



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA**  
**E CONSERVAÇÃO**



**MORFOMETRIA GEOMÉTRICA, DIMORFISMO SEXUAL E**  
**AValiaÇÃO DA ATRATIVIDADE DE *Cratosomus flavofasciatus***  
**(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) AO FEROMÔNIO SINTÉTICO**

**PHILIPPE CORREIA SOUZA CAMPOS**

Mestrado Acadêmico

São Cristóvão  
Sergipe - Brasil  
2017

PHILIPPE CORREIA SOUZA CAMPOS

**MORFOMETRIA GEOMÉTRICA, DIMORFISMO SEXUAL E  
AVALIAÇÃO DA ATRATIVIDADE DE *Cratosomus flavofasciatus*  
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) AO FEROMÔNIO SINTÉTICO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Bianca Giuliano Ambrogi

**Coorientador:** Prof. Dr. Leandro Sousa Souto

São Cristóvão  
Sergipe - Brasil  
2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

C198m Campos, Philippe Correia Souza  
Morfometria geométrica, dimorfismo sexual e avaliação da atratividade de *Cratosomus flavofasciatus* (Coleoptera: Curculionidae) ao feromônio sintético / Philippe Correia Souza Campos ; orientadora Bianca Giuliano Ambrogli. – São Cristóvão, 2017.

67 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal de Sergipe, 2017.

1. Animais - Comportamento. 2. Anatomia - Marcas. 3. Feromônios. 4. Sentidos e sensações. I. Ambrogli, Bianca Giuliano, orient. II. Título

CDU: 574:591.5

TERMO DE APROVAÇÃO

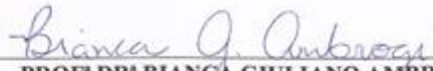
MORFOMETRIA GEOMÉTRICA, DIMORFISMO SEXUAL E  
AVALIAÇÃO DA ATRATIVIDADE DE *Cratosomus*  
*flavofasciatus* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) AO  
FEROMÔNIO SINTÉTICO

por

PHILIPPE CORREIA SOUZA CAMPOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

APROVADA pela banca examinadora composta por



PROF<sup>ª</sup> DR<sup>ª</sup> BIANCA GIULIANO AMBROGI  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da  
Universidade Federal de Sergipe



PROF<sup>ª</sup> DR<sup>ª</sup> SINARA MARIA MOREIRA  
Universidade Federal de Sergipe/ UFS



PROF. DR. GENÉSIO TÂMARA RIBEIRO  
Universidade Federal de Sergipe/ UFS

São Cristóvão/SE, 24 de fevereiro de 2017

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ser meu refúgio e fortaleza, meu socorro bem presente. “Por tudo o que tens feito, por tudo o que vais fazer, por Tuas promessas e tudo que És, eu quero Te agradecer com todo meu ser.” Obrigado por estar comigo todo tempo e jamais me desamparar nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, pela força e apoio que me deram ao longo dessa etapa na minha vida e por sempre acreditarem em mim. Jamais conseguiria sem vocês. Amo muito vocês!!

Ao meu irmão, por ficar acordado até tarde me fazendo companhia nos momentos de muito trabalho.

A minha vó, por ser a melhor vó do mundo, sempre se preocupar comigo e celebrar minha vitória.

A minha orientadora Bianca Giuliano Ambrogi e meu coorientador Leandro Sousa Souto por acreditarem em mim e sempre estarem dispostos a ajudar, desde a coleta até as análises estatísticas, pela confiança, pelo conhecimento transmitido e por me ajudar a tornar um melhor profissional. Muito obrigado!!

A Matheus e Nadja, pelo companheirismo, apoio, força, por estarem sempre dispostos a ajudar e por acreditarem em mim. Obrigado por serem tão especiais!! Amo vocês!!

Aos meus primos e grandes amigos, Daniel e Paloma, pelo apoio e preocupação e por sempre acreditarem e fortalecerem meu sonho. Obrigado por serem tão especiais!!

A Thalitta, pela preocupação constante, por toda força e incentivo, por sempre falar que eu iria conseguir. Obrigado por ser tão especial!!

A todos meus colegas de curso, em especial Ari e Meggie, que me acompanharam desde a graduação. Vocês tem um lugar especial no meu coração. Obrigado pelos ótimos momentos e também pelos momentos de desespero que compartilhamos durante esses 6 anos.

Aos professores Pablo Ariel Martinez, Anderson Leite e, principalmente, Sinara Moreira por todo auxílio nos trabalhos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos da família LABENTO.

A banca examinadora por ter aceitado o convite e pelas contribuições dadas ao trabalho.

Enfim, a todos que torceram, contribuíram e fizeram parte dessa etapa em minha vida.  
Obrigado!

“Nunca me deixes esquecer  
que tudo o que tenho,  
tudo o que sou,  
o que vier a ser,  
vem de Ti, Senhor.”

*(Ana Paula Valadão)*

## Sumário

LISTA DE FIGURA .....	7
LISTA DE TABELA .....	9
RESUMO .....	10
ABSTRACT .....	12
INTRODUÇÃO GERAL .....	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
Resumo.....	21
1. Introdução.....	22
2. Material e Métodos .....	25
2.1 Coleta dos insetos .....	25
2.2 Morfometria Geométrica .....	25
2.3 Dissecção da Genitália .....	27
2.4 Análises Estatísticas .....	27
3. Resultados e Discussão .....	29
4. Considerações Finais .....	38
5. Referências Bibliográficas .....	39
Resumo.....	45
1. Introdução.....	46
2. Material e Métodos .....	50
2.1 Coleta de insetos.....	50
2.2 Bioensaios .....	50
2.3 Análises Estatísticas .....	52
3. Resultados e Discussão .....	53
4. Considerações Finais .....	58
5. Referências Bibliográficas .....	59



# LISTA DE FIGURA

## CAPÍTULO 1

- Figura 1:** Pomar comercial de laranja onde foi realizada a coleta dos insetos adultos (Lagarto/SE).....25
- Figura 2:** Espécime de *Cratosomus flavofasciatus* fixo em estrutura de isopor coberto com massa de modelar.....26
- Figura 3:** Distribuição dos marcos anatômicos (landmarks) ao longo da porção ventral de *Cratosomus flavofasciatus*.....27
- Figura 4:** Configuração consenso (centróide) obtida a partir da análise de superposição de Procrustes.....29
- Figura 5:** Visão lateral da região abdominal de *Cratosomus flavofasciatus*. A: Macho; B: Fêmea.....29
- Figura 6:** Estruturas da genitália de fêmea (A;B) e macho (C;D) de *Cratosomus flavofasciatus*. A: Esternito VIII; B: Bursa copulatrix; C: Espícula gastral; D: Edeago com par de parâmetros.....31
- Figura 7:** Comparação de médias do tamanho de centróide de macho e fêmea de *Cratosomus flavofasciatus*.....33
- Figura 8:** Análise de componentes principais da forma de machos e fêmeas de *Cratosomus flavofasciatus*. A análise demonstra a separação dos sexos por meio do primeiro componente principal.....34
- Figura 9:** Visualização gráfica da contribuição de cada variável na variação da forma de *Cratosomus flavofasciatus*.....36

**Figura 10:** Gráfico da análise de função discriminante (DFA) quanto à forma de machos e fêmeas utilizada para comprovar dimorfismo sexual baseado na região ventral.....36

**Figura 11:** Gráfico de validação cruzada quanto à forma de machos e fêmeas para comprovar dimorfismo sexual baseado na região ventral. Diferentemente da DFA, a validação cruzada indica os indivíduos como pertencentes ao grupo oposto e observa se, ainda assim, há separação.....37

## CAPÍTULO 2

**Figura 12:** Sistema de olfatometria utilizado para realização dos bioensaios comportamentais com machos e fêmeas de *Cratosomus flavofasciatus*.....51

## LISTA DE TABELA

### CAPÍTULO 1

**Tabela 1:** Anova de Procrustes para forma geométrica de macho e fêmea de *C. flavofasciatus* (região ventral completa). Soma dos quadrados médios (SS); Quadrados médios (MS) se encontram em unidades de Procrustes (adimensionais).....32

**Tabela 2:** Anova de Procrustes para o tamanho do centróide de macho e fêmea de *C. flavofasciatus* (região ventral completa). Soma dos quadrados médios (SS); Quadrados médios (MS) se encontram em unidades de Procrustes (adimensionais).....32

**Tabela 3:** Análise de componentes principais da forma geométrica e a contribuição de cada variável na variação da forma de *Cratosomus flavofasciatus*.....35

**Tabela 4:** Quantidade de indivíduos que permaneceram em seu grupo de origem, os indicados como pertencentes ao grupo oposto. Resultado obtido por meio da validação cruzada.....37

### CAPÍTULO 2

**Tabela 5:** Respostas de machos e fêmeas de *Cratosomus flavofasciatus* as diferentes concentrações do feromônio sintético juntamente com diferentes espécies vegetais em olfatômetro em Y.....53

**Tabela 6:** Respostas de machos e fêmeas de *Cratosomus flavofasciatus* as espécies vegetais *C. curassavica* e *C. sinensis* em olfatômetro em Y.....54

## RESUMO

O conhecimento sobre a biologia e o comportamento animal é fundamental para compreensão de como determinado organismo interage com o seu ambiente. A identificação do sexo dos indivíduos é um passo essencial na execução de estudos comportamentais. Um ponto integrante do comportamento animal é a comunicação, a qual pode ser intermediada por feromônios. Dentre os vários grupos, os insetos são os animais que mais utilizam os feromônios para desempenhar suas atividades fundamentais. *Cratosomus flavofasciatus*, um coleóptero da família Curculionidae, popularmente chamado de broca-da-laranjeira, é considerado uma das principais pragas do citros, apresentando grande ocorrência em pomares sergipanos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar características morfológicas que permitam a diferenciação sexual de *C. flavofasciatus* e avaliar a atratividade de *C. flavofasciatus* aos compostos sintéticos que compõem o feromônio de agregação dessa espécie e à suas plantas hospedeiras. Para verificar o dimorfismo sexual de *C. flavofasciatus*, primeiramente foi feita uma análise de morfometria geométrica utilizando 80 indivíduos adultos de cada sexo. Foram feitos 27 marcos anatômicos (landmarks) na região ventral em cada indivíduo. Os marcos anatômicos 2, 9, 10, 11, 18 e 21 foram os que mais contribuíram para a distinção entre machos e fêmeas, os quais representam a região do rosto, a porção final do abdômen e o final do tórax. Para confirmação do sexo, foi realizada também a retirada da genitália de ambos os sexos. Nas fêmeas foi possível o reconhecimento das seguintes estruturas: esternito VIII e bursa copulatrix. Já nos machos foi possível observar a espícula gastral e o edeago com par de parâmeros. A Anova de Procrustes demonstrou diferença significativa da forma ( $P < 0,001$ ) e do tamanho (centróide) ( $P < 0,001$ ) entre os sexos, porém não houve diferença da forma em relação ao tamanho ( $P = 0,229$ ) bem como da forma em relação ao sexo em conjunto com o tamanho ( $P = 0,707$ ). A análise de componentes principais demonstrou uma evidente diferenciação entre os sexos com base na região ventral da espécie. Os dois primeiros componentes principais explicaram 51,91% (PC1 + PC2: 39,56% + 12,35%) da variação da forma. A análise de discriminantes indicou diferença significativa (teste de permutação = 10000 permutações;  $P < 0,001$ ) quanto ao dimorfismo sexual da forma da região ventral. A determinação do sexo em adultos de *C. flavofasciatus* através do último esternito abdominal é tão precisa quanto à dissecação da genitália. A resposta comportamental de *C. flavofasciatus* aos compostos feromonais sintéticos (mistura de 2-((1R, 2S)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil)etanol (grandisol), (E)-2-(3,3-

dimetilciclohexilideno)etanol (álcool E) e (Z)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol (álcool Z)) e para suas plantas hospedeiras *Cordia curassavica* (Maria-Preta) e *Citrus sinensis* (Laranjeira) foi avaliada por meio de testes olfativos realizados em um olfatômetro em “Y”. Ambos os sexos foram significativamente mais atraídos para os caules de *C. sinensis* ( $P < 0,05$ ) que para o ar filtrado. Já os testes com caules de *C. curassavica* atraíram significativamente somente os machos ( $P = 0,02$ ). Quando os insetos tiveram a oportunidade de escolher entre caules de *C. curassavica* e caules de *C. sinensis*, os machos preferiram os de *C. curassavica* ( $P = 0,01$ ), já as fêmeas não apresentaram preferência significativa ( $P > 0,05$ ). A combinação dos voláteis de *C. curassavica* e *C. sinensis* associadas ao feromônio sintético na concentração de 100ppm foi mais atrativa para ambos os sexos ( $P < 0,05$ ) que para o controle (hexano juntamente com a planta hospedeira). Por outro lado, na concentração de 10ppm, somente a associação com *C. curassavica* atraiu apenas os machos ( $P = 0,009$ ). Tais resultados podem ser utilizados como base para testes de campo, contribuindo para o desenvolvimento de um método ambientalmente seguro e eficaz para o monitoramento da broca-da-laranjeira.

**Palavras-chave:** Comportamento animal; Marcos anatômicos; Feromônio de Agregação; Olfatômetro em “Y”.

## ABSTRACT

Knowledge about biology and animal behavior is critical to understanding how a particular organism interacts with its environment. Identifying the sex of individuals is an essential step in conducting behavioral studies. An integral part of animal behavior is communication, which can be intermediated by pheromones. Within different groups, insects are the animals use pheromones the most in order to carry out their fundamental activities. *Cratosomus flavofasciatus*, a Coleoptera of the Curculionidae family, popularly called the Orange-tree-borer, is considered one of the main citrus pests, occurring in Sergipan orchards. The objective of this work was to evaluate the morphological characteristics that allow the sexual differentiation of *C. flavofasciatus* and to evaluate the attractiveness of *C. flavofasciatus* to the synthetic compounds that make up the pheromone of this species. To verify the sexual dimorphism of *C. flavofasciatus*, a geometric morphometry analysis was first made using 80 adult individuals of each sex. There were 27 landmarks in the ventral region in each individual. The anatomical landmarks 2, 9, 10, 11, 18, 21 were the ones that contributed most to the distinction between males and females, which represent the region of the rostrum, the final portion of the abdomen and the end of the thorax. For sex confirmation, a withdrawal of the genitalia of both sexes was also performed. In females it was possible to recognize the following structures: sternite VIII and bursa copulatrix. In males, it was possible to observe the gastric spicule and the aedeagus with a pair of paramero. The Procrustes Anova showed significant differences between the sexes ( $P < 0.001$ ) and the size (centroid) in relation to sex ( $P < 0.001$ ), but there was no difference in shape in relation to size ( $P = 0.229$ ) and the form in relation to sex in conjunction with the size ( $P = 0.707$ ). Principal component analysis demonstrated an evident differentiation between the genders based on the ventral region of the species. The first two main components explained 51.909% (PC1 + PC2: 39.563% + 12.346%) of the shape variation. The discriminant analysis indicated a significant difference (permutation test = 10,000 permutations;  $P < 0.001$ ) for the sexual dimorphism of the ventral region. The determination of the adult sex of *C. flavofasciatus* through the last abdominal sternum is as accurate as the dissection of the genitalia. The behavioral response of *C. flavofasciatus* to synthetic pheromonal compounds (a mixture of 2-((1R, 2S)-1-methyl-2-(prop-1-en-2-yl)cyclobutyl)ethanol (grandisol), (E)-2-(3,3-dimethyl-cyclohexylidene)ethanol (alcohol E) and (Z)-2-(3,3-dimethyl-cyclohexylidene)ethanol (alcohol Z)) and for their host plants *Cordia curassavica* (Maria-Preta) and *Citrus sinensis* (Orange Tree) were evaluated by olfactory tests performed on a Y-tube olfactometer. Both sexes were significantly more

attracted to *C. sinensis* stalks ( $P < 0.05$ ) than to filtered air. Tests with *C. curassavica* stalk attracted only males ( $P = 0.02$ ). When the insects had the opportunity to choose between *C. curassavica* stalks and *C. sinensis* stalks, males preferred those from *C. curassavica* ( $P = 0.01$ ), whereas females showed no significant preference ( $P > 0.05$ ). The combination of the *C. curassavica* and *C. sinensis* volatiles associated with the synthetic pheromone at 100ppm concentration was more attractive for both sexes ( $P < 0.05$ ) than for the control (hexane together with the host plant). On the other hand, at the concentration of 10ppm, only the association with *C. curassavica* attracted males ( $P = 0.009$ ). These results can be used as a basis for field testing, contributing to the development of an environmentally safe and effective method for monitoring orange tree borer.

