

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

NÚBIA LIMA DOS SANTOS

Ecologia Química, Dimorfismo Sexual e Observação de danos de *Ozopherus muricatus* Pascoe, 1872 (Coleoptera: Curculionidae)

Rio Largo
2014

NÚBIA LIMA DOS SANTOS

Ecologia Química, Dimorfismo Sexual e Observação de danos de *Ozopherus muricatus* Pascoe, 1872 (Coleoptera: Curculionidae)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em proteção de plantas.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzebio Goulart Santana.

Rio Largo
2014

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Maria Auxiliadora G. da Cunha

- S237e Santos, Núbia Lima dos.
Ecologia química, dimorfismo sexual e observação de danos de
Ozopherus muricatus Pascoe, 1872 (*Coleoptera: Curculionidae*) / Núbia Lima
dos Santos. – 2014.
53 f. : il. tabs., gráfs. e fots.
- Orientador: Antônio Euzebio Goulart Santana.
Dissertação (Mestrado em Agronomia: Proteção de Plantas) – Universidade
Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2014.
- Bibliografia: f. 47-53.
1. *Euterpe oleracea* Mart.. 2. Eletroantenografia. 3. Dimorfismo sexual.
I. Título.

CDU: 632.7

Quero dedicar, primeiramente a Deus, pela força e coragem durante toda esta longa caminhada, aos meus Pais, Irmãos e meu Noivo por todo apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada. Agradeço também ao meu Noivo, Alex alysson, que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades, e não deixando de agradecer de forma grandiosa aos meus Pais, Helena e Jesualdo, meus Irmãos, Nicácio e Nivea e minha Avó, Maria José.

Ao CNPQ pelo suporte financeiro que contribuiu para o desenvolvimento dessa dissertação.

À Universidade Federal de Alagoas e ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas.

Ao meu prof. Dr. Antônio Euzebio Goulart Santana, por confiar em mim para o desenvolvimento deste trabalho e por todas as oportunidades oferecidas.

Ao pesquisador Dr. Elio Cesar Guzzo da Embrapa Tabuleiros Costeiros pela prontidão, gentileza e apoio em todo curso do meu trabalho.

Ao pesquisador Dr. João Gomes da Embrapa Tabuleiro Costeiros pelo suporte nas análises estatísticas, e por sua paciência e amizade.

A Fabiana e Carol por estarem sempre prontas para me ajudar.

A todos os meus colegas do laboratório especialmente a Sheila, Mariana, Nadia, Andreza, Daniel, Wbiratan, Aldy e Cenira pela compreensão, apoio, incentivos, carinhos e companheirismo durante todo o desenvolvimento do meu trabalho.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Proteção de Plantas pelos ensinamentos e dedicação com o ensino.

Aos meus colegas de curso pela amizade e companheirismo.

Agradeço ao Sr. Pedro por ter cedido sua fazenda para o desenvolvimento dessa pesquisa, Sandra e a seus filhos Carlos Eduardo e Mario Carlos, Luciana, Marina, pelo acolhimento e carinho, fazendo com que me sentisse em casa.

Agradeço à Usina Triunfo, em especial aos senhores Raimundo e Manuel pelo suporte a pesquisa.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O coleóptero *Ozopherus muricatus* Pascoe, 1872 (Coleoptera: Curculionidae) é um inseto oriundo da região amazônica, pouco conhecido, e que passou a ter importância econômica, pois tornou-se uma praga do açaizeiro, *Euterpe oleracea* Mart. (Família: Arecaceae) principalmente no estado de Rondônia. As fêmeas fazem orifícios na base do cacho, onde depositam seus ovos, e suas larvas broqueiam o cacho causando a perda dos frutos. O objetivo principal desta dissertação é o estudo da ecologia química deste inseto bem como comportamento em campo e a caracterização do seu dimorfismo sexual, visando fornecer subsídios para desenvolvimento de técnicas de controle para esta praga. As observações em campo de *O. muricatus* foram realizadas em plantações de açaí no estado de Rondônia. Nos estudos de dimorfismo sexual foram observados 50 insetos adultos e 20 pupas, sob microscópio estereoscópico. A coleta de voláteis foi realizada através de aerações de machos e fêmeas separadamente com duração de 48h e de partes da planta hospedeira, cachos com flor, cachos com frutos verdes, cachos com frutos maduros e pedaços do cacho, com duração de 8h. A análise dos compostos voláteis coletados foi realizada através da cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas (CG-DIC) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). Os testes com os voláteis obtidos foram realizados tanto por meio do olfatômetro em Y como em cromatografia gasosa acoplada a eletroantenografia (CG-EAG) para determinar a atração ou a repulsão do inseto. Foi constatado em campo que as larvas de *O. muricatus* ao emergirem, broqueiam o cacho do açaí até completar seu desenvolvimento, isso causa o bloqueio da passagem de seiva e aborto do cacho, provocando perdas na produção. O dimorfismo em *O. muricatus* foi observado nas pupas, as quais as fêmeas apresentam duas protuberâncias na região terminal e ventral do abdome, ausentes nos machos. Nos adultos, o dimorfismo foi observado nos últimos tergitos abdominais, onde nos machos, o sétimo e o oitavo tergitos são visíveis. Já nas fêmeas, o oitavo tergito é totalmente coberto pelo sétimo. Nos bioensaios em olfatômetro em Y, as fêmeas apresentaram atração significativa para os quatro tratamentos da planta hospedeira, já os machos não apresentaram resposta significativa para voláteis de cachos de açaí com frutos verdes e cachos de açaí com frutos maduros, mas foram significativamente atraídos pelos voláteis de cachos de açaí com flor e pedaços do cacho. Ambos os sexos foram significativamente atraídos por seus voláteis e de seus co-específicos, demonstrando a existência de feromônio de agregação liberado por ambos os sexos. Foram observadas um total de 14 respostas eletrofisiológicas para as amostras de cachos de açaí com flor, pedaços do cacho, machos e fêmeas. Deste total, 12 compostos foram identificados. Álcool benzílico, Óxido de *cis*-Linalool e 2,2,6-trimetil-3-ceto-6-viniltetrahidropirano, Óxido de *cis*-Linalool (forma furanoídica), Óxido de *cis*-Linalool (forma piranoídica), α -*neo-iso*-mentol, 2,9-dimetil-undecano e Cupareno, p-etilanol, 2,3,5-trimetil-decano, 2,6,10-trimetil-dodecano (Farneseno), 3,7,11,15-tetrametil-1-hexadecanol.

Palavras-chaves: *Euterpe oleracea* Mart., Eletroantenografia, Bioensaio, Feromônio, Curculionoidea

ABSTRACT

The coleopteran *Ozopherus muricatus* Pascoe, 1872 (Coleoptera: Curculionidae) is an insect coming from the Amazon region, little known, and which now has economic importance as it has become a pest of açai palm, *Euterpe oleracea* Mart. (Family: Arecaceae) mainly in the state of Rondônia. Female burrow holes on the basis of the cluster in order to oviposit, the larvae then blocks the inside of the cluster preventing the fruits from developing. The main objective of this study is to investigate the chemical ecology, field behavior of this insect and to characterize the sexual dimorphism in order to explore new aspects in which to control the pest. Field observations were conducted in acai plantations located in Rondonia. Sexual dimorphism studies were conducted with a sample size of 50 females and males, and 20 pupes, using a stereoscopic microscope. Volatiles were collected from separately from female and males throughout 48 hours using air entrainment. Air entrainment was also used to collect volatiles from different parts of the host plant (cluster with flower, cluster with immature fruits, cluster with mature fruits, and pieces of clusters), air entrainment was conducted for 48 hours for all the different parts except for the pieces of cluster which was conducted for 8 hours. Sample analysis was conducted using gas-chromatography (GC), and coupled gas-chromatography with mass-spectrometry (GC-MS). Each volatile sample was tested in behavioral assays using a Y-tube olfactometer. Electrophysiological tests were conducted using coupled gas-chromatography with electroantennogram, using all the volatile samples that elicited a significant difference in the behavioral assays. It was determined that the larvae block the path inside the cluster thus inhibiting the passage of sap resulting in lack of fruit production. Dimorphism in *O. muricatus* pupes showed that females present two protuberances in the terminal and ventral region of the abdomen, which is absent in males. In adults the difference was observed in the final abdominal tergites; the seventh and eighth tergite of the males are visible, whilst in females the eighth tergite covers the seventh one completely. In the behavioral assays, females showed a significant attraction to the four host plant samples, whilst males only presented a significant attraction to the cluster with flower, and pieces of cluster samples. When testing the attraction of females to males and vice-versa, a significant attraction was confirmed suggesting the possible release of aggregation pheromone. A total of fourteen electrophysiological responses were observed when testing the extracts of cluster with flower, cluster pieces, males and females. Twelve of these responses were identified using GC-MS: Benzyl alcohol, *cis*-Linalool oxide, 2,2,6-trimethyl-3-keto-6-vinyltetrahydropyran, *cis*-Linalool oxide (furanoidic form), Linalool oxide *cis* (furanoidic form), α -*neo-iso*-menthol, Undecane, 2,9-dimethyl, Cuparene, p-Ethylanisole, Decane, 2,3,5-trimethyl, Decane, 2,3,5-trimethyl (Farnesane), 1-Hexadecanol, 3,7,11,15-tetramethyl.

Keywords: *Euterpe oleracea* Mart., Electroantennogram, Bioassay, Pheromone, Curculionoidea

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Inseto adulto de <i>O. muricatus</i> em caule de açaí	18
Figura 2	Coleta de voláteis de <i>Ozopherus muricatus</i> . 1) Bomba de ar e vácuo; 2) Filtro de carvão; 3) Umidificador; 4) Tubos de aeração e 5) Substância adsorvente	27
Figura 3	Sistema de aeração montado no campo. 1) Bomba de ar e vácuo; 2) Filtro de carvão; 3) entrada de ar e 4) Substância adsorvente.....	28
Figura 4	Sistema de bioensaio em olfatometro em Y; A) Figura ilustrando o sistema de entrada de ar para o olfatamento; B) olfatometro em Y utilizado nos bioensaios	29
Figura 5	Presença em campo de <i>Ozopherus muricatus</i> . A) Insetos acasalando na base do pedúnculo do cacho de açaí; B) Inseto adulto se alimenta de inflorescências do açaí; C) Frutos de açaí danificados	32
Figura 6	Detalhe dos danos causados pela oviposição de <i>Ozopherus muricatus</i> em cachos de açaí. A) Fêmea abrindo orifício no pedúnculo do cacho do açaí para oviposição; B) Orifício já fechado; C) Ovo de <i>Ozopherus muricatus</i> depositado dentro do orifício	33
Figura 7	Danos das larvas de <i>Ozopherus muricatus</i> em cachos de açaí. A) Detalhe do ovo de <i>Ozopherus muricatus</i> ; B) Larva em estágio inicial em pedúnculo do cacho de açaí; C) Galeria aberta por larva, causando aborto do cacho de açaí	33
Figura 8	Detalhe da fase de larva e pupa de <i>Ozopherus muricatus</i> . A) Larva de <i>Ozopherus muricatus</i> ; B) Casulo contendo pupa de <i>Ozopherus muricatus</i> e C) Pupa de <i>Ozopherus muricatus</i>	34
Figura 9	Dimorfismo sexual em pupas de <i>Ozopherus muricatus</i> : A) Pupa fêmea e B) Pupa macho	35
Figura 10	Dimorfismo sexual em adultos de <i>Ozopherus muricatus</i> : A) Últimos tergitos abdominais da região dorsal da fêmea e B) Últimos tergitos abdominais da região dorsal dos machos	35

Figura 11	Resposta de fêmeas e machos de <i>O. muricatus</i> aos voláteis emitidos pelos cachos de açaí verde. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes (*0,05). NS denota que não houve atividade significativa.....	37
Figura 12	Resposta de fêmeas e machos de <i>O. muricatus</i> aos voláteis emitidos pelos cachos de açaí maduro. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes (*0,01). NS denota que não houve atividade significativa.....	38
Figura 13	Resposta de fêmeas e machos de <i>O. muricatus</i> aos voláteis emitidos pelos cachos de açaí em flor. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes (*0,01). NS denota que não houve atividade significativa	38
Figura 14	Resposta de fêmeas e machos de <i>O. muricatus</i> aos voláteis emitidos pelos pedaços do cachos de açaí. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes (*0,01). NS denota que não houve atividade significativa	39
Figura 15	Resposta de fêmeas e machos de <i>O. muricatus</i> aos voláteis emitidos pelos machos. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes (*0,01). NS denota que não houve atividade significativa	39
Figura 16	Resposta de fêmeas e machos de <i>O. muricatus</i> aos voláteis emitidos pelas fêmeas. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes (*0,01). NS denota que não houve atividade significativa	40
Figura 17	Eletroantenografia demonstrando resposta eletrofisiológica da antena de <i>Ozopherus muricatus</i> exposta aos extratos obtidos do cacho de açaí com flor	42
Figura 18	Eletroantenografia demonstrando resposta eletrofisiológica da antena de <i>Ozopherus muricatus</i> exposta aos extratos obtidos de pedaços do cacho de açaí.....	42
Figura 19	Eletroantenografia demonstrando resposta eletrofisiológica da antena de <i>Ozopherus muricatus</i> exposta aos extratos obtidos do machos	42

Figura 20	Eletrantenografia demonstrando resposta eletrofisiológica da antena de <i>Ozopherus muricatus</i> exposta aos extratos obtidos fêmeas	43
Figura 21	Compostos correspondentes aos picos que apresentaram respostas eletrofisiológicas. 1) Álcool benzílico; 2) Óxido de <i>cis</i> -linalool (forma furanoídica); 3) Óxido de <i>cis</i> -linalool (forma piranoídica); 4) 2,2,6-trimetil-3-ceto-6-viniltetrahidropirano; 5) α - <i>neo-iso</i> -mentol; 6) 2,9-dimetil-undecano; 7) Cupareno; 8) p-etilanol; 9) 2,3,5-trimetil-decano; 10) 2,6,10-trimetil-dodecano (farneseno); 11) 3,7,11,15-tetrametil-1-hexadecanol.....	44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
3	MATERIAS E METÓDOS	25
3.1	Coleta e manutenção de insetos	25
3.2	Observações realizadas em campo	25
3.3	Descrição do dimorfismo sexual em adultos e pulpas	26
3.4	Coleta de voláteis	26
3.5	Bioensaio comportamental em olfatômetro Y	28
3.6	Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização por chamas (GC-DIC)	30
3.7	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-EM).....	31
3.8	Cromatografia gasosa acoplada a eletroantenografia (GC-EAG)	31
4	RESULTADOS E DISCURSÃO	32
4.1	Danos causados por <i>O. muricatus</i> aos açaizais	32
4.2	Dimorfismo sexual em pulpas e adultos de <i>O. muricatus</i>	34
4.3	Respostas comportamentais de <i>O. muricatus</i> frente a voláteis de partes sua planta hospedeira e co-específicos	36
4.4	Identificação dos picos ativos da CG-EAG através de CG-EM	41
5	CONCLUSÕES	46
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma palmeira pertencente à família Arecaceae, e tem como seu centro de origem a Amazônia brasileira. Está amplamente distribuído na região Norte do Brasil, principalmente no estado do Pará, sendo também encontrada em outras regiões do país e em alguns países da América do Sul e América Central (OLIVEIRA, 2002; BRASIL, 2006).

No Brasil, é a principal fonte de matéria-prima para a produção de palmito, e o comércio do seu fruto, que antes era destinado apenas para o consumo local, vem aumentando significativamente nos últimos anos, gerando emprego e renda principalmente para as populações ribeirinhas do estado do Pará (BRASIL, 2006). O Pará destaca-se com maior produtor, responsável por aproximadamente 87% da produção brasileira de frutos de açaí, que foi de 267.499 toneladas. O Amazonas aparece em segundo lugar, com 6,8%, seguido do Maranhão, com aproximadamente 5% do total produzido (IBGE, 2006).

Devido ao crescimento na comercialização do açaí, houve também um aumento na área plantada, e isto acabou por favorecer uma maior incidência de pragas, o que acaba prejudicando diretamente o desenvolvimento e a produção da cultura (SOUZA, 2002). É o caso de *Ozopherus muricatus* Pascoe, 1872 (Coleoptera: Curculionidae), inseto endêmico da região amazônica, encontrou nesta palmeira o hospedeiro ideal para o seu desenvolvimento, tornando-se uma praga com potencial para causar grandes perdas, se estabelecido nas plantações de açaí (TREVISAN; OLIVEIRA, 2012). Segundo Vaurie (1973), é a única espécie do gênero *Ozopherus*. Está distribuída na região amazônica brasileira e em países que fazem fronteira com esta região. De acordo com Trevisan e Oliveira (2012), é considerada atualmente a pior praga para a cultura do açaí, acarretando a morte de cerca 42% dos cachos, além de causar danos devido a cortes para realização de posturas em 77% dos cachos amostrados. Esta praga é comum e causa muitos danos na cultura no estado de Rondônia, e segundo esses autores, já é uma praga em açaizais do estado do Pará.

