de pragas secundárias, indução da resistência das pragas aos princípios ativos e presença indesejada de resíduos químicos no produto final (Moreira *et al.* 2005). A crescente demanda pela proteção ambiental e a segurança alimentar, somada às exigências de mercado tem requerido da comunidade científica a busca por novos métodos mais racionais e seguros de controle das pragas. O estudo do comportamento dos insetos propiciou o desenvolvimento de novos métodos que estão sendo adotados em programas de manejo integrado de insetos-praga. Neste contexto, a utilização de semioquímicos principalmente os feromônios, surgem como alternativa para ser utilizada no manejo de pragas de difícil detecção e controle (Borges & Aldrich, 2001).

A aplicabilidade de semioquímicos, por meio de feromônio de agregação e de caïromônios, tem contribuído para a redução dos danos provocados em várias espécies de brocas pertencentes à família Curculionidae, devido à eficiência da captura massal por meio destas substâncias, onde os resultados alcançados, nestes casos, apresentaram-se mais eficientes que a alternativa do controle químico (Oehlschlager 1993). Um sistema de detecção dos insetos adultos por meio de armadilhas contendo feromônio de agregação e a captura massal poderão ser uma ferramenta importante para prevenir os danos provocados pela broca-do-mamoeiro e tornar o seu controle mais econômico, efetivo e seguro sob o ponto de vista ambiental, propiciando a racionalização de agroquímicos no ambiente e preservando os inimigos naturais no agroecossistema.

Assim, o objetivo geral desta pesquisa foi identificar, determinar a dinâmica da produção e avaliar o uso potencial do feromônio de agregação de *Pseudopiazurus obesus* visando o seu emprego em programas voltados ao manejo integrado junto às demais pragas associadas à cultura do mamão.

Revisão de Literatura

O interesse científico pela comunicação olfativa dos insetos por meio de semioquímicos foi evidenciado a partir da década de 1950, coincidindo com a identificação química do primeiro feromônio de inseto, na Alemanha, em fêmeas de *Bombyx mori*, (Lepidoptera: Bombycidae) denominado Bombicol (Butenandt *et al.* 1959). O termo feromônio foi empregado para a nova classe de substâncias químicas usadas na comunicação olfativa, sendo que “pherein”, do grego, significa carregar e “horman” estimular. Feromônio pode ser definido como uma substância secretada por um indivíduo para o exterior e recebido por um segundo, da mesma espécie, provocando uma reação específica ou um processo de desenvolvimento fisiológico específico

(Nascimento & Santana, 2001). Há feromônios que possuem ação desencadeadora, provocando uma mudança imediata no comportamento do inseto. Os principais são os feromônios: sexual, de agregação, de dispersão, de trilha, de territorialidade, de alarme e de oviposição (Vilela & Della Lúcia, 1987).

Parte integrante do comportamento animal é a comunicação, definida como um processo que envolve a transmissão de sinais entre organismos. Em algumas situações confere vantagens apenas para o organismo emissor e seu grupo; em outras situações, há vantagens apenas para os organismos receptores ou para ambos os organismos emissores e receptores da mensagem (Vilela & Della Lúcia, 1987). A integração de estudos biológicos comportamentais e químicos para o emprego de semioquímicos em agroecossistemas constitui uma área de pesquisa conhecida como Ecologia Química.

Os insetos são os seres vivos que mais utilizam os odores para desempenhar suas funções vitais como: localização de presas, defesa e agressividade, seleção de plantas hospedeiras, escolha dos locais para oviposição, corte e acasalamento (Vilela & Della Lúcia, 2001). Essa comunicação pode ser efetuada entre organismos da mesma espécie (feromônios) ou entre espécies diferentes (caiomônios, alomônios) e inclusive entre plantas (Dicke *et al.* 1990).

A pesquisa entomológica nos últimos anos, em consonância com os anseios da sociedade por preservação do meio ambiente, pela obtenção de produtos mais saudáveis e isentos de resíduos de agrotóxicos, tem sido direcionada para a busca de alternativas promissoras que possam ser empregadas em programas de manejo integrado de pragas (Borges & Aldrich, 2001). Semioquímicos (feromônios, caiomônios, alomônios e sinomônios) têm sido investigados intensivamente por vários pesquisadores da área de controle de pragas por mais de quatro décadas. Como resultado, excelentes caminhos para o seu emprego foram descobertos, e vários programas que os utilizam têm sido implementados (Moreira *et al.* 2005).

Na década de 1960, cerca de 20 espécies tiveram o seu feromônio identificado. Durante a década de 1970, o número aumentou para mais de 200 e no final da década de 1980, para mais de mil espécies de insetos (Embrapa, 2002; Moreira *et al.* 2005). Atualmente, os países que mais empregam feromônios são Egito, EUA, França, Israel e Alemanha, embora em volume ainda pequeno, comparativamente com o emprego de inseticidas convencionais. A partir da década de 1990, tem ocorrido no Brasil a descoberta de diversos feromônios promissores para o manejo de insetos-praga em um grande número de culturas (Embrapa 2002). Progresso tem sido alcançado em anos recentes de monitoramento e controle de insetos com feromônios. As pesquisas com semioquímicos no Brasil têm sido alavancadas pelo esforço das universidades, associações de produtores, cooperativas etc. e, muitas vezes, inclui colaboração internacional, o que tem surtido efeito a fim de que seja colocado à disposição no mercado um novo composto para controle de pragas (Embrapa 2002).

Em termos de mercado de biopesticidas, os semioquímicos correspondem a 30% do mercado de produtos biológicos e são, provavelmente, o terceiro em importância depois de bactérias e inseticidas botânicos (Embrapa 2002). Atualmente, o mercado mundial da indústria de semioquímicos, envolvendo técnicas de monitoramento e controle, está estimado em mais de US\$ 80 milhões, com a distribuição de um terço deste valor para a América do Norte (Canadá, México e EUA); outro terço para a Europa, Norte da África e Oriente Médio; e o restante para Ásia, Leste Europeu, e o resto do mundo (América do Sul, África do Sul, Austrália e Nova Zelândia) (Embrapa 2002; Moreira *et al.* 2005).

O uso de feromônio normalmente é feito de modo integrado às técnicas tradicionais de controle e cultivo e são usados freqüentemente no monitoramento e controle de centenas de insetos-praga de importância agrícola (Ridgway *et al.* 1990). A partir da descoberta desses aspectos comportamentais, surgiram novos conceitos no manejo e no controle de insetos-praga.

A possibilidade de manipular esses estímulos químicos, em particular os semioquímicos, permitiu modificar o comportamento dos insetos e regular a sua sobrevivência com as chamadas substâncias “modificadoras de comportamento” as quais são as mais utilizadas no manejo e regulação de populações de insetos-praga (Vilela & Della Lúcia, 2001).

Atualmente, um dos principais desafios na pesquisa sobre feromônios é a maneira pela qual os comportamentos estimulados por feromônios são observados e analisados (Borges & Aldrich, 2001). Sem a compreensão completa e precisa do comportamento, a aplicação prática de feromônios nunca poderá ser totalmente realizada.

Em vários estudos sobre insetos-praga pertencente à família Curculionidae compostos atrativos obtidos de voláteis de insetos e da planta hospedeira têm sido relatados em mais de 34 espécies (Bartelt 1999) e várias brocas têm sido atraídas e capturadas para voláteis de seus co-específicos, associados às plantas hospedeiras.

Curculionidae é a maior família de coleópteros, com mais de 40.000 espécies mundialmente distribuídas (Arnett 1993). Utiliza uma grande diversidade de plantas hospedeiras bem como uma grande variedade de habitats. Muitos destes coleópteros são pragas agrícolas importantes, despertando o interesse pela pesquisa em buscar medidas de controle mais seguras e duradouras, visando a reduzir os impactos dos seus danos e minimizar os custos e efeitos deletérios ao meio ambiente por meio da adoção de técnicas voltadas ao seu controle (Moreira *et al.* 2004). Na Tabela 1 são listados os principais coleópteros-praga da família Curculionidae e os seus feromônios associados.

Tabela 1. Principais espécies de Curculionidae e os seus feromônios associados.

Espécie	Sexo	Nome do feromônio
<i>Anthonomus grandis</i> (Boheman)	macho	Grandisol + três compostos (Tumlinson 1969)
<i>Anthonomus eugeni</i>	macho	Geraniol e ácido gerânico (Eller <i>et al.</i> 1994)
<i>Cosmopolites sordidus</i> (Germar)	macho	Sordidina (Mori <i>et al.</i> 1996)
<i>Metamasius hemipterus</i> (L.)	macho	4-metil-5-nonanol; 2-metil-4-heptanol; 5-nonanol (Rochat <i>et al.</i> , 1993)
<i>Pissodes strobi</i> (Peck)	macho	Grandisal (Booth <i>et al.</i> 1983)
<i>Rhynchophorus ferrugineus</i> (Olivier)	macho	Ferruginol (Hallett <i>et al.</i> 1993)
<i>Rhynchophorus palmarum</i> (L.)	macho	Rhynchophorol (Oehlschlager <i>et al.</i> 1992)
<i>Rhynchophorus phoenicis</i> (F.)	macho	Phoenicol (Gries <i>et al.</i> 1993)
<i>Sitophilus granarius</i> (L.)	macho	Sithophilate (Phillips <i>et al.</i> 1985)
<i>Sitophilus oryzae</i> (L.)	macho	Sithophilure (Phillips <i>et al.</i> 1981)
<i>Sitophilus zeamais</i> (Mots)	macho	Sithophilure (Walgenbach <i>et al.</i> 1987)

Feromônios de agregação em coleópteros, geralmente, são produzidos pelos insetos machos e usualmente, atraem ambos os sexos; este tipo de feromônio funciona a longa distância, como no caso do bicudo do algodoeiro (Cross & Mitchell, 1966). Entretanto, feromônios também são relatados em fêmeas, incluindo feromônio sexuais, que atraem os machos exclusivamente. Existem os feromônios de contato, que atuam a curta distância, os quais permitem reconhecer os co-específicos e feromônio de deterrência de oviposição, que as fêmeas utilizam para marcar os sítios de oviposição e evitar a sobreposição de oviposição por fêmeas da mesma espécie ou por outras de espécies diferentes (Bartelt 1999).

A maioria dos coleópteros-praga, principalmente os de produtos armazenados, provavelmente, utiliza os feromônios de agregação visando a atenuar a resistência do hospedeiro e deixar este habitat mais adequado (Levinson & Levinson, 1994). Em ambiente de armazenagem onde sementes e outros produtos pós-colheita são mantidos sob condições de baixas temperaturas e umidade relativa do ar, o feromônio de agregação pode funcionar para reunir um grande número de indivíduos com o propósito de alterar as condições microclimáticas desse local (Landolt 1997), as quais são parcialmente provocadas pelo metabolismo dos produtos e pelas atividades dos insetos-praga. Sob estas condições ambientais específicas, poderia haver, por parte de determinadas espécies, uma necessidade pré-adaptativa dos feromônios de agregação visando possibilidades de obtenção de êxito nas infestações de insetos adultos, na alimentação e sobrevivência em produtos armazenados (Raffa *et al.* 1993).

Feromônios de agregação também podem funcionar na regulação de densidade populacional (Mignon *et al.* 1996). Altas densidades populacionais causam redução na fecundidade, debilitam a oviposição e aumentam a mortalidade (Pierce 1990). Entretanto, coleópteros que apresentam altas densidades populacionais são menos atraídos para o feromônio de agregação, ou em certas condições, podem até ser repelidos pela ação dos mesmos (Pierce 1990). Em certas espécies, como *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae), os insetos quando mantidos sob condições de baixas densidades populacionais, produzem duas vezes mais feromônio, do que em altas densidades (Pierce 1990).

A vantagem evolutiva dos machos que produzem feromônios é difícil de entender, uma vez que não atraem somente fêmeas para o acasalamento, mas também competidores co-específicos. Uma das explicações é que a função primária original da especificidade da produção de feromônio dos machos é comprovadamente para potencializar a atração e efetuar o acasalamento (Landolt 1997). Neste contexto, a função primária para a produção de feromônio de

agregação dos insetos machos é para atrair outros machos e fêmeas da mesma espécie para vencer as defesas do hospedeiro ou microclimas inadequados (Raffa *et al.* 1993).

Acasalamentos por meio da mediação de feromônios de agregação têm importância secundária, desde que adultos das espécies que utilizam este feromônio possuam relativamente vida longa (Raffa *et al.* 1993). Este sistema é análogo para a mesma estratégia que usam alguns escolítideos, em que os feromônios de agregação foram bastante estudados. Durante a primeira fase, quando os insetos adultos se agregam em uma planta hospedeira, o feromônio emitido pelos insetos pioneiros recruta espécimes suficientes para vencer a resistência e defesas do hospedeiro. Assim, os machos devem primeiro localizar a fonte de alimento antes de poder atrair os seus co-específicos (Borden *et al.* 1979).

Referências Bibliográficas:

- ALVES, F. L. A cultura do mamão *Carica papaya* no mundo, no Brasil e no Espírito Santo, 13-34 p. *In*: COSTA, A. de F. S. da. (eds). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória, ES:Incaper, 2003, 497 p.
- ARNETT, R. H. JR. 1993. **American Insects**: a Handbook of the insects of American North of Mexico. Sandhill Crane Press, Gainesville, Florida, 850 p.
- BARTELT, R. J. 1999. Weevils. *In* J. HARDIE & A. K. MINKS (eds), **Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants**. CAB International, London, UK, 92-112 p.
- BONDAR, G. 1948. Broca do mamoeiro. **Boletim do campo**, N° 23. Rio de Janeiro, julho e agosto.
- BORDEN, J. H.; M. G. DOLINSK.; L. CHONG; V. VERIGIN; H. D. PIERCE JR.; A. C. OEHLSCHLAGER. 1979. Aggregation pheromone in the rusty grain beetle, *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Cucujidae). **Canadian Entomologist** **111**, 681- 688 p.
- BORGES, M. & ALDRICH, J. R. 2001. Feromônio de Heteroptera: Oportunidades para o manejo de Insetos benéficos, 93-98 p. *In*: **Feromônios de Insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas** (2nd. Ed.) E. F. Vilela & T. M. C. Della Lúcia, (eds). Ribeirão Preto-SP: Holos Editora, 206 p.
- BOOTH, D. C.; T. W. PHILLIPS; A. CLAESON; R. M. SILVERSTAIN; G. N. LANIER; J. R. WEST. 1983. Aggregation pheromone components of two species of *Pissodes* weevils (Coleoptera: Curculionidae): isolation, identification, and field activity. **Journal of Chemical Ecology** **9**, 1-12.
- BUTENANDT, A.; R. BECKMANN; D. STAMM & E. HECKER. 1959. Über den Sexuallockstoff des Seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitution. **Z. Naturforsch.** **14**: 283-284.
- CHEN, M. H.; C. C. CHEN; D. N. WANG; F. C. CHEN. 1991. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of *Carica papaya* x *Carica cauliflora* cultured in vitro. **Canadian Journal of Botany** **69** n.9, 1913-1918.
- CROSS, W. H. & H. C. MITCHELL. 1966. Mating behavior of the female boll weevil. **Journal of Economic Entomology** **59**, 1503-1507.

- DICKE, M.; M. W. SABELIS; J. TAKABAYASHI & M. A. POSTHUMUS. 1990. Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: Prospects for application in pest control. **Journal Chemical Ecology** **16**: 3091-118.
- ELLER, F. J.; R. J. BARTELT; B. S. SHASHA; D. J. SCHUSTER; D. G. RILEY; P. A. STANSLY; T. F. MUELLER; K. D. SHULER; B. JOHNSON; J. H. DAVIS & C. A. SUTHERLAND. 1994. Aggregation pheromone for the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae): identification and field activity. **Journal of Chemical Ecology** **20**, 1537-1555.
- Embrapa.** www.embrapa.br. Cenargen. br. Consulta em 10/03/2002.
- FARIAS, A. R. N. & O. A. ALMEIDA. 1995. Ocorrência de *Pseudopiazurus papayanus* em Cruz das Almas, Bahia. Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF, **Mamão em Foco** **49**.
- GALLO, D.; O. NAKANO; S. SILVEIRA NETO; P. L. CARVALHO; G. C. BATISTA; E. BERTI-FILHO; J. R. P. PARRA; R. A. ZUCCHI; S. B. ALVES; J. D. VENDRAMIN; L. C. MARCHINI; J. R. S. LOPES; C. OMOTO. 2002. **Entomologia Agrícola**. São Paulo- SP; Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 920 p.
- GRIES, G.; R. GRIES; A. L. PEREZ; A. C. OEHLISCHLAGER; L. M. GONZALES; H. D. PIERCE JR; M. KOUDABONAFOS; M. ZEBEYOU & N. NANOU. 1993. Aggregation pheromone of the African palm weevil *Rhynchophorus phoenicis*, **Natuerwissenschaften** **80**, 80-91.
- GIACOMETTI, D. C.; F. R. FERREIRA. 1988. Melhoramento genético do mamão no Brasil e perspectivas. In: RUGGIERO, C. (ed). **Mamão**. Jaboticabal, SP. 377-388 p.
- HALLETT, R. H.; G. GRIES; R. GRIES; J. H. BORDEN; E. CZYZEWSKA; A. C. OEHLISCHLAGER; H. D. PIERCE JR; N. P. D. ANGERILLI & A. RAUF. 1993. Aggregation pheromone of two Asian palm weevils, *Rhynchophorus ferrugineus* and *R. vulneratus*, **Natuerwissenschaften** **80**, 328-331.
- LANDOLT, P. J. 1997. Sex attractant and aggregation pheromone of male phytophagous insects. **American Entomologist** **43**, 12-22.
- LEVINSON, H. Z.; LEVINSON, A. R. 1994. Origin of grain storage and insect species consuming desiccated food. **Anziger für Schädlingkunde und Umweltschutz** **67**, 47-60.
- LUNA, J. V. U. 1986. Comportamento de variedades e seleções de mamoeiro (*Carica papaya* L.) no Estado da Bahia, 525-533 p. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura 3, Rio de Janeiro, 1986. Campinas, Sociedade Brasileira de Fruticultura, **Resumos** **2**.
- MARIN, S. L. D. & C. RUGGIERO. 1988. Toxicidade de inseticidas, acaricidas e fungicidas ao mamoeiro cv. Solo, 219-228 p. In: **Simpósio Brasileiro sobre a cultura do mamoeiro**, **2**, Jaboticabal, SP. Jaboticabal, SP, FCAV/UNESP.

- MARTINS, D. S. 2003. Manejo de pragas do mamoeiro. *In*: MARTINS, D. dos S & COSTA, A. de F. S. da. (eds). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória, ES:Incaper, 2003, 497 p.
- MIGNON, J.; E. HAUBRUGE; V. LIENARD; C. H. GASPAR; G. LOGNAY. 1996. Mortality in *Oryzaephilus surinamensis* following short-term exposure to conditioned kernels by high-density culture. **Entomologia Experimentalis et Applicata** **80**, 555-557.
- MOREIRA, M. A. B.; P. H. G. ZARBIN; G. H. ROSADO-NETO; M. F. P. BARRETO; J. F. S. SOBRINHO; M. BORGES. 2003. A broca-do-mamoeiro e recomendações de controle. **Circular Técnica 35**; Embrapa:Tabuleiros Costeiros, Aracaju-SE.
- MOREIRA, M. A. B.; P. H. G. ZARBIN & M. D. CORACINI. 2005. Feromônios associados a coleópteros-praga em produtos armazenados. **Química Nova** **28**: No 3, 472-477.
- MORI, K.; T. NAKAYAMA & H. TAKIKAVA. 1996. Synthesis and absolute configuration of sordidin, the male-produce aggregation of the banana weevil *Cosmopolites sordidus*. **Tetrahedron Letters** **37**, 3741-3744.
- NAKAMAE, I. J. 2003. **Anuário da agricultura brasileira**. Editora Argos Comunicação. São Paulo, 378-386.
- NASCIMENTO, R. R. & A. E. G. SANT'ANA. 2001. Isolamento e identificação dos semioquímicos de insetos sociais, 65-71 p. *In*: **Feromônios de Insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas** (2nd. Ed.) E. F. Vilela & T. M. C. Della Lúcia, (eds). Ribeirão Preto-SP: Holos Editora, 206 p.
- OEHLSCHLAGER, A. C.; H. D. PIERCE JR; B. MORGAN; P. D. C. WIMALARATNE; K. N. SLESSOR; G. G. S. KING; G. GRIES; R. GRIES; J. H. BORDEN; L. F. JIRON; C. M. CHINCHILLA; Z. L. F. JIRON; R. G. MEXON. 1992. Chirality and field activity of rynchophorol, the aggregation pheromone of the American palm weevil. **Naturwissenschaften**, **79**, 134-135.
- OEHLSCHLAGER, A. C.; C. CHINCHILLA; L. M. GONZALEZ; Z. L. F. JIRON; R. MEXON & B. MORGAN. 1993. Development of pheromone-based trapping system for the American palm weevil *Rynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal Economic Entomology** **86**: 1381-1392.
- PHILLIPS, J. K & W. E. BURKHOLDER. 1981. Evidence for a male-produce aggregation pheromone in the rice weevil. **Journal of Economic Entomology** **74**, 539-542.
- PHILLIPS, T. W.; X. L. JIANG; W. E. BURKHOLDER; J. J. PHILLIPS, J. J. & H. Q. TRAN. 1985. Behavioural responses to food volatiles by two species of stored-product Coleoptera, *Sitophilus oryzae* (Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae). **Journal of Chemical Ecology** **19**: 723-734.

- PIERCE, A. M.; J. H. BORDEN & A. C. OEHLISCHLAGER. 1990. Suppression of oviposition in *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Cucujidae) following prolonged retention in high-density cultures or short-term exposure to larval volatiles. **Journal of Chemical Ecology** **16**, 595-601.
- RAFFA, K. F.; T. W. PHILLIPS & S. M. SALON. 1993. Strategies and mechanisms of host colonization by bark beetles. *In*: Schowater, T. D. and Filip, G. M. (eds) **Beetle-Pathogen Interactions in Conifer Forests**. Academic Press, London, 103-128 p.
- RIDGWAY, R. L.; M. N. INSCOE & W. A. DICKERSON. 1990. Role of the boll weevil pheromone in pest management. *In*: R. L. Ridgway; R. M. Silverstein & M. N. INSCOE. (eds), **Behavior-Modifying Chemicals for Insect Managements**. Marcel Dekker, New York, 453-471 p.
- ROCHAT, D.; M. MALOSSE; P. LETTERE; L. RAMIREZ & P. ZAGATTI. 1993. Identification of new pheromone-related compounds from volatiles produced by males of four *Rynchophorine* weevils (Coleoptera: Curculionidae), **C. R. Academic Science** **2**: 1737-1742.
- SANCHES, N. F. F.; M. FANCELLI; J. L. L. DANTAS. 1995. Distribuição de *Pseudopiazurus papayanus* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae) em caule de mamoeiro (*Carica papaya* L.). *In*: Congresso Brasileiro de Entomologia 15, Caxambu, MG. **Resumos**, 287 p.
- TUNLINSON, J. H.; D. D. HARDEE; R. C. GUELDNER; A. C. THOMPSON; P. A. HEDIN; J. P. MINYARD. 1969. Sex pheromone produced by male boll weevil: isolation identification, and synthesis. **Science** **166**, 1010-1012.
- VILELA, E. F. & T. M. C. DELLA LUCIA. 1987. **Feromônios de insetos (Biologia, Química e emprego no manejo de pragas**. Viçosa, UFV, Impr. Univ. 155 p.
- WALGENBACH, C. A. & W. E. BURKHOLDER. 1986. Factors affecting the response of the maize-weevil, *Sitophylus zeamais* to its aggregation pheromone. **Environmental Entomology** **15**, 733-738.

Capítulo 1

**Criação de insetos da broca-do-mamoeiro, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838)
(Coleoptera: Curculionidae) em laboratório**

**Criação de insetos da broca-do-mamoeiro *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838)
(Coleoptera: Curculionidae) em laboratório**

Resumo

Estudou-se uma metodologia voltada para a criação da broca-do-mamoeiro, *Pseudopiazurus obesus* (Coleoptera: Curculionidae) e a sua produção em larga escala em laboratório, para permitir experimentos sobre o comportamento e a bioecologia desta espécie. Os insetos foram mantidos à temperatura de 26 ± 2 °C, umidade relativa $75\% \pm 10\%$ e fotoperíodo 12h luz. A dieta natural foi composta por parte do caule da planta hospedeira e foram utilizadas gaiolas plásticas teladas de 20 cm de diâmetro e 30 cm de altura para o acondicionamento e manutenção dos insetos adultos. Adotou-se o intervalo de três dias para o abastecimento de alimento e assepsia das gaiolas sendo que a renovação da colônia de insetos efetuada a cada três meses. Aspectos biológicos como viabilidade pupal, relação sexual, emergência de adultos na fotofase e escotofase, foram estabelecidos. Determinou-se que nesta espécie, a emergência ocorre na escotofase, a relação sexual é de 1:1 e a viabilidade pupal não diferiu em relação à época de coleta, sendo de 81,7% no inverno e de 77,5 % no verão. A metodologia preconizada neste estudo, possibilitou sucessivas criações dos insetos durante três anos consecutivos.

Palavras-chave: biologia, comportamento, produção de insetos; praga do mamoeiro.

Rearing papaya weevil, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory conditions

Abstract

The establishment of a methodology for rearing papaya weevils and the need for large-scale production of these specimens under laboratory conditions, with the aim of supporting future experiments about the behavior and biological aspects of this species, were the objectives of this study. For maintaining the insects, the environmental chamber was adjusted to a temperature of $26 \pm 2^{\circ}$ C, relative humidity, $75\% \pm 10\%$ and photoperiod, 12h light:12h dark. The natural diet was composed of fresh pieces of stem from the papaya; screened plastic cages size 20 cm diameter x 30 depth, were used for holding and maintaining the adult insects. A time interval of three days was adopted for cleaning the cages and supplying food and renewal of the colony occurred every three months. Emergence occurred during the scotophase, the sex relation was 1:1 and pupal viability did not change relative to the time of capture (81.7% in the winter and 77.5 % in the summer). The methodology developed in this study allowed successive rearings of insects during three consecutive years.

Key words: biological aspects; natural diet, rearing insects; papaya pest.

Introdução

A broca-do-mamoeiro, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae) ocorre praticamente durante todo o ano no nordeste brasileiro, principalmente em pomares mal manejados e de baixo nível tecnológico, onde a praga encontra condições ideais para sua proliferação e disseminação para novas áreas de cultivo (Moreira *et al.* 2003). Os danos são caracterizados por lesões irreversíveis devido a ação das larvas, que, ao se alimentarem dos tecidos vegetais constroem galerias no interior do caule do mamoeiro, levando à obstrução da passagem da seiva, podendo matar a planta (Gallo *et al.* 2002; Farias & Almeida, 1992).

As informações existentes na literatura sobre esta praga estão focadas nos aspectos taxonômicos, na descrição de danos e nas medidas preventivas e curativas visando ao seu controle (Moreira, M. A. B. dados não publicados). Existe uma lacuna a ser preenchida pela pesquisa entomológica, no que tange aos aspectos biológicos e comportamentais, os quais são relevantes para o desenvolvimento e implementação de estratégias voltadas ao manejo integrado (Moreira, M. A. B. dados não publicados). O domínio de técnicas de criação e manutenção de colônias em condições de laboratório pode se apresentar como uma ferramenta para auxiliar no avanço de pesquisas nas mais diversas áreas do conhecimento. Neste sentido, este trabalho descreve uma metodologia acessível e factível, voltada à criação de espécimes adultos da broca-do-mamoeiro em laboratório, objetivando subsidiar experimentos futuros sobre o comportamento e aspectos relacionados a sua bioecologia.

Material e Métodos

Para o estabelecimento das colônias de insetos foram efetuadas coletas durante os anos de 2002 a 2004, em áreas produtoras de mamão localizadas em São José do Mipibu, Touros e Monte Alegre, municípios do estado do Rio Grande do Norte. As coletas das câmaras pupais foram realizadas em pomares infestados, em fase final de produção e/ou abandonados e afastados de áreas na qual se utilizam agroquímicos. As coletas foram efetuadas em plantas severamente atacadas, as quais foram tombadas e abertas longitudinalmente para a remoção das câmaras pupais que foram acondicionadas em caixas plásticas (20 cm x 12 cm x 15 cm) apresentando ventilação nas faces laterais (figura 1A). O material coletado foi conduzido para o laboratório de Entomologia da EMPARN (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte), localizada em Natal, RN, para proceder à triagem e seleção.