**Keywords:** Animal behaviour; Landmarkds; Aggregation pheromone; Y-tube olfactometer.

## INTRODUÇÃO GERAL

Pesquisas básicas que estudam o ciclo de vida, a morfologia e a fisiologia animal são ferramentas valiosas para os estudos comportamentais e populacionais. A determinação de diferenças biométricas entre os sexos ajuda compreender melhor, por exemplo, as diferentes formas de exploração do ambiente entre machos e fêmeas, assim como os aspectos sociais e comportamentais envolvidos (Winkler & Leisler, 1985; Webster, 1997).

As análises morfológicas clássicas geralmente são limitadas a medidas como largura e comprimento. Com o progresso dos métodos estatísticos e desenvolvimento da morfometria geométrica houve o provimento de uma ferramenta eficaz para estudos relacionados à variação da forma em populações animais (Adams et al., 2004; Viscosi & Cardini, 2011). Por meio das coordenadas obtidas da marcação dos marcos anatômicos homólogos em diferentes indivíduos é extraída a representação geométrica da estrutura a ser estudada, podendo ser bidimensional ou tridimensional (Rohlf & Marcus, 1993). Estudos biológicos com diferentes táxons obtiveram sucesso com o uso da morfometria geométrica como forma de análise das variações morfológicas entre os indivíduos (Fabre et al., 2014; Xuefei et al., 2014; Oleksa & Tofilski et al., 2015; Sanaei et al., 2015a). As técnicas de morfometria geométrica, morfométricas e a sexagem são ferramentas relevantes na distinção e descrição de novas espécies (Fonseca et al., 2014). Ademais, auxiliam no manejo de insetos, contribuindo também em estudos relacionados ao acasalamento e a razão sexual (Barreto & Anjos, 1999; Silva-Filho et al., 2007).

O conhecimento sobre a biologia e o comportamento animal é fundamental para compreensão de como determinado organismo interage com o seu ambiente. Um ponto integrante do comportamento animal é a comunicação, quando há transmissão de sinais entre dois ou mais organismos. A comunicação em qualquer grupo pode ser desempenhada por diversos sinais, tais como os sonoros, táteis e visuais que desempenham um importante papel na transferência de informações. Entretanto, os compostos químicos como álcoois, ácidos carboxílicos, hidrocarbonetos, compostos aromáticos simples, derivados de aminoácidos, entre outros, apresentam um papel fundamental na comunicação entre os insetos (Francke & Dettner, 2005).

As substâncias químicas mediadoras da comunicação entre os organismos são denominadas de semioquímicos (Zarbin et al., 2009). Quando essa comunicação é interespecífica, os semioquímicos são denominados de aleloquímicos, quando a comunicação é intraespecífica são chamados de feromônios (Leal, 2005). Esses compostos vêm sendo



utilizados como medidas alternativas em diversas culturas de importância econômica com a finalidade de reduzir o uso de inseticidas no meio ambiente.

A citricultura possui grande relevância para economia brasileira, sendo o Brasil destacado como maior produtor de citros e exportador de suco de laranja no mundo. A região Nordeste é a segunda maior região produtora do país, apresentando área colhida de aproximadamente 125.000 hectares e mais de 1,6 milhão de toneladas produzidas, correspondendo a 9,6% da produção nacional (Embrapa, 2013). Entre os estados nordestinos, Sergipe é destacado como segundo maior produtor, com mais de 625.000 toneladas produzidas, e o quinto maior produtor nacional (Embrapa, 2013).

O coleóptero *Cratosomus flavofasciatus* da família Curculionidae, é conhecido popularmente como broca-da-laranjeira e se alimenta preferencialmente de plantas de laranja, *Citrus sinensis*. No estágio adulto possui coloração preta com listras amarelas no tórax e nos élitros, dimensão corporal média de 22 mm de comprimento e 11 mm de largura. A oviposição é realizada em tronco e ramos, e ao eclodirem, as larvas penetram na madeira para se alimentar, comprometendo a circulação da seiva (Nascimento, 1982). Tal espécie é considerada como uma das principais pragas do citros, apresentando grande ocorrência em pomares sergipanos (Azevedo et al., 2008).

A alta disseminação de *C. flavofasciatus* em pomar de laranja torna iminente a realização de estudos de seu comportamento. Para isso, faz-se necessário, como passo preliminar nesse estudo, a determinação do sexo em adultos. Essa identificação do sexo dos indivíduos é fundamental na execução de estudos comportamentais, de modo que seja realizada sem causar danos ou alterar o comportamento, exigindo, dessa forma, métodos de sexagem rápidos e com o mínimo de manipulação (Silva-Filho et al., 2007). Para o controle de insetos são imprescindíveis o conhecimento e os dados concernentes à diferenciação sexual (Vilela & Della Lucia, 2001).

Deve-se ressaltar que estudos sobre o dimorfismo sexual de *C. flavofasciatus* são inexistentes na literatura. Com a determinação do sexo dos indivíduos, é possível realizar estudos sobre o modo de vida da espécie, possibilitando a elaboração de técnicas para um método alternativo de manejo de populações de forma eficaz e ambientalmente segura.

Dentre os métodos de controle de pragas alternativos ao uso de inseticidas químicos, pode-se destacar a manipulação do comportamento dos insetos por meio de feromônios. A utilização de feromônios vem se destacando no monitoramento e controle de várias pragas

agrícolas (Suckling 2000; Bento 2001; Albajes et al. 2002), auxiliando no manejo das populações em campo e na minimização do uso de inseticidas.

Dentro da família Curculionidae, muitas pesquisas têm demonstrado que a comunicação é realizada por meio de feromônios de agregação produzido pelo macho, e, diversos trabalhos em campo e laboratório apontam a eficácia do uso desses compostos químicos (Zarbin et al., 2007; Ambrogi & Zarbin, 2008; Shepherd et al., 2010; Szendrei, et al., 2011; Palacio-Cortés et al., 2015; Rodríguez et al., 2016).

No Brasil, é possível destacar exemplos da utilização de feromônios visando o controle de curculionídeos em diversas plantações. A aplicação de feromônio de agregação, conhecido como Grandlure, produzido pelos machos para monitoramento do bicudo do algodoeiro, *Anthonomus grandis*, verificaram resultados positivos através de testes de campo. Nesse estudo, o pico de captura ocorreu no primeiro dia de inserção das armadilhas e os insetos continuaram sendo capturados por mais de 14 dias após a aplicação (Fernandes et al., 2001). A utilização de armadilhas em campo contendo feromônio de agregação (Rincoforol) demonstrou eficácia na captura de *Rhynchophorus palmarum*, conhecido como broca-do-olho do coqueiro. Além disso, os testes em campo comprovaram que a utilização de armadilhas de feromônio é uma opção economicamente viável, visto que, as menores taxas de liberação do feromônio Rincoforol (6-Metil-2-hepten-4-ol) foram tão eficientes quanto as maiores testadas (Navarro et al., 2002). Outros trabalhos de campo demonstraram maior captura quando houve associação do feromônio com toletes de cana (Rochat et al., 1993; Duarte et al., 2003) e frutos do abacaxi (Duarte et al., 2003).

Nesse contexto, a dissertação foi dividida em dois capítulos. O primeiro capítulo teve como objetivo avaliar características morfológicas que permitam a diferenciação sexual de *C. flavosfaciatus*. No segundo capítulo objetivou-se avaliar a atratividade de *C. flavosfaciatus* aos compostos sintéticos que compõem o feromônio de agregação dessa espécie e à suas plantas hospedeiras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, D.C.; Rohlf, F.J. & Slice, D.E. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. **Italian Journal Zoology**. 71: 5 – 16.

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 Protection**. 21: 217-225.

Ambrogi, B.C. & Zarbin, P.H.G. 2008. Aggregation pheromone in *Sternechus subsignatus* (Coleoptera: Curculionidae): Olfactory behavior and temporal pattern of emission. **Journal of Applied Entomology**. 132: 54 – 58.

Azevedo, A.G.C., Mendonça, M.C., Silva, L.M.S., Santos, F.J., Ferreira, J.M.S. 2008. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre a Broca-dos-Citros, *Cratosomus flavofasciatus* (Coleoptera: Curculionidae), em condições de laboratório. XX Congresso Brasileiro de Fruticultura; **54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, Vitória-ES.

Barreto, M.R.; Lino Neto, J. & Anjos, N. 1999. Dimorfismo e razão sexual em pupas e adultos de *Spermologus rufus* Boheman 1843 (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Ciência e Agrotecnologia**. 23: 358 – 364.

Bento, J.M.S. 2001. Fundamentos do monitoramento, da coleta massal e do confundimento de insetos-praga. In: Vilela, E.F. & Della Lucia, T.M.C. (eds), Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação. **Editora Holos, Ribeirão Preto**, p. 135-144.

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. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 25: 81 – 84.

**Embrapa Mandioca e Fruticultura 2013.** Disponível em: <[https://www.embrapa.br/documents/1355135/1529009/Laranja\\_Brasil\\_2013.pdf/5c85ffa4-f792-4db8-b1e7-2940d1cf07e5](https://www.embrapa.br/documents/1355135/1529009/Laranja_Brasil_2013.pdf/5c85ffa4-f792-4db8-b1e7-2940d1cf07e5)>. Acesso em: 20 de janeiro de 2016.

Fabre, A.C; Cornette, R.; Huyghe, K.; Andrade, D.V. & Herrel, A. 2014. Linear Versus Geometric Morphometric Approaches for the Analysis of Head Shape Dimorphism in Lizards. **Journal of Morphology**. 275: 1016 – 1026.

Fernandes, W. D.; Carvalho, S. L & Habib, M. 2001. Between-season attraction of cotton boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) adults by its aggregation pheromone. **Scientia Agricola**. 58: 229 – 234.

Fonseca, A.J.; Menezes, C.W.G.; Santos, C.A.; Júnior, S.L.A.; Fonseca, A.G. & Soares, M.A. 2014. Morfometria de pupas e adultos de *Rhinochenus stigma* Linnaeus 1758 (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Árvore**. 38: 25 – 30.

Francke, W & Dettner, K. Chemical signalling in beetles. 2005. **Topics in Current Chemistry**. 240: 85-166.

Leal, W. S. 2005. Pheromone reception. **Topics in Current Chemistry**. 240: 1 – 36.

Nascimento, A.S.do, Pragas dos citros e seu controle. Cruz das Almas. 1982 **Embrapa/CNPMPF**. 41p. (EMBRAPA-CNPMPF. Boletim de Pesquisa, 01/82).

Navarro, D. M A. F.; Murta, M. M.; Duarte, A. G.; Lima, I. S.; Nascimento, R. R. & Sant'Ana, A. E. G. 2002. Aspectos práticos relacionados ao uso do rincoforol, o feromônio de agregação da broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) no controle de pragas do coqueiro. Análise de sua eficiência em campo. **Quimica Nova**. 25: 32 – 36.

Oleksa, A. & Tofilski, A. 2015. Wing geometric morphometrics and microsatellite analysis provide similar discrimination of honey bee subspecies. **Apidologie**. 46: 49 – 60.

Palacio-Cortés, A.M.; Valente, F.; Saad, E.B.; Troger, A.; Francke, W. & Zarbin, P.H.G. 2015. (1R,2S,6R)-Papayanol, aggregation pheromone of the guava weevil, *Conotrachelus psidii*. **Journal of Brazilian Chemical Society**. 26: 784 – 789.

Rochat, D.; Descoins, C.; Malosse, C.; Nagnon, P.; Zagatti, P.; Akamou, F. & Mariau, D. 1993. Ecologie chimique des charançons des palmiers, *Rhynchophorus* spp. (Coleoptera). **Oléagineux**. 48: 225 – 236.

Rodríguez, S.A.; Pérez, M.L.P. & Nazareno, M.A. 2016. Identification of male-produced aggregation pheromone of the curculionid beetle *Acrotomopus atropunctellus*. **Bulletin of Entomological Research**. 8p.

Rohlf.F.J. & Marcus, L.F. 1993. A Revolution in Morphometrics. **Trends in Ecology & Evolution**. 8: 129 – 132.

Sanaei, E.; Seiedy, M. & Momtazi, F. 2015a. Evolutionary view on sexual dimorphism and shape variation in Iranian populations of *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae). **Zoomorphology**. 134: 541 – 552.

Shepherd, W.P.; Sullivan, B.T.; Hoosier, B.M.; Barrett, J.P. & Bauman, T.A. 2010. Characterization of an aggregation pheromone in *Hylesinus pruinosis* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Environmental Entomology**. 39: 633 – 641.

Silva-Filho, G.; Bailez, O.E. & Viana-Bailez, A.M. 2007. Dimorfismo sexual do gorgulho-da-goiaba *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**. 36: 520-524.

Suckling, D.M. 2000. Issues affecting the use of pheromones and other semiochemicals in orchards. **Crop Protection**. 19: 677-683.

Szendrei, Z.; Averill, A.; Alborn, H. & Rodriguez-Saona, C. 2011. Identification and field evaluation of attractants for the cranberry weevil, *Anthonomus musculus* Say. **Journal of Chemical Ecology**. 37: 387 – 397.

Vilela, E.F. & Della Lucia, T.M.C. 2001. Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação. **Editora Holos, Ribeirão Preto**. 206 p.

Viscosi, V. & Cardini, A. 2011. Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: a simplified protocol for beginners. **PLoS One 6:e25630**.

Webster, S.M. 1997. Extreme sexual size dimorphism, sexual selection, and the foraging ecology of montezuma oropendolas. **The Auk 114**: 570 – 580.

Winkler, H. & Leisler, B. 1985. Morphological aspects of habitat selection in birds. In: **Habitat selection in birds**. 558p.

Xuefei, L.U.; Deyan, G.E.; Lin, X.I.A; Huang, C. & Yang, Q. 2014 Geometric morphometric study of the skull shape diversification in Sciuridae (Mammalia, Rodentia). **Integrative Zoology**. 9: 231 – 245.

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. **Journal of Brazilian Chemical Society**. 18: 1048 – 1053.

Zarbin, P.H.G; Rodrigues, M.A.C.M & Lima, E.R. 2009. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**. 32: 722-731.

