**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Comportamento sexual e reprodutivo de *Sphenophorus levis* Vaurie,
1978 (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar**

Nancy Barreto-Triana

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba
2009**

Nancy Barreto-Triana
Engenheiro Agrônomo

**Comportamento sexual e reprodutivo de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978
(Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar**

Orientador:
Prof. Dr. JOSÉ MAURÍCIO SIMÕES BENTO

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Entomologia.

**Piracicaba
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Barreto-Triana, Nancy del Carmen

Comportamento sexual e reprodutivo de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar / Nancy del Carmen Barreto-Triana. - - Piracicaba, 2009.

95 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2009.
Bibliografia.

1. Cana-de-açúcar 2. Coleoptera 3. Comportamento reprodutivo animal 4. Comportamento sexual animal 5. Feromônios de agregação 6. Iscas 7. Plantas hospedeiras I. Título

CDD 633.61
B273c

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

A Dios por bendecirme con una maravillosa familia, muchos amigos y por permitirme alcanzar este sueño.

AGRADEZCO

A mis padres MISAEL y CARMENZA, porque con su amor, enseñanza y dedicación, hicieron de nosotros sus hijos GUILLERMO, JOHN, NANCY y MARIO personas honestas, responsables y con valores que hoy nos permiten estar donde estamos. LOS AMO INMENSAMENTE!

OFREZCO

A NELSON por su amor, comprensión y apoyo incondicional, esenciales para lograr este triunfo. Porque gracias a nuestro amor conseguimos vencer dificultades y continuar juntos. TE AMO!

A mis hijos DAVID RICARDO, JOSÉ DANIEL y VALENTINA por ser el mejor motivo para continuar adelante, por los sacrificios que pasamos juntos y por la gran satisfacción de ser una madre que alcanza sus logros gracias al amor, comprensión y alegría siempre presente en ustedes. LOS ADORO, USTEDES SON MARAVILLOSOS !

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Felizmente posso falar que foram várias as instituições e muitas as pessoas que tornaram possível a realização de meus estudos e, por isso, sou muito grata:

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), pela oportunidade de realização do curso de Doutorado em Entomologia;

À Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA, pela oportunidade para a realização do Curso e pela Comissão de Estudos;

Ao Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología "Francisco José de Caldas", COLCIENCIAS, pela Bolsa de Estudos;

À Academic and Professional Programs for the Americas LASPAU, pelo desembolso dos recursos da Bolsa de estudos, especialmente á Lisa Mallozzi Tapiero, Program Advisor;

Ao Centro de Tecnologia Canavieira CTC, Piracicaba, pela oportunidade para a realização desta pesquisa;

A empresa BIO CONTROLE pelo suporte com as armadilhas para os bioensaios de campo;

Agradeço especialmente ao Prof. José Maurício Bento, por sua amizade, ensino e orientação. Pela grande oportunidade e confiança que me proporcionou ao me aceitar como sua primeira orientada de doutorado. Espero ter cumprido suas expectativas. Sou grata para sempre;

Ao Prof. José Roberto Postali Parra, pela oportunidade de desenvolver os trabalhos na estrutura do laboratório de Biologia de Insetos, pelos conselhos, amizade e por ser um grande exemplo de dedicação e gosto pela entomologia;

Aos professores Dr. Celso Omoto e Dr. João Lopes, Coordenadores do Programa de Entomologia, pelo apoio e colaboração antes e durante a realização de meu doutorado;

Aos professores do Departamento de Entomologia, especialmente aos Drs. Djair Vendramin, Roberto Zucchi, Sinval S. Neto, Octavio Nakano e Sergio Alves (*in memorian*), pelas sugestões e colaboração no desenvolvimento da pesquisa;

Ao Prof. Sergio Vanin, Instituto de Biociências, Museu de Zoologia–USP, pela colaboração na confirmação da espécie;

Ao Prof. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias, do Departamento de Ciências Exatas da ESALQ/USP, pela ajuda com as análises estatísticas;

Aos funcionários do Centro de Tecnologia Canavieira-CTC. Em especial, ao Dr. Enrico de Beni Arrigoni - Coordenador de Fitossanidade; ao Msc. Luiz Carlos de Almeida, Msc. Erich Stingel, pela amizade, colaboração e por compartilhar seus conhecimentos enriquecedores. À Sueli, pela amizade e colaboração para obtenção dos insetos. Aos funcionários Patrick, Odair, Valter e José, pela grande colaboração no desenvolvimento dos bioensaios de campo;

Prof. Paulo Henrique G. Zarbin, do Laboratório de Semioquímicos da Universidade Federal de Paraná, pela amizade, ensino e oportunidade de compartilhar conhecimentos no seu laboratório. As estudantes de pós-graduação Bianca Ambrogi, Marcy Fonseca e Angela Maria pela amizade e grande ajuda proporcionada durante minha visita;

A Dr. Jairo Osório, Subdirección de Investigación y Transferencia de Tecnología CORPOICA, pela amizade, confiança e grande apoio para a realização de meus estudos;

A Dr. Diego Aristizabal Director C.I Tibaitatá e Gustavo García Coordenador de Investigación C.I. Tibaitatá CORPOICA, pela amizade e apoio;

Ao meu grande amigo e exemplo Dr. Edgar Martinez Granja, porque sua amizade não tem preço. Por ser o amigo incondicional, pelos incentivos constantes para minha formação como pesquisadora e pela grande oportunidade de pertencer ao Programa de Epidemiologia Vegetal de CORPOICA. *Lo logré!* Muito obrigada;

Ao Dr. Aristóbulo López-Ávila Programa MIP-CORPOICA, por sua amizade, conselhos e aportes nestes anos como pesquisadora e no desenvolvimento da tese;

À Dra. Irma Baquero CORPOICA, por sua amizade, conselhos e grande colaboração nestes anos longe de casa. As amigas Dra. Amparo Rojas e Dra. Inés Toro CORPOICA, porque sempre me motivaram para aceitar este desafio, por sua amizade e agradáveis momentos compartilhados;

Ao meu amigo Humberto Fierro CORPOICA, porque senti muito sua falta nos momentos de desespero, sua calma e espiritualidade são demais;

A meus grandes amigos de Epidemiologia Vegetal CORPOICA Dra. Clemencia de La Rotta, Roberto Jurado (*in memoriam*), Elizabeth, Myriam e Omar, porque sem sua amizade, companheirismo, apoio e alegria não teria conseguido crescer na minha formação como pesquisadora. Obrigada;

Aos amigos do Programa MIP-CORPOICA Betty, Eduardo, Germán, Elizabeth, Juan, Jesús, Flor e John, e de BIOMETRIA Alberto, Jorge e Ricardo por sua amizade e por estar sempre comigo;

A minha irmã Brasileira Vera Ávila, Protocolo CENA-USP, suas filhas Andrea e Carolina, Neto, Fernando e família, por abrir as portas de seu coração e de seu lar, para acolhermos como sua família, nosso reconhecimento e carinho para sempre. Nunca esqueceremos tudo o que fizeram por nós.

A meus colegas do Laboratório de Comportamento de Insetos: Alberto, Ana Lia, Laura, Newton, Renata, Rejane K., Sandro, Weliton, Aiane, Daiane, Fernanda, Rejane L., e Vitor, pela amizade, colaboração e momentos compartilhados. À Cristiane, minha imensa gratidão pela ajuda desde o primeiro dia até hoje, sempre disposta a me ajudar, obrigada por me aguentar! A Maria Fernanda e André, pela alegria e disposição para me ajudar. À Ohana, por sua agradável companhia. À Isabel, pela amizade e ajuda na condução de bioensaios e correção de textos. Vocês sempre estarão no meu coração;

Às estagiárias Luciana Matsubara e Mayra Ambrozano pela amizade, manutenção da criação e ajuda oportuna na condução dos bioensaios;

À minha amiga Regiane, porque em curto tempo nos tornamos grandes amigas, pela confiança, alegria e ajuda proporcionada ao longo destes 4 anos. Sou muito grata;

Ao Vitalis, porque só ele e eu sabemos quanto é difícil ficar longe da família. Por sua disposição para sempre me ajudar. Muito obrigada e muito sucesso na nova etapa de sua vida;

Aos meus colegas e amigos do curso Gerane, Mônica e Cláudia pelos agradáveis momentos de convívio; Nadia, Rodrigo e Zé Wilson pela amizade, paciência e ajuda que tornaram mais fácil o retorno as aulas. Muito obrigada;

Aos amigos do Laboratório de Biologia de Insetos; em especial ao Dori, Neide, Adriana, Nívia, Marina, Gilberto, pela oportuna ajuda recebida;

À Patrícia Milano pela confecção dos desenhos e pelas longas horas de conversa. Obrigada;

Aos funcionários do Departamento de Entomologia, especialmente a Marinéia, Regina “Señorita”, Marta, Carlos e João, por sua amizade e colaboração oportuna;

À bibliotecária Eliana Maria Garcia pela disposição para as correções finais da tese;

Ao Prof. Dr. Júlio Walder, CENA-USP, pela oportunidade de compartilhar seus conhecimentos na disciplina de Radioentomologia, sua amizade e agradáveis momentos com os colegas Lourdes, Aline, Leandro e Thiago;

Aos grandes amigos Venezuelanos Beatriz (INIA), Jesús, Fernando e Estefânia por se tornar parte da família, sua amizade e ajuda. Não temos como agradecer;

À Escola COC–Piracicaba, Professores e funcionários, especialmente sua Diretora Marta Zago, não tenho como agradecer pela imensa ajuda e carinho com meus filhos durante a realização dos estudos. Sempre estarão presentes;

Finalmente, agradeço as famílias Dueñas-Pinto e Barreto-Triana pelo apoio incondicional, perto e longe de casa, porque sentimos sua falta e porque todos são essenciais para nós. Obrigada pelo carinho;

A todos os amigos e pessoas que involuntariamente esqueci-me de citar, que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito deste trabalho... Obrigada.

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 DESENVOLVIMENTO.....	19
2.1 Revisão bibliográfica.....	19
2.1.1 Biologia e comportamento de <i>Sphenophorus levis</i>	19
2.1.2 Distribuição geográfica	20
2.1.3 Plantas hospedeiras.....	21
2.1.4 Flutuação populacional e dispersão.....	21
2.1.5 Sintomas de ataque e danos	22
2.1.6 Manejo integrado.....	22
2.1.6.1 Monitoramento	22
2.1.6.2 Controle cultural	23
2.1.6.3 Controle biológico e biotecnologia	24
2.1.6.4 Controle químico	25
2.1.6.5 Feromônio de agregação	25
2.1.6.6 Técnica do inseto estéril	25
2.1.7 Uso de semioquímicos no controle de pragas	26
2.1.7.1 Sinais químicos em coleópteros	27
2.1.7.2 Feromônios em curculionídeos.....	27
2.1.8 Comportamento reprodutivo	30
2.1.9 Comportamento sexual	30
2.2 Material e métodos	31
2.2.1 Comportamento reprodutivo de <i>S. levis</i>	31
2.2.1.1 Manutenção dos insetos	32
2.2.1.2 Horário e idade de acasalamento, duração e número de cópulas por casal	32
2.2.1.3 Período de pré-oviposição, número de ovos por fêmea e viabilidade dos ovos.....	32
2.2.1.4 Influência da idade avançada da fêmea de <i>S. levis</i> sobre o sucesso reprodutivo da espécie	33

2.2.2 Comportamento sexual de <i>S. levis</i>	33
2.2.2.1 Sequência do acasalamento	34
2.2.2.2 Duração das fases comportamentais de pré-cópula, cópula e pós-cópula	36
2.2.2.3 Estímulos envolvidos no comportamento sexual de machos	36
2.2.3 Resposta comportamental de adultos de <i>S. levis</i> a diferentes fontes de odor	37
2.2.3.1 Obtenção dos insetos	37
2.2.3.2 Coleta dos voláteis	37
2.2.3.3 Procedimentos analíticos.....	38
2.2.3.4 Composto sintético.....	38
2.2.3.5 Bioensaios comportamentais no laboratório	38
2.2.3.6 Atratividade do sexo e da planta hospedeira.....	39
2.2.3.7 Atividade biológica do extrato natural de machos e fêmeas e do feromônio sintético de <i>S. levis</i>	40
2.2.3.8 Bioensaios de atratividade no campo.....	40
2.2.3.9 Avaliação da atratividade dos sexos de <i>S. levis</i> no campo.....	41
2.2.3.10 Avaliação da atratividade dos sexos e dos extratos naturais de <i>S. levis</i>	41
2.2.3.11 Comparação da atração dos extratos naturais e os compostos sintéticos	42
2.2.4 Avaliação da eficiência de diferentes tipos de armadilhas na captura de <i>S. levis</i>	43
2.2.5 Raio de ação das iscas modelo CTC	44
2.3 Resultados e discussão	45
2.3.1 Comportamento reprodutivo de <i>S. levis</i>	45
2.3.1.1 Horário e idade de acasalamento, duração e número de cópulas por casal	45
2.3.1.2 Período de pré-oviposição, número de ovos por fêmea e viabilidade dos ovos	51
2.3.1.3 Influência da idade avançada das fêmeas de <i>S. levis</i> sobre o sucesso reprodutivo da espécie.....	56
2.3.2 Comportamento sexual de <i>S. levis</i>	57
2.3.2.1 Sequência do acasalamento	57
2.3.2.2 Duração das fases comportamentais de pré-cópula, cópula e pós-cópula	66
2.3.2.3 Estímulos envolvidos no comportamento sexual de machos	67
2.3.3 Resposta comportamental de adultos de <i>S. levis</i> a diferentes fontes de odor	70
2.3.3.1 Atratividade do sexo e da planta hospedeira.....	70

2.3.3.2 Atividade biológica do extrato natural de machos e fêmeas e do feromônio sintético de <i>S. levis</i>	71
2.3.3.3 Avaliação da atratividade dos sexos de <i>S. levis</i> no campo	77
2.3.3.4 Avaliação da atratividade dos sexos e dos extratos naturais de <i>S. levis</i>	78
2.3.3.5 Comparação da atração dos extratos naturais e dos compostos sintéticos	79
2.3.4 Avaliação da eficiência de diferentes tipos de armadilhas na captura de <i>S. levis</i>	80
2.3.5 Raio de ação das iscas modelo CTC.....	82
3 CONCLUSÕES	85
REFERÊNCIAS	87

RESUMO

Comportamento sexual e reprodutivo de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar

Com o objetivo de obter informações básicas sobre a bioecologia e o comportamento de *Sphenophorus levis* Vaurie, foram realizados diferentes bioensaios para conhecer seu comportamento sexual e reprodutivo; obter e testar a atividade biológica de seu feromônio natural em condições de laboratório e campo; verificar a eficiência de captura do feromônio sintético de agregação em condições de campo; determinar o tipo de armadilha mais eficiente para a captura e manejo de adultos; e avaliar o raio de ação das atuais armadilhas. Os resultados mostraram que *S. levis*, acasala-se em qualquer hora do dia, tem múltiplas cópulas, e os casais entre 14 e 35 dias de idade apresentaram as maiores frequências de cópulas, com 76 a 88%, respectivamente. A duração média da primeira cópula foi de $5,75 \pm 4,22$ h, e o tempo total de cópula variou entre 1 a 17 h. O período de pré-oviposição em fêmeas entre 14 e 35 dias, foi de $5,52 \pm 4,53$ a $10,90 \pm 5,37$ dias. O número de ovos/fêmea foi de 0,25 a 7,80, com viabilidade entre 33 e 63%. Fêmeas de *S. levis* com idade avançada entre 85 e 210 foram receptivas ao acasalamento (66%), ovipositaram entre 4,50 a 7,09 ovos, com viabilidade entre 49 e 79%. Machos e fêmeas de *S. levis* aptos ao acasalamento, apresentaram uma sequência típica de comportamentos para efetivar a cópula. A duração da pré-cópula variou de 2 a 5 horas. A cópula foi longa, com uma duração entre 7 a 13 horas. A pós-cópula durou entre 1,31 a 1,41 horas. O comportamento sexual associado à cópula foi influenciado pelo contato visual entre os casais e físico com outros indivíduos da espécie. Bioensaios em olfatômetro 'Y' demonstraram que os machos foram estimulados por voláteis de cana; cana + machos; e cana + fêmeas; enquanto as fêmeas apenas por cana + machos. Os machos responderam ao extrato natural de macho + cana; as fêmeas ao extrato de machos + cana, extrato de fêmeas e extrato de fêmeas + cana. O isômero (S)-2-metil-4-octanol gerou atividade comportamental de ambos os sexos de *S. levis*. No campo, a avaliação da atratividade dos extratos naturais e os compostos sintéticos (isômeros S; R e mistura racêmica S-R), mostraram diferença na captura de fêmeas e totais de adultos de *S. levis* entre o isômero R e o controle; no entanto, não diferiram dos demais tratamentos. A captura de adultos selvagens de *S. levis* nas diferentes armadilhas testadas, diferiu entre o controle ('isca CTC') e as armadilhas testadas (modelos 'galão', 'funil', e 'moleque da bananeira'). A recaptura de adultos marcados de *S. levis* foi baixa e correspondeu a apenas 2% dos insetos liberados, sendo maior a distância de 5 m (10 adultos). De forma geral, estes resultados contribuem para o conhecimento do comportamento sexual e reprodutivo de *S. levis* e são úteis para futuros programas de manejo integrado desta praga.