Por ser um inseto pouco estudado e por ser considerada recentemente uma praga, há poucas informações sobre biologia e os possíveis danos causados à cultura no decorrer do seu ciclo biológico, não a descrição de diferenças

morfológicas entre os sexos, que é de fundamental importância para o desenvolvimento dos estudos de semioquímicos, e não existe nenhuma técnica de manejo definida para esta praga.

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) pode ser uma importante ferramenta para o controle deste inseto, pois não há nenhum inseticida ou qualquer outro método descrito para seu controle. O método de controle utilizando os semioquímicos é uma das técnicas utilizadas no MIP. Estas substâncias químicas são muito utilizadas pelos insetos, configurando, até onde se sabe, o meio de comunicação mais utilizado, (VILELA; DELLA LÚCIA, 2001; CERUTI, 2007; GOULART, 2012).

Através do uso dos semioquímicos, mais especificamente dos feromônios, é possível conseguir tanto o monitoramento de pragas como também o seu controle. Tendo em vista o exposto, o objetivo desta dissertação foi o estudo da ecologia química de *O. muricatus*, bem como a determinação do dimorfismo sexual a fim de fornecer mais subsídios sobre este inseto ainda pouco conhecido pela ciência.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O açaizeiro, também conhecido popularmente como juçara, açaí-de-touceira, açaí-do-Pará, açaí-verdadeiro e palmitero, é uma planta pertencente à família Arecaceae, cujo nome científico é *Euterpe oleracea* Mart. No Brasil, há registro de dez espécies do gênero *Euterpe*, sendo que sete estão presentes na região amazônica, e dentre as quais o açaizeiro figura como a espécie mais importante (OLIVEIRA, 2002).

Segundo Brasil (2006), o açaí tem seu centro de origem na região amazônica brasileira, sendo encontrado de forma natural nos estados do Pará (seu principal centro de dispersão) e Amapá, ocorrendo também nos estados do Maranhão, Mato Grosso e Tocantins, e em países da América do Sul, como Venezuela, Colômbia, Equador, Suriname e Guiana, e América Central. É uma palmeira que se adapta muito bem a locais com altos índices de chuva (acima de 2.000 mm), temperatura e umidade do ar, que é o caso da região do estuário do Rio Amazonas, onde esta palmeira ocupa uma grande área e apresenta uma grande densidade populacional. Áreas de várzea também oferecem um ambiente propício para o desenvolvimento das populações de açaizeiro, assim como igapós e terra firme (NOGUEIRA et al., 1995; NASCIMENTO, 2008; BRASIL, 2006).

É descrita botanicamente como uma palmeira cespitosa, com até 25 perfilhos (brotações) por touceira, que apresentam diferentes estádios de desenvolvimento. Quando adultas, as plantas têm estipes de 3 a 20 m de altura e 7 a 18 cm de diâmetro, sustentando de 8 a 14 folhas do tipo composta, pinada, de arranjo espiralado, com 40 a 80 pares de folíolos cada. Possui inflorescência infrafoliar, desenvolvendo-se com maior intensidade após a queda da folha, que a princípio é coberta por duas brácteas (espatas). Estas, ao abrirem, expõem o cacho formado por uma ráquis e um número variável de ráquias, onde estão distribuídas as flores estaminadas e pistiladas, que se apresentam dispostas em tríades. Desta forma, cada flor feminina fica ladeada por duas flores masculinas. A polinização é realizada principalmente por insetos e também pela ação do vento (OLIVEIRA; CARVALHO; NASCIMENTO, 2000; OLIVEIRA, 2002; NASCIMENTO, 2008).

O fruto do açaizeiro é uma drupa globosa ou levemente depressa, de 1 a 2 cm de diâmetro e peso médio de 1,5 g. Em sua maturação, o epicarpo pode ser roxo

ou verde, dependendo do tipo. O mesocarpo de cerca de 1 mm de espessura envolve o endocarpo volumoso e duro que acompanha a forma do fruto, e contém em seu interior a semente, que quando madura, apresenta um endosperma sólido do tipo ruminado e um embrião pequeno, mas desenvolvido (OLIVEIRA; CARVALHO; NASCIMENTO, 2000; OLIVEIRA, 2002; NASCIMENTO, 2008). As plântulas de açaí apresentam dois a três primórdios foliares antes de apresentarem uma folha completa, que é bífida. O sistema radicular é do tipo fasciculado, com raízes emergindo do estipe da planta adulta até 40 cm acima da superfície do solo, que lhes confere a ótima capacidade de adaptação nas áreas alagadas onde a taxa de oxigênio é baixa (OLIVEIRA; CARVALHO; NASCIMENTO, 2000; NASCIMENTO, 2008).

O açaí, que antes era apenas utilizado para o consumo das populações ribeirinhas e o seu excedente vendido no mercado regional, passou em meados dos anos 60 a ter maior importância econômica e ser responsável pela maior parte da produção de palmito no Brasil, ao substituir *Euterpe edulis* Mart., conhecida popularmente com Juçara ou palmitero, até então principal fornecedora da matéria-prima para a indústria palmiteira, que com a exploração indiscriminada quase levou a palmeira à extinção (NOGUEIRA; HOMMA, 1998; OLIVEIRA, 2002).

Além do palmito de excelente qualidade, desta palmeira se aproveita tudo, os frutos na produção de polpa, vinho ou açaí, como é conhecido, sendo normalmente consumido pela população ribeirinha com farinha de mandioca associado ao peixe, camarão ou carne, tornando-se a base da alimentação (BARRETO et al., 2012; BRASIL, 2006). Como derivado da polpa, tem-se licores, sorvetes, doces, geleias, além da extração de corantes e antocianinas e da produção de cosméticos, fitoterápicos, etc.; do caroço podem ser feitas bijuterias, adubos, e também produção de mudas; a palha pode servir para cobertura de casas, fabricação de cestos, chapéus, etc.; do estirpe, além do palmito, pode-se obter ripas e caibros que podem ser utilizados de diversas formas na construção rural ou como matéria-prima na produção de celulose e isolantes térmicos; as raízes podem ser utilizadas de forma medicinal no tratamento de verminoses; e a planta em si pode ser usada no paisagismo, reflorestamento e cobertura do solo (OLIVEIRA, 2002; BENTES-GAMA et al., 2005; BRASIL, 2006; BARRETO et al., 2012).

A partir da década de 1990, a produção de frutos, que em sua maior parte vinha do extrativismo, passou a ser obtida também de açaizais nativos manejados e de cultivos implantados em áreas de várzea e de terra firme, e em sistemas solteiros e consorciados, com e sem irrigação (OLIVEIRA; NETO, 2004; BRASIL, 2006). Porém, dados estatísticos mostram que cerca de 80% da produção de frutos ainda têm origem no extrativismo, enquanto que os 20% restantes são provenientes de açaizais manejados e cultivados em várzea e terra firme (BRASIL, 2006).

Este interesse no manejo dos açaizais deve-se ao aumento na demanda da polpa do açaí, que começou a ganhar o mercado nacional, com uma taxa anual de crescimento estimado em mais de 30%, gerando mais emprego e renda para a população e conquistando o mercado internacional com a exportação de polpa ou mix de açaí, ultrapassando mil toneladas por ano (BRASIL, 2006). Devido à recente expansão comercial deste alimento, muitos produtores brasileiros vêm mostrando interesse no seu cultivo em escala comercial, especialmente os das Regiões Norte e Nordeste (OLIVEIRA, 2002).

De acordo com o último senso agropecuário realizado em 2006, a produção brasileira de frutos de açaí foi de 267.499 toneladas. Desse total, o estado do Pará destaca-se como maior produtor, responsável por aproximadamente 87% da produção. O Amazonas aparece em segundo lugar, com 6,8%, seguido do Maranhão, com aproximadamente 5% do total produzido. As exportações chegaram a 10 mil toneladas, e tendem a aumentar nos próximos anos em decorrência do crescimento na comercialização deste alimento (IBGE, 2006).

Como toda cultura, há diversas pragas atacam o açaí desde a sementeira até o plantio adulto. Com a expansão comercial do seu cultivo, elas tornaram-se de grande importância, devido aos prejuízos causados aos produtores, no entanto estudos nesta área ainda são escassos para a cultura do açaí (BRASIL, 2006; OLIVEIRA, 2002; SOUZA, 2002).

De acordo com Souza (2002) e Brasil (2006), as principais pragas que atacam o açaí são as seguintes:

Cerataphis lataniae Boisduval, 1867 (Hemiptera: Aphididae), conhecida como o pulgão-preto-do-coqueiro, ataca mais intensamente o açaizeiro no viveiro e durante

os três primeiros anos de vida no campo, através da sucção de seiva, retarda o desenvolvimento das mudas tornando-as raquíticas e com folhas amareladas.

Aleurodicus cocois (Curtis, 1846) (Hemiptera: Aleyrodidae), vulgarmente denominada mosca-branca, causa maior dano ao açaizeiro no viveiro, podendo atacar essa palmácea nos primeiros anos de vida no campo. Através da sucção de seiva, debilita a planta atrasando seu desenvolvimento e produção, quando o ataque é severo pode levar a morte, além de favorecer o aparecimento do fungo fumagina que causa a diminuição da fotossíntese da planta.

Atta spp. (Hymenoptera: Formicidae), são conhecidas popularmente por saúvas, tanajura e formigas-saúvas. Seu ataque é mais severo nas plântulas do açaizeiro em sementeiras e nas mudas em viveiro, podendo atacar também as plantas nos primeiros anos de vida no campo. As espécies mais comuns são: *A. laevigata* (saúva-da-mata), *A. cephalotes* (saúva-cabeça-de-vidro) e *A. sexdens* (saúva-limão-do-norte ou formiga-da-mandioca). Elas costumam atacar os folíolos do açaizeiro e causam desfolhamento total ou parcial das mudas, levando a um atraso no desenvolvimento ou até mesmo à morte da planta.

Mytilococcus (*Lepidosaphis*) *bechii* (Newman, 1869) (Hemiptera: Diaspididae), conhecida por escama-vírgula e cochonilha-escama-vírgula. Ataca o açaizeiro no viveiro e nos primeiros anos de vida no campo, fixando-se ao longo da nervura principal, na parte ventral dos folíolos, sugando a seiva da planta que inicialmente fica com as folhas amareladas e depois cloróticas, atrasando o seu desenvolvimento e sua produção.

Aleurothrixus floccosus (Maskell, 1895) (Hemiptera: Aleyrodidae), chamada de mosca-branca ou piolho-farinheiro, ataca o açaizeiro no viveiro e as plantas jovens no campo. Devido à sucção de seiva, os folíolos ficam amarelados e a planta fica debilitada, retardando o desenvolvimento e a produção.

Eutropidacris cristata (L., 1758) (Orthoptera: Acrididae), chamado de gafanhoto-do-coqueiro, gafanhoto e tucurão, ataca o açaizeiro no viveiro e, principalmente, as plantas jovens no campo. Seu ataque pode ser muito rápido e severo, pois as ninfas, principalmente de último estágio, e os adultos, são extremamente vorazes, devoram as folhas novas de mudas e plantas jovens,

deixando apenas a ráquis foliar e as nervuras dos folíolos e, conseqüentemente, retardando o desenvolvimento e produção.

Synale hylaspes (Cramer, 1782) (Lepidoptera: HesperIIDae), conhecida por lagarta-verde-do-coqueiro ou lagarta-verde, ataca o açazeiro no viveiro e nos primeiros anos de vida no campo, causando a desfolha da palmeira.

Hemisphaerota tristis (Boheman, 1850) (Coleoptera: Chrysomelidae), conhecida como inseto-rodilha. Ataca os folíolos, esgarçando-os longitudinalmente, tornando-os secos, de cor marrom, rompendo-se facilmente com o vento, reduzindo o desenvolvimento e a produção das palmáceas atacadas.

Brassolis sophorae (L., 1758) (Lepidoptera: Nymphalidae), denominada popularmente por lagarta-das-folhas, lagarta-das-folhas-do-coqueiro ou brassolis, são lagartas cujo ataque é muito intenso, consumindo grande quantidade de massa foliar e deixando somente as nervuras centrais dos folíolos e da ráquila. Vivem em ninhos que constroem nas folhas da palmeira, podendo ser encontradas mais de mil lagartas em um único ninho. Como consequência do ataque, ocorre a diminuição da absorção de nutrientes retirados do solo e, dependendo da intensidade do ataque, pode ocorrer o atraso no desenvolvimento da planta, queda prematura dos frutos e a redução da produção, ou ainda a morte da planta.

Opsiphanes invirae (Huebner, 1818) (Lepidoptera: Nymphalidae), conhecida como lagarta-desfolhadora ou opisifane, ataca grande parte dos folíolos desordenadamente, diminuindo a área fotossintética.

Eupalamides cyparissias (Fabricius, 1776) (Lepidoptera: Castniidae), conhecida por broca-do-estipe, broca-da-coroa-foliar ou broca-dos-cachos-do-dendezeiro, começa seu ataque na região da inserção da folha (axila foliar), e logo as larvas se dispersam pela coroa da palmeira e na medida que crescem, caminham em direção ao estipe fazendo enormes galerias, danificando seus tecidos, e deixando-o totalmente perfurado e enegrecido em decorrência da oxidação da seiva, que escorre por meio das galerias abertas externamente. Isto impede a circulação e o transporte de nutrientes para a região da copa, as folhas ficam carcomidas ao nível dos pecíolos, que pendem junto ao estipe e terminam por cair, prejudicando assim o desenvolvimento e a produção da planta.

Rhynchophorus palmarum Linnaeus, 1746 (Coleoptera: Curculionidae) conhecida por broca-do-olho-do-coqueiro, bicudo ou broca-do-coqueiro, ataca o açaizeiro no campo, a partir dos três anos de idade, quando as plantas estão com o estipe suficientemente desenvolvido. Quando atacado, o açaizeiro apresenta porte reduzido, folhas mais curtas e amareladas, com o pecíolo bronzeado, redução do número de folhas, redução ou ausência de cachos, inflorescências abortadas e estipe com furos enegrecidos junto à região da coroa. Sob ataque mais severo, o açaizeiro apresenta as folhas mais jovens mais curtas e que não se abrem completamente, tomando o formato de uma vassoura. Esta praga, além de fazer enormes galerias no estipe e na região da coroa foliar, bloqueando a passagem dos nutrientes, provocando o enfraquecimento ou até a morte da planta, propicia a entrada de microrganismos como fungos, bactérias e vírus, ou insetos secundários capazes de provocar novos danos.

Ozopherus muricatus Pascoe, 1872 (Coleoptera: Curculionidae) (Figura 1), é um inseto endêmico da região amazônica, que recentemente foi considerado uma praga com potencial para causar grandes perdas, se estabelecido nas plantações de açaí (TREVISAN; OLIVEIRA, 2012). Segundo Vaurie (1973), *Ozopherus* é um gênero monotípico. Este inseto encontra-se distribuído na região amazônica brasileira e em países que fazem fronteira com esta região, como Peru, Equador, Guiana Francesa, tendo sido relatado também na Colômbia, habitando palmeiras típicas da região.

Figura1. *Ozopherus muricatus*, estágio adulto em caule de Açaizeiro. (Foto: Autor, 2013)



Vaurie (1973) descreve o gênero *Ozopherus* como sendo um gorgulho com comprimento entre 17 a 27 mm, negro, com finas escamas amarelas cobrindo a superfície do corpo, exceto onde emergem tubérculos e espinhos.

As mandíbulas têm as margens internas lisas, não denteadas. Os olhos são alongados, planos, estreitados na extremidade inferior, duas vezes mais longos que a largura da base do rostro (em vista lateral). O rostro praticamente é reto e mais longo que o pronoto. O lábio é plano e estreito. As antenas se inserem na metade do rostro; o escapo quase atinge o olho; funículo com o primeiro segmento nitidamente mais longo que os segmentos seguintes; segmento 7 mais fino que a clava, mas parecendo parte desta.

Pronoto com lobo pós-ocular; setas curtas. Escutelo alongado, em forma de escudo, densamente pontuado. Élitros com tubérculos redondos e cônicos e espinhos; espinhos subapicais em alguns espécimes tão longos quanto os segmentos tarsais 1 a 3 e fortemente curvados para trás; alguns espinhos bifurcados apicalmente. Prosterno profundamente emarginado na frente e ligeiramente deprimido no meio. Coxas anteriores quase contíguas; espaço intercoxal aproximadamente da mesma largura dos segmentos antenais. Mesosterno e frente do metasterno protuberantes no meio; metasterno pelo menos tão longo quanto o

diâmetro das coxas, com uma depressão redonda no centro. Abdome com o segmento II aproximadamente do mesmo comprimento em toda a sua largura, com o meio mais curto que o segmento I e ligeiramente mais longo que o segmento III; segmento V deprimido transversalmente; segmento I reduzido a uma curta faixa atrás das coxas, devido ao grande tamanho destas.