## CAPÍTULO 1

### **Morfometria geométrica e dimorfismo sexual de *Cratosomus flavofasciatus***

**Resumo:** O dimorfismo sexual em insetos pode estar relacionado ao tamanho, no qual um dos sexos possui maiores medidas ou diferir quanto à forma tanto corporal como de certas estruturas. Este trabalho teve como objetivo avaliar variações na forma de machos e fêmeas de *Cratosomus flavofasciatus*, bem como identificar características morfológicas externas que permitam a diferenciação sexual da espécie. A análise de morfometria geométrica foi realizada utilizando 80 indivíduos adultos de *C. flavofasciatus* de cada sexo. Foram feitos 27 marcos anatômicos (landmarks) na região ventral em cada indivíduo. A confirmação do sexo procedeu-se com a retirada da genitália. Os marcos anatômicos 2, 9, 10, 11, 18, 21 foram os que mais contribuíram para a distinção entre machos e fêmeas, os quais representam a região do rosto, porção final do abdômen e final do tórax. A retirada das genitálias tornou possível o reconhecimento de determinadas estruturas, tais como, esternito VIII e bursa copulatrix em fêmeas, espícula gastral e edeago com par de parâmeros em machos. A Anova de Procrustes demonstrou diferença significativa da forma ( $P < 0,001$ ) e do tamanho (centróide) ( $P < 0,001$ ) entre os sexos, porém não houve diferença da forma em relação ao tamanho ( $P = 0,229$ ) bem como da forma em relação ao sexo em conjunto com o tamanho ( $P = 0,707$ ). A análise de componentes principais demonstrou uma evidente diferenciação entre os sexos com base na região ventral da espécie. Os dois primeiros componentes principais explicaram 51,91% (PC1 + PC2: 39,56% + 12,35%) da variação da forma. A análise de discriminantes indicou diferença significativa (teste de permutação = 10000 permutações;  $P < 0,001$ ) quanto ao dimorfismo sexual da forma da região ventral. A determinação do sexo em adultos de *C. flavofasciatus* através do último esternito abdominal é tão precisa quanto à dissecação da genitália.

**Palavras-chave:** Características morfológicas; Marcos anatômicos; Genitália; Curculionidae, Broca-da-laranjeira.

## 1. Introdução

O dimorfismo sexual é expresso de diversas formas e está presente em todo reino animal (Gannon & Rácz, 2006; Berns, 2013). Dentre as expressões de dimorfismo sexual há o relacionado ao tamanho, onde um dos sexos possui maior estrutura geral. Uma hipótese para o desenvolvimento e evolução desse tipo de dimorfismo está correlata à competição por recursos entre os sexos (Shine, 1989). Além do dimorfismo sexual no tamanho, machos e fêmeas de determinadas espécies podem diferir entre eles quanto à forma tanto corporal como de certas estruturas (Hendry et al., 2006; Butler et al., 2007). Apesar do estudo da forma contribuir grandemente para relacionar com diversas funções como acasalamento, cuidado parental, alimentação, entre outras características funcionais, menor atenção é dada ao comparar com estudos do tamanho (Hedrick & Temeles, 1989; Gidaszewski et al., 2009; Berns & Adams, 2013).

Nos insetos, fêmeas tendem a apresentar maior tamanho corporal, garantindo algumas vantagens adaptativas como melhor cuidado parental e maior taxa de fecundidade (Anderrson, 1994; Moller & Zamora-Muñoz, 1997; Stillwell et al., 2014). Entretanto, certas espécies apresentam machos com maior tamanho corpóreo quando avaliado linearmente, mas possuindo menor massa relativa (Cepeda-Pizarro et al., 1996). Tal fato, entre outros, levou a ponderar a necessidade de técnicas avaliativas que explorem os indivíduos de forma mais complexa e holística (Alibert et al., 2001).

Nos últimos anos, abordagens morfométricas vêm sendo cada vez mais explanadas por conta de novos métodos de análises, como a morfometria geométrica (Alibert et al., 2001; Benítez et al., 2010; Benítez et al., 2011; Vergara et al., 2014; Sanaei et al., 2015a). Este método proporciona uma melhor interpretação biológica, permitindo que haja visualização e quantificação da variação morfológica em diferentes contextos ecológicos e evolutivos (Adams & Rohlf, 2000; Alibert et al., 2001; Vergara et al., 2014), havendo possibilidade do estudo da forma sem interferência dos efeitos de rotação, translação e escala dos objetos (Rohlf et al., 1996; Adams & Funk, 1997). Dentre outras utilidades, a morfometria geométrica pode ser empregada como ferramenta na separação dos sexos de uma espécie (Benítez et al., 2010; Benítez et al., 2011; Vergara et al., 2014; Sanaei et al., 2015b).

A manifestação do dimorfismo sexual em curculionídeos pode dar-se de distintas formas e em diversas regiões corporais do inseto. A abordagem desse tema na literatura demonstra algumas características constantemente utilizadas na separação dos sexos nessa família. Por exemplo, variações na tíbia anterior em machos e fêmeas de *Sternechus*



*subsignatus* Boheman (Rosado-Neto, 1987), textura e revestimento do rosto, inserção da antena no rosto, sulco esternal e últimos térgitos abdominais de *Onchoscelis germari* Boheman (Barreto & Rosado-Neto, 2012), ângulo de inclinação do último esternito abdominal e distribuições de manchas no rosto de *Cosmopolites sordidus* Germar (Roth & Willis, 1963; Longoria, 1968). Último térgito abdominal totalmente recoberto pelo penúltimo térgito em fêmeas e parcialmente recoberto em machos de *Conotrachelus psidii* Marshall, bem como a convexidade do primeiro esternito abdominal com pouca pilosidade nas fêmeas e a distribuição de pilosidade abundante em machos e escassos em fêmeas na região anterior do pronoto (Silva-Filho et al., 2007). Diferença significativa na forma do penúltimo térgito entre os sexos de *Homalinotus coriaceus* Gyllenhal (Sarro et al., 2004), presença de espinho mesocoxal em machos de *Anthonomus rubi* Herbst (Innocenzi et al., 2002), comprimento e formato do rosto em *Spermologus rufus* Boheman (Barreto et al., 1999) e *Odontocorynus* Schönherr (Prena, 2008). A presença de protuberâncias córneas no rosto de machos de espécies do gênero *Cratosomus* (Kuschel, 1945), modificação do segundo tarsômero na perna anterior de machos em espécies do gênero *Sibinia* (Clark, 1978).

Os curculionídeos pertencem à superfamília Curculionoidea, apresentando cerca de 60.000 espécies descritas (Marvaldi & Lanteri, 2005). Possuem ampla distribuição global com ocorrência desde a zona ártica até as ilhas subantárticas, florestas tropicais a desertos e de praias a topos de montanhas. Sua dieta consiste principalmente de angiospermas, podendo ser encontrados em outros grupos como gimnospermas, pteridófitas, briófitas, algas e líquens. As monocotiledôneas podem ter apresentado um papel primordial na diversificação da família Curculionidae compondo-se, possivelmente, como anfitriões ancestrais (Marvaldi et al., 2002). O reconhecimento dos adultos dessa família é realizado pela presença de uma cabeça prolongada em um rosto de comprimento variável, bem como antenas genículo-clavadas (Kuschel, 1995). A maioria dos curculionídeos são fitófagos, tanto na fase larval como na adulta (Vanin, 1999).

*Cratosomus flavofasciatus* é um coleóptero da família Curculionidae, conhecido popularmente como broca-da-laranjeira. No estágio adulto, esse inseto possui coloração preta com listras amarelas no tórax e nos élitros, dimensão corporal média de 22 mm de comprimento e 11 mm de largura. A oviposição é realizada em tronco e ramos, e ao eclodirem, as larvas penetram na madeira para se alimentar, comprometendo a circulação da seiva (Nascimento, 1982). Suas larvas possuem coloração esbranquiçada e cabeça quitinizada

de coloração amarronzada (Teodoro et al., 2014). O período larval apresenta duração média de 12 meses e suas dejeções são eliminadas a partir do orifício formado (Gallo et al., 2002).

Atualmente, para *C. flavofasciatus* não há trabalhos que evidenciem seu dimorfismo sexual. O estabelecimento de métodos de separação dos sexos é essencial como um primeiro passo para estudos em diferentes áreas. Portanto, este trabalho objetivou avaliar variações na forma de machos e fêmeas de *C. flavofasciatus*, bem como identificar características morfológicas internas e externas que permitam a diferenciação sexual da espécie, de maneira a estabelecer um método rápido e seguro para determinação do sexo em adultos.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Coleta dos insetos

Os insetos adultos de *Cratosomus flavofasciatus* foram coletados em um pomar comercial de laranja no município de Lagarto, estado de Sergipe (10°56'S, 37°34'W) (Figura 1). A coleta foi realizada durante os meses de março a setembro de 2015 e 2016, época de maior ocorrência desse inseto no campo nessa região.

Os insetos foram encaminhados para o Laboratório de Entomologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Sergipe, onde foi feita a sexagem. A confirmação do sexo procedeu-se com a retirada da genitália.



**Figura 1:** Pomar comercial de laranja onde foram realizadas as coletas dos insetos adultos (Lagarto/SE).

### 2.2 Morfometria Geométrica

Os indivíduos não-vivos foram fixados com massa de modelar em uma estrutura de isopor (Figura 2), visando a padronização da posição das estruturas corporais dos insetos, com a finalidade de realizar a captura da imagem da região ventral. As imagens foram obtidas a partir de fotografia de 80 indivíduos de cada sexo (n = 80 machos e n = 80 fêmeas). Para isso, foi utilizada uma câmera digital Canon PowerShot D20, fixada em um tripé, com o intuito de padronizar a posição da câmera e a distância entre a lente e o indivíduo.



**Figura 2:** Espécime de *Cratosomus flavofasciatus* fixada em estrutura de isopor com massa de modelar.

Em cada indivíduo fotografado foram feitos 27 marcos anatômicos (landmarks) na região ventral, de acordo com a metodologia proposta por Alibert et al. (2001) e Benítez et al. (2011) (Figura 3), utilizando preliminarmente o software TpsUtil versão 1.68, o qual cria o arquivo tps a partir das imagens e, em seguida, o TpsDig2 versão 2.17 que possui a função de determinar os marcos anatômicos (Rohlf, 2013). Após determinação dos marcos anatômicos nas imagens do arquivo tps, os dados das coordenadas cartesianas XY obtidos foram levados ao software MorphoJ versão 1.06d para realização do procedimento estatístico.



**Figura 3:** Distribuição dos marcos anatômicos (landmarks) ao longo da porção ventral de *Cratosomus flavofasciatus*.

### **2.3 Dissecação da Genitália**

A fim de realizar a retirada da genitália os insetos foram inseridos em um erlenmeyer contendo hidróxido de Potássio (10%) durante um período de 15 min a 80°C (Castañeda-Vildózola et al., 2007). Após esse tempo, os insetos foram dissecados a partir da região da pleura, por se tratar de uma estrutura menos rígida, sendo mais fácil o início do procedimento. A realização da dissecação foi auxiliada por uma lupa Motic K400 e pinças de pontas finas que facilitaram a separação das estruturas genitais. Posteriormente, as estruturas identificadas foram fotografadas em um microscópio Leica DM5500B por meio do software LAS versão 4.0.1.

### **2.4 Análises Estatísticas**

Após obtenção das coordenadas cartesianas XY para todos os marcos anatômicos, a extração da informação da forma foi realizada mediante uma análise de superposição de Procrustes (Dryden & Mardia, 1998), levando em consideração a simetria do objeto direita-esquerda. A análise de superposição de Procrustes utiliza processos de superposição (translação), rotação e proporcionalização objetivando uma configuração média dos pontos anatômicos a partir de uma unidade de tamanho de centróide gerada para cada ponto.

A diferença na forma, utilizando os fatores sexo e tamanho, e a diferença do tamanho entre os sexos, foram analisadas a partir da Anova de Procrustes (Vergara et al., 2014).

Para avaliar a diferença no tamanho do centróide entre machos e fêmeas foi utilizado Teste T ( $P < 0.05$ ) para comparação de médias.

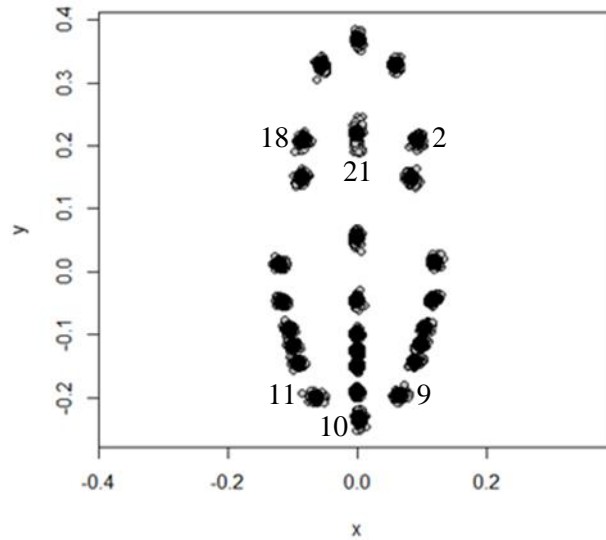
A variação da forma geométrica foi analisada por meio de uma Análise de Componentes Principais (ACP) com base nas coordenadas obtidas dos marcos anatômicos.

Com o intuito de determinar de modo preciso a existência de dimorfismo sexual foi realizada uma Análise de Função Discriminante seguida de validação cruzada.

Todas as análises foram realizadas por meio do programa morfométrico MorphoJ versão 1.06d (Klingenberg, 2011) e pelo software R (R Development Core Team 2015), versão 3.3.

### 3. Resultados e Discussão

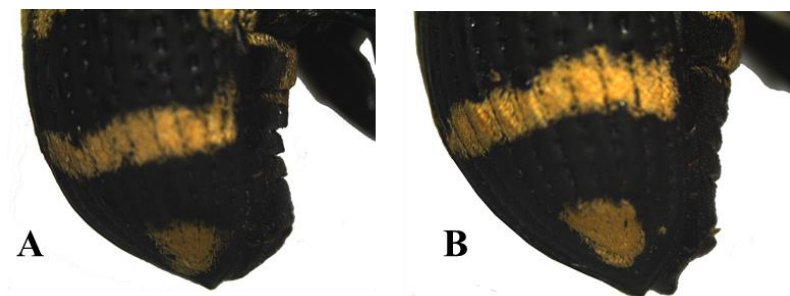
A análise de superposição de Procrustes revelou que os marcos anatômicos 2, 9, 10, 11, 18, 21 foram os que mais contribuíram para a distinção entre machos e fêmeas, visualizados a partir da configuração consenso (Figura 4). Esses marcos representam a porção final do abdômen (último esternito abdominal), final do tórax e rosto.



**Figura 4:** Configuração consenso (centróide) obtida a partir da análise de superposição de Procrustes.

O último esternito abdominal (marcos anatômicos 9, 10 e 11) possui forma arredondada (convexa) nos machos enquanto fêmeas apresentam uma depressão nessa região (côncava) (Figura 5).

Quanto à porção final do tórax (marcos anatômicos 2 e 18) os resultados indicaram que machos possuem reentrância nessa região ao passo que fêmeas não manifestam essa característica.