Palavras-chave: Reprodução; Semioquímicos; Voláteis de plantas; Feromônio de agregação; Armadilhas

ABSTRACT

Sexual and reproductive behavior of *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) in sugarcane

With the aim of obtaining basic information on bioecology and behavior of *Sphenophorus levis* Vaurie, different bioassays were realized in order to understand its sexual and reproductive behavior; obtain and test the biological activity of its natural pheromone under laboratory and field conditions; verify the capture efficiency of the synthetic aggregation pheromone under field conditions; determine the most efficient type of traps for capture and management of the adults; and evaluate the radius of action of the current traps. The results showed that *S. levis* mates any time of the day, has multiple mating and the mates between the ages of 14 and 35 days presented the highest mating frequencies of 76 to 88%, respectively. The mean duration for the first mating was 5.75 ± 4.22 h, and the total mating time varied between 1 to 17 h. The pre-oviposition period for females between 14 and 35 days, was 5.52 ± 4.53 to 10.90 ± 5.37 days. The number of eggs/female was 0.25 to 7.80, with viability of between 33 and 63%. Females of *S. levis* with advanced age between 85 and 210 days were receptive to mating (66%), oviposited between 4.50 to 7.09 eggs with viability between 49 and 79%. Males and females of *S. levis* with capacity to mate presented typical frequency behavior to effect mating. The pre-mating duration varied from 2 to 5 hours. Mating was long with duration of 7 to 13 hours. The post-mating duration lasted between 1.31 to 1.41 hours. Sexual behavior associated with mating was influenced by visual contact between the couples and the physical among coespecifics. Bioassays in a “Y” tube olfactometer demonstrated that the males were responsive to sugarcane volatiles; sugarcane + males; and sugarcane + females; while the females were stimulated at least by sugarcane + males. The males responded to the natural extract of male + sugarcane; while the females to the extract of males + sugarcane, extract of females and extract of females + sugarcane. The isomer (S)-2-methyl-4-octanol generated behavioral activity of both sexes of *S. levis*. In the field, the evaluation of attractivity of natural extracts and the synthetic compounds (isomer S; R and racemic mixture of S-R), showed differences in the capture of females and totals of adults of *S. levis* between the isomer R and the control; however, it was not different in other treatments. The capture of wild *S. levis* adults in the different tested traps differed between the control (‘bait CTC’) and the tested baits/traps (models ‘galão’, ‘funil’, and ‘moleque da bananeira’). The recapture of marked adults of *S. levis* was low and corresponded to 2% of the liberated insects within the longest distance of 5 m (10 adults). In general, these results add to the knowledge of *S. levis* sexual and reproductive behavior and are useful to future programs of integrated management of this pest.

Keywords: Reproduction; Semiochemicals; Plant volatiles; Aggregation pheromones; Traps

1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva da cana-de-açúcar é responsável por 8% do produto interno bruto brasileiro, movimentando anualmente cerca de US\$ 10 bilhões e gerando mais de 1 milhão de empregos diretos e 4 milhões de empregos indiretos (RODRIGUES, 2004; UNIÃO DA INDÚSTRIA DA CANA-DE-AÇÚCAR - UNICA, 2006).

A cana-de-açúcar é a terceira cultura em área cultivada no Brasil, com cerca de 6,3 milhões de hectares, tornando o país o primeiro produtor mundial de cana-de-açúcar, açúcar e álcool (UNICA, 2006). No estado de São Paulo, onde se cultivam 60% de toda a cana-de-açúcar processada pela indústria, a área plantada ocupa 4,2 milhões de hectares, mas a expectativa é que essa área ultrapasse 6 milhões de hectares nos próximos 5 anos (GOES, MANA, SOUSA e SILVA, 2008).

A cana-de-açúcar é afetada por diversas pragas desde sua implantação até a reforma. Os danos podem ser ocasionados nos colmos, perfilhos, folhas e no sistema radicular. O bicudo-da-cana, *Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera: Curculionidae) é considerado uma praga importante da cultura, pois suas larvas destroem a parte subterrânea da touceira, matando os perfilhos ou a touceira inteira (PRECETTI; ARRIGONI, 1990). Nas áreas infestadas, as perdas podem atingir anualmente entre 20 a 30 toneladas de cana por hectare (TÉRAN; PRECETTI, 1982).

Em razão do hábito desta praga, o controle cultural é a base de seu manejo, sendo primordial a destruição mecânica da soqueira nas áreas infestadas destinadas à reforma. Além disso, recomenda-se manter as áreas livres de plantas hospedeiras da praga, assim como a utilização de mudas saudáveis e o preparo antecipado do solo, nas áreas destinadas ao plantio (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

O monitoramento da praga baseia-se na captura de adultos por meio de iscas tóxicas confeccionadas com toletes de cana colocadas na base da touceira e cobertas por palha, distribuídas à razão de 100 armadilhas/ha, avaliadas a cada 20 dias. Para as formas imaturas, a avaliação prevê a abertura de duas trincheiras/ha (0,5 x 0,5 x 0,3m de profundidade), realizadas especialmente nas áreas de reforma. Esta metodologia permite a constatação de *S. levis* nas áreas de reforma e de possíveis novas áreas de disseminação (DEGASPARI et al., 1987; PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

A despeito da importância de *S. levis* para a cultura da cana-de-açúcar, ainda não se dispõe de informações básicas sobre a bioecologia e o comportamento desta praga que possam aprimorar o seu sistema atual de monitoramento e manejo.

Sendo assim, o presente trabalho teve os seguintes objetivos: (i) detalhar o comportamento sexual e reprodutivo de *S. levis*; (ii) obter e testar a atividade biológica de seu feromônio natural em condições de laboratório e campo; (iii) verificar a eficiência de captura do feromônio de agregação sintético em condições de campo; (iv) determinar o tipo de armadilha mais eficiente para a captura e manejo de adultos no campo; (v) avaliar o raio de ação das iscas modelo CTC.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

2.1.1 Biologia e comportamento de *Sphenophorus levis*

O bicudo-da-cana, *Sphenophorus levis* Vaurie, pertence à superfamília Curculionoidea, família Curculionidae e subfamília Dryophthorinae (MARVALDI; LANTERI, 2005).

O ciclo biológico de *S. levis* em condições de laboratório (27 a 30°C e fotofase de 12 horas) varia entre 58 e 307 dias, com 173,2 dias em média. As fêmeas apresentam longevidade de até 249 dias e os machos, de 247 dias (DEGASPARI et al., 1987).

Os adultos geralmente são encontrados abaixo do solo, têm coloração castanho-escuro a marrom, com manchas pretas no dorso do tórax e listras longitudinais sobre os élitros (DEGASPARI et al., 1987). A fêmea possui entre 10,5 a 13,3 mm, enquanto o macho é menor, possuindo entre 7,7 a 11,2 mm, com a região ventral mais pilosa, principalmente, na coxa dianteira, onde a agrupação dos pelos confere uma aparência de esponja. O rostro da fêmea é maior medindo cerca de $3,40 \pm 0,10$ mm contra $2,70 \pm 0,05$ mm do macho (VAURIE, 1978). De acordo com Degaspari et al. (1987) a razão sexual de *S. levis* em laboratório e campo é de 1:1 e 1,5:1 fêmeas por macho, respectivamente. Os adultos possuem hábito noturno e são pouco ágeis, com comportamento de tanatose, ou seja, simulam-se de mortos ao serem manipulados (GALLO et al., 2002).

As fêmeas fazem a postura na base das brotações, abaixo ou ao nível do solo. Com as mandíbulas presentes no rostro, perfuram a casca dos colmos e perfilhos, inserindo os ovos individualmente, a até 4 mm no seu interior. A capacidade média de postura por fêmea é de 40 ovos, podendo chegar a 70 ovos, sendo que 75% destes são depositados na primeira metade de sua vida (DEGASPARI et al., 1987; PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

Os ovos têm coloração branco-leitosa no momento da postura e, quando próximos à eclosão das larvas, tornam-se amarelo-escuros. São de forma elíptica, com $0,270 \pm 0,004$ mm de comprimento e $0,100 \pm 0,012$ mm de largura (DEGASPARI et al., 1983). O período de incubação é de 7 a 12 dias, com viabilidade de 47,16% (DEGASPARI et al., 1987).

A fase larval varia de 26 a 50 dias com viabilidade de 35,8%. O período pupal tem duração de 5 a 13 dias, com viabilidade de 93,5% (DEGASPARI et al., 1987).

As larvas recém eclodidas têm coloração branco-leitosa, evoluindo para amarelo conforme se desenvolvem, sendo altamente sensíveis ao calor e à desidratação. Apresentam cabeça castanho-avermelhada e mandíbulas bem desenvolvidas. São ápodas, enrugadas e têm hábito subterrâneo, sendo que, para se locomover, as larvas se apóiam nas paredes das galerias abertas durante sua alimentação (DEGASPARI et al., 1987; GALLO et al., 2002).

Quando próxima à fase de pupa, a larva amplia a galeria onde se encontra, prepara uma câmara pupal, cessa os movimentos e a alimentação, e diminui o seu tamanho, transformando-se em pupa. A pupa é de cor branca leitosa, tipo exarada, e à medida que se transforma em adulto adquire coloração castanha (DEGASPARI et al., 1987).

2.1.2 Distribuição geográfica

O gênero *Sphenophorus* ocorre em diversos continentes, abrangendo uma gama de espécies que se alimentam de gramíneas. Setenta e cinco espécies ocorrem na América do Norte, de onde se acredita o gênero seja originado, 18 na América do Sul (incluindo 14 no Brasil), 6 na África do Norte, Europa e Ásia, e 26 em outras regiões da África e do pacífico (CSIK, 1936 apud VAURIE, 1978).

Sphenophorus levis está restrito a América do Sul, incluindo Brasil, Argentina e Paraguai (VAURIE, 1978). No Brasil, este inseto foi constatado inicialmente no ano de 1977, tendo sido descrita como espécie nova em 1978 (VANIN, 1988). Atualmente, ocorre nos estados do Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais e São Paulo; neste último em plantações de cana-de-açúcar em pelo menos 52 municípios das regiões Centro, Sul, Nordeste e Leste do estado (Palestra)¹.

¹ARRIGONI, E.D.B. Pragas de solo em cana-de-açúcar, Piracicaba, 14 ago. 2007. Palestra ministrada no Workshop ESALQ-USP.

2.1.3 Plantas hospedeiras

Existem poucas informações sobre hospedeiros alternativos de *S. levis*. Há relatos de sua presença em bromeliáceas e milho, sendo que neste último, a praga é capaz de completar seu ciclo. Algumas gramíneas infestantes como grama-seda, capim-colchão e capim-marmelada, não são consideradas hospedeiras, mas favorecem o abrigo dos adultos (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

2.1.4 Flutuação populacional e dispersão

Os adultos apresentam dois picos populacionais no ano. O principal entre fevereiro e março, e o de menor intensidade entre outubro e dezembro. As larvas também apresentam dois picos populacionais, um em dezembro e outro de maior intensidade entre junho e julho. No caso das pupas, os picos são de dezembro a janeiro e de agosto a setembro (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

O clima, especialmente altas temperaturas parecem exercer forte influência sobre a flutuação populacional de *S. levis*, pois, tanto adultos, como pupas e larvas, são mais ativos durante os meses quentes e úmidos (outubro-março) e esta atividade diminui sensivelmente nos meses frios e secos (TERÁN; PRECETTI, 1982).

A capacidade de dispersão de *S. levis* é baixa, pois mesmo possuindo asas, seu deslocamento é realizado basicamente por caminhar, já que sua capacidade de vôo é restrita e pouco comum. De acordo com Precetti e Arrigoni (1990), adultos de *S. levis* foram observados em vôo irregular de até 200 a 300 m, durante uma revoada entre as 13 e 15 horas em dia de alta umidade e temperatura.

Segundo Degaspari et al. (1987), a dispersão de adultos no campo é de 6,6 m a 11,1 m por mês numa área aproximada de 98,2 m². Contudo, estes dados diferem daqueles obtidos por Precetti et al. (1983), nos quais as fêmeas e machos se dispersaram 5 e 3 m por dia, respectivamente. Já Arthur et al. (1987), mencionaram que os machos dispersaram mais rapidamente que as fêmeas com distâncias de até 24,7 e 9,12 m, respectivamente, durante observações ao longo de 3 semanas. Estas diferenças, possivelmente, referem-se às condições e

metodologias utilizadas para os estudos, porém, permitem concluir que *S. levis* tem baixa capacidade de deslocamento em condições naturais.

Neste sentido, acredita-se que o principal meio de disseminação de *S. levis* para outras áreas livres de sua ocorrência possam estar relacionadas ao transporte de mudas que alojam larvas nos entrenós da base da cana, ou mesmo adultos ocultos na palha e nos colmos de mudas recém cortadas.

2.1.5 Sintomas de ataque e danos

As larvas de *S. levis* são as responsáveis pelos danos pois, ao se alimentarem, escavam galerias e danificam os tecidos no interior das bases do perfilho ou colmos da cana, causando a morte das plantas, falhas nas brotações das soqueiras e redução na longevidade dos canaviais (TERÁN; PRECETTI, 1982).

O sintoma mais visível do ataque da praga ocorre na época seca do ano, quando aparecem perfilhos e brotos mortos com secamento progressivo das folhas, podendo ser confundido com fitotoxicidade causada por herbicidas, efeito de seca prolongada, dano mecânico por ferramentas, ou aplicação excessiva de vinhaça (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

2.1.6 Manejo integrado

2.1.6.1 Monitoramento

A identificação de possíveis áreas de ocorrência de *S. levis* nas áreas de reforma, para o manejo oportuno da praga, pode ser realizada por meio de levantamentos das formas imaturas da mesma, conforme procedimento adotado pelo Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) de Piracicaba/SP. Este levantamento deve ser realizado, preferencialmente, entre os meses de maio a setembro, época de maior ocorrência de larvas e pupas, o qual consiste na abertura de duas trincheiras (0,5m x 0,5m por 0,3m de profundidade) por hectare e coleta das formas biológicas presentes em cada ponto de amostragem (ALMEIDA; STINGEL, 2005).

O levantamento populacional de adultos é realizado por meio da instalação de iscas tóxicas confeccionadas com toletes de cana de 30 cm rachados ao meio e imersos em solução de Carbaryl 85 PM, na concentração de 1,25%, por 24 horas. A época de utilização vai de outubro e março, que coincide com a maior ocorrência deste estágio do inseto. Este levantamento deve ser feito em todas as áreas de viveiro para prevenir a liberação de mudas infestadas com *S. levis*, considerada uma das principais forma de disseminação da praga. Posteriormente, são distribuídas na razão de 100 iscas/ha, colocadas na base das touceiras e cobertas com palha, para proteção contra ressecamento. Estas iscas são avaliadas a cada 20 dias e, então, renovadas (DEGASPARI et al., 1987; PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

Em viveiros também é importante realizar um levantamento de infestação verificando a presença de galerias, formas biológicas e locais de ocorrência do dano. Este levantamento é realizado amostrando-se ao acaso, 100 canas por hectare no talhão, e complementa os levantamentos de pragas de solo (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

2.1.6.2 Controle cultural

O método mais utilizado para o controle de *S. levis* é o cultural, que consiste na destruição mecânica da soqueira nas áreas infestadas que são destinadas à reforma (PRECETTI; ARRIGONI, 1990). Esta prática tem como finalidade destruir e/ou expor a população de larvas e pupas no solo, razão pela qual deve ser realizada na época de maior população destas fases, de preferência no período de maio a setembro. Outra prática utilizada segundo estes autores é manter a área livre de plantas hospedeiras da praga por períodos superiores a 3 meses. Além disso, o próximo plantio deverá ser realizado mais tarde, por volta de março a abril, em ciclo de cana de ano e meio. Assim, procura-se reduzir a população de adultos presentes em altas densidades nos meses de janeiro a março.

Aparentemente, é importante manter a área destruída livre de vegetação, realizando gradagens sucessivas para evitar o aumento populacional da praga, pois embora algumas gramíneas infestantes como grama-seda, capim-colchão e capim-marmelada não se constituam hospedeiras, estas podem criar uma condição favorável para o abrigo dos adultos de *S. levis*. Além disso, devem-se utilizar mudas isentas da praga, de preferência originadas de áreas livres

do inseto, ou que foram colhidas em sistema de corte basal alto, com até 20 cm acima do nível do solo. Adicionalmente, para as áreas destinadas ao plantio, incluindo os viveiros, recomendam-se o preparo antecipado do solo e a inspeção de mudas provenientes do viveiro anterior, que deverão estar livres da praga. A rotação de culturas também é recomendada, evitando-se, contudo, que seja utilizada outras gramíneas, como o milho (PRECETTI, 1991).

2.1.6.3 Controle biológico e biotecnologia

Badilla e Alves (1991) recomendam a utilização de iscas com toletes de cana inoculados com o fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., em doses de $4,9 \times 10^{11}$ conídios por pedaço de cana-de-açúcar tratado (25 cm de comprimento), uma vez possuem persistência de até 16 dias e eficiência no controle de adultos de *S. levis*, com mortalidades de 92,35% em condições de campo.