Fêmures denteados na margem interna do terço apical, mas os dentes dos fêmures médios e posteriores comumente escondidos por tufo de pelos longos, densos e amarelos; fêmures posteriores com o ápice ultrapassando o ápice dos élitros. Tíbias não denteadas, mas tíbias anteriores anguladas ou sinuosas na margem interna, próximo à base, dente femoral oposto; tíbias fortemente curvadas para dentro em direção ao ápice, que é uncinado e mucronado (com duas esporas ou ganchos em forma de pinças); tíbias anteriores e posteriores com a margem interna franjada com densos pelos amarelos, mais de duas vezes mais longos que a largura das tíbias; tíbia média com alguns pelos curtos somente na base e no ápice; tíbia posterior com um pente (ou franja de setas) no terço apical, mais longo na margem externa que o pente interno; tíbia média com o pente interno aparentemente ausente. Tarsos com o segmento 1 alongado (triangular no ápice, mais estreito na base), mais estreito que os segmentos 2 ou 3; segmento 2 mais largo que longo; segmento 3 bilobado próximo à base. Garras livres. Genitália do macho com parâmeros e esclerito basal presentes.

Ainda segundo Vaurie (1973), a descrição do gênero é válida para a espécie *Ozopherus muricatus*, sendo acrescentadas as seguintes características: Rostro subcilíndrico; normalmente com a metade basal medialmente unicarínada e mais densamente pontuada e rugosa que a metade apical. Antenas com uma clava alongada, ligeiramente mais longa que os últimos três segmentos do funículo. Pronoto quase tão largo quanto os élitros, convexo, com as laterais fortemente arqueadas e abauladas e distinta constrição apical; lateral e medialmente com fileiras de tubérculos grandes, negros e brilhantes.

Os élitros são aproximadamente duas vezes mais longos que o pronoto; intervalo sutural com tubérculos pequenos e esparsos; edeago com o ápice arredondado; esclerito basal alongado, com projeção mediana muito curta. O número de espinhos ou tubérculos varia individualmente, e o número de espinhos

não é necessariamente simétrico em cada élitro. Em alguns indivíduos, um ou dois espinhos são divididos apicalmente.

Uma importante característica de *O. muricatus* destacada por Vaurie (1973) é a dificuldade na separação dos sexos dos indivíduos, devido à ausência de dimorfismo sexual. Segundo este autor, inicialmente, os espécimes com espinhos subapicais dos élitros mais longos, afilados e curvados foram considerados como sendo machos, e alguns realmente são, mas em dois machos dissecados, os espinhos tinham apenas a metade do comprimento dos espinhos de outros machos. Duas fêmeas dissecadas tinham espinhos curtos, demonstrando que os espinhos se desgastam ao longo do tempo. Em muitos gorgulhos uma abundância de pelos nas pernas ou ventre indicam os machos, mas nesta espécie, ambos os sexos têm pernas com igual pilosidade, visíveis mesmo sem ampliação. A pontuação do rostro também varia e, diferentemente de outros gorgulhos, não indica o sexo.

A literatura sobre a ecologia deste inseto, infelizmente, é muito escassa, fazendo-se necessários mais estudos. Trevisan e Oliveira (2012) relataram a ocorrência desta espécie como uma praga nas plantações de açaí irrigado no estado de Rondônia, onde foi constatado que as fêmeas fazem cortes no pedúnculo do cacho do açaí, onde põem seus ovos. Estas posturas podem ser feitas durante o dia, mas, preferencialmente à noite. Também foram observados insetos adultos em inflorescência e boiando na água, agarrados a frutos de açaí prestes a serem lavados para a posterior despolpa. Em seu trabalho, estes autores amostraram cachos de uma área de plantação de açaí irrigado, e observaram que estes insetos acarretaram 42,42% de perda, com morte dos cachos amostrados e, em 77% dos cachos, haviam sinais de danos devido a cortes para realização de posturas.

É importante ressaltar que não existe nenhum produto registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA), que possa ser utilizado para o controle de pragas dessa cultura (AGROFIT, 2014). No entanto, como a maioria das pragas do açaí é praga de outras palmáceas ou até mesmo de outras árvores frutíferas e madeireiras, algumas práticas de controle podem ser adaptadas (OLIVEIRA, 2002).

Dentre os métodos de controle de pragas, o uso dos semioquímicos destaca-se por ser uma alternativa ao uso dos agrotóxicos, reduzindo sua utilização e,

consequentemente, diminuindo os custos de produção e o impacto negativo à saúde humana e ao meio ambiente, além de ser espécie-específicos, ativos em pequenas quantidades e biodegradáveis (MORAIS et al., 2003; WITZGALL; KIRSCH; CORK, 2010).

Sabe-se que os insetos são os organismos que mais utilizam substâncias químicas para desempenhar suas atividades durante a vida. Essas substâncias são denominadas semioquímicos (do grego *semion* = marca ou sinal) e, dentre elas, existem as utilizadas para a comunicação (VILELA; DELLA LÚCIA, 2001; CERUTI, 2007; GOULART, 2012). Porém, o termo semioquímico é amplo e vai além da comunicação química, envolvendo também toxinas e nutrientes. Assim, Dicke e Sabelis (1988) utilizaram o termo infoquímico para designar as substâncias que transportam informações, diferenciando-as das toxinas e alimentos. Logo, infoquímicos são substâncias químicas, que em seu contexto natural, fornecem informações em uma interação entre dois indivíduos, provocando, no receptor, um comportamento ou resposta fisiológica. Os infoquímicos podem ser considerados uma subcategoria dos semioquímicos.

Os infoquímicos podem ser classificados com base no tipo de interação entre esses organismos (intraespecíficas ou interespecíficas), e também levando em conta os custos e benefícios que cada organismo da interação terá (DICKE; SABELIS, 1988). Os feromônios (do grego *pherein* = transferência + *hormon* = excitar) são substâncias liberadas por um organismo vivo e detectadas por outro(s) indivíduo(s) da mesma espécie, provocando mudanças específicas de comportamento. Portanto, atuam na comunicação intraespecífica, ou seja, entre membros de uma mesma espécie (VILELA; DELLA LÚCIA, 2001; MARTINS, 2013).

Dependendo da função que exercem, podem ser classificados como: feromônios sexuais (provocam a atração entre macho e fêmea), de agregação (atraem machos e fêmeas para a fonte alimentar e facilitam a cópula), de alarme (produzem estado de alerta pela aproximação de algum inimigo natural), de trilha (demarcam o caminho até a fonte de alimento) e oviposição (demarcam o local onde os ovos foram depositados) (GOULART, 2012; MARTINS, 2013).

Já as substâncias químicas utilizadas na comunicação entre espécies diferentes (interespecíficas) são denominadas aleloquímicos e são classificadas de

acordo com a espécie que se beneficia com o sinal emitido. Assim têm-se os alomônios (quando a espécie emissora é favorecida), cairomônios (quando a espécie receptora é favorecida), sinomônios (ambas são favorecidas) e apneumônios (substâncias químicas liberadas por um hospedeiro não vivo que atraem parasitoides). Os alomônios geralmente são compostos utilizados para a defesa da espécie, enquanto os cairomônios são as substâncias produzidas por uma presa e que são percebidas pelo inimigo natural, já os sinomônios podem ser substâncias liberadas pela planta para atração de parasitoides ao sofrer herbivoria (DICKE; SABELIS, 1992; VILELA; DELLA LÚCIA, 2001; MARTINS, 2013). Os dois últimos estão relacionados com controle biológico através dos infoquímicos (CERUTI, 2007).

Nos programas de manejo integrado de pragas (MIP), os semioquímicos ou infoquímicos podem ser utilizados de várias formas, como por exemplo: no monitoramento populacional e controle de pragas, através de armadilhas no campo com a finalidade de atrair, confundir ou repelir os insetos das culturas; em conjunto com o controle biológico, através da atração de parasitóides e predadores, ou em armadilhas de auto disseminação de patógenos (LOPES et al., 2014) principalmente, para manter os níveis populacionais das pragas abaixo do nível de dano econômico ou permitir ao produtor conhecer a flutuação populacional ao longo do tempo, facilitando a aplicação de inseticida quando realmente necessário. Nas diferentes técnicas, os mais utilizados são os feromônios, principalmente os sexuais e de agregação (MORAES et al., 2003; ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009; MARTINS, 2013).

Muitos estudos sobre insetos-praga pertencentes à família Curculionidae têm sido realizados. Neles foram detectados vários compostos atrativos obtidos de voláteis de insetos e da planta hospedeira (ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009). Esta família é a maior dentre os coleópteros, com mais de 60.000 espécies mundialmente distribuídas (GIBLIN-DAVIS, 2001; FUJIHARA et al., 2011). São em sua maioria fitófagos, tanto na fase adulta quanto na fase larval, utilizando uma grande diversidade de plantas hospedeiras, bem como uma grande variedade de habitats. Esta é, provavelmente, a família de coleópteros com maior importância econômica, pois um grande número de espécies causam danos às culturas (GALLO et al., 2002).

Apesar da identificação de compostos feromonais para várias espécies de curculionídeos, comercialmente, no Brasil, há apenas produtos registrados para o controle e monitoramento de três insetos-praga dessa família, sendo eles: Bio Bicudo[®], Grandlure[®], Luretape BW/10[®], PB-Rope-L[®] Feromônio Platô p/ Bicudo do Algodão[®] e Iscalure Bw/10[®] para o bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis* Boheman), utilizados no monitoramento desta praga (FERNANDES; CARVALHO; HABIB, 2001; ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009; GOULART, 2012), os feromônios de agregação Rincoforol[®], Bio Rhynchophorus[®] e Rmd-1[®], utilizados para coleta massal da broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* L. (FERREIRA, 2007; ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009), e Cosmolure[®], feromônio sexual sintético utilizado no monitoramento populacional do moleque-da-bananeira, *Cosmopolites sordidus* (Germar) (GOULART, 2012)

Contudo, uma das dificuldades encontradas para a identificação de feromônios, é que estes compostos estão presentes nos organismos em quantidades extremamente baixas (nanogramas ou picogramas), e em meio à uma grande quantidade de compostos inativos, mas quimicamente semelhantes (ZARBIN; FERREIRA; LEAL, 1999; ZARBIN, 2001; MORAES et al., 2003). Assim, o processo requer técnicas que possibilitem a obtenção de materiais naturais puros e em pequenas quantidades. A escolha correta do procedimento a ser seguido, determinará o sucesso ou fracasso no isolamento e identificação dos compostos biologicamente ativos (ZARBIN; FERREIRA; LEAL, 1999; ZARBIN, 2001).

Um dos métodos mais utilizados, para a extração desses compostos químicos é a aeração, que consiste basicamente em um sistema fechado (mais usado tubo de vidro), onde por uma extremidade, um fluxo de ar de 1 L/m, filtrado (filtro de carvão) e umidificado (se houver necessidade), entra no sistema onde encontra-se o material de interesse (inseto ou planta). Na outra extremidade, é utilizado um vácuo, que puxa o ar de dentro do sistema, passando por uma substância adsorvente especial [Porapak Q (etilvinilbenzeno-divinilbenzeno; Supelco), Tenax (óxido de 2,6-difenil-p-fenileno; Supelco), etc.], onde os compostos liberados pelo material ficam retidos. O tempo de duração da coleta varia de acordo com a finalidade do experimento, por exemplo, quando não se sabe em que período do dia o inseto libera seu feromônio, é recomendada a coleta de voláteis por 24 horas. (ZARBIN; FERREIRA; LEAL, 1999; ZARBIN, 2001).

A dessorção é realizada utilizando-se solventes como diclorometano, hexano e éter, com um alto grau de pureza, em quantidade de aproximadamente 2,5 mL. A preferência por tais solventes se deve à volatilidade dos mesmos, o que possibilita a evaporação sem que os materiais coletados sejam expostos a altas temperaturas. Ainda assim, perdas de material por arraste poderão ser observadas (ZARBIN; FERREIRA; LEAL, 1999; ZARBIN, 2001).

A análise das amostras é realizada utilizando a técnica de cromatografia gasosa (CG), na qual a separação baseia-se nas características físico-químicas dos componentes da amostra (PERES, 2002; MORAES et al., 2003). Ela é composta pela fase estacionária que pode ser sólida ou líquida, a qual irá interagir com os componentes presentes na amostra, separando-os através da afinidade do composto com a fase estacionária (interação físico-química) e a sua volatilidade. Como fase móvel é utilizado um gás, denominado gás de arraste, que transporta a amostra através da coluna de separação até o detector, onde os compostos separados são detectados. Os gases mais utilizados são hélio (He), hidrogênio (H), nitrogênio (N) e argônio (Ar) (PERES, 2002).

Existem vários detectores que podem estar acoplados ao cromatógrafo gasoso, porém o mais utilizado na identificação de compostos voláteis no âmbito da ecologia química é o espectrômetro de massas (EM). Com o uso do espectrômetro de massas é possível identificar os compostos separados pelo cromatógrafo gasoso através do estudo de sua fragmentação e pela observação do seu peso molecular. A técnica de cromatografia gasosa possui um excelente poder de resolução, possibilitando a análise de várias substâncias presentes em uma mesma amostra, mesmo em quantidades mínimas, como é o caso dos feromônios e alomônios (ZARBIN, 2001; PERES, 2002).

3 MATERIAL DE MÉTODOS

3.1 Coleta e manutenção dos insetos

Os adultos, larvas e pupas de *O. muricatus* usados para o desenvolvimento desta pesquisa foram coletados em plantações de açaí localizadas no Município de Buritis, Rondônia. Os insetos foram transportados para o Laboratório de Pesquisa e Recursos Naturais (LPqRN) do Departamento de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas - UFAL, em Maceió, AL. Os insetos adultos foram colocados em recipientes plásticos (30x10x35 cm), em um total de 30 insetos por potes e alimentados com pedaços de cana-de-açúcar, três vezes por semana, sendo mantidos a $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $80 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12L:12E. Como os insetos foram coletados no campo, a idade e a condição reprodutiva dos adultos não eram conhecidas.

As larvas e pupas foram mantidas em câmara incubadora B.O.D. com temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa $80 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 0L:24E. As larvas foram colocadas individualmente em recipientes plásticos (5 cm altura x 5,5 cm diâmetro) e alimentados com pedaços de cana-de-açúcar, trocados duas vezes por semana. As pupas foram colocados individualmente em recipientes plásticos (5 cm altura x 5,5 cm diâmetro), forrados com papel filtro umedecido até a emergência dos adultos.

3.2 Observações realizadas em campo

A descrição dos danos e comportamento de *O. muricatus* a plantas de açaizeiro, foi conduzida em plantações localizadas no Município de Buritis, Rondônia, através de observações em campo entre os horários de 08:00 a 19:00h. Foram observados comportamentos, tais como: acasalamento, oviposição, atividade de alimentação e os danos causados por estas atividades, incluindo os danos causados pelas larvas do inseto. Os cachos com danos eram coletados e abertos para averiguação da existência de ovos, larvas ou pupas do inseto. Estas atividades não foram quantificadas, apenas observadas com o intuito de fornecer mais informações sobre este inseto.