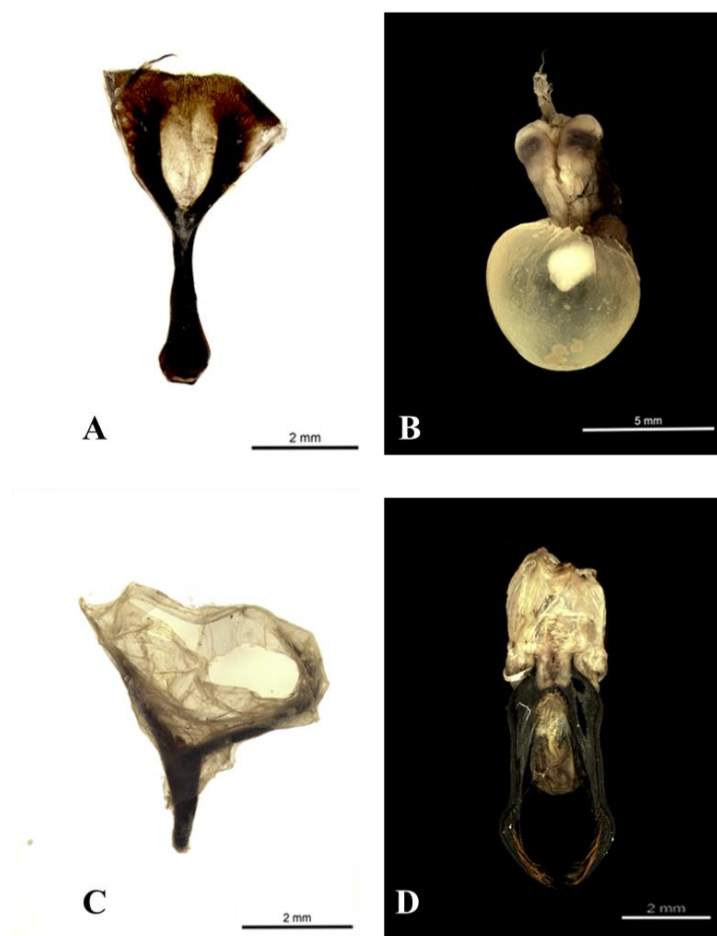
**Figura 5:** Visão lateral da região abdominal de *Cratosomus flavofasciatus*. A: Macho; B: Fêmea.

A porção final do rostro (marco anatômico 21) demonstra alta variação devido às fêmeas apresentarem rostro maior que machos, estando esse fato provavelmente correlacionado a aspectos funcionais específicos dessa estrutura em fêmeas. Além disso, as diferenças no rostro podem estar vinculadas também a mudanças no tamanho corporal. Já foi verificado que fêmeas de algumas espécies de Curculionidae utilizam o rostro para elaboração do local de postura e para deposição de substância adesiva sobre os ovos (Howden, 1995). Em *Spermologus rufus* foi relatado diferença no tamanho do rostro entre os sexos (Barreto & Anjos, 1999) e em *Hypera postica* mudanças em relação à forma (Sanaei et al., 2015a). O fato de fêmeas possuírem rostro com forma diferente e/ou maior tamanho, e conseqüentemente mais forte que machos, pode estar relacionado à realização de perfurações nos caules de *C. sinensis* para ser efetuada a postura de ovos, como observado em fêmeas de *H. postica* (Sanaei et al., 2015a).

Em *Conotrachelus psidii*, o comprimento e largura do corpo, do rostro e a largura na região do tórax são maiores nas fêmeas, enquanto que a largura do último esternito abdominal é maior nos machos (Silva-Filho et al., 2007). Essas mesmas estruturas foram destacadas em *C. flavofasciatus* por meio de morfometria geométrica, indicando fêmeas com maior comprimento de corpo e rostro, além de maior largura no tórax, visto que, machos apresentaram reentrância nessa região. Já em *Chiasognathus grantii* os segmentos abdominais apresentam-se mais largos em fêmeas e mais estreitos em machos. Além disso, foi observado também que a região protorácica em machos é mais expandida (Vergara et al., 2014). Do mesmo modo, em *Ceroglossus chilensis* fêmeas apresentam esternitos abdominais mais largos (Benítez et al., 2010). Diferença no tamanho do corpo foi observada nas espécies *Spermologus rufus* (Barreto & Anjos, 1999) e *Hypera postica* (Sanaei et al., 2015b), exibindo fêmeas maiores que machos.

A confirmação do sexo procedeu-se com a retirada das genitálias, sendo possível o reconhecimento de determinadas estruturas, tais como, esternito VIII e bursa copulatrix em fêmeas, espícula gastral e edeago com par de parâmeros em machos. (Figura 6). Ao se tratar da distinção dos sexos na fase adulta, de indivíduos da família Curculionidae, dificuldades são eminentes em sua execução, levando a recorrer a estudos das genitálias de machos e fêmeas (Castañeda-Vildózola et al., 2007). Contudo, após a separação dos sexos por meio das estruturas sexuais, torna-se possível o reconhecimento de caracteres morfológicos externos que também podem ser eficazes para essa diferenciação.





**Figura 6:** Estruturas da genitália de fêmea (A; B) e macho (C; D) de *Cratosomus flavofasciatus*. A: Esternito VIII; B: Bursa copulatrix; C: Espícula gastral; D: Edeago com par de parâmeros.

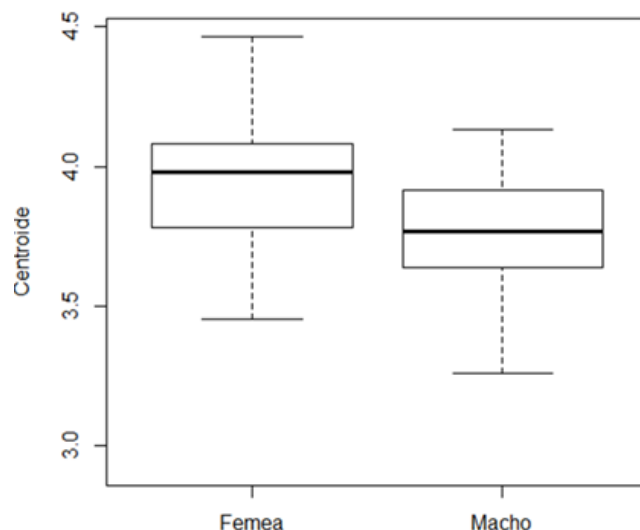
A Anova de Procrustes demonstrou diferença significativa da forma ( $P < 0,001$ ;  $F = 58.0938$ ) entre os sexos, porém não houve diferença da forma em relação ao tamanho ( $P = 0,229$ ;  $F = 1.2195$ ) bem como da forma em relação ao sexo em conjunto com o tamanho ( $P = 0,707$ ;  $F = 0.7957$ ) (Tabela 1). Houve diferença significativa do tamanho (centroide) entre os sexos ( $P < 0,001$ ;  $F = 18.637$ ) (Tabela 2; Figura 7).

**Tabela 1:** Anova de Procrustes para forma geométrica de macho e fêmea de *Cratosomus flavofasciatus* (região ventral completa). Soma dos quadrados médios (SS); Quadrados médios (MS) se encontram em unidades de Procrustes (adimensionais).

Fonte de variação	Df	SS	MS	Rsq	F	Z	P
Forma vs Sexo	1	0.053190	0.053190	0.268817	58.0938	24.3541	< 0.001*
Forma vs Tamanho	1	0.001117	0.001117	0.005643	1.2195	1.1368	0.229
Forma vs Sexo + Tamanho	1	0.000729	0.000729	0.003682	0.7957	0.7616	0.707
Resíduos	156	0.142831	0.000916	----	----	----	----
Total	159	0.197867	----	----	----	----	----

**Tabela 2:** Anova de Procrustes para o tamanho do centróide de macho e fêmea de *Cratosomus flavofasciatus* (região ventral completa). Soma dos quadrados médios (SS); Quadrados médios (MS) se encontram em unidades de Procrustes (adimensionais).

Fonte de variação	Df	SS	MS	Rsq	F	Z	P
Tamanho vs Sexo	1	1.1046	1.10457	0.10551	18.637	9.2147	< 0.001*
Resíduos	158	9.3641	0.05927	----	----	----	----
Total	159	10.4687	----	----	----	----	----



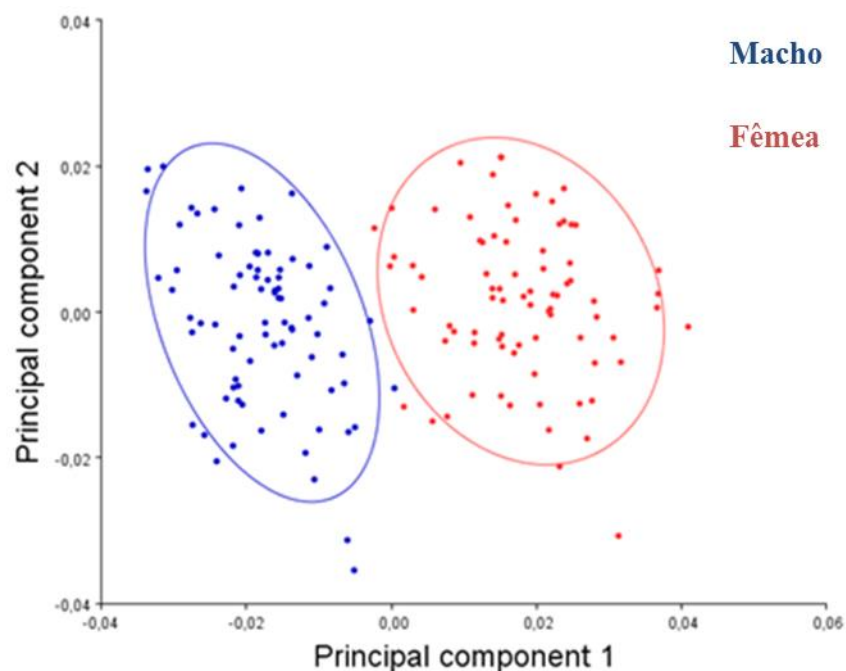
**Figura 7:** Comparação de médias do tamanho de centróide de macho e fêmea de *Cratosomus flavofasciatus*.

A variação fenotípica em animais referente ao dimorfismo sexual é uma das fontes mais importante de estudo para biologia evolutiva (Benítez, 2013b). O dimorfismo sexual no tamanho é um fenômeno habitualmente encontrado nos insetos, expresso com fêmeas maiores que macho (Colgoni & Vamosi, 2006; Stillwell et al., 2014), assim como observado em fêmeas de *C. flavofasciatus*, e a quantificação do tamanho corporal é possível ser realizada na morfometria por meio do tamanho do centróide (Dryden & Mardia 1998, Toro-Ibacache et al., 2010). Entretanto, estudos do dimorfismo sexual na forma são relativamente recentes (Benítez et al., 2010; Benítez et al., 2011; Benítez, 2013a; Vergara et al., 2014; Sanaei et al., 2015a). Pesquisas voltadas para o dimorfismo sexual na forma são decisivas para determinação das pressões evolutivas deste fenômeno em cada táxon (Benítez, 2013b). Essas diferenças existentes na forma de determinadas estruturas possuem relação com aspectos funcionais e características da história de vida (Vergara et al., 2014).

Características morfológicas podem ser empregadas a fim de denotar diferenças significativas entre os sexos (Sanaei et al., 2015a). A compreensão da variação morfológica em caracteres homólogos entre os sexos que permite desvelar a direção das pressões seletivas, possibilitando a elaboração de hipóteses sobre a questão (Tatsuta et al., 2004). A seleção de fecundidade é a hipótese evolutiva geral empregada para explicar o dimorfismo sexual com fêmeas maiores (Fairbairn & Preziosi, 1994). A hipótese da vantagem de fecundidade afirma que fêmeas maiores são capazes de produzir mais descendentes do que fêmeas menores, fornecendo a sua prole condições favoráveis pelo aumento de frequência dessa característica

mais vantajosa, por meio de seleção direcional (Andersson, 1994). Desse modo, o fato das fêmeas apresentarem-se maiores em *C. flavofasciatus* deve estar relacionado a esse aspecto, ou seja, em virtude da seleção de fecundidade o maior tamanho corporal proporciona maior quantidade de ovos que podem ser carregados, assegurando maior prole, além de maior capacidade de acúmulo de recursos e cuidado parental, fazendo com que fêmeas maiores sejam selecionadas (Cepeda-Pizarro, 1996; Liao et al., 2013). Em resposta a alta pressão dessa seleção, os insetos comumente exibem fêmeas maiores que machos (Stillwell et al., 2014). Outro aspecto comportamental intrínseco ao maior tamanho corporal observado em fêmeas é devido ao comportamento de montagem realizado pelo macho durante a cópula, tornando uma característica morfológica necessária a fêmeas (Kamiya et al., 2015).

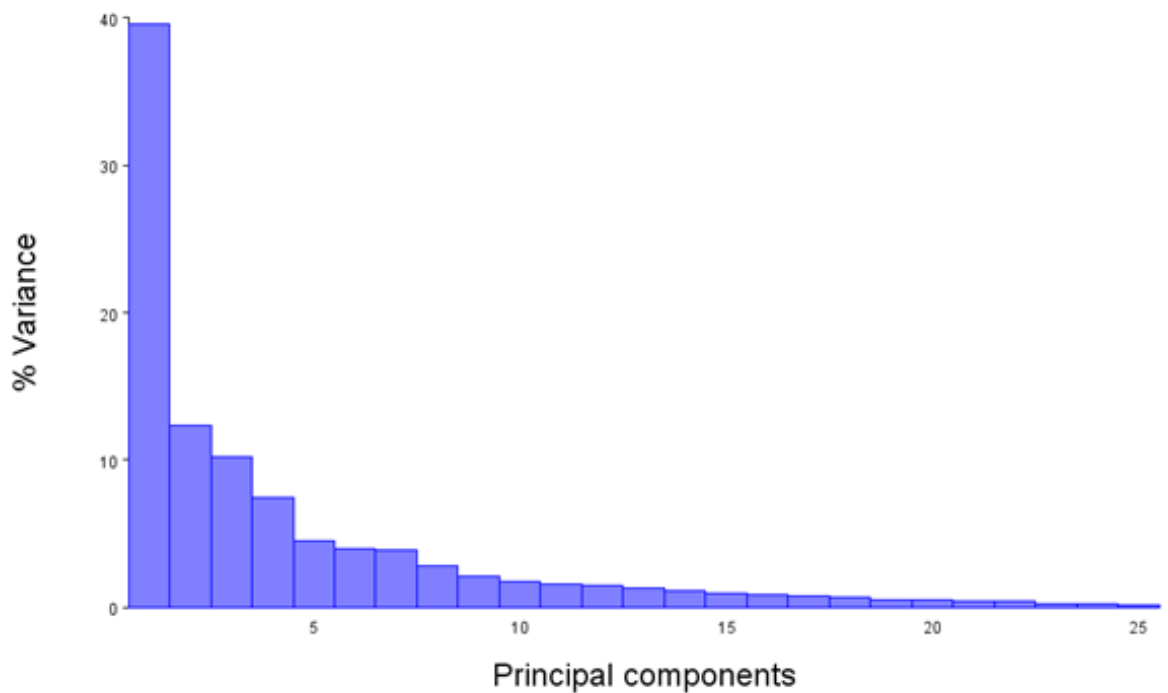
A análise de componentes principais demonstrou uma evidente diferenciação entre os sexos com base na região ventral da espécie (Figura 8). Os dois primeiros componentes principais explicaram 51,91% (PC1 + PC2: 39,56% + 12,35%) da variação da forma de *C. flavofasciatus* (Figura 9; Tabela 3), sendo que o primeiro componente principal expressou notório destaque. Os demais 23 componentes expressaram juntos menos que 49% da variação.



**Figura 8:** Análise de componentes principais da forma de machos e fêmeas de *Cratosomus flavofasciatus*. A análise demonstra a separação dos sexos por meio do primeiro componente principal.