As câmaras pupais selecionadas foram transferidas para bandejas plásticas (figura 1B), e mantidas em temperatura ambiente para propiciar a secagem parcial, visando a aumentar a consistência das mesmas e evitar danos mecânicos quando manipuladas. Após a secagem, procedeu-se uma nova seleção, na qual foram priorizadas as câmaras pupais sem danos mecânicos e/ou sinais de predação, bem formadas, consistentes e sem apresentar coloração atípica possivelmente motivada por fatores patogênicos.

As câmaras pupais consideradas viáveis, destinadas para as futuras criações, foram quantificadas e acondicionadas em gaiolas plásticas teladas, (6 cm de altura por 25 cm de diâmetro) (figura 1C) forradas com papel toalha na parte inferior e transportadas para o Laboratório de Semioquímicos do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, onde foram mantidas em estufa climatizada, regulada em 12h de fotofase, $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura e $75 \pm 10\%$ umidade relativa, onde permaneceram até a emergência dos insetos.

A cada de dois dias, as câmaras pupais foram umedecidas por meio de um vaporizador manual para evitar o ressecamento e facilitar o rompimento das mesmas na ocasião da emergência dos insetos. As observações foram feitas diariamente ao longo de 25 dias consecutivos para propiciar a total emergência dos insetos adultos. À medida que os insetos emergiam, eram retirados (figura 1D) e colocados sob as mesmas condições em gaiolas teladas e identificadas com as suas respectivas datas de emergência.

Os insetos foram padronizados de acordo com a procedência, idade (dias após a emergência), virgens, acasalados e sexados. Para tal, procurou-se efetuar a sexagem dos espécimes conforme a metodologia estabelecida por Sousa *et al.* (2004) (figura 1E - plano inferior, machos e figura 1E - plano superior, fêmeas).

Após a emergência, os insetos foram alimentados utilizando-se como dieta natural parte do caule do mamoeiro (Figura 1F) e posteriormente, sexados e colocados em gaiolas plásticas (30 cm de altura x 20 cm de diâmetro), ventiladas nas laterais e forradas na parte inferior com papel toalha e fechadas com tela de náilon presa com borracha, (Figura 1G). A Figura 1H mostra em detalhes a distribuição natural dos insetos no interior das gaiolas em atividade durante a escotofase. A Figura 1I mostra os insetos agregados sob a dieta natural e adaptados às condições e procedimentos estabelecidos para a sua criação.

A cada três dias eram providenciadas a limpeza das gaiolas e a troca da dieta. A cada 30 dias limpava-se a estufa climatizada com detergente líquido dissolvido em água, para promover e manter a assepsia do ambiente de criação e evitar contaminação por organismos oportunistas.

A renovação da colônia de insetos foi efetuada a cada três meses para compensar os descartes de insetos utilizados nos testes em olfatômetro e extração de voláteis em câmaras de aeração.

Determinação da viabilidade pupal

Este estudo objetivou avaliar a viabilidade de pupas da broca-do-mamoeiro em função das épocas do inverno e do verão, visando a dimensionar a quantidade de coletas durante o ano e estimar a disponibilidade de insetos viáveis destinados à consecução dos experimentos propostos. As coletas foram efetuadas nos municípios anteriormente citados durante o período das chuvas, em julho de 2002 e durante a estação do verão, no mês de dezembro do mesmo ano, onde foram coletadas 200 câmaras pupais/época. As condicionantes da estufa foram as mesmas já citadas, bem como os tipos de gaiolas utilizadas. Para cada época de coleta foram colocadas quatro gaiolas com 50 pupas/gaiola, onde cada gaiola foi considerada a repetição dos tratamentos.

As avaliações para ambos os experimentos se estenderam por 25 dias consecutivos após a colocação das pupas na estufa climatizada. Considerou-se como população inicial às câmaras pupais intactas e a final, os insetos da broca-do-mamoeiro emergidos. Para análise dos dados, foram consideradas as médias de emergências das épocas analisadas, usando-se o teste t, ao nível de 5% de probabilidade, para a comparação dos dois tratamentos.

Paralelo a este estudo determinou-se a relação sexual na espécie, onde se considerou o número total de insetos machos dividido pelo de fêmeas, sendo somente contabilizados aqueles considerados viáveis para a criação, bem como procedido o levantamento dos inimigos naturais associados á broca-do-mamoeiro em relação ás épocas de coletas.

Emergência de *P. obesus* durante o período da fotofase e escotofase e a descrição dos aspectos comportamentais

Das pupas consideradas viáveis (n= 319), avaliou-se a emergência de adultos durante os períodos da escotofase e fotofase e foram observados os aspectos comportamentais de sua emergência. A metodologia foi semelhante ao experimento anterior, sendo considerada a fotofase das 19:00 às 8:00 horas e a escotofase, das 8:00 às 19:00 horas. As avaliações foram efetuadas durante 25 dias consecutivos para proporcionar as emergências dos espécimes e para análises dos dados, foram consideradas as médias obtidas nos tratamentos e comparadas por meio do teste t ao nível de 5% de probabilidade. Para avaliação do comportamento dos adultos recém-emergidos, procurou-se descrever, por meio de observações, as ações comportamentais destes no momento da emergência e durante 1 hora após o mesmo.

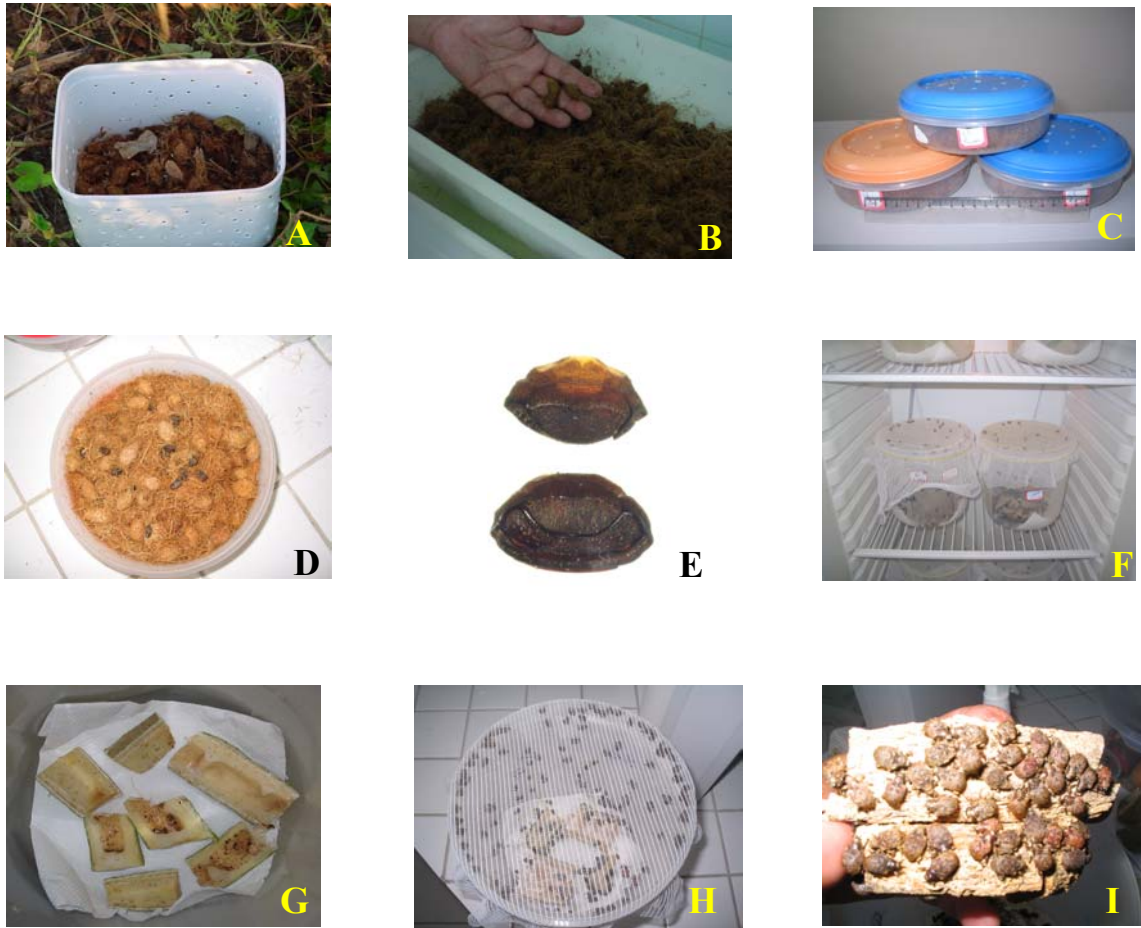


Figura 1. (A) - Caixa plástica para coleta das câmaras pupais em campo; (B) - bandeja plástica para secagem e triagem das câmaras pupais; (C) - gaiolas plásticas para acondicionar as câmaras pupais; (D) - câmaras pupais e adultos emergindo; (E) - sexagem dos insetos (figura plano inferior, macho e figura plano superior, fêmea); (F) - gaiolas plásticas teladas, usadas para acondicionar os adultos; (G) - dieta natural (parte do caule de mamoeiro (planta hospedeira)); (H) - detalhe frontal da gaiola e insetos durante a escotofase; (I) - adultos agregados em alimentação sobre a dieta.

Resultados e Discussão

As pupas da broca-do-mamoeiro apresentaram viabilidade semelhante tanto as coletadas no inverno como no verão ($P \geq 0,337579$). Os resultados mostraram que esta espécie possui viabilidade pupal alta, onde as médias obtidas foram de 81,7 e de 77,5 % para coletas efetuadas durante o inverno e o verão, respectivamente (figura 2).

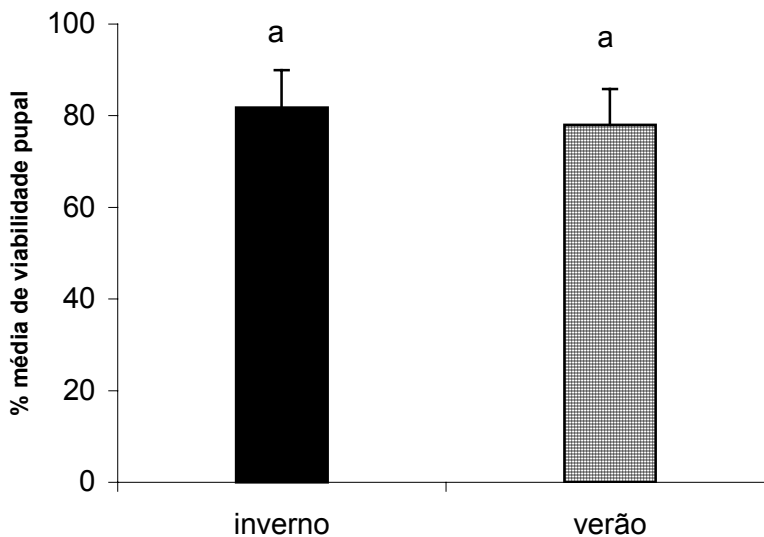


Figura 2. Viabilidade pupal da broca-do-mamoeiro em função de diferentes épocas de coleta (barra preta, inverno e barra hachurada, verão) em condições de agroecossistemas do Rio Grande do Norte. As médias seguidas pela mesma letra, não são significativamente diferentes de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Esperava-se que a viabilidade pupal fosse maior em condições de inverno, quando as temperaturas são mais amenas e quando são registrados os maiores índices de precipitação

pluviométrica e, por conseguinte, maiores infestações da praga em questão. Estes elevados percentuais de viabilidade pupal, devem-se ao fato da postura ser endofítica e por tratar-se de uma colebroca, o que confere certa proteção contra a ação dos agentes de controle natural, e por ser pouco atingida pelas medidas de controle por meio de inseticidas convencionais (Moreira *et al.* 2004; Gallo *et al.* 2002; Bondar 1948). Esta hipótese é amparada pelos baixos níveis de parasitismo de 7% e 8% para os períodos de verão e inverno, respectivamente. As médias obtidas para os inimigos naturais e outros fatores de mortalidade de origem desconhecida foram semelhantes sendo de 10,2% para o período do inverno e 15,0% para o verão (figura 3).

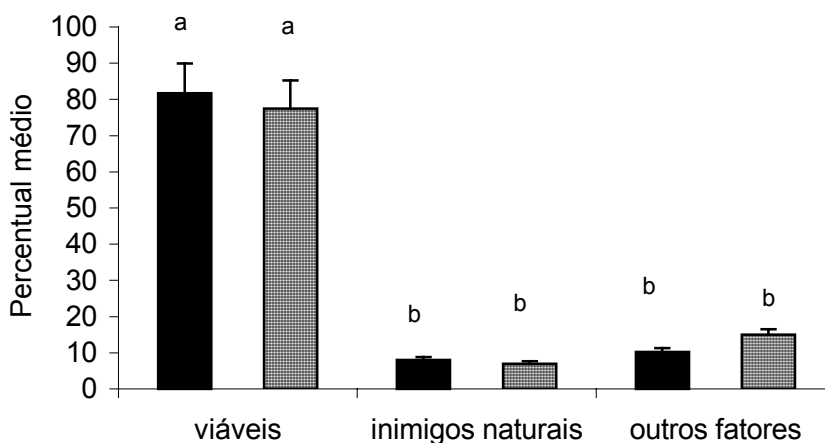


Figura 3. Viabilidade pupal (%) durante o inverno e verão e os fatores responsáveis pela regulação de pupas da broca-do-mamoeiro em condições de agroecossistemas do Rio Grande do Norte. Médias seguidas pela mesma letra não apresentam ser diferentes de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

A figura 4 mostra o número médio total de espécimes da broca-do-mamoeiro viáveis nas duas épocas avaliadas e a regulação natural de pupas provocadas por agentes de controle natural e por outros fatores de mortalidade desconhecidos.

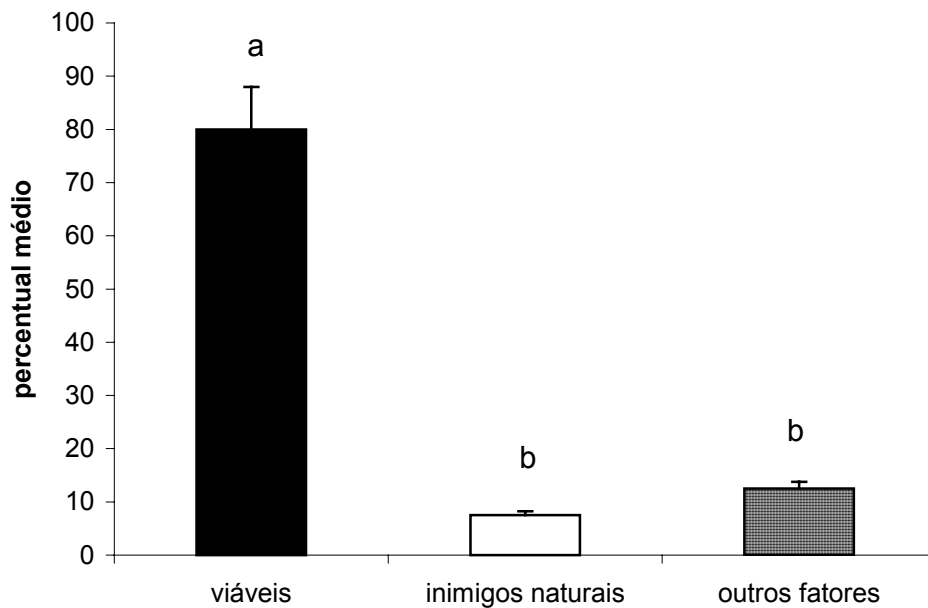


Figura 4. Viabilidade pupal (%) da broca-do-mamoeiro coletada em diferentes épocas do ano em condições de agroecossistemas do Rio Grande do Norte (barra preta) e a regulação de pupas em função de inimigos naturais associados (barra branca) e outros fatores de mortalidade (barra hachurada). Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

A espécie apresentou a relação sexual de 1:1, onde para cada macho emergido correspondeu a emergência de uma fêmea e esta proporção não se alterou em função das coletas efetuadas no inverno e verão. Neste sentido, foram efetuadas outras avaliações ao longo de sucessivas criações, nas quais houve a predominância da razão sexual de 1:1. Dados semelhantes

foram conseguidos para *Hylesia nanus* (Walker), (Lepidoptera: Attacidae) onde a razão sexual foi de 0,5 (Santos *et al.* 1996), *Dirphia araucariae*, (Lepidoptera: Saturniidae) foi de 0,47 (Borges 1985) e para *Dirphia avícula*, com razão sexual de 0,48 (Zanúncio *et al.* 1994).

O percentual médio de emergência de adultos na espécie ocorreu em 83,7% durante o período da escotofase, enquanto apenas 16,3% na fotofase, onde as médias de emergências diferiram quando comparadas pelo teste t ($P \leq 0,000034$) (figura 5). Este resultado pode ser motivado pelo fato da praga ser de hábito noturno, período em que os adultos possuem atividade e quando realizam os seus principais eventos comportamentais como alimentação, corte, acasalamento e oviposição (Bondar 1948).

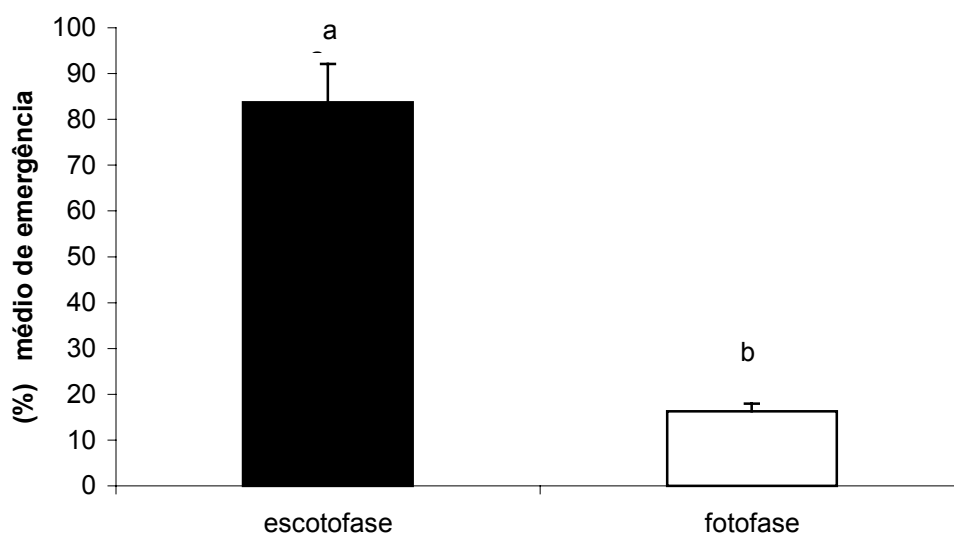


Figura 5. Percentual médio de emergência da broca-do-mamoeiro em função de diferentes períodos de luminosidade em condições de câmara climatizada. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade (N=319).

Em relação ao comportamento após a emergência dos insetos, foi constatado que estes rompem a câmara pupal, na maioria dos casos, por uma das extremidades da mesma (figura 6A).

Ao emergirem, os adultos exibem coloração clara (figura 6B). Entretanto, constatou-se que quando ocorre demora no rompimento da câmara pupal, apresentam coloração mais escura, próxima à sua cor característica do adulto. Cerca de meia hora após a emergência os insetos apresentam pontuações mais escuras ao longo dos élitros (figura 6C). Aproximadamente uma hora após a emergência, os insetos adquirem coloração pardo-escura que é a cor característica da espécie (figura 6D).

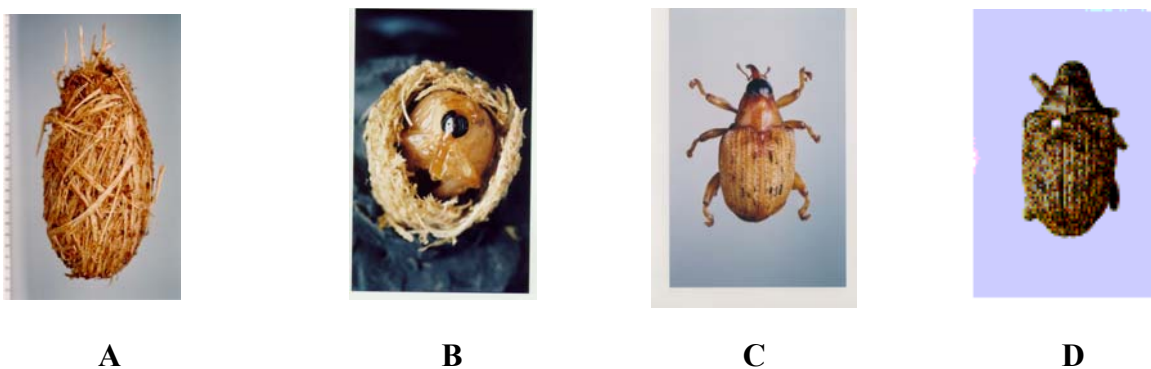


Figura 6. *Pseudopiazurus obesus*: (A) - rompimento da câmara pupal na ocasião da emergência; (B) - adulto emergindo e apresentando coloração amarelada; (C) - adulto recém-emergido em processo de esclerotização; (D) – adulto apresentando coloração castanho-escuro, característica da espécie.

Ao emergirem, os insetos apresentam pouca atividade em função do gasto energético para rompimento da câmara pupal e esclerotização da cutícula. Cerca de duas horas após estes eventos, os insetos ficaram ativos e se alimentaram normalmente. Constatou-se que ao emergirem, alguns espécimes apresentaram mal-formações como ausência parcial dos élitros, asas com deformidades e mutilação em alguns membros. Nestes casos, foram descartados da

criação. Constatou-se a contaminação de adultos recém-emergidos por ácaros oportunistas oriundos das câmaras pupais, que, ao se fixarem em quase todo o corpo do inseto, impediram a locomoção e acesso à alimentação, causando a morte. Os espécimes contaminados foram isolados para evitar a disseminação destes organismos na estufa e procedeu-se o pincelamento individual para a retirada dos ácaros.

Durante as três primeiras horas após a emergência, evitou-se qualquer forma de manuseio, a fim de não haver danos mecânicos e ou mutilações indesejadas nos insetos que pudesse inviabilizá-los para a criação.

A metodologia aqui apresentada foi desenvolvida para atender pontualmente as necessidades do trabalho, o que foi conseguido com sucesso.

Referências Bibliográficas

- BONDAR, G. Broca do mamoeiro. 1948. **Boletim do Campo**. Rio de Janeiro, v(4), n. 23.
- BORGES, J. D. 1985. Biologia de *Dirphia araucariae* em laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **20**:155-158.
- FANCELLI, M; N. F. SANCHES; J. L. L. DANTAS; C. F. G. MORALES. 1995. Ocorrência de *Pseudopiazurus papayanus* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae) em genótipos de mamoeiro (*Carica spp*). In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 15, Caxambu, MG. **Resumos**. Caxambu: ESAL, 746 p.
- FARIAS, A. R. N. & O. A. ALMEIDA. 1992. Ocorrência de *Pseudopiazurus papayanus* em Cruz das Almas, Bahia. Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF, **Mamão em Foco** **49**.
- GALLO, D.; O. NAKANO; S. SILVEIRA NETO; P. L. CARVALHO; G. C. BATISTA; E. BERTI-FILHO; J. R. P. PARRA; R. A. ZUCCHI; S. B. ALVES; J. D. VENDRAMIN; L. C. MARCHINI; J. R. S. LOPES; C. OMOTO. 2002. **Entomologia Agrícola**. São Paulo- SP; Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 920 p.
- MOREIRA, M. A. B.; P. H. G. ZARBIN; G. H. ROSADO-NETO; M. F. P. BARRETO; J. F. S. SOBRINHO; M. BORGES. 2003. A broca-do-mamoeiro e recomendações de controle. **Circular Técnica** **35**; Embrapa:Tabuleiros Costeiros, Aracaju-SE.
- SANCHES, N. F. F.; M. FANCELLI; J. L. L. DANTAS. 1995. Distribuição de *Pseudopiazurus papayanus* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae) em caule de mamoeiro (*Carica papaya* L.). In: Congresso Brasileiro de Entomologia 15, Caxambu, MG. **Resumos**, 287 p.
- SOUSA, W. O.; G. H. ROSADO-NETO; M. A. B. MOREIRA; P. H. G. ZARBIN. 2004. Description of the larva and pupa of the papaw borer weevil *Pseudopiazurus papayanus* (Marshall) (Coleoptera, Curculionidae, Piazurini), **Revista Brasileira Entomologia** **48** (3): 331 –334, junho.
- SANTOS, G. P.; T. V. ZANÚNCIO; O. S. DIAS; J. C. ZANÚNCIO. 1996. Biologia de *Hylesia nanus* (Walker) (Lepidoptera: Attacidae). **Anais da Sociedade Brasileira de Entomologia** **25**: 479-482.
- ZANÚNCIO, T. V.; J. C. ZANÚNCIO; I. A. MEIRA; F. S. ARAÚJO. 1994. Caracterização das fases larval e adulta de *Dirphia avícula* (Lepidoptera: Saturniidae) em folhas de *Eucalyptus uruphylla*. **Revista Árvore**: **18**: 153-158.

Capítulo II

Evidências comportamentais e cromatográficas da mediação por semioquímicos na comunicação química da broca-do-mamoeiro, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae)

Evidências comportamentais e cromatográficas da mediação por semioquímicos na comunicação química da broca-do-mamoeiro, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae)

Resumo

Respostas comportamentais foram obtidas de machos e fêmeas de *P. obesus* para várias fontes de odor sob condições de olfatômetro. Os tratamentos utilizados foram: parte do caule da planta hospedeira (*Carica papaya* L.); voláteis obtidos de machos e de fêmeas isoladamente e uma combinação entre os voláteis dos co-específicos somados a parte do caule da planta hospedeira. Machos e fêmeas foram significativamente atraídos para a planta hospedeira e para a combinação de voláteis de machos adicionados à planta hospedeira. Uma vez que a atratividade do extrato de macho sozinho não foi significativamente diferente do controle, um efeito sinérgico de odores liberados pela planta hospedeira pode ser postulado. Os resultados dos bioensaios em laboratório sugerem a existência de um feromônio de agregação na espécie. Análises em CG dos voláteis obtidos de machos e fêmeas evidenciaram a existência de, pelo menos, três compostos macho-específicos, dando o indicativo de que, possivelmente, são os responsáveis pelo comportamento de agregação da espécie.

Palavras-chave: olfatometria; cromatografia; sinérgismo; caimônio; praga do mamoeiro.

Chromatographic and behavioral evidences in chemical communication of papaya weevil, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae)

Abstract

The behavioral responses of adult male and female *Pseudopiazurus obesus*, to several odour sources were evaluated in a Y-tube olfactometer. The treatments employed were piece of host plant; volatiles released from males and females alone, and a combination of insect volatiles and host plant piece. Males and females were significantly more attracted to the host plant, and to the combination of the male-volatiles plus host plant. Since the activity of the male-volatiles alone was not statistically different from the control, a synergistic effect of the host plant on the attractiveness can be postulate. GC analysis of the airborne volatiles released by males and females showed the existence of, at least, three male-specific compounds suggests a male-produced aggregation pheromone in this species.

Key words: olfactometer; sinomones; kairomone; synergism; papaya pests.

Introdução

Devido ao seu hábito alimentar, as larvas da broca-do-mamoeiro *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838), (Coleoptera: Curculionidae) provocam danos irreversíveis nos caules do mamoeiro em função da destruição dos tecidos meristemáticos e obstrução da passagem da seiva podendo, sob altas infestações, matar a planta (Farias & Almeida, 1992; Sanches *et al.* 1995). Quando exposta aos mecanismos de controle no estágio adulto, esta espécie, é protegida dos métodos convencionais de controle com inseticidas químicos uma vez que larvas e pupas completam o seu desenvolvimento no interior do caule (Moreira *et al.* 2003).

O estudo do comportamento dos insetos propiciou o desenvolvimento de novos métodos que estão sendo adotados em programas de manejo integrado de insetos-praga onde os resultados alcançados nestes casos, apresentaram-se mais eficientes e duradouros que a alternativa de controle via inseticida químico (Oehlschlager 1993; Dusenbery 1992).

A integração de estudos biológicos, comportamentais e químicos para o emprego de semioquímicos, principalmente feromônios, tem sido aplicada em grande escala para muitas pragas agrícolas. Apresenta-se como uma alternativa segura e duradoura em programas de controle de insetos-praga por meio de técnicas de monitoramento e/ou captura massal, seja na sua detecção, seja na interceptação da entrada de espécies não nativas na área cultivada (Giblin-Davis *et al.* 1996).