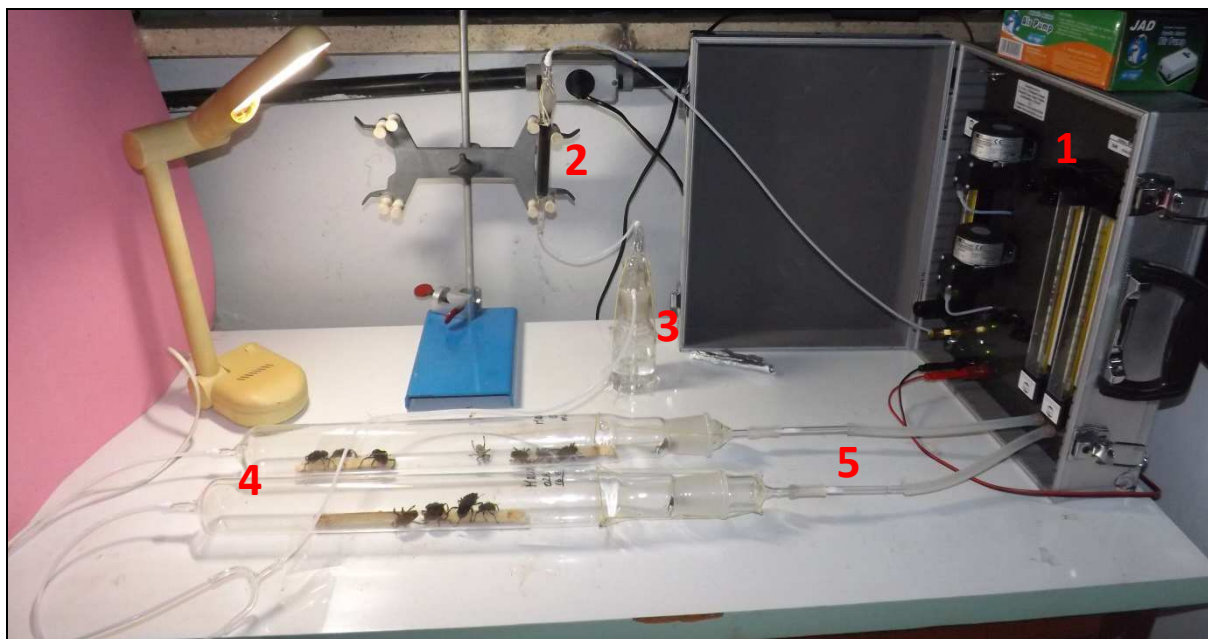
3.3 Descrição do dimorfismo sexual em adultos e pupas

No Laboratório de Pesquisa e Recursos Naturas da UFAL, os insetos adultos que morreram, foram acondicionados em freezer, e posteriormente foram utilizados para realização de estudos com o intuito de identificar e reconhecer o dimorfismo sexual da espécie. Foram examinados 50 indivíduos entre machos e fêmeas sob microscópio estereoscópico, em aumento de 40x. As pupas foram examinadas sob microscópio estereoscópico, em aumento de 40x. Para a determinação do dimorfismo, foram avaliados 20 exemplares. Inicialmente os machos e fêmeas de insetos adultos eram separados através da observação do acasalamento, posteriormente estes insetos eram examinados na procura de diferenças morfológicas que pudessem levar a diferenciação dos sexos. A confirmação dos sexos nas pupas foi realizada após a emergência do adulto, onde as características destes eram confrontadas com as dos adultos já confirmados. E por fim era feita a dessecação dos exemplares para a observação da genitália, confirmando assim a separação dos sexos.

3.4 Coleta de voláteis

A coleta dos voláteis dos insetos foi feita por meio do processo de aeração (ZARBIN; FERREIRA; LEAL, 1999; ZARBIN, 2001). Foram utilizadas câmaras de vidro (40 cm comprimento x 4 cm diâmetro), onde foram colocados grupos separados de 10 machos e 10 fêmeas de *O. muricatus* com 30 g de cana-de-açúcar (Figura 2). Um fluxo contínuo de ar umidificado e filtrado foi passado pelas câmaras, carregando os voláteis liberados pelos insetos. Estes compostos foram retidos por um adsorvente (0,06 g Porapak Q) localizado na extremidade de saída da câmara. O período de aeração foi de 48h, sendo em seguida realizada a dessorção dos compostos liberados com hexano grau HPLC (bidestilado). Após cada coleta de voláteis, machos e fêmeas eram trocados e uma nova coleta realizada, totalizando seis coletas para cada sexo. Os extratos foram armazenados em freezer até serem utilizados para as análises e bioensaios, não sendo combinados nem concentrados.

Figura 2. Coleta de voláteis de *Ozopherus muricatus*. 1) Bomba de ar e vácuo; 2) Filtro de carvão; 3) Umidificador; 4) Tubos de aeração e 5) Substância adsorvente. (Foto: Autor, 2013).



A coleta de voláteis do cacho do açaí foi realizada no município de Buritis-Ro e em plantação de açaízeiros na Usina Triunfo em Boca da Mata, Alagoas. Foram utilizados cachos de açaí em diferentes estágios de maturação (cachos com flor, frutos verdes e frutos maduros). Neste método foram utilizados sacos de poliéster do tipo utilizado em microondas e freezer (STEWART_JONES; POPPY, 2006), onde foram colocados grupos separados de 5 ráquias por saco (Figura 3). Um fluxo contínuo de ar umidificado e filtrado foi passado pelos sacos, carregando os voláteis liberados pela planta, que foram retidos por um adsorvente (0,06 g Porapak Q). Após 8 h do início da aeração, a dessorção dos compostos liberados pela planta foi feita utilizando hexano grau HPLC (bidestilado). Após cada coleta de voláteis, novos grupos de ráquias eram aerados. Para a coleta de voláteis dos pedaços do cacho do açaí, utilizou-se o mesmo método descrito acima, excetuando que os pedaços do cacho do açaí foram aerados sem os frutos. Para cada tratamento foram coletadas um total de oito amostras. Os extratos não foram combinados nem concentrados. Em seguida, foram armazenados em freezer até serem utilizados para as análises e bioensaios.

Figura 3. Sistema de aeração montado no campo. 1) Bomba de ar e vácuo; 2) Filtro de carvão; 3) entrada de ar e 4) Substância adsorvente. (Foto: Autor, 2013).



3.5 Bioensaio comportamental em olfatômetro Y

A resposta comportamental de adultos de *O. muricatus* para voláteis coletados foi verificada usando o olfatômetro em Y, operado com um fluxo de ar contínuo de 0,8 L/min, previamente umidificado e filtrado com carvão ativado. O olfatômetro consiste de um tubo de vidro de 4 cm de diâmetro em forma de Y, com o tubo principal com 20 cm de comprimento e dois braços de 20 cm comprimento cada (Figura 4, A e B). Antes de iniciar os testes, foi feita uma simulação da propagação do odor para visualizar a distribuição da pluma dentro do sistema. Para isto, foram utilizados pedaços de papel de filtro (2 x 2 cm) embebidos, separadamente, em ácido clorídrico e hidróxido de amônio e colocados próximos um ao outro em um dos braços do olfatômetro, o fluxo de ar a ser testado foi liberado e a mistura dos

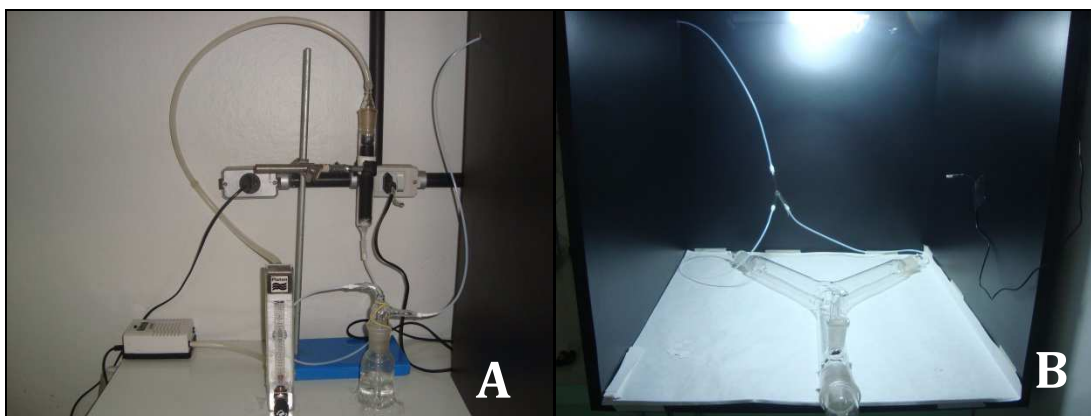
vapores oriundos dos compostos deu origem a uma pluma branca, onde pôde ser observada a velocidade da pluma e assim determinada a melhor velocidade de ar a ser utilizada nos bioensaios.

A fonte de odor utilizada foi um pedaço de papel de filtro (2 x 2 cm) impregnado com 10 µL do extrato escolhido ou hexano (controle), que foi colocado na base de cada braço do olfatômetro. Um macho ou fêmea foi introduzido na base do tubo principal do olfatômetro e seu comportamento foi observado durante 10 min. A resposta foi registrada quando o besouro caminhava contra o fluxo de ar e até o final do braço escolhido que continha a fonte de odor (extrato de machos, extrato de fêmeas ou controle). E como não resposta, quando o besouro não caminhava contra o fluxo de ar e/ou não tocava nenhuma das fontes de odor durante os 10 min observados. Após observar 5 insetos, o olfatômetro era limpo com álcool e um fluxo de ar limpo era passado por 5 min, sendo a posição dos braços do olfatômetro invertida para evitar qualquer interferência externa. Os bioensaios com extratos de machos e fêmeas foram desenvolvidos em quatro experimentos: (i) resposta de machos para extrato de machos versus controle; (ii) resposta de fêmeas para extrato de machos versus controle; (iii) resposta de machos para extrato de fêmeas versus controle; e (iv) resposta de fêmeas para extrato de fêmeas versus controle. Para cada experimento foram testados pelo menos 30 machos ou fêmeas e cada indivíduo testado foi considerado como uma repetição. A fonte de odor foi trocada a cada indivíduo testado. Os experimentos foram realizados durante a fotofase, no período entre 8:00 e 16:00 horas. Cada inseto foi testado apenas uma vez.

Os bioensaios com os extratos de cachos com flor, frutos verdes, frutos maduros e pedaços do cacho foram conduzidos de oito experimentos: (i) resposta de machos para extrato de flor versus controle; (ii) resposta de fêmeas para extrato de cachos com flor versus controle; (iii) resposta de machos para extrato de cacho com frutos verdes versus controle; (iv) resposta de fêmeas para extrato de cacho com frutos verdes versus controle; (v) resposta de machos para extrato de cacho com frutos maduros versus controle; (vi) resposta de fêmeas para extrato de cacho com frutos maduros versus controle; (vii) resposta de machos para extrato de pedaços do cacho versus controle; e (viii) resposta de fêmeas para extrato de pedaços do cacho versus controle. Para cada experimento foram testados pelo menos 28 machos e 20 fêmeas e cada indivíduo testado foi considerado como uma

repetição. A fonte de odor foi trocada a cada indivíduo testado. Os experimentos foram realizados durante a fotofase, no período entre 8:00 e 16:00 horas. Cada inseto foi testado apenas uma vez. Como os insetos foram oriundos do campo, a idade e a condição reprodutiva dos adultos não eram conhecidas.

Figuras 4. Sistema de bioensaio em olfatometro em Y; A) Figura ilustrando o sistema de entrada de ar para o olfatometro; B) olfatometro em Y utilizado nos bioensaios. (Foto: Autor, 2013).



Os dados da resposta de machos e fêmeas para os diferentes tratamentos em olfatometro foram analisados utilizando-se o teste Qui-quadrado através do Software Genes (CRUZ, 2013). Os insetos que não escolheram nenhum dos braços foram excluídos da análise estatística.

3.6 Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização por chamas (CG-DIC)

Uma alíquota de 4 μL dos extratos obtidos na aeração foi injetada em um cromatógrafo a gás acoplado ao detector por ionização de chamas (DIC) modelo Shimadzu QP-2010, operado no modo “splitless”, contendo coluna capilar RTX-5 (30m x 0,25mm x 0,25 μm) (RESTEK Chromatography Products). As condições de análise foram as seguintes: temperatura do injetor 250°C, temperatura inicial do forno de 50°C permanecendo por 7 minutos, com aumento de 7°C por minuto até atingir uma temperatura final de 280°C, a qual foi mantida por 5 minutos. Como gás de arraste foi utilizado o nitrogênio com fluxo de 1 L/min. Os compostos foram identificados pelos tempos de retenção e Índice de Kovats.

3.7 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

Uma alíquota de 1 µL dos extratos de machos foi injetada e analisada por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM), modelo Shimadzu QP-2010, equipado com uma coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm D. I. x 0,25 µm) (J & W Scientific, Folsom, Califórnia, EUA) com ionização por impacto de elétrons (70 eV). O CG-EM foi operado em modo splitless (250°C), com programação de temperatura de 50°C por 7 minutos, aumentando 7°C minutos até 280°C, permanecendo nesta temperatura por 5 minutos. A linha de transferência operou a 270°C e o hélio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1 L/min. Os compostos foram identificados por meio dos respectivos padrões de fragmentação, tempo de retenção, comparações com a biblioteca NIST do espectrômetro e Índice de Kovats.

3.8 Cromatografia gasosa acoplada a eletroantenografia (CG- EAG)

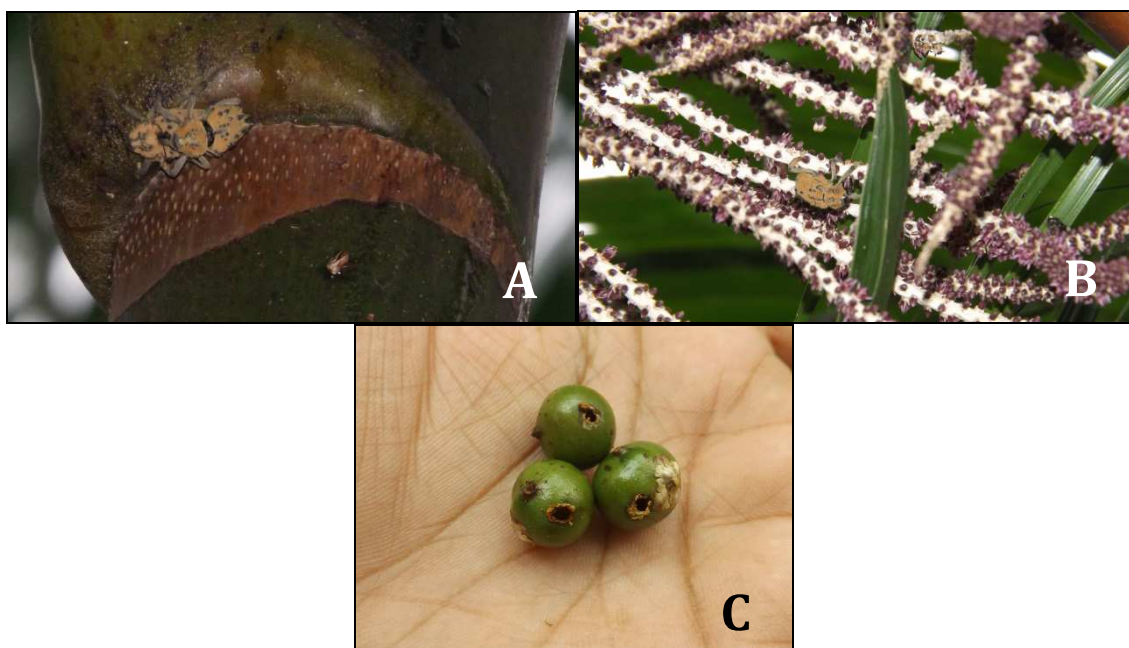
Para identificar os compostos eletrofisiologicamente ativos dos extratos foi utilizada a Cromatografia Gasosa acoplada à Eletroantenografia – CG-EAG. Uma alíquota de 4 µL dos extratos obtidos na aeração foi injetada em um cromatógrafo a gás acoplado ao detector por ionização de chamas (DIC) modelo Shimadzu QP-2010, operado no modo “split”, contendo coluna capilar RTX-5 (30m x 0,25mm x 0,25 µm) (RESTEK Chromatography Products), onde o efluente da coluna foi dividido em duas linhas, uma levou ao detector DIC e a outra ao EAG. As condições de operação do equipamento de CG foi a mesma descrita anteriormente para CG-DIC. As antenas foram cortadas dos insetos na base do escapo, sem que fosse necessário adormecê-los, o escapo da antena foi inserindo em um contraeletrodo, preenchido com solução salina e a ponta do flagelo da antena foi inserida no eletrodo de trabalho. Os sinais foram passados através de um amplificador de alta impedância (IDAC4, Syntech 2004, Hilversum, The Netherlands). As saídas do amplificador de EAG e o DIC foram monitorizados simultaneamente e analisados usando o pacote de software Autopike, Syntech 2008. Os picos resultantes da corrida no CG foram considerados ativos quando apresentaram atividade no EAG em duas ou mais corridas. Só foram analisadas por CG-EAG as amostras que apresentaram significativa atividade no bioensaio em alfatômetro em Y.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Danos causados por *O. muricatus* aos açaizais

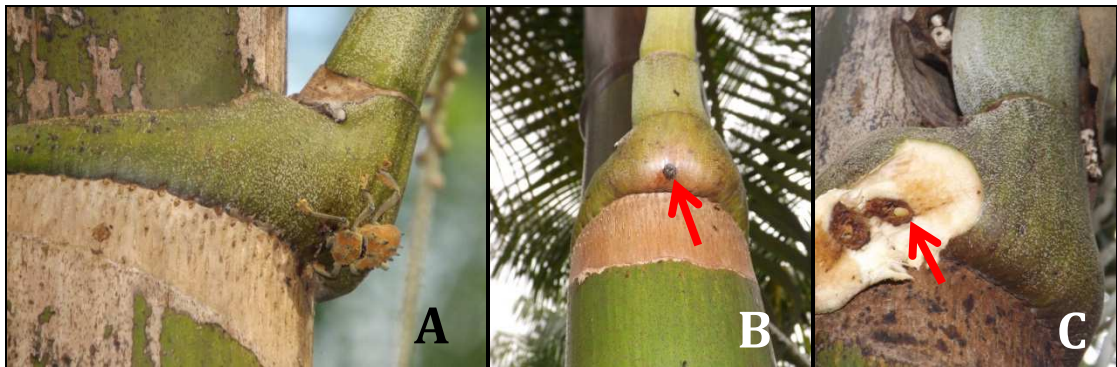
Em observações realizadas em plantações de açaí, foram constatados insetos de *O. muricatus* acasalando próximo à base do cacho do açaí e entre as axilas das folhas, tanto durante o dia quanto à noite (Figura 5A). Também foram encontrados insetos adultos se alimentando das flores e dos frutos do açaí (Figura 5B e C).