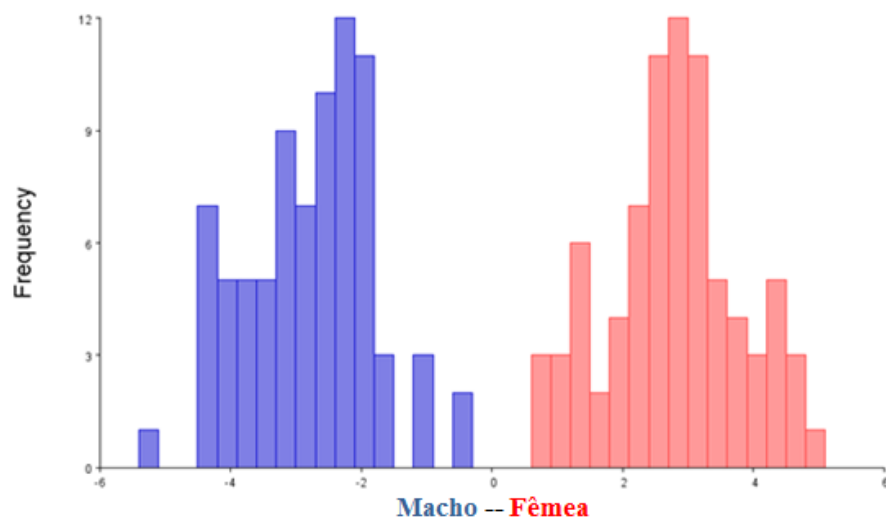
**Tabela 3:** Análise de componentes principais da forma geométrica e a contribuição de cada variável na variação da forma de *Cratosomus flavofasciatus*.

<b>Componentes</b>	<b>Autovalores</b>	<b>% Variância</b>	<b>% Acumulada</b>
1	0,00038945	39,563	39,563
2	0,00012153	12,346	51,909
3	0,00010044	10,203	62,112
4	0,00007364	7,481	69,593
5	0,00004447	4,517	74,110
6	0,00003951	4,013	78,123
7	0,00003861	3,922	82,045
8	0,00002741	2,784	84,830
9	0,00002095	2,129	86,958
10	0,00001679	1,706	88,664
11	0,00001588	1,614	90,277
12	0,00001470	1,494	91,771
13	0,00001246	1,266	93,037
14	0,00001100	1,117	94,154
15	0,00000972	0,987	95,141
16	0,00000882	0,896	96,037
17	0,00000781	0,793	96,830
18	0,00000702	0,713	97,543
19	0,00000511	0,519	98,062
20	0,00000470	0,477	98,539
21	0,00000408	0,414	98,953
22	0,00000383	0,390	99,343
23	0,00000269	0,274	99,616
24	0,00000226	0,230	99,846
25	0,00000152	0,154	100,000

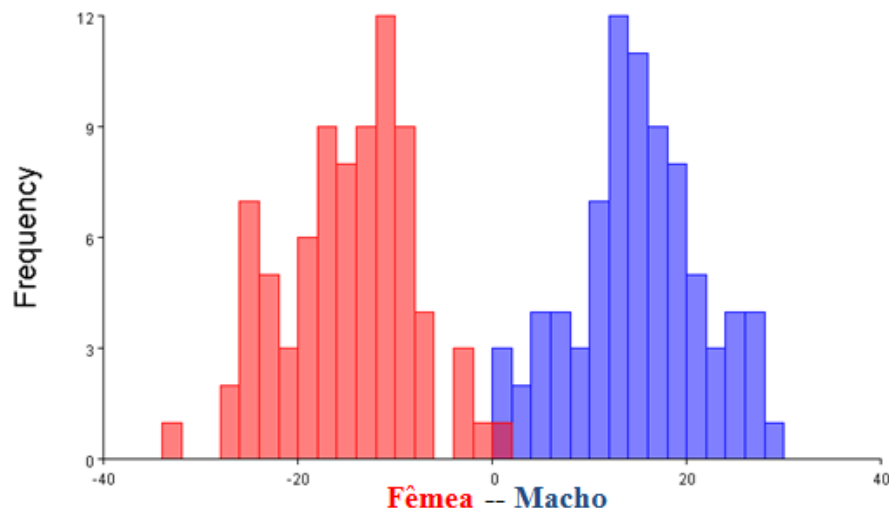


**Figura 9:** Visualização gráfica da contribuição de cada variável na variação da forma de *Cratosomus flavofasciatus*.

A análise de discriminantes indicou diferença significativa (teste de permutação = 10000 permutações;  $P < 0.001$ ) quanto ao dimorfismo sexual da forma da região ventral (Figura 10). A análise de validação cruzada demonstrou uma pequena sobreposição em decorrência de um indivíduo do grupo de macho estar dentro do grupo de fêmea (Figura 11; Tabela 4).



**Figura 10:** Gráfico da análise de função discriminante (DFA) quanto à forma de machos e fêmeas utilizada para comprovar dimorfismo sexual baseado na região ventral.



**Figura 11:** Gráfico de validação cruzada quanto à forma de machos e fêmeas para comprovar dimorfismo sexual baseado na região ventral. Diferentemente da DFA, a validação cruzada indica os indivíduos como pertencentes ao grupo oposto e observa se, ainda assim, há separação.

**Tabela 4:** Quantidade de indivíduos que permaneceram em seu grupo de origem, os indicados como pertencentes ao grupo oposto. Resultado obtido por meio da validação cruzada.

Grupo	Macho	Fêmea	Total
Macho	79	1	80
Fêmea	0	80	80

O motivo pode estar relacionado a essa possível fêmea ser imatura e não apresentar o corpo totalmente desenvolvido, apresentando, dessa forma, um tamanho corporal semelhante ao de machos da espécie. Do mesmo modo, pode se tratar de um macho que manifestou alto desenvolvimento corporal, alcançando medidas semelhantes às fêmeas.

Em virtude das mudanças no tamanho do rosto não serem totalmente confiáveis para uma separação eficaz e juntamente ao fato da porção final do tórax apresentar sutil diferença da forma, torna-se, dentre as características observadas, o último esternito abdominal o mais indicado para separação de machos e fêmeas de *C. flavofasciatus*, pois essa estrutura possui maior facilidade de distinção.

#### **4. Considerações Finais**

A determinação do sexo em adultos de *C. flavofasciatus* através do último esternito abdominal é tão precisa quanto à dissecação da genitália. A referida técnica é relativamente rápida e exige pouca manipulação dos insetos. Desse modo, essa técnica e as informações descritas contribuem com estudos biológicos, ecológicos e comportamentais.

A diferença presente na região do tórax é sutil, portanto, não é uma característica facilmente observada para distinção dos sexos, sendo observada apenas por meio de morfometria geométrica.

Os resultados encontrados demonstraram diferenças relacionadas ao tamanho do rostro entre os sexos. Como mencionado anteriormente, tamanho é um parâmetro pouco confiável devido à variação intrasexual que pode ocorrer, além de diferença em relação à idade do inseto.

Estudos futuros de morfometria geométrica que considerem separadamente essas estruturas contribuirão grandemente para melhor compreensão sobre a variação sexual entre indivíduos de *C. flavofasciatus*.



## 5. Referências Bibliográficas

Adams, D. & Rohlf, F.J. 2000. Ecological character displacement in *Plectodon*: biomechanical differences found from a geometric morphometric study. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 97: 4106 – 4111.

Adams, D.; Funk, D.J. 1997. Morphometric inferences on sibling species and sexual dimorphism in *Neochlamisus bebbianae* leaf beetles: Multivariate applications of the thin-plate spline. **Systematic Biology**. 46: 180 – 194.

Alibert, P.; Moureau, B.; Dommergues, J. L.; David, B. 2001. Differentiation at a microgeographical scale within two species of ground beetle, *Carabus auronitens* and *C. nemoralis* (Coleoptera, Carabidae): a geometrical morphometric approach. **Zoologica Scripta**. 30: 299 - 311.

Andersson, M., 1994, Sexual selection. **Princeton**: Princeton University Press. 624p.

Barreto, M.R. & Rosado-Neto, G.H. 2012. Dimorfismo sexual de *Onchoscelis germari* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae). **EntomoBrasilis**. 5: 242 – 245.

Barreto, M.R.; Anjos, N. 1999. *Spermologus rufus* Boheman 1843 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotécnica**. 23: 358 – 364.

Barreto, M.R.; Lino Neto, J. & Anjos, N. 1999. Dimorfismo e razão sexual em pupas e adultos de *Spermologus rufus* Boheman 1843 (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Ciência e Agrotecnologia**. 23: 358 – 364.

Benítez, H. A. 2013a. Assessment of patterns of fluctuating asymmetry and sexual dimorphism in carabid body shape. **Neotropical Entomology**. 42: 164 – 169.

Benítez, H.A. 2013b. Sexual dimorphism using geometric morphometric approach. In: **Sexual dimorphism. InTech Open Science**. pp: 35 – 50. doi:10.5772/55195.

Benítez, H. A.; Briones, R. & Jerez, V. 2011. Intra and interpopulation morphological variation of shape and size of the Chilean magnificent beetle, *Ceroglossus chilensis* in the Baker River Basin, Chilean Patagonia. **Journal of Insect Science**. 11: 94. doi: 10.1673/031.011.9401.

Benítez, H.A.; Vidal, M.; Briones, R. & Jerez, V. 2010. Sexual dimorphism and morphological variation in populations of *Ceroglossus chilensis* (Eschscholtz, 1829) (Coleoptera: Carabidae). **Journal of the Entomological Research Society**. 12: 87 – 95.

Berns, C.B. & Adams, D.C. 2013. Becoming different but staying alike: Patterns of sexual size and shape dimorphism in bills of hummingbirds. **Evolutionary Biology**. 40: 246 – 260.

Berns, C.M. 2013. The evolution of sexual dimorphism: understanding mechanism of sexual shape differences. In: **Sexual dimorphism. InTech Open Science**. pp: 1 – 16. doi:10.5772/55195.

Butler, M.A.; Sawyer, S.A. & Losos, J.B. 2007. Sexual dimorphism and adaptive radiation in *Anolis* lizards. **Nature**. 447: 202 – 205.

Castañeda-Vildózola, A.; Valdez-Carrasco, J.; Equihua-Martínez, A.; González-Hernández, H.; Romero-Nápoles, J.; Solís-Aguilar, J. F. & Ramírez-Alarcón, S. 2007 Genitalia de três especies de *Heilipus* Germar (Coleoptera: Curculionidae) que dañan frutos de aguacate (*Persea americana* Mill) en México y Costa Rica. **Neotropical Entomology**. 36: 914 – 918.

Cepeda-Pizarro, J.; Vásquez, H.; Veas, H. & Colon, G.O. 1996. Relaciones entre tamaño corporal y biomasa en adultos de Tenebrionidae (Coleoptera) de la estepa costera del margen meridional del desierto chileno. **Revista Chilena de Historia Natural**. 69: 67 – 76.

Clark, W.E. 1978. The weevil genus *Sibinia* Germar: natural history, taxonomy, phylogeny, and zoogeography, with revision of the new world species (Coleoptera: Curculionidae). **Quaestiones Entomologicae**. 14: 91-387.

Colgoni, A. & Vamosi, S. M. 2006. Sexual dimorphism and allometry in two seed beetles (Coleoptera: Bruchidae). **Entomological Science**. 9: 171 – 179.

Dryden , I. L.; Mardia , K. V. 1998. Statistical shape analysis. **Wiley**, Chichester. 347 p.

Fairbairn, D.J. & Preziosi, R.F. 1994. Sexual selection and the evolution of allometry for sexual size dimorphism in the water strider, *Aquarius remigis*. **The American Naturalist**. 144: 101–118.

Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Batista, 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. **Piracicaba: Fealq**. 920p.

Gannon, W.L.; Rácz, G.R. 2006. Character displacement and ecomorphological analysis of two long-eared *Myotis* (*M. auriculus* and *M. evotis*). **Journal of Mammalogy**. 87: 171 – 179.

Gidaszewski, N.A.; Baylac, M. & Klingenberg CP. 2009. Evolution of sexual dimorphism of wing shape in the *Drosophila melanogaster* subgroup. **BMC Evolutionary Biology**. 9:110. 11p. doi:10.1186/1471-2148-9-110.

Hedrick, A.V. & Temeles, E.J. 1989. The evolution of sexual dimorphism in animals: hypotheses and tests. **Trends in Ecology & Evolution**. 4: 136 – 138.

Hendry, A.P.; Grant, P.R.; Grant, B.R.; Ford, H.A.; Brewer, M.J. & Podos, J. 2006. Possible human impacts on adaptive radiation: beak size bimodality in Darwin's finches. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**. 273:1887 – 1894.

Howden, A.T. 1995. Structures related to oviposition in Curculionoidea. In: Anderson, R.S.; Lyal, C.H. (eds.). Biology and phylogeny of Curculionoidea. *Memoirs Entomology Society of Washington*. 14: 53 - 100.

Innocenzi, P.J.; Hall, D.R.; Cross, V.J. & Green, S.V. 2002. Sexing adults of the strawberry blossom weevil *Anthonomus rubi* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Applied Entomology**. 126: 159 – 160.

- Kamiya, A.C.; Silva, W.D.; Leite, M.O.G.; Tironi, P.; Wadt, L. & Bento, J.M.S. 2015 Mating behavior and evidence for male-produced aggregation pheromone in *Cyrtomon luridus* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae: Entiminae). **Journal of Insect Behavior**. 28: 55 – 66.
- Klingenberg , C. P. 2011. MORPHOJ: an integrated software package for geometric morphometrics. **Molecular Ecology Resources**. 11: 353-357.
- Kuschel, G. 1945. Aportes Entomológicos (II) (Coleop. Curculionidae). **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**. 13: 359 – 381.
- Kuschel, G. 1995. A phylogenetic classification of Curculionoidea to families and subfamilies. **Memoirs of the Entomological Society of Washington**. 14: 5-33.
- Liao, W.B.; Zeng, Y.; Zhou, C.Q. & Jehle, R. 2013. Sexual size dimorphism in anurans fails to obey Rensch's rule. **Frontiers in Zoology**. 7p. doi: 10.1186/1742-9994-10-10.
- Longoria, A.G.G. 1968. Diferencias sexuales en la morfología externa de *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera:Curculionidae). **La Habana**. 1: 1 – 11.
- Marvaldi, A.E. & Lanteri, A.A. 2005. Key to taxa of South American weevils based on adult characters (Coleoptera, Curculionoidea). **Revista Chilena de Historia Natural**. 78: 65-87.
- Marvaldi, A.E.; Sequeira, A.S.; O'Brien, C.W. & Farrel, B.D. 2002. Molecular & morphological phylogenetics of weevils (Coleoptera, Curculionoidea): do niche shifts accompany diversification? **Systematic Biology**. 51: 761 – 785.
- Moller, A.P. & Zamora-Muñoz, C. 1997. Antennal asymmetry and sexual selection in a cerambycid beetle. **Animal Behaviour**.54: 1509 – 1515.
- Nascimento, A.S.do, Pragas dos citros e seu controle. Cruz das Almas. 1982 **Embrapa/CNPMPF**. 41p. (EMBRAPA-CNPMPF. Boletim de Pesquisa, 01/82).
- Prena, J. 2008. Review of *Odontocorynus* Schönherr (Coleoptera: Curculionidae: Baridinae) with descriptions of four new species. **The Coleopterists Bulletin**. 62: 243 – 277.

Rohlf, F.J. 2013.tpsDig2, Version 2.17.**Department of Ecology and Evolution**, State University of New York, Stony Brook.

Rohlf, F.J.; Loy, A. & Corti, M. 1996.Morphometric analysis of Old World Talpidae (Mammalia, Insectivora) using partial warp scores.**Systematic Biology**.45: 344 – 362.

Rosado-Neto, G.H. 1987. Dimorfismo sexual e distribuição geográfica de *Sternechus subsignatus* Boheman, 1836 (Coleoptera: Curculionidae) no Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. 16: 199 – 204.

Roth, L.M. & Willis, E.R. 1963.The humidity behavior of *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). **Annals of the Entomological Society America**. 56: 41 – 52.

Sanaei, E.; Seiedy, M. & Momtazi, F. 2015a. Evolutionary view on sexual dimorphism and shape variation in Iranian populations of *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae). **Zoomorphology**. 134: 541 – 552.

Sanaei, E.; Seiedy, M. & Momtazi, F. 2015b. A uni and multivariate analysis approach to reveal sexual size dimorphism in Iranian populations of *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae). **Biologia**. 70: 1228 – 1233.