Gallo et al. (2002), recomendam o uso de iscas com o fungo *Metharizium anisopliae* (Metsch) Sorok. e *B. bassiana*, isolados ou associados a inseticidas. Pesquisas com o isolado ESALQ Bt 95, demonstraram que a bactéria *Bacillus thuringiensis* (B.t.) possui atividade tóxica sobre *S. levis*, apresentando um bom potencial para o controle dessa praga (POLANCZYK et al., 2004).

Lopes (2002), realizou a caracterização da atividade proteínásica digestiva de *S. levis*, visando obter proteínas para transformação de plantas e consequente controle dos insetos. Esse autor identificou atividades proteolíticas presentes no intestino de larvas de *S. levis* e verificou uma atividade majoritária de cisteína proteinases (CP's) e menor atividade de Serina proteinases. Adicionalmente, transformou a cana-de-açúcar com o inibidor de cisteína proteases denominado Chagasina, que em ensaios enzimáticos mostrou atividade inibitória sobre as CP's presentes nas larvas. Posteriores ensaios com extratos de plantas transgênicas foram realizados para avaliar o efeito da Chagasina em larvas de *S. levis*, contudo, não houveram inibições de CP's, provavelmente, pela baixa expressão do inibidor na planta.

2.1.6.4 Controle químico

Métodos de controle químico incluem a aplicação de inseticidas ou a distribuição de iscas tóxicas para adultos. Estes métodos, todavia, apresentam elevado custo de mão-de-obra e a necessidade de reaplicações constantes. O plantio de cana em áreas de ocorrência da praga, após a eliminação mecânica da soqueira e de adultos com iscas tóxicas, deve ser realizado com mudas saudáveis e a adição de Fipronil 800 WG no sulco (250 gramas/ha). Os adultos do gorgulho podem ser controlados com iscas tóxicas, confeccionadas com canas cortadas ao meio e previamente tratadas com inseticida (25g de Carbaril 80-85% PM com 2L de água), colocadas na base da touceira a intervalos regulares e cobertas com capim, palha ou folhas de cana (PRECETTI; ARRIGONI, 1990). Segundo Gallo et al. (2002), 25 g de carbaril 850 PM com 1L de água e 1L de melação devem ser distribuídos na base de 150 a 200 iscas por hectare. Dinardo-Miranda (2005), recomenda ainda o uso da mistura carbofuran 350SC (6L/ha) + bifentrina 100CE (5L/ha), aplicados com equipamento tratorizado nas laterais da linha de cana ou sobre as linhas de cana, cortando a soqueira cerca de 5-10 cm de profundidade.

2.1.6.5 Feromônio de agregação

Um possível feromônio de agregação de *S. levis* foi identificado por Zarbin et al., (2003; 2004). De acordo com estes autores o composto (*S*)-2-metil-4-octanol foi capaz de promover um comportamento de agregação entre os adultos no laboratório. Este composto ainda será avaliado no campo para determinar sua atividade biológica (ZARBIN et al., 2004).

2.1.6.6 Técnica do inseto estéril

Arthur et al. (1993), determinaram os efeitos das radiações gama com Cobalto-60 em adultos de *S. levis*, avaliando o comportamento e competitividade sexual, visando utilizar a técnica do inseto estéril. Irradiaram machos e fêmeas, e em seguida estes foram cruzados com insetos normais. Os resultados de laboratório mostraram que não houve descendentes. Concluíram que a metodologia poderá ser útil para programas de manejo da praga, implementando a técnica do macho estéril no campo.

Outro estudo avaliou cinco doses de radiação gama sobre adultos da praga, avaliando-se o número de ovos e sua viabilidade, e a mortalidade de adultos. Não encontraram diferenças entre o número de ovos coletados por tratamento, com exceção da maior dose, onde o número de ovos foi menor. A mortalidade dos adultos foi maior nos tratamentos com doses superiores a 25 Gy, com uma consequente diminuição da longevidade. A dose 25Gy, não afetou a longevidade dos adultos da praga, mas induziu uma mutação letal dominante nas células germinativas, causando assim a esterilização dos adultos, objetivo final do estudo (ARTHUR et al., 1994).

2.1.7 Uso de semioquímicos no controle de pragas

Os insetos de um modo geral possuem grande habilidade para detectar sinais químicos no ambiente, que estão diretamente envolvidos no seu comportamento e sobrevivência, já que essas características tornam os indivíduos capazes de encontrar alimento, sítios de oviposição e acasalamento, etc. (PENG; LEAL, 2001).

As substâncias químicas que atuam como mensageiras entre organismos são chamadas de semioquímicos ou infoquímicos que são utilizadas entre dois ou mais organismos, promovendo no receptor um comportamento ou uma resposta fisiológica (VILELA; DELLA LUCIA, 2001).

Os semioquímicos são subdivididos segundo o tipo de interação inter ou intraespecífica e com base nos custos e benefícios de cada organismo. Os aleloquímicos são mediadores de interações entre dois indivíduos de espécies diferentes (ação interespecífica), enquanto os feromônios são utilizados entre indivíduos de mesma espécie (ação intraespecífica) (VILELA; DELLA LUCIA, 2001; ROITBERG; ISMAN, 1992).

Os feromônios são os semioquímicos mais estudados, e se define como uma “substância secretada por um indivíduo para o exterior e recebida por um segundo indivíduo da mesma espécie, provocando uma reação específica (comportamento definido) ou um processo fisiológico definido” (KARLSON; LUSCHER, 1959 apud VILELA; DELLA LUCIA, 2001). Segundo o benefício para o receptor ou emissor, os feromônios podem ser sexual, de alarme, marcação ou território, trilha e agregação (VILELA; DELLA LUCIA, 2001; PAIVA; PEDROSA, 1985). Os feromônios de agregação são substâncias químicas voláteis liberadas para agregar os indivíduos de uma espécie antes de alguma atividade como alimentação, reprodução ou hibernação, é mais comum nos insetos de vida longa (VILELA; DELLA LUCIA, 2001). Segundo Vilela e Della

Lucia (2001), quando há agregação, o inseto tem maior possibilidade de acasalamento com sucesso; assim os feromônios sexuais e os de agregação estão intrinsecamente relacionados.

2.1.7.1 Sinais químicos em coleópteros

Na ordem Coleoptera, além dos sinais visuais, acústicos e táteis, os compostos voláteis como ácidos carboxílicos, compostos carbônicos, álcoois, compostos aromáticos simples, derivados de aminoácidos dentre outros, têm um papel importante na transferência de informação entre estes indivíduos (FRANCKE; DETTNER, 2005).

2.1.7.2 Feromônios em curculionídeos

Os gorgulhos pertencem a uma das maiores famílias de besouros do mundo – Curculionidae – com cerca de 50 mil espécies, sendo 5 mil no Brasil, com uma ampla gama de hospedeiros e habitat (VANIN, 2006). A principal característica morfológica nesta família é a presença do rostro desenvolvido. Muitas espécies são pragas de importância agrícola, onde há diversas pesquisas visando seu controle com feromônios (BARTELT, 1999).

A maioria dos feromônios em gorgulhos são produzidos pelos machos e normalmente, atraem ambos os sexos a grandes distâncias (BARTEL, 1999; CALYECAC-CORTERO et al., 2006). A função dos feromônios de agregação em Coleoptera é a de auxiliar os machos na atração de fêmeas para seleção sexual e potencializar a cópula. No entanto, o feromônio só é produzido na presença de alimento, atraindo ambos os sexos; sendo que muitos machos respondem de forma oportuna, representando custos para o macho emissor em termos de maior competência por cópula e alimento (BIRKINSHAW; SMITH 2000).

Existem evidências da produção de outros feromônios pelos curculionídeos em algumas espécies: (i) fêmeas que produzem feromônios sexuais de longa distância atraindo exclusivamente machos; (ii) feromônios de contato de curta distância que atuam sobre o corpo destes insetos, permitindo o reconhecimento de machos coespecíficos; e (iii) feromônios deterrentes que impedem a oviposição, utilizados por fêmeas para marcar seu hospedeiro e evitar que seja ovipositado por outras. Além disso, há exemplos de cairomônios usados pelos gorgulhos

com outras espécies de besouros (BARTEL, 1999). No caso de *Dendroctonus brevicornis* LeConte (Coleoptera: Scolytidae), além do feromônio de agregação, existe também a presença um feromônio que inibe a agregação após a colonização do seu hospedeiro por um certo número de indivíduos, para evitar a chegada de mais concorrentes (HOWSE; STEVENS; JONES, 1998). Algumas espécies também possuem compostos defensivos usados contra predadores, como as larvas de *Oxyops vitiosa* Pascoe (Coleoptera: Curculionidae), que produzem secreções brilhantes cor laranja que cobrem o seu tegumento (provavelmente para defesa contra formigas), especialmente compostos terpenóides sequestrados das folhas de seu hospedeiro. Outra espécie relatada é *Rhopalotria mollis* (Sharp) (Coleoptera: Curculionidae), que sequestra Cycasin de sua planta hospedeira para sua defesa (FRANCKE; DETTNER, 2005).

Estudos comportamentais com gorgulhos apresentam relativa dificuldade, pois estes insetos respondem aos feromônios com pequenos saltos, vôos ou caminharmento, tornando os bioensaios em laboratório demorados e delicados. Muitos feromônios de gorgulhos são constituídos por misturas de compostos que atuam sinergicamente, e a ausência de um composto chave durante a síntese pode comprometer a ação dos demais compostos que estimulam o comportamento (BARTELT, 1999). Técnicas modernas como cromatografia gasosa acoplada ao eletroantenograma, (GC-EAD) favorecem a determinação de componentes dos feromônios dos gorgulhos, obtendo-se assim progressos mais rápidos de identificação. Portanto, é possível determinar qual composto volátil tem atividade sensorial e a informação pode ser combinada e comparada com a GC dos voláteis derivados dos machos e das fêmeas para o reconhecimento dos componentes específicos dos feromônios (BARTELT, 1999; VILELA; DELLA LUCIA, 2001).

Até o final dos anos de 1990, foram realizados estudos com 34 espécies de 11 subfamílias de curculionídeos, das quais em 23 espécies o feromônio foi claramente identificado, sendo o macho o responsável pela produção do feromônio de agregação; em contraste, em quatro outras espécies: *Antonomus grandis* Boheman, *Conotrachelus enuphar* (Herbst), *Diaprepes abbrevaitus* (Linnaeus), *Hylobius abietis* (L.), ambos os sexos foram os responsáveis pela produção de feromônio (BARTELT, 1999).

No bicudo-do-algodoeiro, *A. grandis*, o feromônio de agregação é produzido pelo macho e foi o primeiro feromônio de um gorgulho identificado com quatro compostos, sendo 'Grandisol' o principal (FRANCKE; DETTNER, 2005). Atualmente, esse feromônio é utilizado para detecção, monitoramento e supressão das populações de bicudo no campo. A fêmea possui

um feromônio de curta distância encontrado nas fezes, mais ainda não se conhece sua real atividade. Além disso, este inseto possui outro feromônio de deterrência da oviposição ou feromônio de marcação do hospedeiro.

Na broca-da-bananeira *Cosmopolites sordidus* (Germar), o macho produz um feromônio e ambos os sexos respondem (BARTELT, 1999), sendo o feromônio representado por um alto grau de oxigenação ao longo da cadeia (1S, 3R, 5R, 7S), denominado ‘Sordidin’ (FRANCKE; DETTNER, 2005). Segundo Viana (1992), além do feromônio de agregação dos machos, a mistura entre voláteis do rizoma da bananeira e a presença de fêmeas de *C. sordidus* atraem os machos. Nesta espécie, os voláteis da planta hospedeira exercem uma forte atração nos adultos, sendo este comportamento observado em vários outros curculionídeos (CUILLÉ, 1950, apud VIANA, 1992).

Algumas pragas de importância econômica na cana-de-açúcar no mundo têm estudos com feromônios como, por exemplo, *Metamasius hemipterus* (L.), *D. abbreviatus*, e *Rhabdoscelus obscurus* (Boisduval). *M. hemipterus* apresenta feromônio de agregação, sendo o principal componente o ‘Ferruginol’, identificado como sendo o 4-Methyl-5-Nonanol, além de outros compostos minoritários específicos do macho (BARTLELT, 1999; FRANCKE; DETTNER, 2005). Em *D. abbreviatus* ambos os sexos produzem um feromônio, associado às fezes, mais ainda não foi identificado quimicamente, devido às dificuldades dos estudos com feromônios nestas espécies e pela alta resposta aos odores da planta hospedeira. Já para a espécie *R. obscurus*, estudos preliminares no laboratório e campo demonstraram que os machos produzem um feromônio que atrai principalmente as fêmeas. A atividade deste feromônio está associada com o abdômen do macho, a parte posterior do intestino e as fezes (BARTLELT, 1999).

Na prática, o sucesso para o manejo integrado de curculionídeos baseado em uso de semioquímicos aproveita o sinergismo existente entre os feromônios de agregação e os cairomônios de plantas, melhorando a atração da praga alvo. A captura massal é uma excelente alternativa de controle, especialmente pelo longo ciclo de vida e longevidade dos adultos, baixa fecundidade e a alta resposta aos feromônios de agregação e cairomônios do hospedeiro, atraindo fêmeas e machos. Um bom exemplo é o controle de curculionídeos em palmáceas, com é o caso de *Rhynchophorus palmarum* (L.), na Costa Rica, que possui um feromônio de agregação (2E)-6-Methyl-2-Hepten-4-ol, denominado ‘Rhynchophorol’ (FRANCKE; DETTNER, 2005), *R.*

ferrugineus (Olivier), nos Emirados Árabes, *R. cruentatus* (Fabricius) na Flórida-EUA, e *R. phoenicis* (F.) na África (GIBLIN-DAVIS et al., 1996).

2.1.8 Comportamento reprodutivo

De acordo com Le Cato e Pienkowski (1970), as espécies de curculionídeos de vida longa (um ano o mais) precisam de múltiplas cópulas para incrementar a fecundidade como acontece com *Hypera postica* (Gyllenhal). Segundo Arnqvist e Nilsson (2000), nos insetos, os machos precisam de múltiplas cópulas para incrementar seu sucesso reprodutivo, enquanto que as fêmeas com uma ou poucas cópulas maximizam seu sucesso reprodutivo. Contrário a esta predição, fêmeas da maioria de insetos cópulam várias vezes com diferentes machos (poliandria) ou cópulam múltiplas vezes com o mesmo macho, o que tem efeito direto no sucesso reprodutivo, beneficiando-as com ganho direto de 30 -70% no incremento da produção de ovos e fertilidade. No entanto, o custo – benefício da poliandria tem implicações em termos de efeitos diretos no aumento de número de ovos e fertilidade; custos biológicos pelo dano físico do trato genital (presença de espinhos no edeago) e menor longevidade; custos ecológicos de tempo, energia e risco de predação (ARNQVIST; NILSSON, KATUALA, 2004). Sadek (2001) apud Campbell (2005) menciona que o custo-benefício da múltipla cópula para cada sexo pode influenciar vários aspectos do comportamento e ecologia dos organismos e tem consequências sobre o monitoramento e manejo da população de pragas.

2.1.9 Comportamento sexual

A maioria dos casos onde se identificou a fonte responsável pela liberação do feromônio ou aleloquímicos em curculionídeos e se determinou o tipo de resposta, foi por meio de estudos comportamentais, levando em consideração estímulos externos e o estado fisiológico interno do inseto (CALYECAC-CORTERO et al., 2006).

Nos curculionídeos a sequência de corte e acasalamento geralmente tem três etapas: pré-cópula, cópula e pós-cópula. A pré-cópula consiste na aproximação entre os sexos, com movimentos do rostro e antenas sobre o abdômen e/ou rostro do parceiro(a). Em alguns casos não ocorrem estes padrões comportamentais e a cópula é imediata, fato que acontece, por exemplo,

com frequência em *C. sordidus*, *Spermologus rufus* Boheman e *Homalinotus coriaceus* (Gyllenhal), (VIANA; VILELA, 1996; BARRETO et al., 1999; SARRO, 2002).

A cópula tem duas fases: passiva e ativa, a primeira consiste na monta do macho sobre a fêmea sem procurar sua genitália, conhecida como ‘fase passiva de Parker’ e pode ter uma duração variável (SANTOLAMAZZA; CORDERO, 1998). A fase ativa corresponde à introdução do edeago do macho na bolsa cópuladora da fêmea, neste período, geralmente, para muitas espécies o macho continua fazendo movimentos com o rostro sobre a cabeça da fêmea e segura fortemente o abdômen da parceira com as pernas posteriores e medianas, além de vibração dos tarsos. Neste caso, a duração da cópula é incerta na maioria das espécies, podendo durar entre 1 e 24 minutos em *C. sordidus*, 24 a 47 minutos em *H. coriaceus* ou menos de uma hora até mais de dois dias em *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal., sendo que às vezes, os machos retiram o edeago e novamente o introduzem, repetindo a cópula por até 6 vezes (VIANA, 1996; SARRO, 1999; BARRETO et al., 2002; SANTOLAMAZZA; CORDERO, 1998)

O período de pós-cópula na maioria dos casos se caracteriza pela permanência do macho sobre a fêmea. Quando se encontram agrupados, o macho guarda a fêmea por um período determinado após o acasalamento, possivelmente, para evitar a competição com os outros machos; enquanto que os casais individualizados terminam a cópula e o macho desmonta a fêmea imediatamente (VIANA, 1996; SANTOLAMAZZA; CORDERO, 1998).

