

BIANCA GIULIANO AMBROGI

**FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DE *Sternechus subsignatus* Boheman, 1836
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE): EVIDÊNCIA, IDENTIFICAÇÃO
ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE COMPORTAMENTAL**

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

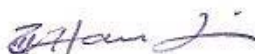
Orientador: Prof. Dr. Paulo H. G. Zarbin

CURITIBA
2009

BIANCA GIULIANO AMBROGI

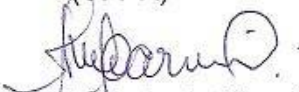
“FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DE *Sternechus subsignatus* Boheman, 1836
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE): EVIDÊNCIA, IDENTIFICAÇÃO
ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE COMPORTAMENTAL”

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)



Profa. Dra. Flavia Maria da Silva Carmo

(UFV)



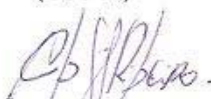
Prof. Dr. Paulo Cezar Vieira

(UFSCar)



Profa. Dra. Sonia Maria Noemberg Lazzari

(UFPR)



Profa. Dra Cibele Stramare Ribeiro-Costa

(UFPR)

Curitiba, 17 de fevereiro de 2009.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus amados pais, Augusto e Iara e minha querida irmã, Fabiana por sempre me incentivar e acreditar em mim.

À Universidade Federal do Paraná e ao programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Entomologia pela oportunidade da realização do doutorado.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador Paulo Henrique G. Zarbin pela amizade, motivação, pela confiança em mim depositada e por me ajudar a tornar uma profissional melhor.

Ao professor Germano Henrique Rosado-Neto por participar de várias etapas desse trabalho com sugestões essenciais.

À pesquisadora Clara Beatriz Hoffmann pela amizade, incentivo, envio dos insetos e pelo auxílio nos experimentos de campo.

À Fazenda Gralha Azul da PUC por permitir a coleta dos insetos durante os quatro anos da pesquisa.

À Biocontrole por ter cedido as armadilhas para o experimento de campo.

Ao Leandro, meu amor, por sempre me incentivar, ler e reler os meus trabalhos, ouvir 1000 vezes minhas apresentações e tornar tudo isso mais fácil e alegre, estando sempre ao meu lado.

Às minhas inesquecíveis amigas Miryan e Marcy pela ajuda no desenvolvimento desse trabalho, pela amizade, apoio, conversas descontraídas, chatices, choros, risos, compreensão, conselhos... Adoro vocês!!

Ao meu amigo Diogo por me ajudar muito na parte química desse trabalho.

Aos meus companheiros do Laboratório de Semioquímicos, Marcos Moreira, Irineu, Fábio, Aline, Vanusa, Angela, Carla, Mauro, Camila pelo apoio e alegre convívio.

Aos meus amigos Marion, Marcos, Aldo, Marcela, pela amizade e pelos momentos de descontração durante todo o curso.

Aos colegas do curso de Entomologia pela amizade e companheirismo.

A todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 Feromônios de Curculionídeos.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.1 Insetos.....	37
3.2 Coleta dos voláteis.....	38
3.3 Procedimentos Analíticos.....	39
3.4 Bioensaios.....	40
3.5 Identificação estrutural.....	41
3.6 Compostos químicos.....	41
3.7 Avaliação da atratividade dos compostos sintéticos em laboratório.....	42
3.8 Teste de Campo.....	42
3.9 Análises Estatísticas.....	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1 Evidência comportamental da mediação por feromônio de agregação na comunicação química de <i>S. subsignatus</i>	45
4.2 Detecção de compostos macho-específicos: evidência cromatográfica de um feromônio de agregação.....	47

4.3 Dinâmica de emissão do feromônio de agregação.....	49
4.4 Identificação química dos compostos feromonais.....	53
4.5 Avaliação da atividade biológica dos compostos sintéticos.....	64
4.6 Teste de Campo.....	67
4.7 Implicação taxonômica.....	69
5. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76

RESUMO

O tamanduá-da-soja, *Sternechus subsignatus* Boheman, 1836 (Coleoptera: Curculionidae), vem sendo considerado uma praga chave na cultura da soja, principalmente na região sul do Brasil e no oeste da Bahia. Seu controle é difícil, pois suas formas imaturas desenvolvem-se no interior das hastes das plantas, limitando a ação dos inseticidas. Com isso, a utilização de feromônio para manejo desse inseto é bastante promissora. Os objetivos desse trabalho foram identificar o feromônio de agregação, verificar a atividade comportamental de *S. subsignatus* e avaliar a resposta dos adultos para os compostos sintéticos no laboratório e no campo. Voláteis de machos e fêmeas de *S. subsignatus* foram coletados pelo processo de aeração e utilizados, inicialmente, para verificar a presença de compostos específicos de cada sexo. Posteriormente, para avaliar o efeito da planta hospedeira, os voláteis foram coletados na presença e na ausência do recurso alimentar. A periodicidade de emissão desses compostos foi avaliada por meio da coleta dos voláteis durante a fotofase e a escotofase e, subseqüentemente, foram feitas extrações de duas em duas horas durante a fotofase. A resposta comportamental de ambos os sexos aos diferentes tratamentos foi avaliada em laboratório utilizando-se um olfatômetro em Y. Ambos os sexos foram significativamente atraídos para a planta hospedeira e para os extratos de machos associados à planta hospedeira, demonstrando que a comunicação entre *S. subsignatus* é mediada por feromônio de agregação e voláteis da planta. Sete compostos macho-específicos foram detectados por meio de análises cromatográficas, na razão de 9,7: 2,7: 7,1: 41,4: 0,2: 1,6: 37,3 respectivamente, provendo um suporte químico para os dados comportamentais. Constatou-se que a liberação desses compostos é dependente da presença da planta hospedeira e que ocorre durante a fotofase, com um pico no período de 4 a 6 h após o seu início, sendo este também o pico de maior atividade do inseto em

campo. O (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol é o componente majoritário e as estruturas químicas dos componentes minoritários foram reveladas por meio de análises em espectrômetro de massas e derivatizações como: 2-((1*R*, 2*S*)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil)etanol (grandisol), γ -isogeraniol, (*Z*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol, (*Z*)- e (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)acetaldeído, e o ácido (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)acético, o qual é descrito pela primeira vez como um produto natural. Análises em cromatografia gasosa empregando-se colunas quirais mostraram que o estereoisômero natural do grandisol é o (1*R*, 2*S*). O componente majoritário foi atrativo isoladamente em laboratório. Experimentos de campo utilizando armadilhas “pitfall” foram realizados para verificar a atratividade dos compostos. As armadilhas não foram eficientes na captura dos insetos, possivelmente em razão da composição química presente nos liberadores, demonstrando a necessidade de novos testes.

ABSTRACT

The Brazilian soybean stalk weevil, *Sternechus subsignatus* Boheman, 1836 (Coleoptera: Curculionidae), is a pest of economic importance in many regions of Brazil. The control of *S. subsignatus* is not easy, because their eggs and larvae are protected inside the host plant, predominantly within the main stems. These behavioral characteristics allow them to escape and survive from insecticide applications. Therefore, complementary strategies of pest management remain to be evaluated, including the use of semiochemicals. The objectives of this study were identify the aggregation pheromone, verify the behavioral activity of *S. subsignatus* and evaluate the response of adult insects to the synthesized compounds in both laboratory and field. Volatiles from both sexes were collected by aeration, extracted with hexane, and concentrated using a stream of argon. Initially the volatiles were collect to detect sex-specific compounds. In order to investigate the effect of food-plant availability on the release of pheromones, the volatiles were collected, either in the presence of food in the aeration chamber or without it. The daily periodicity of release was investigated by collecting the volatiles in both photophase and scotophase and subsequently every 2 hours of the photophase. The behavioral responses of males and females were evaluated using a Y-olfactometer. The results obtained demonstrate that the communication in *S. subsignatus* is mediated by aggregation pheromone, since both sexes were attracted to host plant volatiles, and this attraction was increased by the addition of male volatiles. Seven male-specific compounds were detected in the chromatographic analysis, in ratios of 9.7: 2.7: 7.1: 41.4: 0.2: 1.6: 37.3, providing a chemical support to the behavioral data. Release of these male-specific volatiles was dependent on the presence of the host plant, since the amount of compounds differs significantly when volatiles are collected from weevils with or without access to the food. The release takes place

mainly during photophase, showing a peak between 4 to 6 hours after its beginning, which is also a peak of the insect activity in the field. The (*E*)-2-(3,3-dimethylcyclohexylidene)ethanol is the major component and the chemical structures of the minor constituents were revealed by MS analyses and derivatizations as; 2-((1*R*, 2*S*)-1-methyl-2-(prop-1-en-2-yl)cyclobutyl)ethanol (grandisol), γ -isogeraniol, (*Z*)-2-(3,3-dimethylcyclohexylidene)ethanol, (*Z*)- and (*E*)-2-(3,3-dimethylcyclohexylidene)acetaldehyde, and the acid (*E*)-2-(3,3-dimethylcyclohexylidene)acetic, which has been described for the first time as a natural product. Enantioselective gas chromatography proved the natural grandisol to be the (1*R*, 2*S*). The major component was attractive alone in the laboratory. The field test was conducted using pitfall traps to evaluate attraction of weevils to synthesized compounds. The traps were not efficient in the capture of insects, may be due owing to chemical composition, showing the necessity of further tests.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja. Na safra 2006/07, a cultura ocupou uma área de 20 milhões de hectares, gerando uma produção de mais de 50 milhões de toneladas. Até a década de 1970, a região Sul foi a maior produtora do país, principalmente os estados do Rio Grande do Sul e Paraná, que ainda hoje são grandes produtores. Porém já perderam em volume para o Mato Grosso, que é agora o maior produtor brasileiro de soja (Embrapa 2009).

A cultura da soja está sujeita ao ataque de diferentes espécies de insetos durante todo o seu ciclo (Hoffmann-Campo et al. 2000). As principais pragas desta cultura como a lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) e os percevejos sugadores de sementes (*Nezara viridula* L., *Piezodorus guildinii* Westwood e *Euschistus heros* Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae), já possuem métodos de controle biológico eficiente (Moscardi 1986, Corrêa-Ferreira 1993). No entanto, pragas como a broca-das-axilas, *Crociosema aporema* Walsingham (Lepidoptera: Tortricidae), e o tamanduá-da-soja, *Sternechus subsignatus* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), antes consideradas pragas secundárias nesse cultivo, vem gradativamente ganhando importância nos últimos anos, contudo, sem métodos de controle bem estabelecidos (Hoffmann-Campo et al. 1990, Hoffmann-Campo et al. 2000). Embora esses insetos tenham suas populações naturalmente reduzidas por predadores, parasitóides e doenças, quando atingem populações elevadas são capazes de causar perdas significativas no rendimento da cultura e necessitam ser controlados.

O bicudo, cascudo ou tamanduá-da-soja, como é popularmente chamado o coleóptero *S. subsignatus*, é um gorgulho de aproximadamente 8 mm de comprimento, de cor preta com listras amarelas no tórax e nos élitros (Figura 1). É um inseto

oligófago, cuja alimentação é restrita a apenas algumas espécies de leguminosas (Hoffmann-Campo et al. 1991, Lorini et al. 1997, Silva 1997). Esse inseto é nativo do Brasil (Hoffmann-Campo et al. 1999). A infestação da lavoura pelo inseto é lenta. Inicialmente o adulto se alimenta próximo ao local onde emerge do solo (Hoffmann-Campo et al. 1996), provavelmente, essa estratégia é usada para que o inseto economize energia, depois do longo período de hibernação sem se alimentar (Hoffmann-Campo et al. 1999).

É uma praga com ampla distribuição geográfica, ocorrendo nos domínios da Mata Atlântica das regiões Sul, Sudeste e Nordeste, estendendo-se pelo cerrado da região Centro-Oeste até o sul da Mata Amazônia (Rosado-Neto 1987). Hoje em dia, esse inseto tem sido encontrado numa área expressiva de soja no Oeste da Bahia. Na safra 2004/05, na região agrícola denominada Coaceral, próxima à fronteira com o Piauí, foi observado perdas na produção entre 20 e 40 sacas/ha (Silva et al. 2005).



Figura 1. Inseto adulto de *S. subsignatus* alimentando-se de uma planta de soja (Foto retirada do Caderno Técnico Cultivar, Soja – Setembro 05 – Especial – Pragas iniciais, pág. 8).

Esse inseto tem grande potencial de dano, pois tanto as larvas como os adultos alimentam-se de soja (Hoffman Campo et al. 1990). Os danos normalmente ocorrem na haste principal da planta, podendo também ocorrer nas ramificações e nos pecíolos das folhas (Figura 2A e 2B). Os insetos para se alimentar, raspam a epiderme e, às vezes, atingem o córtex desfiando-o, no sentido longitudinal. As fêmeas, durante a oviposição, fazem um anelamento na haste principal da planta, normalmente entre o quarto e o quinto entrenó (Hoffmann-Campo et al. 1991). Nesse local, são colocados os ovos, que ficam protegidos pelas fibras dos tecidos vegetais cortados pela fêmea.



Figura 2. Danos causados à soja: A – por adultos de *S. subsignatus* e B – pelas larvas de *S. subsignatus* (Foto retirada da Circular Técnica 22, Embrapa Soja, págs. 17 e 18).

A haste principal e o terço médio superior das plantas de soja são os preferidos para oviposição (Silva et al. 1998). Após a eclosão dos ovos, formam-se galhas caulinares que aumentam de tamanho à medida que a larva se desenvolve, podendo ultrapassar o diâmetro da haste ou dos ramos. Durante a alimentação, as larvas ficam no interior da haste principal, somente na região do anelamento realizado pela fêmea para a postura (Hoffmann-Campo et al. 1991). Em uma planta podem ser encontradas várias galhas, porém, raramente se encontra mais de uma larva por galha. Quando isso ocorre,

as larvas são alojadas separadamente, por barreiras feitas com restos de tecidos e dejetos do inseto. Provavelmente, este comportamento é determinado pelo forte canibalismo que se observa entre as larvas (Hoffmann-Campo et al. 1991). A região da planta onde é formada a galha torna-se extremamente frágil e pode quebrar-se facilmente com a ação dos ventos, chuvas e até mesmo dos próprios tratos culturais (Figura 2B). Quando a planta não quebra, pode ocorrer interrupção ou redução da circulação de seiva, levando à perdas na produção (Hoffmann-Campo et al. 1999).

Experimentos realizados em casa de vegetação mostraram que o período que a larva passa se alimentando dentro da galha é de aproximadamente 25 dias (Hoffmann-Campo et al. 1991). A partir do quinto ínstar (próximo à colheita), as larvas de último estágio movimentam-se para o solo, onde hibernam em câmaras subterrâneas situadas entre 5 a 10 cm de profundidade (Hoffmann-Campo et al. 1991). Nessa fase, as larvas não se alimentam e permanecem na câmara até o início da próxima safra, quando então, se transformam em pupas e, em seguida, nos adultos. Nesse período, as larvas só se movimentam quando perturbadas, especialmente quando expostas ao sol, pois apresentam acentuado fototropismo negativo (Hoffmann-Campo et al. 1991).

De acordo com Daly et al. (1978), insetos que vivem e se alimentam expostos na folhagem das plantas precisam reduzir os riscos de dessecação através de adaptações morfológicas, fisiológicas ou comportamentais. Adultos de *S. subsignatus* parecem usar a adaptação comportamental para minimizar os efeitos das condições ambientais severas, como por exemplo, o calor excessivo. Isso é vital para sua sobrevivência, já que sua coloração natural preta com listras amarelas aumenta a absorção de luz, gerando mais calor (Silva et al. 1998).

As características comportamentais podem ser a principal razão da dificuldade do controle de *S. subsignatus*. Como citado anteriormente, os ovos e as larvas ficam

protegidos dentro das plantas, predominantemente dentro da haste principal e as larvas de quinto ínstar permanecem no solo por um longo período. O conhecimento dessas características permite entender porque esses insetos escapam e sobrevivem às aplicações de inseticidas, tornando seu controle químico um método pouco eficiente, embora algumas práticas culturais possam ser utilizadas para, gradualmente diminuir a sua ocorrência.

O manejo mais eficiente para o controle desse inseto é a rotação de culturas, mas sempre associada a outras estratégias. Resultados recentes de pesquisas têm mostrado reduzido percentual de plantas mortas e danificadas e maior produtividade quando utilizado o sistema de rotação soja-milho-soja, comparando-se ao monocultivo de soja (Hoffmann-Campo et al. 1999).

O nível de dano de *S. subsignatus* às culturas é calculado avaliando-se o grau de infestação na entressafra nos locais em que, na safra anterior, foram observados ataques severos do inseto, antes de planejar o cultivo da safra seguinte. Em lavoura de soja já estabelecida, o controle do inseto se justifica quando a população atinge um adulto por metro de fileira, em plantas com duas folhas trifolioladas, e dois adultos por metro linear, em plantas com três a cinco folhas trifolioladas (Hoffmann-Campo et al. 1990).

Apesar dos danos causados na cultura da soja serem, em alguns casos, alarmantes, não se indica a aplicação preventiva de produtos químicos, pois, além do grave problema de poluição ambiental, a aplicação desnecessária eleva os custos da lavoura e contribui para o desequilíbrio populacional dos insetos.

A utilização de semioquímicos vem se destacando no monitoramento e controle de várias pragas de importância agrícola, através de coleta massal e confusão sexual de machos (Suckling 2000, Bento 2001, Albajes et al. 2002), auxiliando dessa forma no manejo das populações em campo e na minimização do uso de inseticidas. Pesquisas

nessa área têm aumentado consideravelmente em muitas ordens de insetos, envolvendo aspectos biológicos, fisiológicos, comportamentais, bioquímicos e genéticos (Vilela & Della Lucia 2001).

Assim, o manejo integrado, visando minimizar os impactos das pragas da soja através do uso de semioquímicos, representa uma demanda de pesquisa que permite melhorias significativas na qualidade ambiental, traduzindo-se na otimização do controle, economia dos recursos naturais, na redução dos custos de produção, na melhoria da qualidade de vida dos produtores e consumidores, na qualidade e competitividade dos produtos e na sustentabilidade da atividade.

Os curculionídeos são besouros da superfamília Curculionoidea, com cerca de 60.000 espécies descritas (Marvaldi & Lanteri 2005). Os adultos da família Curculionidae são facilmente reconhecidos pela presença de uma cabeça prolongada em um rostro de comprimento muito variável, assim como antenas genículo-clavadas (Kuschel 1995) (Figura 3).



Figura 3. Vista lateral de um curculionídeo típico (*Anthonomus grandis*): A – Rostro, B - Antenas genículo-clavadas (Foto: Projeto Taxon Line - Entomóloga Norma Giambarresi Ganho).

Os curculionídeos, em sua grande maioria, são fitófagos tanto na fase larval como na adulta (Vanin 1999). Muitas espécies são importantes pragas de diversas culturas, bem como de grãos armazenados, e a necessidade constante de medidas de controle mais efetivas e que também sejam seguras ao meio ambiente tem exigido da comunidade científica a busca por novos métodos de controle para minimizar o impacto desses insetos. Como em outros grupos de insetos, essa necessidade tem levado ao aumento das investigações sobre o uso de feromônios como mais uma ferramenta no manejo dessas pragas. Vários trabalhos têm sido feitos na identificação e no uso de feromônios de insetos dentro da família Curculionidae (Bartelt 1999), exemplificado por décadas de pesquisa conduzidas com o bicudo do algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boheman (Hardee & Mitchell 1997). Seguindo a identificação de quatro componentes do feromônio de agregação de *A. grandis* (Tumlinson et al. 1969), feromônios de várias espécies de curculionídeos têm sido identificados.

A maioria dos feromônios relatada em curculionídeos é produzida pelos machos e usualmente atrai ambos os sexos, por isso são conhecidos como feromônios de agregação. Entretanto, alguns feromônios também têm sido verificados em fêmeas de algumas espécies de curculionídeos. Estes incluem feromônios sexuais de longa-distância (que atraem principalmente machos), de curta-distância ou feromônio de contato, que permitem reconhecer coespecíficos e feromônio de oviposição, que fêmeas de algumas espécies usam para marcar os hospedeiros nos quais elas colocam seus ovos. Finalmente, existem exemplos de curculionídeos utilizando feromônios de outras espécies de besouros como cairomônios (Bartelt 1999).

Em virtude de seus hábitos de vida, o estudo comportamental de curculionídeos é relativamente complexo. Uma alternativa que evita muitos problemas com bioensaios e acelera o processo de identificação é a cromatografia gasosa acoplada a

eletroantenografia (CG-EAG) (Perez et al. 1997). Com a CG-EAG tem sido possível identificar exatamente quais compostos têm atividade sensorial nos insetos. Esta informação, combinada com comparações dos cromatogramas de voláteis coletados de machos e fêmeas, permite a identificação dos compostos específicos de cada sexo.

Os compostos que constituem os feromônios de curculionídeos correspondem, basicamente, a duas classes: monoterpenóides (majoritariamente cíclicos) e possíveis derivados de ácidos graxos (álcoois, cetonas, e ésteres de cadeia metilramificadas e com número variável de carbono) (Bartelt 1999, Seybold & Vanderwel 2003, Gibling-Davis et al. 1996).

A utilização de inseticidas para o controle de curculionídeos-praga não tem sido muito eficiente, uma vez que esses insetos geralmente são brocas, se alimentando dentro de frutos, caules e sementes. Além disso, existe a necessidade de novos métodos de controle que agridam menos o meio ambiente. Devido a esses fatores, os feromônios tornam-se uma técnica bastante promissora para utilização no Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Alguns dos feromônios já identificados na família Curculionidae já são produzidos comercialmente e têm sido utilizados com sucesso no monitoramento e controle de pragas (Aquino et al. 1986, Santos & Hofer 1996, Moura et al. 1997, Favero et al. 1993, Tinzaara et al. 2003). A utilização de feromônios para o monitoramento dos curculionídeos facilita a determinação da dinâmica populacional, auxiliando na tomada de decisão do agricultor no manejo dos insetos. O controle de curculionídeos utilizando feromônios tem sido feito principalmente por meio de coleta massal e com grande sucesso, uma vez que os feromônios atraem ambos os sexos. Os estudos de feromônios nesta importante família são bons exemplos para direcionar futuras pesquisas na área, objetivando principalmente o desenvolvimento de novas técnicas de controle.