Este estudo objetivou evidenciar a mediação de semioquímicos na comunicação entre os co-específicos da espécie, visando a possibilidade de uso destes compostos feromonais em programa de manejo integrado da broca-do-mamoeiro.

Material e Métodos

Criação de insetos da broca-do-mamoeiro sob condições de laboratório

Para a criação dos insetos em laboratório, foram adotados os mesmos procedimentos metodológicos do capítulo 1. Para a criação dos insetos, foram efetuadas várias coletas de câmaras pupais da broca-do-mamoeiro durante os anos de 2002 e 2003, em áreas produtoras de mamão localizadas nos municípios de São José do Mipibu, Vera Cruz e Monte Alegre, no estado do Rio Grande do Norte.

Para a obtenção dos insetos adultos, as câmaras pupais foram acondicionadas em gaiolas teladas (6 cm de altura por 15 cm de diâmetro) e transportadas para o Laboratório de Semioquímicos, do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, localizado em Curitiba, PR. Os espécimes foram mantidos durante 25 dias em câmara climatizada, regulada em 12 horas de fotofase: 12 escotofase, temperatura de $26 \pm 2^{\circ} \text{C}$ e umidade relativa de $75 \pm 10\%$.

Após a emergência, os insetos foram sexados conforme Sousa *et al.* (2004) e colocados em gaiolas plásticas teladas com ventilação lateral, (30 cm de altura x 20 cm de diâmetro) e mantidas sob as mesmas condições acima descritas. Como suporte alimentar foi usada dieta natural composta por parte do caule de mamoeiro. A intervalos regulares de quatro dias, procedia-se a limpeza das gaiolas e efetuava-se um novo abastecimento.

Obtenção dos voláteis dos insetos

Foram utilizados 90 machos e 90 fêmeas virgens, com 40 dias de vida, os quais foram mantidos separadamente em quatro câmaras de aeração de vidro (45 insetos/câmara). Os insetos foram aerados junto à dieta natural, em um sistema de aeração de vidro, localizado no laboratório de semioquímicos da UFPR, com um fluxo de ar de 1,0 L/min e com as mesmas variáveis

climáticas já relatadas. Os semioquímicos foram coletados destes grupos isolados de machos e fêmeas usando Super Q (Alltec Associates, Inc.) como polímero adsorvente (Zarbin 2001). Os extratos foram obtidos em intervalos de 24 horas após o início da aeração, sendo efetuadas três extrações de voláteis/sexo, onde estes foram acondicionados em pequenos frascos de vidro com capacidade de 1000 ul para serem concentrados. Utilizou-se o gás argônio para efetuar a concentração dos extratos obtidos, os quais foram concentrados para 1 inseto equivalente (IE= 1ul solução/inseto). Após esta etapa, os frascos de vidro foram fechados, identificados com etiquetas informando a concentração, data e o sexo, sendo logo em seguida armazenados em uma caixa plástica e mantidos em freezer, a uma temperatura de -20°C , para análises posteriores.

Bioensaios em olfatômetro

Antes da instalação dos bioensaios em olfatômetro para avaliação da atividade biológica dos voláteis obtidos dos machos e fêmeas, foram feitos testes de simulação de propagação de odores para visualização artificial da distribuição da pluma de fumaça no seu interior. Para tal, efetuou-se uma mistura de ácido clorídrico e hidróxido de amônia, seguindo a metodologia descrita por Baker & Linn (1984). A velocidade do ar no sistema foi medida por meio de um medidor de fluxo de ar e ajustada a 1,0 L/min. O olfatômetro foi operado na posição horizontal, sendo a corrente de ar produzida por sucção a vácuo, por meio de uma trompa d'água acoplada a uma mangueira conectada a uma torneira. Este sistema foi colocado na extremidade do braço principal do olfatômetro, de modo que a entrada de ar ocorreu pelos braços opostos e carregado por sucção para o interior do olfatômetro.

Foram utilizados dois olfatômetros distintos (um para cada sexo), para a condução dos experimentos. A descrição detalhada do olfatômetro é apresentada por Takabayashi & Dick

(1992), consistindo de um tubo de vidro com 2,5 cm de diâmetro e 40 cm de comprimento apresentando em uma das extremidades dois braços de 12 cm de comprimento cada, apresentando o mesmo diâmetro.

Foram avaliadas as respostas olfativas de insetos machos e fêmeas da broca-do-mamoeiro frente aos bioensaios, cujos tratamentos foram: 1) extrato aerado de macho x controle (solvente hexano); 2) extrato aerado de fêmeas x controle; 3) extrato aerado de macho + dieta natural (parte do caule do mamoeiro) x controle; 4) extrato aerado de fêmeas + dieta natural x controle; 5) dieta natural x controle e 6) extrato aerado de macho + dieta natural x dieta natural + controle. Foram colocados separadamente na base do olfatômetro, 40 insetos machos e 40 fêmeas de *P.obesus*, sendo colocados cinco insetos por corrida, perfazendo o total de oito repetições/sexo, sendo 20 minutos a duração/corrída. Nas extremidades dos braços foram colocados os tratamentos já citados, utilizando-se papel de filtro impregnado com 3,0 ul da suspensão e na outra extremidade, como testemunha/controle, o solvente hexano. Após as corridas, o sistema era deixado em funcionamento durante dez minutos e efetuada a permutação das fontes de odor dos braços do olfatômetro para evitar a que os insetos se habituassem com os possíveis odores retidos nestes locais.

Os bioensaios foram conduzidos após quatro horas do início da escotofase em função de constatar-se previamente, que o mesmo correspondia ao intervalo de tempo no qual os insetos machos produziam mais feromônios de agregação, e por conseguinte, maior atividade (Moreira & Zarbin, 2004). A temperatura foi mantida em 26 ± 2 °C e umidade relativa em torno de $75 \pm 10\%$. Foram computados somente os insetos que atingiram os braços do olfatômetro e que permaneceram junto à respectiva fonte de odor.

Procedimentos analíticos

Para as corridas no cromatógrafo, os voláteis puros de insetos machos e fêmeas foram retirados do freezer e mantidos à temperatura ambiente durante 5 minutos. Após este período, retirou-se 1,0 ul da solução que foi injetada em um cromatógrafo a gás (modelo Varian 3800), utilizando-se de uma coluna capilar, VA-5 (30 mm x 0,25 mm x 0,25 um) 5% fenil, 95% dimetil polisiloxana. As condições de análise foram: temperatura de 70° C com aumento de 7° C /minutos até atingir a temperatura final de 250° C a qual foi mantida por 10 minutos. Após o término, os cromatogramas foram analisados e comparados entre si para a detecção das diferenças entre os compostos químicos liberados pelos insetos machos e fêmeas de *P. obesus*.

Procedimentos estatísticos

Os dados obtidos do número de insetos que alcançaram as respectivas fontes de odor foram transformados em porcentagem e fez-se a comparação das médias por meio do teste t usando-se o programa Statistic, Stat Soft, Inc. (1999). Os resultados que apresentaram $P \leq 0,05$ foram considerados significativos. Após as análises estatísticas, foram elaborados gráficos mostrando as classes dos níveis de significância entre as médias obtidas nos tratamentos.

Resultados e Discussão

As respostas comportamentais dos machos e fêmeas de *P. obesus* frente aos tratamentos a que foram submetidos em condições de olfatômetro são descritas a seguir. No bioensaio 1, a atratividade de ambos os sexos frente ao odor extrato aerado de insetos machos não apresentou ser significativamente diferente quando comparado ao tratamento controle, ($P \leq 0,05369$) (figura 1), ou seja, os extratos de insetos machos quando avaliados de forma isolada não apresentaram ação biológica sobre o comportamento dos seus co-específicos.

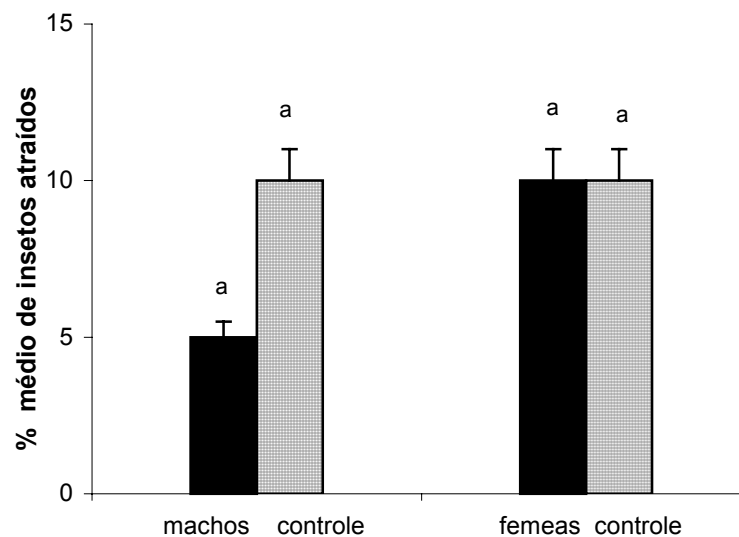


Figura 1. Percentual médio de atratividade de machos e fêmeas de *P. obesus* frente aos odores extrato aerado de machos x solvente (controle) em condições de olfatômetro. Barras seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

No bioensaio 2, na avaliação da atratividade dos machos e fêmeas para o odor extrato aerado das fêmeas não apareceram diferenças significativas para ambos os sexos na atratividade quando comparado ao tratamento controle ($P \geq 0,21484$ macho e $P \geq 0,3559$ fêmea) (figura 2). Da mesma forma que no ensaio anterior, o extrato das fêmeas, isoladamente, mostrou-se inativo sobre o comportamento dos co-específicos da espécie.

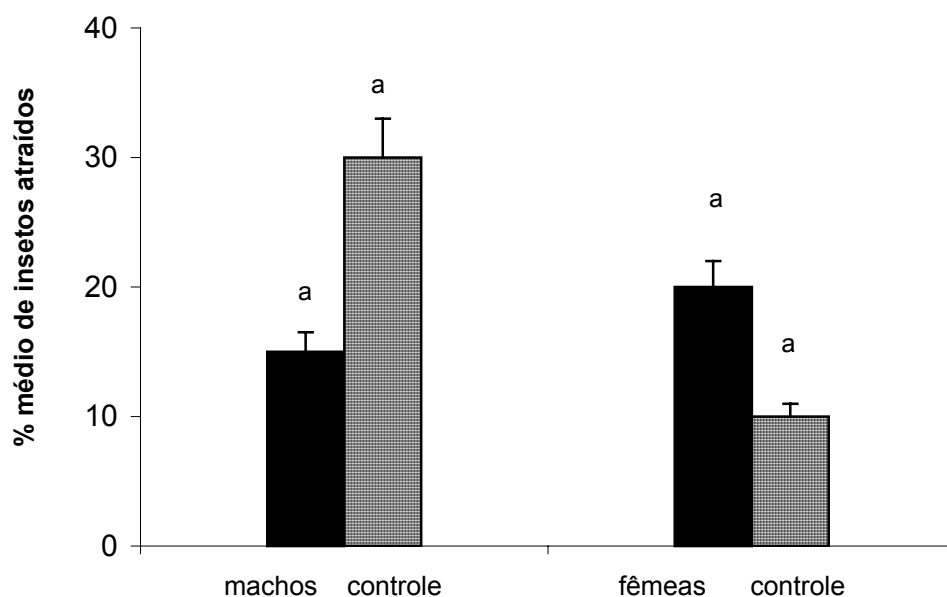


Figura 2. Percentual médio de atratividade de machos e fêmeas de *P. obesus*, aos odores extrato aerado de fêmeas x solvente (controle) em condições de olfatômetro. Barras seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

No bioensaio 3, na avaliação da atratividade dos machos e fêmeas para os odores extrato aerado de machos adicionados a parte do caule da planta hospedeira, ambos os sexos apresentaram diferenças significativas na atratividade quando comparado ao tratamento controle.

As porcentagens médias de atratividade entre insetos machos e fêmeas foram semelhantes, sendo de 60 ± 6 e 50 ± 5 , respectivamente ($P \leq 0,0012$) (figura 3). Comparando-se os resultados obtidos nos bioensaios 1 e 3, constatou-se que a presença da planta hospedeira junto ao tratamento odor de inseto macho promoveu uma ação sinérgica, proporcionando uma maior atratividade para ambos os sexos.

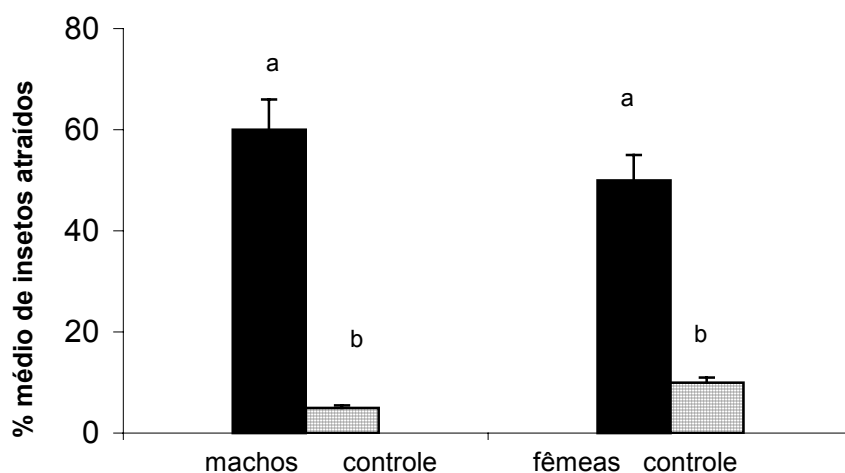


Figura 3. Percentual médio de atratividade de machos e fêmeas de *P. obesus*, aos odores extrato aerado de machos + planta hospedeira x controle em condições de olfatômetro. Barras seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

No bioensaio 4, a avaliação da atratividade dos machos e fêmeas para os odores extrato aerado de fêmeas adicionados a parte do caule da planta hospedeira, não diferiu significativamente em relação ao controle ($P \geq 0,19357$ para machos e $P \geq 0,6704$ para fêmeas) (figura 4). Os resultados obtidos nos bioensaios 2 e 4, demonstraram que os voláteis liberados pelas fêmeas de forma isolada ou em combinação com a planta hospedeira, não exerceram

nenhuma atividade biológica para os co-específicos, indicando que os mesmos não possuem compostos feromoniais envolvidos nos comportamentos de agregação e/ou sexual da espécie. De maneira oposta, entretanto, os resultados alcançados no bioensaio 3, sugerem a existência de compostos químicos específicos nos extratos dos machos que seriam, eventualmente, responsáveis pela comunicação química da espécie.

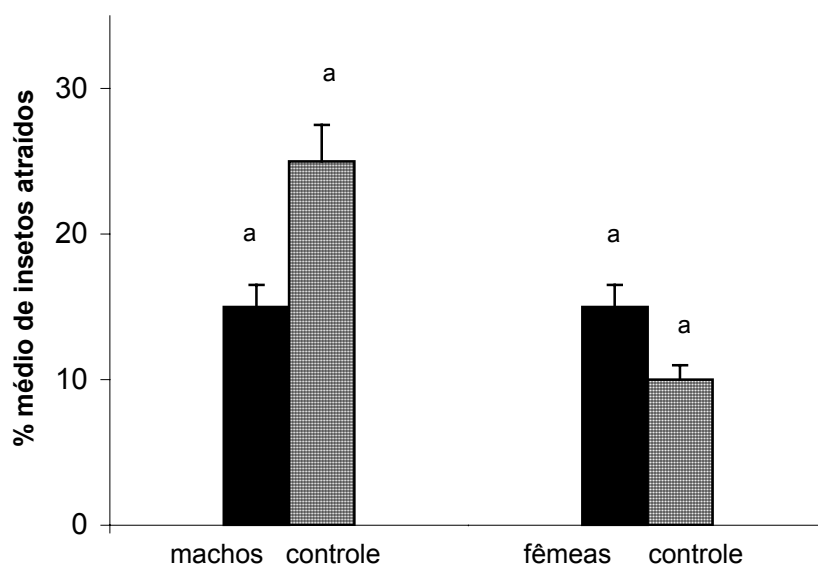


Figura 4. Percentual médio de atratividade de machos e fêmeas de *P. obesus*, aos odores extrato aerado de fêmeas + planta hospedeira x controle em condições de olfatômetro. Barras seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

No intuito de se verificar a atividade dos componentes presentes na dieta natural isoladamente no bioensaio 5, a atratividade de machos e fêmeas para o odor planta hospedeira x controle foi avaliada, constatando-se que ambos os sexos apresentaram-se diferentes significativamente quanto à atratividade para esse odor, quando comparado ao tratamento controle (figura 5).

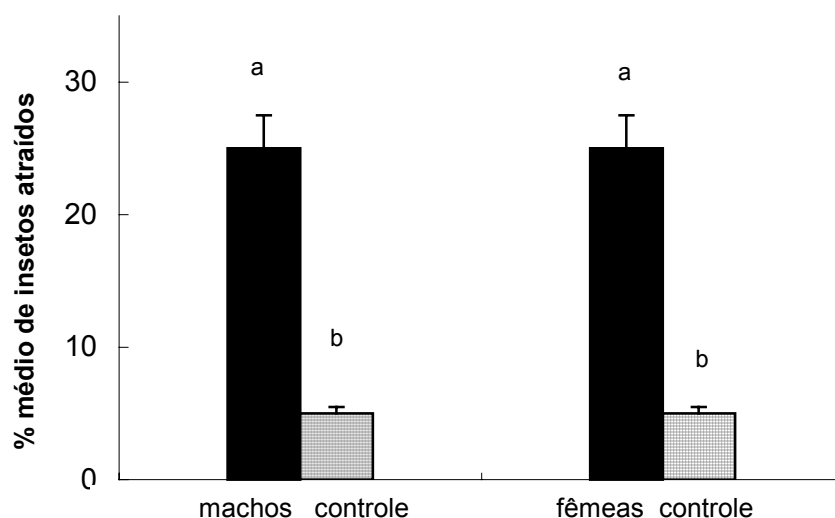


Figura 5. Percentual médio de atratividade de machos e fêmeas de *P. obesus*, aos odores planta hospedeira x controle em condições de olfatômetro. Barras seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Apesar da diferença observada, a atratividade média para ambos os sexos foi considerada baixa, sendo de 25 ± 5 ($P \leq 0,032$) para machos e de 25 ± 5 para fêmeas ($P \leq 0,01695$). A dieta natural (parte do caule da planta hospedeira) mostrou que possui atividade biológica efetiva para os co-específicos da broca-do-mamoeiro. Entretanto, seus odores isolados quando confrontados

com os odores associados ao extrato de machos, mostraram-se menos atrativos para os machos e fêmeas, conforme os resultados do bioensaio 6. Neste caso, o tratamento extrato aerado de insetos machos + dieta natural, apresentou média de 50 ± 5 ($P \leq 0,003786$) para os insetos machos e de 40 ± 5 ($P \leq 0,00592$) para as fêmeas, diferindo significativamente quanto a atratividade para os odores planta hospedeira adicionado ao solvente (controle), conforme a figura 6.

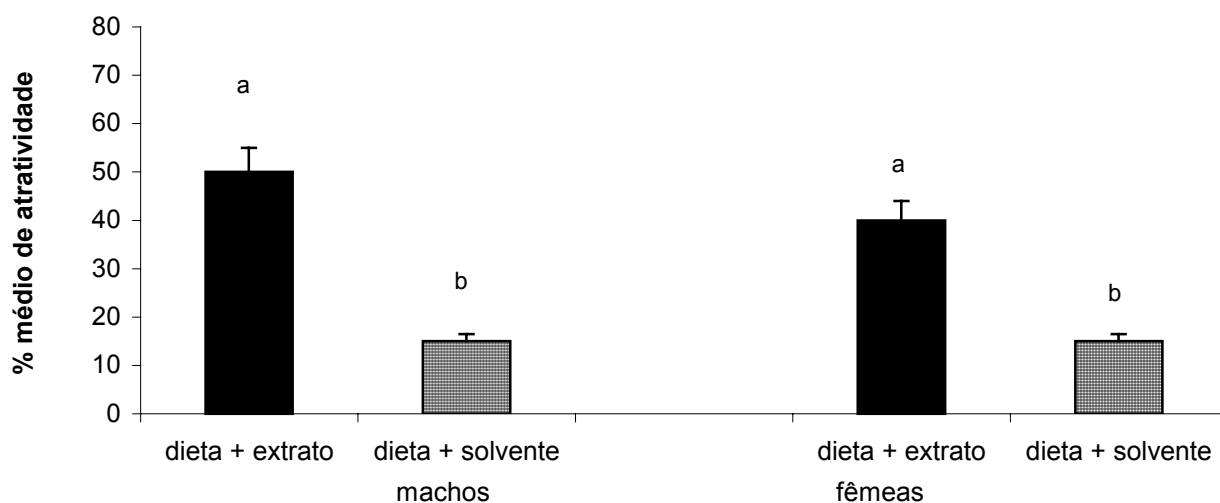


Figura 6. Percentual médio de atratividade de machos e fêmeas de *P. obesus*, aos odores planta hospedeira (dieta natural) + extrato aerado de machos x planta hospedeira (dieta natural) + solvente/controle em condições de olfatômetro. Barras seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Os bioensaios realizados mostraram que a atração de ambos os sexos da broca-do-mamoeiro só foi efetiva para os voláteis de machos adicionados a parte do caule da planta hospedeira, indicando que houve uma complementação desses odores, promovendo a sinergia entre esses tratamentos.

Em função da comprovada atividade biológica dos extratos de machos na atratividade de co-específicos da broca-do-mamoeiro relatada nos bioensaios 3 e 6, foram efetuadas análises cromatográficas visando a evidenciar a presença de supostos compostos macho-específicos, os quais, provavelmente, estariam atuando na comunicação química da espécie. Os perfis cromatográficos dos voláteis de insetos machos e fêmeas de *P. obesus* (figura 7) indicam, claramente, a existência de três compostos macho-específicos, que foram representados pelas letras **a**, **b** e **c**. A proporção entre os mesmos demonstra que o componente **a**, com tempo de retenção (t_R) de 8,83 minutos, é o majoritário, seguido pelo intermediário **b**, com t_R de 10,25 minutos e, finalmente, o minoritário **c**, com t_R de 11,90 minutos.

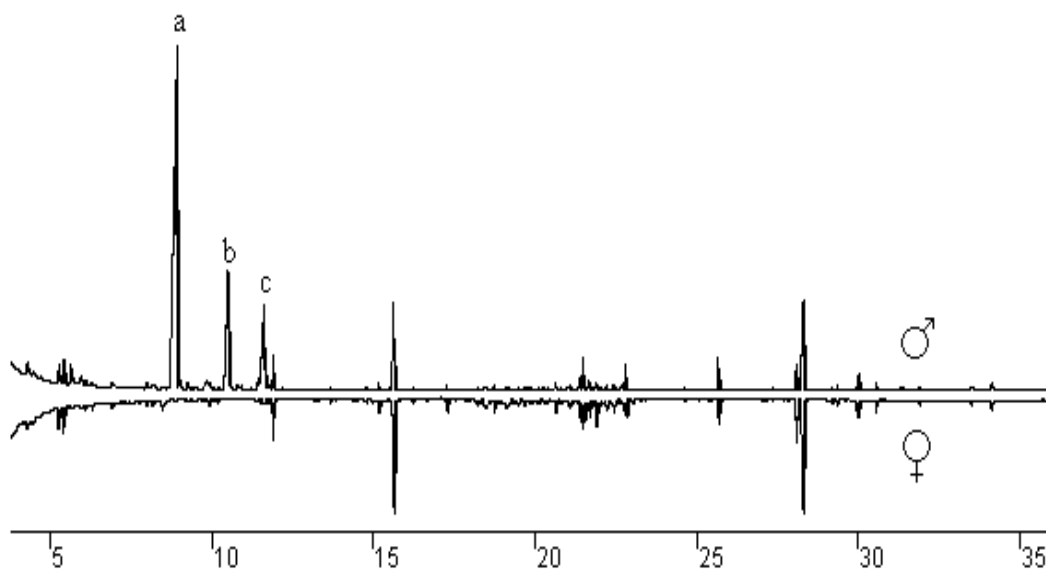


Figura 7. Análises em cromatografia gasosa (CG) de voláteis obtidos de machos e fêmeas de *P. obesus* evidenciando os compostos macho-específicos supostamente envolvidos na comunicação química da espécie, sendo que a letra **a** representa o composto majoritário; **b** o composto intermediário e **c** o composto minoritário.

A ação sinérgica entre feromônios e odores de plantas hospedeiras é bastante difundida na literatura, já tendo sido relatada em mais de 34 espécies de Curculionidae (Bartelt 1999; Landolt & Phillips, 1997; Weissling *et al.* 1993; Moura & Vilela, 2001; Oehlschlager *et al.* 1988; Plarre & Vanderwel, 1999; Budenberg *et al.* 1993). Feromônios que incitam agregação em vários curculionídeos-praga como *Anthonomus grandis* (Boheman), (Tumlinson *et al.* 1969); *Pissodes nemorensis* (Germar) (Phillips *et al.* 1984), *Pissodes aproximatus* (Hopkins)(Booth *et al.* 1977; Booth 1983), *Curculio carye* (Hedin *et al.* 1979), *Rhabdoscelus obscurus* (Boisduval) (Chang & Curtis, 1972), geralmente, só possuem atividade biológica sobre os seus co-específicos mediante a presença de partes da planta hospedeira, a qual lhes confere a atratividade provocada pelo efeito aditivo dos seus voláteis, potencializando estes feromônios. Em insetos que utilizam o feromônio de agregação, principalmente em coleópteros-praga, a agregação de co-específicos ocorre em função de uma quantidade expressiva de insetos machos sobre o hospedeiro, bem como a sua alimentação nesse substrato.

Armadilhas utilizando feromônios em adição a odores provenientes de frutos e ou partes da planta hospedeira, têm sido utilizadas para o monitoramento e a redução populacional de coleópteros da família Nitidulidae (Warner 1960; Pree 1969; Foott & Hybsky, 1976; Lin *et al.* 1992). Substâncias voláteis obtidas das folhas ou das cascas de frutos e de frutos em diferentes estágios de maturação, combinados com o feromônio de *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) provocaram as maiores respostas, tanto para machos como para fêmeas, indicando o efeito sinérgico de ambos (Bakri 1990). Em *Anaglyptus subfasciatus* (Pic), a adição de caimônios de plantas tem sido sugerida para a atração de ambos os sexos como forma de aumentar a eficiência de manejo Leal *et al.* 1995).

Os resultados obtidos demonstram que a comunicação entre os co-específicos de *P. obesus* é mediada pela presença de semioquímicos, mais especificamente, por feromônios de

agregação e caïromônios, haja vista que houve atração significativa de ambos os sexos para os voláteis de insetos machos adicionados à planta hospedeira, sendo que os três componentes macho-específicos detectados nas análises cromatográficas são os principais candidatos a feromônio na espécie.

Estudos estão sendo realizados no intuito de elucidar as estruturas destes compostos, visando à avaliação da atividade biológica sobre os co-específicos de *P. obesus* sob condições de laboratório e de campo.

As características biológicas e comportamentais desta espécie como ciclo biológico longo, uma geração por ano, monófagas, (Fancelli *et al.* 1995) não possuem hospedeiros alternativos, e dificuldades para detecção dos danos e seu efetivo controle (Moreira *et al.* 2003), credenciam esta praga para o desenvolvimento e implementação de estratégias voltadas ao manejo integrado. Técnicas que empregam armadilhas com substâncias feromonais sintéticas, em adição a partes da planta hospedeira, seriam uma excelente alternativa de monitoramento e controle, visando à redução populacional da praga em campo e conseqüentemente, a minimização dos seus danos.