Figura 5. Presença em campo de *Ozopherus muricatus*. A) Insetos acasalando na base do pedúnculo do cacho de açaí; B) Inseto adulto se alimenta de inflorescências do açaí; C) Frutos de açaí danificados. (Foto: Autor, 2013).



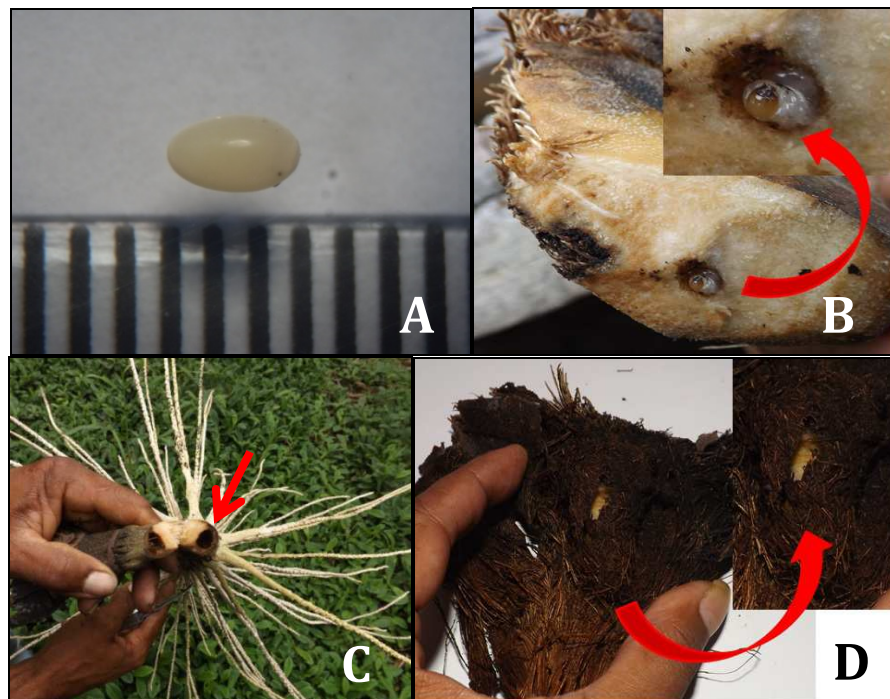
As fêmeas realizam suas posturas em orifícios abertos com seu aparelho bucal na base do cacho do açaizeiro. Foram observados de um a dois ovos por orifício, estes foram recobertos com os restos da própria planta (Figura 6 A, B e C). Foram observados de um a sete orifícios por cacho.

Figura 6. Detalhe dos danos causados pela oviposição de *Ozopherus muricatus* em cachos de açaí. A) Fêmea abrindo orifício no pedúnculo do cacho do açaí para oviposição; B) Orifício já fechado; C) Ovo de *Ozopherus muricatus* depositado dentro do orifício. (Foto: Autor, 2013).



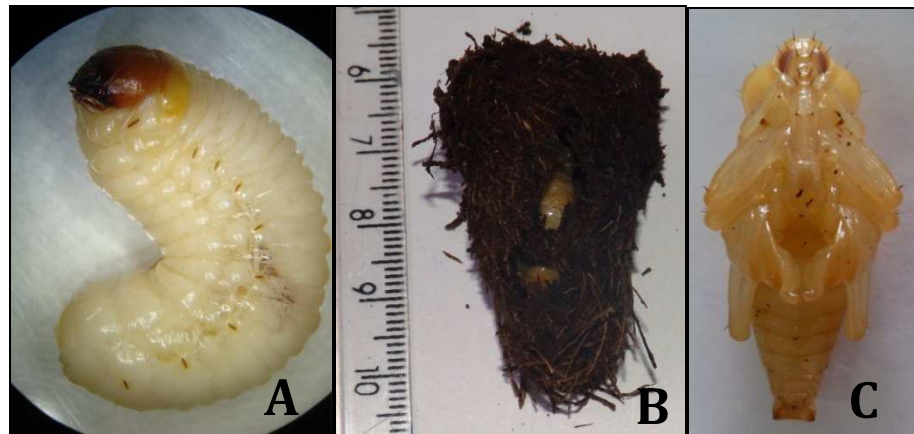
Os ovos são oblongos, de cor amarelo-claro leitosa, com córion transparente e aparentemente liso, medindo cerca de 3,5 a 4 mm (Figura 7 A). Após a eclosão dos ovos, as larvas broqueiam o pedúnculo do cacho formando galerias, até completar o seu desenvolvimento e empupar (Figura 7 B, C e D).

Figura 7. Danos das larvas de *Ozopherus muricatus* em cachos de açaí. A) Detalhe do ovo de *Ozopherus muricatus*; B) Larva em estágio inicial em pedúnculo do cacho de açaí; C) Galeria aberta por larva, causando aborto do cacho de açaí. (Foto: Autor, 2013).



As larvas são de cor amarelo-claro leitosas e ápodas. Quando estão próximas de completar o seu desenvolvimento, elas constroem casulos com a fibra do cacho do açaí e empupam no interior destes. As pupas são do tipo exarada (Figura 8 A, B e C).

Figura 8. Detalhe da fase de larva e pupa de *Ozopherus muricatus*. A) Larva de *Ozopherus muricatus*; B) Casulo contendo pupa de *Ozopherus muricatus* e C) Pupa de *Ozopherus muricatus*. (Foto: Autor, 2013).



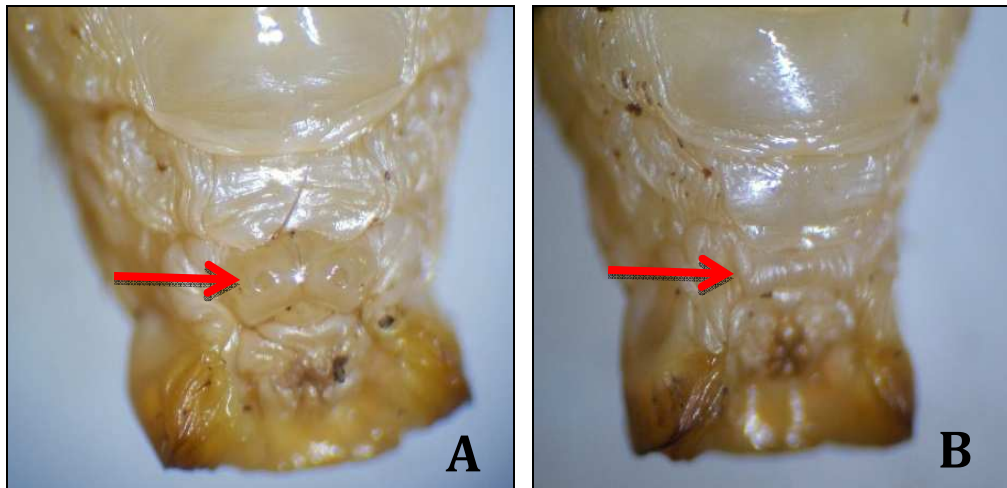
Dentro do grupo das palmeiras, os gorgulhos, como são também conhecidos os adultos desta família, estão associados a uma ampla gama de hospedeiros, incluindo outras famílias monocotiledôneas, como a cana-de-açúcar (Poaceae), banana (Musaceae) e abacaxi (Bromeliaceae) (GIBLIN-DAVIS, 2001), trazendo grandes prejuízos para a agricultura. *O. muricatus* não é diferente, comumente associado a palmeiras da região amazônica, tornou-se uma grande praga de açaiuais irrigados no Estado de Rondônia (TREVISAN; OLIVEIRA, 2012).

Nas observações em campo, o maior dano causado pelo inseto é durante a fase larval, pois as larvas ao broquearem o pedúnculo do cacho do açaí, podem causar o aborto/morte do cacho devido ao bloqueio da passagem de nutrientes, fazendo com que todo o cacho seja perdido, e acarretando queda na produção dos frutos. Em trabalho realizado por Trevisan e Oliveira (2012), em açaizeiros do Estado de Rondônia, foi constatado perda de aproximadamente 42% dos cachos avaliados.

4.1 Dimorfismo sexual em pupas e adultos de *O. muricatus*

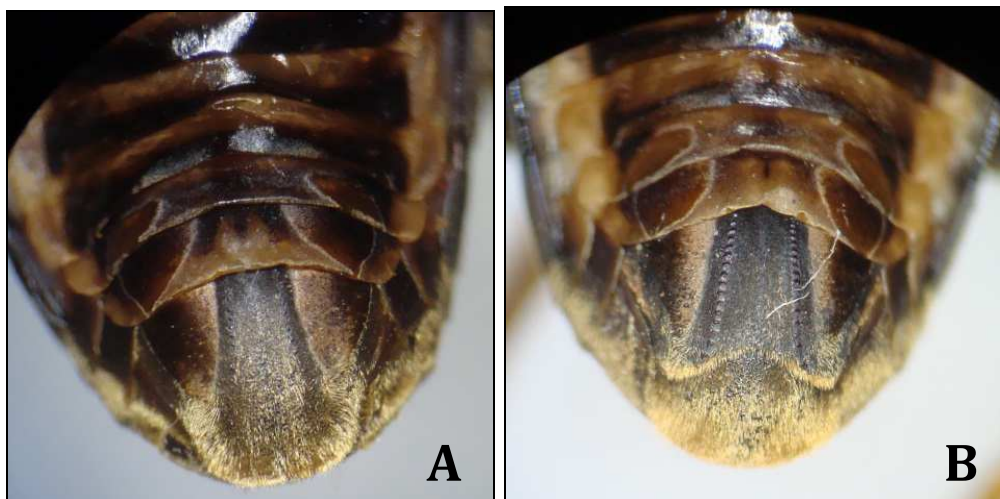
Nas pupas de *O. muricatus*, foram constatadas características morfológicas que podem ser utilizadas na separação dos sexos. As pupas fêmeas apresentam duas protuberâncias arredondadas e elevadas na região terminal e ventral do abdome, enquanto que nas pupas machos, estas pontuações são ausentes (Figura 9 A e B)

Figura 9. Dimorfismo sexual em pupas de *Ozopherus muricatus*: A) Pupa fêmea e B) Pupa macho. (Fonte: Autor, 2013).



Nos adultos, as características morfológicas que podem indicar o sexo dos indivíduos podem ser observadas nos últimos segmentos abdominais da região dorsal do inseto, sob as asas, onde nas fêmeas o sétimo tergito abdominal encobre totalmente o oitavo, enquanto que nos machos o sétimo tergito cobre parcialmente o oitavo (Figura 10 A e B).

Figura 10. Dimorfismo sexual em adultos de *Ozopherus muricatus*: A) Últimos tergitos abdominais da região dorsal da fêmea e B) Últimos tergitos abdominais da região dorsal dos machos. (Fonte: Autor, 2013).



A diferença encontrada nos últimos tergitos do abdome de machos e fêmeas é uma característica presente em várias espécies de curculionídeos (SARRO; CROCOMO; FERREIRA, 2004; SOUSA et al., 2004; SILVA-FILHO; BAILEZ; VIANA-BAILEZ, 2007; BARRETO; ROSADO-NETO, 2012). Tais características morfológicas podem ser observadas facilmente a olho nu e permitem uma segura identificação do sexo, porém faz-se necessário a abertura dos élitros para a

visualização e isso pode causar lesões e/ou mudança de comportamento nos insetos (SILVA-FILHO; BAILEZ; VIANA-BAILEZ, 2007). No caso de *O. muricatus* isso é especialmente dificultado, pois os élitros parecem ter um tipo de encaixe e é necessário fazer muita força para abrí-los, sendo que a presença dos espinhos também pode machucar as mãos do manipulador.

Contudo, uma alternativa para que não haja a necessidade da abertura dos élitros do inseto, seria adormecê-lo em freezer por dois minutos, e com uma pequena pinça puxar cuidadosamente o último segmento do abdome, trazendo-o para fora dos élitros. Tendo o inseto adormecido, seu corpo estará relaxado, não apresentando resistência, e como o dimorfismo se apresenta nos últimos segmentos abdominais, não haverá a necessidade de expor uma grande parte do abdome.

As características externas observadas em adultos de outras espécies da família curculionidae, que podem caracterizar dimorfismo sexual, como o comprimento e largura do rostro, inserção das antenas, presença ou ausência de pelos no rostro ou em outras partes do corpo (BARRETO; ANJOS, 1999; BARRETO; ROSADO-NETO, 2012), não foram encontradas em *O. muricatus*, concordando com as observações de Vaurie (1972).

Nas pupas, as protuberâncias arredondadas presentes nas fêmeas e ausentes nos machos foram descritas também em outras espécies da família curculionidae, como em *Homalinotus coriaceus* (Gyllenhal) e em *Pseudopiazurus papayanus* (Marshall) (SARRO; CROCOMO; FERREIRA, 2004; SOUSA et al., 2004). A descrição do dimorfismo sexual em *O. muricatus* coincidiu com a descrita por Sarro, Crocomo e Ferreira (2004) para *H. coriaceus*, isto possivelmente se deve ao fato de que o gênero *Ozopherus* está filogeneticamente mais próximo do gênero *Homalinotus*, os quais compartilham uma série de outras características (VAURIE, 1973).

4.3 Respostas comportamentais de *O. muricatus* frente à voláteis de partes de sua planta hospedeira e co-específicos

Os compostos voláteis emitidos pelo cacho de açaí com frutos verdes, não foram significativamente atrativos para os machos de *O. muricatus*, porém apresentaram significância ($p=0,05$) na atração das fêmeas (Figura 11). O mesmo aconteceu com os compostos voláteis emitidos por cachos de açaí com frutos

maduros, que foram significativamente ($p=0,01$) atrativos para as fêmeas e não atrativos para os machos (Figura 12). Compostos voláteis emitidos por cachos de açaí com flor e pedaços de cachos de açaí foram significativamente ($p=0,01$) atrativos para fêmeas e machos de *O. muricatus* (figuras 13 e 14). Já com relação aos compostos voláteis obtidos de machos e fêmeas de *O. muricatus*, observamos atração de ambos os sexos para cada amostra, com significância ($p=0,01$) como mostram as figuras 15 e 16.

Figura 11. Resposta de fêmeas e machos de *O. muricatus* aos voláteis emitidos pelos cachos de açaí verde. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes ($*0,05$). NS denota que não houve atividade significativa.

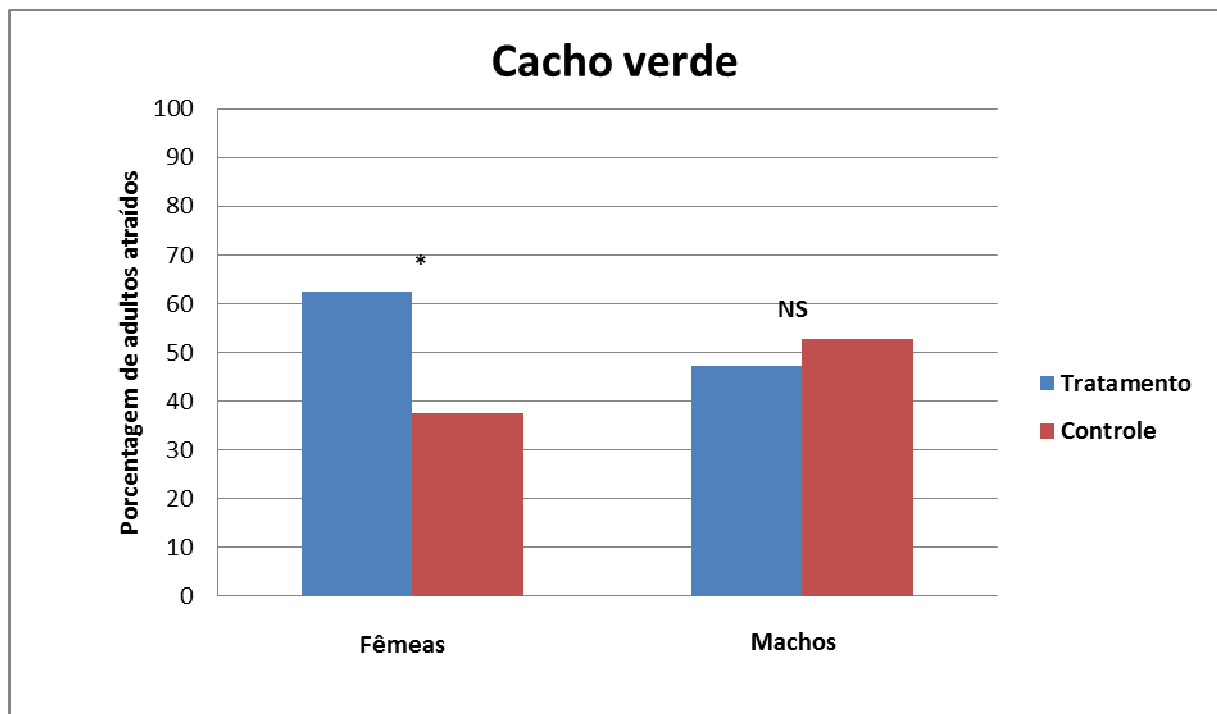


Figura 12. Resposta de fêmeas e machos de *O. muricatus* aos voláteis emitidos pelos cachos de açaí maduro. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes ($*0,01$). NS denota que não houve atividade significativa.