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Comportamento reprodutivo de *S. levis*

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Comportamento de Insetos, do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba, da Universidade de São Paulo (USP), com a espécie *S. levis*, confirmada pelo taxonomista Dr. Sergio Antonio Vanin, do Instituto de Biociências, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo.

2.2.1.1 Manutenção dos insetos

Para os diferentes bioensaios foram utilizados adultos de *S. levis* obtidos da criação do Centro de Tecnologia Canavieira – CTC, Piracicaba-SP, mantidos sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($70 \pm 10\%$) e fotoperíodo (14:10h). Para garantir adultos virgens de idade conhecida, os indivíduos foram separados por sexo segundo Vaurie (1978) um dia após sua emergência, e mantidos isolados em placas de Petri® de 5 cm de diâmetro, contendo um pedaço de cana de 5 cm, aberto na metade e trocado a cada 4 dias.

2.2.1.2 Horário e Idade de acasalamento, duração e número de cópulas por casal

Para determinar o horário e número de acasalamentos por idade, casais de adultos virgens de *S. levis* com 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade foram observados durante 24 horas, avaliando-se, de hora em hora, se os mesmos encontravam-se ou não em cópula. Cada casal permaneceu em uma placa de Petri® contendo um pedaço (5 cm) de cana-de-açúcar sendo que, no período noturno, a sala foi mantida com luz vermelha para a visualização dos insetos sem interferência no seu comportamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos (idades) e 25 repetições (casais). Para a idade de 35 dias foram utilizados 23 casais. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste LSD ('Least Square Difference') ($P \leq 0,05$). Para frequência de cópulas, os dados foram transformados por $(x + 0,5)^{-5,4}$. Para duração de cada cópula e tempo total de cópula por idade, os dados foram transformados em 'cópula 1' ($x \log 10$), 'cópula 2' $(x + 0,5)^{-1}$, 'cópula 3 e 4' $(x + 0,5)^2$ e para 'tempo total de cópula' em $(\sqrt{x})$.

2.2.1.3 Período de pré-oviposição, número de ovos por fêmea e viabilidade dos ovos

Para determinar o período de pré-oviposição, o número de ovos depositados e sua viabilidade, as fêmeas que se acasalaram no ensaio anterior foram isoladas dentro de uma placa de Petri® e mantidas com um pedaço de cana, para sua alimentação e oviposição. O período de pré-oviposição correspondeu ao tempo (dias) entre o acasalamento e a primeira oviposição. As avaliações foram feitas a cada 3 dias, durante 35 dias. Para a avaliação da viabilidade, os ovos de

cada fêmea foram coletados e mantidos sobre papel-filtro umedecido dentro de uma placa de Petri®. Paralelamente, como controle deste experimento foram isoladas 30 fêmeas virgens com idade de 21 dias, as quais permaneceram por 60 dias nas mesmas condições das fêmeas acasaladas, para avaliar se eram capazes de produzir ovos férteis ou inférteis. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste LSD ($P \leq 0,05$).

Com os dados de idade, duração de cada cópula, tempo total de cópula, fertilidade, fecundidade e viabilidade, calculou-se o Coeficiente de Correlação de Spearman (CCS).

2.2.1.4 Influência da idade avançada da fêmea de *S. levis* sobre o sucesso reprodutivo da espécie

Considerando-se a grande longevidade dos adultos, avaliou-se a influência de uma idade avançada (85, 105 e 210 dias), sobre a capacidade de acasalar, ovipositar e gerar descendentes em fêmeas de *S. levis*. Para o experimento cada fêmea foi mantida virgem até a idade selecionada e colocada com um macho de 21 dias de idade, durante 24 horas. Após a cópula, as fêmeas foram mantidas isoladas em placas de Petri® contendo cana-de-açúcar para sua alimentação e oviposição. As avaliações do período de pré-oviposição, número de ovos e viabilidade (%), foram realizadas durante 60 dias consecutivos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos (idades) e 25 repetições (fêmeas de idade conhecida), exceto para as fêmeas com 210 dias de idade com 15 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). Com as variáveis, idade, pré-oviposição, total de ovos e viabilidade (%), foram calculados os Coeficientes de Correlação de Spearman (CCS).

2.2.2 Comportamento sexual de *S. levis*

Com o objetivo de determinar o comportamento sexual de *S. levis*, foram realizados bioensaios comportamentais sob diferentes estímulos olfativos, entre outubro de 2006 a julho de 2008. Para tanto, foram utilizados adultos virgens com idades entre 21 e 35 dias provenientes do Centro de Tecnologia Canavieira – CTC, Piracicaba-SP. A manutenção dos insetos e os bioensaios foram realizados no Laboratório de Comportamento de Insetos, da ESALQ-USP, sob

condições de temperatura ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($70 \pm 10\%$) e fotoperíodo (14:10h) e luz vermelha no período noturno.

2.2.2.1 Sequência do acasalamento

Para este estudo foram realizados quatro bioensaios, com o objetivo de determinar os principais eventos comportamentais envolvidos no acasalamento, segundo a presença ou ausência do hospedeiro (cana-de-açúcar) e de acordo com o padrão reprodutivo dos adultos.

Inicialmente foi necessário desenvolver uma unidade experimental que permitisse observar o comportamento natural dos adultos, com o mínimo de interferência externa. Para tanto foi confeccionada uma ‘câmara de acasalamento’ em acrílico com 10cm x 10cm x 6cm, sendo composta por três partes: (i) piso superior, onde os insetos eram confinados; (ii) piso inferior, contendo 4 pedaços partidos ao meio de cana fresca (estímulo da planta hospedeira); e (iii) piso do meio, contendo uma placa de acrílico com orifícios de 2 mm de diâmetro, separados entre si por uma distância de 1,5cm e distribuídos simetricamente na placa visando a passagem dos voláteis da planta hospedeira (cana-de-açúcar) do piso inferior para os adultos no piso superior (Figura 1).

Figura 1 – Unidade experimental (‘câmara de acasalamento’) confeccionada em acrílico com 10cm x 10cm x 6cm, para estudo do comportamento sexual de *Sphenophorus levis*; em detalhe nas fotos nota-se a presença de orifícios de 2 mm de diâmetro, separados entre si por uma distância de 1,5cm e distribuídos simetricamente na placa entre o piso superior e inferior da câmara. A) Câmara apresentando um casal de *S. levis* no piso superior e diversos casais no piso inferior se alimentando sobre o hospedeiro (cana-de-açúcar), cobertos por *voile* preto para evitar o efeito visual; B) idem ‘A’, porém sem o *voile* preto, permitindo o efeito visual; C) diversos casais de *S. levis* no piso superior sem o contato físico do hospedeiro (cana-de-açúcar) (piso inferior); e D) um casal de *S. levis* sem o contato físico do hospedeiro (cana-de-açúcar)

No bioensaio I, avaliou-se o comportamento sexual de casais de *S. levis* – macho x fêmea, mantidos no piso superior da ‘câmara de acasalamento’ – sob a influência de voláteis da cana-de-açúcar (hospedeiro) presente no piso inferior (n = 34 casais). Foram observadas as etapas de pré-cópula, cópula e pós-cópula de *S. levis*. Com base na frequência de casais que desempenharam cada comportamento, realizou-se a descrição qualitativa dos padrões motores exibidos (%), estabelecendo-se um etograma do comportamento sexual da espécie. No bioensaio II, foi avaliado o comportamento sexual de *S. levis* (macho x fêmea), na ausência de hospedeiro (cana-de-açúcar) (n = 58). No bioensaio III, o comportamento sexual de um macho virgem frente a duas fêmeas (virgem e experiente) (n = 30), com a presença dos voláteis da cana; e no bioensaio IV, o

comportamento de uma fêmea virgem frente a dois machos (virgem e experiente) ($n = 30$), com a presença dos voláteis da cana.

2.2.2.2 Duração das fases comportamentais de pré-cópula, cópula e pós-cópula

Para determinar a duração da pré-cópula, cópula e pós-cópula, casais de *S. levis* foram individualizados durante 24 horas na ‘câmara de acasalamento’. Os casais foram mantidos no piso superior da câmara de acasalamento sem o contato físico com o hospedeiro (cana-de-açúcar) no piso inferior. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 20 repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

2.2.2.3 Estímulos envolvidos no comportamento sexual de machos

Para determinar quais fatores são responsáveis pela indução da cópula em *S. levis*, foram avaliados diferentes estímulos químicos (hospedeiro), visuais (hospedeiro e/ou coespecíficos) e de contato físico em agregação nesta espécie. Os bioensaios foram realizados na ‘câmara de acasalamento’ descrita anteriormente, compreendendo os seguintes tratamentos: (i) **Casal sem contato físico e visual com coespecíficos e com presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar) e dos coespecíficos** (Figura 1A). O casal em avaliação ficou no piso superior da ‘câmara’ e outros 19 casais em agregação no piso inferior contendo o hospedeiro (cana-de-açúcar). Para evitar que o casal em avaliação tivesse contato visual com os demais, foi colocado um tecido *voile* entre os pisos (piso do meio), porém permitindo a troca de voláteis entre os coespecíficos; (ii) **Casal sem contato físico com coespecíficos, porém com contato visual e presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar) e dos coespecíficos** (Figura 1B). O casal em avaliação ficou no piso superior da ‘câmara’ e outros 19 casais em agregação no piso inferior contendo o hospedeiro (cana-de-açúcar). O casal em avaliação poderia ter contato visual com os demais coespecíficos, além da troca de voláteis entre eles; (iii) **Macho ‘marcado’ com contato físico e visual com coespecíficos e com presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar) e dos coespecíficos** (Figura 1C). Um macho virgem foi marcado com esmalte de unhas no élitro e colocado dentro de um grupo em agregação contendo outros 9 machos e 10 fêmeas virgens ($n = 20$ casais), todos no piso superior da ‘câmara’. No piso inferior foi colocado o hospedeiro (cana-

de-açúcar); (iv) **Casal sem contato físico e visual dos coespecíficos, na presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar)** (Figura 1D). Um casal foi colocado no piso superior da ‘câmara’, e no piso inferior só o hospedeiro (cana-de-açúcar).

Foram realizadas 20 repetições por tratamento, sendo que o tempo (minutos) até o macho montar a fêmea e frequência de tentativa de cópulas foram registrados durante 30 minutos. Os dados correspondentes ao tempo e frequência de tentativa de cópulas foram transformados em $(\sqrt{X})$ e $(X + 0,5)^{0,3}$, respectivamente, e as médias comparadas pelo teste LSD ($P \leq 0,05$).

2.2.3 Resposta comportamental de adultos de *S. levis* a diferentes fontes de odor

O objetivo desta etapa foi desenvolver bioensaios em laboratório e campo para avaliar a resposta comportamental de fêmeas e machos de *S. levis* aos voláteis de seus coespecíficos e a os compostos candidatos ao feromônio de agregação propostos por Zarbin et al. (2003; 2004).

2.2.3.1 Obtenção dos insetos

Os adultos de *S. levis* utilizados nos bioensaios foram obtidos da criação do Centro de Tecnologia Canavieira – CTC, Piracicaba-SP, e mantidos sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa ($70 \pm 10\%$) e fotoperíodo (14:10 h). Um dia após a emergência, os adultos foram separados por sexo de acordo com Vaurie (1978) e mantidos, individualmente, em placas de petri para garantir a obtenção de adultos virgens e de idade conhecida. Como substrato alimentar, foi fornecido um pedaço de cana de 5cm de comprimento, o qual foi substituído a cada 4 dias.

2.2.3.2 Coleta dos voláteis

A fim de caracterizar a atividade biológica e identificar um possível feromônio entre os compostos liberados por machos e fêmeas, foram realizadas extrações por aeração, utilizando-se adultos de ambos os sexos, com idades entre 21 e 35 dias. A extração dos voláteis foi realizada no Laboratório de Semioquímicos da Universidade Federal do Paraná, segundo a metodologia descrita por Zarbin et al. (1999).

Os adultos de *S. levis* foram separados em grupos de 25 machos e 25 fêmeas da mesma idade, e colocados em câmaras de aeração de vidro (33 cm de altura x 3,3 cm de diâmetro externo), contendo 4 pedaços de cana-de-açúcar de 5 cm de comprimento. Os voláteis foram coletados em colunas de vidro preenchidas com 0,8g de polímero Super Q[®] (Alltech, Deerfield, Illinois-EUA), durante 24, 48, 72 e 96 horas, para um total de 28 amostras. A destilação foi realizada com o solvente hexano, e concentrada a 25 µL (1 inseto equivalente – IE = 1,0µL) e 100 µL(IE = 4,0µL), com gás argônio.

2.2.3.3 Procedimentos analíticos

Uma alíquota de 1,0 µl de cada extrato obtido na aeração foi injetada em um cromatógrafo a gás Varian 3800 contendo uma coluna capilar DB-5 (30m X 0.25 mm X 0.25 mm) (J&W Scientific, Folson, Califórnia-EUA). As condições de análise foram: programa de 40 minutos, com temperatura inicial de 50°C por 1 min. e aumento de 7°C/min. até uma temperatura final de 250°C, mantida por 10 min. Após o término das corridas, os cromatogramas obtidos de machos e fêmeas foram comparados entre si para a detecção das diferenças entre os compostos químicos liberados por cada sexo.

2.2.3.4 Composto sintético

Os compostos sintéticos foram fornecidos pelo Laboratório de Semioquímicos da Universidade Federal do Paraná, e correspondem ao suposto feromônio de agregação de *S. levis*, previamente identificado e sintetizado por Zarbin et al. (2003; 2004), consistindo dos isômeros (S)2-metil-4-octanol, (R)2-metil-4-octanol, em concentração de 94% e a mistura racêmica S-R-2-metil-4-octanol.

2.2.3.5 Bioensaios comportamentais no laboratório

Os bioensaios de resposta dos adultos de *S. levis* a diferentes fontes de odor foram realizados com insetos de 21 a 35 dias de idade sob condições de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e luz natural das 14:00 as 18:00. Os insetos foram privados de

alimento por 24 horas antes do início dos bioensaios. As respostas comportamentais foram avaliadas num olfatômetro 'Y', constituído de um tubo central (15 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro) e dois tubos laterais (15 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro, com ângulo de 120° entre eles), cujas extremidades foram acopladas a rolhas de vidro para conexão em mangueiras de silicone (1 cm de diâmetro). Cada braço lateral do olfatômetro foi conectado a uma câmara (frasco de vidro) de 500mL, onde foram dispostos os tratamentos. O fluxo de ar filtrado e umidificado dentro do sistema foi estabelecido em $0,2 \text{ L.min}^{-1}$, sendo obtido por uma bomba de vácuo e regulado por meio de fluxômetros dispostos nas extremidades da entrada de ar para cada tubo lateral do olfatômetro.

Ensaio preliminares foram realizados para determinar o tempo médio necessário para escolha dos adultos, sendo padronizado em 5 min. No início de cada bioensaio, fêmeas ou machos, foram introduzidos individualmente no braço central do olfatômetro e observados até ultrapassarem as linhas de escolha marcada em cada braço distante 7 cm do centro do equipamento. Somente os insetos que fizeram a escolha dentro desse intervalo de tempo foram considerados como uma repetição para os bioensaios. Após cada indivíduo, a posição do olfatômetro era invertida em 180°C para evitar a influência de algum fator no direcionamento dos insetos. Ao finalizar cada bioensaio o olfatômetro era substituído por outro limpo e idêntico ao anterior. Todo olfatômetro foi lavado com detergente neutro Extran® e seco em estufa a 210°C por 20 min. Os adultos submetidos aos tratamentos foram utilizados no máximo por duas vezes, com no mínimo 3 dias de intervalo entre sua reutilização.

2.2.3.6 Atratividade do sexo e da planta hospedeira

Com o objetivo de determinar qual o sexo responsável pela atração dos coespecíficos e a influência dos voláteis do seu hospedeiro (cana-de-açúcar), foram avaliados os seguintes tratamentos: (i) branco vs branco; (ii) machos vs branco; (iii) fêmeas vs branco; (iv) machos+fêmeas vs branco; (v) cana vs branco; (vi) cana+macho vs branco; (vii) cana+fêmea vs branco; e (viii) cana+machos+fêmeas vs branco.

Nos tratamentos envolvendo somente machos ou fêmeas, foram utilizados sempre 20 indivíduos. No caso de envolver o hospedeiro, foram utilizados 90g de tolete de cana-de-açúcar.

Quando os machos e fêmeas foram utilizados juntos (casais) optou-se por 10 indivíduos de cada sexo.

Para cada tratamento foram realizadas no mínimo 38 repetições por sexo, sendo que cada indivíduo (repetição) era introduzido no tudo central, e o tempo estabelecido para uma possível resposta de 5 min., determinado previamente em ensaios preliminares. Os resultados da proporção das escolhas entre os tratamentos foram analisados pelo teste de χ^2 ($P \leq 0,05$).