Referências Bibliográficas:

- BAKER, T. C. & C. E. LIN. 1984. Wind tunnels in pheromone research, 75-110 p. *In*: Hummel, H. E. & Miller, T. H. (eds), **Techniques in pheromone research**. Springer-Verlag, New York, 464 p.
- BAKRI, A. 1990. Chemical ecology of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wied): **Interaction of pheromone with host-plant volatiles**. Ph.D Thesis, University of Southampton, Southampton.
- BARTELT, R. J. 1999. Weevils. *In*: J. Hardie & A. K. Minks (eds), **Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants**. CAB International, London, UK, 92-112 p.
- BOOTH, D. C.; T. W. PHILLIPS; A. CLAESON; R. M. SILVERSTEIN; G. N. LANIER & J. R. WEST. 1983. Aggregation pheromone components of two species of *Pissodes* weevils (Coleoptera: Curculionidae): isolation, identification, and field activity. **Journal of Chemical Ecology** **9**, 1-12.
- BOOTH, D. C.; A. CLAESON; G. N.A. LANIER; R. M. SILVERSTEIN. 1977. Components of the aggregation pheromone of *Pissodes* weevils. **Journal New York Entomology Society** **85**:167.
- BUDENBERG, W. J; I. O. NDIEGE; & F. W. KARAGO. 1993. Evidence for volatile male-produced pheromone in banana weevil *Cosmopolites sordidus*. **Journal Chemical Ecology** **19**:1905-1916.
- CHANG, V. C. S. & G. A. CURTIS. 1972. Pheromone production by the New Guinea sugarcane weevil. **Environmental Entomology** **1** (4): 476-48.
- DUSENBERY, D. 1992. Sensory Ecology. **W. H. Freeman and Co.** New York, 558 p.
- FANCELLI, M; N. F. SANCHES; J. L. L. DANTAS; C. F. G. MORALES. 1995. Ocorrência de *Pseudopiazurus papayanus* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae) em genótipos de mamoeiro (*Carica* spp). *In*: Congresso Brasileiro de Entomologia 15, Caxambu, MG. **Resumos**. Caxambu: ESAL, 746 p.
- FARIAS, A. R. N. & A. O. ALMEIDA. 1992. Ocorrência de *Pseudopiazurus papayanus* em Cruz das Almas, Bahia. Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMF, (Embrapa-CNPMF: **Mamão em Foco**), 1 p.
- FOOTT, W. H. & J. E. HYBSKY. 1976. Capture of *Glischrochilus quadrisignatus* (Coleoptera: Nitidulidae) in bait traps. **Canadian Entomology** **108**: 837-839.

- GIBLIN-DAVIS, R. M.; A. C. OEHLISCHLAGER; A. PEREZ; G. GRIES; R. GRIES; T. J. WEISSLING; C. M. CHINCHILLA; J. E. PEÑA; R. H. HALLET; H. D. PIERCE JR. & L. M. GONZALEZ. 1996. Chemical and behavioral ecology of palm weevils (Curculionidae: Rhynchophorinae) **Florida Entomologist** **79**: 153-167.
- HEDIN, P. A.; J. A. PAYNE; T. L. CARPENIER & W. NEEL. 1979. Sex pheromone of the male and female pecan weevil, *Curculio carye*: Behavioral and chemical studies. **Environmental Entomology** **8**:521-523.
- LANDOLT, P. J. & T. W. PHILLIPS. 1997. Host plant influence on sex pheromone behavior of phytophagous insects. **Annual Review of Entomology** **42**: 371-391.
- LEAL, W. S.; C. P. S. YADAVA; J. N. VIJAVERGIA. 1995. Structure, stereochemistry, and thermal isomerization of the male pheromone of the longhorn beetle *Anaglyptus subfasciatus*. **Procedure Natural Academic Science**. USA, 92: 1038-1042.
- LIN, H.; P. L. PHELAN & J. R. BARTELT. 1992. Synergism between synthetic food odors and the aggregation pheromone for attracting *Carpophilus lugubris* (Coleoptera: Nitidulidae) in the field. **Environmental Entomology** **21**: 156-159.
- MOREIRA, M. A. B.; P. H. G. ZARBIN; G. H. ROSADO-NETO; M. F. P. BARRETO; J. F. D. SOBRINHO; M. BORGES. 2003. A broca-do-mamoeiro e recomendações de controle. **Circular Técnica** **35**, Embrapa:Tabuleiros Costeiros, Aracaju-SE.
- MOREIRA, M. A. B.; P. H. G. ZARBIN. 2004. Ecologia Química da broca-do-mamoeiro. Coleoptera: Curculionidae). MXXVI Reunião Anual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares. Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, **Resumos**.
- MOURA, J. I. L & E. F. VILELA. 2001. Feromônios no controle de *Rhynchophorus palmarum*, 145-146 p. *In: Feromônios de Insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas* (2nd. Ed.) Vilela, E. F & Della Lúcia T. M. C (eds), Holos Editora, Ribeirão Preto-SP, 206 p.
- OEHLISCHLAGER, A. C.; C. CHINCHILLA; L. M. GONZALEZ; Z. L. F. R. JIRON; R. MEXON & B. MORGAN.1993. Development of pheromone-based trapping system for the American palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) **Journal Economic Entomology** **86**: 1381-1392.
- OEHLISCHLAGER, A. C.; A. M. PIERCE; H. D. PIERCE JR; & J. H. BORDEN. 1988. Chemical communication in cucujid grain beetles. **Journal Chemical Ecology** **14**: 2071-2098.
- PHILLIPS, T. W.; J. R. WEST; J. L. FOLTZ; R. M. SILVERSTEIN & G. M. LARNIER.1984. Aggregation pheromones of the deodar weevil, *Pissodes nemorensis* (Coleoptera: Curculionidae): isolation and activity of grandisol and grandisal. **Journal of Chemical Ecology** **10**, 1417-1423.

- PLARRE, R. & D. C. VANDERWEL. 1999. Stored-Product Beetles, 49-198 p. *In: Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants*. Hardi J. & A. K. Minks (eds).
- PREE, D. J. 1969. Control of *Glischrochilus quadrisignatus* (Say) (Coleoptera: Nitidulidae), a pest of fruit and vegetables in southwestern Ontario. **Proceedings Entomology Society**, **99**: 60-64.
- SANCHES, N. F. F.; M. FANCELLI; J. L. L. DANTAS. 1995. Distribuição de *Pseudopiazurus papayanus* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae) em caule de mamoeiro (*Carica papaya* L.). *In: Congresso Brasileiro de Entomologia*, 15, Caxambu, MG. **Resumos**, 287 p.
- SOUSA, W. O.; G. H. ROSADO-NETO; M. A. B. MOREIRA & P. H. G. ZARRBIN. 2004. Description of the larva and pupa of the papaw borer weevil *Pseudopiazurus papayanus* (Marshall) (Coleoptera, Curculionidae, Piazurini), **Revista Brasileira de Entomologia** **48** (2): 331-334, junho.
- STATISTICA, STAT SOFT, INC. 1999. Statistic for windows. **Computer program manual**.
- TAKABAYASHI, T. & M. DICK. 1992. Response of predatory mites with different rearing histories to volatiles of uninfested plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata** **64**: 187-193.
- TUNLINSON, J. H.; D. D. HARDEE; R. C. GUELDNER; A. C. THOMPSON; P. A. HEDIN; J. P. MINYARD. 1969. Sex pheromone produced by male boll weevil: isolation, identification and synthesis. **Science** **166**, 1010-1012.
- WARNER, R. W. 1960. Area baiting to control *Drosophila* and nitidulid beetles, 35-38 p. *In: Proceedings*, **14th Annual research Conference California Fig Institute**.
- WEISSLING, T. J.; R. M. GIBLIN-DAVIS & R. H. SCHEFFRAHA. 1993. Laboratory and field evidence for male-produced aggregation pheromone in *Rhynconphorus cruentatus* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Chemical Ecology** **19**: 1195-1203.
- ZARBIN, P. H. G. 2001. Extração, isolamento e identificação de substâncias voláteis de insetos, 45-50 p. *In: Feromônios de Insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas* (2nd. Ed.) Vilela, E. F & Della Lúcia T. M. C. (eds), Holos Editora, Ribeirão Preto-SP, 206 p.

Capítulo III

Identificação química dos compostos feromonais e avaliação da atividade biológica sobre o comportamento da broca-do-mamoeiro, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae)

Identificação química dos compostos feromonais e avaliação da atividade biológica sobre o comportamento da broca-do-mamoeiro, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae)

Resumo

Análises cromatográficas dos voláteis obtidos de machos e fêmeas da broca-do-mamoeiro, *P. obesus*, (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae) revelaram a existência de três compostos macho-específicos. Por meio de interpretações dos respectivos espectros de massas e realizações de micro-derivatizações, tais compostos foram identificados como sendo o grandisal (majoritário), grandisol (intermediário) e um componente inédito, o qual foi denominado de papaianol (minoritário). A avaliação da atividade biológica destes compostos sobre o comportamento de co-específicos da praga foi realizada de forma individual, em combinações binárias e ternárias, em diferentes proporções e concentrações sob condições de olfatômetro de dupla escolha e em arena. Os resultados mostraram que o composto grandisal nas dosagens de 20 ug e 200 ug e a mistura ternária nas proporções de 1:1:1 e 10:1:1 possuem atividade biológica para os co-específicos da praga e que diferiram significativamente dos demais tratamentos. No entanto, não apresentaram ser diferentes quando confrontados entre si. Resultados obtidos em teste de arena corroboraram aqueles obtidos nas avaliações em condições de olfatômetro. Tais resultados demonstraram que estes compostos macho-específicos junto aos cairomônios emitidos pela planta hospedeira, estão mediando o comportamento de agregação entre os co-específicos da espécie, haja vista que a resposta comportamental foi semelhante àquela observada para o extrato de insetos machos associados à dieta natural.

Palavras-chave: atividade biológica; feromônio; grandisal; grandisol; papaianol; praga do mamoeiro.

Chemical identification of pheromonal compounds and evaluation of the biological activity on the behavior of the papaya weevil, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae)

Abstract

Chromatographic analyses of the volatiles obtained from male and female papaya weevils *P. obesus*, (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae) revealed the existence of three male-specific compounds. By means of interpretations of the respective mass spectra and by carrying out micro-derivatization, these compounds were identified as being grandisal (majoritary), grandisol (intermediate) and a previously unpublished compound, which has been named papaianol (minoritary). The evaluation of the biological activity of these compounds on the behavior of co-specifics for this pest was carried out in an individual manner, in binary and ternary combinations, in different proportions and concentrations, under double-choice olfactometer and arena conditions. The results show that the grandisal isolated in dosages of 20 ug and 200 ug and the ternary mixture in the proportions 1:1:1 and 10:1:1 possess biological activity for the co-specifics of the papaya weevil, which differed significantly from the remaining treatments. However, they did not display differences when confronted with each other. Results obtained in the arena test corroborate those obtained in evaluations under olfactometer conditions. These results demonstrate that these male-specific compounds, along with the kairomones emitted by the host plant, are mediating the aggregation behavior among the co-specifics for the species, given that the behavioral response was similar to the one observed for the extract from male insects associated with the normal diet.

Keywords: biological activity; pheromone; grandisal; grandisol; papaianol; papaya pest.

Introdução

A espécie *Pseudopiazurus obesus*, (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae), conhecida como a broca-do-mamoeiro é considerada praga secundária para a cultura do mamão. Entretanto, quando em surtos freqüentes, como ocorrem no Nordeste do Brasil, torna-se praga de interesse econômico em função das áreas infestadas e pela expressividade dos seus danos (Moreira *et al.* 2003)

O controle convencional dessa praga com inseticidas químicos fica dificultado pelas características do seu ataque, uma vez que são coleobrocas, e os danos são efetuados no interior do caule do mamoeiro por meio de suas larvas, que não são atingidas pelos inseticidas convencionais (Moreira *et al.* 2003). O uso indiscriminado de agrotóxicos, além de causar danos ao meio ambiente e a organismos não-alvos, tem causado problemas relacionados à resistência dos insetos aos princípios ativos desses produtos.

Em estudos anteriores, Moreira 2005 (Capítulo II), por meio das análises comparativas dos espectros em CG dos extratos brutos de insetos machos e fêmeas confirmou a existência de três compostos macho-específicos na espécie. Ainda o mesmo autor, em avaliações relacionadas sobre a atividade biológica dos compostos químicos naturais, constatou que o extrato dos machos, quando associados à dieta natural, foi o único que apresentou ser biologicamente ativo para os co-específicos da espécie, evidenciando que estes compostos tratam-se de feromônios de agregação, uma vez que ambos os sexos da espécie foram atraídos.

Técnicas de monitoramento e de controle por meio de armadilhas com substâncias feromonais sintéticas em adição a partes vegetais da planta hospedeira, viabilizam a captura massal de co-específicos bem como a utilização de plantas-armadilha visando a redução populacional da praga em campo e a redução dos seus danos (Rochat *et al.* 1993). Neste sentido,

este estudo visa a identificar as estruturas químicas dos compostos feromonais, bem como avaliar a atividade biológica dos mesmos sobre o comportamento dos insetos desta espécie, no intuito de empregá-los em programas voltados ao manejo integrado junto às demais pragas associadas à cultura do mamão.

Material e Métodos

Criação de insetos da broca-do-mamoeiro em laboratório

Para a criação dos insetos foram adotados os mesmos procedimentos metodológicos descritos no primeiro capítulo da tese.

Obtenção dos voláteis de insetos machos e fêmeas

Foram utilizados 160 insetos virgens, sendo 80 machos e 80 fêmeas, com 40 dias de idade, para a obtenção dos voláteis, mantidos separadamente em quatro câmaras de aeração de vidro, com 40 insetos/câmara. Os demais procedimentos adotados para a obtenção dos voláteis são detalhados no capítulo II.

Procedimentos analíticos

Para procederem às corridas no cromatógrafo, os voláteis puros de machos e fêmeas foram retirados do freezer e mantidos à temperatura ambiente durante 5 minutos. Após este período, retirou-se 1 ul da solução a qual foi injetada em um cromatógrafo a gás (modelo Varian 3800), utilizando-se de uma coluna capilar, VA-5 (30 mm x 0,25 mm x 0,25 um) 5% fenil, 95% dimetil polisiloxana e o gás hélio como arraste. As condições de análises em CG foram: 70⁰ C com aumento de 7⁰ C/minuto até atingir a temperatura final de 250⁰ C a qual foi mantida por 10 minutos. Após o término, os cromatogramas foram analisados e comparados entre si para a detecção das diferenças entre os compostos químicos liberados pelos machos e fêmeas de *P. obesus*. As análises em CG-MS foram realizadas em um equipamento Varian Saturn 2000, utilizando-se a mesma coluna e as condições acima descritas.

Bioensaios em olfatômetro

Foram efetuados bioensaios com olfatômetro de dupla escolha onde foram avaliados os compostos feromonais sintéticos: I - de modo individual, II - em combinações binárias e III - em combinações ternárias, cujos tratamentos foram: I- 1) grandisal + dieta natural x solvente + dieta natural; grandisol + dieta natural x solvente + dieta natural; papaianol + dieta natural x solvente + dieta natural, utilizando-se as dosagens dos compostos de 0,2 ug, 2,0 ug, 20 ug e 200 ug; II- 1) grandisal + grandisol + dieta natural x solvente + dieta natural; 2) grandisal + papaianol + dieta natural x solvente + dieta natural; 3) grandisol + papaianol + dieta natural x solvente + dieta natural, utilizando-se as proporções para os respectivos compostos: 1:1; 10:1 e 100:1 (assumiu-se 20 ug na proporção majoritária); III- 1) grandisal + grandisol + papaianol + dieta natural x solvente + dieta natural nas proporções de 1:1:1, 10:1:1 e 100:1:1 e por último, foram confrontados os tratamentos que demonstraram atividade biológica para os co-específicos da broca-do-mamoeiro, grandisal 20 ug + dieta natural e a mistura ternária nas proporções de 1:1:1 e 10:1:1 + dieta natural. Como controle, foi utilizado o solvente hexano adicionado à parte do caule do mamoeiro, considerado a dieta natural.

Antes da instalação dos bioensaios em olfatômetro foram feitos testes de simulação de propagação de odores conforme já citados no segundo capítulo da tese. Foram colocados separadamente na base do olfatômetro, 40 machos e 40 fêmeas de *P. obesus*, sendo colocados 5 insetos por corrida, perfazendo o total de oito repetições/sexo, sendo 20 minutos a duração/corrída. Após as corridas, o sistema foi deixado em funcionamento durante dez minutos e efetuada a permutação das fontes de odor dos braços do olfatômetro para evitar a habituação dos insetos frente aos possíveis odores retidos nestes locais. Os bioensaios foram conduzidos no início da escotofase. A temperatura foi mantida em 26⁰ C e umidade relativa em torno de 75%.

Foram considerados somente os insetos que atingiram os braços do olfatômetro e que permaneceram junto à fonte de odor.

Bioensaios em arena

Foram efetuadas avaliações em condições de arena visando a corroborar os resultados obtidos sobre a atratividade dos compostos feromonais sintéticos, que em condições de olfatômetro, mostraram-se biologicamente ativos para os co-específicos da broca-do-mamoeiro. A arena foi confeccionada em madeira, medindo 70 cm de comprimento x 40 cm de largura e 10 cm de altura, coberta na parte superior com tela de náilon presa com elástico (figura 1).

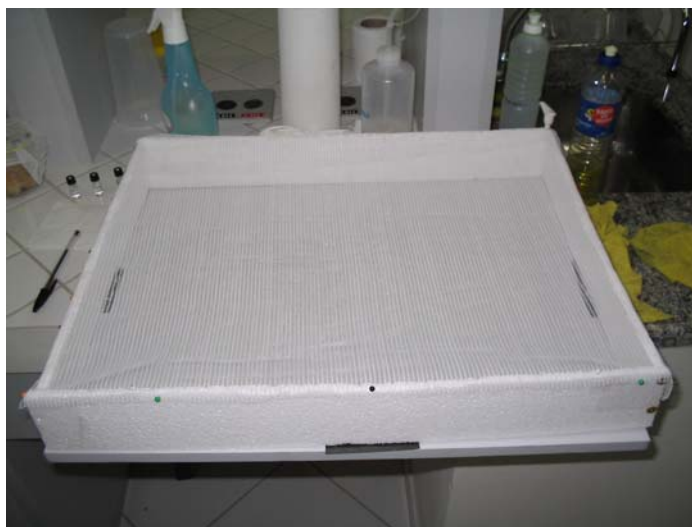


Figura 1. Arena utilizada para a avaliação da atratividade de machos e fêmeas de *P. obesus* para os compostos feromonais sintéticos: grandisal 20 ug + dieta natural; mistura ternária, grandisal + grandisol + papaianol (10:1:1) + dieta natural, papaianol + dieta natural.

O local onde foram conduzidos os bioensaios bem como as condições climáticas estabelecidas para este estudo foram às mesmas acima descritas. Foram realizados dois bioensaios visando a avaliar a atratividade de insetos machos e fêmeas em relação aos tratamentos: grandisal 20 ug + dieta natural, mistura ternária de grandisal + grandisol + papaianol nas proporções de 10:1:1 + dieta natural, papaianol + dieta natural. Como tratamento controle foi usado o solvente hexano, adicionado á parte do caule do mamoeiro (planta hospedeira). Os compostos sintéticos foram diluídos em solvente hexano (1mg/ml) e aplicados em papel de filtro, utilizando-se 3 ul da solução de cada composto/tratamento. A recasualização dos tratamentos no interior da arena foi realizada ao término das avaliações/leituras, a fim de evitar possíveis focos de contaminação dos tratamentos e ou habituação dos insetos em determinados locais da arena. Os insetos correspondentes a cada repetição foram colocados em uma caixa do tipo gerbox e liberados no centro da arena. As observações foram feitas com o auxílio de uma lanterna, sendo efetuadas as leituras a cada 5 minutos durante o período de 15 minutos de observação/repetição.

Para a avaliação, foram quantificados os insetos machos e ou fêmeas que atingiram a fonte de odor e ou que se posicionaram próximo à mesma, quando estes permaneciam no quadrante de papel onde se localizavam as fontes de odor. Os tratamentos foram distribuídos de modo equidistantes e colocados sobre duplo papel toalha, o qual, após o término das avaliações, foi removido e colocado um novo para se procederem as avaliações seguintes.

Procedimentos estatísticos

O modelo experimental foi o de blocos ao acaso, tendo cada bioensaio constado de 30 insetos/sexo, com três repetições/tratamento, sendo 10 insetos/repetição. Os dados obtidos dos insetos que alcançaram as respectivas fontes de odor em olfatômetro e em arena, foram transformados em porcentagem e efetuadas as análises das médias por meio do teste t ($P \leq 0,05$)

usando-se o programa Statistic Stat Soft, Inc. (1999). Após as análises estatísticas, foram elaborados gráficos mostrando as classes dos níveis de significância entre os percentuais médios obtidos nos tratamentos.

Resultados e discussão

Identificação dos compostos químicos

As estruturas químicas de dois compostos macho-específicos (figura 2) foram identificadas em função dos padrões de fragmentação os quais mostraram, para o composto intermediário **B**, as seguintes características: m/z (%) 154 (M+, 0,1); 139 (1,7); 134 (0,5); 121 (6,2); 109 (30,7); 68 (40); 67 (100); 39 (30).

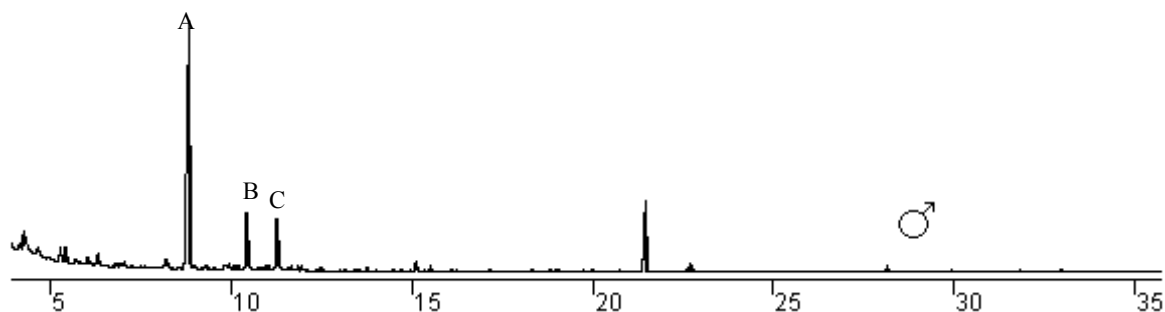


Figura 2- Cromatograma de extrato de inseto macho de *P. obesus* evidenciando a presença de compostos macho-específicos, representados pelas letras **A**, **B** e **C**.

Este padrão de fragmentação é semelhante ao encontrado para o composto majoritário do feromônio de agregação do bicudo do algodoeiro, cuja estrutura química associada é o grandisol. O componente majoritário **A** apresentou um padrão de fragmentação quase idêntico ao intermediário **B**, com a diferença única de duas unidades de massa a menos no pico do íon molar ($M + 152$). Com isso, postulou-se tratar do grandisal, obtido por oxidação do grandisol, o qual já foi descrito como componente do feromônio de agregação dos curculionídeos, *Pissodes*

nemorensis (Germar) (Phillips *et al.* 1984), *Pissodes aproximatus* (Hopkins) (Booth *et al.* 1977; Booth *et al.* 1983).

Análises comparativas utilizando-se padrões sintéticos do grandisal e grandisol, revelaram que o tempo de retenção e o padrão de fragmentação foram idênticos aos produtos naturais de *P. obesus*. Com isso, a estrutura química dos compostos majoritário **A** e intermediário **B**, puderam ser estabelecidos como sendo o grandisal e o grandisol, respectivamente (figura 3)

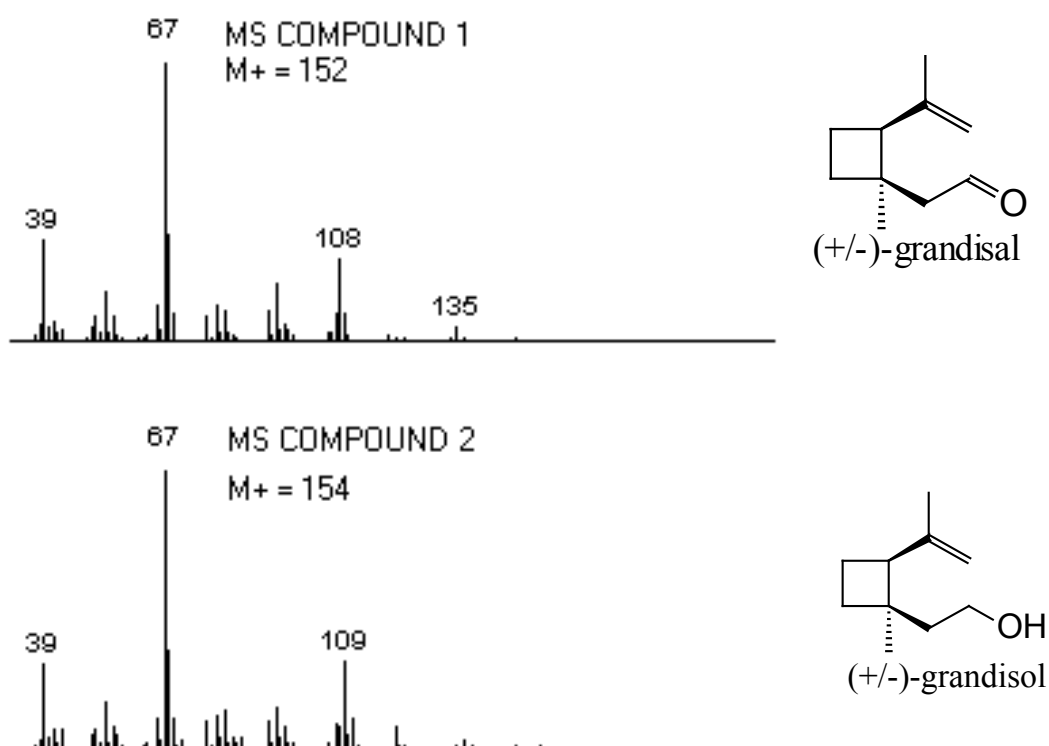


Figura 3. Espectros de massas dos compostos macho-específicos de *P. obesus*, identificados como sendo grandisal e grandisol e as suas respectivas estruturas moleculares (planos superior e inferior, respectivamente).

Para o componente minoritário C, pelo fato de não haver dados de fragmentação semelhantes a compostos já identificados e descritos na literatura, foi efetuada uma série de derivações até que a estrutura química pudesse ser determinada. Após estes processos, a substância foi identificada como sendo um sistema bicíclico, derivado do grandisol e denominada como papaianol, constituindo-se um composto químico inédito (Moreira & Zarbin, 2004) (figura 4).

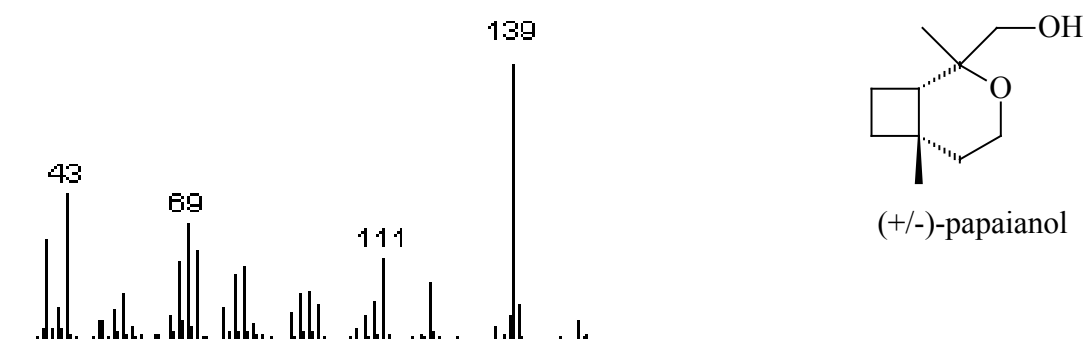


Figura 4. Espectro de massas do composto papaianol, componente minoritário do feromônio de agregação de *P. obesus* e sua respectiva estrutura molecular.

Com isso, as estruturas químicas presentes especificamente no extrato de insetos machos de *P. obesus* foram identificadas, e os compostos sintéticos (P.H.G. Zarbin, dados não publicados) puderam ser testados biologicamente.

Avaliação da atividade biológica dos compostos sintéticos

Respostas comportamentais obtidas entre insetos machos e fêmeas de *P. obesus* frente aos tratamentos a que foram submetidos em condições de olfatômetro e arena apresentaram os seguintes resultados:

Análises individualizadas

Grandisal

Machos e fêmeas apresentaram diferenças significativas quanto a atratividade para o tratamento grandisal + dieta natural nas dosagens 20 ug e 200 ug quando comparadas ao tratamento controle (figuras 5 e 6) ($P \leq 0,05$).