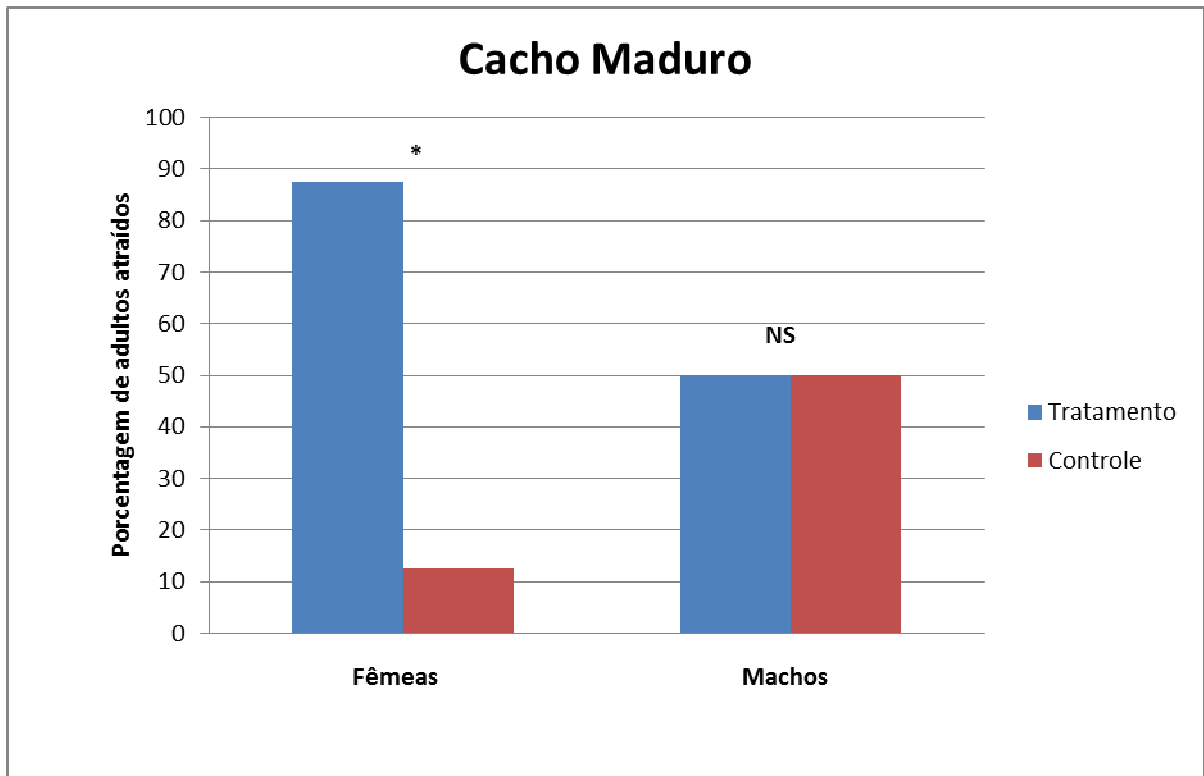


Figura 13. Resposta de fêmeas e machos de *O. muricatus* aos voláteis emitidos pelos cachos de açaí em flor. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes (*0,01). NS denota que não houve atividade significativa.

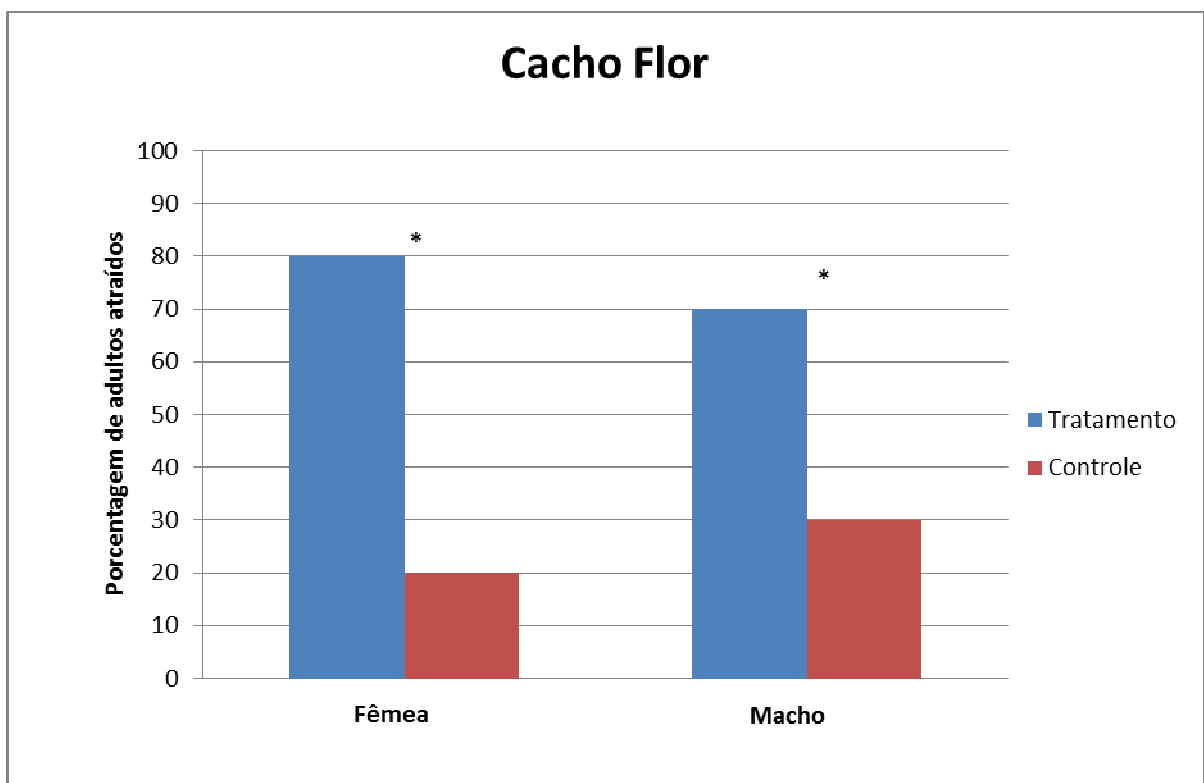


Figura 14. Resposta de fêmeas e machos de *O. muricatus* aos voláteis emitidos pelos pedaços do cachos de açaí. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes (*0,01). NS denota que não houve atividade significativa.

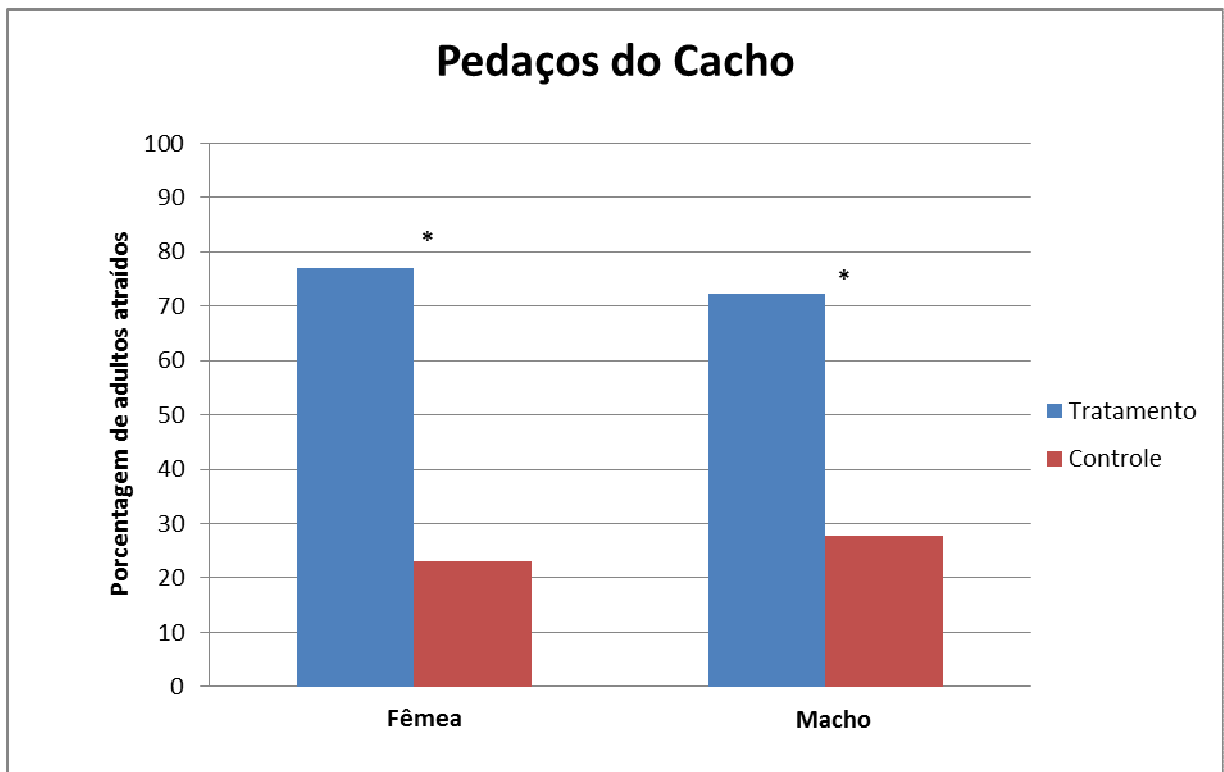


Figura 15. Resposta de fêmeas e machos de *O. muricatus* aos voláteis emitidos pelos machos. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes ($*0,01$). NS denota que não houve atividade significativa.

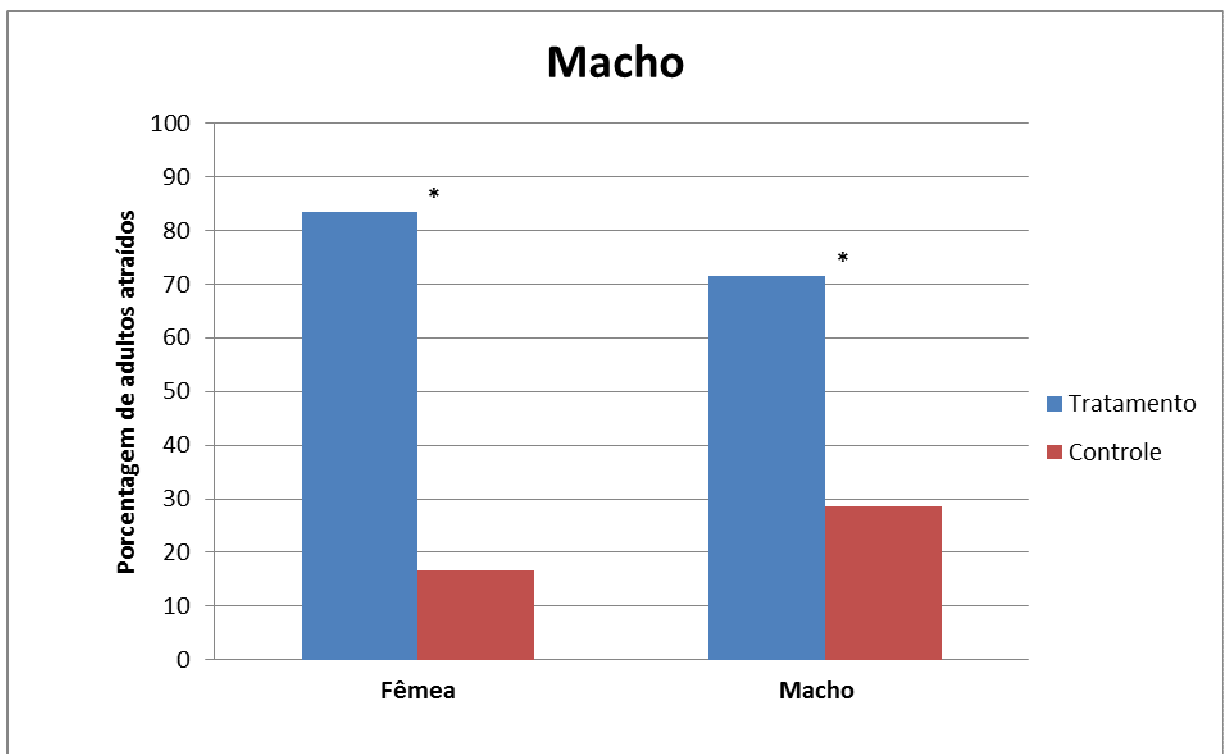
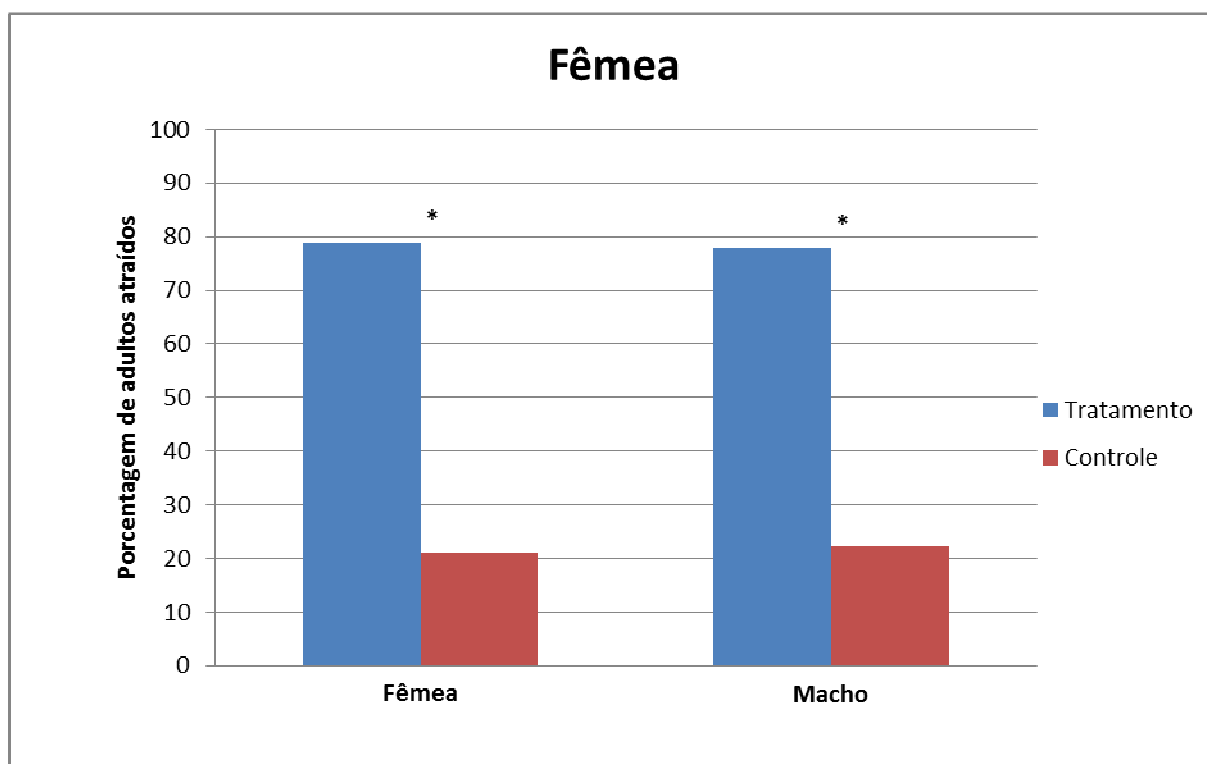


Figura 16. Resposta de fêmeas e machos de *O. muricatus* aos voláteis emitidos pelas fêmeas. Os asteriscos indicam que amostra e controle foram significativamente diferentes (*0,01). NS denota que não houve atividade significativa.



