

Efeito do estágio fenológico do
algodoeiro na produção do feromônio de
agregação do bicudo-do-algodoeiro



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

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
347**

**Efeito do estágio fenológico do
algodoeiro na produção do feromônio de
agregação do bicudo-do-algodoeiro**

*Diego Martins Magalhães
Miguel Borges
Raúl Alberto Laumann
Maria Carolina Blassioli Moraes*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Marília Lobo Burle

Secretária-Executiva
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Membros
Antonieta Nassif Salomão; Bianca Damiani Marques; Diva Maria Alencar Dusi; Francisco Guilherme V. Schmidt; João Batista Tavares da Silva; João Batista Teixeira; Maria Cléria Valadares-Ingliš; Rosamares Rocha Galvão; Tânia da Silveira Agostini Costa

Supervisão editorial
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Revisão de texto
João Batista Teixeira

Normalização bibliográfica
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Tratamento das ilustrações
Adilson Werneck

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Adilson Werneck

Foto da capa
Sebastião Araújo - Embrapa/Algodão

1ª edição
1ª impressão (ano): tiragem

Todos os direitos reservados.

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Efeito do estágio fenológico do algodoeiro na produção do feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro / Diego Martins Magalhães et al... – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2019.
20 p. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 347).

ISSN: 0102-0110
Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader
Modo de Acesso: World Wide Web

1. Algodão. 2. Botão floral. I. Magalhaes, Diego Martins. II. Borges, Miguel. III. Laumann, Raúl Alberto. IV. Moraes, Maria Carolina Blassioli. V. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. IV. Série

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	7
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	13
Conclusão.....	18
Agradecimentos.....	18
Referências	19

Efeito do estágio fenológico do algodoeiro na produção do feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro

Diego Martins Magalhães¹

Miguel Borges²

Raúl Alberto Laumann³

Maria Carolina Blassioli Moraes⁴

Resumo – Os machos de *Anthonomus grandis* produzem um feromônio de agregação, composto por quatro componentes de origem terpênica, que atrai a ambos os sexos. A colonização nos algodoads se inicia com o surgimento dos botões florais e emissão de compostos orgânicos voláteis pelas plantas, e se intensifica com o feromônio liberado pelos primeiros machos que chegam à lavoura. A produção feromonal de *A. grandis* é influenciada por vários fatores, dentre eles, a alimentação. Contudo, os estudos até então conduzidos não avaliaram quantitativamente a taxa de emissão do feromônio, após a alimentação em diferentes estádios fenológicos e estruturas do algodoeiro. Tal informação é importante porque provaria que a fenologia da planta influencia a produção do feromônio. Assim, o objetivo deste estudo foi quantificar a emissão do feromônio de *A. grandis* após a alimentação em diferentes estruturas do algodoeiro em dois estádios fenológicos. O feromônio dos machos foi coletado após alimentação em algodoeiros nos estádios vegetativo e reprodutivo, e após a alimentação em folhas e botões florais. Os voláteis foram analisados por cromatografia gasosa e espectrometria de massas. Nos dois estádios fenológicos, não houve emissão do feromônio quando *A. grandis* se alimentou de folhas. O feromônio foi produzido somente após a alimentação em botões florais. Os resultados demonstram que a produção feromonal de *A. grandis* é influenciada pelo tipo de estrutura vegetal e pela fenologia do algodoeiro.

Termos para indexação: Algodão, *Anthonomus grandis*, Botão floral, Curculionidae, Fenologia.

¹ Biólogo, Doutor, bolsista da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia .

² Biólogo, Doutor, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biólogo, Doutor, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Química, Doutora, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Effect of phenology and cotton plant tissues on the boll weevil's aggregation pheromone production

Abstract – Male *Anthonomus grandis* produces an aggregation pheromone comprised of four terpenic compounds, that is attractive to both sexes. Boll weevil's colonization seems to be a response to squaring cotton, plant volatiles and pheromone produced by the first dispersing weevils in the field. Cotton phenology, therefore, has an important role in the boll weevil dispersion. Boll weevil's pheromone production is influenced by a multitude of factors, such as food diet. However, there are no records of studies quantifying pheromone production after feeding on different cotton tissues. This information is important to prove that plant phenology influences pheromone production. The aim of this study was to quantify the pheromone production of the boll weevil when feeding on different cotton structures and on plants at different phenological stages. Male boll weevils had their volatiles collected when they fed on vegetative and reproductive cotton plants and when they fed on leaves and cotton squares. These volatiles were analysed by gas chromatography and mass spectrometry. The boll weevil did not emit aggregation pheromone when fed on leaves of cotton plants, both at the vegetative and reproductive stages. Pheromone was produced only when *A. grandis* fed on cotton squares. These data indicate that the production of boll weevil's pheromone is influenced by the type of plant tissue and cotton phenology.

Index terms: *Anthonomus grandis*, Cotton, Curculionidae, Phenology, Squares.

Introdução

Os machos do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), produzem um feromônio que atrai indivíduos de ambos os sexos, sendo dessa forma classificado como feromônio de agregação (Hardee, 1970). Essa mistura feromonal é composta por dois álcoois terpênicos [(+)-*cis*-2-isopropenil-1-metilciclobutano-etanol (I) e *cis*-2-(3,3-dimetil)-ciclohexilideno-etanol (II)] e dois aldeídos terpênicos [*cis*-3,3-dimetil-

ciclohexilideno-acetaldeído (III) e *trans*-3,3-dimetilciclohexilideno-acetaldeído (IV)] (Tumlinson et al., 1969) (Figura 1).