2.2.3.7 Atividade biológica do extrato natural de machos e fêmeas e do feromônio sintético de *S. levis*

Para avaliar a atividade biológica dos extratos naturais de machos e fêmeas de *S. levis*, e dos isômeros e a mistura racêmica do feromônio sintético, avaliou-se a resposta de machos e fêmeas a sete tratamentos: (i) Septo com extrato de macho vs controle; (ii) extrato de fêmea vs controle; (iii) extrato de macho + cana vs controle; (iv) extrato de fêmea + cana vs controle; (v) isômero S + cana vs controle; (vi) isômero R + cana vs controle; e (vii) mistura racêmica S-R + cana vs controle. Os extratos naturais e os compostos sintéticos foram impregnados com microseringa em septos de borracha (8 mm, model Z124354-100EA Sigma-Aladrich). Para os extratos naturais foi avaliada a dose de 60 μ l/septo, correspondente a 15 insetos e para o feromônio sintético 20 μ l. A quantidade de cana-de-açúcar utilizada nos tratamentos foi de 45g.

2.2.3.8 Bioensaios de atratividade no campo

Entre fevereiro e abril de 2008, que coincidiu com a época de maior população de adultos de *S. levis*, foram realizados bioensaios no campo visando a atratividade de *S. levis* a diferentes fontes de odor. Os experimentos foram conduzidos na Fazenda Santo Antônio, Centro de Tecnologia Canavieira – CTC, Piracicaba-SP (21°18'S e 48°11'W). A área experimental foi de 1,93 ha com a variedade SP80-1842. Dentro desta área foram subdivididas parcelas de 16 x 15 m (240m², com 10 sulcos de cana). Cada tratamento foi instalado numa parcela, sendo este número variável de acordo com o bioensaio. O tratamento controle era sempre uma 'isca de toletes de cana-de-açúcar' modelo CTC, utilizada normalmente para o monitoramento e controle populacional da praga. A isca consistia de um pedaço de cana de 30 cm partido ao meio e imerso

em inseticida durante 24 h e disposto em contato com o solo na base da touceira e coberto com palha (Figura 2A).

2.2.3.9 Avaliação da atratividade dos sexos de *S. levis*

Para avaliar a atratividade de machos e fêmeas de *S. levis* em relação aos seus coespecíficos, foram utilizados seis tratamentos e cinco repetições: (i) cana em ‘isca CTC’ (controle); (ii) cana + 4 machos; (iii) cana + 4 fêmeas; (iv) 4 machos; (v) 4 fêmeas; e (vi) cana sem inseticida. Para tanto, exceto o tratamento cana em ‘isca CTC’ (controle), descrito anteriormente, os adultos virgens de cada sexo com idade entre 21 e 35 dias foram acondicionados em gaiolinhas plásticas circulares de 6 x 4 cm contendo um pedaço de cana de 5 cm para alimentação e cobertos com tecido *voile*. Estas gaiolinhas foram então penduradas numa armadilha modelo ‘moleque da bananeira’ (Biocontrole[®]) constituída por duas peças plásticas – base e cobertura – as quais tinha a finalidade de aprisionar os insetos atraídos e protegê-los dos raios solares e da chuva, respectivamente (Figura 2B). Os atrativos foram sempre afixados sob a cobertura da armadilha, que foi mantida a 15 cm da superfície do solo por meio de três hastes de bambu enterrados no solo. Diariamente, as gaiolinhas foram vistoriadas e os adultos mortos substituídos. Para os tratamentos contendo ‘cana + macho’, e ‘cana + fêmea’, foram penduradas 2 metades de cana de 10 cm na tampa da armadilha suspensas com arame. As avaliações foram realizadas a cada 3 dias durante 12 dias, quantificando-se fêmeas e machos. O delineamento foi inteiramente casualizado e o número de fêmeas, machos e o total coletado em cada armadilha foi submetido à análise de variância e as médias comparadas pelo teste LSD ($P \leq 0,05$).

2.2.3.10 Avaliação da atratividade dos sexos e dos extratos naturais de *S. levis*

Visando comparar a atratividade de ambos os sexos e dos extratos naturais de macho e fêmea foram utilizados cinco tratamentos com cinco repetições: (i) cana + inseticida (controle); (ii) extrato de machos; (iii) extrato de fêmeas; (iv) 4 machos; e (v) 4 fêmeas. A dose dos extratos nos septos foi de 60 µl/septo (15 equivalentes/fêmea ou macho). Exceto o tratamento controle, os demais (insetos e septos) foram dispostos de maneira similar a descrita nos bioensaios anteriores. Entretanto, foi utilizada a isca de cana do CTC (controle) com a parte superior da armadilha

‘moleque da bananeira’ (Biocontrole[®]), com a cana partida ao meio e colocada no solo (Figura 2C). As avaliações foram realizadas a cada 3 dias durante 12 dias, quantificando-se fêmeas e machos. O delineamento foi inteiramente casualizado e o número de fêmeas, machos e o total capturado em cada armadilha foi submetido a análise de variância e as médias comparadas pelo teste LSD ($P \leq 0,05$).

Figura 2 – Modelo de isca e armadilha utilizada para avaliação da atratividade de adultos de *S. levis* ao hospedeiro (cana-de-açúcar), coespecíficos, extratos naturais e compostos sintéticos. A) ‘isca CTC’ (controle); B) armadilha modelo ‘moleque da bananeira’ (Biocontrole[®]) com a gaiolinha pendurada contendo adultos de *S. levis*; C) isca de cana do CTC (controle) com a parte superior da armadilha ‘moleque da bananeira’ (Biocontrole[®]), porém com a cana partida ao meio colocada no solo, em detalhe gaiolinha contendo o septo com os extratos naturais ou compostos sintéticos

2.2.3.11 Comparação da atração dos extratos naturais e os compostos sintéticos

Com o objetivo de comparar a atratividade do extrato natural de fêmeas e machos de *S. levis* com os compostos sintéticos, foi realizado um bioensaio, avaliando-se seis tratamentos com cinco repetições: (i) cana + inseticida (controle); (ii) extrato de macho; (iii) extrato de fêmea; (iv) isômero S; (v) isômero R; e (vi) mistura racêmica S-R. A dose dos extratos naturais e sintéticos foram de 60 e 20 μl /septo, respectivamente. Para todos os tratamentos a armadilha foi idêntica ao bioensaio anterior, exceto o controle que utilizou a isca de cana do CTC (Figura 2C). A avaliação da captura de fêmeas e machos foi feita a cada 3 dias durante 21 dias, período útil da isca CTC.

O delineamento foi inteiramente casualizado e os dados referentes ao número de machos e fêmeas capturados por armadilha foram submetidos à análise de variância e transformados para posterior comparação das médias pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). Os dados de captura das avaliações 1 a 5 foram transformados em $\log_{10}(X+0,5)$, e os da avaliação 6 foram transformados em

($1/X+0,5$). Para a interação entre tratamento e sexo, foi realizado o desdobramento dos dados a partir da comparação múltipla de médias pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

2.2.4 Avaliação da eficiência de diferentes tipos de armadilhas na captura de *S. levis*

Visando-se comparar a eficiência de diferentes tipos de armadilhas na captura de *S. levis*, foram testadas quatro tipos de armadilhas (tratamentos) com cinco repetições: (i) ‘modelo atual CTC’ (controle), já descrito anteriormente; (ii) ‘modelo galão’ confeccionado com galões de plástico de 20L com cortes laterais para a passagem do ar e cana partida ao meio na sua base; (iii) ‘modelo funil’ utilizando garrafas ‘*Pet*’ de 2L, colocando-se dentro cana partida ao meio como atraente e um funil invertido na boca do recipiente; e (iv) modelo ‘tipo moleque da bananeira’ (Biocontrole[®]), já descrito anteriormente (Figuras 3A, 3B, 3C, 3D). Como atraente sempre foi utilizado para todas as armadilhas 200g de cana. Foram realizadas três avaliações, aos 3, 10 e 21 dias, registrando-se o total de adultos capturados por armadilha. O delineamento foi inteiramente casualizado e os dados de captura foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

Figura 3 – Tipos de armadilhas utilizadas para avaliar a captura de *S. levis*. A) ‘modelo atual CTC’ (controle); B) ‘modelo galão’; C) ‘modelo funil’; e D) modelo ‘tipo moleque da bananeira’ (Biocontrole®)

2.2.5 Raio de ação das iscas modelo CTC

Para determinar o raio de ação da armadilha foi utilizada a técnica de marcação-liberação-recaptura de adultos de *S. levis* nas armadilhas. Os insetos foram marcados sobre o élitro com tinta automotiva branca, sendo que nenhum efeito negativo desta técnica sobre o comportamento dos insetos foi observado previamente. Foram colocadas oito iscas modelo CTC, distanciadas radialmente a 5 e 10 m do ponto central onde foram liberados os adultos. Foram feitas três repetições para cada distância, sendo que em cada uma delas foram liberados 100 adultos, totalizando 600 adultos. Cada repetição foi separada por uma distância mínima de 20 m. O bioensaio foi realizado no CTC, Piracicaba-SP, com a variedade SP90-3723, cana soca de

segundo corte. Foram realizadas seis avaliações com intervalo de três dias, registrando-se o número de fêmeas e machos recapturados nas iscas a cada distância.

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Comportamento reprodutivo de *S. levis*

2.3.1.1 Horário e idade de acasalamento, duração e número de cópulas por casal

Os acasalamentos do bicudo-da-cana, *S. levis*, ocorreram em todos os horários do dia (Figura 4; Tabela 1), com um crescente aumento na frequência de cópulas com o passar da idade (Tabela 2). Este padrão de acasalamento em *S. levis*, se assemelha muito ao observado com outros curculionídeos como *H. postica*, *Homalinotus coriaceus* (Gyllenhal), *Hylobitelus xiaoi* Zhang, e *Odoiporus longicollis* Oliver (LE CATO; PIENKOWSKI, 1970; DUARTE et al., 2002; WEN et al., 2004; PADMANABAN; SATHIAMOORTHY, 2001). Fato este, que torna comum encontrar regularmente casais de *S. levis* em cópula, a qualquer hora do dia.

Figura 4 – Porcentagem de cópulas de *Sphenophorus levis* ao longo de 24h

Tabela 1 – Porcentagem de cópulas de *Sphenophorus levis* ao longo de 24 horas

Horário do dia (horas)	Porcentagem de cópulas (% $\pm$ DP)*
21	27,7 $\pm$ 44,9 a
23	26,3 $\pm$ 44,2 a
22	25,0 $\pm$ 43,4 ab
17	22,2 $\pm$ 41,7 abc
18	21,6 $\pm$ 41,3 abc
19	22,9 $\pm$ 42,2 abc
20	24,3 $\pm$ 43,0 abc
24	21,6 $\pm$ 41,3 abc
13	19,5 $\pm$ 39,8 abcd
14	20,9 $\pm$ 40,8 abcd
15	20,9 $\pm$ 40,8 abcd
16	22,2 $\pm$ 41,7 abcd
1	18,2 $\pm$ 31,7 abcde
12	16,2 $\pm$ 36,9 bcdef
11	15,5 $\pm$ 36,3 cdef
2	14,1 $\pm$ 35,0 cdefg
10	14,1 $\pm$ 53,0 cdefg
3	11,4 $\pm$ 31,9 defgh
9	0,9 $\pm$ 29,3 efgh
4	0,7 $\pm$ 26,3 fgh
5	0,6 $\pm$ 25,1 fgh
6	0,4 $\pm$ 21,2 gh
7	0,2 $\pm$ 16,2 h
8	0,2 $\pm$ 14,1 h

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação à idade da primeira cópula em *S. levis*, nota-se que indivíduos no 1º dia de vida não acasalaram, e no 7º dia essa frequência foi baixa (16%). Adultos entre 14 e 35 dias foram os que apresentaram maior frequência de cópulas comparativamente as demais idades, com 76 a 88%, respectivamente (Tabela 2). Com isso, observa-se um mecanismo importante no sistema de acasalamento em *S. levis*, quanto a maturidade sexual dos indivíduos. Aparentemente, os adultos adquirem sua maturidade sexual com cerca de duas semanas após a emergência, tornando-os mais receptivos para o acasalamento. Casos semelhantes têm sido registrados em outros curculionídeos como *Euscepes postfasciatus* Fairmaire (9-15 dias); *Conotrachelus psidii* Marshall (21 dias); *H. xiaoi* (46 dias); *D. abbreviatus* (10 dias); e *C. sordidus* (fêmea 5 a 20 dias, machos 18 a 31 dias). Isto sugere que os adultos, após sua emergência, assim como em diversas outras espécies de insetos, necessitam se alimentar por certo período de tempo, para atingir sua maturidade sexual antes de realizarem a cópula, e desse modo garantir seu sucesso reprodutivo (KOHAMA; SHIMOJI, 1997; BAILES et al., 2003; WEN et al., 2004; LAPOINTE; HUNTER; ALESSANDRO, 2004; GOLD; PENA; KARAMURA, 2001).

Tabela 2 – Porcentagem de cópulas de *Sphenophorus levis* com casais de diferentes idades (1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias) durante 24 horas

Idade (dias)	N	Porcentagem de cópula (%)
		Média ± DP*
1	25	00 ± 00,0 b
7	25	16 ± 37,4 b
14	25	76 ± 43,5 a
21	25	88 ± 33,1 a
28	25	88 ± 33,1 a
35	23	87 ± 34,4 a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade

Outra situação muito comum em *S. levis*, foram as múltiplas cópulas ocorridas num mesmo casal. Casais com idades entre 7 a 35 dias realizaram várias cópulas ao longo do dia. Contudo, 59,3% dos casais observados cópularam uma única vez; 35% duas vezes; e 3,5% três e 2,3% quatro vezes. Levando-se em conta a idade dos casais de *S. levis*, observou-se que não houve diferença significativa no tempo de duração da primeira cópula entre as idades de 14 e 35

dias de vida, com uma variação média de $4,78 \pm 3,48$ a $7,75 \pm 4,15$ h, respectivamente. Já a média de duração da primeira cópula aos 7 dias ($1,75 \pm 1,50$ horas) foi inferior as idades de 21 e 35 dias, respectivamente. Para a segunda, terceira e quarta cópulas não houve diferença quanto a duração média das cópulas em função da idade (Tabela 3). Já a duração média de todas as cópulas em função da idade de *S. levis*, para 21 e 35 dias não houve diferença neste tempo, com um intervalo entre $6,61 \pm 5,34$ h (aos 28 dias) e $8,70 \pm 4,28$ h (aos 35 dias), sendo estes valores superiores ao observado em casais com 7 dias, que apresentaram $2,00 \pm 1,41$ h de cópula (Tabela 3).

Por outro lado, desconsiderando-se a idade dos casais de *S. levis*, a duração média da primeira cópula foi de $5,75 \pm 4,22$ h, variando entre 1 e 14 h. As demais cópulas apresentaram menor duração, sendo a segunda cópula com duração média de $1,09 \pm 1,94$ h; e as terceiras e quartas cópulas com $0,11 \pm 0,47$ e $0,03 \pm 0,32$ h, respectivamente. O tempo total de cópula num único dia por casal independente da idade variou de 1 a 17 h, com média de 7 h.

Estes dados demonstraram que a primeira cópula em *S. levis* foi sempre a mais longa, independente da idade, e que foi muito comum nesta espécie, os casais passarem várias horas nesse comportamento. De acordo com Le Cato e Pienkowski (1970), espécies longevas na fase adulta, com um ano ou mais, necessitam de múltiplas cópulas para incrementar sua fecundidade. Sadek (2001) apud Campbell (2005), menciona ainda que o custo-benefício das múltiplas cópulas para cada sexo pode influenciar vários aspectos do comportamento e ecologia desses indivíduos e tem consequências sobre o monitoramento e manejo desses insetos.

Para os curculionídeos vários estudos evidenciaram a importância de múltiplas cópulas ou cópulas prolongadas. Campbell (2005) demonstrou em *Sitophilus oryzae* (L.) que a contínua exposição de fêmeas aos machos incrementou a sua fecundidade e que houve uma maior progênie quando comparada a fêmeas que cópularam uma única vez. Em *H. postica* a duração média dos acasalamentos pode chegar a 12 h e neste período ocorrem múltiplas cópulas (LE CATO; PIENKOWSKI, 1970). Segundo estes autores, o longo tempo e as múltiplas cópulas permitiram a essas fêmeas armazenarem esperma suficiente para produzir ovos férteis por todo seu tempo reprodutivo que é de cerca de 6 meses. Com isso, mesmo em baixas densidades populacionais, onde as chances de novas cópulas são reduzidas, as fêmeas manter-se-iam férteis. Todavia, para algumas espécies de curculionídeos estes achados são conflitantes. Em *D. abbreviatus* os acasalamentos geralmente ocorrem durante o dia, e a duração da cópula varia de 3

a 9 horas (SIROT; LAPOINTE, 2008). De acordo com estes autores, ambos os sexos cópulam repetidas vezes. Porém, as fêmeas que cópulam uma única vez cessam sua postura cerca de duas semanas após da cópula; o que sugere que as fêmeas requerem uma recópula para renovar sua reserva de esperma. Contrário a estes resultados Adair et al. (1999), afirmaram que as fêmeas desta espécie que acasalaram uma única vez possuíram alta capacidade de armazenar boa quantidade de esperma na espermateca, suficiente para fertilizar ovos por 20 semanas, sendo desnecessárias as múltiplas cópulas. Outros autores, afirmam ainda que as fêmeas de alguns insetos podem discriminar e selecionar o esperma armazenado dos machos, não utilizando, por exemplo, o esperma do último macho (CÓRDOBA, 2000; SIVA; HOOPER 1996 apud HERNANDEZ et al., 2006).