O fato de apenas as fêmeas terem demonstrado uma atração significativa aos extratos de cachos de açaí com frutos verdes e maduros quando comparados com os machos, pode indicar a necessidade de encontrar um local para oviposição. Os cairomônios emitidos pelas plantas hospedeiras são utilizados pelos insetos não só na busca por alimentos, mas também na busca de um hospedeiro adequando para perpetuar a espécie (MAESHIMA et al., 1985; BRÉVAULT; QUILICI, 2010; PROFFIT et al., 2011).

A atratividade de machos e fêmeas para os extratos obtidos de flor e pedaços do cacho do açaí evidencia a importância dos cairomônios no sucesso do inseto em busca da planta hospedeira e mostra grande potencial como mais uma ferramenta utilizada no controle de pragas. Em trabalho realizado por Anfora et al. (2009) com *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae), a mistura sintética dos compostos emitidos por duas variedades de uva, foi testada em campo na intenção de observar a atratividade das fêmeas frente ao composto e aos cachos de uva. Constatou-se que o composto sintético foi mais atrativo que os voláteis

emitidos pelos cachos de uvas, mostrando-se promissor no monitoramento de fêmeas desta praga.

Outros estudos relatam a atratividade de plantas hospedeiras em relação a praga como por exemplo, atração de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae) por voláteis de milho e de sementes de trigo (UKEH et al., 2010; UKEH et al., 2012), de *R. palmarum* por voláteis de coqueiro e frutos de abacaxi (JAFFÉ et al., 1993), de *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae) frente a voláteis de rizoma da bananeira (BUDENBERG et al., 1993), de *Cylas formicarius elegantulus* (Summers) (Coleoptera: Curculionidae) atraídas por voláteis folhas e raízes de batata doce (NOTTINGHAM et al., 1989) e de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) por compostos voláteis de frutos do café (MENDESIL, S. et al., 2009).

A resposta positiva de machos e fêmeas a compostos voláteis do sexo oposto e a seus próprios compostos, sugere que tanto os machos quanto as fêmeas de *O. muricatus* liberam um feromônio de agregação e este tenha sido potencializado pelo fato de que a extração destes compostos foi realizada com a presença da dieta natural utilizada na criação dos insetos (cana-de-açúcar), causando um efeito sinérgico entre os extratos dos insetos e da dieta. A existência deste feromônio já foi observada em várias espécies da família curculionidae, porém estes estão na maioria das vezes associados aos machos desta família, como é o caso de *R. palmarum* (ROCHAT et al., 1991; JAFFÉ et al., 1993), *Odoiporus longicollis* Olivier (Coleoptera: Curculionidae) (PRASUNA et al., 2008), *Sternechus subsignatus* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) (AMBROGI; CORTÉS; ZARBIN, 2012), *C. sordidus* (TINZAARA et al., 2003); *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae) (RUIZ-MONTIEL et al., 2003). Porém, feromônio de agregação liberado por ambos os sexos foi descrito em *Metamasius hemipterus sericeus* (Oliv.) (Coleoptera: Curculionidae) (PEREZ et al., 1997).

4.4 Identificação dos picos ativos na CG-EAG através de CG-EM

Foram observadas três respostas eletrofisiológicas para os extratos obtidos do cacho de açaí com flor (Figura 17), assim como para os extratos obtidos de pedaços do cacho de açaí (Figura 18). Para os extratos de machos e fêmeas de *O. muricatus*, foram observadas quatro respostas eletrofisiológicas (Figuras 19 e 20).

Figura 17. Eletroantenografia demonstrando resposta eletrofisiológica da antena de *Ozopherus muricatus* exposta aos extratos obtidos do cacho de açaí com flor.

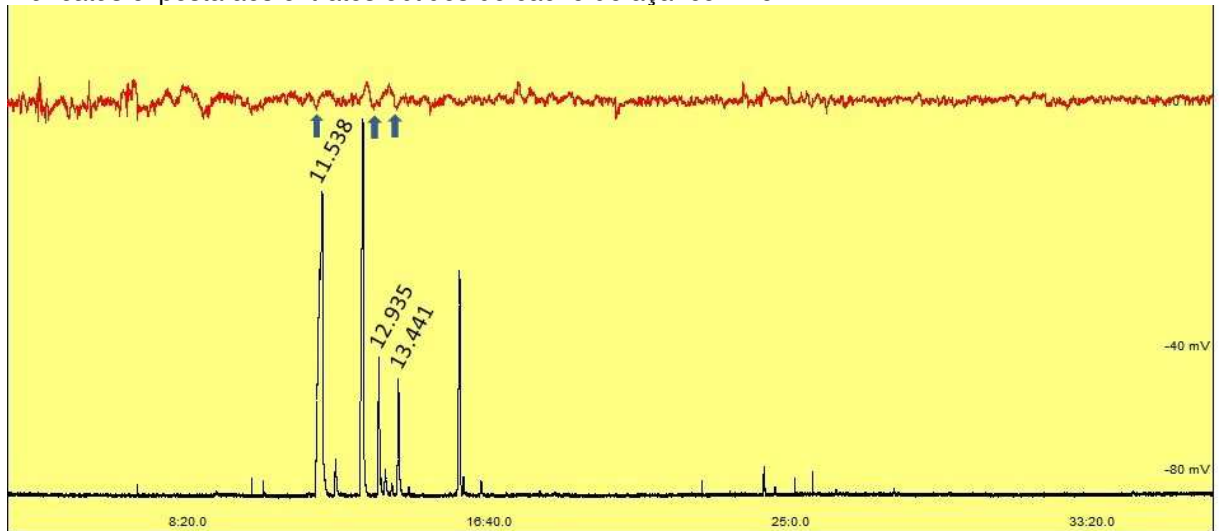


Figura 18. Eletroantenografia demonstrando resposta eletrofisiológica da antena de *Ozopherus muricatus* exposta aos extratos obtidos de pedaços do cacho de açaí.

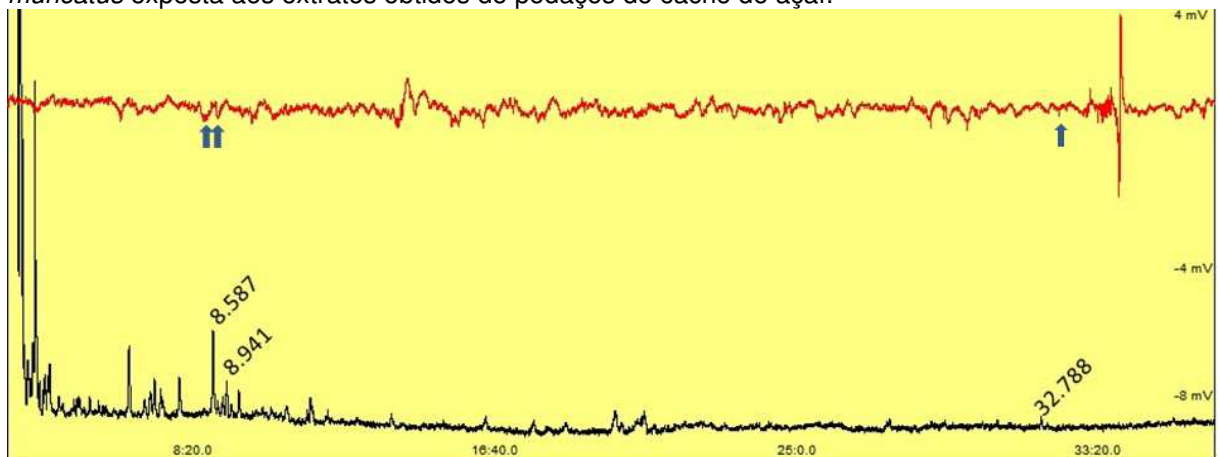


Figura 19. Eletroantenografia demonstrando resposta eletrofisiológica da antena de *Ozopherus muricatus* exposta aos extratos obtidos do machos.

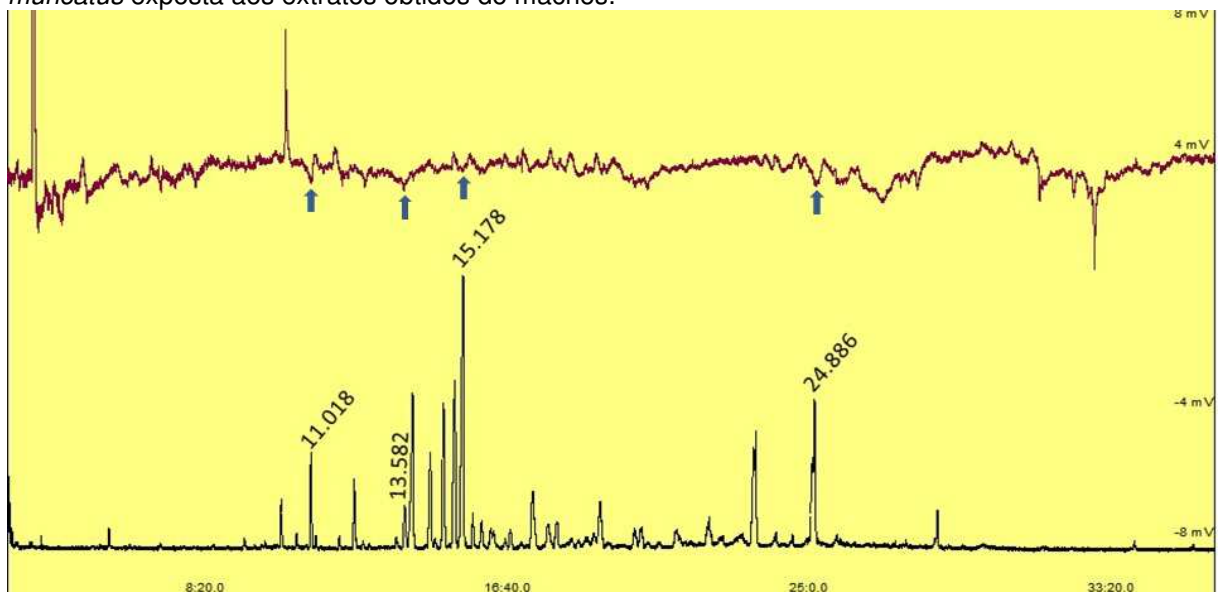
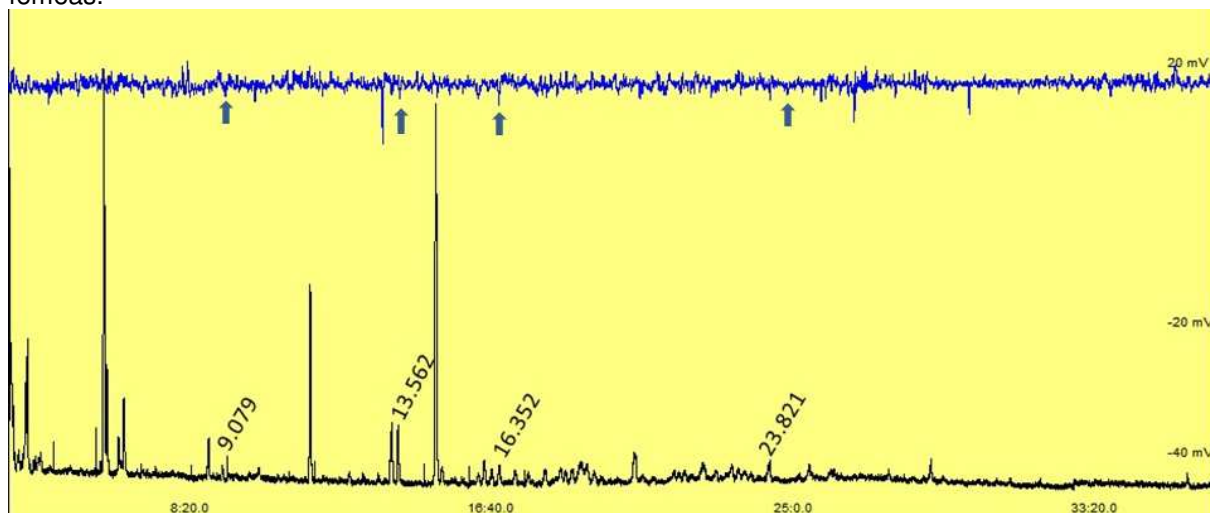
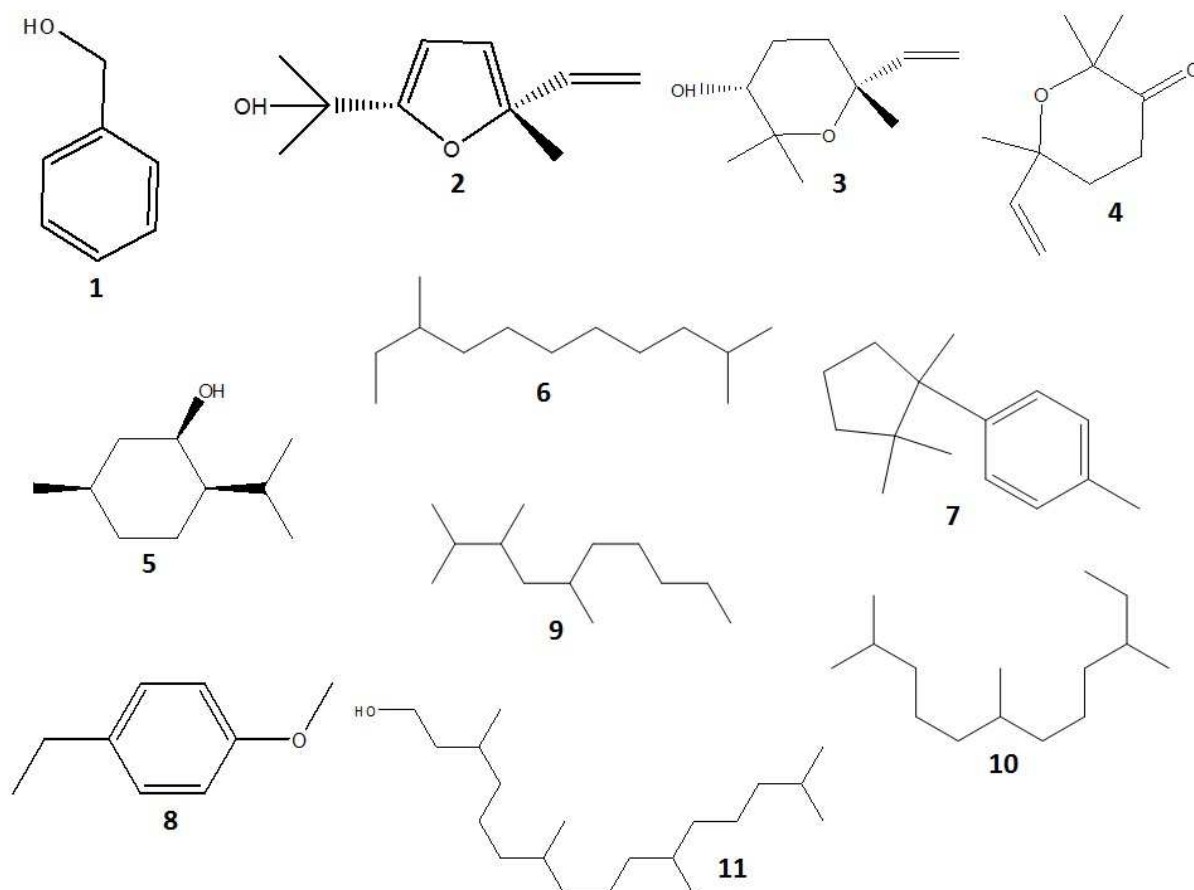


Figura 20. Eletroantenografia demonstrando resposta eletrofisiológica da antena de *Ozopherus muricatus* exposta aos extratos obtidos fêmeas.



Os três picos que apresentaram respostas eletrofisiológicas nos extratos de cachos de açaí com flores foram identificados por CG- EM como sendo álcool benzílico, óxido de *cis*-linalool (forma furanoídica) e 2,2,6-trimetil-3-ceto-6-viniltetrahidropirano (Figura 21 1, 2 e 4). Os compostos identificados para os picos de pedaços do cacho de açaí foram, o óxido de *cis*-linalool (forma furanoídica), óxido de *cis*-linalool (forma piranoídica) (Figura 21 2 e 3) e o um composto não pôde ser identificado, devido à pequena quantidade existente na amostra. Para extratos de machos, foram identificados três dos quatro compostos correspondentes às respostas eletrofisiológicas: α -*neo-iso*-mentol, 2,9-dimetil-undecano e cupareno (Figura 21 5, 6 e 7), apenas o composto correspondente à terceira resposta não foi ainda identificado. Nos extratos de fêmeas, os compostos correspondentes aos picos foram: *p*-etilanol, 2,3,5-trimetil-decano, 2,6,10-trimetil-dodecano (farneseno) e 3,7,11,15-tetrametil-1-hexadecanol (Figura 21 8, 9, 10 e 11).