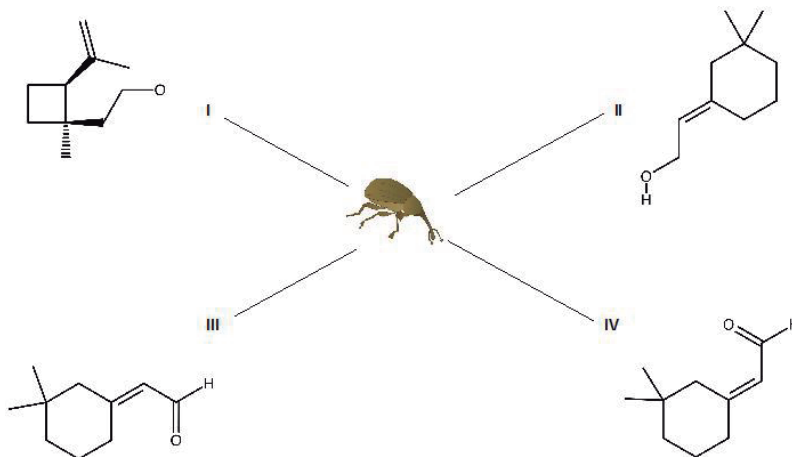


Figura 1. Estrutura química dos quatro componentes do feromônio de agregação produzido pelos machos de *Anthonomus grandis*. I. (+)-*cis*-2-isopropenil-1-metilciclobutano-etanol; II. *cis*-2-(3,3-dimetil)-ciclohexilideno-etanol; III. *cis*-3,3-dimetilciclohexilideno-acetaldeído; IV. *trans*-3,3-dimetilciclohexilideno-acetaldeído).

Uma das primeiras estimativas da produção do feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro foi realizada indiretamente através de ensaios de alimentação em laboratório, nos quais foi observado que os machos que se alimentavam de botões florais e maçãs eram mais atrativos às fêmeas, em comparação aos machos que se alimentavam de outras estruturas do algodoeiro (Hardee, 1970). Mais tarde, foi descoberto que a produção do feromônio está relacionada à alimentação dos machos, que o expelem pelas fezes (Leggett, 1986). Spurgeon e Suh (2009) mostraram, quantitativamente, que, quando os machos se alimentavam dos botões florais e das maçãs, os quatro componentes do feromônio de agregação eram emitidos.

O efeito da dieta na produção do feromônio já foi descrito para insetos de diferentes ordens (Moraes et al., 2008; Spurgeon e Suh, 2009; Ming e Lewis, 2010; Eller e Palmquist, 2014; Bosa et al., 2016). A qualidade do alimento pode modificar a concentração e a proporção dos componentes da mistura feromonal, afetando o conteúdo da informação e a comunicação

entre os indivíduos (Moraes et al., 2008). Além da alimentação, a produção do feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro, também pode ser afetada pela idade (Spurgeon, 2003), fotofase (Gueldner e Wiygul, 1978) e condições das glândulas acessórias (Spurgeon, 2003). A produção do feromônio de agregação apresenta uma tendência a aumentar com a idade (Spurgeon, 2003). Além disso, a proporção entre os componentes da mistura feromonal muda durante os primeiros dias da fase adulta, estabilizando quando os machos se aproximam dos nove dias de idade (Spurgeon, 2003). Spurgeon e Suh (2009) mostraram que a produção do feromônio se mantém constante em machos de oito a 13 dias na fase adulta, que se alimentam de botões florais, mas varia quando a alimentação é à base de maçãs de tamanho pequeno e médio. O fotoperíodo também influencia diretamente nessa produção, de modo que os machos têm uma produção de feromônio maior durante a fotofase, diminuindo a emissão em até dez vezes durante a escotofase (Gueldner e Wiygul et al., 1978). Igualmente, altos níveis de produção do feromônio estão relacionados com glândulas acessórias bem desenvolvidas (grandes e com material acinzentado e gelatinoso); glândulas pequenas e transparentes estão relacionadas à baixa ou nenhuma produção do feromônio (Spurgeon, 2003).

O feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro tem um papel importante nos aspectos reprodutivos e na sua dinâmica populacional. Durante o período da entressafra do algodão, os adultos de *A. grandis* permanecem em áreas de refúgio natural (Ribeiro et al., 2010; Pires et al., 2017). A colonização do bicudo-do-algodoeiro nos algodoeiros se dá em função da emissão de compostos orgânicos voláteis por essas plantas, marcada pela redução na liberação de homoterpenos acíclicos, concomitantemente com o surgimento dos primeiros botões florais (Magalhães et al., 2012, 2016, 2018). Após a chegada na lavoura e início da alimentação, a migração da população da entressafra parece ser intensificada pela produção do feromônio de agregação dos primeiros machos migrantes e pela produção de voláteis da planta (Tumlinson et al., 1969; White e Rummel, 1978; Rummel e Curry, 1986). Assim, a fenologia do algodoeiro influencia diretamente a ecologia de *A. grandis*. Apesar de Spurgeon e colaboradores (2003, 2007 e 2009) avaliarem o efeito da alimentação à base de tecidos reprodutivos do algodoeiro (botões florais e maçãs) na produção feromonal do bicudo-do-algodoeiro, ainda não se sabe como essa produção se comporta quando os machos se alimentam

de tecidos foliares de algodoeiros em diferentes estádios fenológicos. Tendo em vista esses aspectos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a produção do feromônio de agregação de machos de *A. grandis*, quando alimentados com folhas e caules de algodoeiro em diferentes estádios fenológicos.