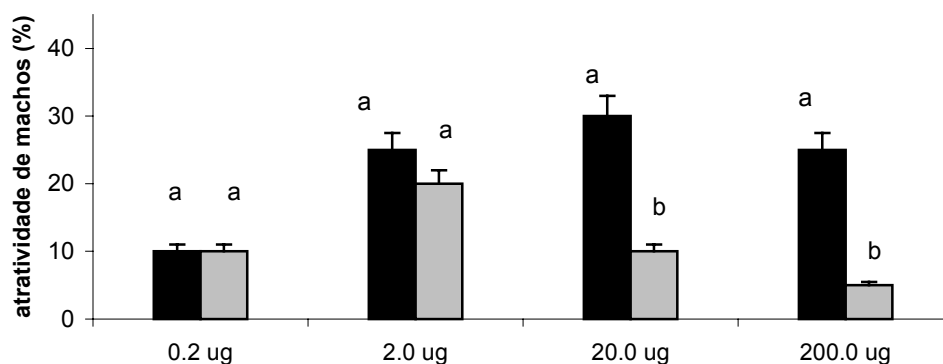


Figura 5. Atratividade média de machos de *P. obesus* em condições de olfatômetro de dupla escolha, às diferentes dosagens de grandisal adicionado à dieta natural x solvente + dieta natural. Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

Constatou-se que as fêmeas foram mais atraídas para as dosagens de 20 ug e 200 ug em relação aos insetos machos, cujos percentuais médios de atratividade foram de 30 ± 4 e 25 ± 3 para machos e de 45 ± 5 e 55 ± 6 para fêmeas, respectivamente. Verificou-se que a atratividade das fêmeas aumentou progressivamente à medida que aumentavam as dosagens do composto grandisol, fato este não detectado para a atratividade dos insetos machos.

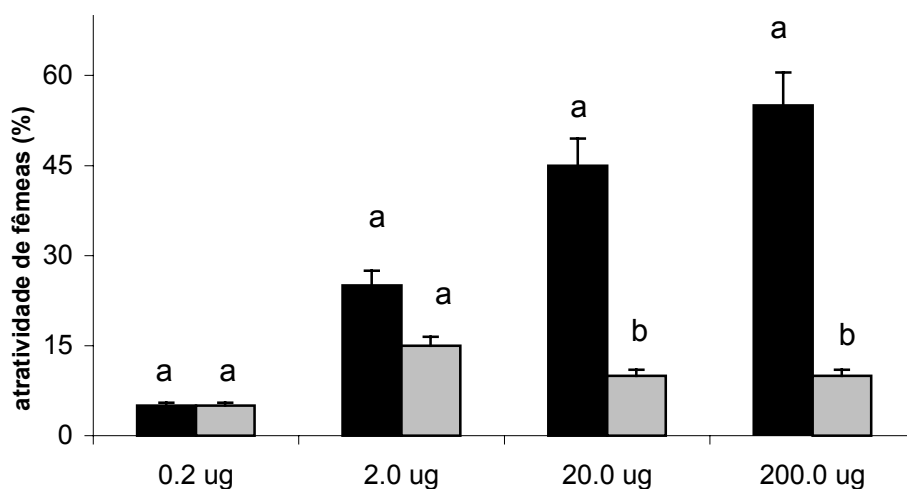


Figura 6. Atratividade média de fêmeas de *P. obesus* em condições de olfatômetro de dupla escolha, às diferentes dosagens de grandisol adicionado a dieta natural x solvente + dieta natural. Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

Grandisol

As diferentes dosagens do composto grandisol adicionadas à dieta natural não apresentaram diferenças significativas na atratividade dos co-específicos quando comparadas ao

tratamento controle (figuras 7 e 8) ($P \geq 0,05$). Este composto supostamente atribuído como componente intermediário do feromônio de agregação quando utilizado de forma individual não apresentou-se biologicamente ativo para machos e fêmeas de *P. obesus*.

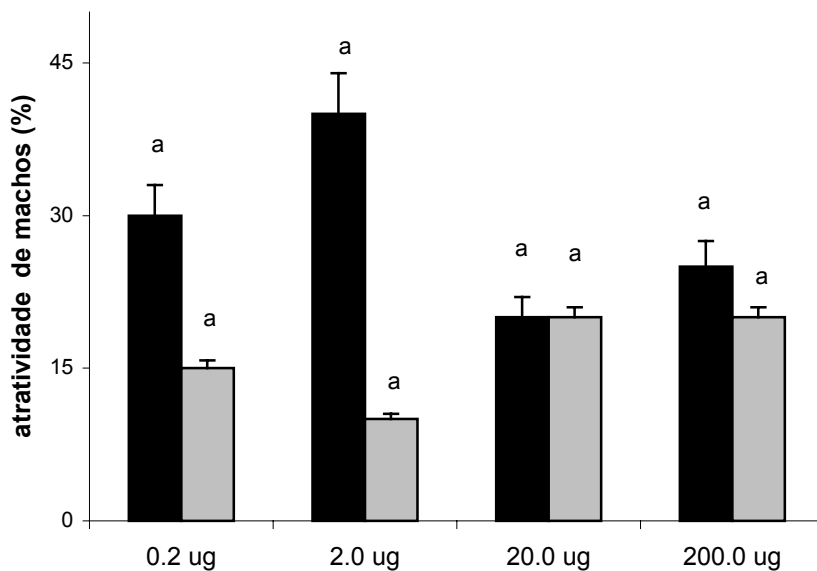


Figura 7. Atratividade média de machos de *P. obesus* em condições de olfatômetro de dupla escolha, às diferentes dosagens de grandisol adicionado à dieta natural x solvente + dieta natural. Barras seguidas pelas mesmas letras, não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

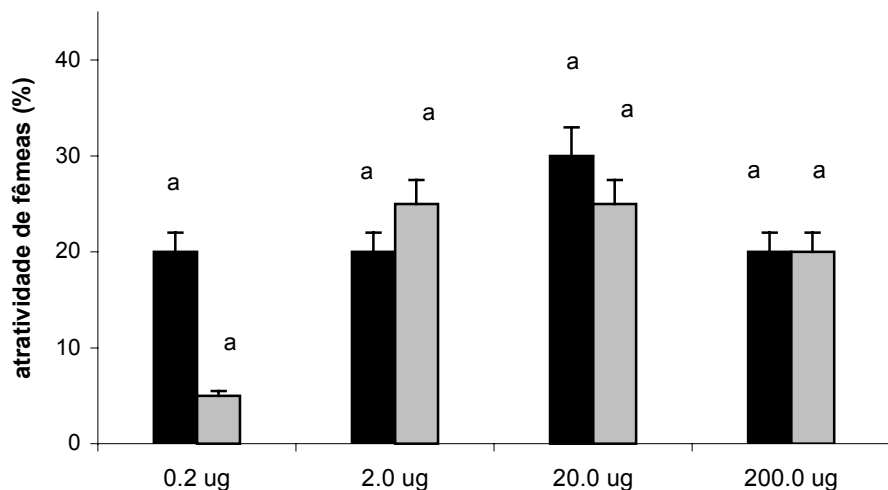


Figura 8. Atratividade média de fêmeas de *P. obesus*, em condições de olfatômetro de dupla escolha, às diferentes dosagens de grandisol adicionado à dieta natural x solvente + dieta natural. Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

Papaianol

As avaliações de todas as dosagens do composto papaianol, não apresentaram diferenças significativas na atratividade dos co-específicos quando comparadas ao tratamento controle, (figuras 9 e 10) ($P \geq 0,05$). Entretanto, a dosagem de 20 ug para ambos os sexos apresentou, aparentemente, repelência para os insetos, uma vez que o tratamento controle, diferiu significativamente em relação a este tratamento.

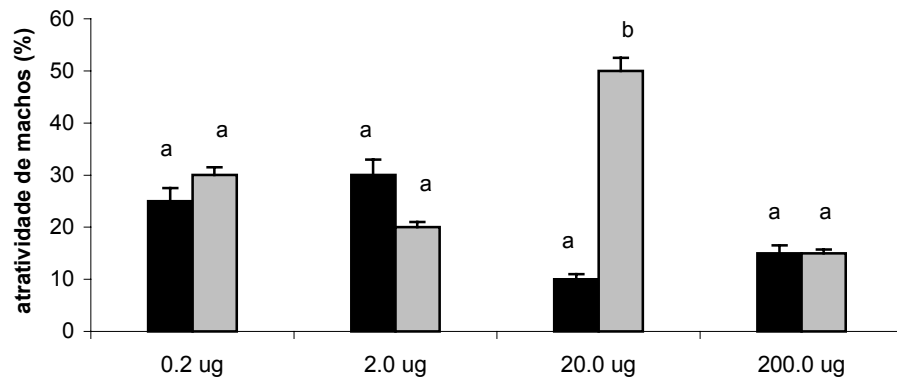


Figura 9. Atratividade média de machos de *P. obesus*, em condições de olfatômetro de dupla escolha, às diferentes dosagens de papaianol adicionado à dieta natural x solvente + dieta natural. Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

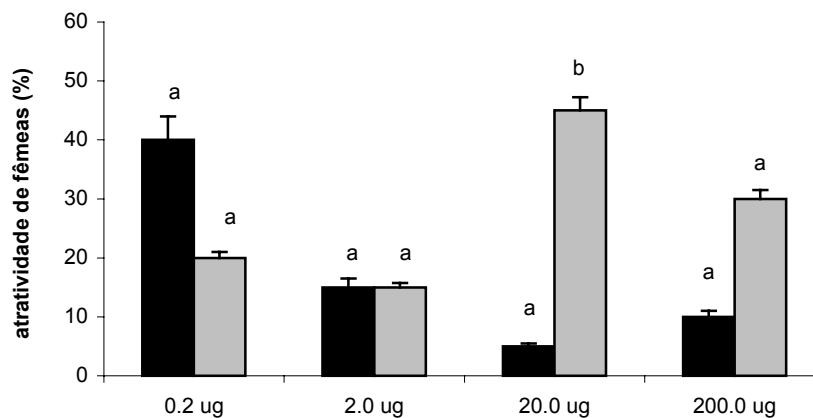


Figura 10. Atratividade média de fêmeas de *P. obesus* em condições de olfatômetro de dupla escolha, às diferentes dosagens de papaianol adicionado à dieta natural x solvente + dieta natural. Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

Análises em combinações binárias

Grandisal + Grandisol

Machos e fêmeas da broca-do-mamoeiro, frente aos odores grandisal + grandisol + dieta natural nas proporções de 1:1, 10:1 e 100:1, não apresentaram diferenças significativas quando comparados à atratividade do tratamento controle (figuras 11 e 12) ($P \geq 0,05$). Estes compostos, nas respectivas proporções, não se apresentaram atrativos nem biologicamente ativos para ambos os sexos da broca-do-mamoeiro.

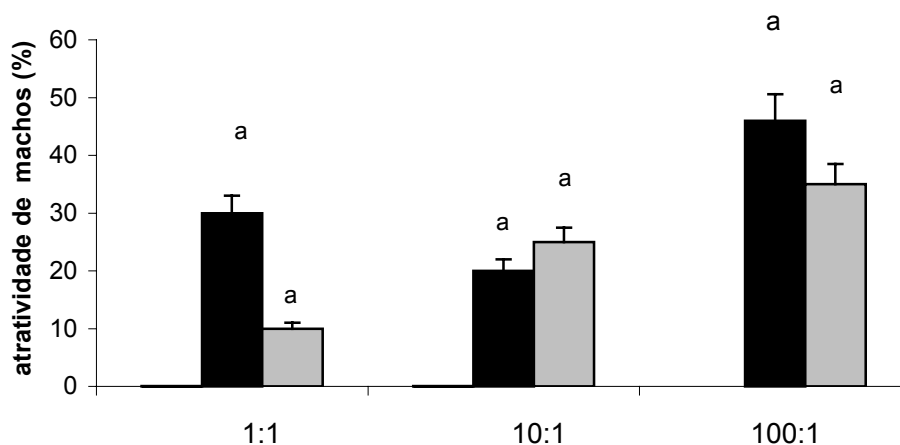


Figura 11. Atratividade média de machos de *P. obesus* em condições de olfatômetro de dupla escolha, aos odores grandisal + grandisol + dieta natural em diferentes proporções x controle (solvente) + dieta natural. Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

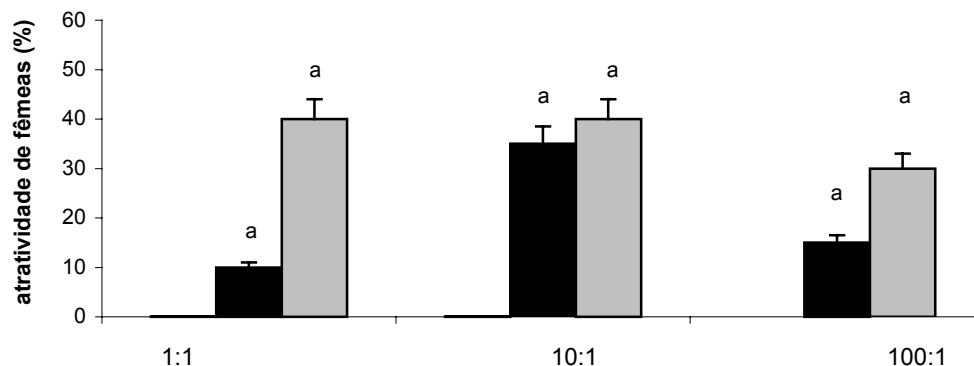


Figura 12. Atratividade média de fêmeas de *P. obesus*, em condições de olfatômetro de dupla escolha, aos odores grandisal + grandisol + dieta natural em diferentes proporções x controle (solvente) + dieta natural. Barras seguidas pelas mesmas letras, não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

Grandisal + Papaianol

Machos e fêmeas da broca-do-mamoeiro frente aos odores grandisal + papaianol + dieta natural nas proporções de 1:1, 10:1 e 100:1, não apresentaram diferenças significativas quando comparados à atratividade do tratamento controle (figuras 13 e 14) ($P \geq 0,05$), indicando que os mesmos, em suas respectivas proporções, não se mostraram biologicamente ativos para os co-específicos da broca-do-mamoeiro.

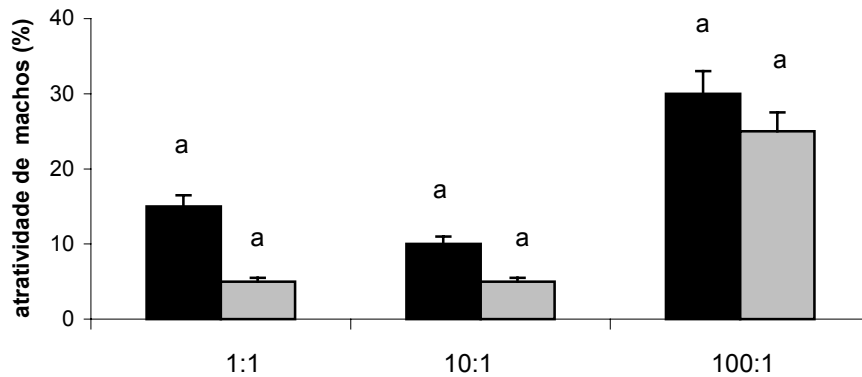


Figura 13. Atratividade média de machos de *P. obesus*, em condições de olfatômetro de dupla escolha aos odores grandisal + papaianol + dieta natural em diferentes proporções x dieta natural + solvente (controle). Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

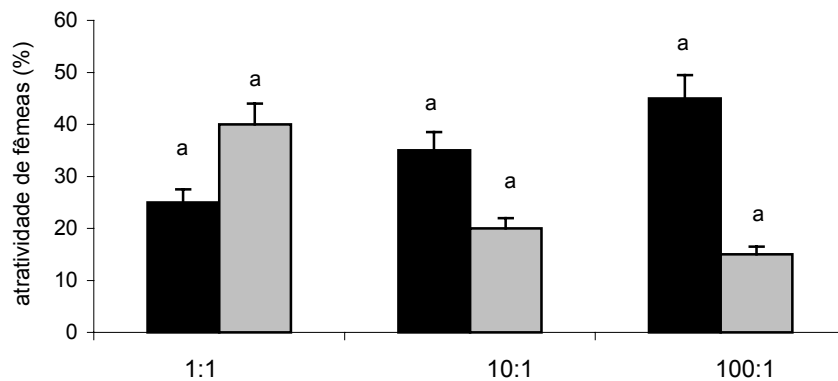


Figura 14. Atratividade média de fêmeas de *P. obesus*, em condições de olfatômetro de dupla escolha, aos odores grandisal + papaianol + dieta natural em diferentes proporções x dieta natural + solvente (controle). Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

Grandisol + Papaianol

Da mesma forma que nos ensaios anteriores, a mistura binária grandisol + papaianol + dieta natural nas proporções de 1:1, 1:10 e 1:100, não apresentou diferenças significativas quando comparada à atratividade do tratamento controle (figuras 15 e 16) ($P \geq 0,05$).

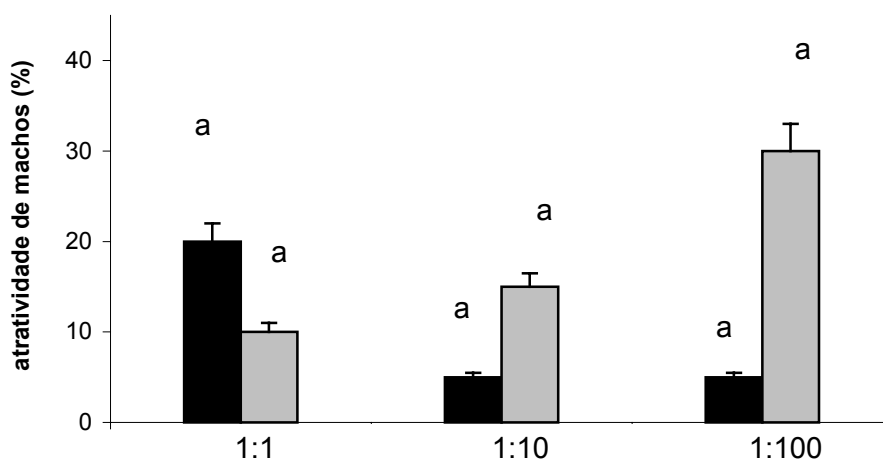


Figura 15. Atratividade média de machos de *P. obesus*, em condições de olfatômetro de dupla escolha, aos odores grandisol + papaianol + dieta natural em diferentes proporções x dieta natural + solvente (controle). Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

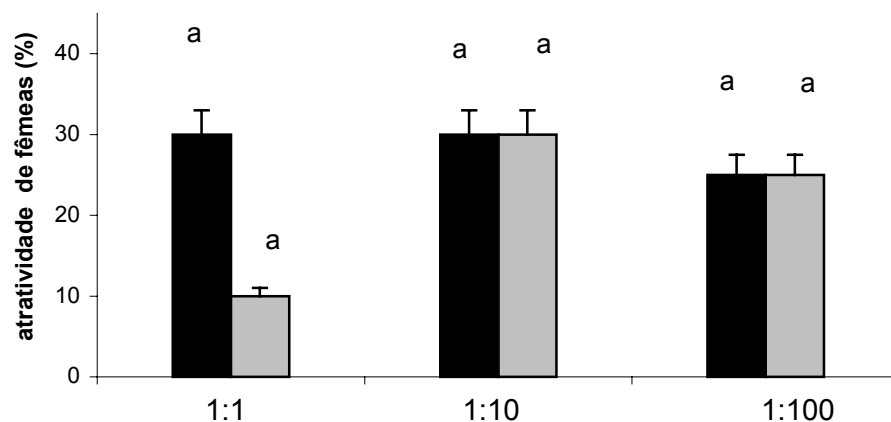


Figura 16. Atratividade média de fêmeas de *P. obesus*, em condições de olfatômetro de dupla escolha aos odores grandisal + papaianol + dieta natural em diferentes proporções x dieta natural + solvente (controle). Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

Análises em combinações ternárias

Machos e fêmeas apresentaram diferenças significativas quanto à atratividade para o tratamento grandisal + grandisol + papaianol adicionados á dieta natural, nas proporções de 1:1:1 e 10:1:1 quando comparado ao controle (figuras 17 e 18) ($P \leq 0,05$).

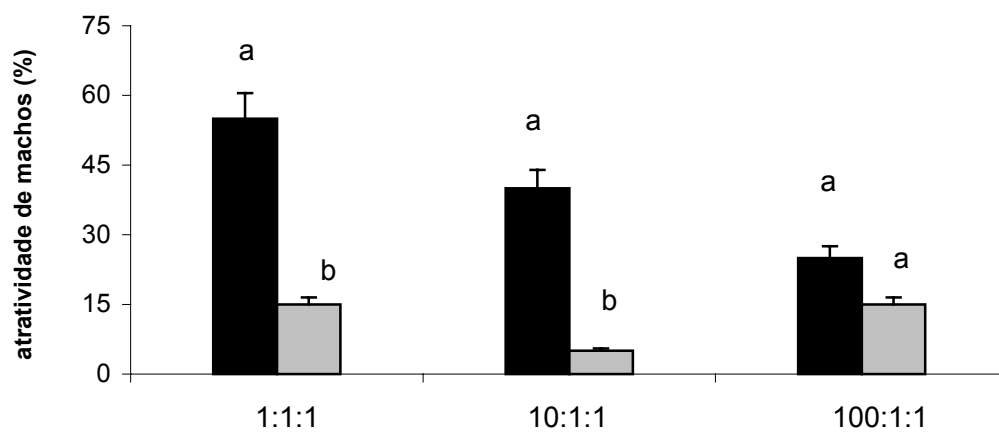


Figura 17. Atratividade de machos de *P. obesus*, em condições de olfatômetro de dupla escolha aos odores grandisal + grandisol + papaianol nas proporções de 1:1:1, 10: 1:1 e 100:1:1, adicionadas à dieta natural x solvente + dieta natural. Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

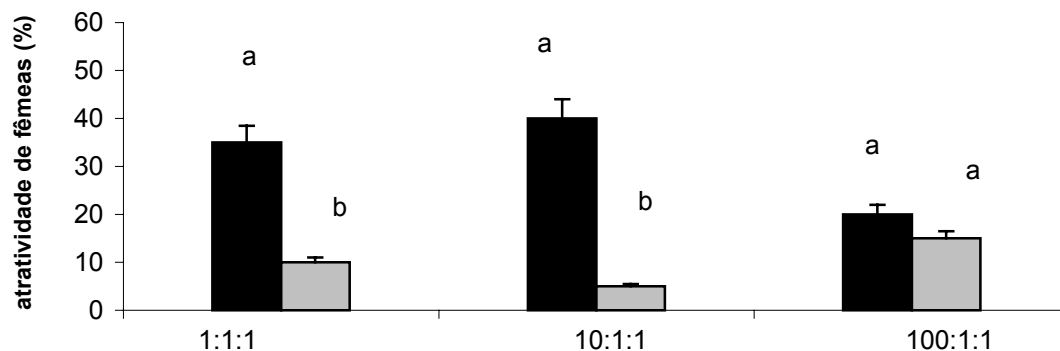


Figura 18. Atratividade de fêmeas de *P. obesus*, em condições de olfatômetro de dupla escolha, aos odores grandisal + grandisol + papaianol nas proporções de 1:1:1, 10: 1:1 e 100:1:1, adicionadas à dieta natural x solvente + dieta natural. Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

Comparando-se os percentuais médios de atratividade para ambos os sexos, constatou-se que os resultados foram semelhantes para a atratividade aos odores da mistura ternária, não havendo um incremento progressivo na atratividade quando se aumentou a dosagem do composto majoritário em 10 vezes (proporção de 1:1:1 para a proporção de 10:1:1). Entretanto, quando se aumentou em mais dez vezes este mesmo composto (proporção de 10:1:1 para a proporção de 100:1:1), observou-se que os insetos não responderam ativamente a este odor e não apresentaram diferenças significativas quando comparado ao tratamento controle. Este resultado indica que a atividade deste composto majoritário, em termos de atratividade para os co-

específicos da espécie, seja dose-dependente, sendo que concentrações elevadas causariam, possivelmente, uma habituação dos insetos aos odores.

Confronto entre compostos biologicamente ativos

Com base nos resultados obtidos, os compostos que apresentaram atividade biológica para os co-específicos da broca-do-mamoeiro, foram confrontados. Observou-se que o composto majoritário grandisal, na dosagem de 20 ug, e as misturas ternárias de grandisal + grandisol + papaianol, nas proporções de 1:1:1 e de 10:1:1, todos adicionados à dieta natural, mostraram que significativamente não possuem diferenças entre si na atratividade para machos e fêmeas (figuras 19 e 20) ($P \geq 0,05$).

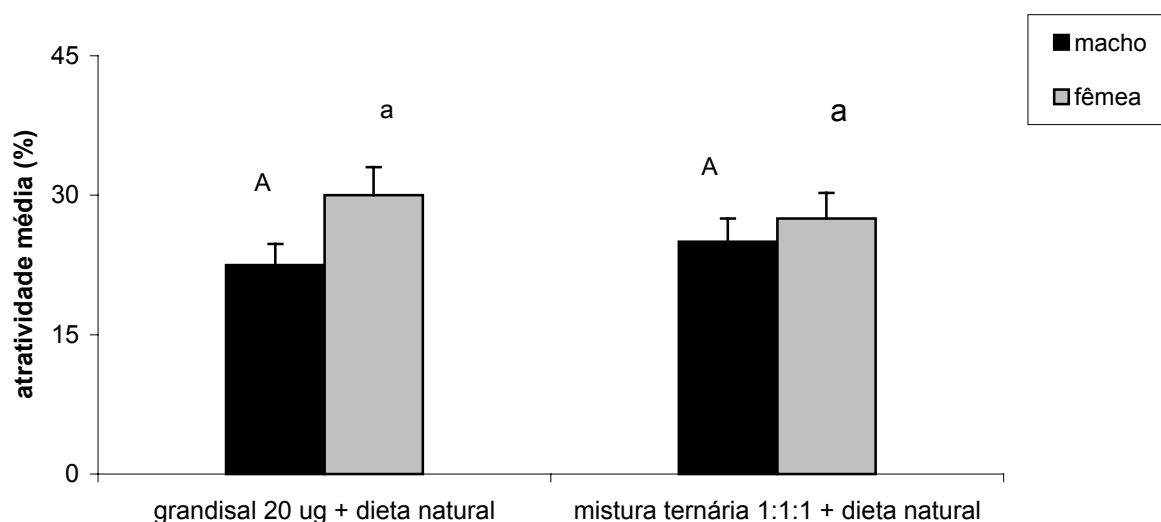


Figura 19. Atratividade de machos e fêmeas de *P. obesus*, em condições de olfatômetro de dupla escolha aos compostos grandisal e mistura ternária de grandisal + grandisol + papaianol nas proporções de 1:1:1. Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

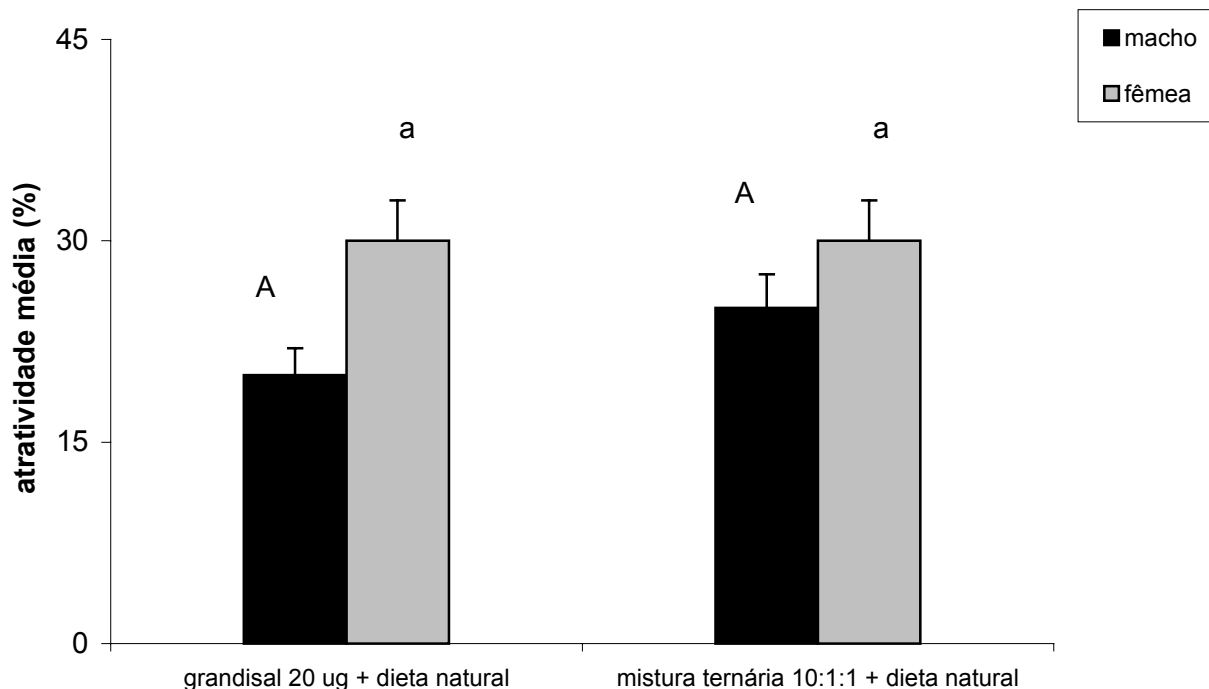


Figura 20. Atratividade de machos e fêmeas de *P. obesus*, em condições de olfatômetro de dupla escolha aos compostos grandisal e mistura ternárias de grandisal + grandisol + papaianol nas proporções de 10:1:1. Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (teste t, 5%).