Nesse contexto, este trabalho teve como objetivos: isolar, determinar a dinâmica de emissão, identificar e avaliar a eficiência, em laboratório e em campo, do feromônio de agregação de *S. subsignatus*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Feromônios de Curculionídeos

Foi feita uma revisão de todos os feromônios de agregação já estudados dentro da família Curculionidae. As principais espécies de importância econômica, suas subfamílias e tribos, e os respectivos compostos já identificados estão listados na Tabela 1. Essas espécies pertencem a 6 subfamílias e 10 tribos. Os nomes dos táxons e das categorias estão de acordo com as propostas de classificação mais recentes para os curculionídeos (Marvaldi & Lanteri 2005, Wibmer & O' Brien 1986, Alonso-Zarazaga & Lyal 1999). As descrições estão ordenadas alfabeticamente pela subfamília e as estruturas químicas estão apresentadas nas Figuras 4 e 5.

Tabela 1. Espécies pragas de Curculionidae e seus feromônios de agregação. Verificar a estrutura dos compostos nas Figuras 4 e 5.

Espécies	Subfamília	Tribo	Compostos
<i>Pseudopiazurus obesus</i>	Conoderinae	Piazurini	1, 2
<i>Anthonomus eugenii</i>	Curculioninae	Anthonomini	3, 4, 5, 6, 7, 8
<i>Anthonomus grandis</i>	Curculioninae	Anthonomini	2, 3, 5, 6
<i>Anthonomus rubi</i>	Curculioninae	Anthonomini	2, 3, 5, 6, 9, 10
<i>Curculio caryae</i>	Curculioninae	Curculionini	2, 3, 5, 6
<i>Cosmopolites sordidus</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	12, 13, 14, 15
<i>Dynamis borassi</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	16
<i>Metamasius hemipterus</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	16, 17, 18, 19, 20
<i>Metamasius hemipterus sericeus</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	16, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25
<i>Metamasius spinolae</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	23, 26, 27
<i>Rhabdoscelus obscurus</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	17, 18, 28
<i>Rhynchophorus bilineatus</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	16
<i>Rhynchophorus cruentatus</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	29
<i>Rhynchophorus ferrugineus</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	16, 22
<i>Rhynchophorus palmarum</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	28
<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	30
<i>Rhynchophorus vulneratus</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	16, 22, 30
<i>Scyphophorus acupunctatus</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	17, 18
<i>Sitophilus oryzae</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	31
<i>Sitophilus zeamais</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	31
<i>Sitophilus granarius</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	31, 32
<i>Sphenophorus levis</i>	Dryophthorinae	Rhynchophorini	18
<i>Diaprepes abbreviatus</i>	Entiminae	Eustylini	Não identificado
<i>Sitona lineatus</i>	Entiminae	Sitonini	33
<i>Bothynoderes punctiventris</i>	Lixinae	Cleonini	5, 6
<i>Conotrachelus nenuphar</i>	Molytinae	Conotrachelini	11
<i>Pissodes spp.</i>	Molytinae	Pissodini	1, 2

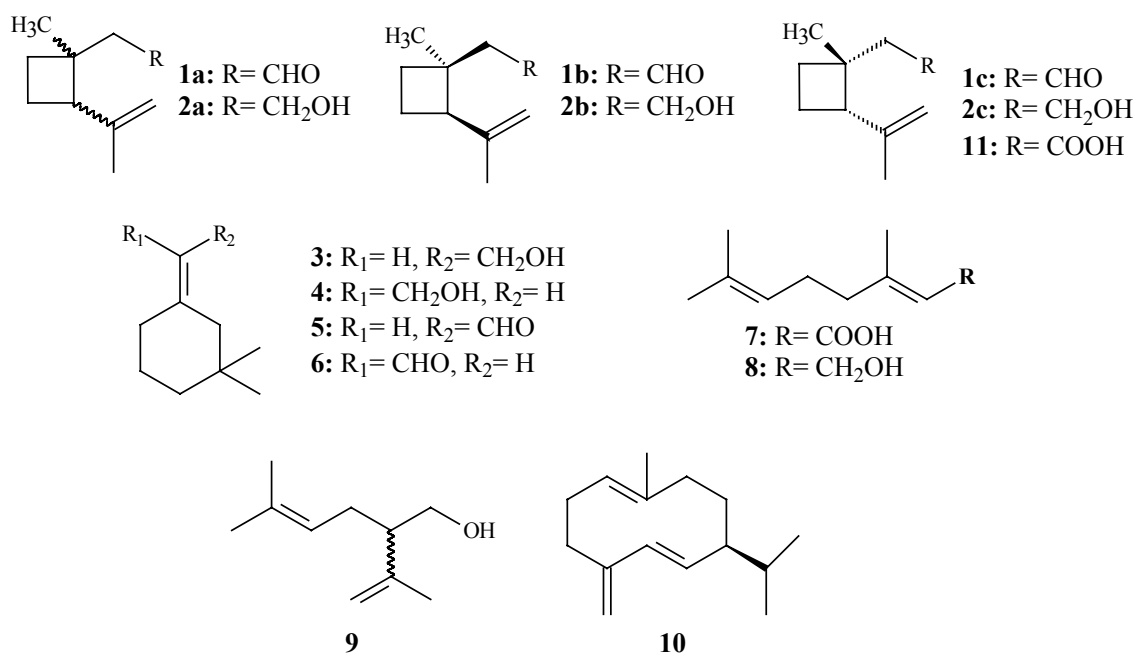


Figura 4. Compostos feromonais encontrados em algumas espécies de curculionídeos das subfamílias Conoderinae, Curculioninae, Lixinae e Molytinae; monoterpénóides (majoritariamente cíclicos). Os compostos **2c**, **3**, **4**, **5** e **6** também foram identificados no feromônio de agregação de *S. subsignatus*.

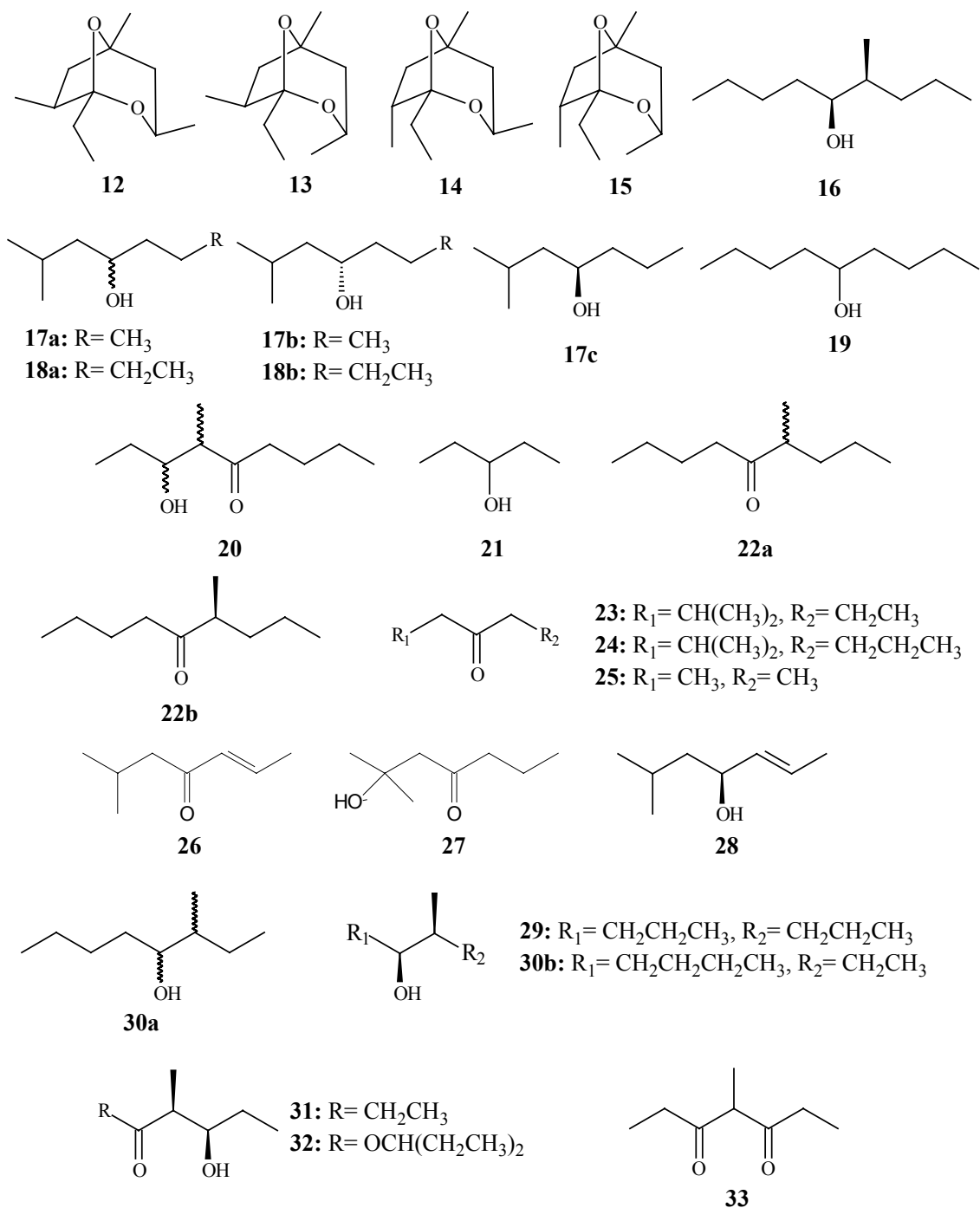


Figura 5. Compostos feromoniais encontrados em algumas espécies de curculionídeos das subfamílias Dryophthorinae e Entiminae; derivados de ácidos graxos (álcoois, cetonas, e ésteres de cadeia metilramificadas e com número variável de carbono).

2.1.1. Subfamília Conoderinae

Pseudopiazurus obesus Boheman

Também conhecido como broca do mamoeiro é considerada uma importante praga na cultura do mamão no Nordeste do Brasil (Moreira et al. 2003). Testes em laboratório, utilizando olfatômetro em Y, demonstraram que tanto machos como fêmeas são atraídos para uma combinação dos voláteis emitidos pelos machos da espécie e pela planta hospedeira (Zarbin et al. 2007). Análises comparativas dos voláteis emitidos pelos machos e fêmeas revelaram três compostos macho-específicos. O composto majoritário foi identificado como o 2-((1*R*, 2*S*)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil)acetaldeído (**1c**) (grandisal) e o intermediário como o 2-((1*R*, 2*S*)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil)etanol (**2c**) (grandisol), (Figura 4), enquanto que a estrutura química do componente minoritário ainda não foi determinada (Zarbin et al. 2007).

2.1.2 Subfamília Curculioninae

Anthonomus eugenii Cano

Este inseto é uma importante praga de pimenta e pimentões no sul dos Estados Unidos, México e na América Central (Elmore et al. 1994). Trabalhos de campo forneceram a primeira evidência de que machos de *A. eugenii* produzem feromônio de agregação (Patrock et al. 1992). A identificação deste feromônio foi realizada em 1994 como sendo uma mistura dos seguintes álcoois: (*Z*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol (**3**) e seu isômero (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol (**4**), os respectivos aldeídos (*Z*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)acetaldeído (**5**) e (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)acetaldeído (**6**), o ácido (*E*)-3,7-dimetilocta-2,6-dienóico (ácido

gerânico) (7) e o (*E*)-3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-ol (geraniol) (8) (Figura 4) (Eller et al. 1994).

Anthonomus grandis Boheman

Popularmente conhecido como bicudo-do-algodoeiro, este inseto é considerado a principal praga dos algodoeiros nas Américas, pois provoca queda anormal dos botões florais e flores, impedindo a abertura normal das maçãs (Gallo et al. 2002). Foi o primeiro curculionídeo a ter o feromônio estudado, o qual é liberado pelos machos e constituído de quatro componentes: os álcoois **2a** e **3** e os aldeídos **5** e **6** (Tumlinson et al. 1969) (Figura 4). A mistura desses quatro componentes mostrou atividade biológica em bioensaios de laboratório (Tumlinson et al. 1969). Formulações sintéticas do feromônio atraíram tanto machos como fêmeas no campo (Hardee et al. 1972). A configuração absoluta do grandisol foi estabelecida como sendo (1*R*, 2*S*) (**2c**) (Hobbs & Magnus 1976, Mori 1978). Este feromônio tem sido amplamente comercializado para o monitoramento e controle de *A. grandis* (Hardee & Mitchell 1997). *A. eugenii* e *A. grandis* apresentam três compostos feromonais em comum.

Anthonomus rubi Herbst

Considerado a principal praga de cultivos de morango na Europa (Cross & Easterbrook 1998). Como as outras espécies estudadas dentro de Curculioninae, os machos de *A. rubi* também produzem componentes do feromônio do bicudo-do-algodoeiro, *A. grandis*. Os compostos feromonais encontrados nesta espécie foram o grandisol **2a**, o álcool **3**, o 5-metil-2-(prop-1-en-2-il)-hex-4-en-1-ol (lavandulol) (9) e o (*S*, 1*Z*, 6*E*)-8-isopropil-1-metil-5-metilenociclo-deca-1,6-dieno (germacreno D) (10) (Innocenzi et al. 2001) (Figura 4). Novamente para esta espécie a estereoquímica

absoluta do grandisol foi estabelecida como sendo (1*R*, 2*S*) (**2c**), enquanto que para o lavandulol a configuração absoluta ainda não foi determinada. Pequenas quantidades dos aldeídos **5** e **6** também foram encontradas (Innocenzi et al. 2001). Testes de campo mostraram que uma combinação somente dos compostos **2c**, **3** e **9** foram suficientes para atrair machos e fêmeas dessa espécie. A adição de pequenas quantidades dos aldeídos e dos demais compostos não aumentou as capturas (Innocenzi et al. 2001).

Curculio caryae Horn

É uma das mais importantes pragas dos cultivos de pecã nos Estados Unidos (Barry 1947). No final do verão, os adultos atacam os frutos em maturação, danificando-os por meio da alimentação ou da postura (Raney & Eikenbary 1968). Os estudos com esse inseto tiveram início em 1971, quando Van Cleave e Harp demonstraram que gaiolas com fêmeas atraíam uma maior quantidade de adultos de ambos os sexos, quando comparadas com gaiolas contendo machos. Vários estudos nesse sentido foram feitos posteriormente, mas nenhum dos testes utilizados foi suficiente para permitir avaliações estatísticas satisfatórias. O estudo comportamental desse inseto foi dificultado por uma série de razões, e somente em 1997, Hedin e colaboradores identificaram o feromônio produzido pelos machos de *C. caryae* como sendo uma mistura de 5 componentes: isômeros *cis* e *trans* do grandisol (**2b** e **2c**), álcool **3** e os aldeídos **5** e **6** (Figura 4). Testes em olfatômetro demonstraram que os compostos são mais atrativos para as fêmeas do que para os machos (Hedin et al. 1997). Novamente, esses compostos ocorrem também em várias espécies de Curculionidae. Entretanto, em todos os casos, a liberação e a proporção de cada composto é diferente para as diferentes espécies.

2.1.3. Subfamília Dryophthorinae

Cosmopolites sordidus Germar

Cosmopolites sordidus, vulgarmente conhecido por moleque-da-bananeira, é amplamente distribuído por todas as regiões do Brasil e é uma das principais pragas da bananeira (Gallo et al. 2002). Bioensaios utilizando olfatômetro e CG-EAG demonstraram a existência de um feromônio de agregação produzido pelos machos da espécie (Budenberg et al. 1993). Subsequentemente, Beauhaire et al. (1995) detectaram a presença de seis compostos específicos dos machos e identificaram o majoritário dessa mistura como sendo o 1-etil-3,5,7-trimetil-2,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano (sordidina) (**12**) (Figura 5). Posteriormente, Mori et al. (1996) determinaram a estereoquímica absoluta deste composto, como sendo o isômero (1*S*, 3*R*, 5*R*, 7*S*). Ndiege et al. (1996) e Jayaraman et al. (1997) desenvolveram a síntese em grande escala da mistura racêmica da sordidina, o que tornou possível a realização de testes de campo. Armadilhas contendo a mistura dos quatro diastereoisômeros (**12-15**) (Figura 5) foram atrativas tanto para machos como para fêmeas (Ndiege et al. 1996, Jayaraman et al. 1997). Atualmente este feromônio é comercializado com o nome de Cosmolure®, e tem sido amplamente empregado em técnicas de monitoramento e controle dessa praga (Tinzaara et al. 2003).

Dynamis borassi F.

Esse inseto é considerado uma importante praga de palmáceas e está amplamente distribuído na América Central e do Sul (Wattanapongsiri 1966). Giblin-Davis et al. (1997) identificaram o feromônio de agregação produzido por machos dessa espécie como sendo o (4*S*, 5*S*)- 4-metilnonan-5-ol (**16**) (Figura 5). Análises em CG-

EAG revelaram que machos e fêmeas respondem também para o feromônio de algumas espécies simpátricas do gênero *Rhynchophorus* (Giblin-Davis et al. 1997). Em experimentos de campo, as fêmeas foram igualmente atraídas para armadilhas contendo cana-de-açúcar e o composto **16**, ou para outros compostos comumente encontrados em espécies de Dryophthorinae. Entretanto, houve uma maior captura de machos em armadilhas contendo somente o composto **16** e cana-de-açúcar (Giblin-Davis et al. 1997).

Metamasius hemipterus L.

O *M. hemipterus* é uma importante praga nos cultivos de banana, abacaxi, cana-de-açúcar e em várias espécies de palmáceas (Vaurie 1966). Ocorre desde os Estados Unidos até o Uruguai, norte da Argentina e na África (Lepesme & Paulian 1941). Comparações entre voláteis coletados de machos e fêmeas revelaram a presença de um feromônio produzido pelos machos, que consiste de uma mistura de cinco compostos: o álcool **16** (composto majoritário), 2-metilheptan-4-ol (**17a**), 2-metiloctan-4-ol (**18a**), nonan-5-ol (**19**) e 3-hidroxi-4-metilnonan-5-ona (**20**) (Figura 5) (Rochat et al. 1993a, Ramirez-Lucas et al. 1996a). Análises eletroantenográficas revelaram respostas significativas tanto de machos quanto de fêmeas para os compostos **16** a **19** (Ramírez-Lucas et al. 1996a). As estruturas químicas dos componentes feromonais e a resposta comportamental causada pelos mesmos são semelhantes àquelas já observadas em outras espécies de rincoforídeos (Ramírez-Lucas et al. 1996a). A configuração absoluta do composto majoritário foi determinada como (4*S*, 5*S*) (**16**) (Mori et al. 1993a) (Figura 5). Entretanto, no caso do composto **17**, constatou-se a presença de ambos os isômeros. No campo foi demonstrado que a combinação de cana-de-açúcar e o composto majoritário **16** foi atrativa para machos e fêmeas. A adição dos álcoois **17a** e **18a** a essa

mistura aumentou o número de insetos capturados nas armadilhas. Por outro lado, a adição dos compostos **19** e **20** não aumentou a atração dos insetos (Ramirez-Lucas et al. 1996b).

Perez et al. (1997) verificaram a presença de um feromônio de agregação produzido pelos machos da subespécie *Metamasius hemipterus sericeus* Olivier. Eles encontraram todos os compostos já descritos por Ramirez-Lucas et al. (1996a), exceto os compostos **19** e **20**. Além desses compostos, encontraram também o pentan-3-ol (**21**), 4-metilnonan-5-ona (**22a**), 2-metilheptan-4-ona (**23**), 2-metiloctan-4-ona (**24**) e pentan-3-ona (**25**) (Figura 5). Não se sabe ainda se essas diferenças químicas detectadas na subespécie são devidas à metodologia empregada ou se existem variações geográficas entre os curculionídeos estudados (Giblin-Davis et al. 1996).

Metamasius spinolae Gyllenhal

O dano causado por este inseto é um fator limitante para a produção comercial de palma forrageira no México. As larvas vivem nas hastes das plantas, formando galerias e frequentemente destroem toda a planta devido à queda dos ramos (Granados & Castaneda 1991). Tafoya et al. (2003), por meio de testes de laboratório e campo, demonstraram a existência de um feromônio de agregação produzido pelos machos que é atrativo para ambos os sexos em *M. spinolae*. Análises posteriores do extrato natural de machos revelaram a presença de três compostos principais: a cetona **23**, (*E*)-6-metilhept-2-en-4-ona (**26**) e 2-hidroxi-2-metilheptan-4-ona (**27**) (Figura 5), em ordem crescente de abundância (Tafoya et al. 2007). Os compostos **26** e **27** ainda não tinham sido identificados em insetos. Testes de campo mostraram maior atratividade dos insetos para as armadilhas contendo os compostos **23** e **26** e para mistura dos três compostos (**23**, **26** e **27**), mais a planta hospedeira.

Rhabdoscelus obscurus Boisduval

Este inseto, considerado praga de cana e palmáceas ornamentais, é nativo da área austromalásia (Halfpapp & Storey 1991, Zimmerman 1993). Testes em laboratório e em campo com *R. obscurus* demonstraram que machos produzem um feromônio de agregação que é atrativo principalmente para as fêmeas (Chang & Curtis 1972). Giblin-Davis et al. (2000) identificaram o feromônio de populações de machos de *R. obscurus* do Havaí como o álcool **18a** e os compostos feromonais de populações de *R. obscurus* da Austrália como uma mistura dos compostos **18a**, (*E*)-6-metilhept-2-en-4-ol (**28**) e **17a** (Figura 5). Posteriormente, testes de campo em populações da ilha de Guam (Oceania) demonstraram que *R. obscurus* foi mais atraído para armadilhas contendo o feromônio das populações da Austrália do que as que continham o feromônio das populações do Havaí (Muniappan et al. 2004).