Material e Métodos

Criação dos insetos

A colônia de *A. grandis* foi proveniente da Plataforma de Criação de Insetos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília - DF. Os adultos do bicudo-do-algodoeiro foram mantidos em dieta artificial a base de uma mistura de ágar, levedo de cerveja, gérmen de trigo, proteína de soja, ácidos ascórbico e sórbico, farinha de semente de algodão (Pharmamedia®, Traders Protein, EUA), sais minerais (mistura de Wesson), solução vitamínica de Vanderzant e água (Schmidt et al., 2001). Os adultos recém emergidos foram separados por sexo (Sappington e Spurgeon, 2000) e transferidos para gaiolas de plástico de 250 mL (15 insetos/gaiola), onde receberam como alimento a dieta artificial e água, as quais foram trocadas duas vezes por semana. As gaiolas com os insetos foram mantidas em salas climatizadas sob temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h. Em todos os experimentos foram utilizados machos virgens com dez dias de idade na fase adulta.

Cultivo de plantas

As sementes de algodão do genótipo Delta Opal foram obtidas da MDM-Maeda Delta Pine Monsanto, sediada em Uberlândia – MG. A semeadura foi feita em vasos de plástico (15 cm de altura, com diâmetro externo de 20 cm na parte superior e 13 cm na parte inferior) preenchidos com uma mistura de solo e substrato orgânico (Bioplant® Condicionador de Solo Classe F, Nova Ponte - MG) na proporção de 1:1, sendo estes mantidos em casa de

vegetação sob condições ambientais naturais. A irrigação das plantas foi realizada três vezes por semana, durante o período matutino. Em todos os experimentos, foram utilizadas plantas no estágio vegetativo, com seis semanas de idade, mais de seis folhas verdadeiras expandidas e aproximadamente 30 cm de altura, e no reprodutivo, com idade de 12 semanas, marcadas pela presença de botões florais.

Coleta de voláteis

Duas etapas de coleta de voláteis foram realizadas: (i) para avaliar a influência da fenologia do algodoeiro na produção do feromônio de agregação; e (ii) para avaliar se *A. grandis* precisa se alimentar de estruturas específicas do algodoeiro para produzir o feromônio de agregação. Em (i), foram coletados os voláteis de plantas no estágio vegetativo (N=6) e no reprodutivo (N=6) infestadas com dois machos de *A. grandis*. Em (ii), foram coletados os voláteis apenas de folhas e caules jovens (N=6) e botões florais (N=6), ambos ainda presos à planta, infestados com dois machos de *A. grandis*. Os insetos permaneceram sem alimento por 24 h antes do início dos experimentos. A coleta de voláteis dos machos foi realizada usando câmaras de vidro individuais (com volume interno de 10 e 0,5 L, para os experimentos (i) e (ii), respectivamente). Cada planta ou partes da planta foi colocada dentro de uma câmara e, para minimizar possíveis contaminações dos voláteis provenientes do solo, os vasos tiveram sua superfície recoberta por papel alumínio. Nesse sistema de aeração, o ar entrava nas câmaras por meio de um compressor com corrente de ar de 1,0 L.min⁻¹, conectado a um filtro de carvão ativado, garantindo, assim, a entrada de ar purificado. A saída do ar foi realizada através de uma bomba de vácuo com vazão de 0,6 L.min⁻¹, conectada a um tubo de vidro contendo um polímero adsorvente, via conexões de politetrafluoretileno (PTFE), criando um sistema de pressão positiva (**Figura 2**). Os voláteis foram coletados a cada 24 h, durante quatro dias consecutivos, em tubos de vidro contendo 60 mg do polímero adsorvente Porapak Q (50-80 mesh, Bellefonte, PA, EUA). Esses foram eluídos dos tubos adsorventes usando 500 µL do solvente orgânico *n*-hexano e concentrados para 100 µL sob fluxo de N₂. Após o processo de eluição, os tubos foram limpos usando 2,0 mL de *n*-hexano e aquecidos à 190 °C, sob fluxo constante de nitrogênio, por 30 min antes de serem colocados novamente nas câmaras

de aeração. As amostras obtidas foram armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até sua utilização em cromatógrafo gasoso acoplado ao detector de ionização de chamas (CG-DIC) e CG acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM).