Os experimentos realizados em condições de arena mostraram resultados semelhantes. O composto grandisal na dosagem de 20 ug ($P \geq 0,5369$, machos e $P \geq 0,13975$, fêmeas) e a mistura ternária na proporção de 10:1:1 ($P \geq 0,0667$, machos e $P \geq 0,035918$, fêmeas) não apresentaram diferenças significativas entre si na atratividade entre os co-específicos da broca-do-mamoeiro. Entretanto, mostraram ser diferentes quando comparados aos tratamentos

papaianol e o controle; grandisal ($P \leq 0,024008$ para machos e $P \leq 0,016965$, fêmeas) mistura ternária ($P \leq 0,005424$, machos e $P \leq 0,000423$, fêmeas) (figuras 21 e 22).

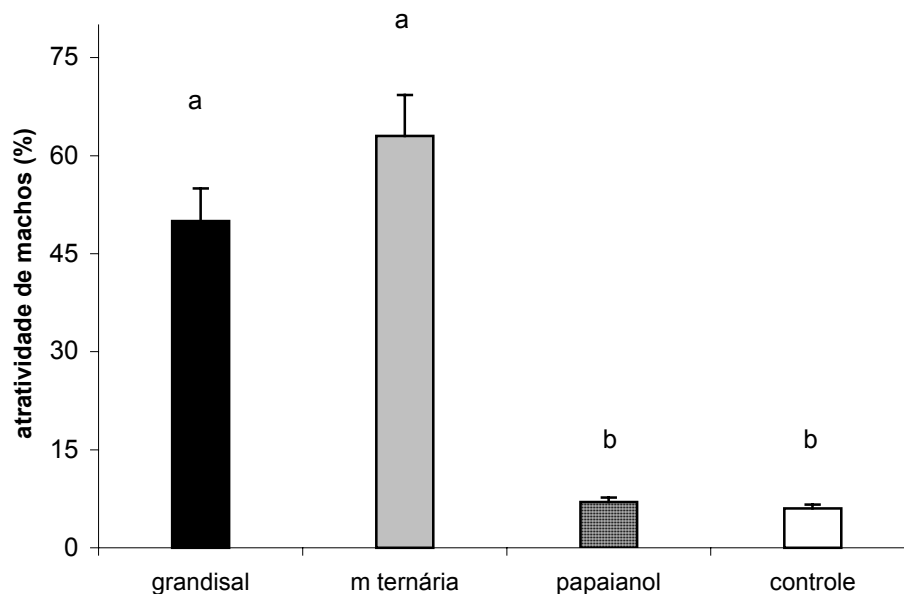


Figura 21. Atratividade de machos de *P. obesus*, em condições de arena, aos odores grandisal + dieta natural; mistura ternária de grandisal + grandisol + papaianol adicionados à dieta natural e papaianol + dieta natural x controle Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (test t, 5%).

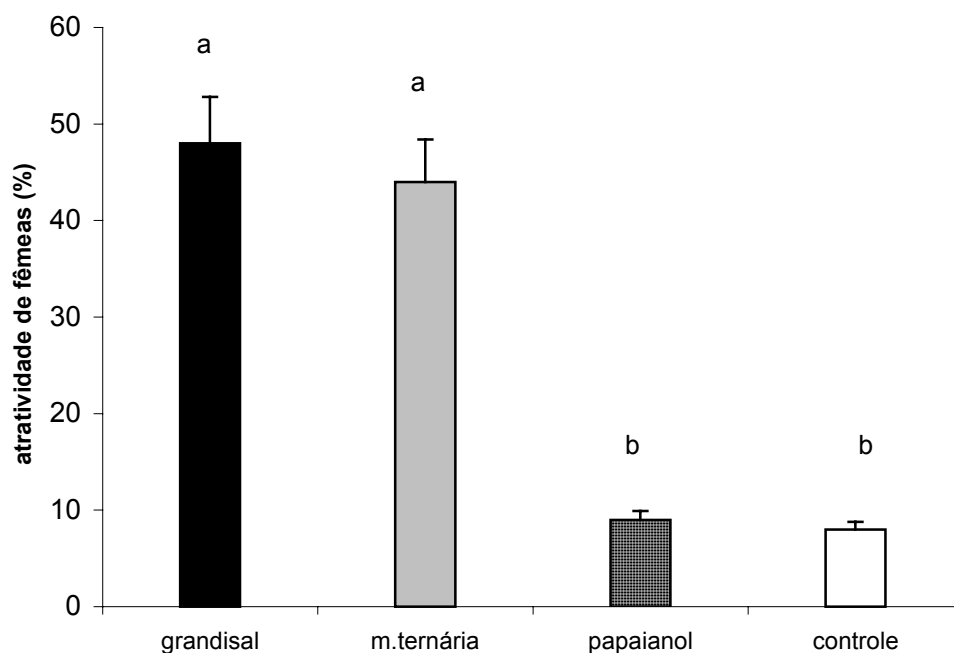


Figura 22. Atratividade de fêmeas de *P. obesus*, em condições de arena, aos odores grandisal + dieta natural; mistura ternária de grandisal + grandisol + papaianol adicionados à dieta natural e papaianol + dieta natural x controle. Barras seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes (test t, 5%).

O conjunto de resultados obtidos indica que, aparentemente, o composto majoritário é o principal responsável pela mediação na comunicação química entre os co-específicos da espécie. Um ponto aparentemente contraditório é o fato de que o grandisal, quando presente em misturas binárias, não apresentou qualquer tipo de atividade em nenhum dos experimentos realizados. Entretanto, foi ativo isoladamente, assim como na mistura ternária. Uma possível explicação seria que cada molécula apresenta uma função específica e diferenciada no sistema de comunicação da espécie não atuando somente de maneira sinérgica, como ocorre para outros insetos da família que apresentam sistema feromonal multi-componente. Assim, postula-se que o

grandisal atuaria como um eventual atrativo à longa distância, enquanto que os demais compostos possuiriam algum tipo de atividade à curta distância. Desta forma, os insetos somente reconheceriam e, conseqüentemente, responderiam, ao componente majoritário ou à mistura completa dos odores. A aparente repelência do composto papaianol isoladamente, na concentração de 20 ug, contribui positivamente para esta hipótese. A resposta comportamental dos espécimes a uma mistura de compostos vai depender da proporção de cada componente. O uso fora da proporção, ou de uma mistura parcial dos componentes feromonais, pode criar um desbalanço nos sensores, o que poderia prejudicar a habilidade do receptor em decifrar corretamente as informações contidas nas moléculas (Flint & Merkle, 1983). O grandisal e o grandisol são compostos químicos bastante divulgados e conhecidos na literatura científica, atuando como feromônios de agregação em várias pragas como *A. grandis*, (Tunlinson *et al.* 1969) *P. nemorensis* (Germar) (Phillips *et al.* 1984), *P. aproximatus* (Hopkins) (Booth *et al.* 1977; Booth *et al.* 1983), *C. carye* (Hedin *et al.* 1979) e *Rhabdoscelus obscurus* (Boisduval) (Chang & Curtis, 1972). Geralmente, só possuem atividade biológica sobre os seus co-específicos mediante a presença de partes da planta hospedeira, a qual lhes confere a atratividade devido a uma ação sinérgica.

Em função dos resultados obtidos nestes estudos, vislumbra-se o uso dos compostos, grandisal ou mistura ternária, adicionados a caimônios da planta hospedeira, como alternativa para serem implementados e aperfeiçoados, em programas voltados ao monitoramento e à captura massal, visando à redução populacional desta praga em campo, a redução dos seus danos, a minimização da pressão química no ambiente e a redução dos custos com o seu controle.

Referências Bibliográficas:

- BOOTH, D. C.; T. W. PHILLIPS; A. CLAESON; R. M. SILVERSTEIN; G. N. LANIER & J. R. WEST. 1983. Aggregation pheromone components of two species of *Pissodes* weevils (Coleoptera: Curculionidae): isolation, identification, and field activity. **Journal of Chemical Ecology** **9**, 1-12.
- BOOTH, D. C.; A. CLAESON; G. N.A. LANIER; R. M. SILVERSTEIN. 1977. Components of the aggregation pheromone of *Pissodes* weevils. **Journal New York Entomology Society** **85**:167.
- CHANG, V. C. S. & G. A. CURTIS. 1972. Pheromone production by the New Guinea sugarcane weevil. **Environmental Entomology** **1** (4): 476-48.
- FLINT, H. M & J. R. MERKLE. 1983. Pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae): communication disruption by pheromone composition imbalance. **Journal Economic Entomological**, 40-46.
- HEDIN, P. A.; J. A. PAYNE; T. L. CARPENIER & W. NEEL. 1979. Sex pheromone of the male and female pecan weevil, *Curculio carye*: Behavioral and chemical studies. **Environmental Entomology** **8**:521-523.
- MOREIRA, M. A. B.; P. H. G. ZARBIN; G. H. ROSADO-NETO; M. F. P. BARRETO; J. F. D. SOBRINHO; M. BORGES. 2003. A broca-do-mamoeiro e recomendações de controle. **Circular Técnica 35**, Embrapa:Tabuleiros Costeiros, Aracaju-SE.
- MOREIRA, M. A. B. & P. H. G. ZARBIN. 2004. Ecologia Química da broca-do-mamoeiro. Coleoptera: Curculionidae). MXXVI Reunião Anual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares. Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, **Resumos**.
- PHILLIPS, T. W.; J. R. WEST; J. L. FOLTZ; R. M. SILVERSTEIN & G. M. LARNIER.1984. Aggregation pheromones of the deodar weevil, *Pissodes nemorensis* (Coleoptera: Curculionidae): isolation and activity of grandisol and grandisal. **Journal of Chemical Ecology** **10**, 1417-1423.
- ROCHAT, D.; M. MALOSSE; P. LETTERE; L. RAMIREZ & P. ZAGATTI. 1993. Identification of new pheromone-related compounds from volatiles produced by males of four *Rynchophorine* weevils (Coleoptera: Curculionidae), **C. R. Academic Science** **2**: 1737-1742.
- STATISTICA, STAT SOFT, INC. 1999. Statistic for windows. **Computer program manual**.
- TUNLINSON, J. H.; D. D. HARDEE; R. C. GUELDNER; A. C. THOMPSON; P. A. HEDIN; J. P. MINYARD. 1969. Sex pheromone produced by male boll weevil: isolation, identification and synthesis. **Science** **166**, 1010-1012.

Capítulo IV

Dinâmica da produção do feromônio de agregação da broca-do-mamoeiro,
Pseudopiazurus obesus (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae)

Dinâmica da produção de feromônio da broca-do-mamoeiro, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae)

Resumo

Foram conduzidos estudos visando a elucidar a dinâmica da produção dos compostos feromonais de *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae). Experimentos foram realizados objetivando determinar o início da liberação destes compostos, a duração da produção na presença e ausência da dieta, em diferentes dietas, em função da qualidade da dieta, a produção entre machos virgens e acasalados e a produção durante a fotofase e escotofase. Verificou-se que a produção dos compostos se inicia ao 18^o DAE (Dias após Emergência) e segue até os 105 dias; do início da liberação ao 37^o DAE, a produção é de apenas 10% do total observado para o componente majoritário grandisal e a partir deste período, até o 66^o DAE, se verifica a maior produção dos compostos grandisal (66,8%), grandisol (54,1%) e papaianol (51%). A produção é dependente da alimentação e somente ocorre na presença da dieta natural (parte do caule de mamoeiro); a produção decresce em função do tempo de permanência dos insetos sobre a dieta; a produção independe se os machos são virgens ou acasalados; a produção só ocorre na escotofase, com produção máxima de 4 a 6 h após o seu início; a produção do grandisal é de 77,7% em relação à produção total de feromônios, o qual reitera sua condição de composto majoritário da espécie.

Palavras-chave: bioecologia; feromônio de agregação; grandisal; praga do mamoeiro.

Dynamics of pheromone production for the papaya weevil, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae)

Abstract

Studies were conducted aiming at elucidating the production dynamics for the pheromone compounds associated with this pest *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae). Experiments were carried out with the objective of determining the beginning of the release of these compounds, the longevity of production, the production in the presence and absence of the diet; with different diets, the production as a function of the quality of the diet; among virgin and mated males, and production during photophase and scotophase. It was determined that the production of compounds begins on the 18th DAE and continues until the 105th day; from the beginning of release until the 37th DAE, the production is only 10% of the total observed for the majority component grandisal and starting from this period, until the 66th DAE, the greatest production of the compounds is observed, grandisal (66.8%), grandisol (54.1%) and papaianol (51%). The production is dependent on feeding and only takes place in the presence of the natural diet (stalk of the papaya plant); production decreases as a function of the time the insects remain on the diet; production is independent of whether the males are virgin or mated; production only takes place during scotophase, with maximum production from 4 to 6 hours after its beginning; production of grandisal is of 77% relative to total pheromone production, which reiterates its condition as majority compound for the species.

Key words: biology; aggregation pheromone; grandisal; papaya pest.

Introdução

A broca-do-mamoeiro, *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae), ocorre durante todo o ano, principalmente na Região Nordeste do Brasil, em pomares em declínio de produção e de baixo nível tecnológico, em que a praga encontra condições ideais para sua proliferação (Moreira *et al.* 2003). Os danos podem ser caracterizados por lesões irreversíveis provocados no caule devido à ação das larvas que ao se alimentarem, causam a destruição dos tecidos provocando a obstrução da passagem da seiva (Sanchez *et al.* 1995). Pela impossibilidade de antever seus danos, pela dificuldade de controle e a ineficiência dos inseticidas químicos convencionais para reduzir suas populações, surge o uso de semioquímicos como uma alternativa para o seu manejo integrado.

A aplicabilidade de semioquímicos, por meio de feromônio de agregação e de caïromônios, tem contribuído para a redução dos danos provocados em várias espécies de coleópteros-praga devido à eficiência da captura massal com o uso destas substâncias, os resultados alcançados nesses casos, foram mais eficientes que a alternativa de controle por meio dos inseticidas químicos convencionais (Oehlschlager 1993).

Em estudos apresentados nos capítulos anteriores sobre a ecologia química da broca-do-mamoeiro, foi evidenciada e identificada a existência de semioquímicos mediando a comunicação química na espécie, em que o componente majoritário grandisal, em sinergia com a planta hospedeira, mostrou, sob condições de laboratório e de campo, potencialidade de uso na agregação de co-específicos (Moreira & Zarbin, 2004; Moreira 2005 - Capítulo III da tese).

Neste capítulo, são avaliados os fatores relacionados à dinâmica da produção dos compostos feromonais no intuito de aprofundar o conhecimento sobre a sua bioecologia e dar suporte para outros estudos sobre a ecologia química da espécie.

Material e Métodos

Criação de insetos da broca-do-mamoeiro sob condições de laboratório

Para criação e manutenção dos insetos em laboratório, foram adotados os mesmos procedimentos metodológicos apresentados no primeiro capítulo da tese.

Obtenção dos voláteis dos insetos e metodologia analítica

Os procedimentos para a extração de voláteis e os métodos analíticos para a obtenção dos voláteis encontram-se em detalhes no capítulo II da tese.

Estudos conduzidos para a determinação da dinâmica da produção dos feromônios

Os voláteis foram obtidos após o término dos intervalos dos tratamentos estabelecidos, sendo concentrados em 1 IE (inseto equivalente) = 1ul. Os extratos foram injetados em um cromatógrafo a gás, utilizando-se 1 ul da solução concentrada. Os resultados foram analisados por meio dos cromatogramas obtidos, considerando-se para o cálculo das quantidades, as áreas de integralização dos picos referentes a cada composto.

Experimento 1- Período de liberação dos compostos feromonais

Neste experimento foram colocados 70 insetos em duas câmaras de aeração, com 35 insetos/câmara. Foram determinados o início da liberação e a duração dos compostos feromonais, grandisal, grandisol e papaianol. Em função do longo período de avaliação, não foi possível manter o mesmo grupo inicial de insetos devido a mortes e eliminação de indivíduos atípicos/estressados. Considerou-se, para a concentração das amostras, o número total dos espécimes remanescentes na ocasião da extração dos voláteis. As coletas dos voláteis foram efetuadas diariamente até os 105 dias. Para as análises dos dados foi obtida a média das áreas de integralização dos espécimes nas duas câmaras de aeração.

Experimentos 2, 3, 4 e 5 – Produção de feromônio na presença e ausência do alimento; em função de diferentes dietas; produção em função da qualidade da dieta e a produção entre insetos virgens e acasalados, respectivamente

Em função da analogia metodológica existente entre estes experimentos, procedeu-se a instalação e condução dos mesmos de maneira consecutiva, em que em intervalos de 48 h após o término de cada experimento, as câmaras de aeração foram trocadas e colocados os tratamentos subseqüentes, utilizando-se os mesmos insetos para os experimentos 2, 3 e 4. Para o experimento 5, foram colocados 40 insetos virgens com 50 dias de idade e 40 acasalados/copulados. Foram separados 100 insetos machos, sendo que em cada experimento as extrações dos voláteis foram efetuadas 24 h após o início das aerações, prosseguindo-se até o quarto dia consecutivo. Como repetição destes estudos, foram consideradas as extrações diárias dos voláteis. Para estes experimentos foram estabelecidos os seguintes tratamentos: Experimento 2 - insetos aerados na presença e ausência da dieta natural (parte do caule de mamoeiro); Experimento 3- insetos aerados na presença da dieta natural (planta hospedeira), insetos aerados com partes do fruto maduro do mamoeiro (planta hospedeira), insetos aerados com ramos de amoreira (*Morus alba* L.) (planta não hospedeira) e insetos aerados sem a dieta; Experimento 4- aeração dos insetos utilizando-se a mesma dieta natural, procedendo-se às extrações de voláteis nos intervalos de 24, 48, 72 e 96 h; Experimento 5- avaliação da produção dos compostos feromonais entre insetos machos virgens e acasalados/copulados.

Experimento 6- Produção de feromônio na escotofase e fotofase

Foram separados 80 insetos machos aerados com a dieta natural, sendo colocados 20 insetos/câmara de aeração. Os tratamentos deste estudo corresponderam às extrações de voláteis efetuadas nos períodos da escotofase e fotofase. Foram ainda efetuadas extrações em intervalos

de duas horas em cada período, perfazendo o total de seis extrações/fase. O aparato da aeração foi regulado, mantendo-se em 12h:12h para os respectivos períodos. Foi mantido o mesmo grupo de insetos durante as avaliações as quais persistiram por 4 dias consecutivos após a instalação dos tratamentos. Foram analisados os cromatogramas dos voláteis obtidos nos intervalos acima descritos e a produção total dos compostos feromonais acumulados nestas respectivas fases. Para análises dos dados, considerou-se a média de produção obtida a cada período de 2 h de extração/fase e os dias de coleta, como a repetição do estudo.

Procedimentos estatísticos

Os dados médios obtidos das áreas de integralização foram transformados em \sqrt{x} e efetuada a comparação das médias por meio do teste t, usando-se o programa Statistic Stat Soft, Inc. (1999). Os resultados que apresentaram ($P \leq 0,05$) foram considerados significativamente significativos. Foram elaborados gráficos mostrando os percentuais médios obtidos nos tratamentos.

Resultados e Discussão

O início da liberação do composto majoritário grandisal na espécie *P. obesus* ocorre geralmente aos 18^o DAE (dias após a emergência) e a sua produção máxima, em média, é atingida aos 48^o DAE (figura 1).

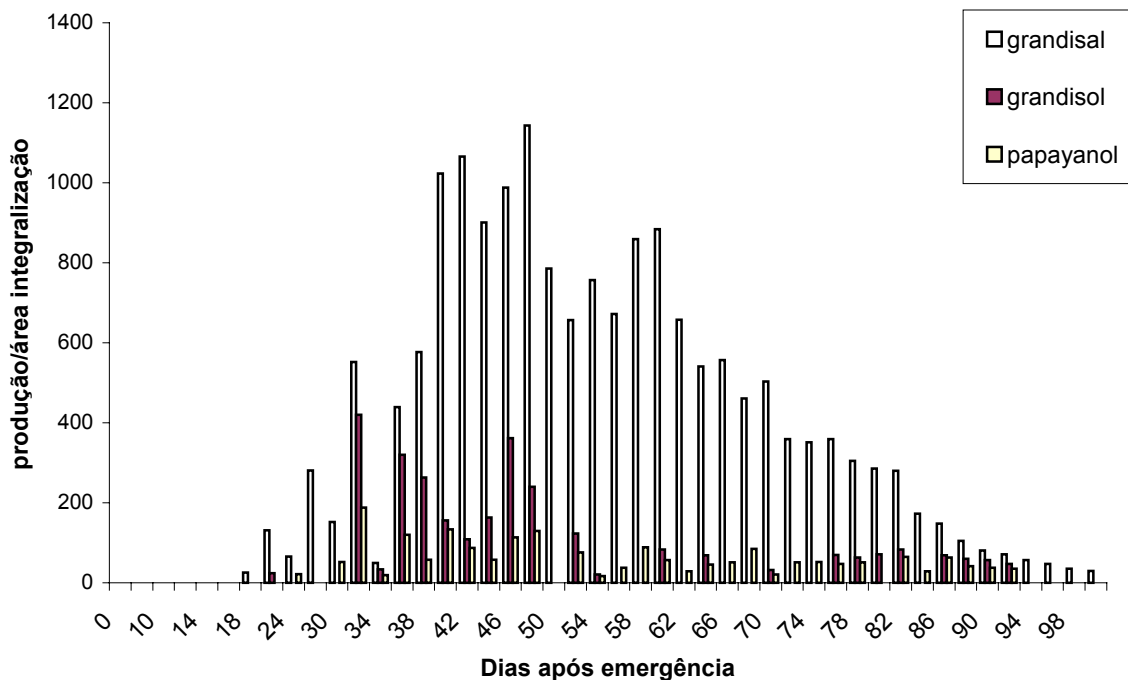


Figura 1. Período de liberação e duração da produção dos compostos feromoniais de *P. obesus*, grandisal, grandisol e papaianol.

Nesta espécie de insetos, por apresentarem vida longa, com uma geração por ano, (Moreira *et al.* 2003), especula-se que o processo de liberação dos compostos ocorra mais lentamente, em comparação aos insetos de vida curta, os quais possuem várias gerações por ano, como ocorre principalmente em curculionídeos-praga de produtos armazenados. Acredita-se que no período que antecede a liberação do composto majoritário, grandisal, os insetos estejam em fase de adaptação às condições do ambiente e em processo de recuperação do gasto energético

provocado pela emergência, na ocasião do rompimento da câmara pupal e da esclerotização total dos segmentos. Outro fator a ser levado em consideração refere-se ao seu período larval, com os indivíduos vivendo em torno de três meses (Gallo *et al.* 2002), alimentando-se dos tecidos meristemáticos no interior do caule do mamoeiro, os quais dão o indicativo que não utilizam nem armazenam as substâncias precursoras de feromônios de agregação, seqüestradas, eventualmente, via planta hospedeira, justificando a não liberação de imediato dos compostos. Em função deste resultado, procurou-se comparar dois grupos de insetos em distintas idades fisiológicas, com menos de 10 DAE (recém-emergidos) e o outro com 50 DAE, visando avaliar a atratividade destes espécimes para o composto majoritário grandisal. Constatou-se que os insetos recém-emergidos não apresentaram atração para este composto, enquanto os insetos mais velhos mostraram ser fortemente atraídos (Moreira & Zarbin - dados não publicados). Estes resultados sugerem que as glândulas acessórias responsáveis pela produção e liberação dos compostos feromonais estariam ainda imaturas para a produção/liberação destas substâncias, bem como, especula-se que haveria uma necessidade pré-adaptativa destes espécimes recém-emergidos à percepção para os semioquímicos.

Nazzi *et al.* (2001), estudando os fatores que afetam a resposta de *Ceutorhynchus assimilis* (Payk.) (Col: Curculionidae), afirmaram que insetos machos recém-emergidos e saindo da diapausa, não responderam para o odor de fêmeas virgens, enquanto machos recém-emergidos e se alimentando da planta hospedeira, responderam para o odor de fêmeas virgens. Em estudos conduzidos sobre a dinâmica da produção do feromônio em *A. grandis*, Spurgeon (2003), afirmou que a produção do feromônio aumenta com a idade do inseto, sendo que os compostos feromonais bem como as proporções entre eles mudam em função da idade do inseto e que as altas taxas de produção dos compostos feromonais estão associadas ao desenvolvimento

das glândulas acessórias. Ainda o mesmo autor afirma que nesta espécie, a liberação ocorre, em 90% dos casos, a partir do 6^o DAE, com o pico de produção aos 18^o DAE.

Em relação à duração da produção dos compostos feromoniais com ênfase ao componente majoritário grandisal, constatou-se que após o início da liberação deste até o 36^o DAE, a produção é muito baixa, apresentando 10% em relação ao total produzido (figura 2).

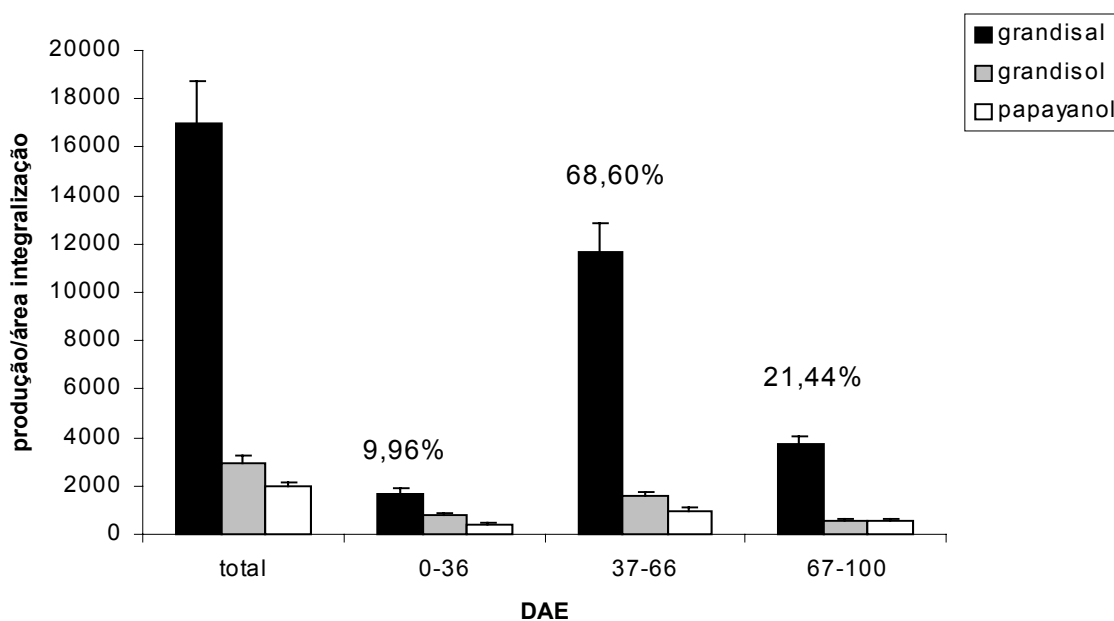


Figura 2. Produção total dos compostos feromoniais de *P. obesus* e os percentuais de produção do seu componente majoritário, grandisal em função da idade dos insetos.

A baixa produção dos compostos feromoniais durante este período pode ser refletida em função da imaturidade fisiológica dos insetos e pela falta de adaptação dos mesmos às condições ambientais. O período compreendido entre o 37^o ao 66^o DAE, denominou-se como o clímax da produção em função dos insetos atingirem sua maturação fisiológica e plena adaptabilidade ao meio ambiente, refletindo-se na expressividade da produção dos feromônios, sendo 68,6 %

(grandisal), 54,1% (grandisol) e 50,1% papaianol. Neste período, os compostos grandisol e papaianol apresentaram também o pico máximo de produção. A partir do 67^o ao 105^o DAE, denominou-se este período, como fase de declínio, em função do decréscimo na produção dos feromônios, os quais apresentaram os seguintes percentuais: 21,44% grandisal, 18,75% grandisol e 29,1% papaianol. Atribui-se o declínio da produção dos compostos notadamente do majoritário, em função da senescência dos insetos, os quais, sob condições de laboratório, possuem longevidade em torno dos 110 dias (Moreira, M. A. B. – dados não publicados).