Rhynchophorus bilineatus Montrouzier

O gênero *Rhynchophorus* consiste de 10 espécies, dentre as quais sete são consideradas pragas de coco (Wattanapongsiri 1966). Oehlschlager et al. (1995) identificaram o feromônio de agregação de *R. bilineatus* como sendo o álcool **16** (Figura 5). Este composto também faz parte do feromônio de agregação de outras duas espécies de *Rhynchophorus*, *R. ferrugineus* e *R. vulneratus*, além de *M. hemipterus*.

Rhynchophorus cruentatus F.

Ocorre na América do Norte e é uma praga importante de palmáceas ornamentais, principalmente quando elas estão estressadas ou danificadas (Giblin-Davis & Howard 1989). Os machos são os responsáveis pela liberação de um feromônio de

agregação que é altamente atrativo para ambos os sexos quando combinados com os voláteis da planta hospedeira (Weissling et al. 1993). Weissling et al. (1994) identificaram o único composto macho-específico presente no feromônio de agregação de *R. cruentatus* como sendo o (4*S*, 5*S*)-5-metiloctan-4-ol (**29**) (Figura 5).

Rhynchophorus ferrugineus Olivier e *Rhynchophorus vulneratus* Panzer

Rhynchophorus ferrugineus e *R. vulneratus* são duas espécies simpátricas, importantes pragas de palmáceas no sul e sudeste da Ásia (Sivapragasam et al. 1990, Sadakathulla 1991). Hallet et al. (1993) descobriram em ambas as espécies a presença de dois compostos produzidos especificamente pelos machos, o álcool **16** e a cetona **22a** (Figura 5). Nessa mesma época, Rochat et al. (1993b) encontraram em *R. vulneratus* a presença de um composto em menor quantidade, o 3-metiloctan-4-ol (**30a**) (Figura 5).

Análises posteriores para verificar a estereoquímica desses compostos revelaram que as duas espécies produzem o (4*S*, 5*S*) (**16**) (Mori et al. 1993a, Perez et al. 1996) e o (*S*) (**22b**) (Perez et al. 1996). Experimentos de campo demonstraram que ambas respondem igualmente ao isômero (4*S*, 5*S*) (**16**) e para a mistura racêmica, mas não respondem ao isômero (4*R*, 5*R*). A cetona **22b** correspondente não influenciou na atividade do composto majoritário (Perez et al. 1996).

Rhynchophorus palmarum L.

O *R. palmarum* é uma praga importante das plantações de coco na Venezuela, México, Brasil e algumas áreas do Caribe (Hernández et al. 1992). As larvas deste inseto penetram na planta, alimentando-se do pecíolo da folha e da região meristemática. Entretanto os adultos são o maior problema, pois transportam o nematóide *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb) Baujard (Nematoda: Tylenchida), agente

causador da doença conhecida por anel vermelho (Griffith 1968). Esta doença é letal para o coqueiro e outras palmeiras.

Trabalhos de campo e laboratório forneceram a primeira evidência de que machos de *R. palmarum*, na presença da planta hospedeira produzem um feromônio de agregação que atrai tanto machos como fêmeas (Rochat et al. 1991a). Posteriormente Rochat et al. (1991b) identificaram a substância **28** (Figura 5) como o principal composto responsável pela atratividade de machos de *R. palmarum* aos coespecíficos. Este composto foi denominado rincoforol. A estereoquímica absoluta do rincoforol natural foi definida como sendo o (*S, E*)-6-metilhept-2-en-4-ol (**28**) (Oehlschlager et al. 1992). Testes de campo demonstraram que o isômero (*R*) não possui atividade inibitória sobre o isômero ativo (*S*), permitindo assim a utilização no campo da mistura racêmica, cuja síntese é mais simples (Mori & Ishigami 1992). Testes de campo também têm demonstrado que o (\pm)-rincoforol apresenta uma maior eficiência quando associado com toletes de cana (Rochat et al. 1993b, Duarte et al. 2003), estipe do coqueiro (Weissling et al. 1992) ou frutos do abacaxi (Duarte et al. 2003).

Rhynchophorus phoenicis F.

Rochat et al. (1993a) e Gries et al. (1993) isolaram e identificaram um composto produzido especificamente pelos machos dessa espécie, o álcool **30a** (Figura 5). A configuração absoluta desse composto foi determinada como (3*S*, 4*S*) (**30b**) (Mori et al. 1993b, Perez et al. 1994). Testes de campo revelaram que o isômero (3*S*, 4*S*) foi mais ativo, mas que a presença do (3*R*, 4*R*) não prejudicou as capturas (Perez et al. 1994, Rochat et al. 1995).

Scyphophorus acupunctatus Gyllenhal

Em muitos países, esse curculionídeo é considerado a principal praga nos cultivos de agaves. Essa espécie é amplamente distribuída, sendo encontrada desde o sul dos Estados Unidos até o Brasil, além do Caribe, Havaí, Bornéu, Java e Austrália (Vaurie 1971). Testes em laboratório e em campo demonstraram que machos dessa espécie produzem um feromônio de agregação que atrai ambos os sexos e que essa atração aumenta na presença da planta hospedeira (Ruiz-Montiel et al. 2003). Machos e fêmeas de *S. acupunctatus* foram atraídos para os compostos **17a** e **18a** (Figura 5), os quais são componentes do feromônio de agregação de *M. hemipterus* (Ruiz-Montiel et al. 2003). Recentemente, análises em CG-EAG revelaram quatro compostos produzidos pelos machos, os álcoois **17a** e **18a** e as cetonas correspondentes **23** e **24** (Ruiz-Montiel et al. 2008). Experimentos de laboratório e campo demonstraram que os compostos **23** e **24** foram tão eficientes na captura dos insetos quanto as armadilhas contendo a mistura completa (**17a**, **18a**, **23** e **24**) (Ruiz-Montiel et al. 2008).

Sitophilus spp.

As espécies inclusas neste gênero, também chamadas de gorgulhos-dos-cereais, são consideradas pragas de grãos armazenados, como arroz, milho, trigo e cevada (Gallo et al. 2002). Os feromônios de agregação produzidos pelos machos ocorrem em *Sitophilus oryzae* L., *Sitophilus zeamais* Motschulsky e *Sitophilus granarius* L. (Moreira et al. 2005). Walgenbach et al. (1987) identificaram o feromônio de agregação de *S. oryzae* e *S. zeamais* como o (4*S*, 5*R*)-5-hidroxi-4-metilheptan-3-ona (**31**) (Figura 5), comumente conhecido como sitophinona (Walgenbach & Burkholder 1986). O feromônio de *S. granarius* foi identificado como (2*S*, 3*R*)-2-metil-3-hidroxipentanoato de 1-etilpropila (**32**) (Phillips et al. 1987, Phillips et al. 1989) (Figura 5), comumente

conhecido como sitophilato. Análises eletroantenográficas detectaram respostas para mais um componente em *S. granarius*, mas que ainda não foi identificado (Chambers et al. 1996). Vários autores têm demonstrado que *S. granarius* é atraído também para a sitophinona **31**, mas que *S. oryzae* e *S. zeamais* não são atraídos para o sitophilato **32** (Phillips et al. 1989, Walgenbach et al. 1983, Phillips et al. 1985). Wakefield et al. (2005) sugeriram uma isca contendo somente o composto **31** para monitoramento das 3 espécies de *Sitophilus*.

Sphenophorus levis Vaurie

É uma importante praga da cana-de-açúcar e tem sido encontrada principalmente no norte da Argentina, Paraguai e no Brasil (Vanin 1988). Zarbin et al. (2003) identificaram o álcool (*S*)-2-metil-4-octanol (**18b**) (Figura 5), o qual é produzido especificamente pelos machos dessa espécie. Testes preliminares em laboratório utilizando a mistura racêmica sugeriram que este composto provoca um comportamento de agregação entre machos e fêmeas da espécie. O composto **18a** já foi previamente identificado como componente do feromônio de agregação de várias espécies da subfamília Dryophthorinae.

2.1.4. Subfamília Entiminae

Diaprepes abbreviatus L.

É a principal praga da cana-de-açúcar nas ilhas caribenhas e uma importante praga de citros na Flórida (Cruz & Segrarra 1992). Schroeder (1981) evidenciou um feromônio produzido pelos machos, que atraem as fêmeas, e um feromônio produzido pelas fêmeas, que atrai os machos. Posteriormente, Beavers et al. (1982) sugeriram que

o odor de plantas jovens de citros é o principal responsável pela agregação desses insetos e que as fezes no local de agregação podem servir como atraente secundário para o sexo oposto. Jones & Schroeder (1984) demonstraram que um feromônio produzido pelo macho, liberado nas fezes, atrai ambos os sexos de *D. abbreviatus*. Testes em laboratório utilizando olfatômetro em Y demonstraram que machos e fêmeas foram atraídos para a planta hospedeira, para machos ou fêmeas isoladamente e para as fezes de machos e fêmeas (Harari & Landolt 1997). A evidência de comunicação química nessa espécie é contraditória e a identificação dos compostos responsáveis por essa comunicação ainda não existe.

Sitona lineatus L.

Estes insetos são importantes pragas de leguminosas e estão distribuídos na Europa e América do Norte. Os danos mais sérios são causados pelas larvas, que destroem os nódulos radiculares, diminuindo a capacidade fixadora de nitrogênio das plantas. Blight et al. (1984) e Blight & Wadhams (1987) identificaram o feromônio de agregação presente nos machos como sendo o 4-metilheptano-3,5-diona (**33**) (Figura 5). Posteriormente esse composto foi sintetizado e mostrou atrair ambos os sexos no campo (Blight & Wadhams 1987).

2.1.5. Subfamília Lixinae

Bothynoderes punctiventris Germar

O *B. punctiventris* é uma importante praga de beterraba em várias regiões da Europa (Manninger 1990). Tóth et al. (2007) verificaram a atratividade de ambos os sexos de *B. punctiventris* em testes de campo utilizando armadilhas contendo a mistura

feromonal do bicudo-do-algodoeiro, *A. grandis*, compostos **2a**, **3**, **5** e **6** (Figura 4). Testes posteriores revelaram que somente os aldeídos **5** e **6** são os responsáveis pela atração (Tóth et al. 2007). Estudos utilizando CG-EAG mostraram que machos e fêmeas apresentaram uma maior resposta para o composto **5**, sugerindo uma maior importância deste isômero na atratividade (Tóth et al. 2007).

2.1.6. Subfamília Molytinae

Conotrachelus nenuphar Herbst

Este inseto é uma praga chave nos pomares de maçã na América do Norte (Vincent et al. 1999). Eller & Bartelt (1996) isolaram e subsequentemente sintetizaram o feromônio de agregação dessa espécie, identificando-o como sendo o ácido 2-((1*R*, 2*S*)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil)acético (**11**) (Figura 4), comumente chamado de ácido grandisóico por ser análogo ao grandisol **2a**. Testes de campo revelaram que tanto a mistura racêmica do ácido grandisóico como os enantiômeros puros atraem machos e fêmeas da espécie (Eller & Bartelt 1996).

Pissodes spp.

Os curculionídeos do gênero *Pissodes* compreendem um importante grupo de pragas de coníferas na América do Norte. A primeira evidência de um feromônio de agregação em *Pissodes* foi feita por Booth & Lanier (1974), quando foi demonstrado que machos de *Pissodes approximatus* Hopkins juntamente com a planta hospedeira atraíram machos e fêmeas coespecíficos em testes de campo. Grandisol **2a** e seu aldeído correspondente, grandisal **1a** (Figura 4), foram isolados de machos de *P. approximatus* e *Pissodes strobi* Peck e mostraram ter atratividade feromonal quando foram colocados

junto com a planta hospedeira (Booth et al. 1983). Philips et al. (1984), observaram que machos de *Pissodes nemorensis* Germar também produzem os mesmos compostos feromonais **2a** e **1a** presentes em *P. approximatus* e *P. strobi*, e que a combinação de grandisol e grandisal, juntamente com a planta hospedeira, foi a mais atrativa em testes de campo. Hibbard & Webster (1993) determinaram a quiralidade desses compostos para *P. nemorensis* e *P. strobi*. Ambas as espécies produzem quase que 100% do isômero (1*R*, 2*S*) (**2c**), *P. nemorensis* emite quase que 100% do enantiômero (1*S*, 2*R*) (**1b**), mas *P. strobi* emite aproximadamente 60% do isômero (1*S*, 2*R*) (**1b**) e 40% do (1*R*, 2*S*) (**1c**) (Figura 2). Também foi verificada a presença de feromônio produzido por machos em uma quarta espécie, *Pissodes schwarzi* (Maclaughlan et al. 1993), mas a estrutura química correspondente ainda não foi determinada.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Insetos

Adultos de *S. subsignatus*, de idade e condição reprodutiva (acasalado ou virgem) não conhecida, foram coletados em uma plantação de soja na fazenda Gralha Azul da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), no município de Fazenda Rio Grande, Paraná (coordenadas: 25°39'S-49°16'W) durante os meses de dezembro a fevereiro nos anos de 2005, 2006, 2007 e 2008. Esses insetos foram levados para o Laboratório de Semioquímicos do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná. Os indivíduos foram separados por sexo, baseando-se na estrutura da tíbia das pernas anteriores e medianas (Figura 6) (Rosado-Neto 1987) e mantidos em potes plásticos (20 cm de altura por 20 cm de diâmetro) contendo pedaços frescos de caules de soja. Esses insetos foram mantidos a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 5\%$ e um fotoperíodo de 12L: 12E.

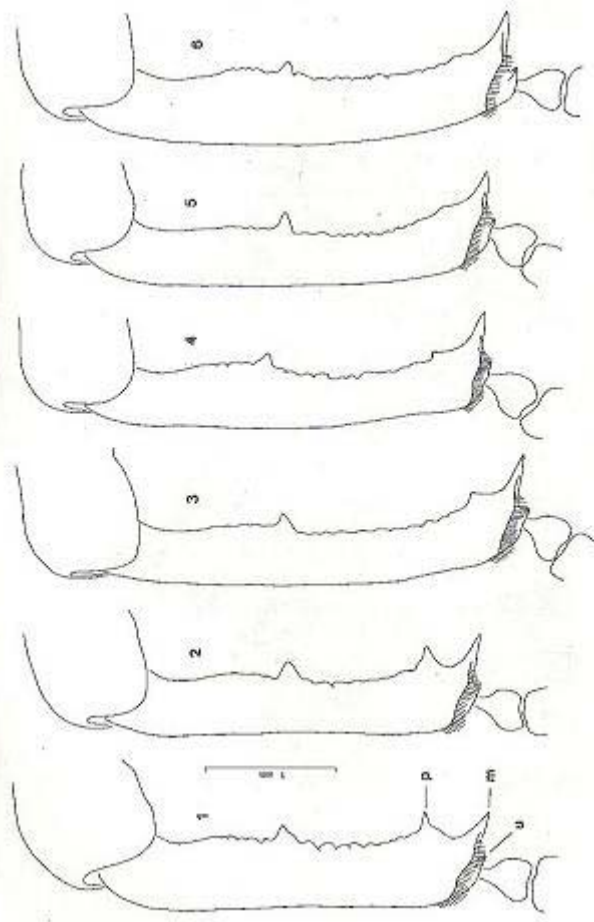


Figura 6. Dimorfismo sexual de *S. subsignatus*; variações da tíbia anterior. 1 e 2, fêmea; 3 à 6, macho (p: premucro; m: mucro; u: unco). (retirado de Rosado-Neto 1987)

3.2 Coleta dos voláteis

A coleta dos voláteis foi feita por meio do processo de aeração. Esse método consiste basicamente de câmaras de vidro onde os insetos são inseridos e um fluxo de ar contínuo, umidificado e filtrado através de carvão ativo atravessa a câmara carregando todos os voláteis liberados pelos insetos ficando os compostos retidos em filtros de polímeros especiais (Super Q). Depois de determinado período, a dessorção dos compostos é feita utilizando solventes como hexano para a lavagem dos filtros (Zarbin 2001).

Para a determinação dos compostos específicos de cada sexo, grupos separados de 30 machos e 30 fêmeas foram colocados em uma câmara de aeração (33 cm de comprimento x 3,5 cm de diâmetro) com pedaços de caule de soja frescos e os voláteis foram coletados diariamente durante 30 dias. Os caules de soja eram trocados a cada 24 h e os insetos, somente quando necessário, para manter sempre uma quantidade de 30 adultos. Os extratos diários não foram combinados e foram concentrados para 300 µl (um inseto para 10 µl) utilizando gás argônio.

Para avaliar o efeito da planta hospedeira na liberação do feromônio, os voláteis foram coletados como descrito acima por 24 h durante 3 dias (n = 3), na presença e na ausência da planta. A dinâmica de emissão do feromônio foi analisada coletando os voláteis a cada 12 h de fotofase e 12 h de escotofase (n = 3) e, subsequentemente, a cada 2 h durante a fotofase, durante 3 dias sucessivos (n = 3).

3.3 Procedimentos Analíticos

Uma alíquota de 1 µl de cada extrato obtido na aeração foi injetada em um cromatógrafo a gás Varian 3800, equipado com detector por ionização em chama (DIC), controle de pressão eletrônico e operado no modo “splitless”, contendo uma coluna capilar DB-5 (30m x 0.25mm x 0.25µm) (J&W Scientific, Folson, Califórnia). As condições de análise foram as seguintes: temperatura inicial de 50°C por 1 minuto com aumento de 7°C por minuto até uma temperatura final de 250°C, a qual foi mantida por 10 minutos.

Após o término das corridas, os cromatogramas obtidos de machos e fêmeas foram comparados entre si para a detecção das diferenças entre os compostos químicos liberados por cada sexo. Os dados quantitativos da liberação dos voláteis pelos machos foram baseados na emissão do composto majoritário, devido ao perfil dos outros

compostos mostrar um padrão similar e sua quantificação foi feita baseada em uma curva de padrão externo de hidrocarboneto (dodecano) de 10, 100 e 1000 ng.

3.4 Bioensaios

A resposta comportamental de machos e fêmeas foi testada em um olfatômetro em Y de dupla escolha, operado com um fluxo de ar contínuo de 4 l/min, previamente umidificado e filtrado com carvão ativo. O olfatômetro consiste de um tubo de vidro em forma de Y de 4 cm de diâmetro com o tubo principal com 40 cm de comprimento e 20 cm em cada um dos dois braços menores. Uma simulação da propagação do odor foi feita para visualizar a distribuição da pluma dentro do sistema. Para isto, ácido clorídrico e hidróxido de amônia foram misturados, seguindo o método descrito por Baker & Linn (1984).

Um indivíduo, macho ou fêmea, era introduzido na base do olfatômetro e seu comportamento observado durante 20 min. Era registrado como escolha para determinada fonte de odor quando o inseto se direcionou para um dos braços, pelo menos 5 cm após a divisão da base do tubo, permanecendo lá por, no mínimo, 2 min.

As fontes de odor utilizadas como estímulos foram: (a) caules de soja como planta hospedeira (PH); (b) papel filtro (2 x 2 cm) contendo 3 µl do extrato de macho obtido na aeração juntamente com a PH; (c) papel filtro (2 x 2 cm) contendo 3 µl do extrato de fêmea obtido na aeração adicionado da PH. Ar puro foi utilizado como controle no tratamento (a) e papel filtro contendo hexano juntamente com a planta hospedeira, foram usados como controle nos tratamentos (b) e (c). Como planta hospedeira foi utilizado um pedaço da haste principal da soja de ± 2 cm. Após cada teste todo o olfatômetro era lavado com detergente e água, enxaguado com álcool e posteriormente colocado na estufa a 100°C por 10 min para evitar contaminação. A

posição dos tratamentos era alternada após cada repetição para evitar que os insetos se habituassem com um dos lados.

3.5 Identificação estrutural

Os extratos dos machos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS) 70 eV (EI), utilizando-se um Shimadzu QP 5050A com o mesmo tipo de coluna capilar e as mesmas condições descritas para o CG-DIC. O volume de injeção dos extratos foi de 1 µl no modo “splitless”. O gás hélio foi empregado como gás de arraste. Os compostos foram identificados por meio do padrão de fragmentação, tempo de retenção, similaridade com compostos disponíveis na base de dados do equipamento e micro-derivatizações. Todos os compostos propostos foram confirmados através de co-injeções com padrões sintéticos.

Para obter a estereoquímica absoluta do grandisol, um dos compostos encontrados nos extratos dos machos, foi utilizada cromatografia gasosa empregando-se coluna quiral HP-20B (30m x 0.25mm x 0.25µm), com uma isoterma de 150°C.

3.6 Compostos químicos

Os constituintes do feromônio sintético, (+/-)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil)etanol (**2a**), (*Z*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol (**3**), (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol (**4**) e uma mistura 1:1 do (*Z*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)acetaldeído (**5**) e (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)acetaldeído (**6**) foram obtidos da empresa ChemTica Int., Costa Rica. Uma pequena quantidade do ácido foi obtida através da reação de oxidação do aldeído correspondente utilizando-se como agente oxidante óxido de prata (Ag₂O, *in situ*), em solução aquosa de hidróxido

de sódio (NaOH, 10%) (Pepperman 1981). O padrão do isômero (1*R*, 2*S*)-grandisol foi gentilmente cedido pelo prof. Kenji Mori – Japão.

3.7 Avaliação da atratividade dos compostos sintéticos em laboratório

A atratividade dos insetos aos compostos sintéticos também foi testada em um olfatômetro em Y, como descrito acima. Os tratamentos testados foram: (a) somente o composto majoritário (**4**) juntamente com a planta hospedeira (PH); (b) mistura binária do compostos **2a** e **4** + PH e (c) mistura ternária dos compostos **2a**, **3** e **4** + PH. Para cada repetição foi utilizado um pedaço de papel filtro (2 x 2 cm) contendo 5 µl do composto majoritário na concentração de 1000 ppm e os demais compostos foram adicionados de acordo com a razão previamente encontrada nos extratos obtidos na aeração. Papel filtro contendo hexano juntamente com a planta hospedeira foram usados como controle em todos os tratamentos.