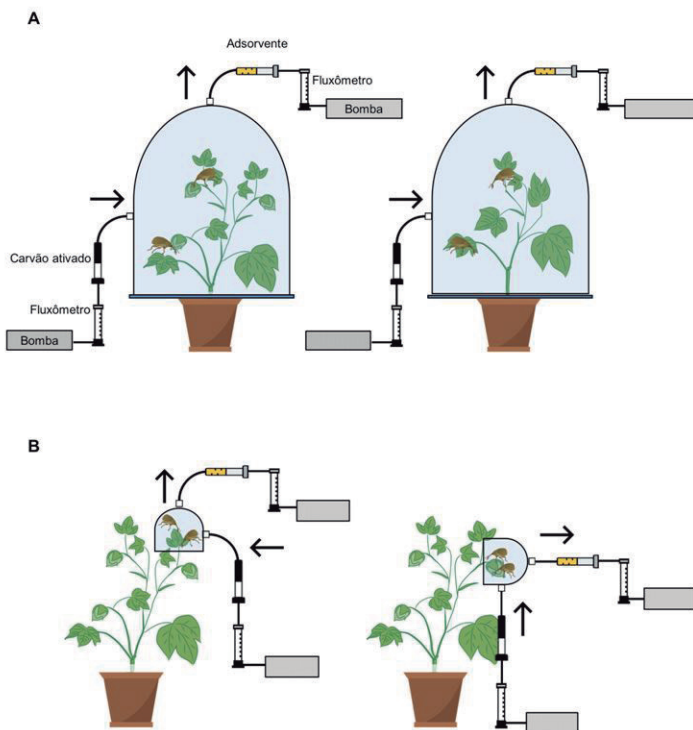


Figura 2. Desenho esquemático do sistema de aeração forçada, usado para a coleta de voláteis das plantas de algodão infestadas com machos de *Anthonomus grandis*. As flechas pretas indicam o sentido do fluxo de ar dentro da câmara de vidro. **A.** Coleta de voláteis de plantas de algodão inteiras nos estádios reprodutivo (à esquerda) e vegetativo (à direita) infestadas com dois machos de *A. grandis*; **B.** Coleta de voláteis de estruturas específicas (folhas à esquerda e botões florais à direita) de plantas no estágio reprodutivo infestadas com dois machos de *A. grandis*.

Análises químicas

Para as análises quantitativas dos compostos orgânicos voláteis, uma alíquota de $50\text{ }\mu\text{L}$ de cada amostra foi separada e acrescida de $1,0\text{ }\mu\text{L}$

do composto 16 hexadecanolactona, como padrão interno (PI), preparado em *n*-hexano destilado. Posteriormente, 1,0 μL de cada solução foi injetado no CG (Agilent 7890-A) com coluna apolar DB-5MS (0,32 mm de diâmetro x 60 m de comprimento e filme de 0,25 μm , Supelco, Bellefonte, PA, EUA) e detector de ionização de chama (DIC), usando o modo *splitless* e o hélio como gás de arraste. A temperatura inicial da rampa foi de 50 °C por 2 min, aumentando gradualmente 5 °C.min⁻¹ até atingir 180 °C, onde foi mantida por 0,1 min, seguida de um segundo aumento gradual de 10 °C min⁻¹ até atingir 250 °C, permanecendo nessa temperatura por 20 min. A temperatura do detector foi de 270 °C e a do injetor, de 250 °C. A quantificação do feromônio do bicudo-do-algodoeiro a cada 24 h foi realizada por meio de comparação das áreas de cada composto em relação à área do PI. Desta forma, considerou-se o fator de resposta do detector, para todos os compostos, igual a 1. Os dados foram coletados com o *software* GC ChemStation (Agilent, California, EUA) e tabulados com o programa Excel (Microsoft Office Mac 2015, Microsoft Corporation, EUA). A produção do feromônio de agregação em cada tratamento ao longo do tempo foi analisada pelo teste de Kruskal-Wallis e as médias foram comparadas pelo teste de Mann-Whitney. Os testes foram realizados com o *software* estatístico R-Studio (Foundation for Statistical Computing, versão 0.99.467).

Na análise qualitativa, amostras selecionadas foram injetadas no CG-EM (Agilent 5975-MSD), equipado com analisador quadrupolar, em coluna apolar DB-5MS (0,25 mm de diâmetro x 30 m de comprimento, com filme de 0,25 μm , Supelco, Bellefonte, PA, EUA), com ionização de impacto de elétrons (70 eV, temperatura de 200 °C) e injetor no modo *splitless*. O gás hélio foi usado como gás de arraste. Os dados foram coletados e analisados com o *software* ChemStation. A identificação dos compostos voláteis foi realizada por comparação do padrão de fragmentação dos componentes da amostra com o de dados catalogados em bibliotecas espectrais (NIST, 2008) e também pelo cálculo do índice de retenção (IR). Para calcular o IR, uma mistura de hidrocarbonetos alcanos lineares (C₈-C₂₆) foi injetada nas mesmas condições descritas anteriormente. Para a confirmação final, o padrão de fragmentação e o IR dos compostos foram comparados com os dados obtidos da coinjeção de padrões autênticos com as amostras.

Resultados e Discussão

A produção do feromônio de agregação de *A. grandis* foi diretamente afetada pela alimentação. Quando os machos se alimentaram das estruturas vegetativas do algodoeiro, i.e., folhas e caules jovens, independentemente da fenologia da planta, não houve produção do feromônio (Figura 3-A, C). Os quatro componentes do feromônio de agregação só foram emitidos após o consumo dos botões florais, indicando uma especificidade nos requerimentos nutricionais para a emissão da mistura feromonal (Figura 3-B,D). As folhas do algodoeiro são um recurso presente ao longo de todo o desenvolvimento da planta e sabe-se que os adultos de *A. grandis*, ocasionalmente, também se alimentam dessas estruturas (Showler, 2008). No entanto, os resultados indicam que esses tecidos vegetais, possivelmente, não possuem qualidade nutricional adequada para a produção do feromônio.