Mayer e Brazzel (1963) observaram um maior número de cópulas em *A. grandis* com o passar da idade, chegando até 5 cópulas durante 24 horas. Segundo Wen et al. (2004), em *H. xiaoi* ambos os sexos cópulam repetidas vezes e a duração da cópula varia entre 0,1 a 4,8 h. O mesmo acontece com *C. humeropictus* Fiedler, com cópulas durando em média 89,25 min. (MENDES; MAGALHÃES; OHASHI, 1997).

Outras espécies de curculionídeos por sua vez, apresentam menor duração da cópula, como *Trichobaris championi* Barber ($16,67 \pm 0,21$ min); *H. coriaceus* (30,23min); e *C. sordius* (3 a 24min) (CALYECAC-CORTERO, 2004; DUARTE et al., 2002; VIANA; VILELA, 1996).

Arnqvist e Nilsson (2000), afirmam que a presença de esperma nas fêmeas estimula a maturação e a produção de ovos, mas tem custo direto na reprodução, afetando a longevidade da fêmea, além de diminuir a recópula e inibir a receptividade da fêmea, repelindo os machos.

Tabela 3 – Duração média (horas) das cópulas realizadas em *Sphenophorus levis*, com casais de idades entre 7 e 35 dias

Idade (dias)	N	Duração Média da Cópula (horas)*				
		1ª cópula	2ª cópula	3ª cópula	4ª cópula	Total cópula
7	4	1,75 ± 1,50 b	0,25 ± 0,50 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	2,00 ± 1,41 c
14	19	4,78 ± 3,48 ab	0,21 ± 0,71 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	5,00 ± 3,43 bc
21	21	6,66 ± 4,55 a	1,66 ± 2,12 a	0,19 ± 0,51 a	0,00 ± 0,00 a	8,52 ± 3,66 ab
28	21	4,57 ± 4,01 ab	1,61 ± 2,57 a	0,28 ± 0,78 a	0,14 ± 0,65 a	6,61 ± 5,34 ab
35	20	7,75 ± 4,15 a	0,95 ± 1,70 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	8,70 ± 4,28 a

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade

2.3.1.2 Período de pré-oviposição, número de ovos por fêmea e viabilidade dos ovos

O período de pré-oviposição em *S. levis* pode chegar em média aos 20 dias para fêmeas acasaladas no 7º dia de vida. Contudo, em fêmeas acasaladas com idade entre 14 e 35 dias, que corresponde à maioria dos acasalamentos, o período de pré-oviposição durou em média entre $5,52 \pm 4,53$ a $10,90 \pm 5,37$ dias (Tabela 4).

O número médio de ovos/fêmea variou entre 0,25 e 7,80 em fêmeas que acasalaram aos 7 e 28 dias, respectivamente. Contudo, à medida que as fêmeas tornam-se mais maduras sexualmente, com idade acima de 21 dias, houve um aumento na postura média em comparação as fêmeas acasaladas muito novas (7 dias) (Tabela 5).

Não houve diferença significativa na viabilidade dos ovos postos por fêmeas aos 14, 21, 28 e 35 dias de idade, variando entre 33 e 63%. Entretanto, diferiram das fêmeas acasaladas aos 7 dias que teve todos os ovos inférteis (Tabela 5), sugerindo que até essa idade, as fêmeas não estão maduras sexualmente. Com isso, de modo geral, sugere-se que em *S. levis* há um aumento no número médio de ovos e na sua viabilidade, em fêmeas acasaladas entre os 14 e 35 dias de vida, comparativamente as mais novas (Figura 5).

Tabela 4 – Período de pré-oviposição (dias) para fêmeas de *Sphenophorus levis* acasaladas com idades entre 7 e 35 dias

Idade (dias)	N	Período de pré-oviposição (dias)
		Média $\pm$ DP*
7	1	20,00 $\pm$ 0,00 b
14	11	10,90 $\pm$ 5,37 a
21	19	5,52 $\pm$ 4,53 a
28	15	6,46 $\pm$ 5,81 a
35	16	7,43 $\pm$ 7,02 a

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 5 – Número médio de ovos/fêmea e sua viabilidade (%) em *Sphenophorus levis* acasaladas com idades entre 7 e 35 dias

Idade (dias)	N	Número de ovos	Viabilidade (%)
		Média ± DP*	Média ± DP*
7	4	0,25 ± 0,5 b	00,00 ± 00,0 b
14	19	4,26 ± 5,3 ab	33,80 ± 41,2 a
21	21	7,14 ± 5,5 a	60,80 ± 36,9 a
28	20	7,80 ± 7,6 a	56,90 ± 39,1 a
35	18	6,38 ± 6,0 a	63,36 ± 41,6 a

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade

Figura 5 – Número médio de ovos/fêmea e sua viabilidade em *Sphenophorus levis* acasaladas com idades entre 7 e 35 dias

O ritmo diário de oviposição das fêmeas de *S. levis* foi intermitente. Os picos máximos de postura concentraram-se entre o 7º e 14º dias após a cópula, para todas as idades, exceto nas fêmeas acasaladas com 7 dias de vida. Após estes picos, as posturas diárias reduziram gradativamente com o passar do tempo. Os ovos foram sempre postos de forma isolada, sendo

de 1 a 4 ovos por fêmea. O número médio diário de ovos/fêmea variou de 0,1 a 1,7; com uma média geral diária de 0,9 ovos/fêmea (Figura 6). Os resultados demonstraram que a reprodução de *S. levis* é sempre sexuada, uma vez que, somente duas das 30 fêmeas virgens avaliadas como controle (sem acasalamento) realizaram postura, sendo os ovos inviáveis.

Figura 6 – Número médio diário de ovos obtidos por fêmeas de *Sphenophorus levis* acasaladas com idades entre 7 e 35 dias

O Coeficiente de Correlação de Spearman (CCS) indicou uma relação positiva entre as variáveis idade, duração da primeira cópula, tempo total de cópula, fertilidade e viabilidade de ovos. O CCS para idade e duração da primeira cópula foi 0,22 ($P = 0,03$); para idade e tempo total de cópula foi 0,28 ($P = 0,008$); para idade e fertilidade foi 0,32, ($P = 0,002$); e para idade e viabilidade de ovos foi 0,24 ($P = 0,02$).

Houve alta correlação entre a duração da primeira cópula e: (i) tempo total de cópula (CCS = 0,85; $P = 0,0001$); (ii) fertilidade (CCS = 0,26; $P = 0,0100$); (iii) total de ovos (CCS = 0,35; $P = 0,0007$); e (iv) viabilidade (CCS = 0,36; $P = 0,0006$). A fertilidade apresentou alta correlação com: (i) total de ovos (CCS = 0,78; $P = 0,0001$); e (ii) viabilidade dos mesmos (CCS = 0,72; $P = 0,0001$). Já o número total de ovos apresentou correlação apenas com a viabilidade destes (CCS = 0,72; $P = 0,0001$).

Considerando-se que os curculionídeos, de modo geral, apresentam ciclo de vida longo e baixa fecundidade, os resultados aqui encontrados para *S. levis* estão dentro do esperado. Segundo Wainhouse et al. (2001), os efeitos da idade e disponibilidade de alimento influenciam no desenvolvimento reprodutivo e na duração do período de pré-oviposição no curculionídeo *H. abietis*. Bailes et al. (2003), determinaram que o período de pré-oviposição no gorgulho-da-goiaba *C. psidii* foi de 2 dias para fêmeas acasaladas com 21 dias de idade; no moleque-da-bananeira, *C. sordidus* este período foi muito variável, de 7 até mais de 60 dias (GOLD et al., 2001); no bicudo-da-bananeira *O. longicollis* de 15 a 30 dias (PADMANABAN; SATHIAMOORTHY, 2001); e no bicudo-do-pinheiro *H. xiaoi* de 46 dias (WEN et al., 2004). Em *S. rufus* este período foi de $11,1 \pm 7,5$ dias, sendo que para 54,4% das fêmeas foi inferior a 7 dias (BARRETO; ANJOS; DELLA LUCIA, 1999); e para *C. humeropictus* Fiedler foi de 16 dias (MENDES; MAGALHAES; OHASHI, 1997).

De acordo com Suazo et al. (2006), em *M. hemipterus sericeus* (Oliver) e *M. quadrilineatus* Champion., as fêmeas podem se acasalar com 1 e 2 dias de idade, porém, apresentam um período de pré-oviposição de 3,3 semanas. Em algumas espécies da subfamília Naupactini o período de pré-oviposição é variável, sendo de $24,0 \pm 2,8$ dias para *Cyrtomon luridus* Boheman; 6,7 dias para *Naupactus versatilis* (Hustache); e 11,6 dias para *N. cervinus* (Boheman), (TIRONI et al., 2005). Do mesmo modo, Stubbs (1982), demonstrou que para *S. granarius* (L.), fêmeas acasaladas até os 10 dias de vida iniciavam a oviposição após 15 dias, enquanto fêmeas acasaladas aos 15 dias iniciavam com 3 a 4 dias após a cópula.

Em *S. levis* de acordo com Precetti e Terán (1983), a capacidade média de oviposição das fêmeas é de 40 ovos, podendo atingir 60 a 70 ovos, sendo que 75% destes são depositados na primeira metade de vida. A baixa produção de ovos observada em *S. levis*, neste estudo, de cerca de 6,39 ovos/fêmea, considerando-se uma média total das fêmeas acasaladas entre os 14 e 35 dias de vida, pode ter sido relacionada, não somente a baixa fecundidade da espécie, mas também ao pouco tempo de permanência da fêmea com o macho (24 horas) e seu posterior isolamento, como relatado de forma semelhante por Sirot e Lapointe (2008) para *D. abbreviatus*, que privaram a fêmea da recópula.

Em relação à viabilidade dos ovos de *S. levis*, notou-se que em termos médios, nas fêmeas acasaladas entre os 14 e 35 dias de vida foi de 53,72%, estando próximo aos 47,16% observado por Degaspari et al. (1987), a partir de ovos coletados em fêmeas do campo.

Weissling e Giblin-Davis (1994), mencionam que em *R. cruentatus* (Fabricius), o número diário de ovos/fêmea declinou após 14 semanas da cópula, sendo que a viabilidade dos ovos foi nula oito semanas após da cópula; sugerindo que as fêmeas esgotaram o esperma e necessitariam de múltiplas cópulas para manter a fertilidade. Para *S. acupunctatus* a ausência ou presença do macho após a cópula, não afetou significativamente a oviposição e a viabilidade dos ovos (HERNANDEZ et al., 2006). Segundo estes autores, com o passar da idade dos adultos houve uma tendência a diminuir o número de ovos e um declínio na viabilidade, relacionados possivelmente com a fisiologia reprodutiva da fêmea ou a mecanismos de auto regulação da população. Para *A. grandis*, fêmeas com uma ou mais cópulas não apresentaram diferença quanto ao número de ovos e viabilidade (MAYER; BRAZZEL, 1963).

De modo geral, a baixa taxa de oviposição observada em *S. levis* foi similar a observada em outros curculionídeos como *C. sordidus* com 1 ovo/dia, sendo o mais comum 1 ovo/semana (GOLD; MESSIAEN, 2000); *Odoiporus longicollis* Oliver., com 9 ovos/fêmea, e taxa de um ovo/dia (PADMANABAN; SATHIAMOORTHY, 2001); *H. xiaoi* com média de 36 ovos/fêmea, apresentando um pico de 2 ovos/dia (WEN et al., 2004); *C. humeropictus* com média de 108 ovos durante sua vida reprodutiva (THOMAZINI, 2000); e *M. quadrilineatus* com uma variação de 1,4 a 3,3 ovos/fêmea/semana (SUAZO et al., 2006).

Foi possível determinar por meio do Coeficiente de Correlação de Spearman (CCS), uma relação positiva entre as variáveis idade, duração da primeira cópula, tempo total de cópula, fertilidade e viabilidade de ovos de *S. levis*. Fêmeas com 35 dias de idade foram as que apresentaram melhor desempenho para cada uma dessas variáveis, no entanto, não diferiram dos resultados encontrados para fêmeas de 14, 21 e 28 dias. Também se observou alta correlação entre duração da primeira cópula com as variáveis: tempo total de cópula, fertilidade e viabilidade; o que indicou que a cópula prolongada foi importante para garantir o sucesso reprodutivo de *S. levis*.

Portanto, a partir destes resultados definiu-se por utilizar adultos virgens de idades entre 21 a 35 dias nos bioensaios de comportamento sexual e atratividade visando otimizar o desempenho de *S. levis*.

2.3.1.3 Influência da idade avançada das fêmeas de *S. levis* sobre o sucesso reprodutivo da espécie

Fêmeas de *S. levis* com idade avançada entre 85 e 210 dias realizaram cópula em mais de 66% das oportunidades de encontro com machos mais novos (Tabela 6). A cópula e fertilização dos ovos nestas fêmeas foram bem sucedidas, sendo que o período de pré-oviposição durou entre 9 e 11 dias (Tabela 7), e resultou de 4,50 a 7,09 ovos em média por fêmea, com uma viabilidade média entre 49 e 79% (Tabela 8).

Estes resultados sugerem que em *S. levis*, as fêmeas continuaram receptivas ao acasalamento, independente da idade; e que possivelmente, isto se estenda por toda sua fase adulta, considerando que as fêmeas e machos apresentam longevidade de até 249 e 247 dias, respectivamente (DEGASPARI et al., 1987). Aparentemente, esta é uma característica comum entre muitas espécies de curculionídeos. Em *S. rufus*, por exemplo, fêmeas virgens foram capazes de cópular aos 60, 120 e 240 dias de idade, gerando descendentes em 80, 90 e 10% dos casos, respectivamente (BARRETO; ANJOS; DELLA LUCIA, 1999).

Tabela 6 – Porcentagem de cópula em fêmeas de *Sphenophorus levis* acasaladas com idade avançada (85, 105 e 210 dias)

Idade (dias)	N	Porcentagem de acasalamento (%)
		Média ± DP*
85	17	76 ± 43 a
105	18	83 ± 38 a
210	15	66 ± 48 ab

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 7 – Período de pré-oviposição em fêmeas de *Sphenophorus levis* acasaladas com idade avançada (85, 105 e 210 dias)

Idade (dias)	N	Período de pré-oviposição (dias)
		Média ± DP*
85	9	11,22 ± 13,7 a
105	11	11,18 ± 11,2 a
210	2	9,50 ± 2,1 a

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 8 – Número médio de ovos e sua viabilidade (%) em fêmeas de *Sphenophorus levis* acasaladas com idade avançada (85, 105 e 210 dias)

Idade (dias)	N	Número de ovos	Viabilidade (%)
		Média ± DP*	Média ± DP*
85	9	5,66 ± 3,1 a	49,27 ± 29,2 a
105	11	7,09 ± 4,6 a	79,92 ± 30,9 a
210	2	4,50 ± 3,5 a	75,00 ± 35,3 a

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade

2.3.2 Comportamento sexual de *S. levis*

2.3.2.1 Sequência do acasalamento

Machos e fêmeas de *S. levis* aptos ao acasalamento, apresentaram uma sequência típica de comportamentos para efetivar a cópula (Figuras 7 e 8). Inicialmente, ocorreu à pré-cópula, ou seja, a monta do macho sobre a fêmea sem, no entanto, procurar sua genitália. Nesta etapa a aproximação entre os sexos se deu, principalmente, pela ‘procura’ do macho pela fêmea (n = 20), e em menor número da fêmea pelo macho (n = 6). A aproximação se deu, pelas extremidades da frente (n = 14) ou trás (n = 10), e em poucos casos, ao lado do corpo (n = 2). Em seguida, ocorreu um ‘reconhecimento’ entre os sexos, caracterizado pelo caminhar de um indivíduo sobre o outro, com movimentos da antena e rostro sobre o corpo do parceiro, especialmente, no final do abdômen (n = 26).

A fêmea apresentou um comportamento de ‘chamamento’ que consistiu na movimentação circular alternada das pernas para cima, e rotação das mesmas com movimentos lentos ($n = 7$), e o macho, retribui-a com movimentos semelhantes. Quando a fêmea apresentava-se receptiva, o macho então a montava por trás, em ‘posição de cópula’; ou pela frente onde ficava com o rosto sobre a parte final do abdômen da fêmea, e imediatamente, girava o corpo para ficar também, na ‘posição de cópula’ ($n = 7$). O comportamento de ‘monta direta’, por sua vez, aconteceu após a fase de ‘reconhecimento’ ($n = 19$), e foi um evento independente do ‘chamamento’; sendo caracterizado pela ‘posição de cópula’ adquirida pelo macho sobre o dorso da fêmea segurando-a com as pernas anteriores e posteriores ($n = 26$). Simultaneamente, neste caso, o macho movimentava rapidamente as pernas medianas, e com os tarsos fazia movimentos circulares tocando as laterais do abdômen da fêmea, ao mesmo tempo em que a fêmea movimentava antenas e pernas alternadamente, e elevava o abdômen ($n = 17$). Nesta posição, a fêmea caminhava e movimentava as antenas para cima e para abaixo ($n = 9$), com imediata retribuição do macho, movimentando horizontalmente seu rosto sobre o pronoto da fêmea ($n = 20$) e expondo sua genitália que ficava em contato com o pigídio da fêmea ($n = 26$). Estes últimos padrões motores de caminhamento da fêmea e movimentação do rosto do macho foram repetitivos.