3.8 Teste de Campo

O experimento de campo foi conduzido em um plantio de soja, variedade BRS-245 RR, com vinte e dois dias de idade, em espaçamento de 50 cm entre linhas na unidade da EMBRAPA Soja em Londrina, Paraná. Os compostos sintéticos em diferentes combinações foram impregnados em septos de borracha (10 mm O.D. - 18 mm, Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI). Cada septo recebeu uma mistura de 6 mg do composto majoritário e os demais compostos com suas proporções como previamente encontrados nos extratos obtidos na aeração. Esses compostos foram dissolvidos em 180 µl de hexano. O experimento constou de 4 tratamentos: (a) somente

o composto majoritário (4); (b) mistura ternária dos compostos 2a, 3 e 4; (c) mistura dos compostos 2a, 3, 4, 5 e 6 e (d) somente hexano como controle.

Os septos contendo os atrativos foram colocados em armadilhas tipo “pitfall” (Biocontrole®) posicionadas em duas diferentes alturas, ao nível do solo (Figura 7A) e a 50 cm de altura (Figura 7B) e dentro das mesmas foram colocados caules de soja. As armadilhas foram distribuídas em blocos ao acaso, sendo a distância entre elas de 10 m e entre os blocos de no mínimo 30 m. As armadilhas permaneceram no campo durante o período de 27 de novembro a 21 de dezembro de 2007 e a avaliação das mesmas foi feita duas vezes por semana.



Figura 7. Armadilha do tipo “pitfall” Biocontrole® juntamente com o liberador de feromônio, utilizada para captura de *S. subsignatus*: A - posicionada no campo no nível do solo; B - posicionada no campo a 50 cm do solo.

3.9 Análises Estatísticas

Todos os bioensaios em olfatômetro foram analisados utilizando-se teste binomial. Indivíduos que não escolheram nenhum dos braços foram excluídos da análise estatística. Os dados referentes à emissão de feromônio na presença e na ausência da

planta hospedeira e na fotofase e na escotofase foram analisados com test t ($P < 0,05$) para comparação de médias. O período de máxima liberação de feromônio foi determinado usando análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste Bonferroni ($P < 0,05$) para avaliar a diferença estatística entre os níveis (Ayres et al. 2003).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Evidência comportamental da mediação por feromônio de agregação na comunicação química de *S. subsignatus*

As respostas de machos e fêmeas de *S. subsignatus* no olfatômetro em Y, quando estimulados com diferentes fontes de odor, são mostradas na Tabela 2. Tanto os machos ($P = 0,0003$) como as fêmeas ($P = 0,0357$) foram significativamente mais atraídos para os caules de soja que para o ar filtrado. A combinação dos extratos de voláteis liberados pelos machos associado à planta hospedeira foi mais atrativa para machos ($P = 0,0003$) e fêmeas ($P = 0,0470$) que para o controle (hexano juntamente com a planta hospedeira). Por outro lado, os machos ($P = 0,7011$) e fêmeas ($P = 0,6636$) não foram atraídos para a combinação do extrato de voláteis liberados pelas fêmeas associado à planta hospedeira.

Tabela 2. Número de insetos atraídos à diferentes fontes de odor em olfatômetro em Y.

Tratamentos		n° de insetos	
		♂	♀
Planta Hospedeira (PH) vs. Ar	Planta Hospedeira	21*	20*
	Ar	3	8
	Não responderam	4	6
	Total	28	34
Extrato do macho + PH vs. Controle	Extrato	15*	25*
	Controle	0	12
	Não responderam	7	3
	Total	22	40
Extrato da fêmea + PH vs. Controle	Extrato	12	12
	Controle	15	9
	Não responderam	3	2
	Total	30	23

PH: Planta Hospedeira (caules de soja); Controle: Hexano + PH

* $P < 0,05$; teste Binomial

Os resultados encontrados no olfatômetro forneceram a primeira evidência de que a comunicação entre *S. subsignatus* é mediada por feromônio. A atração de ambos os sexos para os extratos dos machos e não para os extratos de fêmeas indicam a presença de um feromônio de agregação produzido pelo macho desta espécie (Ambrogi & Zarbin 2008). O fato dos extratos de fêmeas em combinação com a planta hospedeira não exercerem atratividade para os coespecíficos indica que as fêmeas não liberam substâncias químicas responsáveis pelo comportamento de agregação ou sexual.

Os machos de *S. subsignatus* foram mais atraídos para o feromônio de agregação, quando comparados com as fêmeas, sugerindo que esses compostos podem ser utilizados, inicialmente, como dicas químicas pelos machos para encontrar um local apropriado para alimentação e acasalamento. Além disso, já foi observado para outros curculionídeos que fêmeas acasaladas podem não ser atraídas para o feromônio de agregação, como encontrado para *M. hemipterus* (Ramirez-Lucas et al. 1996b) e a

condição reprodutiva dos insetos testados (acasalados ou virgens) não foi controlada nos nossos experimentos.

Extratos dos machos e fêmeas foram utilizados como estímulos, pois quando são utilizados insetos vivos, alguns deles podem não liberar o feromônio durante os bioensaios, contribuindo para a variabilidade nos resultados (Ruiz-Montiel et al. 2003). Outro fator que pode influenciar a atratividade dos insetos para o feromônio é a idade do inseto. Moreira (2005) verificou que insetos recém-emergidos não apresentam atração para os compostos, enquanto que os insetos mais velhos são fortemente atraídos.

Feromônios de agregação produzidos pelos machos têm sido encontrados em várias espécies de curculionídeos, sendo geralmente utilizados para encontrar um local para alimentação e para encontrar um parceiro para o acasalamento (Bartelt 1999). É provável que o feromônio produzido por *S. subsignatus* também tenha essas mesmas funções.

4.2 Detecção de compostos macho-específicos: evidência cromatográfica de um feromônio de agregação

Em função da atividade biológica dos extratos de machos na atratividade de coespecíficos verificada nos bioensaios, foram efetuadas análises cromatográficas visando verificar a presença de compostos específicos dos machos, os quais estariam atuando na comunicação química da espécie.

Os cromatogramas dos voláteis obtidos de machos e fêmeas de *S. subsignatus* estão na figura 8 e mostram a presença de sete compostos produzidos somente pelos machos (A-G) (Ambrogi & Zarbin 2008).

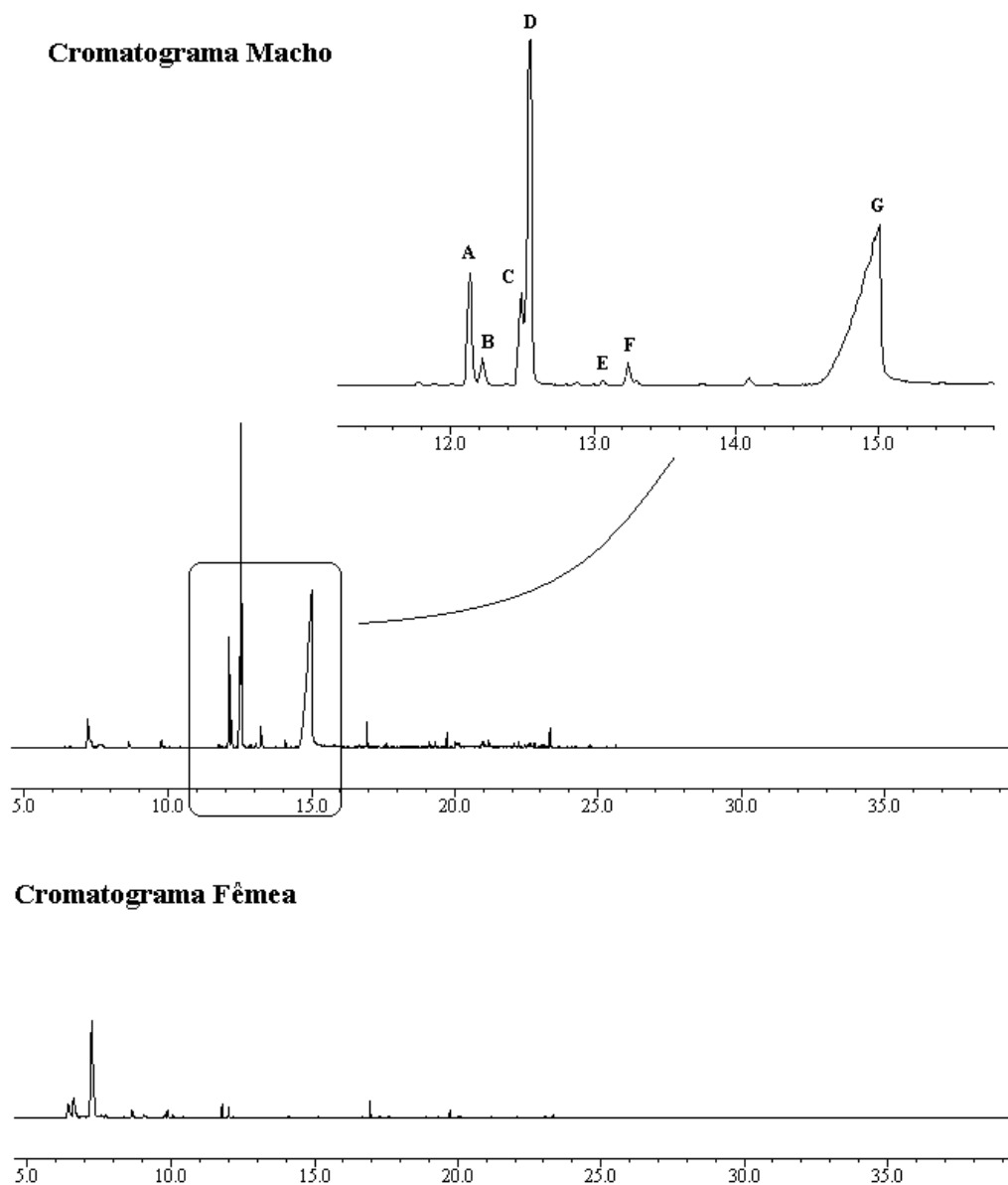


Figura 8. Análises cromatográficas dos voláteis obtidos de machos e fêmeas de *S. subsignatus*, evidenciando os sete compostos macho-específicos (A-G).

O composto **D**, com tempo de retenção (t_R) de 12,58 min e índice de retenção de Kovats (KI) igual a 1235 é o componente majoritário da mistura, seguido pelo composto **G** com t_R de 15,02 min e KI igual a 1359, composto **A** com t_R de 12,14 min e KI igual a 1213, composto **C** com t_R de 12,50 min e KI igual a 1231, composto **B** com t_R de 12,22 min e KI igual a 1217, composto **F** com t_R de 13,23 min e KI igual a 1268 e, finalmente,

o composto **E** com t_R de 13,06 min e KI igual a 1259. A razão observada entre os compostos é de 41.4: 37.3: 9.7: 7.1: 2.7: 1,6: 0,2.

4.3 Dinâmica de emissão do feromônio de agregação

A produção dos compostos feromonais em *S. subsignatus* é dependente da presença da planta hospedeira. Os insetos alimentando-se de soja liberaram significativamente mais voláteis ($2,30 \pm 0,30 \mu\text{g/inseto/dia}$) que os insetos sem o alimento ($0,09 \pm 0,01 \mu\text{g/inseto/dia}$) ($P = 0.0001$) (figura 9).

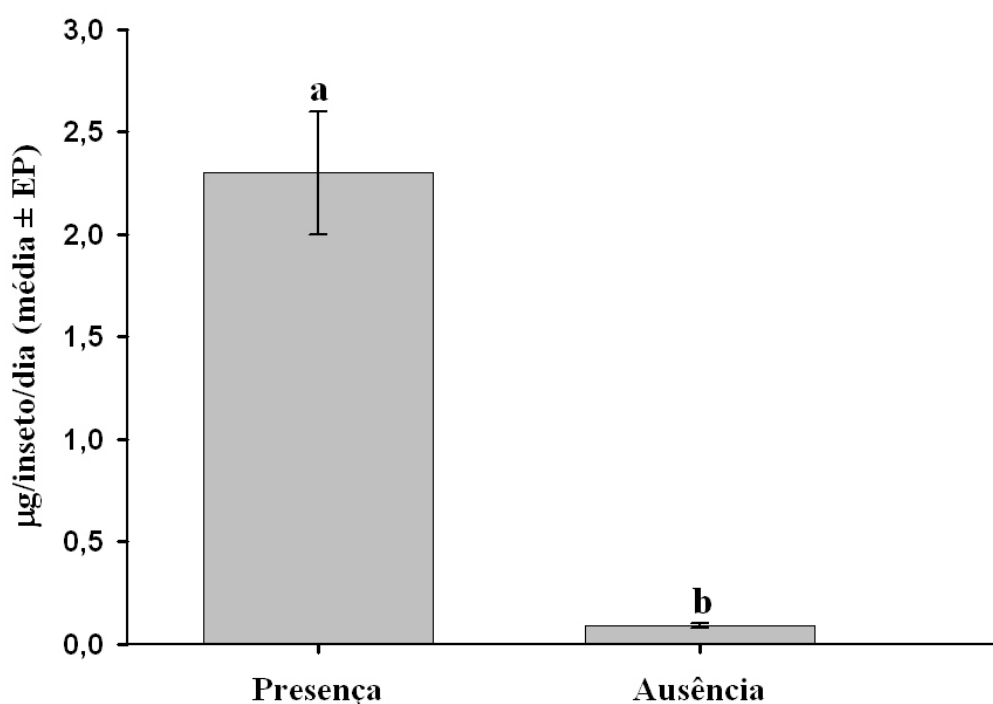


Figura 9. Emissão do feromônio de agregação por machos de *S. subsignatus* na presença e ausência da planta hospedeira (caules de soja). (n = 3) Colunas seguidas de letras distintas diferem significativamente (teste t; $P < 0,05$).

A ausência do substrato alimentar foi fator limitante para a produção dos compostos feromonais, sugerindo que o feromônio é de alguma forma derivado de seu alimento, como ocorre em muitos outros insetos desta ordem (Borden 1985). O sinergismo entre feromônio e odores da planta hospedeira tem sido reportado em muitos trabalhos (Bartelt 1999, Giblin-Davis et al. 1994, Rochat et al. 2000).

Há indicativos de que machos não liberam o feromônio de agregação na ausência da planta hospedeira, conforme demonstrado em experimento de campo com armadilhas contendo somente machos de *R. palmarum* que apresentaram baixa captura (Rochat et al. 1991a). Feromônios emitidos por insetos machos, principalmente os de agregação, são frequentemente combinações adquiridas diretamente de plantas hospedeiras ou são biossintetizados por meio de modificações de compostos sequestrados da planta hospedeira (McNeil & Delisle 1989). Além disso, mesmo que o inseto não dependa da planta para a produção dos voláteis, o conceito de feromônio de agregação diz tratar-se de substâncias químicas produzidas por um sexo para a atração de ambos os sexos para acasalamento e alimentação. Uma vez que a planta não está presente, o inseto possivelmente não irá liberar compostos responsáveis pela atração de seus coespecíficos.

A liberação dos voláteis ocorreu, principalmente, durante a fotofase ($P = 0,0002$) (Figura 10), com um período de máxima produção entre 4 a 6 h após seu início ($P = 0,0004$) (Figura 11) (Ambrogi & Zarbin 2008).

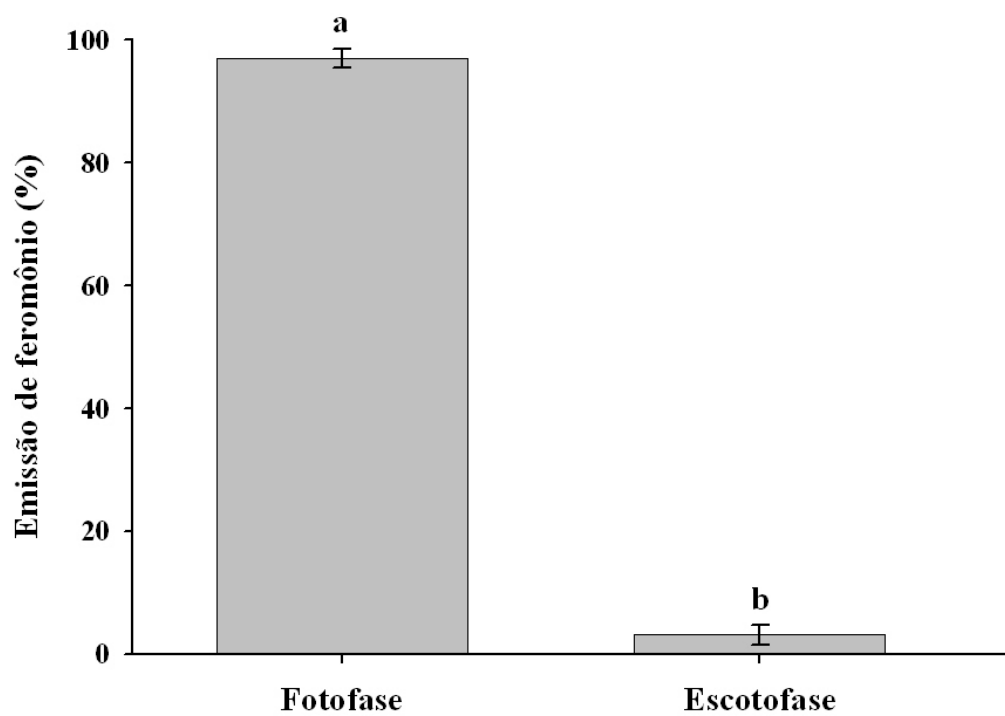


Figura 10. Emissão do feromônio de agregação por machos de *S. subsignatus* na fotofase e na escotofase. (n = 3) Colunas seguidas de letras distintas diferem significativamente (teste t; $P < 0,05$).

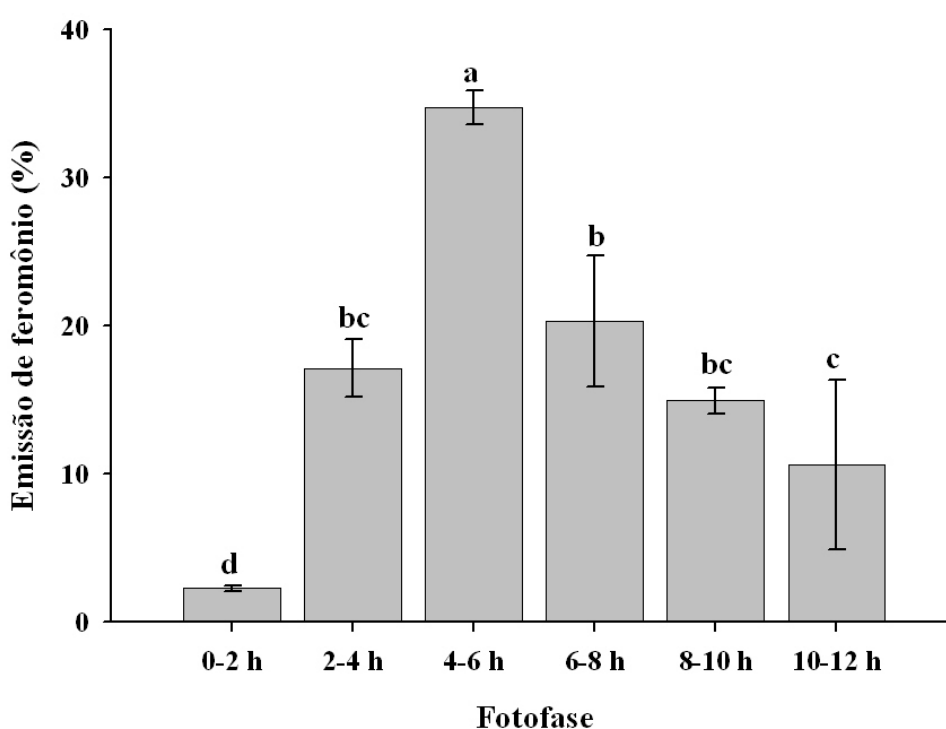


Figura 11. Emissão do feromônio de agregação por machos de *S. subsignatus* durante a fotofase. (n = 3) Colunas seguidas de letras distintas diferem significativamente (ANOVA seguido pelo teste Bonferroni; $P < 0,05$).

A liberação de feromônio durante a fotofase sugere que a atividade desse inseto é predominantemente diurna. Esse resultado coincidiu com nossas observações de campo, onde os adultos foram encontrados durante o dia, com um pico de atividade ocorrendo entre 11 h e 13 h. A influência do fotoperíodo no ritmo diário de liberação do feromônio já foi previamente estudada em *A. grandis* (Gueldner & Wiygul 1978) e em algumas espécies de escarabeídeos (Leal et al. 1993a, b).

Esses resultados diferem daqueles encontrados por Silva et al. (1998), que mostraram que os adultos de *S. subsignatus* se movimentam para o terço inferior das plantas e para o solo durante o dia, permanecendo sob os restos da cultura anterior, ou algumas vezes se enterram no solo como uma consequência da sua reação adversa à luz

do sol. Os autores também mostraram que o inseto apresenta maior atividade durante a noite, quando os riscos de desidratação são menores.

A produção, liberação e percepção dos feromônios nos insetos dependem de sua condição fisiológica e de uma ampla variedade de condições ambientais como idade, presença de feromônio de coespecíficos, condição reprodutiva, presença da planta hospedeira, temperatura, fotoperíodo, intensidade luminosa, umidade relativa, velocidade do vento e condições atmosféricas (Lima & Della Lucia 2001).