Sarro, F.B.; Crocomo, W.B. & Ferreira, J.M.S. 2004. Aspectos da biologia e morfologia da bronca do pedúnculo floral do coqueiro, *Homalinotus coriaceus* (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**. 33: 7 – 12.

Shine, R. 1989. Ecological Causes for the Evolution of Sexual Dimorphism: A Review of the Evidence. **The Quarterly Review of Biology**. 64: 419 – 461.

Silva-Filho, G.; Bailez, O.E. & Viana-Bailez, A.M. 2007. Dimorfismo sexual do gorgulho-da-goiaaba *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**. 36: 520-524.

Stillwell, R.C.; Daws A. & Davidowitz, G. 2014. The ontogeny of sexual size dimorphism of a moth: when do males and females grow apart? **PLoS One**. 9: e106548. doi:10.1371/journal.pone.0106548. 7p.

Tatsuta. H.; Mizota, K.; Akimoto, S.I. 2004. Relationship between size and shape in the sexually dimorphic beetle *Prosopocoilus inclinatus* (Coleoptera: Lucanidae). **Biological Journal of the Linnean Society**. 81: 219 – 233.

Teodoro, A.V.; Mendonça, M.C.; Nascimento, A.S.; Silva, L.M.S. & Farias, A.P. 2014. Características e medidas de controle das principais pragas dos citros, nos Estados da Bahia e Sergipe. **Comunicado Técnico 142**. ISSN 1678- 1937. 8p.

Toro-Ibacache, M.V.; Manriquez, G. & Suazo, I. 2010. Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: De la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. **International Journal of Morphology**. 28: 977 – 990.

Vanin, S.A. 1999. In: Brandão C. R. F. & Canello. E. Invertebrados terrestres. Biodiversidade no estado de São Paulo: síntese do conhecimento ao final do século XX. Joly, C. A. & Bicudo, C. E. M. **FAPESP**. 5: 133 – 140.

Vergara, O.P.; Benítez, H.A.; Pincheira, M. & Jerez, V. 2014. Determinación del dimorfismo sexual en la forma corporal de *Chiasognathus grantii* (Coleoptera: Lucanidae). **Revista Colombiana de Entomología**. 40: 104 – 110.

## CAPÍTULO 2

### **Avaliação da atratividade de *Cratosomus flavofasciatus* ao feromônio sintético**

**Resumo:** Os insetos são os animais que mais utilizam as substâncias químicas para desempenhar suas atividades vitais. Os sinais químicos envolvidos na comunicação intraespecífica são denominados feromônios. Por se tratarem de substâncias com a capacidade de influenciar o comportamento dos insetos, os feromônios têm grande potencial no monitoramento e controle de insetos considerados pragas. Dos diversos insetos que se alimentam da laranja, *Citrus sinensis*, podendo causar grandes prejuízos, pode-se destacar a broca-da-laranja, *Cratosomus flavofasciatus* (Coleoptera: Curculionidae). Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi verificar a atratividade de *C. flavofasciatus* aos compostos sintéticos que compõem o feromônio de agregação dessa espécie e à suas plantas hospedeiras. A resposta comportamental de *C. flavofasciatus* aos compostos feromonais sintéticos (mistura de 2-((1*R*, 2*S*)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil)etanol (grandisol), (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol (álcool *E*) e (*Z*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol (álcool *Z*)) e para suas plantas hospedeiras *Cordia curassavica* (Maria-Preta) e *Citrus sinensis* (Laranja) foi avaliada por meio de testes olfativos realizados em um olfatômetro em “Y”. Ambos os sexos foram significativamente mais atraídos para os caules de laranja ( $P < 0,05$ ) que para o ar filtrado. Já os testes com caules de maria-preta atraíram significativamente somente os machos ( $P = 0,02$ ). Quando os insetos tiveram a oportunidade de escolher entre caules de maria-preta e caules de laranja, os machos preferiram os de maria-preta ( $P = 0,01$ ), já as fêmeas não apresentaram preferência significativa ( $P > 0,05$ ). A combinação dos voláteis de maria-preta e laranja associadas ao feromônio sintético na concentração de 100ppm foi mais atrativa para ambos os sexos ( $P < 0,05$ ) do que para o controle (hexano juntamente com a planta hospedeira). Por outro lado, na concentração de 10ppm, somente a associação com maria-preta atraiu apenas os machos ( $P = 0,009$ ). Tais resultados podem ser utilizados como base para testes de campo, contribuindo para o desenvolvimento de um método ambientalmente seguro e eficaz para o monitoramento da broca-da-laranja.

**Palavras-chave:** Semioquímicos; Olfatômetro Y; Broca-da-laranja.

## 1. Introdução

A definição do comportamento de um inseto pode dar-se pela forma com a qual ele se ajusta e interage com todo ambiente, englobando as relações com membros de sua própria espécie, membros de outras espécies e com o ambiente físico (Matthews & Matthews, 2010). Os aspectos etológicos nos insetos são dirigidos por uma série de interações que envolvem os sinais físicos e químicos do ambiente (Dickens, 2002). Dentre os animais, os insetos são aqueles que mais utilizam as substâncias químicas do meio ambiente, posto que, tais substâncias desempenham funções em acasalamento, defesa, seleção de hospedeiro, organização de atividades, entre outros tipos de comportamento (Vilela & Della Lúcia, 2001).

Um ponto integrante do comportamento animal é a comunicação, em que há transmissão e recepção de sinais entre os indivíduos. Nessa comunicação pode haver benefícios apenas para o emissor, em outras apenas para o receptor, ou ainda para ambos (Nascimento & Sant'Ana, 2001). Essas substâncias que desencadeiam respostas nos receptores são denominadas de semioquímicos (Zarbin et al., 2009). Quando os compostos estão envolvidos em comunicação intraespecífica, ou seja, emissão e recepção de sinais químicos entre indivíduos da mesma espécie são denominados feromônios. Contudo, quando a comunicação é realizada entre espécies diferentes, designada como relação interespecífica, estes compostos são denominados aleloquímicos (Leal, 2005).

Os feromônios, dentre diversas outras funções, têm um papel essencial na reprodução. Os feromônios sexuais são produzidos por um dos sexos da espécie e desempenham função de atração do sexo oposto para a cópula (Zarbin et al., 2009). Do mesmo modo, a maioria dos feromônios de agregação também possui papel no acasalamento, entretanto, são produzidos, de forma significativa, apenas na presença de alimentos e atraem tanto fêmeas como machos, havendo custo para o macho emissor, visto que, há atração simultânea de machos oportunistas, aumentando a competição por alimento e acasalamento (Birkinshaw & Smith, 2000). Esses feromônios de agregação são emitidos a fim de agrupar indivíduos antes do desempenho de atividades como alimentação, reprodução ou hibernação e apresentam-se geralmente em insetos de vida longa (Vilela & Della Lucia, 2001). O acasalamento dos insetos exprime maior probabilidade de sucesso quando há agregação, demonstrando uma relação entre feromônios sexuais e feromônios de agregação (Vilela & Della Lucia, 2001).

A maioria dos feromônios de agregação já identificada está dentro da ordem Coleoptera, principalmente na família Curculionidae (Ambroggi et al., 2009). Os feromônios relatados em curculionídeos são predominantemente produzidos pelos machos e usualmente



atraem ambos os sexos (Bartelt, 1999). Nos curculionídeos, os feromônios são constituídos por compostos químicos que 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).

Devido ao seu hábito fitófago, muitas espécies de curculionídeos são consideradas importantes pragas de diversas culturas agrícolas. Além disso, esses insetos na fase larval, geralmente apresentam hábito endofítico, se alimentando dentro de frutos, caules e sementes, dificultando assim o seu controle por meio de inseticidas convencionais (Ambroggi et al., 2009). Estes fatos têm direcionado a comunidade científica à busca por formas eficazes e seguras de controle, com o intuito de reduzir o impacto desses insetos nas lavouras, assim como o impacto de substâncias químicas no ambiente. Isso tem feito expandir a investigação do uso de feromônios, como alternativa para manejo de insetos-pragas.

O uso de semioquímicos visando o monitoramento (Suckling, 2000) e controle de pragas tem aumentado com o passar dos anos, principalmente devido à necessidade de técnicas alternativas ao uso intensivo de inseticidas (Ferreira & Zarbin, 1998). Tais medidas são tomadas em resposta à problemática dos impactos ambientais oriundos de resíduos de agrotóxicos empregados com a finalidade de expandir a produtividade agrícola (Navarro et al., 2002). Nessa perspectiva, novos métodos estão sendo estabelecidos. Dentre eles, a coleta massal que utiliza armadilhas contendo feromônio, permitindo atração e captura de um grande número de insetos (Bento, 2001) e a confusão sexual de machos (Albajes et al., 2002; Degen et al., 2005), cuja finalidade é desorientar e impedir o acasalamento, através da saturação do ambiente com feromônios sexuais (Vilela & Lucia, 2001).

A citricultura é um dos setores de maior importância para a economia brasileira, sendo o Brasil o maior produtor de citros, além de maior exportador de suco de laranja do mundo, seguido por Estados Unidos e China. No Brasil, a região Nordeste é a segunda maior região produtora do país, apresentando área colhida de aproximadamente 125.000 hectares e mais de 1,6 milhão de toneladas produzidas, correspondendo a 9,6% da produção nacional (Embrapa, 2013). Entre os estados nordestinos, Sergipe é destacado como segundo maior produtor, com mais de 625.000 toneladas produzidas, e o quinto maior produtor nacional (Embrapa, 2013).

*Cratosomus flavofasciatus* é um coleóptero da família Curculionidae, conhecido popularmente como broca-da-laranjeira, que se alimenta preferencialmente de *Citrus sinensis*, espécie vegetal pertencente à família Rutaceae com distribuição em todo mundo (Costa et al.,

2010). A família Curculionidae, assim como a Cerambycidae, são as que apresentam a maioria das espécies considerada praga à citricultura (Machado, 1998). Indivíduos de *C. flavofasciatus*, no estágio adulto, possuem coloração preta com listras amarelas no tórax e nos élitros, dimensão corporal média de 22 mm de comprimento e 11 mm de largura. A oviposição é realizada em tronco e ramos, e ao eclodirem, as larvas penetram na madeira para se alimentar, comprometendo a circulação da seiva (Nascimento, 1982). Tal espécie é considerada como uma das principais pragas do citros, apresentando grande ocorrência em pomares sergipanos (Azevedo et al., 2008). Suas larvas possuem coloração esbranquiçada e cabeça quitinizada de coloração amarronzada (Teodoro et al., 2014). O período larval apresenta duração média de 12 meses e suas dejeções são eliminadas a partir do orifício formado (Gallo et al., 2002). A larva se transforma em pupa dentro do tronco ou ramo e dá origem ao adulto, que recomeça o ciclo (Teodoro et al., 2014). A época de maior ocorrência de adultos em pomares do Recôncavo da Bahia é entre os meses de fevereiro a maio, com um pico populacional no mês de março (Nascimento et al., 1986). Não existem agrotóxicos registrados no Mapa para o controle desse inseto (Agrofit, 2017).

Estudos anteriores, não publicados, evidenciaram a partir de análises de cromatografia gasosa acoplada a eletroantenografia (CG-EAG), que machos de *C. flavofasciatus* produziam compostos que desencadeavam respostas nas antenas de ambos os sexos. Tal fato levou a concluir que se tratava de feromônio de agregação produzido pelos machos. Esse padrão de produção de feromônio de agregação por machos em curculionídeos é observado em diversos trabalhos na literatura (Ruiz-Montiel et al., 2003; Zarbin et al., 2007; Ruiz-Montiel, 2008; Ambrogi & Zarbin, 2008; Ambrogi et al., 2012; Rodríguez et al., 2016). Além disso, os bioensaios utilizando extrato natural comprovaram que fêmeas não produziam substâncias químicas responsáveis pela atração, visto que, extrato de fêmeas em combinação com planta hospedeira não atraiu ambos os sexos. E, a partir de análises de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (CG-EM) foi possível determinar os compostos envolvidos na comunicação química.

Os compostos presentes no feromônio de *C. flavofasciatus* também são encontrados em diversas outras espécies de curculionídeos. O álcool Z ((Z)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol) é encontrado em espécies como, *Anthonomus eugenii* (Eller et al., 1994), *A. grandis* (Tumlinson et al., 1969), *A. rubi* (Innocenzi et al., 2001), *A. musculus* (Szendrei et al., 2011), *Curculio caryae* (Hedin et al., 1997) e *S. subsignatus* (Ambrogi et al., 2012). O álcool E ((E)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol) em *A. eugenii* (Eller et al., 1994)

e *S. subsignatus* (Ambrogi et al., 2012). O grandisol (2-((1R, 2S)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil)etanol) em *A. grandis* (Mori, 1978), *A. rubi* (Innocenzi et al., 2001), *Curculio caryae* (Hedin et al., 1997), *Pissodes nemorensis* e *P. strobi* (Hibbard & Webster, 1993), *Pseudopiazurus obesus* (Zarbin et al., 2007) e *S. subsignatus* (Ambrogi et al., 2012).

Atualmente, o controle de *C. flavofasciatus* tem sido feito a partir da utilização de planta armadilha, *Cordia curassavica* (Fam. Boraginaceae), conhecida popularmente como Maria-Preta, na qual é realizada a coleta manual do besouro. Os compostos voláteis liberados pelos tricomas glandulares de *C. curassavica* são altamente atraentes para *C. flavofasciatus*, o que tornou pertinente seu uso em campo (Arab & Bento, 2006). Outro método de controle é através do uso de Gastoxim® pasta, sendo realizada a introdução no orifício produzido pelo inseto devido à alimentação no interior dos galhos (Nascimento et al., 1986; Embrapa, 2003).

Medidas alternativas vêm sendo testadas com a finalidade de reduzir o uso de inseticidas no meio ambiente. Desse modo, o uso de feromônios com o intuito de atenuar os impactos nas plantações de *C. sinensis* representa uma demanda de pesquisa que permite melhorias significativas na qualidade e saúde ambiental, expressas no aumento da qualidade de vida dos produtores e consumidores, sustentabilidade da atividade, otimização dos recursos e redução dos custos de produção (Ambrogi et al., 2009). Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atratividade de *C. flavofasciatus* aos compostos sintéticos que compõem o feromônio de agregação dessa espécie e à suas plantas hospedeiras.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Coleta de insetos

Os insetos adultos de *Cratosomus flavofasciatus* foram coletados em um pomar comercial de laranja no município de Lagarto, estado de Sergipe (10°56'S, 37°34'W). A coleta foi realizada durante os meses de março a setembro de 2015 e 2016, época de maior ocorrência desse inseto no campo nessa região.

Os insetos foram encaminhados para o Laboratório de Entomologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Sergipe, onde foi feita a sexagem. Esse procedimento foi baseado no último estérno abdominal, sendo esta estrutura apresentada de forma côncava em fêmea e convexa em macho.

Os adultos separados por sexo foram mantidos em potes plásticos (20 cm de altura e 17 cm de diâmetro) contendo pedaços de caules de laranjeira, *Citrus sinensis*, e maria-preta, *Cordia curassavica*. Esses insetos foram mantidos em temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $60 \pm 5\%$  e um fotoperíodo de 12L: 12E.

### 2.2 Bioensaios

A resposta comportamental de machos e fêmeas de *Cratosomus flavofasciatus* foi testada por meio de bioensaios realizados entre 14h e 17h em um olfatômetro em “Y” com fluxo de ar contínuo de  $3\text{L min}^{-1}$  ( $1,5\text{ L min}^{-1}$  em cada braço), previamente filtrado e umidificado com carvão ativo e água destilada (Figura 12).