Após esta sequência de eventos, iniciava-se a ‘cópula’, caracterizada pela introdução do edeago na bolsa cópuladora da fêmea até a sua retirada ($n = 26$). Foi observado, que durante as primeiras horas de cópula repetiam-se muitas vezes, os padrões motores de caminhamento da fêmea ($n = 18$), com imediata resposta do macho movimentando seu rosto sobre o pronoto da mesma ($n = 18$). A fêmea parava de caminhar e fazia movimentos alternados de pernas e antenas ($n = 18$), até que finalmente ficavam imóveis por várias horas ($n = 26$).

A ‘pós-cópula’ foi considerada a partir do momento em que o macho retirou o edeago, assumindo, em seguida, uma ‘posição de guarda’ sobre a fêmea. Nesta situação, o macho segurava a fêmea com os três pares de pernas, e normalmente, mantinha o edeago retraído ($n = 18$), ou em alguns casos, exposto ($n = 8$), tentando iniciar uma nova cópula. Após várias horas de guarda, o macho descia e ficava isolado da fêmea ($n = 22$), ou iniciava uma nova sequência para cópula ($n = 4$).

Figura. 7 – Comportamento sexual de *Sphenophorus levis*: 1) **Procura**; 2) **Reconhecimento** entre os sexos através das antenas e do rostro; 3) **Chamamento**: fêmea movimentada alternada e vagarosamente as pernas para cima e macho responde ao chamado; 4) **Monta**: Macho posicionando-se sobre a fêmea para ficar em posição de cópula; 5) **Posição de cópula** (a) movimentação de antenas e pernas da fêmea, (b) fêmea caminha com o macho sobre ela, (c) macho movimentando o rostro sobre o pronoto da fêmea e (d) macho movimentando as pernas médias sobre a lateral do abdômen da fêmea e expõe o edeago (seta); 6) **Cópula** (a) introdução do edeago na bolsa cópula (seta), (b) Macho movimentando o rostro sobre o pronoto da fêmea e fêmea movimentando pernas e antenas e, (c) casal imóvel; 7) **Pós cópula** retração do edeago (seta) e posição de “guarda” do macho sobre a fêmea (a) com edeago exposto (seta), e (b) com edeago retraído (seta); 8) **Desmonta**

Figura. 8 – Etograma do comportamento sexual de *Sphenophorus levis*

Numa situação de acasalamento em *S. levis*, envolvendo a presença de 2 fêmeas com 1 macho ($n = 20$) ou 2 machos com 1 fêmea ($n = 20$), foi possível observar dois comportamentos sexuais distintos: (i) ‘homossexual’, que correspondeu à monta do macho ou da fêmea sobre o coespecífico do mesmo sexo; e (ii) ‘agonístico’, representado pelos indivíduos de ambos os sexos, para tentar separar o casal em cópula com movimentos agressivos.

O comportamento ‘homossexual’ foi apresentado pelos indivíduos durante os primeiros minutos após sua liberação na arena, sendo observada a monta de um dos indivíduos sobre o seu coespecífico do mesmo sexo ($n = 18$), e também da fêmea sobre o macho, os quais apresentaram os padrões motores da pré-cópula descritos anteriormente. Após o reconhecimento do parceiro, ambos macho e fêmea, respectivamente, realizaram os movimentos descritos nas fases anteriores com maior rapidez, devido à presença de outro indivíduo concorrente. Porém, assim que o casal tentava iniciar a cópula, o indivíduo do mesmo sexo não selecionado ficava ao lado, tentando separá-los pela introdução do rostro entre abdômen do macho e o dorso da fêmea ($n = 8$), ou passando por cima ou embaixo do casal ($n = 10$), podendo eventualmente derrubar o concorrente e realizando a cópula ($n = 5$), caracterizando o comportamento ‘agonístico’. Quando isto não era possível, este indivíduo mantinha-se grudado sobre o casal ($n = 10$), ou embaixo (no caso da fêmea) ou acima (no caso do macho); sendo que nesta situação a fêmea expunha o pigídio e caminhava com o casal acima de seu corpo ($n = 2$), e no macho este expunha o edeago ($n = 2$). Também foi observado indivíduos caminhando atrás do casal ($n = 36$) ou isoladamente ($n = 4$). No caso de fêmeas ou machos isolados, estes apresentaram comportamento de pré-cópula com extensão do pigídio ou edeago, respectivamente, e rápida movimentação das pernas ($n = 12$) (Tabelas 9 e 10).

Em relação ao comportamento apresentado por 1 macho e 2 fêmeas, foi observado que 89% das cópulas ($n = 17$) foram com fêmea virgem; 5 dos casais formados cópularam duas vezes com o mesmo parceiro; e teve um caso onde o macho copulou com ambas as fêmeas. Já para o comportamento de 1 fêmea frente aos 2 machos, foram observadas 18 cópulas, das quais 50 % foram com o macho virgem e os outros 50% com macho experiente. Seis casais cópularam duas vezes, sendo que três cópularam com o mesmo parceiro e três fêmeas com os dois machos.

Tabela 9- Comportamento sexual exibido por fêmeas de *S. levis* na presença de um casal em cópula (N = 20)

Atividade	N	Total (%)
1. Fêmea que não está em cópula tenta tirar a outra fêmea, introduzindo o rostro entre o casal	6	30
2. Fêmea que não está em cópula passa acima e embaixo do casal	5	25
3. Fêmea que não está em cópula fica grudada no casal (acima)	5	25
4. Fêmea embaixo do casal com pigídio exposto e caminha com eles acima	2	10
5. Fêmea caminha atrás do casal	18	90
6. Fêmea caminha isolada do casal	2	20
7. Fêmea isolada apresenta comportamento de pré-cópula (extensão do pigídio, movimentação das pernas)	6	30

Tabela 10 - Comportamento sexual exibido por machos de *S. levis* na presença de um casal em cópula (N = 20)

Atividade	N	Total (%)
1. Macho que não está em cópula tenta tirar o outro macho introduzindo o rostro entre o casal	2	10
2. Macho que não está em cópula passa acima e embaixo do casal	5	25
3. Macho que não está em cópula fica grudado no casal (acima)	5	35
4. Macho acima do casal com edeago exposto	6	30
5. Macho caminha atrás do casal	18	90
6. Macho caminha isolado do casal	2	20
7. Macho isolado apresenta comportamento de pré-cópula (extensão do edeago, movimentação das pernas)	6	30

Os padrões motores apresentados por *S. levis* na sequência de acasalamento para cada uma das etapas de pré-cópula, cópula e pós-cópula, corresponderam na sua maioria a atos estereotipados característicos do comportamento sexual de vários curculionídeos. A pré-cópula consiste na monta do macho sobre a fêmea sem procurar sua genitália, conhecida como fase passiva de Parker (VIANA, 1996). O reconhecimento feito pelos dois indivíduos com as antenas e rostro sobre os élitros do parceiro, é um comportamento usado pelos gorgulhos para discriminar os heteroespecíficos, principalmente, pelos hidrocarbonetos cuticulares (VANDERBILT; GIBLIN-DAVIS; WEISSLING, 1998). Na pré-cópula ambos os sexos de *S. levis* exibiram atos comportamentais com troca de estímulos e respostas antes do acasalamento. Geralmente, nos curculionídeos, os machos são os responsáveis pela estimulação da fêmea para sua receptividade no acasalamento (CALYECAC-CORTERO; TOVAR, 2004), sendo este comportamento realizado por *S. levis* na maioria dos casos onde o macho procurou a fêmea (n= 19). Dentre estes atos comportamentais foi comum observar, na

‘posição de cópula’, o estímulo do macho com movimentos circulares rápidos das pernas medianas tocando as laterais do abdômen da fêmea, ao mesmo tempo, em que a fêmea movimentava antenas e pernas alternadamente e elevava o abdômen (n = 17); com imediata resposta do macho movimentando horizontalmente seu rostro sobre o pronoto da fêmea (n = 20). Estes movimentos citados foram típicos de *S. levis* momentos antes da cópula e no início da mesma. Segundo Le Cato e Pienkowski (1970), estes movimentos acalmam as fêmeas e as preparam para a inserção do edeago, como acontece na espécie *H. postica*. Viana (1996), afirmou que a corte de acasalamento nos curculionídeos consiste na locomoção, movimentos de antenas e asas, incluindo vibrações, que atuam como estímulo visual e sonoro, além da possibilidade de o inseto emitir e receber estímulos para os quais elabora padrões apropriados de respostas. No entanto, em algumas espécies não ocorrem estes comportamentos e a cópula é imediata, fato comum em *C. sordidus*, *S. rufus*, e *H. coriaceus* (VIANA, 1996; BARRETO et al., 1999; SARRO, 2002).

Durante a cópula, o macho de *S. levis* continuou realizando movimentos com o rostro sobre a cabeça da fêmea, segurando fortemente o abdômen da parceira com as pernas posteriores e medianas, além da vibração dos tarsos no dorso da fêmea. Este comportamento também foi mencionado para *G. scutellatus* (SANTOLAMAZZA; CORDERO, 1998). Segundo Herbst (1979) apud Souza (2006), estes padrões motores conhecidos como comportamento de corte cópulatoria, estimulam a fêmea para permanecer em cópula e garantir a transferência de esperma.

A pós-cópula de *S. levis* foi caracterizada pela posição de guarda do macho sobre a fêmea e aparentemente, foi associada com a possibilidade de uma nova cópula, já que foi observado que quatro dos casais recópularam; ou, ainda, para evitar que a fêmea cópulasse com outro macho, quando estavam em agregação. Segundo Sato e Kohama (2006), existem duas hipóteses para esta guarda nos insetos: (i) prevenir futuras cópulas com rivais, e (ii) obter cópulas adicionais. Viana (1996) e Santolamazza e Cordero (1998), afirmaram que a permanência do macho sobre a fêmea por um período determinado após o acasalamento, é mais frequente quando existe uma agregação de indivíduos da mesma espécie, possivelmente, para evitar a competição com os outros machos; enquanto que casais individualizados terminam a cópula e o macho, normalmente, desmonta a fêmea imediatamente. A guarda prolongada na pós-cópula é um fenômeno bem descrito sendo explicada como uma adaptação

do macho para evitar competição espermática (HARARI, 2003). Alcock (1994), afirma que os machos em muitos insetos têm cópula prolongada durante o tempo requerido para transferir alto número de gametas para inseminar a fêmea.

Estes fatos têm sido corroborados para o bicudo da batata doce, *E. postfasciatus*, onde a guarda reduz a receptividade para um novo intento de cópula, e ocorrem recópulas, só que com menor duração que a primeira. Outro fato importante da guarda de acordo com Harari (2003), para *D. abbreviatus* onde foi comprovado que ao finalizar a guarda e a fêmea recopulou, um alto número de ovos foram fertilizados pelos espermatozóides do macho da última cópula, o que sugere que a fêmea tem papel importante na finalização da guarda.

Portanto, de modo geral as sequências dos padrões motores do comportamento de acasalamento apresentado por *S. levis* foi similar ao descrito para outros curculionídeos como *S. zeamais*, *C. sordidus*, *G. scutellatus*, *R. cruentatus*, *S. rufus*, *H. coriaceus*, *D. abbreviatus*, e *T. championi* (WALGENBACH; BURKHOLDER, 1987; VIANA, 1996; SANTOLAMAZZA; CORDERO, 1998; VANDERBILT; GIBLIN-DAVIS; WEISSLING, 1998; BARRETO et al., 1999; SARRO, 2002; HARARI, 2003; CALYECAC-CORTERO; TOVAR, 2004).

O comportamento homossexual e agonístico apresentado por fêmeas e machos de *S. levis* nas interações de três indivíduos, também é uma conduta frequente nos curculionídeos em agregação (VANDERBILT; GIBLIN-DAVIS; WEISSLING, 1998; CALYECAC-CORTERO; TOVAR, 2004), assim como a ocorrência de poliandria e poligamia já observada em outros curculionídeos como *G. scutellatus*, *S. rufus*, *D. abbreviatus*, *E. postfasciatus*, e *R. cruentatus* (SANTOLAMAZZA; CORDERO, 1998; BARRETO et al., 1999; HARARI et al., 2003; SATO; KOHAMA, 2006; VANDERBILT; GIBLIN-DAVIS; WEISSLING, 1998).

2.3.2.2 Duração das fases comportamentais de pré-cópula, cópula e pós-cópula

A duração média da pré-cópula em *S. levis* variou entre 2 a 5 horas (Tabela 11). Contudo, foram observados períodos extremos entre 30 min. até 15 horas, sugerindo que a corte neste inseto apresenta uma duração muito variável, porém importante para que a fêmea seja receptiva e o macho tenha sucesso na cópula. Resultados similares foram descritos, por

exemplo, para *G. scutellatus* que apresentou duração entre 10 minutos até 24 horas (SANTOLAMAZZA; CORDERO, 1998).

Quando a pré-cópula envolvia casais isolados na presença ou ausência de hospedeiro (cana-de-açúcar), a duração desta etapa foi menor para este último. Já nas situações onde estavam envolvidos três indivíduos o tempo não diferiu entre eles.

A cópula de *S. levis* foi longa, apresentando uma duração média entre 7 a 13 horas (Tabela 11), com uma variação entre 1,45 a 17,55 horas. Com três indivíduos em agregação, a duração foi sempre superior ao de casais isolados na presença ou ausência do hospedeiro (cana-de-açúcar), fato este possivelmente associado com a competição entre machos para evitar a cópula do rival.

A duração da cópula entre os curculionídeos é muito variável, sendo em média de 16,67 min. para *T. championi* (CALYECAC-CORTERO; TOVAR, 2004); 51 min. para *Amerrinus ynca* Sahlberg (SOUZA, 2006); 12 horas para *H. postica* (Le CATO; PIENKOWSKI, 1970); e 89,25 min. para *C. humeropictus* (MENDES; MAGALHAES; OHASHI, 1997).

A pós-cópula de *S. levis* foi caracterizada pela posição de guarda do macho sobre a fêmea, e teve uma duração máxima de 10,46 horas (Tabela 11), embora na média tenha sido entre 1,31 a 1,41 horas. Em *D. abbreviatus* foi observado uma duração entre 12 a 16 horas, com presença de recópula (Harari, 2003); em *A. ynca* durou entre 40 min. até 33 horas (SOUZA, 2006); e de até 24 horas em *G. scutellatus* (SANTOLAMAZZA; CORDERO, 1998).

Tabela 11 - Duração média (h) da pré-cópula, cópula e pós-cópula para *Sphenohorus levis* na presença e ausência de cana-de-açúcar, e em agregação

Tratamentos	N (casais)	Duração Média* (horas) $\pm$ DP		
		Pré-cópula	Cópula	Pós-cópula
Casal + cana-de-açúcar	20	5,37 $\pm$ 4,94 a	7,61 $\pm$ 3,71 c	1,33 $\pm$ 3,05 a
Casal	18	2,08 $\pm$ 2,11 b	9,80 $\pm$ 1,78 b	1,37 $\pm$ 2,11 a
2 fêmeas + 1 macho	19	3,48 $\pm$ 3,16 ab	11,91 $\pm$ 3,00 a	1,31 $\pm$ 2,26 a
2 machos + 1 fêmea	18	3,76 $\pm$ 3,55 ab	13,06 $\pm$ 2,56 a	1,41 $\pm$ 1,71 a

*Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

2.3.2.3 Estímulos envolvidos no comportamento sexual de machos

O tempo para ocorrer a ‘monta’ de um macho sobre a fêmea de *S. levis* visando a obtenção da cópula foi sempre mais rápido quando houve contato visual entre o casal e físico com coespecíficos – agregação (Tabela 12). Foi observado, nestas situações, que o macho marcado, após liberado na arena, apresentou movimentos rápidos, monta direta nos coespecíficos e exposição do edeago e ocorrência de cópula em 100% dos casos (Tabela 13). Isto sugere que o comportamento sexual associado à cópula em *S. levis* foi influenciado, principalmente, pelo contato visual entre os casais e físico com outros indivíduos da espécie.

Dentre os tratamentos envolvendo a ausência de contato físico com coespecíficos em relação aos demais estímulos (visual, voláteis da planta hospedeira e coespecíficos), os casais quando isolados, foram os que apresentaram a menor frequência de cópula (20%) (Tabela 13).

O padrão de comportamento observado em *S. levis* é muito comum nos coleópteros, onde a procura do parceiro esta baseada na seleção visual, levando-os a tentativas de cópula com coespecíficos, antes de reconhecerem seu parceiro (JOLIVET, 1998 apud CALYECAC-CORTERO; TOVAR, 2004). Segundo, Vandervilt, Giblin-Davis e Weissling (1998), em *R. cruentatus*, foi observado que a cópula é estimulada pela agregação, apresentando contato físico entre os coespecíficos, e movimentos rápidos do macho para montar a fêmea. Fato similar é relatado para o bicudo da alfafa, *H. postica*, sendo que os machos apresentam

comportamento agressivo de cópula quando estão agregados, e sua frequência de cópula é reduzida quando em baixa densidade (LE CATO; PIENKOWSKI, 1970).