4.4 Identificação química dos compostos feromonais

Por meio das análises dos padrões de fragmentação dos compostos macho-específicos, tempo de retenção, índice de Kovats, comparações com padrões sintéticos e algumas derivatizações, as estruturas químicas dos sete compostos de *S. subsignatus* foram identificadas. O espectro de massas correspondente ao composto **A** apresentou o pico do íon molecular m/z 154 e o pico base m/z 68, indicativo de que esse se tratava de um monoterpene oxigenado (Figura 12). Por meio da análise do padrão de fragmentação [m/z (%): 154(1)M, 139(5), 109(45), 68(100)] e posterior comparação com a biblioteca NIST do aparelho, foi sugerido que o composto seria o grandisol (**2a**) (Figura 4).

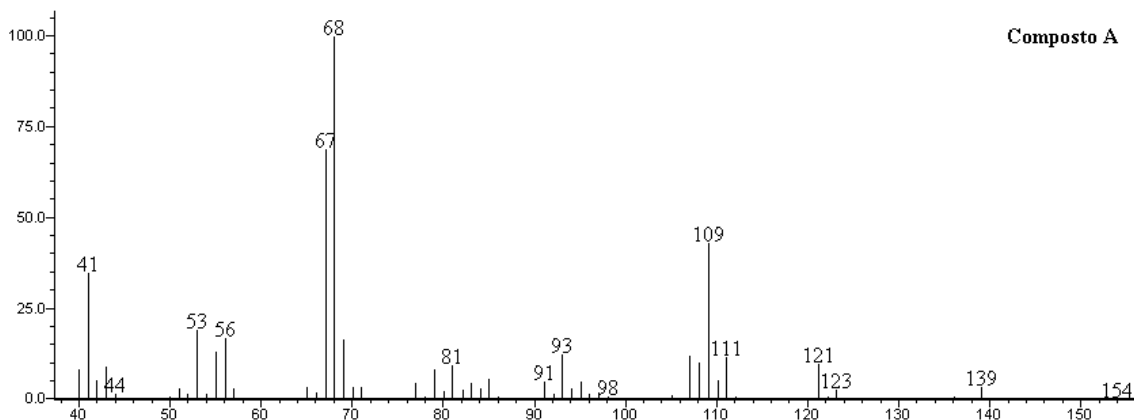


Figura 12. Espectro de massas do composto A do feromônio de agregação de *S. subsignatus*.

O grandisol é uma molécula quiral podendo, dessa forma, apresentar dois possíveis estereoisômeros, lembrando que a denominação grandisol é dada quando os substituintes dessa molécula estão em posição anti. Quando os substituintes estão na posição syn, a molécula é chamada fraganol. Para que a configuração absoluta fosse determinada, o extrato natural foi comparado por cromatografia gasosa empregando-se coluna quiral, com padrões do grandisol racêmico e do isômero (1*R*, 2*S*) (Figura 13). A comparação dessas análises estabeleceu o produto natural como sendo o isômero 2-((1*R*, 2*S*)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil)etanol (**2c**) (Figura 4).

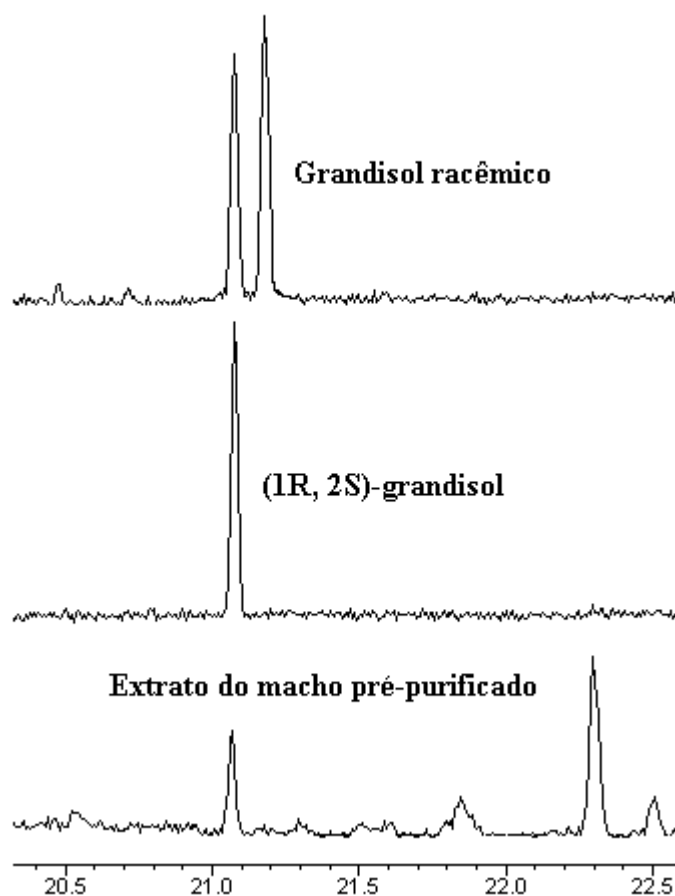


Figura 13. Análise comparativa em cromatografia gasosa para estabelecer a estereoquímica absoluta do grandisol.

O espectro de massas do composto **B** mostrou as seguintes características: [m/z (%): 154(1)M, 111(45), 109(40) e 69(100)] (Figura 14). Inicialmente, em função do padrão de fragmentação e comparação com os espectros fornecidos pela biblioteca do CG-MS, foi postulado tratar-se da estrutura do geraniol ou do nerol. Entretanto, após co-injeção com esses padrões comerciais, foi verificada diferença no tempo de retenção (Figura 15).

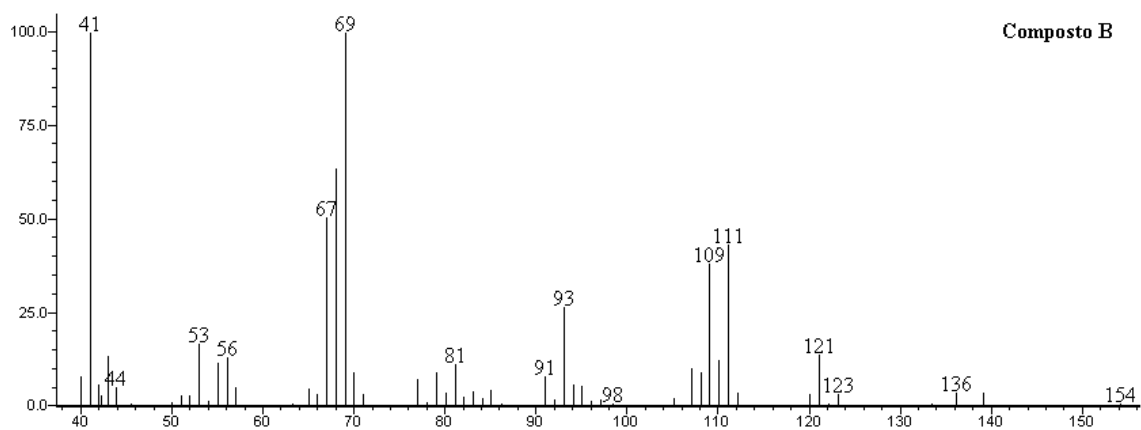


Figura 14. Espectro de massas do composto **B** do feromônio de agregação de *S. subsignatus*.

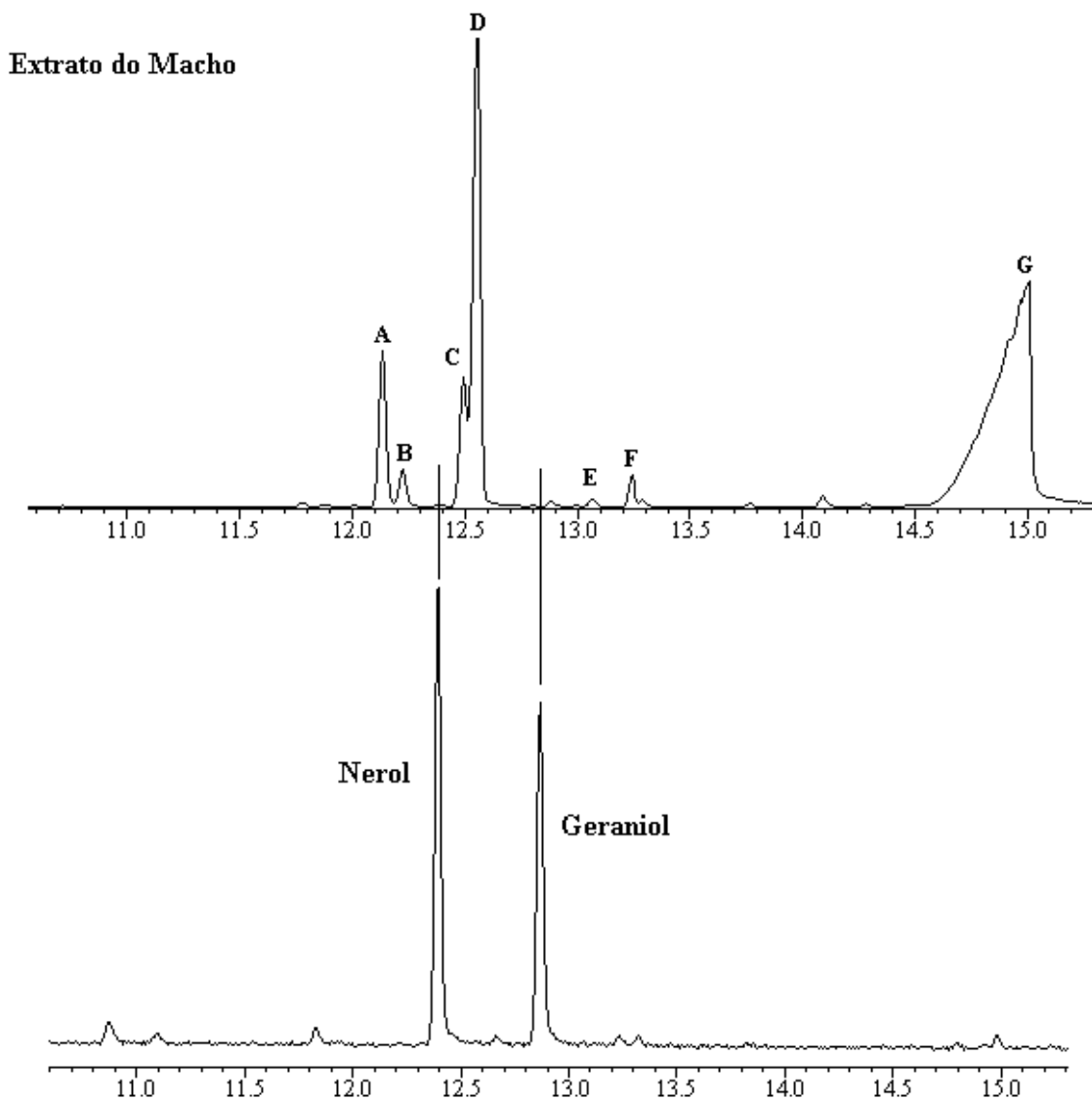


Figura 15. Comparação do tempo de retenção dos compostos sintéticos nerol e geraniol com o composto **B** presente no extrato natural dos machos de *S. subsignatus*.

Porém, devido a enorme similaridade dos espectros desses compostos com o produto natural, foi ainda testada a possibilidade de tratar-se de um outro isômero, o γ -isogeraniol. Essa possibilidade foi levantada em função desse composto ter sido postulado como possível precursor biosintético para o grandisol e outros compostos comumente encontrados em curculionídeos (Bedoukian & Wolinsky 1975). Por meio de

co-injeção com o padrão sintético foi confirmado que o composto **B** realmente tratava-se do γ -isogeraniol (Figura 21).

Posteriormente, os compostos **C** e **D** puderam ser identificados com relativa simplicidade. Os espectros de massas e tempos de retenção de ambos os compostos são bastante similares, o que indicou a possibilidade de tratar-se de isômeros (Figura 16).

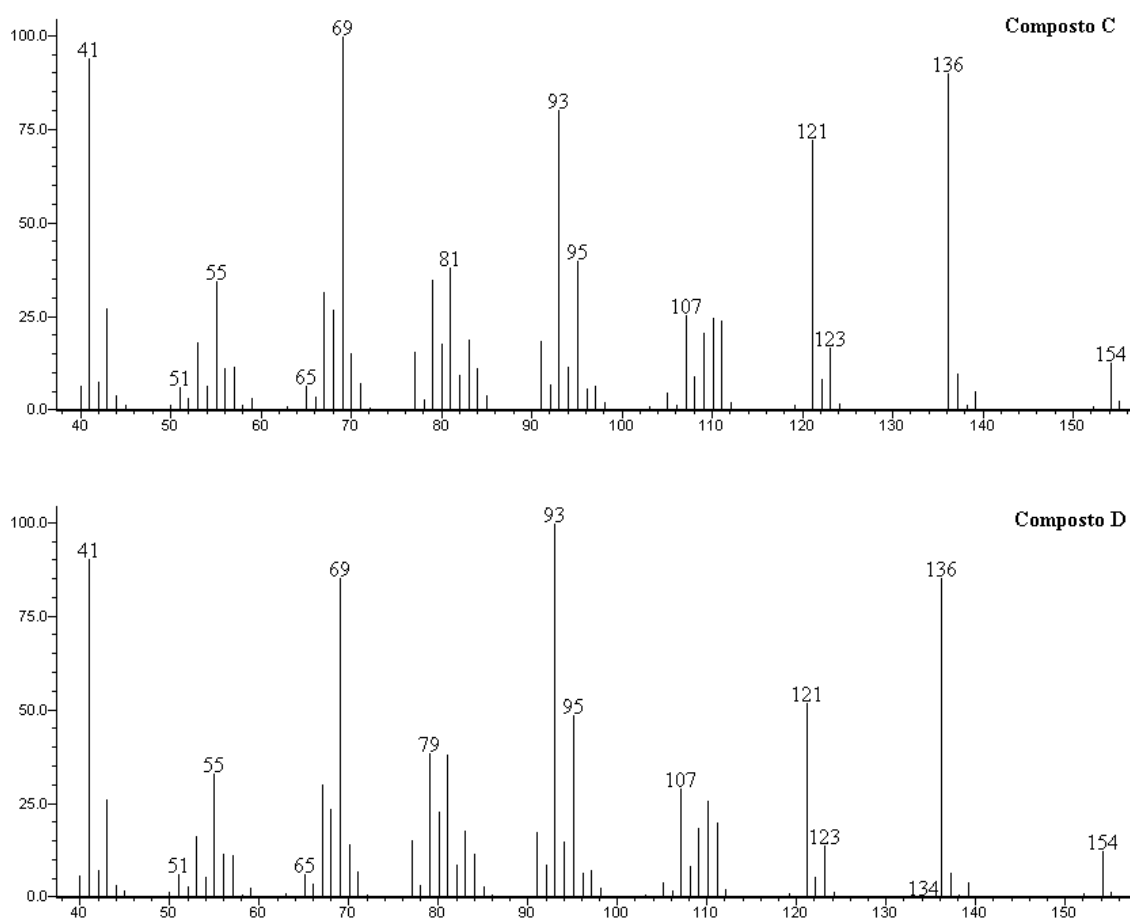


Figura 16. Espectros de massas dos compostos **C** e **D** do feromônio de agregação de *S. subsignatus*.

O padrão de fragmentação mostrou alta compatibilidade com os compostos (*Z*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol e (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol, de acordo com a biblioteca do equipamento. Co-injeções posteriores com padrões

sintéticos confirmaram indubitavelmente que as estruturas desses compostos tratavam-se realmente desses dois álcoois (**3** e **4**) (Figura 4).

Os compostos **E** e **F** também apresentaram padrões de fragmentação e tempos de retenção semelhantes. A variação em duas unidades de massas, quando comparados aos compostos anteriormente identificados (**C,D** (m/z 154) \rightarrow **E, F** (m/z 152)), sugeriu tratar-se dos respectivos aldeídos (Figura 17). Novamente, a co-injeção com padrão sintético confirma a estrutura desses compostos como sendo o (*Z*)- e (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)acetaldeído (**5** e **6**) (Figura 4).

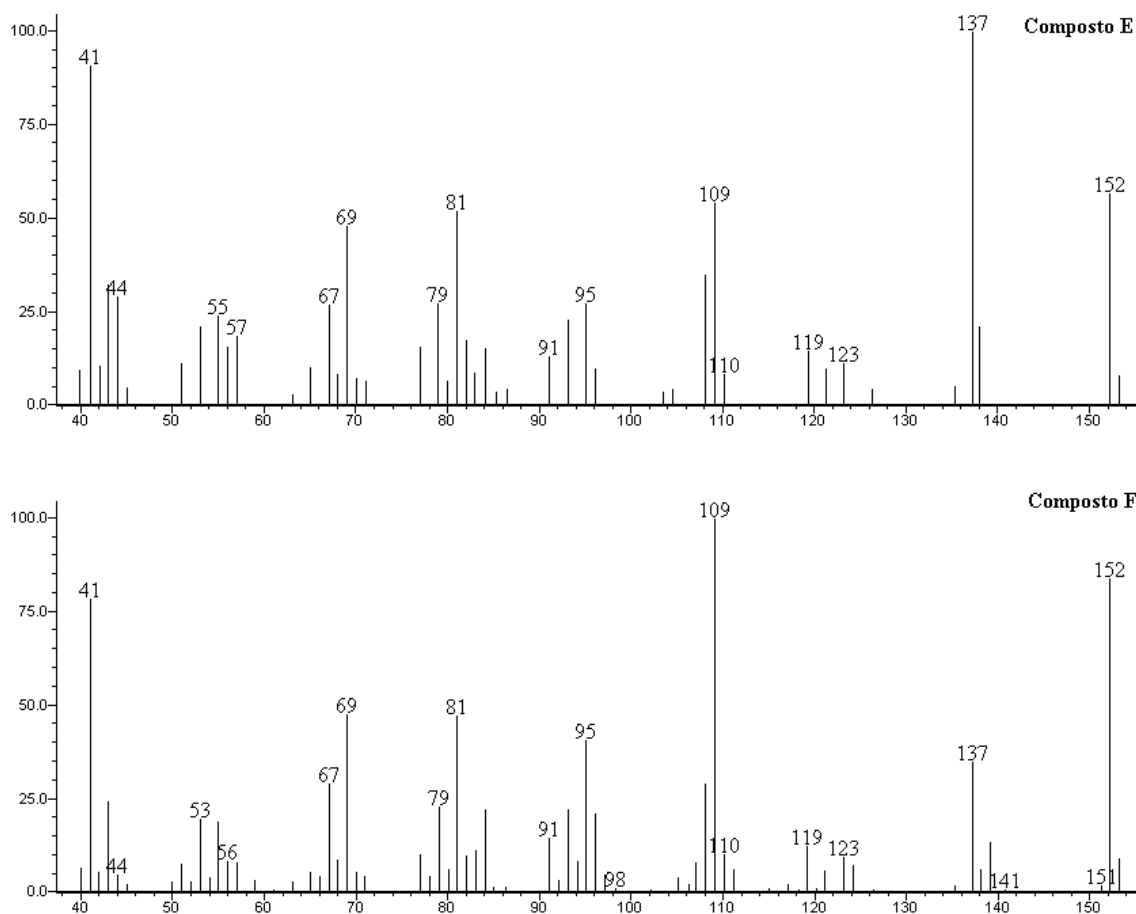


Figura 17. Espectros de massas dos compostos **E** e **F** do feromônio de agregação de *S. subsignatus*.

Para a identificação do composto **G**, a característica “alargada” do pico no cromatograma (vide Figura 8), sugeriu tratar-se de um ácido carboxílico. Com isso, inicialmente, foi pensada a possibilidade de tratar-se do ácido grandisóico, em função desse composto já ter sido identificado para *C. nenuphar*, um outro curculionídeo da mesma subfamília que *S. subsignatus* (Molytinae) (Eller & Bartelt 1996). Entretanto, após co-injeção com padrão sintético, pode ser observada uma grande diferença no tempo de retenção quando comparado ao produto natural e baixa similaridade nos espectros de massas. Ressalta-se apenas a concordância no valor do pico do íon molecular (m/z 168) (Figura 18).

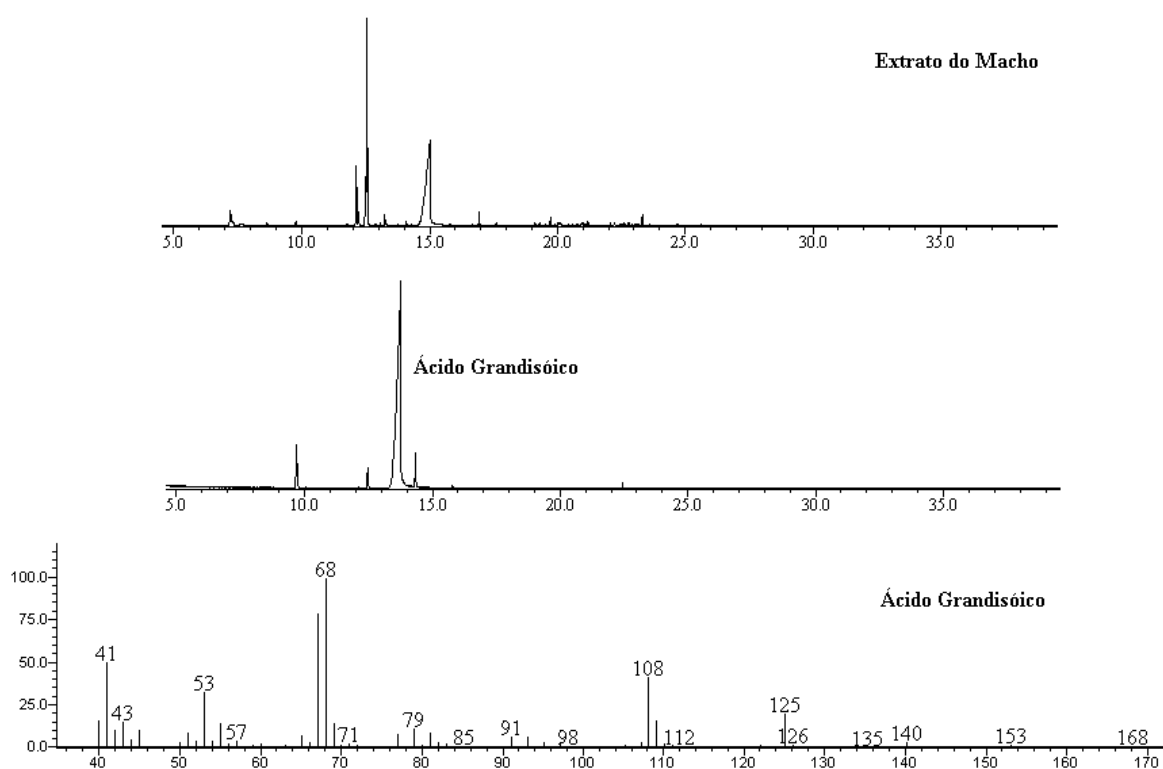


Figura 18. Comparação do tempo de retenção e do padrão de fragmentação do ácido grandisóico com o composto **G**, presente no extrato natural.