**Figura 12:** Sistema de olfatometria utilizado para realização dos bioensaios comportamentais com machos e fêmeas de *Cratosomus flavofasciatus*.

O olfatômetro consiste de um tubo de vidro em forma de Y de dupla escolha com 4,5 cm de diâmetro, constituído do tubo principal com 25 cm de comprimento e 20 cm cada um dos dois braços menores.

Como medida de comprovação da fidedignidade do olfatômetro utilizado nos testes, foi executada anteriormente uma simulação da propagação do odor, de modo que fosse visualizada a disseminação da pluma dentro do sistema. Com essa finalidade, foi empregado o método descrito por Baker e Lin (1984), o qual consiste na mistura de ácido clorídrico e hidróxido de amônia para a geração de fumaça fria. Essas substâncias foram gotejadas com auxílio de pipeta pasteur em um algodão, que foi colocado em um dos braços menores do olfatômetro, e assim, feita a observação.

Um indivíduo, macho ou fêmea, era introduzido na base do olfatômetro e seu comportamento observado durante um período máximo de 20 minutos. Foi considerado como resposta para determinada fonte de odor quando o inseto ultrapassou mais que metade de um dos braços menores. O olfatômetro teve a posição dos tratamentos alternada após realização de metade de cada período diário de teste, a fim de evitar que os insetos se tornem habituados com um dos lados. No mínimo 30 indivíduos de cada sexo foram avaliados em cada tratamento.

Os compostos sintéticos do feromônio apresentaram a seguinte proporção: 10 µl de (Z)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol (álcool Z), 6,3 µl de (E)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno)etanol (álcool E) e 4,9 µl de 2-((1R, 2S)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil)etanol (grandisol). A proporção de cada composto foi determinada por meio de resultados ainda não publicados, obtidos a partir de análises realizadas em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas. Os constituintes do feromônio sintético foram cedidos pelo Laboratório de Semioquímicos da Universidade Federal do Paraná.

Os tratamentos testados foram: (a) papel filtro contendo 21,2 µl dos compostos sintéticos na concentração de 10ppm com pedaços de caule de *C. sinensis* de 2 cm de comprimento; (b) papel filtro contendo 21,2 µl dos compostos sintéticos na concentração de 10ppm com pedaços de caule de 2 cm de *C. curassavica*; (c) papel filtro contendo 21,2 µl dos compostos sintéticos na concentração de 100ppm com pedaços de caule de 2 cm de *C. sinensis*; (d) papel filtro contendo 21,2 µl dos compostos sintéticos na concentração de 100ppm com pedaços de caule de 2 cm de *C. curassavica*; (e) pedaços de caule de 2 cm de *C. sinensis* como planta hospedeira versus ar limpo como controle; (f) pedaços de caule de 2 cm de *C. curassavica* como planta hospedeira versus ar limpo como controle. Além dos tratamentos supracitados, foi realizado um teste de preferência olfativa com talos de *C. sinensis* e *C. curassavica*, com o intuito de analisar qual espécie vegetal exerce maior força atrativa nesses insetos. Papel filtro contendo hexano juntamente com caules da espécie vegetal referente ao teste foi utilizado como controle em todos os tratamentos com os compostos químicos. Portanto, para cada repetição foram utilizados novos papéis filtro (4 cm<sup>2</sup>), onde em um braço foi introduzido como fonte de odor papel filtro contendo 21,2 µl de compostos sintéticos, e no outro braço papel filtro contendo 21,2 µl de hexano como controle.

Após a finalização de cada bateria de testes todo o olfatômetro foi lavado com detergente e água, enxaguado com álcool e água destilada e, posteriormente, colocado em estufa a 130°C por no mínimo 3h para evitar contaminação.

### 2.3 Análises Estatísticas

A análise dos bioensaios em olfatômetro foi realizada através de teste binomial (Palacio-Cortés et al., 2015; Rodríguez et al., 2016). Os indivíduos que não escolheram nenhum dos braços, dentro do tempo máximo de observação, foram excluídos das análises estatísticas.

### 3. Resultados e Discussão

Os bioensaios conduzidos em laboratório avaliando a atratividade de machos e fêmeas de *C. flavofasciatus* aos compostos sintéticos indicaram que na mistura dos compostos na concentração de 100ppm associada a caules de maria-preta, tanto machos ( $P = 0,04$ ) como fêmeas ( $P = 0,03$ ) foram atraídos significativamente. Do mesmo modo, os testes com compostos em concentração de 100ppm associados a caules de laranjeira atraíram significativamente tanto machos ( $P = 0,04$ ) como fêmeas ( $P = 0,04$ ) (Tabela 5). Por outro lado, na concentração de 10ppm com caules de maria-preta, somente os machos foram atraídos significativamente ( $P = 0,009$ ), já as fêmeas não foram atraídas para a mistura dos compostos sintéticos ( $P = 0,08$ ). Nos testes olfativos utilizando a mistura dos compostos na concentração de 10ppm com caules de laranjeira, tanto machos ( $P = 0,14$ ) como fêmeas ( $P = 0,13$ ) não manifestaram atração significativa (Tabela 5).

**Tabela 5:** Respostas de machos e fêmeas de *Cratosomus flavofasciatus* as diferentes concentrações do feromônio sintético juntamente com duas diferentes espécies vegetais em olfatômetro em Y.

Tratamentos		n° de insetos	
		♂	♀
10ppm + Maria Preta vs. Controle	Composto + PH	26*	22
	Controle	12	16
	Não responderam	3	5
	Total	38	45
100ppm + Maria Preta vs. Controle	Composto + PH	23*	21*
	Controle	14	11
	Não responderam	4	22
	Total	41	54
10ppm + Citrus vs. Controle	Composto + PH	16	16
	Controle	16	14
	Não responderam	19	33
	Total	51	63
100ppm + Citrus vs. Controle	Composto + PH	26*	23*
	Controle	17	14
	Não responderam	26	7
	Total	69	44

Controle: Hexano + Maria-Preta / Hexano + Citrus

PH (Planta hospedeira): Maria-Preta / Citrus

\* $P < 0,05$ ; teste binomial

Já os bioensaios avaliando a atratividade para planta hospedeira indicaram que tanto os machos ( $P = 0.015$ ) como as fêmeas ( $P = 0.009$ ) foram significativamente mais atraídos para os caules de laranjeira do que para o ar filtrado. Por outro lado, testes com caules de maria-preta vs. ar puro constataram que somente os machos foram significativamente atraídos à maria-preta ( $P = 0.02$ ) ao passo que as fêmeas não apresentaram preferência por nenhum dos lados ( $P = 0.068$ ). Quando os insetos tiveram a opção de escolha entre caules de laranjeira e caules de maria-preta, os machos foram significativamente atraídos para talos de maria-preta ( $P = 0.01$ ) enquanto as fêmeas não apresentaram preferência por talos de citros ou maria-preta ( $P = 0.13$ ) (Tabela 6).

**Tabela 6:** Respostas de machos e fêmeas de *Cratosomus flavofasciatus* as espécies vegetais *Cordia curassavica* e *Citrus sinensis* em olfatômetro em Y.

Tratamentos		n° de insetos	
		♂	♀
Maria Preta vs. Ar	Maria Preta	20*	22
	Ar	10	15
	Não responderam	16	4
	Total	44	25
Citrus vs. Ar	Citrus	22*	22*
	Ar	10	9
	Não responderam	18	16
	Total	31	30
Citrus vs. Maria Preta	Citrus	10	17
	Maria Preta	23*	15
	Não responderam	10	10
	Total	30	32

Controle: Hexano + Maria-Preta / Hexano + Citrus

\*  $P < 0,05$ ; teste binomial

Os resultados obtidos nos bioensaios com feromônio sintético utilizando olfatômetro em Y confirmaram que a comunicação entre indivíduos de *C. flavofasciatus* é intermediada por feromônios. Além disso, da mesma forma que observado em campo, a maria-preta exerce demasiada importância na comunicação, uma vez que, baixas concentrações do feromônio foram suficientes para promover um efeito sinérgico do feromônio com a maria-preta e atrair os machos. Tal resultado evidencia que esses compostos são utilizados como pistas químicas principalmente por machos com o intuito de encontrar um local de acasalamento e



alimentação apropriado. O mesmo não foi observado nos testes que utilizou caules de laranjeiras, pois apenas em concentração de 100ppm ocorreu atração em ambos os sexos.

Testes em laboratório, com a espécie *Pseudopiazurus obesus* demonstraram que machos e fêmeas foram atraídos para a combinação de voláteis de machos com a planta hospedeira (Zarbin et al., 2007) assim como observado em *C. flavofasciatus*. Esse padrão de resposta evidenciando o sinergismo entre voláteis da planta e o feromônio é observado em várias outras espécies de curculionídeos, como *Dendroctonus ponderosae* (Borden et al., 2008), *Scyphophorus acupunctatus* (Ruiz-Montiel et al., 2008) e *Conotrachelus psidii* (Palacio-Cortés et al., 2015). Em *Cyrtomon luridus*, ambos os sexos demonstraram preferência pela combinação de machos com planta hospedeira em relação à planta hospedeira sozinha sugerindo também a atração dos indivíduos aos voláteis liberados pelos machos em conjunto com a planta hospedeira (Kamiya et al., 2015).

A produção dos voláteis da planta hospedeira é resultante da degradação oxidativa de lipídios de superfície, incluindo mistura de álcoois de seis carbonos, aldeídos e ésteres (Reddy & Guerrero, 2004). Os referidos voláteis associados à feromônios tem relevância ecológica, pois possuem a capacidade de influenciar o sucesso no encontro de parceiro para acasalamento. Além disso, provavelmente desempenham um importante papel no isolamento reprodutivo (Reddy & Guerrero, 2004). Esses voláteis têm demonstrado grande relevância também em campo na atração dos insetos em somatório com os compostos feromonais (Ruiz-Montiel et al., 2008). Um teste de campo com a espécie *S. acupunctatus* demonstrou que as armadilhas contendo feromônio juntamente com a planta hospedeira capturaram mais insetos do que armadilhas contendo feromônio ou planta hospedeira isoladamente (Ruiz-Montiel et al., 2008). Os resultados apontaram a importância dos insetos serem supridos com a planta hospedeira para liberação do feromônio, ou seja, a ausência da planta hospedeira causava liberações diminutas do feromônio (Ruiz-Montiel et al., 2009). Assim como em *S. acupunctatus*, outras espécies como *Rhynchophorus palmarum* (Jaffé et al., 1993), *D. abbreviatus* (Lapointe et al., 2012), *Sternechus subsignatus* (Ambrogi & Zarbin, 2008), *C. psidii* (Palacio-Cortés et al., 2015), *Acrotomopus atropunctellus* (Rodríguez et al., 2016) também possuem a produção e liberação de feromônio de agregação estimulada pela planta hospedeira. Isso indica a relevância do uso da planta hospedeira nos experimentos em laboratório.

Por outro lado, outros estudos não observaram o efeito sinérgico entre voláteis da planta hospedeira e os feromônios de agregação emitidos pelo macho da espécie. Um

exemplo ocorreu em experimentos de campo com a espécie *Anthonomus musculus* no qual os indivíduos foram mais atraídos ao tratamento com os compostos do feromônio do que ao tratamento que possuía os feromônios associados com voláteis das flores e folhas verdes (Szendrei et al., 2011). Do mesmo modo, não houve efeito sinérgico entre os compostos *exo-brevicomina*, *endo-brevicomina* presentes no feromônio produzido por machos de *Hylesinus pruinosus* e os odores da planta (Shepherd et al., 2010).

Os insetos herbívoros utilizam os voláteis liberados pelas plantas hospedeiras a fim de localizá-las como fonte de alimento, as quais também podem servir como local de acasalamento e oviposição (Rojas et al., 2003; Szendrei et al., 2011). Assim como *C. flavofasciatus*, diversos estudos relataram a resposta dos insetos aos voláteis da planta hospedeira em bioensaios (Budenberg et al., 1993; Wibe et al., 1997; Van Tol & Visser, 2002; Altuzar et al., 2007; Adesso & McAuslane, 2009; Kamiya et al., 2015). Em *Diaprepes abbreviatus* foi identificado volatéis das folhas de citros causando respostas nas antenas dos insetos (Otalora-Luna et al., 2009).

A associação de feromônio com voláteis da planta hospedeira promove o desenvolvimento de armadilhas como técnica de captura com resultados eficientes em diversas espécies de curculionídeos (Dickens, 1989; Alpizar et al., 2002; Tafuya et al., 2007; Tinzaara et al., 2007). Alguns trabalhos fizeram uso do feromônio de agregação (rincoforol) juntamente com cana-de-açúcar como atraente alimentar para *R. palmarum* em armadilhas tipo balde, possuindo maior captura dos insetos (Navarro et al., 2002; Duarte et al., 2003; Santana, 2008).

Os feromônios de agregação são produzidos por machos e possuem a função de sinalizar um sítio de alimentação e acasalamento (Bartelt, 1999). Além disso, os feromônios de agregação promovem a alta densidade de insetos na planta hospedeira ocasionando a quebra de sua resistência (Byers, 1989) e aumenta as probabilidades do macho inseminar várias fêmeas em uma única galeria (Shepherd et al., 2010). Por meio de observações em campo é possível estabelecer que provavelmente o feromônio produzido por machos de *C. flavofasciatus* possui essas mesmas funções. A partir da função desempenhada pelo feromônio de agregação, é possível explicar o fato de machos de *C. flavofasciatus* serem atraídos significativamente mesmo em concentrações mais baixas, uma vez que, eles são responsáveis por encontrar um local apropriado.

Outra questão a ser abordada se refere ao fato de que os insetos utilizados nos testes foram obtidos diretamente do campo devido à dificuldade de criação dessa espécie em

laboratório. Com isso, não foi possível estabelecer a idade dos insetos testados, bem como se as fêmeas avaliadas são acasaladas ou virgens. Devemos pontuar que insetos recém-emergidos não são atraídos para os compostos, ao passo que insetos mais velhos são atraídos fortemente (Moreira, 2005). Do mesmo modo, fêmeas acasaladas podem não ser atraídas ao feromônio de agregação (Ramírez-Lucas et al., 1996; Ambrogi & Zarbin, 2008). Há de considerar também que os insetos foram mantidos em condição de laboratório, o que pode ter contribuído com o aumento de não resposta em alguns tratamentos, pois com o decorrer do período nessas condições os insetos ficavam cada vez mais debilitados.

O emprego de feromônios como medida alternativa proporciona diversos benefícios. Como exemplo, a utilização de feromônios sintéticos tem sua vantagem intimamente relacionada ao fato de causar baixa poluição ambiental ou até mesmo nula, sendo considerado como substâncias atóxicas (Moreira et al., 2005; Pélozuelo & Frérot, 2007). Estes feromônios sintéticos apresentam potencial de modificar o comportamento dos insetos, sendo utilizados para controlar (Carde & Minks, 1995; Tewari et al., 2014) e monitorar (Wall, 1990) as densidades populacionais.

Desse modo, o uso de feromônios representa uma técnica ambientalmente adequada que permite a captura de uma elevada quantidade de inseto, cooperando para que o uso de agrotóxicos seja atenuado e realizado de maneira racional. A partir desse método é possível reduzir os riscos nos quais o ambiente, o homem, as espécies vegetais e animais são expostos.

#### **4. Considerações Finais**

Os feromônios sintéticos de *Cratosomus flavofasciatus* associados a voláteis de *Cordia curassavica* e *Citrus sinensis* são atraentes para ambos os sexos em concentração de 100ppm e atraente para macho em concentração de 10ppm quando em associação com *C. curassavica*. Tais resultados podem ser utilizados para o desenvolvimento de um método ambientalmente seguro e eficaz para o monitoramento da broca-da-laranjeira. Além disso, indica que esses compostos são utilizados como pistas químicas principalmente por machos, uma vez que, esse sexo é mais sensível em detectar os sinais.