Figura 21. Compostos correspondentes aos picos que apresentaram respostas eletrofisiológicas. 1) Álcool benzílico; 2) Óxido de *cis*-linalool (forma furanoídica); 3) Óxido de *cis*-linalool (forma piranoídica); 4) 2,2,6-trimetil-3-ceto-6-viniltetrahidropirano; 5) α -*neo*-iso-mentol; 6) 2,9-dimetil-undecano; 7) Cupareno; 8) p-etilanisol; 9) 2,3,5-trimetil-decano; 10) 2,6,10-trimetil-dodecano (farneseno); 11) 3,7,11,15-tetrametil-1-hexadecanol.



O composto óxido de *cis*-linalool está presente tanto nos extratos de cachos de açaí com flor quanto nos estratos de pedaços do cacho, desencadeando resposta eletrofisiológica em ambos os extratos. Este composto já foi descrito em extratos de *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae), que apresentou atratividade para *Lobesia botrana* Den. and Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae) (KATERINOPOULOS et al., 2005). Já em trabalho realizado por Rodriguez-Saona, Rodriguez-Saona e Frost (2009) a produção de óxido de *cis*-linalool aumenta em *Vaccinium corymbosum* L. (Ericaceae) quando sujeito à herbivoria por *Lymantria díspar* L. (Lepdoptera: Lymantriidae). Martini et al. (2010) constataram que grandes quantidade de Linalool repelem fêmeas de *Neodiprion sertifer* (Geoffroy) (Hymenoptera: Diprionidae), enquanto que uma menor quantidade as atrai.

Em trabalho realizado por Binder, Robbins e Wilson (1995) foi constatada a preferência na oviposição de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) para placas contendo o composto Farneseno quando comparado com outros dois compostos. Com relação aos demais compostos, não foi encontrada associação com insetos.

5 CONCLUSÕES

Foi constatado que o inseto na fase adulta causa danos ao cacho de açaí com flores e frutos através do ato de alimentar-se e também ao depositar seus ovos na base do mesmo. As larvas constroem galerias ao longo do cacho acarretando na morte deste.

O dimorfismo sexual pode ser observado facilmente em pupas, através de duas pequenas protuberâncias na região ventral terminal do abdome de fêmeas, as quais são ausentes nos machos, apresentado estes últimos segmentos abdominais lisos. Nos adultos, o dimorfismo pode ser observado dorsalmente, nos últimos tergitos abdominais, onde no macho o sétimo e oitavo tergito são aparentes e, nas fêmeas, o sétimo tergito encobre totalmente o oitavo. Esta descoberta facilitará futuros trabalhos com estes insetos.

Os estudos comportamentais demonstraram que as fêmeas foram atraídas significativamente por todos os tratamentos da planta hospedeira, enquanto que os machos só não foram atraídos por dois tratamentos, e esta diferença de fêmeas e machos pode estar relacionada à necessidade das fêmeas para oviposição. Ambos os sexos responderam significativamente a seus voláteis e os do sexo oposto, isto demonstra a existência de um feromônio de agregação liberado por ambos os sexos.

O estudo eletroantenográfico mostrou que um total de 14 picos mostraram respostas eletrofisiológicas, destes, 12 picos foram identificados. O óxido de *cis*-linalool apresentou bioatividade no extrato de cacho de açaí com flor e pedaços do cacho.

REFERÊNCIAS

AGROFIT-Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 13 de fevereiro de 2014.

AMBROGI, B. G.; CORTÉS, A. M. P.; ZARBIN, P. H. G.. Identification of male-produced aggregation pheromone of the curculionid beetle *Sternechus subsignatus*. **J. Chem. Ecol.**, v. 38, p. 272-277, 2012.

ANFORA, M. T. G. et al. Synthetic Grape Volatiles Attract Mated *Lobesia botrana* Females in Laboratory and Field Bioassays. **J. Chem. Ecol.**, v. 35, p. 1054–1062, 2009.

BARRETO, E. L. et al.. **Análise de viabilidade econômica:** um estudo aplicado a estrutura de custo da cultura do açaí no estado do Amazonas. Observatorio de la economia latino americana. n. 161, p. 18, 2012. Disponível em: <http://www.eumed.net/cursecon/ecolat/> . Acessado em: 22 de fev. de 2014.

BARRETO, M.R.; N. ANJOS. *Spermologus rufus*, Boheman 1843 (Coleoptera: Curculionidae). Lavras. **Cienc. Agrotecnol.** v.23, n.2, p.358-364, 1999.

BARRETO, M. R.; ROSADO-NETO, G. H. Dimorfismo sexual de *Onchoscelis germari* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae). **EntomoBrasilis**. v. 5, p.242-245, 2012.

BENTES-GAMA, M. de M. et al. **Açaí (*Euterpe spp.*):** características, formação de mudas e plantio para a produção de frutos. Embrapa, Comunicado técnico. ISSN 0103-9334. Nov., 2005. Porto velho, RO.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa Amazônia Oriental. **Sistema de Produção do Açaí**. Dez. 2006. Vol. 4 - 2ª Ed.

BRÉVAULT, T.; QUILICI, S. Interaction Between Visual and Olfactory Cues During Host Finding in the Tomato Fruit Fly *Neoceratitis cyanescens*. **J. Chem. Ecol.**, v.36, p. 249–259, 2010.

BUDENBERG, W. J. et al. Behavioral and electrophysiological responses of the banana weevil *Cosmopolites sordidus* to host plant volatiles. **J. Chem. Ecol.**, v. 19, n. 2. p. 267-277, 1993.

CERUTI, F. C. **Interações entre feromônios de insetos e semioquímicos de plantas.** Rev. Acad., Curitiba, v. 5, n. 1, p. 73-82, jan./mar. 2007.

CRUZ, C. D.. **GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics**- doi: 10.4025/actasciagron.v35i3.21251. Acta Scientiarum. Agronomy (Online), 2013. v. 35, p. 271-276.

DICKE, M; SABELIS, M. W. **Infochemical terminology:** Based on cost-benefit analysis Rather than origin of compounds? Functional Ecology, 1988. V. 2, n 2. p 131-139.

DICKE, M.; SABELIS, M. W.. **Cost and benefits of chemical information conveyance:** proximate and ultimate factors. P. 122 – 155. In: Roitberg, B. D.; M. D. Isman (eds), Insect chemical ecology: an evolutionary approach. Chapman; Hall, New York. 1992.

FERNANDES, W. D.; CARVALHO, S. L.; HABIB, M. Between-season attraction of cotton boll weevil, *Anthonomus grandis* boh. (Coleoptera: Curculionidae) adults by its aggregation pheromone. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 2, p. 229–234, 2001.

FERREIRA, J. M. S. **Sistema de Captura do *Rhynchophorus palmarum* com armadilha tipo pet.** Encarte Embrapa, 2007.

FUJIHARA, R. T. et al. **Insetos de importância econômica:** guia ilustrado para identificação de famílias. FEPAF, Botucatu. 2011, p. 391. ISBN: 978-85-98187-32-7.

GALLO, D. et al. Entomologia Agrícola. Piracicaba: FEALQ. 2002. 920 p.

GIBLIN-DAVIS, R. M. **Borers of palms.** In: HOWARD, F. W.; et al. (Ed.). Insects on palms. Wallingford: CABI Publishing, 2001. 400 p. p. 267-304.

GOULART, H. F. **Desenvolvimento de feromônios para controle de pragas, novos caminhos de síntese, formulação, imobilização e liberação controlada.** 2012. 159 F. TESE (Doudorado em Biotecnologia – Concentração na área de Recursos Naturais). Universidade Federal de Alagoas. 2012.

IBGE- **Censo Agropecuário 2006**. Disponível em <www.sidra.ibge.gov.br> Acesso em: 09/10/2012, às 10:15:30h.

JAFFÉ, K. et al. Chemical ecology of the palm weevil *Rhichophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): attraction to host plants and to a male-produced aggregation pheromone. **J. Chem. Ecol.**, 1993. v 19, n 8, p. 1703 – 1720.

KATERINOPOULOS et al. Composition and insect attracting activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis*. **J. Chem. Ecol.**, v. 31, n. 1, p. 111-122, Jan. 2005.

LOPES, R. B. et al. Combination of the fungus *Beauveria bassiana* and pheromone in an attract-and-kill strategy against the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, p. 75–85, Jan. 2014

MARTINI et al. The Influence of Pine Volatile Compounds on the Olfactory Response by *Neodiprion sertifer* (Geoffroy) Females. **J. Chem. Ecol.**, v. 36, p. 1114–1121, 2010.

MARTINS, C. B. C. **Semioquímicos envolvidos nas interações intra e interespecíficas de *Oryzophagus oryzae* (Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae) e *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Heteroptera: Thaumastocoridae)**. 2013. 118 f. Tese (doutorado em Ciências - Concentração na área de Entomologia). Universidade Federal do Paraná. 2013.

MAESHIMA, K. et al. Identification of chemical oviposition stimulants from rice grain for *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). **J. Chem. Ecol.**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 1985.

MENDESIL, S. et al. Semiochemicals used in Host Location by the Coffee berry Borer, *Hypothenemus hampei*. **J. Chem. Ecol.**, v. 35, p. 944–950. 2009.

MORAES, M. C. B. et al. **Metodologia para estudos de semioquímicos e a sua aplicação no manejo de pragas**. A influência de voláteis de soja no comportamento do parasitóide *Telenomus podisi*. Embrapa, Circular técnica. Dez. 2003. Brasília, DF.

NASCIMENTO, W. M. O. **Açaí – *Euterpe oleracea* Mart.** Embrapa Amazônia Oriental, Informativo Técnico. ISSN 1679-6500. 2008. Belém, Pará.

NOGUEIRA, O. L. et al. **AÇAÍ**, Brasília, texto novo editoras e serviços editorias Ltda, 1995, COLEÇÃO PLANTAR. ISBN 85-85007-53-2

NOGUEIRA, O. L.; HOMMA, A. K. O. **A importância do manejo de recursos extrativos em aumentar o "carrying capacity"**: o caso do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) no estuário amazônico. POEMA tropic, Belém, PA, v. 2, p.31-35, 1998.

NOTTINGHAM, S. F. et al. Attraction of adult sweet potato weevils, *Cylas formicarius elegantulus* (Summers), (Coleoptera: Curculionidae) to sweet potato leaf and root volatiles. **J. Chem. Ecol.**, v. 15, n. 3, 1989.

OLIVEIRA, M. do S. P. de.; CARVALHO, J.E.U. de; NASCIMENTO, W.M.O. do. **Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)**. Séries Frutas Nativas. Belém, Pará. 2000. Vol. 7. 52f.

OLIVEIRA, M. do S. P. de. **Biologia floral do açaizeiro em Belém, PA**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. Boletim de Pesquisa Desenvolvimento. 2002. p. 26. Belém, Pará.

OLIVEIRA, M. Do S. P.; NETO, J. T. F. **Cultivar BRS-Pará: Açaizeiro para Produção de Frutos em Terra Firme**. Embrapa, Comunicado técnico. ISSN 1517-2244. Dez., 2004. Bélem, Pará.

PASCOE, F.P. **Contributions towards a knowledge of the Curculionidae**. J. Linn. Soc. Zool., 1872. 11:440-492. Part III.

PERES, T. B. **Noções básicas de cromatografia**. Biológico, São Paulo, v.64, n.2, p.227-229, jul./dez., 2002.

PEREZ, A. L. et al. Aggregation pheromones and host kairomones of west Indian sugarcane weevil, *Metamasius hemipterus sericeus*. **J. Chem. Ecol.** 1997. v 23. P. 869-888.

PRASUNA, A. L. et al. Olfactory responses of banana pseudostem weevil, *Odoiporus longicollis* Olivier (Coleoptera: Curculionidae) to semiochemicals from conspecifics and host plant. **CURRENT SCIENCE**, v. 94, n. 7, 2008.

PROFFIT, M. et al. Attraction and Oviposition of *Tuta absoluta* Females in Response to Tomato Leaf Volatiles. **J. Chem. Ecol.**, V. 37. p. 565-574, 2011.

ROCHAT, D. et al. Male-produced aggregation pheromone of the American palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): collection, identification, electrophysiological activity, and laboratory bioassay. **J. Chem. Ecol.**, v. 17 p. 2127-2141, 1991.

RODRIGUEZ-SAONA, C. R.; RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; FROST, C. J. Herbivore Induced Volatiles in the Perennial Shrub, *Vaccinium corymbosum*, and Their Role in Inter-branch Signaling. **J. Chem. Ecol.**, v. 35 p.163–175, 2009

RUIZ-MONTIEL, C. et al. Evidence for a Male-Produced Aggregation Pheromone in *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, 2003. v 96, n 4. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/full/10.1603/0022-0493-96.4.1126>. Acesso em: 4 de fev. 2014.

SARRO, F.B.; CROCOMO, W.B.; FERREIRA, J.M.S. Aspectos da biologia e morfologia da broca do pedúnculo floral do coqueiro, *Homalinotus coriaceus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). **Neotrop. Entomol.**, v. 33, n. 1, p.7-12, 2004.

SILVA-FILHO, G.; BAILEZ, O. E.; VIANA-BAILEZ, A. M. Dimorfismo sexual do gorguho-da-goiaba *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae). **Neotrop. entomol.**, v. 36, n. 4, Ago. 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519566X2007000400006&lng=en&nrm=iso > Acesso em: 03 de Fev. 2014.

STEWART-JONES, A.; POPPY, G.M. Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. **J. Chem. Ecol.**, v. 32, p. 845-864. 2006.

SOUSA, L. A et al. Description of the larva and pupa of the papaw borer weevil *Pseudopiazurus papayanus* (Marshall) (Coleoptera, Curculionidae, Piazurini). **Rev. Bras. Entomol.**, v. 48, n. 2, p. 331-334, 2004.

SOUZA, L. A.; CELESTINO FILHO, P.; SILVA, A. B. **Principais pragas do dendezeiro e seu controle**. In: Viégas e Muller. A cultura do dendezeiro na Amazônia brasileira. (eds) Belém: EMBRAPA, Amazônia Oriental; Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental. 2000. P.274-333.

SOUZA, L. A. **Insetos Pragas em Acessos de Açaizeiros em Viveiro**. Embrapa Amazônia Oriental, Comunicado Técnico. ISSN 1517-2244. Nov., 2002, Belém, PA.

TINZAARA, W. et al. Different bioassays for investigating orientation responses of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* show additive effects of host plant volatiles and a synthetic male-produced aggregation pheromone. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 106. p. 169–175, 2003.

TREVISAN, O.; OLIVEIRA, L. E. **Ocorrência de *Ozopherus muricatus* Pascoe, 1882 (Coleoptera: Curculionidae) Uma Nova Praga em Açaizeiro**. In: III Conferência Nacional sobre Defesa Agropecuária. Defesa Agropecuária: Responsabilidade Compartilhada. 2012, Salvador, BA. *Anais...* Salvador, 2012, 211 p.

UKEH, D. A. et al. Behavioural responses of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*, to host (stored-grain) and non-host plant volatiles. **Pest Manag Sci**, v. 66, p. 44–50, 2010.

UKEH, D. A. et al. Identification of Host Kairomones from Maize, *Zea mays*, for the Maize Weevil, *Sitophilus zeamais*. **J. Chem. Ecol.**, v. 38, p.1402–1409, 2012.

VAURIE, P. **The weevil genera *Homalinotus* and *Ozopherus* of the neotropical Cholinae (Coleoptera, Curculionidae)**. New York. Bulletin of the American Museum of Natural History. 1973. V. 152, p.1-50.

VILELA, E. F.; LUCIA, T. M. C. D.. Introdução ao semioquímicos e terminologia. In: VILELA, E. F.; Terezinha M. C. DELLA LUCIA, T. M. C. (Org.). **Feromônios de Insetos**: Biologia, Química e Emprego no Manejo de Pragas. Holos, Ribeirão Preto. 2001. v. 2, p. 09-12.

WITZGALL, P.; KIRSCH, P.; CORK, A. Sex pheromones and their impact on pest management. **J. Chem. Ecol.**, v. 36, p. 80-100, 2010.

ZARBIN, P. H. G.. **Extração, Isolamento e Identificação estrutural de substâncias voláteis de insetos**. In: VILELA, E. F.; Terezinha M. C. DELLA LUCIA, T. M. C. (Org.). **Feromônios de Insetos**: Biologia, Química e Emprego no Manejo de Pragas. Holos, Ribeirão Preto. 2001. v. 2, p. 45-50

ZARBIN, P. H. G., FERREIRA, J. T. B., LEAL, W. S.. **Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônio de insetos**. Química Nova. 1999. 22: 263–268.

ZARBIN P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. **Feromônios de insetos:** tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. *Quim. Nova*, vol. 32, n. 3, p. 722-731, 2009. ISSN 0100-4042.