Para que um conjunto maior de informações fosse obtido sobre essa molécula, algumas derivatizações foram realizadas. Inicialmente, o suposto ácido foi esterificado com MeOH catalisado por H₂SO₄, levando a formação de um produto com pico do íon molecular m/z 182 (Figura 19), nitidamente, o respectivo éster metílico. Este éster resultante foi ainda hidrogenado sob pressão de H₂ na presença de Pd/C como catalisador, originando um novo produto com íon molecular m/z 184 (Figura 20). O pico base observado neste produto hidrogenado (m/z 74 – rearranjo de McLafferty), indicava agora que o sistema não estava conjugado, e o acréscimo em somente duas unidades de massas indicou que existia somente uma dupla ligação.

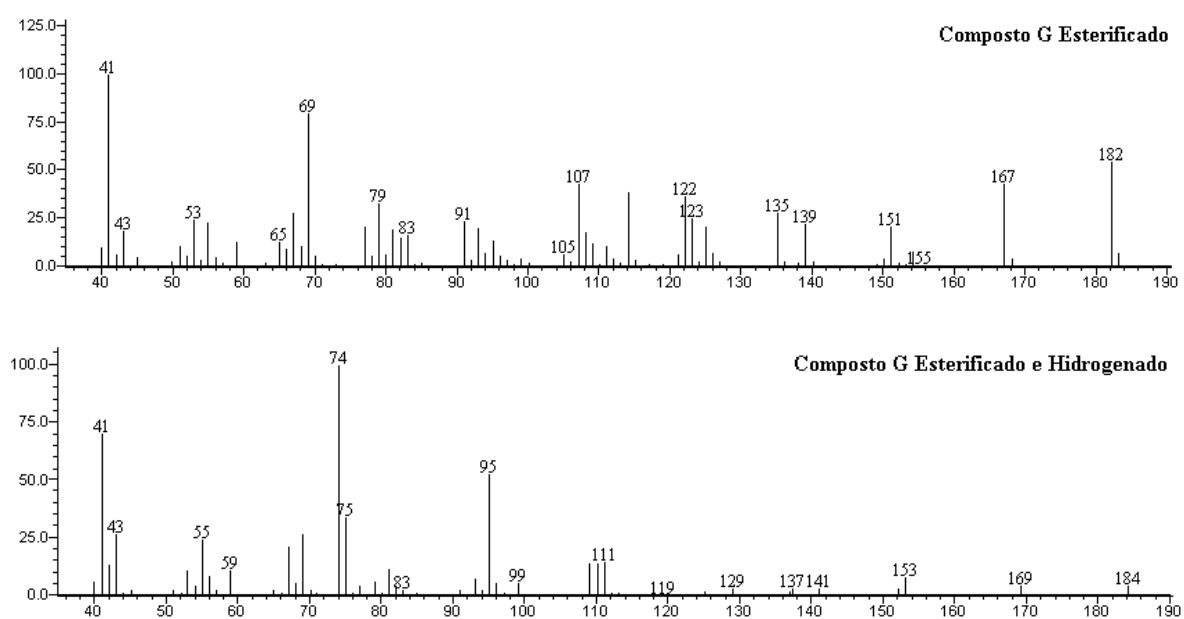


Figura 19. Espectros de massas do composto **G** após esterificação e após esterificação e hidrogenação.

Esse novo conjunto de dados possibilitou propor a estrutura desse composto como sendo provavelmente o ácido derivado dos álcoois **3** e/ou **4**. Uma mistura dos

padrões (*Z*) e (*E*) desses ácidos foi obtida por meio da reação de oxidação dos respectivos aldeídos como já foi citado anteriormente (Pepperman 1981).

O tempo de retenção do produto natural foi coincidente com o segundo pico da mistura (*Z*) e (*E*) do ácido sintético. Como os isômeros (*E*) dos respectivos álcoois (**3** e **4**) e aldeídos (**5** e **6**) sempre apresentaram tempo de retenção superior ao isômero (*Z*), nas nossas condições de análises, foi proposta a geometria (*E*) para o ácido natural. Adicionalmente, pode ser claramente visualizada uma intensidade maior do pico *m/z* 153 (M-15) para o isômero que não coincide com o tempo de retenção do ácido natural (Figura 20). Esse fato, segundo Henson et al. (1976), é explicado em função de haver maior facilidade de fragmentação do grupo CH₃ do isômero (*Z*), quando comparado ao isômero (*E*). Isso também pode ser claramente visualizado, quando comparados os espectros de massas dos isômeros (*Z*) e (*E*) dos aldeídos **E** e **F** (Figura 17).

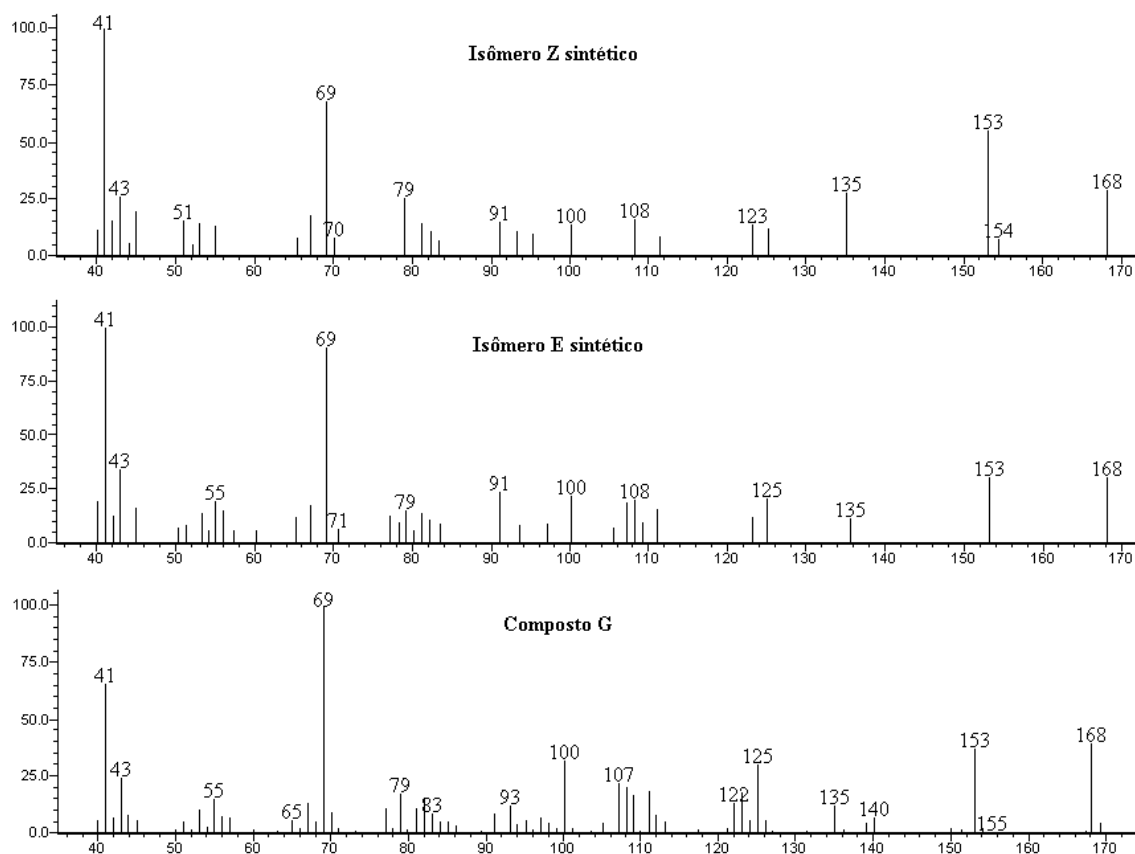


Figura 20. Espectros de massas dos isômeros *Z* e *E* e do composto **G** do feromônio de agregação de *S. subsignatus*

Com isso, a estrutura do composto macho-específico remanescente foi estabelecida como sendo o ácido (*E*)- 2-(3,3-dimetilciclohexilideno)acético (**G**) (Figura 21). É a primeira vez que esse composto é descrito como um produto natural. Ele já havia sido citado anteriormente, mas como um produto de decomposição do grandlure, a mistura dos compostos do feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro, *A. grandis* (Henson et al. 1976).

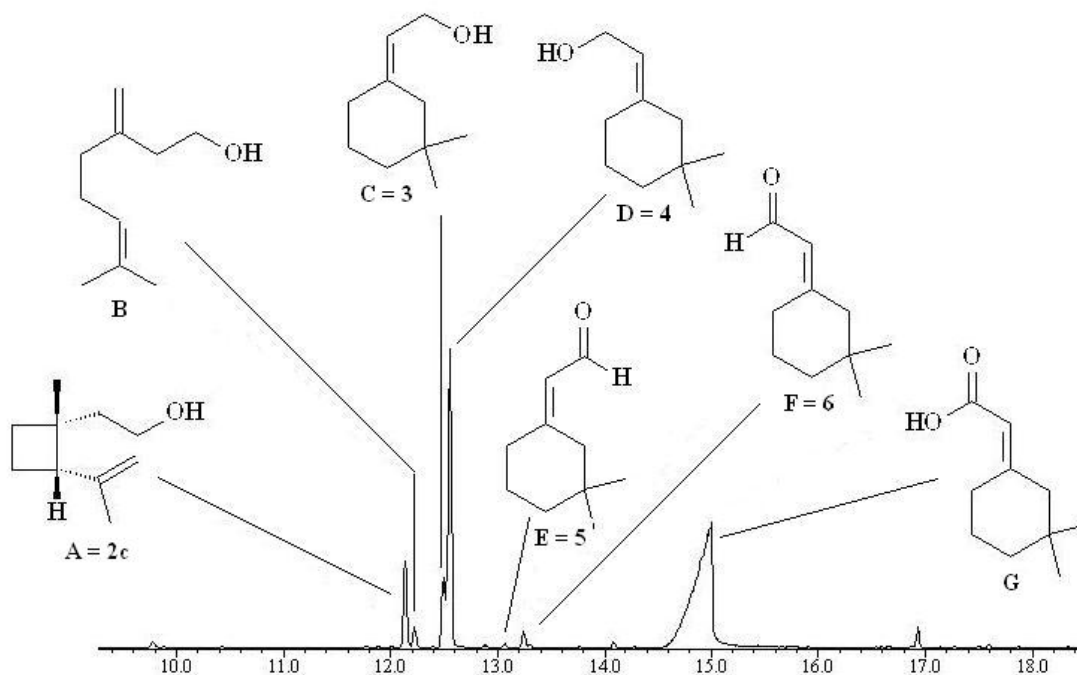


Figura 21. Identificação estrutural dos sete compostos produzidos somente pelos machos de *S. subsignatus*.

Com exceção dos compostos **B** e **G**, os outros cinco componentes dos sete identificados para *S. subsignatus* já foram descritos como componentes do feromônio de agregação de outros curculionídeos, como *P. obesus* (Zarbin et al. 2007), *A. eugenii* (Eller et al. 1994), *A. grandis* (Tumlinson et al. 1969), *A. rubi* (Innocenzi et al. 2001), *C. caryae* (Hedin et al. 1997), *B. punctiventris* (Tóth et al. 2007) e *Pissodes* spp. (Booth et al. 1983, Philips et al. 1984).

4.5 Avaliação da atividade biológica dos compostos sintéticos

A resposta comportamental de machos e fêmeas de *S. subsignatus* para algumas combinações dos compostos sintéticos está demonstrada na Tabela 3. Tanto os machos ($P = 0,01$) como as fêmeas ($P = 0,03$) foram significativamente mais atraídos para o

composto majoritário do que para o controle. As avaliações das duas combinações com os compostos sintéticos não apresentaram diferenças significativas na atratividade de coespecíficos quando comparadas ao controle ($P > 0,05$).

Tabela 3. Resposta de machos e fêmeas de *Sternechus subsignatus* para os compostos sintéticos em olfatômetro em Y.

Tratamentos		nº de insetos	
		♂	♀
Composto 4 + PH vs. Controle	Composto	16*	17*
	Controle	4	6
	Não responderam	23	15
	Total	43	38
Composto 4 + 2a + PH vs. Controle	Mistura	7	8
	Controle	16	19
	Não responderam	3	4
	Total	26	31
Composto 4 + 2a + 3 + PH vs. Controle	Mistura	30	39
	Controle	29	30
	Não responderam	39	21
	Total	98	90

PH: Planta Hospedeira (caules de soja); Controle: Hexano + PH

* $P < 0,05$; teste Binomial

Esses resultados indicam que o composto majoritário é o principal responsável pela atratividade dos coespecíficos. Um ponto contraditório é o fato do composto majoritário não ser atrativo quando os demais compostos foram adicionados. 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 que apresentam sistema feromonal multi-componente. O uso de uma mistura parcial dos componentes feromonais pode criar um desbalanço nos sensores, o que pode prejudicar a habilidade do receptor em decifrar corretamente as informações contidas nas moléculas (Flint & Merkle 1983).

Outra possível resposta para a não atratividade dos insetos para as misturas é a estereoquímica do grandisol. Os testes foram feitos com a forma racêmica e, como foi descrito acima, *S. subsignatus* produz somente um dos isômeros, o (1*R*, 2*S*). Apesar de ser comum nos insetos o fato de somente um enantiômero ser bioativo e o enantiômero oposto não inibir a atividade do estereoisômero ativo (Corrêa 2007), já foi visto em alguns insetos, como para o besouro japonês *Popillia japonica* Newman (Coleoptera: Scarabaeidae) que somente o enantiômero (*R*) é bioativo e que o (*S*) inibe fortemente a atividade (Tumlinson et al. 1977). Possivelmente *S. subsignatus* exibe esse tipo de relação, onde somente um dos isômeros é bioativo e o isômero oposto presente na mistura racêmica esteja inibindo a resposta ao feromônio.

Vários trabalhos têm demonstrado a importância da quiralidade dos compostos na percepção do feromônio pelos insetos (Mori 1998). Os insetos utilizam a quiralidade para enriquecer seu sistema de comunicação e os avanços nessa área têm ajudado na elucidação estrutural de feromônios de vários insetos de importância econômica (Corrêa 2007).

Além desses fatores, outra possível explicação para a não atratividade das misturas binária e ternária é que apesar de ter sido identificado sete compostos macho-específicos, não foi determinada qual a função individual de cada um desses compostos. Já foi observado para alguns escolitídeos que quando esses insetos atingem uma densidade de ataque máxima, eles começam a liberar alguns compostos anti-agregativos, inibindo a atração de coespecíficos (Bedard et al. 1980, Tilden et al. 1981). Pode ser que alguns desses compostos tenham essa função em *S. subsignatus*, impedindo, dessa maneira a atração dos insetos.

Cabe ainda ressaltar que não foram feitos testes com a mistura completa em função da dificuldade de obtenção em maior escala em laboratório do γ -isogeraniol (**B**) e do isômero (*E*) puro do ácido **G**.

4.6 Teste de Campo

As armadilhas colocadas no campo não capturaram nenhum inseto. O insucesso do feromônio de agregação no campo pode ser atribuído a uma combinação de vários fatores, merecendo destaque a composição química. Nenhum dos tratamentos testados utilizou a mistura completa, devido ao fato de não ter sido possível sintetizar dois dos compostos em maior quantidade no laboratório, como mencionado anteriormente. Um desses compostos é o ácido **G**, que é o segundo composto liberado em maior quantidade pelo inseto (vide Figura 8). Esse composto deve ser um fator limitante à atratividade dos insetos nas condições de campo. Existem vários trabalhos demonstrando a importância da proporção e da relação precisa dos compostos múltiplos. Experimentos de campo com *R. obscurus*, de uma população da Austrália, mostraram que houve maior captura nas armadilhas que continham 3 compostos, sugerindo que existe a necessidade de dois ou mais compostos para aumentar a atratividade das armadilhas (Giblin-Davis et al. 2000).

Outro fator que pode interferir na atratividade dos insetos ao feromônio é a presença da planta hospedeira. Testes de campo realizados para *R. cruentatus* demonstraram que somente foram atrativas as armadilhas que continham o feromônio juntamente com a planta hospedeira (Weissling 1993). Nos nossos experimentos apesar de ter sido adicionado talos de soja dentro da armadilha, as plantas estavam somente

com vinte e dois dias de idade e rapidamente murchavam, o que também pode ter interferido nos resultados.

Experimentos realizados com *Hylotrupes bajulus* L. (Coleoptera: Cerambycidae) demonstraram a importância do tipo e da cor da armadilha na captura dos insetos (Reddy 2007). Trabalhos com *R. palmarum* demonstraram que armadilhas colocadas no solo capturaram mais insetos que armadilhas suspensas a 1,1 ou 3,3 m do solo (Oehlschlager et al. 1993). Moreira (2005) também verificou que armadilhas posicionadas a 1,5 m do solo, presas às plantas hospedeiras, capturaram mais insetos do que aquelas no nível do solo. A observação do comportamento do inseto, como acasalamento, vôo e local onde ocorre a cópula é fundamental para assegurar o melhor local para instalação das armadilhas (Bento 2001).

Outro fator importante para que o comportamento dos insetos seja expresso plenamente é a isomeria geométrica e óptica das moléculas. Da mesma maneira que nos testes em laboratório, também foi utilizado no teste de campo a forma racêmica do grandisol. Nesse sentido, foi observado para a broca-do-tronco-da-pereira, *Gnathotricus sulcatus* LeConte (Coleoptera: Scolytidae), que responde somente à mistura de 65% do isômero (*S*)-(+)-sulcatol e 35% do isômero (*R*)-(-)-sulcatol e não responde a nenhum dos enantiômeros isoladamente (Borden et al. 1976). Já uma outra espécie do mesmo gênero, *Gnathotricus retusus* LeConte (Coleoptera: Scolytidae), importante praga nas florestas de coníferas da Costa do Pacífico Norte, é sensível apenas ao isômero *S* do seu feromônio e a resposta é inibida pela ação do *R* (Belan et al. 1987). Para insetos que possuem esse tipo de relação há necessidade de métodos de síntese com alta pureza enantiomérica para assegurar a captura de insetos nas armadilhas (Corrêa 2007).

Outro ponto importante observado no teste foi a baixa densidade populacional de adultos de *S. subsignatus* no campo quando o experimento foi montado, o que também

pode ter influenciado na captura dos insetos. Segundo Wall (1990), uso de formulações não ideais, taxa de liberação inadequada, tipo de armadilha, localização da armadilha na planta hospedeira e as condições ambientais podem comprometer a atratividade dos compostos feromonais e resultar em baixa eficiência na captura dos insetos.

Os resultados do teste de campo obtidos nesse estudo demonstram que existe necessidade de novos experimentos avaliando as várias hipóteses levantadas nesse trabalho.

4.7 Implicação taxonômica

A partir da revisão realizada na introdução desse trabalho foi possível verificar que estudos relacionados à identificação de feromônios em insetos podem ser explorados não somente na síntese dos compostos para utilização no MIP. Esses estudos podem também contribuir para o melhor esclarecimento dos grupos taxonômicos, em especial na família Curculionidae, uma vez que já existem muitas espécies com feromônio identificado.

Os curculionídeos das subfamílias Conoderinae, Curculioninae, Lixinae e Molytinae tendem a produzir monoterpenóides cíclicos como componentes feromonais (ex: grandisol **2a**, *Z*- e *E*-octodenol **3** e **4** e os aldeídos correspondentes **5** e **6**). Dentro da família Curculionidae, derivados de cicloexalidenos foram primeiramente verificados como compostos do feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro *A. grandis*. Os compostos **5** e **6**, presentes no feromônio de *A. grandis* também estão presentes na mistura feromonal de *A. eugenii*, *B. punctiventris* e *C. caryae*. A presença das substâncias **5** e **6** também foi demonstrada em voláteis produzidos por machos de *A. rubi*, entretanto, nessa espécie não foi atribuída atividade biológica para esses

compostos. A atratividade dos compostos **5** e **6** sugere a importância das estruturas cicloexalideno na comunicação química entre as espécies dessas subfamílias.

A maioria dos compostos identificados para *S. subsignatus* no presente trabalho já foi encontrada em outros curculionídeos das subfamílias Conoderinae, Curculioninae, Lixinae e Molytinae, encaixando-se dentro desta mesma tendência de compostos derivados de monoterpenos cíclicos. Já os insetos da subfamília Dryophthorinae e Entiminae, incluindo *D. borassi*, *M. hemipterus*, *R. obscurus*, seis espécies de *Rhynchoporus*, *S. acupunctatus*, três espécies de *Sitophilus*, *S. levis* e *S. lineatus* produzem álcoois secundários contendo de 5 a 10 carbonos com ramificações metílicas, provavelmente derivados de ácidos graxos, exceto para *C. sordidus*, onde 6 diastereoisômeros de um novo cetol bicíclico (sordidina) foram identificados como componentes feromonais. Além dos álcoois, algumas cetonas também são encontradas nos feromônios de algumas espécies dentro dessas subfamílias.