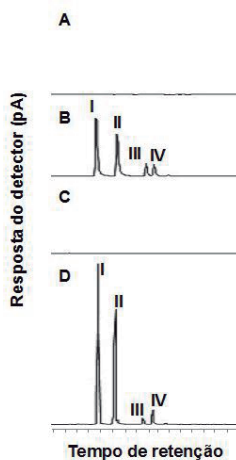


Figura 3. Perfil cromatográfico (pA) das amostras de coleta de voláteis de machos de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) que se alimentaram de diferentes estruturas do algodoeiro, mostrando os quatro componentes do feromônio de agregação: I. (+)-*cis*-2-isopropenil-1-metilciclobutano-etanol; II. *cis*-2-(3,3-dimetil)-ciclohexilideno-etanol; III. *cis*-3,3-dimetilciclohexilideno-acetaldeído; IV. *trans*-3,3-dimetilciclohexilideno-acetaldeído; (A) Algodoeiro no estágio vegetativo; (B) Algodoeiro no estágio reprodutivo; (C) Folhas e caules jovens de algodoeiros no estágio reprodutivo; (D) Botões florais de algodoeiros no estágio reprodutivo. N=6.

De acordo com Hardee (1970), o bicudo-do-algodoeiro é capaz de produzir o feromônio de agregação mesmo quando se alimenta de outras

culturas, como maçã, banana, quiabo, pêssego e feijão, entretanto, o alimento mais adequado é o botão floral do algodoeiro. A remoção do botão floral da dieta do bicudo-do-algodoeiro provocou uma redução na produção do feromônio em 50%, após 1 h, e em 90%, após 24 h (Hardee, 1970). Variações na produção feromonal em função da presença e qualidade do alimento já foram observadas em outros curculionídeos, tais como o gorgulho-da-agave, *Scyphophorus acupunctatus* (Gyllenhal), (Ruiz-Montiel et al., 2003) e o gorgulho-da-pimenta, *Anthonomus eugenii* Cano, (Eller e Palmquist, 2014). No entanto, ainda existem controvérsias a respeito da utilização de componentes da planta para a biossíntese do feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro. Alguns estudos apontam que os compostos geraniol e seu isômero nerol, ambos presentes na constituição dos botões florais, podem estar envolvidos nesse processo (Hedin et al., 1971; Thompson e Mitlin, 1979; Vanderwel e Oehlschlager, 1987). Já outros estudos sugerem que o bicudo-do-algodoeiro parece não utilizar nenhum componente específico proveniente da planta para a produção do feromônio (Mitlin e Hedin, 1974).

Apesar do impasse sobre a utilização ou não de constituintes da planta para a biossíntese do feromônio de agregação, os resultados deste estudo, juntamente com os de estudos prévios, indicam que altos níveis de produção feromonal requerem acesso a botões florais ou maçãs (Hardee, 1970; Rummel e Curry, 1986; Hardee e Mitchel, 1997). Testes quimiotáticos em laboratório mostraram que os machos do bicudo-do-algodoeiro que se alimentaram de botões florais e maçãs foram mais atrativos do que os machos que se alimentaram de folhas, porém não foram realizadas coletas de voláteis dos indivíduos avaliados nesse experimento (Hardee, 1970). A maior atração observada no tratamento com machos que se alimentaram de estruturas reprodutivas da planta pode estar relacionada à produção feromonal, como observado nos resultados apresentados aqui, uma vez que os machos que se alimentaram de folhas e caules jovens não produziram quantidades detectáveis do feromônio de agregação.

Uma questão importante em estudos de avaliação da produção de feromônio em insetos é a proporção entre os componentes da mistura. Na literatura, muitos trabalhos mostram grande variabilidade entre os constituintes do feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro, a qual pode ser explicada pelas diferentes técnicas de coleta utilizadas. Estudos que usaram a extração

do feromônio através das fezes de machos apresentam maior variabilidade entre os componentes, como é o caso dos trabalhos de Tumlinson et al. (1970) (52:39:4:4) e Hedin et al. (1974) (6:6:2:1). Já em trabalhos que usaram a técnica de coleta de voláteis por aeração, as proporções na mistura feromonal foram mais constantes: Spurgeon (2003) (42:42:5:10), Spurgeon e Suh (2007) (45:42:3:10) e Spurgeon e Suh (2009) (44:43:3:10). Na aeração, utilizando plantas inteiras de algodão no estágio reprodutivo, foi observada uma variação ao longo dos quatro dias de amostragem, de modo que as maiores quantidades de feromônio obtidas foram no tempo amostral de 72 h (Figura 4-A). A composição da mistura feromonal mostrou variabilidade entre os componentes, de modo que os aldeídos III e IV foram encontrados em menores quantidades que os álcoois I e II (Kruskal-Wallis $\chi^2=8,647$, $P=0,034$) (Figura 5-A). A quantidade média de cada composto por inseto por 24 h foi: (I) 866 ng; (II) 510 ng; (III) 140 ng; (IV) 157 ng. Assim, a proporção final entre os componentes foi de 52:30:8:9. Na aeração dos botões florais, um padrão similar foi observado: o pico de produção do feromônio foi entre 48 e 72 h após o início da coleta de voláteis (Figura 5-B). Houve variabilidade ao longo do tempo na produção feromonal e, novamente, os aldeídos III e IV foram encontrados em menores quantidades que os álcoois I e II (Kruskal-Wallis $\chi^2=18,48$, $P<0,034$) (Figura 4-B).