Baseado nestes resultados verifica-se que a liberação dos compostos feromonais bem como as proporções entre eles, mudam em função da idade do inseto e estão em consonância com os resultados obtidos por Spurgeon (2003), em estudos semelhantes sobre a dinâmica de produção do feromônio em *A. grandis*. Em relação à produção total dos três componentes feromonais, durante os 105 dias avaliados, observou-se que 77% da produção corresponderam ao grandisal, seguidos por grandisol (13,4%) e papaianol, responsável por 8,96% da produção. Estes resultados corroboram os dados obtidos no capítulo II da tese, em que se refere ao composto grandisal como o majoritário da espécie, seguidos por grandisol, o intermediário e o papaianol, como o minoritário. Em função destas proporções verificadas, para a condução dos experimentos subseqüentes, foi analisado somente o comportamento na produção do componente majoritário, grandisal.

A produção dos compostos feromonais é dependente do substrato alimentar e sua ausência foi fator limitante para a produção dos mesmos (figura 3). Feromônios emitidos por insetos machos, principalmente os de agregação, são freqüentemente combinações adquiridas diretamente de plantas hospedeiras ou são biossintetizadas por meio de modificações de componentes seqüestrados da planta hospedeira (McNeil & Delisle, 1989).

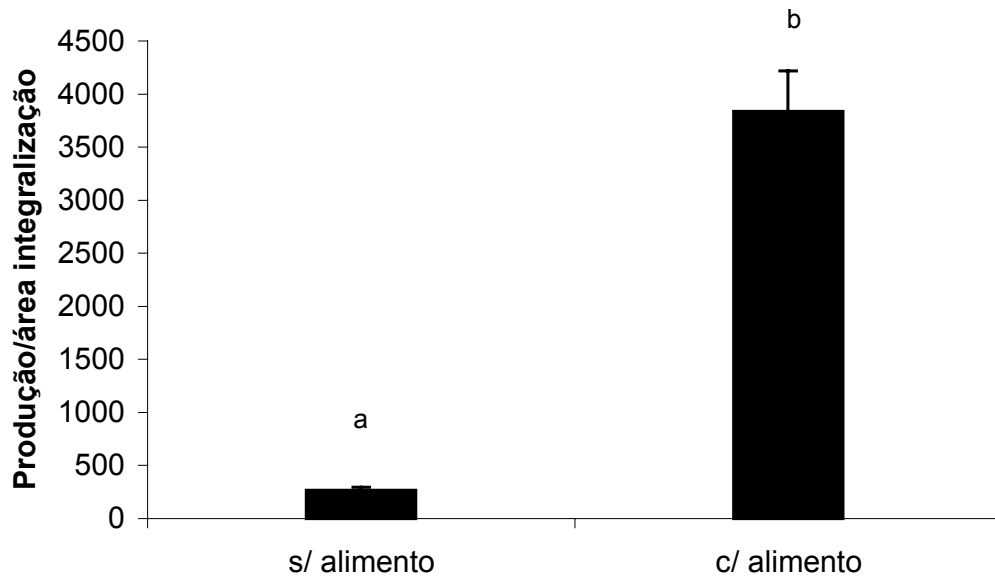


Figura 3- Produção do feromônio grandisal em *P. obesus* em condições de aeração na presença e ausência da dieta natural constituída por parte do caule do mamoeiro.

Esse fato foi constatado em várias espécies de coleópteros-praga como *A. grandis*, *Rhynchophorus palmarum* (L.), *Phyctinus callosus*, *Diaprepes abbreviatus* (L.), *Dendroctonus ponderosae* (Hopkins) e *Popillia japonica* (Newman) (Tumlinson *et al.*, 1969; Pitman 1971; Billings *et al.* 1976; Loughrin *et al.* 1996; Sánchez *et al.* 1996; Harari & Landolt, 1997).

A qualidade da dieta também influenciou a produção do feromônio grandisal. Os resultados mostraram que nos períodos de 24 e 48 horas não houve diferenças na produção de feromônio, porém, apresentaram ser significativamente diferentes, quando comparadas aos tratamentos 72 e 96 horas (figura 4). A qualidade da dieta está intimamente ligada à produção do feromônio: quanto mais fresca maior a taxa de produção.

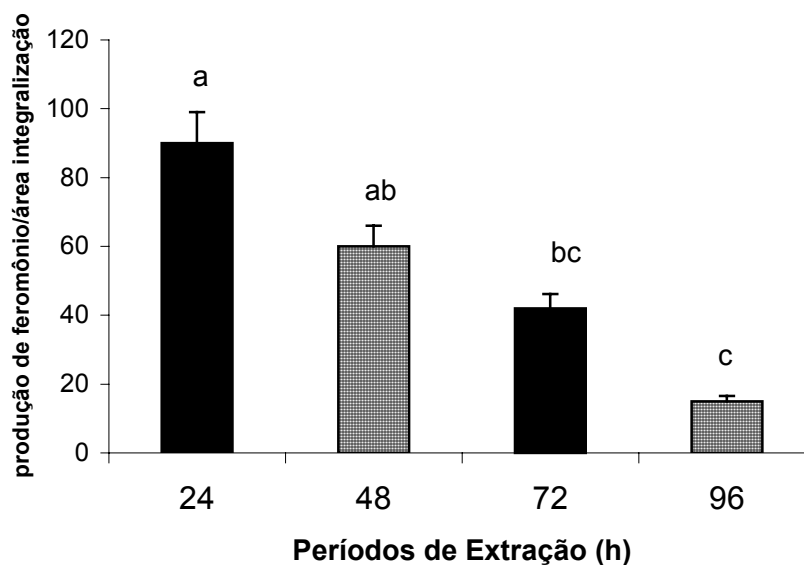


Figura 4. Influência do tempo de aeração/extração de voláteis, na qualidade da dieta natural em relação à produção do feromônio grandisal em *P. obesus*.

Comparando-se a produção na presença de partes da planta hospedeira, observou-se que não há diferenças significativas quando os insetos são alimentados com partes do caule ou do fruto do mamoeiro. Entretanto, a produção de feromônio dos espécimes decresce significativamente quando se utiliza planta não hospedeira como ramos de amoreira (figura 5).

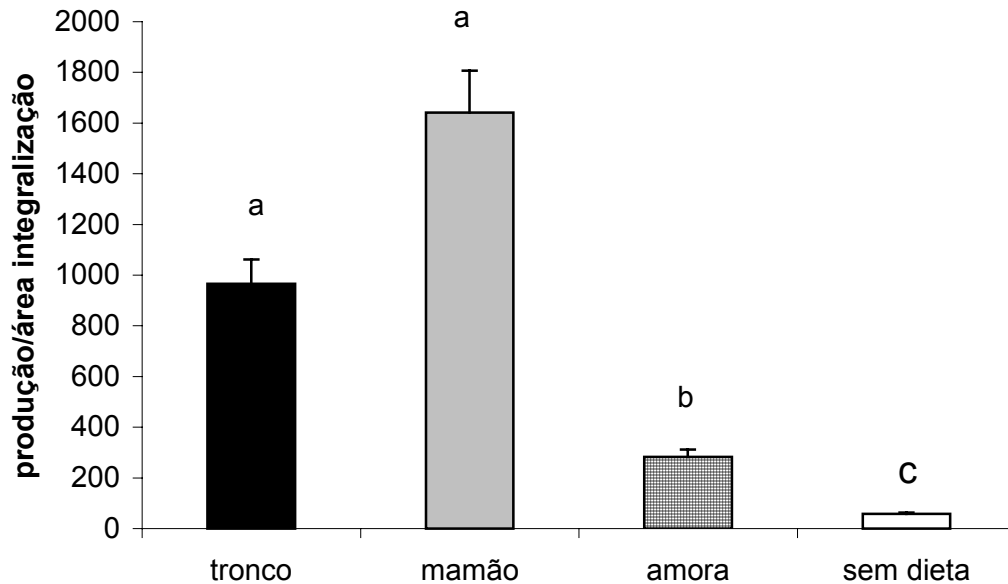


Figura 5. Produção de feromônio grandisal de machos de *P. obesus* em condições de aeração em função de diferentes dietas (planta hospedeira – parte do caule e do fruto do mamoeiro e planta não hospedeira – ramos de amoreira).

Curculionidae é a maior família de coleópteros com mais de 40.000 espécies mundialmente difundidas (Arnett 1993), a qual utiliza grande diversidade de plantas hospedeiras e variedade de habitat. Compostos atrativos obtidos de voláteis de insetos desta família e de plantas hospedeiras têm sido relatados em mais de 34 espécies (Bartelt, 1999). A espécie *P. obesus* é monófaga (Fancelli *et al.* 1995), encontrada como praga em várias regiões brasileiras associada à cultura do mamão (Moreira *et al.* 2003) e não possui registros de hospedeiros alternativos. Sendo assim, a broca-do-mamoeiro depende somente da planta hospedeira para obter os nutrientes para o seu desenvolvimento/crescimento, não sendo detectadas diferenças entre a suscetibilidade e a preferência dos seus ataques aos diferentes genótipos de mamoeiro

existentes (Fancelli *et. al.* 1995). Os resultados alcançados nos experimentos envolvendo a dieta alimentar evidenciam fortemente o fato de que o processo biossintético destes compostos se dá via modificação estrutural de componentes químicos seqüestrados da planta hospedeira, haja vista a ampla dependência desta no processo de produção.

Nas avaliações quanto ao “status” dos insetos constatou-se que a produção dos compostos feromonais na espécie independe se os mesmos são virgens ou acasalados (figura 6).

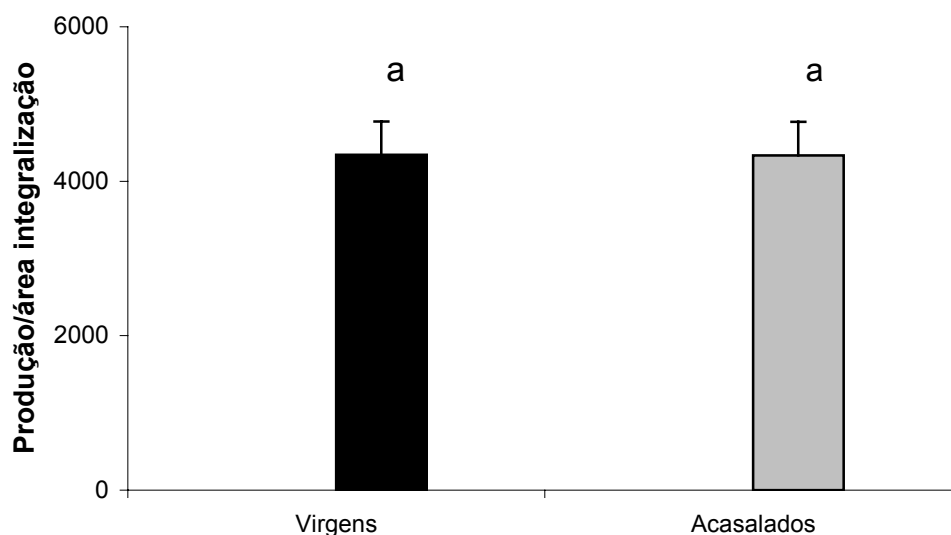


Figura 6. Produção do feromônio grandisal, em condição de aeração entre machos virgens e acasalados de *P. obesus*.

Por se tratar de feromônio de agregação, onde existe atração de co-específicos de ambos os sexos, a atividade sexual não influencia na produção dos feromônios. A função primária para a produção de feromônio de agregação na espécie parece ser a de atrair outros machos e fêmeas da mesma espécie para vencer as defesas do hospedeiro ou a de modificar microclimas inadequados (Raffa *et al.* 1993). Entretanto, Flechtmann & Berisford, (2002)

afirmaram que o feromônio sulcatol, único componente de *Gnathotrichus materiarius* (Fitch, 1855), só foi detectado em insetos machos não acasalados, cessando a produção 24 h após o acasalamento.

Comparando-se a produção de feromônio durante a fotofase e escotofase, verificou-se que *P. obesus* só produz os compostos feromonais durante a escotofase (figura 7).

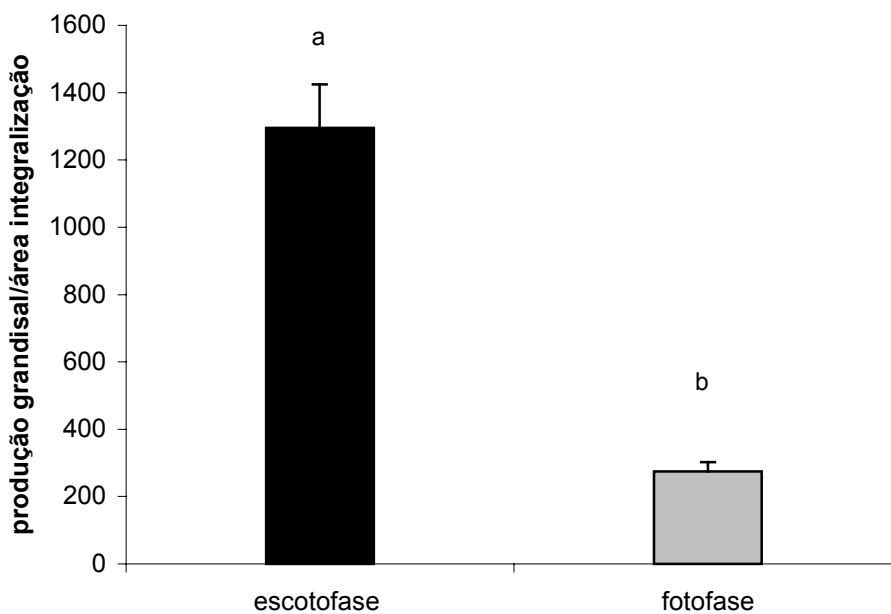


Figura 7. Produção do feromônio grandisal em *P. obesus* em condições de aeração durante os períodos da escotofase e fotofase.

Por ser uma espécie de hábito noturno (Gallo *et al.* 2002), a maior produção destes compostos e, por conseguinte as atividades dos insetos relacionadas à alimentação, corte, acasalamentos e oviposição (Bondar 1948) são manifestadas no período da escotofase. Nas 12

horas da escotofase constatou-se que o pico de produção do feromônio ocorre no período que compreende de 4 a 6 h após o seu início. O declínio na produção ocorre após 10 horas de escuro, quando se aproxima o início da fotofase (figura 8).

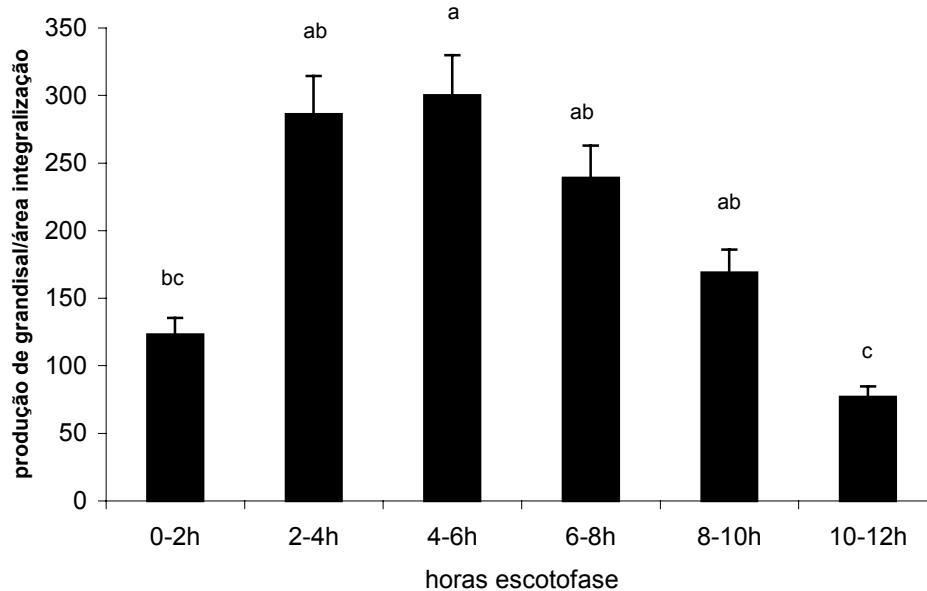


Figura 8. Produção do feromônio grandisal em *P. obesus* em condições de aeração em função do período da escotofase.

O comportamento de agregação de *P. obesus* foi observado em diversos agrossistemas do Rio Grande do Norte e da Bahia durante a fotofase e a escotofase (Moreira, M. A. B. – dados não publicados). Na fotofase, constatou-se que os insetos permanecem durante todo o dia agregados em locais de refúgio para se abrigarem contra os raios solares e os inimigos naturais, sendo encontrados com maiores frequências sob a copa da planta hospedeira, abaixo dos frutos, em fendas naturais, em ramificações laterais do caule do mamoeiro e na região do coleto da planta, principalmente se constatada a presença de plantas daninhas ao seu redor (Moreira *et al.*

2003). Nesta fase, os insetos são praticamente inativos e só manifestam alguma atividade quando perturbados.

Na escotofase, constatou-se que ao início do anoitecer os insetos adultos começam a se agitar, saindo dos seus sítios de agregação, nos quais permaneceram durante todo o dia. Ao avançar o período da escotofase, os insetos se deslocam em movimentos ascendentes e descendentes sobre a planta hospedeira. Constatou-se que a região mediana da planta é o local onde se concentram mais insetos em atividade durante a escotofase, onde estes buscam o alimento, efetuam rituais de corte e promovem os acasalamentos e oviposição. Nesta parte da planta hospedeira é que acontece a maioria das oviposições e, em consequência, numa etapa posterior, sofre os maiores danos (Sanches *et al.* 1995).

A produção, liberação e percepção dos feromônios nos insetos dependem de fatores endógenos como idade, presença de co-específicos, condição de acasalado e modificados por fatores exógenos, como planta hospedeira, patógenos, temperatura, fotoperíodo, intensidade luminosa, umidade relativa, velocidade do vento e condições atmosféricas (Lima & Della-Lucia, 2001; Vanderwel 1994). Neste sentido, constatou-se que vários fatores, principalmente os endógenos, influenciaram na dinâmica da produção desta espécie. Dentre eles, destacam-se: a idade fisiológica dos insetos, a presença da dieta natural, o tipo e a qualidade da dieta. Em relação aos fatores exógenos, somente foi estudado o fotoperíodo, o qual exerce influência direta na produção/liberação dos compostos.

Os aspectos gerais da dinâmica da produção dos feromônios de *P. obesus* foram estabelecidos, os quais deram suporte para outros estudos sobre a ecologia química desta espécie e aprofundou o conhecimento sobre a sua bioecologia. Entretanto, outras investigações complementares merecem ainda serem efetuadas, visando o total entendimento da complexidade endógena da liberação, percepção e resposta comportamental dos insetos.

Referências Bibliográficas:

- ARNETT, R. H. JR. 1993. **American Insects: a Handbook of the insects of American North of Mexico**. Sandhill Crane Press, Gainesville, Florida, 850 p.
- BARTELT, R. J. 1999. Weevils. *In*: Hardie, J. & Minks, A. K. (eds), **Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants**. CAB International, London, UK, 92-112 p.
- BILLINGS, R. F.; R. I. GARA & B. F. HRUTFIORD. 1976. Influence of ponderosa pine resin volatiles on the response of *Dendroctonus ponderosae* to syntetic trans-verbenol. **Enviromental Entomology 5**: 171-179.
- BONDAR, R., G. 1948. Broca do mamoeiro. **Boletim do Campo 4**, Rio de Janeiro, n. 23, 1-2.
- GALLO, D.; O. NAKANO; S. SILVEIRA NETO; P. L. CARVALHO; G. C. BATISTA; E. BERTI-FILHO; J. R. P. PARRA; R. A. ZUCCHI; S. B. ALVES; J. D. VENDRAMIN; L. C. MARCHINI; J. R. S. LOPES; C. OMOTO. 2002. **Entomologia Agrícola**. São Paulo- SP; Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 920 p.
- FANCELLI, M; N. F. SANCHES; J. L. L. DANTAS; C. F. G. MORALES. 1995. Ocorrência de *Pseudopiazurus papayanus* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae) em genótipos de mamoeiro (*Carica* spp). *In*: Congresso Brasileiro de Entomologia, 15, Caxambu, MG. **Resumos**. Caxambu: ESAL, 746 p.
- FLECHTMANN, C. A. H. & C. W. BERISFORD. 2003. Identification of sulcatol, a potential pheromone of the ambrosia beetle *Gnathotrichus materiarius* (Col: Scotytidae). **Journal Applied Entomology 127**, 189-194.
- HARARI, A. R. & P. J. LANDOLT. 1997. Orientation of sugarcane root stalk borer weevil, *Diaprepes abbreviatus*, to weevil, frass and food odours. **Journal of Chemical Ecology 23**: 857-868.
- LOUGHRIN, J., H.; D. A. POTTER; T. R. HAMILTON-KEMP & M. E. BYERS. 1996. Role of feeding-induced plant volatile in aggregation behavior of the japonese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae). **Enviromental Entomology 25**: 1188-1191.
- LIMA, E. & T. M. C. DELLA LÚCIA. 2001. Biodinâmica dos feromônio, 13-29 p. **Feromônios de Insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas** (2nd. Ed.) Vilela, E. F. & Della Lúcia T. M. C (eds), Holos Editora, Ribeirão Preto-SP, 206 p.
- MCNEIL, J. N. & J. DELISLE. 1989. Host plant pollen influences calling behaviour and ovarian development of the sunflower moth, *Homoeosoma electellum*. **Oecologia, 80**:201-205.

- MOREIRA, M. A. B.; P. H. G. ZARBIN; G. H. ROSADO-NETO; M. F. P. BARRETO; J. F. S. SOBRINHO; M. BORGES. 2003. A broca-do-mamoeiro, e recomendações de controle. **Circular Técnica 35**; Embrapa:Tabuleiros Costeiros, Aracaju-SE.
- MOREIRA, M. A. B. & P. H. G. ZARBIN. 2004. Ecologia Química da broca-do-mamoeiro. (Coleoptera: Curculionidae). *In*: MXXVI Reunião Anual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares. Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, **Resumos**.
- NAZZI, F.; E. BARTLET; N. WATTS; L. J. WADHAMS. 2001. Factors affecting the response of *Ceutorhynchus assimilis* Payk. (Col: Curculionidae) males to conspecific odour. **Journal Applied Entomology 125**, 433-435.
- OEHLSCHLAGER, A. C.; C. CHINCHILLA; L. M. GONZALEZ; Z. L. F. JIRON; R. MEXON & B. MORGAN. 1993. Development of pheromone-based trapping system for the American palm weevil *Rynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) **Journal Economic Entomology 86**: 1381-1392.
- PITMAN, G. B. 1971. Trans-verbenol and alpha-pinene: Their utility in manipulation of the mountain pine beetle. **Journal of Economic Entomology 64**: 426-430.
- RAFFA, K. F.; T. W. PHILLIPS; S. M. SALON. 1993. Strategies and mechanisms of host colonization by bark beetles, 103-128 p. *In*: Schowater, T. D. and Filip, G. M. (eds) **Beetle-Pathogen Interactions in Conifer Forests**. Academic Press, London.
- SANCHES, N. F. F.; M. FANCELLI; J. L. L. DANTAS. 1995. Distribuição de *Pseudopiazurus papayanus* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae) em caule de mamoeiro (*Carica papaya* L.). *In*: Congresso Brasileiro de Entomologia 15, Caxambu, MG. **Resumos**, 287 p.
- SÁNCHEZ, P; H. CERDA; A. CABRERA; F. H. CAETANO; M. MATERÁN, M; F. SÁNCHEZ; J. H. TUMLINSON; D. HARDEE; R. C. GUELDNER; A. C. THOMPSON; P. A. HEDIN; R. M. H. M. VAN TOL & J. H. VISSE. 1996. Olfactory antennal responses of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* to plant volatiles. **Entomologia Experimentalis et Applicata, 102**: 49-64.
- STATISTICA, STAT SOFT, INC. 1999. Statistic for windows. **Computer program manual**.
- SPURGEON, D. W. 2003. Age dependence of pheromone production by the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). **Environmental Entomology 32**(1):31-38.
- TUMLINSON, J. H.; D. D. HARDEE; R. C. GUELDNER; A. C. THOMPSON; P. A. HEDIN; J. P. MINYARD. 1969. Sex pheromone produced by male boll weevil: isolation identification, and synthesis. **Science 166**, 1010-1012.
- VANDERWEL, D. 1994. Factors affecting pheromone production in beetles. **Archives Insect Biochemistry Physiology 25**, 347-362.

Capítulo V

Atratividade de armadilhas utilizando feromônios sintéticos de agregação na captura da broca-do-mamoeiro *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae) em campo

Atratividade de armadilhas utilizando feromônios sintéticos de agregação na captura da broca-do-mamoeiro *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae) em campo

Resumo

O feromônio de agregação de *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae) é um sistema multi-componente, formado pelo grandisal (majoritário), grandisol (intermediário) e papaianol (minoritário). O componente majoritário e a mistura ternária na proporção de 1:1:1 adicionados a partes do caule da planta hospedeira, mostraram-se ativos em testes de laboratório e foram avaliados em campo. Utilizaram-se nos experimentos armadilhas do tipo “pitfall” posicionadas ao nível do solo e a 1,50 m de altura, presas à planta hospedeira, onde foram avaliados os seguintes tratamentos: grandisal + dieta; grandisal; mistura ternária + dieta; mistura ternária; dieta; e armadilha vazia. Utilizou-se 8 mg dos compostos sintéticos em cada tratamento. Os resultados mostraram que os tratamentos grandisal e mistura ternária ambos adicionados à dieta natural não diferiram significativamente entre si quanto à captura dos espécimes, porém, mostraram diferenças quando comparados aos demais tratamentos. Outras diferenças significativas foram constatadas quanto à altura das armadilhas em que aquelas a 1,50 m de altura diferiram das localizadas ao nível do solo, e que a captura de fêmeas foi maior do que a dos machos. Os resultados alcançados neste estudo demonstram o uso potencial destas substâncias feromonais sintéticas em armadilhas, visando ao monitoramento e controle de *P. obesus* no contexto do manejo integrado junto às demais pragas associadas à cultura do mamão.

Palavras-chave: :grandisal; grandisol; papaianol; praga do mamoeiro.

Trap attractivity using synthetic aggregation pheromones in the capture of papaya weevils *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae) under field conditions

Abstract

The aggregation pheromone for *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae) is a multi-component system, and is made up of grandisal (major), grandisol (intermediate) and papaianol (minor). The major component and the ternary mixture, with a 1:1:1 proportion, added to trunk of host plant, were found to be active in laboratory tests, and have now been evaluated under field conditions. For the experiment, pitfall traps were utilized, having been placed at ground level and at a height of 1.50m, attached to the host plant, where the following treatments were evaluated: grandisal + diet; grandisal; ternary mixture + diet; ternary mixture; diet; and empty trap. 8mg of the synthetic compounds were used in each treatment. The results showed that the grandisal treatments and the ternary mixture, both added to the natural diet, did not differ significantly from each other as to the capture of specimens, however, they were found to be different when compared to captures of other treatments. Others significant differences were observed as to the height of the traps, where the ones placed at a height of 1.50m differed from those located at ground level and the capture of female insects was greater than for males. The results obtained in this study are indicative of the potential use of these synthetic pheromone substances in traps, with an aim to monitoring and controlling *P. obesus* in the context of integrated management along with the other pests associated with the cultivation of papaya.

Keywords: grandisal; grandisol; papaianol; papaya pest.

Introdução

A espécie *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae) conhecida como a broca-do-mamoeiro, é uma praga de importância econômica para as áreas produtoras das Regiões Norte e Nordeste do Brasil (Moreira *et al.* 2003). Devido à dificuldade de controle e da impossibilidade de antever seus danos, além da ineficiência dos inseticidas químicos convencionais, surge o uso de semioquímicos por meio do uso de feromônios, como uma alternativa para o seu controle no contexto do manejo integrado desta praga.