Portanto, os compostos feromonais identificados para as espécies mostram uma relação estrutural em concordância com a taxonomia da subfamília correspondente. Nesse contexto, foi proposta uma chave de identificação apresentada a seguir, tentando estabelecer agrupamentos, com base nos feromônios de agregação já conhecidos. A chave foi elaborada por Rosado-Neto, especialista em taxonomia de Curculionidae e inclui apenas as subfamílias cujos feromônios são conhecidos e estudados. Os caracteres morfológicos são os tradicionalmente conhecidos através da literatura taxonômica pertinente à família, como por exemplo, o trabalho mais recente sobre os Curculionoidea sul-americanos de Marvaldi e Lanteri (2005). Trata-se de uma proposta que certamente será ampliada no futuro, baseada na identificação de novos compostos que permitirão um refinamento na elaboração da chave de identificação.

- 1- Escrobo curto; escapo antenal em repouso não se alojando dentro do escrobo; funículo antenal com 6 ou menos artículos; clava cônico-truncada, com suturas não visíveis e porção basal glabra e brilhante. Pigídio exposto. Componentes feromonais formados principalmente por álcoois secundários e cetonas contendo 5 a 10 átomos de carbonos com ramificações metílicas (exceto para *Cosmopolites sordidus*).....**Dryophthorinae**
- 1'- Escrobo alongado, dirigido mais ou menos em direção ao olho ou curvado para a face ventral do rosto; escapo antenal em repouso alojando-se dentro do escrobo; clava antenal compacta, oblongo-oval ou subcilíndrica, com 3-4 artículos pubescentes e suturas distintas. Pigídio exposto ou não. Componentes feromonais formados por monoterpenóides cíclicos (exceto para Entiminae).....**2**
- 2- Rosto robusto, curto e grosso; escapo antenal normalmente ultrapassando a margem anterior do olho; largura da frente maior que a largura do olho. Premento cobrindo as maxilas ao menos parcialmente; mandíbulas largas e com cicatriz deixada pelo processo decidual, com superfície dorsal revestida por cerdas e/ou escamas**Entiminae**
- 2'- Rosto alongado, subcilíndrico, quase sempre curvo; escapo antenal dirigido em direção ao olho ou para baixo do olho, mas não ultrapassando a orbital anterior; largura da frente menor que a largura do olho. Premento não cobrindo as maxilas; mandíbulas menos largas, sem processo decidual, com superfície dorsal glabra, sem escamas e no máximo com 1 ou 2 cerdas.**3**

- 3 - Palpos labiais curtos e telescopados, aparentemente com 1 segmento; metepimero visível; garras tarsais conatas na base. Corpo cilíndrico e mais ou menos alongado.**Lixinae**
- 3' - Palpos labiais alongados, não telescopados, com 3 segmentos; metepimero não visível, oculto sob as margens dos élitros; garras tarsais simples, livres ou apendiculadas, raramente conatas.**4**
- 4 - Canal prosternal presente, ao menos até a margem posterior do prosterno. Olhos grandes, ocupando a maior parte da cabeça, quase sempre contíguos na frente e inteiramente exposto quando o rostro está em repouso no canal prosternal. Mesepimero ascendente. Abdome (visto de perfil) ascendente da base até o ápice dos élitros. Tíbias posteriores com unco bem desenvolvido.**Conoderinae**
- 4' - Canal prosternal ausente; se presente, raso e restrito à porção anterior do prosterno; neste caso os olhos são total ou parcialmente cobertos pelos lobos pós-oculares. Olhos menores, arredondados ou longitudinalmente ovais, subcontíguos. Mesepimero não ascendente. Abdome (visto de perfil) não ascendente da base ao ápice dos élitros. Tíbias posteriores com mucro normal, premucro quase sempre presente, raramente com unco.**5**

5 - Canal prosternal ausente; neste caso, garras tarsais simples, livre (Pissodini) ou conatas (Sternechini) ou canal prosternal raso e presente apenas na porção anterior do prosterno; neste caso garras tarsais apendiculadas (Conotrachelini).....**Molytine**

5' - Canal prosternal sempre ausente; neste caso as garras tarsais apendiculadas, e mandíbulas com movimento horizontal (Anthonomini) ou com movimento vertical (Curculionini).....**Curculioninae**

5. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para a obtenção do feromônio de agregação sintético de um determinado inseto são necessárias várias etapas. No presente trabalho foram desenvolvidas as etapas de evidência, identificação estrutural e testes comportamentais.

Foi possível verificar que a comunicação entre *S. subsignatus* adultos é mediada por feromônio de agregação, produzido pelos machos, atraindo tanto machos como fêmeas no laboratório.

A emissão dos compostos é dependente da presença da planta hospedeira (caules de soja) e ocorre durante a fotofase, com pico de emissão entre 4 e 6 h após o seu início.

Foram detectados sete compostos nos extratos de machos, que constituem os componentes feromonais dessa espécie. Os sete compostos macho-específicos foram identificados como o (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol, 2-((1*R*, 2*S*)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil)etanol (grandisol), γ -isogeraniol, (*Z*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol, (*Z*)- e (*E*)- 2-(3,3-dimetilciclohexilideno)acetaldeído e o ácido (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)acético. O estereoisômero natural do grandisol é o (1*R*, 2*S*).

Nas condições testadas, somente o composto majoritário sintético foi atrativo em laboratório. Os testes de campo com armadilhas contendo diferentes combinações dos compostos sintéticos, não foram eficientes na captura dos insetos.

O potencial deste feromônio é evidente, mas existe necessidade de futuros estudos para investigar o seu uso no monitoramento e controle dessa importante praga. Portanto, os próximos passos no estudo do feromônio de *S. subsignatus* são: (a) determinar a melhor combinação entre os compostos para uma atração efetiva dos insetos; (b) determinar a dose ideal de feromônio a ser utilizada no liberador; (c)

determinar a melhor armadilha para captura desses insetos; (d) testar qual altura, cor, formato e tamanho ideal de armadilha que permite uma maior captura dos insetos; (e) verificar a razão sexual dos insetos capturados; (f) determinar o número de armadilhas a serem utilizadas por área; (g) estabelecer a relação estereoquímica-atividade biológica e (h) conhecer quais são os caimônios liberados pela planta hospedeira que estão envolvidos no processo de comunicação de *S. subsignatus*.

Esses resultados permitirão que sejam desenvolvidas técnicas de monitoramento e coleta massal, que possam ser adicionadas no manejo integrado dessa praga, contribuindo para a redução dos custos de produção e principalmente para a manutenção da qualidade ambiental.

Um sistema de detecção dos adultos de *S. subsignatus* por meio de armadilhas contendo feromônio em plantações de soja, será importante para prever a ocorrência da praga e tornar seu controle mais econômico e efetivo, racionalizando o controle químico e preservando os inimigos naturais, podendo ainda auxiliar nas atividades de monitoramento e indicar as primeiras infestações desses insetos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albajes, R., Konstantopoulou, M., Etchepare, O., Eizaguirre, M., Frérot, B., Sans, A., Krokos, F., Améline, A. & Mazomenos, B. 2002. Mating disruption of the corn borer *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) using sprayable formulations of pheromone. *Crop Prot.* 21: 217-225.
- Alonso-Zarazaga, M.A. & Lyal, C.H.C. 1999. A world catalogue of families and genera of Curculionoidea (Insecta: Coleoptera) (Excepting Scolytidae and Platypodidae). *Entomopraxis*, Barcelona, Spain, 315 p.
- Ambrogi, B.G. & Zarbin, P.H.G. 2008. Aggregation pheromone in *Sternechus subsignatus* (Coleoptera: Curculionidae): olfactory behaviour and temporal pattern of emission. *J. Appl. Entomol.* 132: 54-58.
- Aquino, I.S., Ramalho, F.S., Jesus, F.M.M., Guevara, L.A.C. & Hardee, D.D. 1986. Eficência de armadilhas de feromônio novas e usadas na captura do bicudo-do-algodoeiro. *Pesq. Agrop. Brasil.* 21: 817-821.
- Ayres, M., Ayres, M. Jr., Ayres, D.L. & Santos, A.S. 2003. *BioEstat 3.0 Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. Sociedade Civil Mamirauá, Belém, Brasil, 290 p.
- Baker, T.C. & Lin, C.E. 1984. Wind tunnels in pheromone research, pp. 75-110. In: Hummel, H.E. & Miller, T.H. (eds.) *Techniques in pheromone research*, Springer-Verlag, New York, USA.

- Barry, R.M. 1947. Costs of insect damage. *Pecan South* 1: 33.
- Bartelt, R.J. 1999. Weevils, pp. 91-112. In: Hardie J. & Minks A.K. (eds.) *Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants*, CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Beauhaire, J., Ducrot, P-H., Malosse, C., Rochat, D., Ndiege, I.O. & Otieno, D.O. 1995. Identification and synthesis of sordidin, a male pheromone emitted by *Cosmopolites sordidus*. *Tetrahedron Lett.* 36: 1043-1046.
- Beavers, J.B., McGovern, T.P. & Adler, V.E. 1982. *Diaprepes abbreviatus*: Laboratory and field behavioral and attractancy studies. *Environ. Entomol.* 11: 436-439.
- Bedard, W.D., Wood, D.L., Tilden, P.E., Lindahl, K.Q. Jr, Silverstein, R.M. & Rodin, J.O. 1980. Field response of the western pine beetle and one of its predators to host- and beetle produced compounds. *J. Chem. Ecol.* 6: 625-641.
- Bedoukian, R.H. & Wolinsky, J. 1975. A biogenetic-type synthesis of the cyclohexyl constituents of the boll weevil pheromone. *J. Org. Chem.* 40: 2154-2156.
- Belan, A., Bolte, J., Fauve, A., Gourcy, J.G. & Veschambre, H. 1987. Use of biological systems for the preparation of chiral molecules. 3. Application in pheromone synthesis: preparation of sulcatol enantiomers *J. Org. Chem.* 52: 256-260.

- Bento, J.M.S. 2001. Fundamentos do monitoramento, da coleta massal e do confundimento de insetos-praga, pp. 135-144. In: Vilela, E.F. & Della Lucia, T.M.C. (eds), Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação. Editora Holos, Ribeirão Preto.
- Blight, M.M., Pickett, J.A., Smith, M.C. & Wadhams, L.J. 1984. An aggregation pheromone of *Sitona lineatus*: identification and initial field studies. *Naturwissenschaften* 71: 480.
- Blight, M.M. & Wadhams, L.J. 1987. Male-produced aggregation pheromone in pea and bean weevil, *Sitona lineatus* (L.). *J. Chem. Ecol.* 13: 733-739.
- Booth, D.C. & Lanier, G.N. 1974. Evidence of an aggregation pheromone in *Pissodes approximatus* and *P. strobi*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 67: 992-994.
- Booth, D.C., Phillips, T.W., Claesson, A., Silverstein, R.M., Lanier, G.N. & West, J.R. 1983. Aggregation pheromone components of two species of *Pissodes* weevil (Coleoptera: Curculionidae): isolation, identification, and field activity. *J. Chem. Ecol.* 9: 1-12.
- Borden, J.H. 1985. Aggregation pheromones, pp. 257-285. In: Kerkut, G.A. & Gilbert, L.I. (eds.). *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*, Vol. 9. Pergamon Press, Oxford.

- Borden, J.H., Ghong, L., McLean, J.A., Slessor, K.N. & Mori, K. 1976. *Gnathotricus sulcatus*: synergistic response to enantiomers of the aggregation pheromone sulcatol. *Science* 192: 894-896.
- Budenberg, W.J., Ndiege, I.O. & Karago, F.W. 1993. Evidence for volatile male-produced pheromone in banana weevil *Cosmopolites sordidus*. *J. Chem. Ecol.* 19: 1905-1916.
- Chambers, J., Van Wyk, C.B., White, P.R., Gerrard, C.M. & Mori, K. 1996. Grain weevil. *Sitophilus granarius* (L.): antennal and behavioral responses to male-produced volatiles. *J. Chem. Ecol.* 22: 1639-1654.
- Chang, V.C.S. & Curtis, G.A. 1972. Pheromone production by the New Guinea sugarcane weevil. *Environ. Entomol.* 1: 476-481.
- Corrêa, A.G. 2007. Feromônios: Conceito e aplicação no controle de pragas, pp. 19-39. In: Corrêa, A.G. & Vieira, P.C. (orgs.) *Produtos Naturais no controle de insetos*, 2º ed. Série de Textos da Escola de Verão em Química, Vol. III. EdUFSCar, São Carlos – SP.
- Corrêa-Ferreira, B.S. 1993. Utilização do parasitóide de ovos *Trissolcus basal* (Wollaston) no controle de percevejos da soja. EMBRAPA Soja, Circular Técnica, 11.

- Cross, J.V. & Easterbrook, M.A. 1998. Integrated management of flower pests of strawberry. IOBC/WPRS Bull. 21: 81-87.
- Cruz, C. & Segarra, A. 1992. Potential for biological control of crop pests in the Caribbean. Fla. Entomol. 75: 400-408.
- Daly, H.V., Doyen, J.T. & Ehrlich, P. 1978. Introduction to insect biology and diversity. New York, Mc Graw-Hill Book Co., 564 p.
- Duarte, A.G., Lima, I.S., Navarro, D.M.A.F. & Sant'Ana, A.E.G. 2003. Captura de *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) em armadilhas iscadas com o feromônio de agregação e compostos voláteis de frutos do abacaxi. Rev. Bras. Frutic. 25: 81-84.
- Eller, F.J. & Bartelt, R.J. 1996. Grandisoic acid, a male-produced aggregation pheromone for the plum curculio, *Conotrachelus nenuphar*. J. Nat. Prod. 59: 451-453.
- Eller, F.J., Bartelt, R.J., Shasha, B.S., Schuster, D.J., Riley, D.G., Stansly, P.A., Mueller, T.F., Shuler, K.D., Johnson, B., Davis, J.H. & Sutherland, C.A. 1994. Aggregation pheromone for the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae). J. Chem. Ecol. 20: 1537-1555.
- Elmore, J.C., Davis, A.C. & Campbell, R.F. 1934. The Pepper Weevil. USDA. Technical Bulletin 447. 27 p.

Embrapa 2009. A soja. <http://www.cnpso.embrapa.br/>

Favero, S., Salgado, L.O., Vilela, E.F. & Pili, R.A. 1993. Resposta olfativa de *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) ao feromônio sintético de agregação sitofilure. An. Soc. Entomol. Brasil. 22: 427-432.

Flint, H.M. & Merkle, J.R. 1983. Pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae): communication disruption by pheromone composition imbalance. J. Econ. Entomol. 8: 521-523.

Gallo, D., Nakano, O., Silveira Neto, S., Carvalho, R.P.L., Baptista, G.C., Berti Filho, E., Parra, J.R.P., Zucchi, R.A., Alves, S.B., Vendramim, J.D., Marchini, L.C., Lopes, J.R.S. & Omoto, C. 2002. Entomologia Agrícola, FEALQ, Piracicaba, 920 p.

Giblin-Davis, R.M., Gries, R., Crespi, B., Robertson, L.N., Hara, A.H., Gries, G., O'Brien, C.W. & Pierce Jr., H.D. 2000. Aggregation pheromone of two geographical isolates of the New Guinea Sugarcane Weevil, *Rhabdoscelus obscurus*. J. Chem. Ecol. 26: 2763-2780.

Giblin-Davis, R.M., Gries, R., Gries, G., Peña-Rojas, E., Pinzón, I., Peña, J.E., Perez, A.L., Pierce Jr., H.D. & Oehlschlager, A.C. 1997. Aggregation pheromone of palm weevil, *Dynamis borassi*. J. Chem. Ecol. 23: 2287-2297.

- Giblin-Davis, R.M. & Howard F.W. 1989. Vulnerability of stressed palms to attack by *Rhynchophorus cruentatus* (Coleoptera: Curculionidae) and insecticidal control of the pest. J. Econ. Entomol. 82: 1185-1190.
- Giblin-Davis, R.M., Oehlschlager, A.C., Perez, A.L., Gries, G., Gries, R., Weissling, T.J., Chinchilla, C.M., Peña, J.E., Hallet, R.H., Pierce Jr., H.D. & Gonzales, L.M. 1996. Chemical and behavioral ecology of palm weevils (Curculionidae: Rhynchophorinae). Fla. Entomol. 79: 153-167.
- Giblin-Davis, R. M., Weissling, T.J., Oehlschlager, A.C. & Gonzales, L.M., 1994. Field response of *Rhynchophorus cruentatus* to its aggregation pheromone and fermenting plant volatiles. Fla. Entomol. 77:164-177.
- Granados, D. & Castañeda, A.D. 1991. El Nopal. Historia, Fisiología, Genética e Importância Frutícula. Trillas. México.
- Gries, G., Gries, R., Perez, A.L., Oehlschlager, A.C., Gonzales, L.M., Pierce Jr., H.D., Kouda-Bonafos, M., Zebeyou, M. & Nanou, N. 1993. Aggregation pheromone of the African palm weevil, *Rhynchophorus phoenicis* F. Naturwissenschaften 80: 90-91.
- Griffith, R. 1968. The relationship between the red ring nematode and the palm weevil. J. Agric. Soc. Trin. Tob. 68: 342-356.

- Gueldner, R.C. & Wiygul, G. 1978. Rhythms in pheromone production of male boll-weevil. *Science* 199: 984-986.
- Halfpapp, K.H. & Storey, R.I. 1991. Cane weevil borer, *Rhabdoscelus obscurus* (Coleoptera: Curculionidae), a pest of palms in Northern Queensland, Australia. *Principes* 35: 199-207.
- Hallet, R.H., Gries, G., Gries, R., Borden, J.H., Czyzewska, E., Oehlschlager, A.C., Pierce Jr., H.D., Angerilli, N.P.D. & Raulf, A. 1993. Aggregation pheromones of two asian palm weevils, *Rhynchophorus ferrugineus* and *R. vulneratus*. *Naturwissenschaften* 80: 328-331.
- Harari, A.R. & Landolt, P.J. 1997. Orientation of sugarcane rootstalk borer weevil, *Diaprepes abbreviatus*, to weevil, frass, and food odors. *J. Chem. Ecol.* 23: 857-868.
- Hardee, D.D., McKibben, G.H., Gueldner, R.C., Mitchell, E.B., Tumlinson, J.H. & Cross, W.H. 1972. Boll weevils in nature respond to grandlure, a synthetic pheromone. *J. Econ. Entomol.* 65: 97-100.
- Hardee, D.D. & Mitchell, E.B. 1997. Boll weevil, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae): a summary of research on behavior as affected by chemical communication. *Southwest. Entomol.* 22: 465-491.

- Hedin, P.A., Dollar, D.A., Collins, J.K., Dubois, J.G., Mulder, P.G., Hedger, G.H., Smith, M.W. & Eikenbary, R.D. 1997. Identification of male pecan weevil pheromone. *J. Chem. Ecol.* 23: 965-977.
- Henson, R.D., Bull, D.L., Ridgway, R.L. & Ivie, G.W. 1976. Identification of the oxidative decomposition products of the boll weevil pheromone, grandlure, and the determination of the fate of grandlure in soil and water. *J. Agric. Food Chem.* 24: 228-231.
- Hernández, J.V., Cerda, H., Jaffé K. & Sanchez, P. 1992. Localización hospedera, actividad diaria y optimización de la captura del picudo del cocotero *Rhynchophorus palmarum* L., mediante trampas inócuas. *Agron. Trop.* 42: 211-226.
- Hibbard, B.E. & Webster, F.X. 1993. Enantiomeric composition of grandisol and grandisal produced by *Pissodes strobi* and *P. nemorensis* and their electroantennogram response to pure enantiomers. *J. Chem. Ecol.* 19: 2129-2141.
- Hobbs, P.D. & Magnus, P.D. 1976. Synthesis of optically active grandisol, the boll weevil pheromone. *J. Am. Chem. Soc.* 98: 4594-4600.
- Hoffmann-Campo, C.B., Moscardi, F., Corrêa-Ferreira, B.S., Oliveira, L.J., Sosa-Gómez, D.R., Panizzi, A.R., Corso, I.C., Gazzoni, D.L. & Oliveira, E. B. 2000. Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado. EMBRAPA Soja, Circular Técnica, 30.

- Hoffmann-Campo, C.B., Oliveira, L.J. & Gaudêncio, C.A. 1996. Desempenho de *Sternechus subsignatus* em diversas plantas para rotação de culturas ou plantas armadilhas, pp. 428-432. In: Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). Resultados de pesquisa de soja 1990/91. Londrina, (Embrapa-CNPSO. Documentos, 99).
- Hoffmann-Campo, C.B., Oliveira, E.B., Mazzarin, R.M. & Oliveira, M.C.N. 1990. Níveis de infestação de *Sternechus subsignatus* Boheman, 1836: Influência nos rendimentos e características agrônômicas da soja. *Pesq. Agropec. Bras.* 25: 221-227.
- Hoffmann-Campo, C.B., Parra, J.R.P. & Mazzarin, R.M. 1991. Ciclo biológico, comportamento e distribuição estacional de *Sternechus subsignatus* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) em soja, no norte do Paraná. *Rev. Brás. Biol.* 51: 615-621.
- Hoffmann-Campo, C.B., Silva, M.T.B. & Oliveira, L.J. 1999. Aspectos biológicos e manejo integrado de *Sternechus subsignatus* na cultura da soja. Londrina: Embrapa Soja / Cruz Alta: FUNDACEP-FECOTRIGO. 32p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 22).
- Innocenzi, P.J., Hall, D.R. & Cross, J.V. 2001. Components of male aggregation pheromone of strawberry blossom weevil, *Anthonomus rubi* Herbst. (Coleoptera: Curculionidae). *J. Chem. Ecol.* 27: 1203-1218.