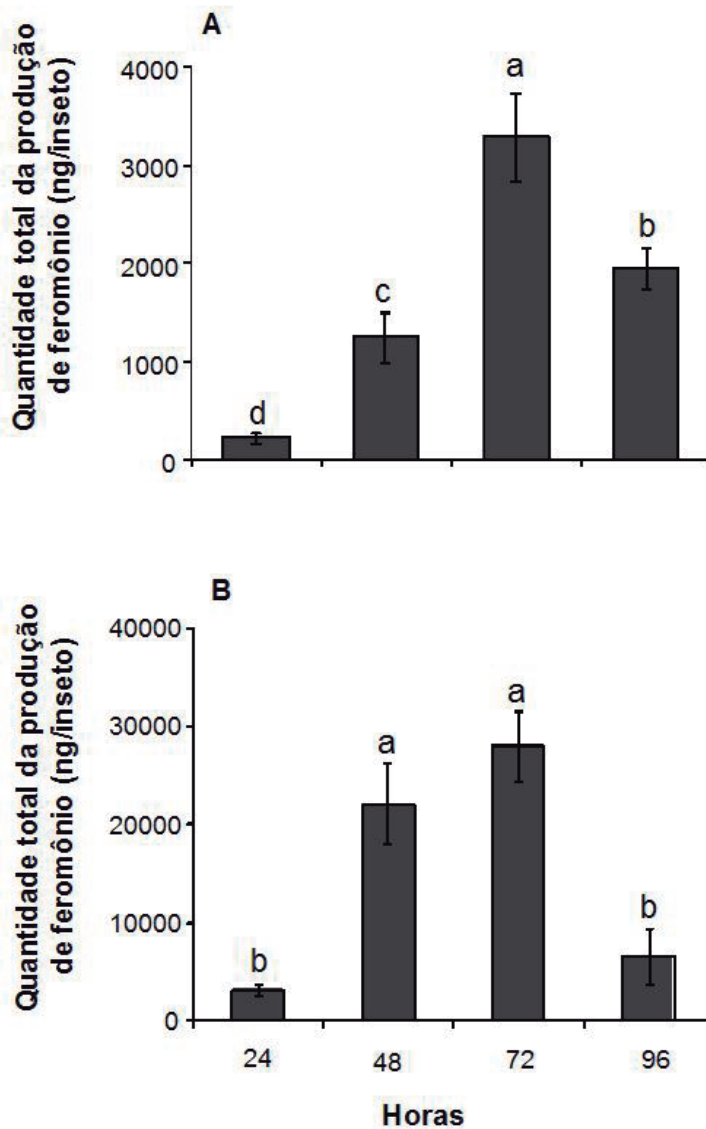


Figura 4. Quantidade total (média \pm DP) da produção de feromônio de agregação de machos de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) alimentados em algodoeiros no estágio reprodutivo (A) e em botões florais (B) ao longo de 96 h consecutivas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferiram significativamente entre si ($P > 0,05$).