Estudos anteriores conduzidos por Moreira *et al.* (2002) evidenciaram que ambos os sexos desta espécie são atraídos fortemente para voláteis obtidos de insetos machos quando adicionados a partes do caule da planta hospedeira, onde postularam que o aumento desta atratividade foi devido à ação sinérgica motivada pela presença de cairomônios oriundos da planta hospedeira, indicando a mediação por semioquímicos no processo da comunicação química da espécie. Ainda os mesmos autores revelaram que os compostos são macho-específicos e que os feromônios são do tipo agregação, por atrair ambos os sexos, sendo constituídos por grandisal, grandisol e papaianol, composto majoritário, intermediário e minoritário, respectivamente (Moreira & Zarbin, 2004). Foi ainda constatado que o grandisal e a mistura ternária dos compostos na proporção 1:1:1 foram atrativos para ambos os sexos em testes de laboratório (Moreira & Zarbin, 2004).

Este estudo visou a avaliar os compostos feromonais de *P. obesus* na captura de co-específicos a campo, no intuito de se verificar a viabilidade de empregá-los em um programa de manejo integrado junto às demais pragas associadas à cultura do mamão.

Material e Métodos

Os feromônios sintéticos foram aplicados diretamente em septum de borracha (10mm O.D. - 18 mm, Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI), sendo que cada septum recebeu uma mistura de 8 mg dos compostos sintéticos dissolvidos em 150 ul de hexano. Estes septa foram mantidos em temperatura ambiente por 20 minutos para a total absorção da mistura e após este intervalo de tempo, foram mantidos em freezer a -20°C.

Utilizaram-se armadilhas do tipo “pitfall” Biocontrole® posicionadas ao nível do solo e a 1,50 m de altura, presas à planta hospedeira (figuras 1 A e B respectivamente). A dieta natural constou de partes do caule de mamoeiro colocadas na parte interna da armadilha e presa na parte superior desta, próximo ao septum de borracha (figura 1C).

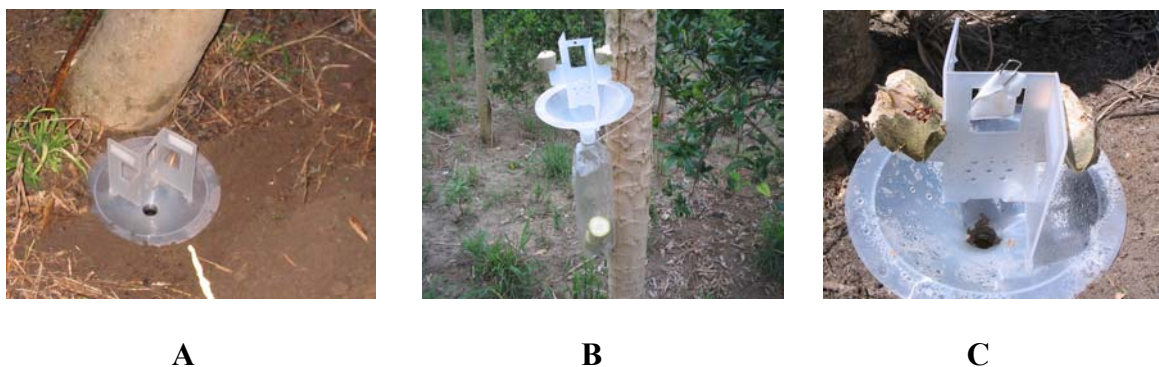


Figura 1. Disposição das armadilhas: ao nível do solo (A); a 1,50 m de altura; (B) armadilha em detalhe com o septum de borracha impregnado com os feromônios e a distribuição da dieta (partes do caule do mamoeiro) (C).

Os tratamentos constaram de: A- grandisal; B grandisal + dieta; C- mistura ternária; D- mistura ternária + dieta; E - dieta; e F- armadilha vazia, considerada o controle. O estudo foi

conduzido durante o período de 21 a 29 de outubro de 2004 em área de produtor de mamão localizada no Município de Laje, BA.

Procedimentos estatísticos

O modelo experimental foi o de blocos ao acaso com cinco repetições/tratamento, perfazendo o total de 30 parcelas experimentais. Os tratamentos foram casualizados no interior dos blocos, sendo mantida a distância de 20 m separando os blocos e 10 m entre as armadilhas/parcelas. Para análise das médias obtidas nos tratamentos, utilizou-se o teste t, usando-se o programa Statistic, Stat Soft, Inc. (1999), sendo considerado o nível de significância ($P \leq 0,05$). As avaliações foram efetuadas durante 7 dias consecutivos, constando da coleta e da quantificação dos espécimes capturados de acordo com o sexo. Os dados foram plotados em uma matriz e após as análises estatísticas, foram elaborados gráficos mostrando as classes de significância entre as médias obtidas nos tratamentos e os seus respectivos desvios.

Resultados e discussão

Os compostos feromonais grandisal e mistura ternária adicionados a partes do caule da planta hospedeira, foram responsáveis por 80% das capturas, sendo que deste total, 43,7 % dos espécimes foram atraídos para o grandisal e 56,2% para a mistura ternária, os quais não apresentaram ser diferentes entre si ($P \leq 0,05\%$) (figura 2). Os demais tratamentos não mostraram ser diferentes quanto à atratividade/captura dos espécimes, sendo que a dieta natural apresentou 10% das capturas e os compostos grandisal e mistura ternária, ambos sem a presença da dieta, capturaram apenas 5% do total das capturas registradas neste estudo.

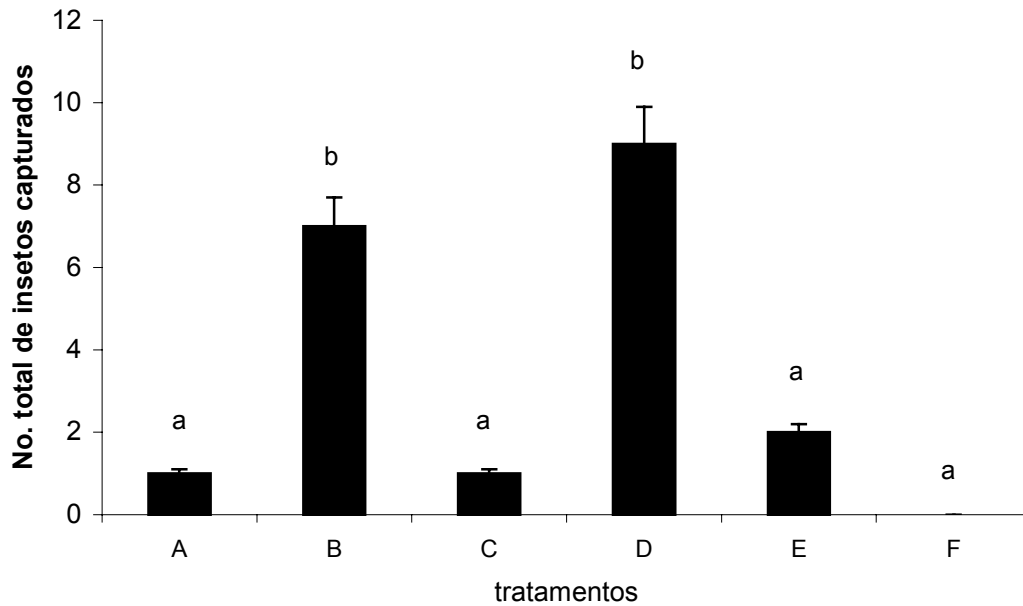


Figura 2. Capturas de espécimes da broca-do-mamoeiro, *P. obesus* a campo, utilizando armadilhas com feromônios de agregação. Barras seguidas com a mesma letra não são diferentes entre si de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Constatou-se que os tratamentos grandisal e mistura ternária quando adicionados a partes do caule da planta hospedeira foram de 7 a 9 vezes mais atrativos para os espécimes quando comparados às capturas efetuadas por estes compostos sem a presença da planta hospedeira.

Em termos práticos, o uso de feromônios de agregação adicionados às plantas hospedeiras tem contribuído para o aumento da atratividade de armadilhas iscadas com estas substâncias visando à potenciação destes na captura de insetos-praga, principalmente em curculionídeos, onde os feromônios de agregação são usados em larga escala em programas de manejo integrado de pragas como, por exemplo, em *Rynchophorus palmarum* (Jaffé *et al.* 1993; Moura & Vilela, 2001; Oehlschlager *et al.* 1988; Plarre & Vanderwel, 1999; Budenberg *et al.* 1993; Rochat *et al.* 1991).

Diferenças significativas também foram constatadas entre as capturas de espécimes da broca-do-mamoeiro em função da localização das armadilhas, onde aquelas posicionadas a 1,50 m de altura presas a planta hospedeira, capturaram mais co-específicos quando comparadas àquelas ao nível do solo ($P \leq 0,05\%$) (figuras 3 e 4).

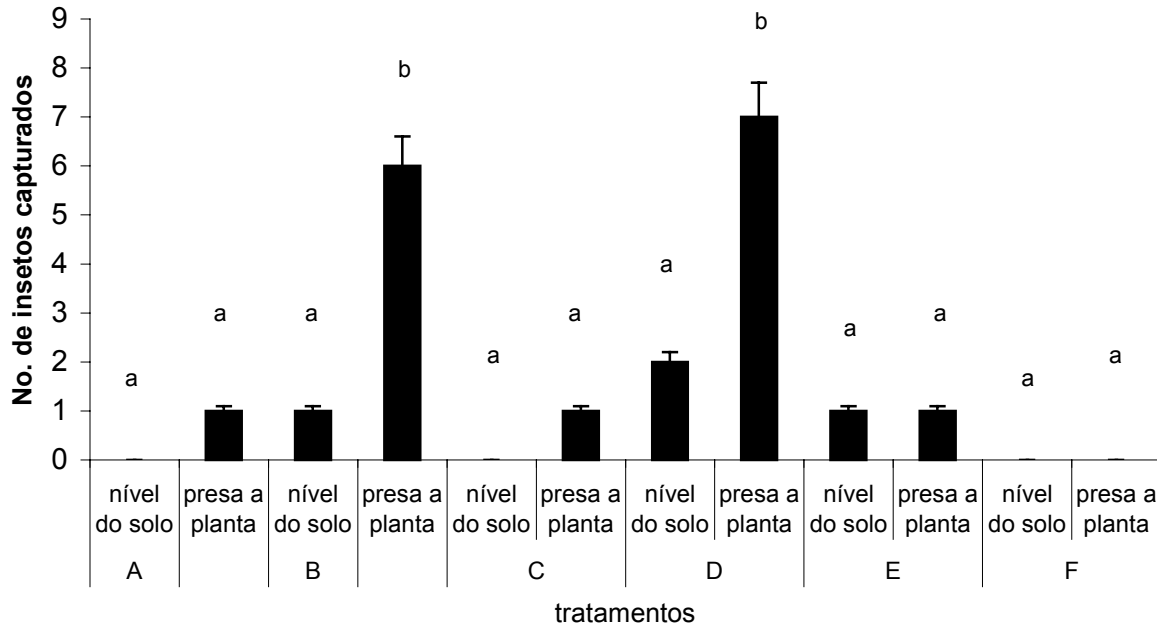


Figura 3. Captura total de espécimes da broca-do-mamoeiro, *P. obesus* a campo, utilizando-se armadilhas com feromônios de agregação na presença e ausência de partes do caule da planta hospedeira, posicionadas ao nível do solo e presas na planta hospedeira (1,5 m de altura). Barras seguidas com a mesma letra não são diferentes entre si de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

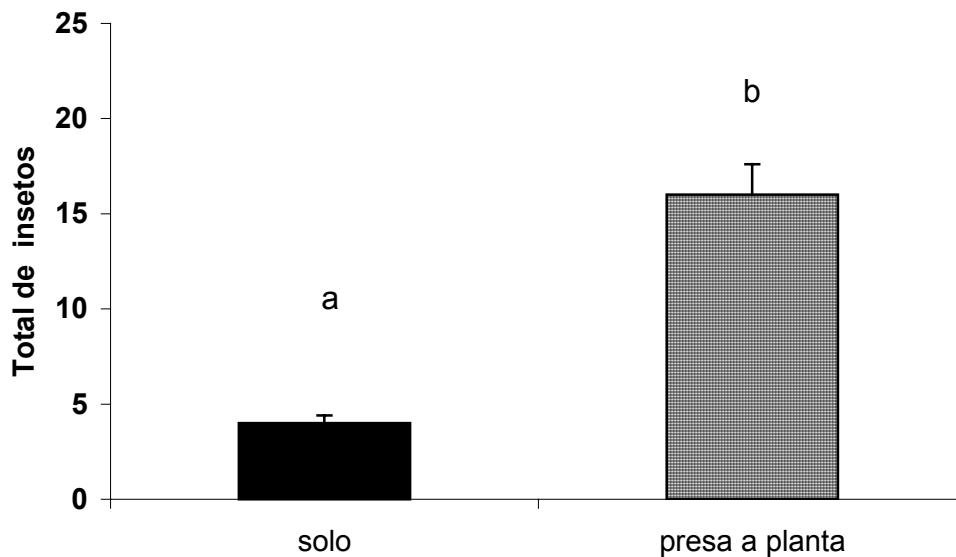


Figura 4. Capturas de espécimes da broca-do-mamoeiro, *P. obesus* a campo, utilizando-se armadilhas com feromônio de agregação posicionadas ao nível do solo e presas à planta hospedeira (1,50 m de altura). Barras seguidas com a mesma letra não são diferentes entre si de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

A discrepância constatada em termos de capturas dos espécimes relacionadas à posição das armadilhas, deve-se, principalmente, à atividade comportamental dos espécimes da broca-do-mamoeiro. Constatou-se, em observações em campo, que durante a escotofase, período no qual os espécimes são ativos, os insetos agregados abandonam seus locais de refúgio localizados na própria planta hospedeira, próximos aos frutos, em fendas naturais encontradas no caule e na região do coleto da planta (Moreira *et al.* 2003) onde permaneceram durante toda a fotofase. Os espécimes, durante até seis horas da escotofase, caminham sobre o caule da planta hospedeira em movimentos ascendentes e descendentes e efetuam ações comportamentais como corte e acasalamento. Nesta altura, o que corresponde ao terço médio da planta, é o local que se verifica

o maior número de oviposições e, por conseguinte, numa etapa posterior, os maiores danos e concentrações de galerias provocadas pelas larvas (Bondar 1948; Sanches *et al.* 1995). Associa-se que o movimento das brocas neste local, tenha sido fator determinante na eficiência da captura. A observação do comportamento de acasalamento, de vôo, de caminhar e, especialmente, do local onde se dá a cópula, assegurou melhor instalação das armadilhas (Bento 2001), que pode variar de acordo com a fenologia da planta hospedeira e da praga (Cuthert & Peacock, 1975). Para muitos insetos, estas armadilhas devem estar localizadas no terço superior da planta hospedeira a qual é utilizada muitas vezes como pista olfativa ou visual, sendo decisiva para a captura (Bartelt *et al.* 1982; Bakke & Riege, 1982; Elkinton & Childs, 1983).

Diferenças significativas foram também constatadas entre as capturas de machos e fêmeas, onde a incidência destas foi 2,3 vezes maior quando comparada aos machos capturados (figura 5).

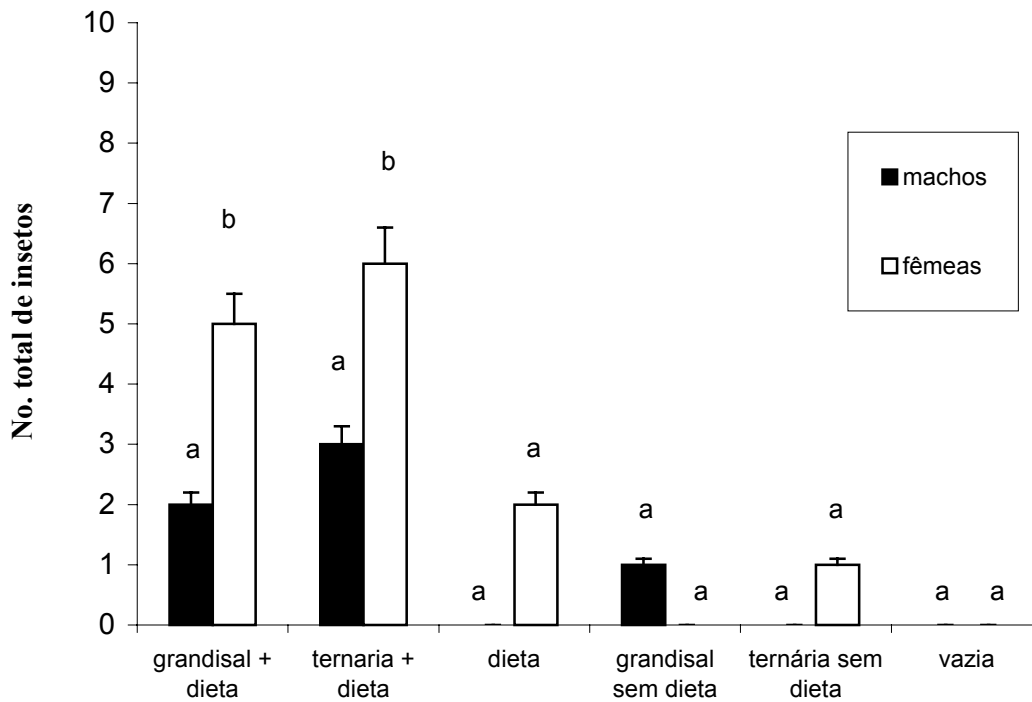


Figura 5. Capturas de machos e fêmeas de *P. obesus* em armadilhas com feromônio de agregação (na presença e ausência da dieta natural) em condições de campo. Barras seguidas com a mesma letra não são diferentes entre si de acordo com o teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Não se pode especular quanto à relação sexual entre os espécimes na ocasião da instalação dos experimentos, uma vez que não foram efetuadas avaliações neste sentido. Entretanto, as várias coletas de câmaras pupais efetuadas em diferentes épocas do ano mostraram que a relação sexual entre insetos emergidos foi sempre um inseto macho para cada fêmea,

conforme capítulo I da tese. Estudos mais aprofundados devem ser realizados no intuito de se entender melhor esta diferenciação. Hunt & Raffa (1989) constataram que a proporção sexual de *Hylobius radices* capturadas em armadilhas com feromônio foi de 9:1 (fêmeas:machos) e de 1,7:1 (fêmeas:machos) para *Pachilobius picivorus* e sugeriram que estes resultados estariam associados ao fato de que, nestas espécies, os compostos são usados, primariamente, como pistas químicas de oviposição.

Os resultados obtidos neste estudo complementaram os dados preliminares alcançados anteriormente em condições de laboratório, em testes em olfatômetro e arena, confirmando, com consistência, a atividade biológica do grandisal e da mistura ternária, ambos adicionados a partes do caule da planta hospedeira na atratividade de co-específicos da broca-do-mamoeiro (Moreira *et al.* 2002; Moreira & Zarbin, 2004).

Os dados obtidos com relação à captura de *P. obesus* por meio do uso de armadilhas iscadas com feromônio de agregação, dão o indicativo que estes compostos podem ser potencialmente usados em programas de monitoramento e na captura massal desta praga. Um feromônio necessita ser suficientemente atrativo para que possa ser utilizado dentro de programa de monitoramento ou coleta massal. Segundo Wall (1990), ajustes para a obtenção destes atraentes com estas finalidades podem ser alcançados variando-se a taxa de liberação e ou a composição do atraente. Ainda o mesmo autor afirma que o uso de formulações não-ótimas ou com taxas de liberação inadequadas, bem como tipo de armadilha e localização da mesma na planta hospedeira, podem reduzir ou comprometer a atratividade destes compostos feromonais e resultar em baixa eficiência na captura dos espécimes.

As perspectivas deste estudo encorajam outras linhas de pesquisa como a síntese enantiosseletiva do grandisal, de modo a estabelecer a relação estereoquímica-atividade biológica e, conseqüentemente, a configuração absoluta do produto natural. Outros estudos se

fazem necessários com relação ao tipo, modelo, cor, distância e altura de armadilhas voltados para a captura da broca-do-mamoeiro, bem como o conhecimento da atribuição química dos kairomônios liberados a partir da planta hospedeira, que são sinergistas com os feromônios de agregação e estão intimamente envolvidos no processo da comunicação química da espécie.

Referências Bibliográficas:

- BAKKE, A. & L. RIEGE. 1982. The pheromone of the spruce beetle *Ips typographus* in Norway and its potential use in the suppression of beetle population, 3-15 p. *In: KYDONIEUS, A. F. & M. BEROZA (eds), Insect suppression with controlled release pheromones systems*, Vol. II CRC. Press, Boca Raton, Fla.
- BARTELT, R. J.; R. L. JONES; H. M. KULMAN. 1982. Evidence for a multicomponent sex pheromone in the yellowheaded spruce sawfly. **Journal of Chemical Ecology**. **8**:83-94.
- BENTO, J. M. S. 2001. Fundamentos do monitoramento, da coleta massal e do confundimento de insetos-praga, 135-144 p. *In: Feromônios de Insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas* (2nd. Ed.) Vilela, E. F & Della Lúcia T. M. C (eds), Holos Editora, Ribeirão Preto-SP, 206 p.
- BONDAR, G. 1948. Broca do mamoeiro. **Boletim do Campo** **23**. Rio de Janeiro, v.4, p.1-2.
- BUDENBERG, W. J; I. O. NDIEGE & F. W. KARAGO. 1993. Evidence for volatile male-produced pheromone in banana weevil *Cosmopolites sordidus*. **Journal of Chemical Ecology** **19**:1905-1916.
- CUTHBERT, R. A. & J. W. PEACOCK. 1975. Attraction of *Scolytus multistriatus* to pheromone baited traps at different heights. **Environmental Entomology**. **4**: 889-890.
- ELKINTON, J. S. & R. D. CHILDS. 1983. Efficiency of two gypsy moth (Lepidoptera: Lymantridae) pheromone baited traps. **Environmental Entomology** **12**:1519-1525.
- HUNT, D. W. A. & K. F. RAFFA. 1989. Attraction of *Hylobius radicis* and *Pachylobius picivorus* (Coleoptera: Curculionidae) to ethanol and turpentine in pitfall traps. **Environmental Entomology** **18**: (3), 351-355.
- JAFFÉ, K. P.; P. SANCHEZ; H. CERDA; N. URDANETA & J. V. HERNANDEZ. 1993. Chemical ecology of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): Attraction to host plants and to a male-produced aggregation pheromone. **Journal of Chemical Ecology** **19**:1703-1720.
- MOREIRA, M. A. B.; P. H. G. ZARBIN; M. BORGES; A. R. M. OLIVEIRA; F. SIMONELLI; F. A. MARQUES. 2002. Evidências comportamentais e cromatográficas da existência de feromônio de agregação da broca-do-mamoeiro, *Pseudopiazurus papayanus*, Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae). *In: Encontro Brasileiro de Ecologia Química* 3, Campinas-SP, UNICAMP, **Resumos**, 73 p.
- MOREIRA, M. A. B.; P. H. G. ZARBIN; G. H. ROSADO-NETO; M. F. P. BARRETO; J. F. DA S. SOBRINHO; M. BORGES. 2003. A broca-do-mamoeiro, e recomendações de controle. **Circular Técnica** **35**; Embrapa:Tabuleiros Costeiros, Aracaju-SE, outubro.

- MOREIRA, M. A. B. & P. H. G. ZARBIN. 2004. Ecologia Química da broca-do-mamoeiro. (Coleoptera: Curculionidae). *In: MXXVI Reunião Anual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares*. Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, **Resumos**, 2004.
- MOURA, J. I. L & E. F. VILELA. 2001. Feromônios no controle de *Rhynchophorus palmarum*, 145-146 p. *In: Feromônios de Insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas* (2nd. Ed.) Vilela, E. F & Della Lúcia T. M. C (eds), Holos Editora, Ribeirão Preto-SP, 206 p.
- OEHLSCHLAGER, A. C.; A. M. PIERCE; H. D. PIERCE JR. & J. H. BORDEN. 1988. Chemical communication in cucujid grain beetles. **Journal of Chemical Ecology** **14**,: 2071-2098.
- PLARRE R & D. C. VANDERWEL. 1999. Stored-Product Beetles *In: Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants*. Hardi, J. & Minks, A. K. (eds), 149-198 p.
- ROCHAT, D.; V. GONZALES; A. MARIAUD; G. A. VILLANUEVA & P. ZAGATTI. 1991. Evidence for male produced aggregation pheromone in American palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Chemical Ecology** **17**, 1221-1230.
- SANCHES, N. F. F.; M. FANCELLI; J. L. L. DANTAS. 1995. Distribuição de *Pseudopiazurus papayanus* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae) em caule de mamoeiro (*Carica papaya* L.). *In: Congresso Brasileiro de Entomologia 15*, Caxambu, MG. **Resumos**, 287 p.
- STATISTICA, STAT SOFT, INC. Statistic for windows. **Computer program manual**.
- WALL, C. 1990. Principles of monitoring, p. 9-23. *In: R. L. Ridgway; R. M. SILVERSTEIN & M. N. INSCOE* (eds), **Behavior-modifying of pheromones and the other attractants**, Marcel Dekker, New York.

CONCLUSÕES GERAIS

Os procedimentos metodológicos desenvolvidos em laboratório voltados para a criação e manutenção de *P. obesus* proporcionaram a produção e em larga escala de insetos que possibilitaram o atendimento de todos os experimentos propostos;

A emergência dos adultos ocorreu durante a escotofase, a relação sexual é de 1:1 e a viabilidade pupal não variou em função da época de coleta: inverno e verão;

A comunicação química entre co-específicos de *P.obesus* é mediada pela presença de semioquímicos;

Compostos macho-específicos na presença de cairomônios liberados a partir de partes do caule da planta hospedeira, promoveram ação sinérgica, potencializando a atratividade de co-específicos da espécie;

Os três compostos macho-específicos foram identificados como o grandisal (majoritário), grandisol (intermediário) e uma substância química inédita, denominada papaianol (minoritário), sendo que o grandisal e a mistura ternária nas proporções de 1:1:1 e 10:1:1, foram ativos em condições de olfatômetro e em testes em arena;

Os resultados obtidos demonstraram que estes compostos feromônais, junto aos cairomônios emitidos pela planta hospedeira, mediarão o comportamento de agregação entre os co-específicos, constituindo-se nos principais mecanismos prevaletentes da comunicação química da espécie;

A dinâmica da produção dos compostos feromônais inicia-se com a liberação ao 18^o DAE; verificou-se a maior produção dos compostos entre o 37^o e o 66^o DAE; a produção ocorreu até aos 105 dias; a produção é dependente da alimentação e somente ocorre a partir da dieta

natural (caule de mamoeiro); a produção ocorre na escotofase e o pico se verifica entre 4 – 6 h após o seu início;

O grandisal e mistura ternária na proporção de 1:1:1 ambos adicionados à dieta natural, mostraram atratividade em testes em arena e em campo;

Armadilhas posicionadas a 1,5 m de altura, presas no caule do mamoeiro, utilizando-se o composto grandisal e a mistura ternária na proporção de 1:1:1 apresentaram melhores performances na captura dos espécimes em condições de campo;

Os resultados alcançados sugerem o uso potencial destas substâncias feromonais visando ao monitoramento e controle por meio da captura massal de *P. obesus* no contexto do manejo integrado de pragas do mamoeiro.

PERSPECTIVAS DO TRABALHO

A linha de pesquisa nesta área do conhecimento, e em particular, sobre a ecologia química da broca-do-mamoeiro, possui ainda algumas lacunas a serem preenchidas no que tange aos aspectos biológicos e comportamentais desta espécie, os quais são relevantes para o desenvolvimento e implementação de estratégias consolidadas por meio do uso de semioquímicos no contexto do manejo integrado.

Pelo dinamismo das ciências biológicas e as interferências antrópicas do ambiente, abrem-se perspectivas para a continuidade em várias linhas de pesquisa que merecem maiores detalhes e compreensão.

Investigações complementares merecem ainda ser empreendidas, visando o total entendimento da complexidade endógena da liberação, percepção e resposta comportamental dos insetos:

a) A atribuição química das estruturas dos cairomônios envolvidos no mecanismo da comunicação química da espécie e estudos conduzidos visando a avaliação destes compostos quanto à sua atividade biológica sobre os co-específicos de *P. obesus*, em laboratório e a campo, por meio de armadilhas;

b) Efetuar a síntese enantiosseletiva do grandisal, de modo a estabelecer a relação estereoquímica-atividade biológica e, conseqüentemente, a configuração absoluta do produto natural;

c) Estudar o tipo de armadilha, cor, distância entre armadilhas, quantidade de armadilhas por área a ser tratada/monitorada e altura de armadilhas voltadas para a captura da broca-do-mamoeiro.

d) Validar, transferir e difundir a tecnologia gerada, disponibilizando-a para o setor produtivo.