- Jayaraman, S., Ndiege, I.O., Oehlschlager, A.C., Gonzales, L.M., Alpizar, D., Falles, M., Budenberg, W.I. & Ahuya, P. 1997. Synthesis, analysis, and field activity of sordidin, a male-produced aggregation pheromone of the banana weevil, *Cosmopolites sordius*. J. Chem. Ecol. 23: 1145-1161.
- Jones, I.F. & Schroeder, W.J. 1984. Capture of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in frass extract-baited traps in citrus. J. Econ. Entomol. 77: 334-336.
- Kuschel, G. 1995. A phylogenetic classification of Curculionoidea to families and subfamilies. Mem. Entomol. Soc. Wash. 14: 5-33.
- Leal, W.S., Masaaki, S. & Hasegawa, M. 1993a. The scarab beetle *Anomala cuprea* utilizes the sex pheromone of *Popillia japonica* as a minor component. J. Chem. Ecol. 19: 1303-1313.
- Leal, W.S., Masaaki, S., Matsuyama, S., Kuwahara, Y. & Hasegawa, M. 1993b. Unusual periodicity of sex pheromone production in the large black chafer *Holotrichia parallela*. J. Chem. Ecol. 19: 1381-1391.
- Lepesme, P. & Paulian, R. 1941. Sur la presence de *Metamasius sericeus* 01. dans l'ouest africain (Col. Curculionidae). Bull. Soc. Ent. France 46: 31-37.

- Lima, E.R. & Della Lucia, T.M.C. 2001. Biodinâmica dos feromônios, pp. 13-29. In: Vilela, E.F. & Della Lucia, T.M.C. (eds) Feromônios de Insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas (2nd.Ed.). Holos Editora, Ribeirão Preto-SP.
- Lorini, I., Salvadori, J.R. & Bonato, E.R. 1997. Bioecologia e controle de *Sternechus subsignatus* Boheman, 1836 (Coleoptera: Curculionidae), praga da cultura da soja. Embrapa-CNPT. Documentos 40, 38 p.
- Maclaughlan, L.E., Borden, J.H. & Price, I. 1993. Life history and pheromone response in *Pissodes schwarzi* Hopk. (Coleoptera: Curculionidae). J. Entomol. Soc. British Columbia 90: 30-35.
- Manninger, G.A. 1990. Sugar-beet weevil (*Cleonus punctiventris* German). A Novényvédelmi Állattan Kézikönyve III/A (in Hungarian); Jerry, T. & Balázs, K. eds.; Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary, pp. 471-476.
- Marvaldi, A.E. & Lanteri, A.A. 2005. Key to taxa of South American weevils based on adult characters (Coleoptera, Curculionoidea). Rev. Chil. Hist. Nat. 78: 65-87.
- McNeil, J.N. & Delisle, J. 1989. Host plant pollen influences calling behaviour and ovarian development of the sunflower moth, *Homoeosoma electellum*. Oecologia 80: 201-205.

- Moreira, M.A.B. 2005. Identificação, dinâmica de produção e potencial de uso do feromônio de agregação de *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838) (Coleoptera: Curculionidae). Curitiba, PR: UFPR. 120p. Tese (Doutorado em Entomologia)- Universidade Federal do Paraná.
- Moreira, M.A.B., Zarbin, P.H.G. & Coracini, M.D.A. 2005. Feromônios associados aos coleópteros-praga de produtos armazenados. Quím. Nova 28: 472-477.
- Moreira, M.A.B., Zarbin, P.H.G., Rosado-Neto, G.H., Barreto, M.F.P., Sobrinho, J.F.D. & Borges, M. 2003. A broca-do-mamoeiro e recomendações de controle. Circular Técnica 35, Embrapa: Tabuleiros Costeiros, Aracaju-SE.
- Mori, K. 1978. Synthesis of the both enantiomers of grandisol, the boll weevil pheromone. Tetrahedron 34: 915-920.
- Mori, K. 1998. Chirality and insect pheromones. Chirality 10: 578-586.
- Mori, K. & Ishigami, K. 1992. Synthesis of the enantiomers of rhynchophorol [(*E*)-6-methyl-2-hepten-4-ol], the male-produced aggregation pheromone of the American palm weevil, *Rhynchophorus palmarum*. Liebigs Ann. Chem. 11: 1195-1198.

Mori, K., Kiyota, H., Malossse, C. & Rochat, D. 1993a. Synthesis of the enantiomers of syn-4-methyl-5-nonanol to determine the absolute configuration of the naturally occurring (4*S*,5*S*)-isomer isolated as the male-produced pheromone compound of *Rhynchophorus vulneratus* and *Metamasius hemipterus*. Liebigs Ann. Chem. 1993: 1201-1204.

Mori, K., Kiyota, H. & Rochat, D. 1993b. Synthesis of the stereoisomers of 3-methyl-4-octanol to determine the absolute configuration of the naturally occurring (3*S*,4*S*)-isomer isolated as the male-produced aggregation pheromone of the African palm weevil, *Rhynchophorus phoenicis*. Liebigs Ann. Chem. 1993: 865-870.

Mori, K., Nakayama, T. & Takikawa, H. 1996. Synthesis and absolute configuration of sordidin, the male-produced aggregation pheromone of the banana weevil, *Cosmolites sordidus*. Tetrahedron Lett. 21: 3741-3744.

Moscardi, F. 1986. Utilização de vírus para o controle da lagarta da soja, pp. 188-202. In: Alves, S.B. (ed.) Controle microbiano de insetos, Manole, São Paulo.

Moura, J.I.L., Bento, J.M.S., Souza, J. & Vilela, E.F. 1997. Captura de *Rhynchophorus palamarum* (L.) pelo uso de feromônio de agregação associado a árvore-armadilha e inseticida. An. Soc. Entomol. Brasil. 26: 69-73.

- Muniappan, R., Bamba, J., Cruz, J. & Reddy, G.V.P. 2004. Field response of Guam populations of the New Guinea Sugarcane Weevil, *Rhabdoscelus obscurus* (Boisduval) (Coleoptera: Curculionidae), to aggregation pheromones and food volatiles. *Micronesica* 37: 57-68.
- Ndiege, I.O., Jayaraman, S., Oehschlager, A.C., Gonzales, L.M., Alpizar, D. & Fallas, M. 1996. Convenient synthesis and field activity of a male-produced aggregation pheromone of *Cosmopolies sordidus*. *Naturwissenschaften* 83: 280-282.
- Oehschlager, A.C., Chinchilla, C.M., González, L.M., Jiron, L.F., Mexzon, R. & Morgan, B. 1993. Development of a pheromone-based trapping system for *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 86: 1381-1392.
- Oehschlager, A.C., Pierce Jr., H.D., Morgan, B. Wimalaratne, P.D.C., Slessor, K.N., King, G.G.S., Gries, G., Gries, R., Borden, J.H., Jiron, L.F., Chinchilla, C.M. & Mexzon, R.G. 1992. Chirality and field activity of rhynchophorol, the aggregation pheromone of the American palm weevil. *Naturwissenschaften* 79: 134-135.
- Oehschlager, A.C., Prior, R.N.B., Perez, A.L., Gries, R., Gries, G., Pierce Jr., H.D. & Laup, S. 1995. Structure, chirality, and field testing of a male-produced aggregation pheromone of the Asian palm weevil, *Rhynchophorus bilineatus* (Montr.), Coleoptera: Curculionidae. *J. Chem. Ecol.* 21: 1619-1629.

- Patrock, R.J., Schuster, D.J. & Mitchell, E.R. 1992. Field evidence for an attractant produced by the male pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Fla. Entomol.* 75: 138-144.
- Pepperman, A.B. 1981. Improved yield preparation of 3-oxo-2,6,6-trimethylcyclohex-1-ene-1-carboxylic acid, an important intermediate in the synthesis of (.+.-)-strigol. *J. Org. Chem.* 46: 5039-5041.
- Perez, A.L., Campos, Y., Chinchilla, C.M., Oehlschlager, A.C., Gries, G., Gries, R., Giblin-Davis, R.M., Castrillo, G., Peña, J.E., Duncan, R.E., Gonzales, L.M., Pierce Jr., H. D., McDonald, R. & Andrade, R. 1997. Aggregation pheromones and host kairomones of West Indian sugarcane weevil, *Metamasius hemipterus sericeus*. *J. Chem. Ecol.* 23: 869-888.
- Perez, A.L., Gries, G., Gries, R., Giblin-Davis, R.M. & Oehlschlager, A.C. 1994. Pheromone chirality of African palm weevil, *Rhynchophorus phoenicis* (F.) and palmetto weevil, *Rhynchophorus cruentatus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Chem Ecol.* 20: 2653-2671.
- Perez, A.L., Hallet, R.H., Gries, R., Gries, G., Oehlschlager, C.A. & Borden, J.H. 1996. Pheromone chirality of Asian palm weevils *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) and *R. vulneratus* (Panz.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Chem. Ecol.* 22: 357-368.

- Phillips, J.K., Chong, J.M., Andersen, J.F. & Burkholder, W.E. 1989. Determination of the enantiomeric composition of (*R*,S**)-1-ethylpropyl 2-methyl-3-hydroxypentanoate, the male-produced aggregation pheromone of *Sitophilus granarius*. Entomol. Exp. Appl. 51: 149-153.
- Phillips, J.K., Miller, S.P.F., Andersen, J.F., Fales, H.M. & Burkholder, W.E. 1987. The chemical identification of the granary weevil pheromone. Tetrahedron Lett. 28: 6145-6146.
- Phillips, J.K., Walgenbach, C.A., Klein, J.A., Burkholder, W.E., Schmuff, N.R. & Fales, H.M. 1985. (*R*, S**)-5-hydroxy-4-methyl-3-heptanone male-produced aggregation pheromone of *Sitophilus oryzae* (L.) and *S. zeamais* Motsch. J. Chem. Ecol. 11: 1263-1273.
- Phillips, T.W., West, J.R., Foltz, J.L., Silverstein, R.M. & Lanier, G.N. 1984. Aggregation pheromone of the deodar weevil, *Pissodes nemorensis* (Coleoptera: Curculionidae): isolation and activity of grandisol and grandisal. J. Chem. Ecol. 10: 1417-1423.
- Ramírez-Lucas, P., Malosse, C., Ducrot, P-H., Lettère, M. & Zagatti, P. 1996a. Chemical identification, electrophysiological and behavioral activities of the pheromone of *Metamasius hemipterus* (Coleoptera: Curculionidae). Bioorg. Med. Chem. 4: 323-330.

- Ramirez-Lucas, P., Rochat, D. & Zagatti, P. 1996b. Field trapping of *Metamasius hemipterus* with synthetic aggregation pheromone. *Entomol. Exp. Appl.* 80: 453-460.
- Raney, H.G. & Eikenbary, R.D. 1968. Investigations on flight habits of the pecan weevil, *Curculio caryae* (Horn) (Coleoptera: Curculionidae). *Can. Entomol.* 100: 1091-1095.
- Reddy, G.V.P. 2007. Improved semiochemical-based trapping method for old-house borer, *Hylotrupes bajulus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Environ. Entomol.* 36: 281-286.
- Rochat, D., Akamou, F., Sangare, A., Mariau, D. & Mori, K. 1995. Field trapping of *Rhynchophorus phoenicis* with stereoisomers of the synthetic aggregation pheromone. *C. R. Acad. Sci. Paris. III* 318: 183-190.
- Rochat, D., Descoins, C., Malosse, C., Nagnon, P., Zagatti, P., Akamou, F. & Mariau, D. 1993b. Ecologie chimique des charançons des palmiers, *Rhynchophorus* spp. (Coleoptera). *Oléagineux* 48: 225-236.
- Rochat, D., González, A.V., Mariau, D., Villanueva, A.G. & Zagatti, P. 1991a. Evidence for male-produced aggregation pheromone in American palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Chem. Ecol.* 17: 1221-1230.

- Rochat, D., Malosse, C., Lettère, M., Ducrot, P.H., Zagatti, P., Renou, M. & Descoins, C. 1991b. Male-produced aggregation pheromone of the American palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): collection, identification, electrophysiological activity, and laboratory bioassay. *J. Chem. Ecol.* 17: 2127-2140.
- Rochat, D., Malosse, C., Lettère, M., Ramirez-Lucas, P., Einhorn, J. & Zagatti, P. 1993a. Identification of new pheromone-related compounds from volatiles produced by males of four Rhynchophorinae weevils. *C.R, Acad. Sci. Paris. Ser. II* 316: 1737-1742.
- Rochat, D., Meillour, P. N. Le., Esteban-Duran, J.R. Malosse, C., Perthuis, B., Morin, J-P. & Descoins, C. 2000. Identification of pheromone synergist in American palm weevil *Rhynchophorus palmarum* and attraction of related *Dynamis borassi*. *J. Chem. Ecol.* 26: 155-187.
- Rosado-Neto, G.H. 1987. Dimorfismo sexual e distribuição geográfica de *Sternechus subsignatus* Boheman, 1836 (Coleoptera, Curculionidae) no Brasil. *Ann. Soc. Entomol. Bras.* 16, 199–204.
- Ruiz-Montiel, C., García-Coapio, G., Rojas, J.C., Malo, E.A., Cruz-López, L., Real, I. & González-Hernández, H. 2008. Aggregation pheromone of the agave weevil, *Scyphophorus acupunctatus*. *Entomol. Exp. Appl.* 127: 207-217.

- Ruiz-Montiel, C., González-Hernández, H., Leyva, J., Llanderal-Cazares, C., Cruz-López, L. & Rojas, J.C. 2003. Evidence for a male-produced aggregation pheromone in *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 96: 1126-1131.
- Sadakathulla, S. 1991. Management of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* F., in coconut plantations. *Planter* 67: 415-419.
- Santos, W.J. & Hofer, D. 1996. Study of the effectiveness of boll weevil control applying drops of a mixture of sex pheromone (Grandlure) and cypermethrin through a pistol. *Proceedings of the Beltwide Cotton Conferences, Nashville* 2: 712-715.
- Schroeder, W.J. 1981. Attraction, mating, and oviposition behavior in field population of *Diaprepes abbreviatus* on citrus. *Environ. Entomol.* 10: 898-900.
- Seybold, S.J. & Vanderwel, D. 2003. Biosynthesis and endocrine regulation of pheromone production in the Coleoptera, pp. 137-200. In: Blomquist, G.J. & Vogt, R.G. (eds.) *Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology*. Elsevier Academic Press, London, UK.
- Silva, M.T.B. 1997. Comportamento de *Sternechus subsignatus* (Boheman) em dez espécies vegetais de verão para rotação de culturas ou cultura armadilha no plantio direto. *Ciência Rural* 27: 537-541.

- Silva, M.T.B., Hoffmann-Campo, C.B. & Tamai, M.A. 2005. Pequeno devorador. *Grandes Culturas Cultivar* 78: 32-35.
- Silva, M.T.B., Neto, N. & Hoffmann-Campo, C.B. 1998. Distribution of eggs, larvae and adults of *Sternechus subsignatus* Boheman on soybean plants under a no-till system. *An. Soc. Entomol. Brasil* 27: 513-518.
- Sivapragasam, A., Arikiah, A. & Ranjit, C.A. 1990. The red stripe weevil, *Rhynchophorus schach* Olivier (Coleoptera: Curculionidae): an increasing menace to coconut palms in Hilir Perak. *Planter* 66: 113-123.
- Suckling, D.M. 2000. Issues affecting the use of pheromones and other semiochemicals in orchards. *Crop Prot.* 19: 677-683.
- Tafoya, F., Lopez-Collado, J., Stanley, D., Rojas, J.C. & Cibrian-Tovar, J. 2003. Evidence of an aggregation pheromone in males of *Metamasius spinolae* (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.* 32: 484-487.
- Tafoya, F., Whalon, M.E., Vanderwoot, C., Coombs, A.B. & Cibrian-Tovar, J. 2007. Aggregation pheromone of *Metamasius spinolae* (Coleoptera: Curculionidae): Chemical analysis and field test. *Environ. Entomol.* 36: 53-57.
- Tilden, P.E., Bedard, W.D., Wood, D.L. & Stubbs, H.A. 1981. Interruption of response of *Dendroctonus brevicomis* to its attractive pheromone by components of the pheromone. *J. Chem. Ecol.* 7: 183-196.

- Tinzaara, W., Dicke, M., Van Huis, A., Joop, J.J.A. & Gold, C.S. 2003. Different bioassays for investigating orientation responses of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*, show additive effects of host plant volatiles and a synthetic male-produced aggregation pheromone. *Entomol. Exp. Appl.* 106: 169-175.
- Tóth, M., Ujváry, I., Sivcev, I., Imrei, Z., Szarukán, I., Farkas, O., Gömöry, A., Gács-Baitz, E. & Francke, W. 2007. An aggregation attractant for the sugar-beet weevil, *Bothynoderes punctiventris*. *Entomol. Exp. Appl.* 122: 125-132.
- Tumlinson, J.H., Klein, M.G., Doolittle, R.E., Ladd, T.L. & Proveaux, A.T. 1977. Identification of the female japanese beetle sex pheromone: Inhibition of male response by an enantiomer. *Science* 197: 789-792.
- Tumlinson, J.H., Hardee, D.D., Gueldner, R.C., Thompson, A.C., Hedin, P.A., Minyard, J.P. 1969. Sex pheromones produced by male boll weevil: isolation, identification, and synthesis. *Science* 166: 1010-1012.
- Van Cleave, H.W. & Harp, J.J. 1971. The pecan weevil: present status and future prospective, pp. 99-111. In: Proceedings, 64th Annual Convention of the Southeastern Pecan Growers Association, Mobile, AL.
- Vanin, S.A. 1990. A new species of *Sphenophorus* Schönerr from Brazil (Coleoptera: Curculionidae, Rhynchophorinae). *Rev. Bras. Entomol.* 34: 697-701.

- Vanin, S.A. 1999. Curculionidae. pp. 133-140. In: Brandão C.R.F. & Canello. E. (eds.) Invertebrados terrestres. Vol. 5. Biodiversidade no estado de São Paulo: síntese do conhecimento ao final do século XX. Joly, C. A. & Bicudo, C. E. M. (orgs.). São Paulo, FAPESP.
- Vaurie, P. 1966. A revision of the Neotropical genus *Metamasius* (Coleoptera: Curculionidae: Rhynchophorinae). Species group I and II. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 131: 213-337.
- Vaurie, P. 1971. Review of *Scyphophorus* (Curculionidae: Rhynchophorinae). Colleopt. Bull. 25: 1-8.
- Vilela, E.F. & Della Lucia, T.M.C. 2001. Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação. Editora Holos, Ribeirão Preto. 206 p.
- Vincent, C., Chouinard, G. & Hill, S.B. 1999. Progress in plum curculio management: a review. Agric. Ecosyst. Environ. 73: 167-175.
- Zarbin, P. H. G. 2001. Extração, isolamento e identificação de substâncias voláteis de insetos, pp. 45-50. In: Vilela, E.F. & Della Lucia, T.M.C. (eds) Feromônios de Insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas (2nd.Ed.). Holos Editora, Ribeirão Preto-SP.

- Zarbin, P.H.G., Arrigoni, E.D.B., Reckziegel, A., Moreira, J.A., Baraldi, P.T. & Vieira, P.C. 2003. Identification of male-specific chiral compound from the sugarcane weevil *Sphenophorus levis*. J. Chem. Ecol. 29: 377-386.
- Zarbin, P.H.G., Moreira, M.A.B., Haftmann, J., Francke, W. & Oliveira, A.R.M. 2007. Male-specific volatiles released by the Brazilian papaya weevil, *Pseudopiazurus obesus*: Partial identification and evidence of an aggregation pheromone. J. Braz. Chem. Soc. 8: 1048–1053.
- Zimmerman, E.C. 1993. Australian weevils (Coleoptera: Curculionidae). Volume III. Nanophyidae, Rhynchophoridae, Erithinidae, Curculionidae: Amycterinae, literature consulted. CSIRO Australia and Entomological Society of America Publishing.
- Wakefield, M.E., Bryning, G.P. & Chambers, J. 2005. Progress towards a lure to attract three stored product weevils, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *S. Oryzae* (L.) and *S. granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). J. Stor. Prod. Research 41: 145-161.
- Walgenbach, C.A. & Burkholder, W.E. 1986. Factors affecting the response of the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) to its aggregation pheromone. Environ. Entomol. 15: 733-738.
- Walgenbach, C.A., Phillips, J.K., Burkholder, W.E., King, G.G.S., Slessor, K.N. & Mori, K. 1987. Determination of chirality in 5-hydroxy-4-methyl-3-heptanone, the aggregation pheromone of *Sitophilus oryzae* (L.) and *S. zeamais* (Motschulsky). J. Chem. Ecol. 13: 2159-2169.

- Walgenbach, C.A., Philips, J.K., Faustini, D.L. & Burkholder, W.E. 1983. Male-produced aggregation pheromone of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*, and interspecific attraction between three *Sitophilus species*. J. Chem. Ecol. 9: 831-841.
- Wall, C. 1990. Principles of monitoring, pp. 9-23. In: Ridgway, R.L., Silverstein, R.M. & Inscoc, M.N. (eds.) Behavior-modifying of pheromones and the other attractants, Marcel Dekker, New York.
- Wattanapongsiri, A. 1966. A revision of the genera *Rhynchophorus* and *Dynamis* (Coleoptera: Curculionidae). Department of Agricultural Science Bulletin, Bangkok 1: 1-328.
- Weissling, T.J., Giblin-Davis, R.M., Gries, G., Gries, R., Perez, A.L., Pierce Jr., H.D. & Oehlschlager, A.C. 1994. Aggregation pheromone of palmeto weevil *Rhynchophorus cruentatus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae). J. Chem. Ecol. 20: 505-515.
- Weissling, T.J., Giblin-Davis, R.M. & Scheffrahn, R.H. 1993. Laboratory and field evidence for male-produced aggregation pheromone in *Rhynchophorus cruentatus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae). J. Chem. Ecol. 19: 1195-1203.
- Weissling, T.J., Giblin-Davis, R.M., Scheffrahn, R.H. & Marban-Mendoza, N. M. 1992. Trap for capturing and retaining *Rhynchophorus cruentatus* (Coleoptera: Curculionidae) adults using *Sabal palmetto* as bait. Fla. Entomol. 75: 212-221.

Wibmer, G.J. & O' Brien C.W. 1986. Annotated checklist of the weevils (Curculionidae sensu lato) of South America (Coleoptera: Curculionidae). Mem. Amer. Entomol. Inst. 39: 1-563.