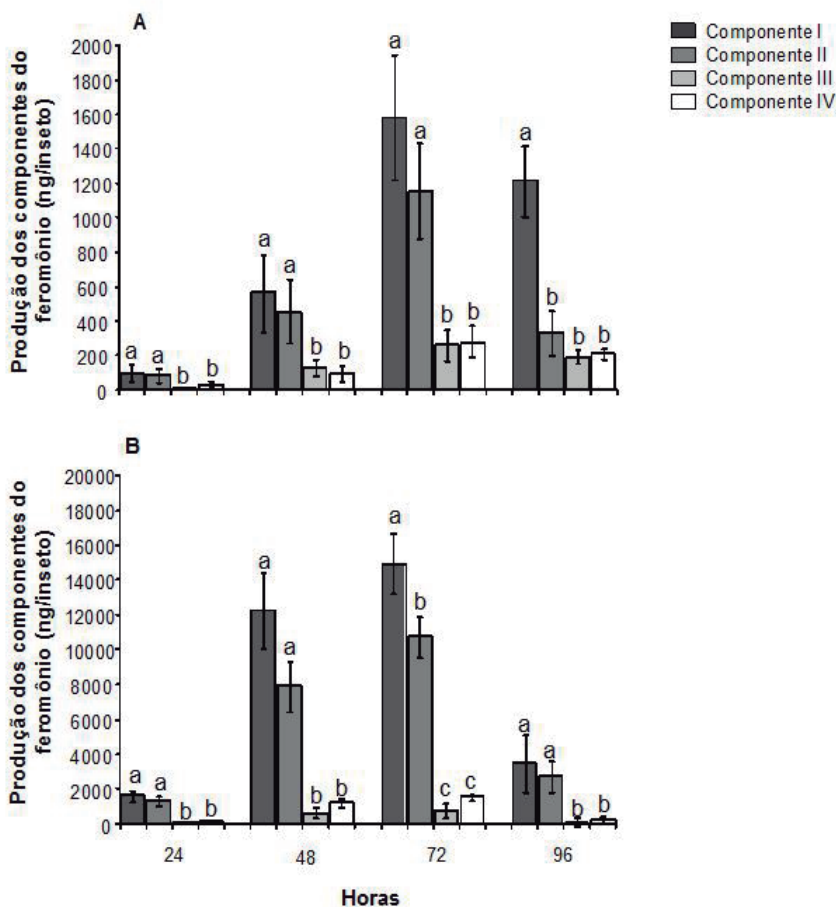


Figura 5. Quantidade produzida (média \pm DP) de cada componente do feromônio de agregação de machos de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) alimentados em algodoeiros no estágio reprodutivo (A) e em botões florais (B) ao longo de 96 h consecutivas. Componente I. (+)-*cis*-2-isopropenil-1-metilciclobutano-etanol; Componente II. *cis*-2-(3,3-dimetil)ciclohexilideno-etanol; Componente III. *cis*-3,3-dimetilciclohexilideno-acetaldeído; Componente IV. *trans*-3,3-dimetilciclohexilideno-acetaldeído). Médias seguidas pelas mesmas letras dentro de cada horário não diferiram significativamente entre si ($P > 0,05$).

A quantidade média de cada componente por inseto por 24 h foi: (I) 8350 ng; (II) 5717 ng; (III) 633 ng; (IV) 845 ng, e a proporção entre os componentes foi 54:37:4:5. É importante ressaltar que em todos os

tratamentos foram observados sinais de alimentação e deposição de fezes. Apesar da variabilidade, as proporções encontradas são consistentes com as predições de que os componentes I e II (álcoois) são produzidos em maiores quantidades do que os componentes III e IV (aldeídos) e que as proporções entre I e II são mais constantes que as proporções entre III e IV (Mitlin e Hedin, 1974). A variabilidade encontrada entre os componentes III e IV pode estar relacionada à estabilidade desses compostos, já que aldeídos são mais instáveis que os álcoois na presença de oxigênio.

Conclusão

Os machos de *A. grandis* só produzem o feromônio de agregação quando se alimentam das estruturas reprodutivas da planta, como os botões florais. Quando o bicudo-do-algodoeiro se alimenta de folhas e caules jovens, os quatro componentes do feromônio de agregação não foram detectados nas análises químicas. A produção do feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro é, portanto, influenciada pelo tipo de alimento consumido e a fenologia da planta afeta essa produção, já que os botões são encontrados apenas no estágio reprodutivo. Para se ter um entendimento mais abrangente da Ecologia Química do bicudo-do-algodoeiro, é importante explorar mais aspectos da biologia de produção do seu feromônio, como quais são os constituintes presentes nos botões florais ou maçãs que permitem a síntese do feromônio de agregação. A identificação desses constituintes pode auxiliar na transformação de cultivares que inibam a produção feromonal do bicudo-do-algodoeiro, o que reduziria os níveis populacionais nas lavouras e intensificaria a captura de indivíduos nas armadilhas.

Agradecimentos

Ao CNPq (processos N°. 465521/2014-2, 442313/2014-4), Embrapa, Fundação de Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF). Ao ICMBio, MMA pela Autorização para Atividades Científicas SISBIO nº 33976-1).

Referências

BOSA F. C.; CRUS-LÓPEZ L.; ZEPEDA-CISNEROS C. S.; VALLE-MORA J.; GUILLÉN-NAVARRO K.; LIEDO P. Sexual behaviour and male volatile compounds in wild and mass-reared strains of the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) held under different colony management regimes. **Insect Science**, v. 23, p. 105-116. 2016.

ELLER F. J.; PALMQUIST D. E. Factors affecting pheromone production by the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) and collection efficiency. **Insects**, v. 5, p. 909-920. 2014.

GUELDNER R. C.; WIYGUL G. Rhythms in pheromone production of male boll weevil. **Science**, v. 199, p. 984-986. 1978.

HARDEE D. D. Pheromone production by male boll weevils as affected by food and host factors. **Contributions from Boyce Thompson Institute**, v. 24, p. 315-321, 1970.

HARDEE D. D.; MITCHELL E. B. Boll weevil, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae): a summary of research on behavior as affected by chemical communication. **Southwestern Entomology**, v. 22, p. 466-491. 1997.

HEDIN P. A.; HARDEE D. D.; THOMPSON A. C.; GUELDNER R. C. An assessment of the lifetime biosynthesis of the male boll weevil. **Journal of Insect Physiology**, v. 20, p. 1701-1712. 1974.

HEDIN P. A.; THOMPSON A. C.; GUELDNER R. C. Constituents of the cotton bud. XXI. **Phytochemistry**, v. 10, p. 3316-3318. 1971.

LEGGETT J. E. Uso de armadilhas de feromônio para levantamento, detecção e controle do bicudo. In: BARBOSA S.; LUKEFARH M. J.; SOBRINHO R. B. (Ed.). **O Bicudo do Algodoeiro**. Brasília, DF: Embrapa Departamento de Difusão Tecnológica Documentos, 1986. p. 201-220.

MAGALHÃES D. M.; BORGES M.; LAUMANN R. A.; SUJII E. R.; MAYOR P.; CAULFIELD J. C.; MIDEGA C. A. O.; KHAN Z. R.; PICKETT J. A.; BIRKETT

M. A.; BLASSIOLI-MORAES M. C. Semiochemicals from herbivory induced cotton plants enhance the foraging behaviour of the cotton boll weevil, *Anthonomus grandis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38 p. 1528–1538, 2012.