## 5. Referências Bibliográficas

Addesso, K.M. & Mcauslane, H.J. 2009. Pepper weevil attraction to volatiles from host and nonhost plants. **Environmental Entomology**. 38: 216 – 224.

Agrofit. **Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/SDA. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)> Acesso em: 20 de janeiro de 2017.

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 Protection**. 21: 217-225.

Alpizar, D.; Fallas, M.; Oehlschlager, A.C.; Gonzalez, L.M.; Chinchilla, C.M. & Bulgarelli, J. 2002. Pheromone mass trapping of the West Indian sugarcane weevil and the American palm weevil (Coleoptera: Curculionidae) in palmito palm. **Florida Entomological Society**. 85: 426 – 430.

Altuzar, A.; Malo, E.A.; González-Hernández, H. & Rojas, J.C. 2007. Electrophysiological and behavioural responses of *Scyphophorus acupunctatus* (Col., Curculionidae) to *Agave tequilana* volatiles. **Journal of Applied Entomology**. 131: 121 – 127.

Ambrogi, B.C. & Zarbin, P.H.G. 2008. Aggregation pheromone in *Sternechus subsignatus* (Coleoptera: Curculionidae): Olfactory behavior and temporal pattern of emission. **Journal of Applied Entomology**. 132: 54 – 58.

Ambrogi, B.C.; Palacio-Cortés, A.M. & Zarbin, P.H.G. 2012. Identification of male-produced aggregation pheromone of the curculionid beetle *Sternechus subsignatus*. **Journal of Chemical Ecology**. 38: 272 – 277.

Ambrogi, B.G.; Vidal, D.M. & Zarbin, P.H.G. 2009. Feromônios de agregação em curculionidae (Insecta: Coleoptera) e sua aplicação taxonômica. **Química Nova**. 32: 2151-2158.

Arab, A. & Bento, J.M.S. 2006. Plant volatiles: new perspectives for research in Brazil. **Neotropical Entomology**. 35: 151 – 158.

Azevedo, A.G.C., Mendonça, M.C., Silva, L.M.S., Santos, F.J., Ferreira, J.M.S. 2008. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre a Broca-dos-Citros, *Cratosomus flavofasciatus* (Coleoptera: Curculionidae), em condições de laboratório. XX Congresso Brasileiro de Fruticultura; **54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, Vitória-ES.

Baker, T.C. & Lin, C.E. 1984. Wind tunnels in pheromone research. In: Techniques in pheromone research. Ed. by Hummel, H.E. & Miller, T.H. **Springer-Verlag**. pp: 75 – 110.

Bartelt, R.J. 1999. Weevils. In: Hardie J. & Minks A.K. (eds.) Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants, **CABI Publishing, Wallingford, UK**. p. 91-112.

Bento, J.M.S. 2001. Fundamentos do monitoramento, da coleta massal e do confundimento de insetos-praga. In: Vilela, E.F. & Della Lucia, T.M.C. (eds), Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação. **Editores Holos, Ribeirão Preto**, p. 135-144.

Birkinshaw, L.A. & Smith, R.H. 2000. Function of aggregation pheromone in the larger grain borer *Prostephanus truncatus*: Variation in response to individuals as evidence for a role in sexual selection. **Journal of Chemical Ecology**. 26: 1325-1339

Borden, J. H.; Pureswaran, D. S. & Lafontaine, J. P. 2008. Synergistic blends of monoterpenes for aggregation pheromones of the mountain pine beetle (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**. 101: 1266 – 1275.

Budenberg, W.J.; Ndiege, I.O.; Karago, F.W. & Hansson, B.S. 1993. Behavioral and electrophysiological responses of the banana weevil *Cosmopolites sordidus* to host plant volatiles. **Journal of Chemical Ecology**. 19: 267 – 279.

Byers, J. A. 1989. Chemical ecology of bark beetles. **Experientia**. 45: 271 – 283.

Carde, R.T. & Minks A.K. 1995. Control of moth pests by mating disruption: successes and constrains. **Annual Review Entomology**. 40: 559-585.

Costa, A.F.O.; Juiz, P; Pedro, A.S.; David, J.P.L; David, J.M; Giuliatti, A.M; França, F.; Santos, R.R. & Soares, M.B.P. 2010 Immunomodulatory and antibacterial activities of extracts from Rutaceae species. **Revista brasileira de farmacognosia**. 20: 502-505.

Degen, T.H.; Chevallier, A. & Fischer, S. 2005. Evolution de la lutte phéromonale contre les vers de la grappe. **Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture e Horticulture, Nyon**, 37: 273-280.

Dickens, J.C. 1989. Green leaf volatiles enhance aggregation pheromone of boll weevil, *Anthonomus grandis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 52: 191 – 203.

Dickens, J.C.; Oliver, J.E; Hollister, B; Davis, J.C. & Klun, J.A. 2002. Breaking a paradigm: male-produced aggregation pheromone for the colorado potato beetle. **The Journal of Experimental Biology**. 205: 1925-1933.

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. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 25: 81 – 84.

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). **Journal of Chemical Ecology**. 20: 1537 – 1555.

Embrapa Mandioca e Fruticultura 2003 – Sistema de produção 15 – ISSN 1678-8796. Versão eletrônica: <http://www.cnpmf.embrapa.br/>

**Embrapa Mandioca e Fruticultura 2013.** Disponível em: <[https://www.embrapa.br/documents/1355135/1529009/Laranja\\_Brasil\\_2013.pdf/5c85ffa4-f792-4db8-b1e7-2940d1cf07e5](https://www.embrapa.br/documents/1355135/1529009/Laranja_Brasil_2013.pdf/5c85ffa4-f792-4db8-b1e7-2940d1cf07e5)>. Acesso em: 20 de janeiro de 2016.

Ferreira, J. T. B. & Zarbin, P.H.G. 1998. **Química Nova na Escola**. 2: 3 – 6.

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**. 920 p.

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. **Journal of Chemical Ecology**.23: 965 – 977.

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. **Journal of Chemical Ecology**.19: 2129 – 2141.

Innocenzi, P.J.; Hall, D.R. & Cross, J.V. 2001. Components of male aggregation pheromone of strawberry blossom weevil, *Anthonomus rubi* Herbst. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Chemical Ecology**. 27: 1203 – 1218.

Jaffé, K.; Sánchez, P.; Cerda, H.; Hernández, J.V.; Jaffé, R.; Urdaneta, N.; Guerra, G.; Martínez, R. & Miras, B. 1993 Chemical ecology of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): attraction to host plants and to a male-produced aggregation pheromone. **Journal of Chemical Ecology**. 19: 1703 – 1720.

Kamiya, A.C.; Silva, W.D.; Leite, M.O.G.; Tironi, P.; Wadt, L. & Bento, J.M.S. 2015. Mating behavior and evidence for male-produced aggregation pheromone in *Cyrtomon luridus* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae: Entiminae). **Journal of Insect Behavior**. 28: 55 – 66.

Lapointe, S.L.; Alessandro, R.T.; Robbins, P.S.; Khimian, A.; Svatos, A.; Dickens, J.C.; Otálora-Luna, F.; Kaplan, F.; Alborn, H.T. & Teal, P.E. 2012. Identification and synthesis of



a male-produced pheromone for the Neotropical Root Weevil *Diaprepes abbreviatus*. **Journal of Chemical Ecology**. 38: 408 – 417.

Lapointe, S.L.; Alessandro, R.T.; Robbins, P.S.; Khrimian, A.; Svatos, A.; Dickens, J.C.; Otálora-Luna, F.; Kaplan, F.; Alborn, H.T. & Teal, P.E. 2012. Identification and synthesis of a male-produced pheromone for the Neotropical Root Weevil *Diaprepes abbreviatus*. **Journal of Chemical Ecology**. 38: 408 – 417.

Leal, W. S. 2005. Pheromone reception. **Topics in Current Chemistry**. 240: 1 – 36.

Machado, L.A. 1998 Bioecologia e manejo da broca-dos-citros *Diploschema rotundicolle* (Serville, 1834) (Coleoptera: Cerambycidae). **Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba**. 98p.

Matthews, R.W. & Matthews, J.R. 2010. The History and Scope of Insect Behavior. In: Matthews, R.W. & Matthews, J.R. **Insect Behavior**. 514p.

Moreira, M.A.B.; Zarbin, P.H.G. & Coracini, M.D.A. 2005. Feromônios associados aos coleópteros-praga de produtos armazenados. **Química Nova**. 28: 472 – 477.

Mori, K. 1978. Synthesis of the both enantiomers of grandisol, the boll weevil pheromone. **Tetrahedron**. 34: 915 – 920.

Nascimento, A.S.; Mesquita, A.L.M. & Caldas, R.C. 1986. Flutuação populacional e manejo da broca da laranjeira *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844 (Coleoptera: Curculionidae), com “Maria Preta” *Cordia verbenacea* (Boraginaceae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. 15: 125 – 134.

Nascimento, A.S.do, Pragas dos citros e seu controle. Cruz das Almas. 1982 **Embrapa/CNPMPF**. 41p. (EMBRAPA-CNPMPF. Boletim de Pesquisa, 01/82).

Nascimento, R. R. & Sant’Ana, A. E. G. 2001. Em Feromônios de insetos: Biologia, Química e Emprego no Manejo de Pragas; Vilela, E. F.; Della Lúcia, T. M. C., eds.; 2 ed., **Holos Editora: Ribeirão Preto**. p. 65-71.

Navarro, D. M. A. F.; Murta, M. M.; Duarte, A. G.; Lima, I. S.; Nascimento, R. R. & Sant'Ana, A. E. G. 2002. Aspectos práticos relacionados ao uso do rincoforol, o feromônio de agregação da broco-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) no controle de pragas do coqueiro. Análise de sua eficiência em campo. **Quimica Nova**. 25: 32 – 36.

Otálora-Luna, F.; Hammock, J.A.; Alessandro, R.T.; Lapointe, S.L. & Dickens, J.C. 2009. Host plant kairomones for the tropical weevil *Diaprepes abbreviatus*. **Arthropod-Plant Interactions**.3: 63 – 73.

Palacio-Cortés, A.M.; Valente, F.; Saad, E.B.; Troger, A.; Francke, W. & Zarbin, P.H.G. 2015. (1R,2S,6R)-Papayanol, aggregation pheromone of the guava weevil, *Conotrachelus psidii*. **Journal of Brazilian Chemical Society**. 26: 784 – 789.

Pélozuelo, L. & Frérot, B. 2007. Monitoring of European corn borer with pheromone-baited traps: review of trapping system basics and remaining problems. **Journal of Economic Entomology**. 100: 1797 – 1807.

Ramírez-Lucas P.; Malosse C.; Ducrot P.H.; Lettère M. & Zagatti P. 1996. Chemical identification, electrophysiological and behavioral activities of the pheromone of *Metamasius hemipterus* (Coleoptera: Curculionidae). **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 4: 323 – 330.

Reddy, G.V.P. & Guerrero, A. 2004. Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. **Trends in Plant Sci**. 9: 253 – 261.

Rodríguez, S.A.; Pérez, M.L.P. & Nazareno, M.A. 2016. Identification of male-produced aggregation pheromone of the curculionid beetle *Acrotomopus atropunctellus*. **Bulletin of Entomological Research**. 8p.

Rojas, J.C.; Virgen, A. & Cruz-Lopez, L. 2003. Chemical and tactile cues influencing oviposition of a generalist moth, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental Entomology**. 32: 1386 – 1392.

Ruiz-Montiel, C.; García-Coapio, G.; Rojas, J.C.; Malo, E.A.; Cruz-López, L.; Real, I. del & González-Hernández, H. 2008. Aggregation pheromone of *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae). **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 127: 207 – 217.

Ruiz-Montiel, C.; González-Hernández, H.; Leyva, J.L.; Llanderal-Cazares, C.; Cruz-López, L. & Rojas, J.C. 2003. Evidence for a male-produced aggregation pheromone in *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**. 96: 1126 – 1131.

Ruiz-Montiel, C.; Rojas, J.C.; Cruz-López, L. & González-Hernández, H. 2009. Factors affecting pheromone release by *Scyphophorus acupunctatus*. **Environmental Entomology**. 38: 1423 – 1428.

Santana, D.L.Q. 2008. Pragas potencias para as palmeiras com fins de produção de palmito. In: Santos, A.F.; Corrêa JR., C.; Neves, E.J.M. **Palmeiras para a produção de palmito: juçara, pupunheira e palmeira real**. Colombo: Embrapa Florestas. p. 129 – 166.

Seybold, S.J. & Vanderwel, D. 2003. Biosynthesis and endocrine regulation of pheromone production in the Coleoptera. In: Blomquist, G.J. & Vogt, R.G. (eds.) *Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology*. Elsevier Academic Press, London, UK. p. 137-200.

Shepherd, W.P.; Sullivan, B.T.; Hoosier, B.M.; Barrett, J.P. & Bauman, T.A. 2010. Characterization of an aggregation pheromone in *Hylesinus pruinus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Environmental Entomology**. 39: 633 – 641.

Suckling, D.M. 2000. Issues affecting the use of pheromones and other semiochemicals in orchards. **Crop Protection**. 19: 677-683.

Szendrei, Z.; Averill, A.; Alborn, H. & Rodriguez-Saona, C. 2011. Identification and field evaluation of attractants for the cranberry weevil, *Anthonomus musculus* Say. **Journal of Chemical Ecology**. 37: 387 – 397.

Tafoya, F.; Whalon, M.E.; Vandervoot, C.; Coombs, A.B. & Cibrian-Tovar, J. 2007. Aggregation pheromone of *Metamasius spinolae* (Coleoptera: Curculionidae): chemical analysis and field test. **Environmental Entomology**. 36: 53 – 57.

Teodoro, A.V.; Mendonça, M.C.; Nascimento, A.S.; Silva, L.M.S. & Farias, A.P. 2014. Características e medidas de controle das principais pragas dos citros, nos estados da Bahia e Sergipe. **Comunicado Técnico 142 (Embrapa)**. 8p.

Tewari, S.; Leskey, T.C.; Nielsen, A.L.; Piñero, J.C. & Rodriguez-Saona, C.R. 2014. Use of pheromones in insect pest management, with special attention to weevil pheromones. In: **Integrated Pest Management: Current Concepts and Ecological Perspective**. p. 141 – 168.

Tinzaara, W.; Gold, C.S.; Dicke, M.; Van Huis, A. & Ragama, P. 2007. Host plant odours enhance the response of adult banana weevil to the synthetic aggregation pheromone Cosmolure. **Internacional Journal of Pest Management**. 53: 127 – 137.

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 Tol, R.W.H.M. & Visser, J.H. 2002. Olfactory antennal responses of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* to plant volatiles. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 102: 49 – 64.

Vilela, E.F. & Della Lucia, T.M.C. 2001. Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação. **Editora Holos, Ribeirão Preto**. 206 p.

Wall, C. 1990. Principles of monitoring. In: Ridgway, L.R., Silverstein, R.M. & Inscoc, M.N. (eds.), **Behavior-modifying chemicals for insect management**. **Marcel Dekker**, New York. p. 9-23.

Wibe, A.; Borg-Karlson, A.K.; Norin, T. & Mustaparta, H. 1997. Identification of plant volatiles activating single receptor neurons in the pine weevil (*Hylobius abietis*). **Journal of Comparative Physiology A**. 180: 585 – 595.

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. **Journal of Brazilian Chemical Society**. 18: 1048 – 1053.

Zarbin, P.H.G; Rodrigues, M.A.C.M & Lima, E.R. 2009. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**. 32: 722-731.