MAGALHÃES D. M.; BORGES M.; LAUMANN R. A.; WOODCOCK C. M.; PICKETT J. A.; BIRKETT M. A.; BLASSIOLI-MORAES M. C. Influence of two acyclic homoterpenes (tetranorterpenes) on the foraging behavior of *Anthonomus grandis* Boh. **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, p. 305-315, 2016.

MAGALHÃES D.M.; BORGES M.; LAUMANN R. A.; WOODCOCK C. M.; WITHALL D. M.; PICKETT J. A.; BIRKETT M. A.; BLASSIOLI-MORAES M. C. Identification of volatile compounds involved in host location by *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae). **Frontiers in Ecology and Evolution** v. 6, p. 98, 2018.

MING Q. L.; LEWIS S. Pheromone production by male *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) is influenced by diet quality. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, p. 1915-1919, 2010.

MITLIN N.; HEDIN P. A. Biosynthesis of grandlure, the pheromone of the boll weevil, *Anthonomus grandis*, from acetate, mevalonate, and glucose. **Journal of Insect Physiology**, v. 20, p. 1825-1831, 1974.

MORAES M. C. B.; BORGES M.; PAREJA M.; VIEIRA H. G.; DE SOUZA-SERENO F. T.; LAUMANN R. A. Food and humidity affect sex pheromone ratios in the stink bug, *Euschistus heros*. **Physiological Entomology**, v. 33, p. 43-50, 2008.

PIRES C. S. S.; PIMENTA M.; DA MATA R. A.; DE SOUZA L. M.; PAULA D. P.; SUJII E. R.; FONTES E. M. G. Survival pattern of the boll weevil during cotton fallow in Midwestern Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, p. 149-160, 2017.

RIBEIRO P. A.; SUJII E. R.; DINIZ I. R.; MEDEIROS M. A.; SALGADO-LABOURIAU M. L.; BRANCO M. C.; PIRES C. S. S.; FONTES E. M. G. Alternative food sources and overwintering feeding behaviour of the boll

weevil, *Anthonomus grandis* Boehman (Coleoptera: Curculionidae), under the tropical conditions of Central Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 28-34, 2010.

RUIZ-MONTIEL C.; GONZALEZ-HERNANDEZ H.; LEYVA J.; LLANDERAL-CAZARES C.; CRUZ-LOPEZ I.; ROJAS J. C. Evidence for a male-produced aggregation pheromone in *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 96, p. 1126-113, 2003.

RUMMEL D. R.; CURRY G. L. Dinâmica populacional e níveis de dano econômico. In: BARBOSA S.; LUKEFARH M. J.; SOBRINHO R.B. (Ed.). **O Bicudo do algodoeiro**. Brasília, DF: Embrapa Departamento de Difusão Tecnológica Documentos, 1986. 220 p.

SAPPINGTON T. W.; SPURGEON D. W. Preferred technique for adult sex determination of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 93, p. 610-615, 2000.

SHMIDT, F. G. V.; MONNERAT, R. G.; BORGES, M.; CARVALHO, R. da S. **Metodologia de criação de insetos para avaliação de agentes entomopatogênicos**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 20 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular Técnica, 11).

SHOWLER A. T. Longevity and egg development of adult female boll weevils fed exclusively on different parts and stages of cotton fruiting bodies. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 127, p. 125-132, 2008.

SPURGEON D. W. Age dependence of pheromone production by the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). **Environmental Entomology**, v. 32, p. 31-38, 2003.

SPURGEON D. W.; SAPPINGTON T. W.; SUH C. P. C. A system for characterizing reproductive and diapauses morphology in the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 96, p. 1-11, 2003.

SPURGEON D. W.; SUH C. P. C. Diel patterns of pheromone production in

boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomological Science**, v. 42, p. 250-260, 2007.

SPURGEON D. W.; SUH C. P. C. Pheromone production by the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) fed cotton squares and bolls. **Journal of Entomological Science**, v. 44, p. 209-221, 2009.

THOMPSON A. C.; MITLIN N. Biosynthesis of the sex pheromone of the male boll weevil from monoterpene precursors. **Insect Biochemistry**, v. 9, p. 293-294, 1979.

TUMLINSON J. H.; HARDEE D. D.; GUELDNER R. C.; THOMPSON A. C.; HEDIN P. A.; MINYARD J. P. Sex pheromone produced by the male boll weevil: isolation, identification, and synthesis. **Science**, v. 166, p. 1010-1012, 1969.

TUMLINSON J. H.; GUELDNER R. C.; HARDEE D. D.; THOMPSON A. C.; HEDIN P. A.; MINYARD J. P. The boll weevil sex attractant. In: BEROZA, M. (Ed.). **Chemicals controlling insect behavior**. New York, NY: Academic Press, 1970. p. 44-59.

VANDERWEL D.; OEHLISCHLAGER A. C. Biosynthesis of pheromones and endocrine regulation of pheromone production in Coleoptera. In: BLOMQUIST G. J.; PRESTWICH G. D. (Ed.). **Pheromone Biochemistry**. Orlando, FL: Academic Press, 1987. p. 175-215.

WHITE J. R.; RUMMEL D. Re-emergence profile of overwintered boll weevils an entry into cotton. **Environmental Entomology**, v. 7 p. 7-14, 1978.



*Recursos Genéticos e
Biotecnologia*



CGPE: 15278