Tabela 12 - Tempo médio (min.) de resposta de machos e de casais de *S. levis* sob diferentes estímulos de contato físico, visual e de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar) e coespecíficos

Tratamentos	N	Tempo para 'monta' (min.)
		Média $\pm$ DP
Macho 'marcado' com contato físico e visual com coespecíficos e com presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar) e dos coespecíficos	20	9,50 $\pm$ 7,14 a
Casal sem contato físico com coespecíficos, porém com contato visual e presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar) e dos coespecíficos	10	15,30 $\pm$ 7,81 b
Casal sem contato físico e visual com coespecíficos e com presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar) e dos coespecíficos	8	20,12 $\pm$ 8,54 bc
Casal sem contato físico e visual dos coespecíficos, na presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar)	4	17,75 $\pm$ 8,42 c

*Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em ($\sqrt{x}$)

Tabela 13 - Frequência de cópula de machos e de casais de *S. levis* sob diferentes estímulos de contato físico, visual e de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar) e coespecíficos

Tratamentos	N	Frequência de cópula (%)
		Média $\pm$ DP
Macho ‘marcado’ com contato físico e visual com coespecíficos e com presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar) e dos coespecíficos	20	100 $\pm$ 00,00 a
Casal sem contato físico com coespecíficos, porém com contato visual e presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar) e dos coespecíficos	20	50 $\pm$ 51,29 b
Casal sem contato físico e visual com coespecíficos e com presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar) e dos coespecíficos	20	40 $\pm$ 50,26 bc
Casal sem contato físico e visual dos coespecíficos, na presença de voláteis do hospedeiro (cana-de-açúcar)	20	20 $\pm$ 41,03 c

*Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade. Médias transformadas em $(X+0,5)^{0,3}$.

2.3.3 Resposta comportamental de adultos de *S. levis* a diferentes fontes de odor

2.3.3.1 Atratividade do sexo e da planta hospedeira

Os resultados para a determinação do sexo responsável pela atração dos coespecíficos demonstraram que os machos foram estimulados por cana (70%; $P = 0,0114$); cana + machos (67,3%; $P = 0,0104$); e cana + fêmeas (70%; $P = 0,0114$) (Figura 9); enquanto que as fêmeas apenas para cana + machos (66,7%; $P = 0,0098$) (Figura 10). Nestes bioensaios, os machos não foram atraídos pelos tratamentos contendo somente machos, fêmeas ou fêmeas + machos. Aparentemente, estes resultados sugerem que o hospedeiro (cana-de-açúcar) tem papel preponderante na atração dos machos de *S. levis*, em detrimento das fêmeas, onde houve a necessidade além do hospedeiro, dos voláteis dos machos. Portanto, a orientação e comunicação dos adultos de *S. levis* é mediada por semioquímicos liberados pela planta hospedeira e coespecíficos, como acontece com vários outros curculionídeos (VIANA, 1992; MENDONÇA, 1995; BARTELT, 1999; GIBLIN-DAVIS et al., 1996; LESKEY; PROKOPY, 2001; FRANCKE; DETTNER, 2005; ZARBIN et al., 2007; AMBROGI; ZARBIN, 2008).

Figura 9 - Porcentagem de resposta de machos de *Sphenophorus levis* a voláteis de coespecíficos e hospedeiro (cana-de-açúcar), em bioensaios com olfatômetro 'Y'. Tratamentos da mesma barra foram comparados entre si; n = número de repetições. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os tratamentos na mesma barra pelo teste de X^2 (* $P < 0,05$); (** $P < 0,01$)

Figura 10 - Porcentagem de resposta de fêmeas de *Sphenophorus levis* a voláteis de coespecíficos e hospedeiro (cana-de-açúcar), em bioensaios com olfatômetro 'Y'. Tratamentos da mesma barra foram comparados entre si; n = número de repetições. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os tratamentos na mesma barra pelo teste de χ^2 (* $P < 0,05$); (** $P < 0,01$)

A não atração de fêmeas + macho + cana, tanto para os machos quanto para as fêmeas, parece estar mais associado à ocorrência de cópula dentro do tratamento, enquanto desenvolvia-se o teste. Pesquisas demonstram que a atração dos feromônios de agregação é afetada na presença de fêmeas ou cópulas. Segundo Birkinshaw e Smith (2000), em *Prosterphanus truncatus* (Horn) (Bostrichiidae) os machos diminuem a produção do feromônio uma vez que as fêmeas chegam ao encontro, como estratégia para reduzir a competição por alimento e cópula com outros machos que são oportunistas. Levinson et al. (1990) e Jiang (1995) apud Moreira, Zarbin e Coracini (2005), demonstraram que em *Sitophilus* spp. a presença de feromônios de agregação em alta concentração reduz novas atrações ou pode causar efeito de repelência.

2.3.3.2 Atividade biológica do extrato natural de machos e fêmeas e do feromônio sintético de *S. levis*

Nos voláteis coletados pela aeração dos machos e fêmeas e analisados por cromatografia gasosa, não foi detectada diferença na sua composição química entre os sexos nem entre as idades. A resposta de machos ocorreu para o extrato natural de macho + cana ($P = 0,0123$). Os machos não foram atraídos pelo extrato natural da fêmea ($P = 1,0000$) e extrato natural de fêmea + cana ($P = 0,6547$) (Figura 11).

As fêmeas não apresentaram resposta para o extrato natural de machos ($P = 0,6547$), mas foram atraídas pelos tratamentos extrato de machos + cana ($P = 0,0218$), extrato de fêmeas ($P = 0,0143$) e extrato de fêmeas + cana ($P = 0,001$) (Figura 12).

Os tratamentos contendo o isômero S + cana ($P = 0,0253$), isômero R + cana ($P = 0,0017$) e a mistura racêmica (S-R) + cana ($P = 0,0127$), foram atrativos para os machos (Figura 11). As fêmeas não apresentaram resposta significativa para o isômero R + cana ($P = 1,0000$) e à mistura racêmica (S-R) + cana ($P = 0,4969$), mas foram atraídas pelo isômero S + cana ($P = 0,0253$) (Figura 12).

Figura 11 – Porcentagem de resposta de machos de *Sphenophorus levis* a extratos naturais e compostos sintéticos de seu feromônio, em bioensaios com olfatômetro em 'Y'. Tratamentos da mesma barra foram comparados entre si. S = Isômero S; R = isômero R; S-R = mistura racêmica; n = número de repetições. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os tratamentos na mesma barra pelo teste de χ^2 (* $P < 0,05$); (** $P < 0,01$)

Figura 12 – Porcentagem de resposta de fêmeas de *Sphenophorus levis* a extratos naturais e compostos sintéticos de seu feromônio, em bioensaios com olfatômetro ‘Y’. Temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e 14 h de fotofase. Tratamentos da mesma barra foram comparados entre si. S = Isômero S; R = isômero R; S-R.= mistura racêmica; n = número de repetições. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os tratamentos na mesma barra pelo teste de χ^2 (* $P < 0,05$); (** $P < 0,01$)

As análises dos voláteis extraídos de machos e fêmeas não apresentaram diferenças na sua composição. No entanto, a não constatação de diferenças nos compostos naturais, pode estar relacionado a diversos fatores. Segundo Giblin-Davis et al. (1996), a areação de muitos adultos confinados por longos períodos pode induzir a produção atípica de compostos químicos. Na areação de 5-12 machos de *M. hemipterus hemipterus* (L.) durante 24 horas foram detectados cinco compostos; já, a areação de 38 machos de *M. hemipterus sericeus* (Olivier) durante 96 horas mostrou oito compostos. Hedin et al. (1979), arearam 1000 fêmeas e 1000 machos de *C. caryae*, mas não foi detectada diferença por cromatografia gasosa. Phillips e Burkholder (1981), apud Novo e Batista (1988), observaram que a baixa concentração do extrato de voláteis de fêmeas de *S. oryzae* pode ter impedido a determinação da produção de feromônio pelas fêmeas. O mesmo fato dificultou a prova de ocorrência de feromônio emitido pelas fêmeas de *A. grandis* (HEDIN et al., 1979). Outra possível causa pode ser a idade; estudos com *A. grandis* demonstraram que segundo a idade dos adultos houve câmbios na produção e composição do feromônio, a qual esteve relacionada com o desenvolvimento da parede da glândula acessória, quanto menor o tamanho menor a

quantidade produzida ou não produz nada (SPURGEON, 2003). O mesmo autor considera que a produção de feromônio varia consideravelmente entre indivíduos ou grupos de indivíduos; sendo que esta variabilidade inclui diferenças genéticas entre indivíduos e é influenciada pela temperatura, alimento e outros fatores. Bartelt (1999) argumentou que os feromônios de gorgulhos estão constituídos por misturas de compostos que atuam sinergicamente, e a perda acidental de um composto chave durante a manipulação cromatográfica poderia fazer imperceptíveis os demais compostos que estimulam o comportamento, como relatado para *Ceutorhynchus assimilis* Payk., onde os compostos voláteis simulados para seu hospedeiro, não apresentaram atividade porque possivelmente foram omitidos compostos importantes na mistura (BARTELT, 1997). Saïd et al. (2006), afirmaram que bioensaios em olfatômetro com insetos como *R. palmarum*, tem limitações pelo tamanho do inseto e a resposta a feromônios requer a presença da planta hospedeira.

Por outro lado, apesar de não ter sido constatada diferença na composição dos voláteis naturais de machos e fêmeas de *S. levis*, estes apresentaram atividade biológica distinta e geraram resposta comportamental de ambos os sexos.

O fato de as fêmeas apresentarem resposta ao extrato de extrato de fêmea, e extrato de fêmea + cana, demonstrou as fêmeas produzem voláteis que atraem ambos os sexos ou machos e fêmeas produzem feromônios atrativos ao sexo oposto. Hedin et al. (1979), em condições de laboratório avaliaram a atividade biológica de extratos de machos e fêmeas de *C. caryae*, sendo que os compostos da fêmea (possivelmente alcoóis) foram atrativos para machos, e compostos dos machos também foram atrativos para fêmeas. Posteriormente, Hedin et al. (1997), avaliaram a atratividade de adultos vivos e seus extratos. As fêmeas foram atraídas pelos machos e pelo extrato de macho, enquanto que os machos não apresentaram resposta a fêmeas ou machos. Já a resposta de fêmeas ao feromônio sintético do macho de *C. caryae* foi de 80%, entanto que os machos responderam em 14% dos casos.

Leskey e Prokopy (2001) demonstraram que os voláteis das fêmeas de *C. nenuphar* foram atrativos para os machos, e também foram atraídas pelos voláteis produzidos por ambos os sexos. Igualmente, na espécie *D. abbreviatus* os extratos de fezes de fêmeas foram mais atrativos aos indivíduos do mesmo sexo, do que as próprias fêmeas. Além disso, uma maior quantidade de fêmeas de *D. abbreviatus* foi atraída pelos machos que pelas fêmeas (HARARI, 1997). Nakamuta, Van Tol e Visser (2005), compararam a resposta de adultos de

Otiorhynchus sulcatus (Fabricius) a três estímulos: 30 machos vivos, voláteis coletados durante 48 horas e papel exposto durante 24 horas a 30 adultos. O odor dos machos vivos atraiu mais coespecíficos quando comparado ao controle; porém, os demais tratamentos não apresentaram atratividade; os autores argumentam que possivelmente o fato esteja relacionado a presença de voláteis nas fezes, como reportado para outras espécies de *Otiorhynchus* spp. Saïd et al. (2006), demonstrou que fêmeas e machos de *R. palmarum* foram atraídos pelos voláteis de machos alimentando-se de cana e pelo feromônio sintético.

No Brasil, recentemente foram identificados e avaliados os compostos voláteis emitidos pelos machos das espécies *Pseudopiazurus obesus* (Boheman) (ZARBIN et al., 2007) e *Sternechus subsignatus* (Boheman) (AMBROGI; ZARBIN, 2008). Os testes em olfatômetro demonstraram que estes voláteis correspondem ao feromônio de agregação e apresentaram atratividade para ambos os sexos, sendo que houve aumento na atração quando combinados com a planta hospedeira.

A resposta obtida por *S. levis* aos compostos sintéticos mostrou que estes foram atrativos para machos e fêmeas (Figuras 11 e 12). Observou-se que os machos responderam ao isômero S e R e a mistura racêmica S-R combinados com cana respectivamente; já as fêmeas só responderam ao isômero S + cana. Estes resultados confirmaram as observações feitas por Zarbin et al. (2003), que em testes preliminares no laboratório demonstraram a ação da mistura racêmica na resposta comportamental de machos e fêmeas de *S. levis*.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que machos e fêmeas de *S. levis* apresentaram o mesmo percentual de atratividade pelo isômero S (62,50%), respectivamente. Este fato é de grande relevância já que segundo Zarbin (2004), o composto (S)-2-metil-4-octanol (isômero S) é produzido especificamente pelos machos de *S. levis*, e sua atividade biológica está aparentemente, associada ao comportamento de agregação da espécie. O isômero S já foi previamente identificado como componente do feromônio de agregação em outros curculionídeos (GIBLIN-DAVIS et al., 1996; ZARBIN, 2004).

Segundo Bartelt (1999), de 34 espécies da família Curculionidae onde foram identificados os seus feromônios, a maioria são produzidos pelo macho e correspondem a feromônio de agregação; em contraste, só quatro espécies *A. grandis*, *C. nenuphar*, *D. abbreviatus*, *H. abietis*, ambos os sexos foram responsáveis pela produção do feromônio. Hardee, Mitchell e Hudlest (1967); determinaram sob condições de laboratório que os machos

de *A. grandis* produzem feromônio atrativo para fêmeas. No entanto, as fêmeas possuem um feromônio secundário afrodisíaco que é liberado quando estão próximas do macho e este tem capacidade de reconhecê-lo. Segundo, Francke e Dettner (2005), o feromônio esta presente nas fezes, é de curta distancia e tem atração pelos machos, mas ainda não e conhecida sua atividade. Na espécie *Curculio caryae* (Horn); machos e fêmeas foram atraídos pelo sexo oposto; sendo que o índice de atração de machos pelas fêmeas foi alto, enquanto que a atração de machos por machos foi muito baixa (HEDIN et al., 1979). Outra espécie citada corresponde a *D. abbreviatus*; onde fêmeas, machos e fezes de ambos os sexos produzem atração dos coespecíficos (SCHROEDER, 1981, HARARI et al., 1997). Segundo Lapointe, Hunter e Alessandro (2004); ainda não está claro se o comportamento de agregação dos adultos de *D. abbreviatus* na planta hospedeira é mediado por feromônio sexual ou de agregação; seus estudos revelaram que existe uma glândula de cera nos élitros, que contem compostos não voláteis a temperatura ambiente, o que sugere que possivelmente é um feromônio de contato, ainda não explorado para estas espécies. Os mesmos autores determinaram que existe diferença na concentração de (n-alkanos), sendo maior nos adultos maduros quando comparadas com adultos imaturos sexualmente, independente do sexo. Além disto, observaram que adultos imaturos não estimularam comportamento de cópula nos adultos maduros do sexo oposto. Na espécie *C. sordidus*, além dos machos produzirem feromônio de agregação, a mistura entre voláteis do rizoma da bananeira e a presença de fêmeas atraíram os machos, indicando que a fêmea produz feromônio apenas atrativo para o sexo oposto (VIANA, 1992). Já para espécie *C. nenuphar* estudos demonstraram que as fêmeas produzem voláteis atrativos para os machos, e que as fêmeas são atraídas pelos voláteis produzidos por ambos os sexos. (LESKEY; PROKOPY, 2001).

Portanto, os resultados aqui encontrados para *S. levis* são similares aqueles encontrados para outros curculionídeos como *C. sordidus*, *M. hemipterus*, *Rhynchophorus* spp., *D. abbreviatus*, *C. nenuphar*, *R. obscurus*, *T. champion*, *P. obesus*, *S. subsignatus*, para os quais o macho, geralmente é o responsável pela atração de ambos os sexos, sendo que este feromônio de agregação na presença de voláteis do hospedeiro apresenta ação sinérgica na atração dos coespecíficos (VIANA, 1992; MENDONÇA, 1995; BARTELT, 1999; GIBLIN-DAVIS et al., 1996; LESKEY; PROKOPY, 2001; FRANCKE; DETTNER, 2005; CALYECAC-CORTERO et al., 2006; ZARBIN et al., 2007; AMBROGI; ZARBIN, 2008).

2.3.3.3 Avaliação da atratividade dos sexos de *S. levis* no campo

Exceto para a armadilha controle (isca CTC) as capturas de machos e fêmeas de *S. levis* foram baixas na presença de machos ou fêmeas com e sem cana, ou ainda somente cana (Tabela 14). Aparentemente, o modo de utilização das armadilhas no campo afetou os resultados, uma vez que a canas partidas ao meio utilizadas nos tratamentos – exceto ‘isca CTC’, foram colocadas na parte superior da armadilha, o que favoreceu o seu rápido ressecamento em poucos dias e, por conseguinte, sua baixa atratividade. O tratamento controle (‘isca CTC’), pelas canas partidas estarem em contato direto com o solo, manteve-se úmida e passou pelo processo de fermentação, sendo atrativa para os adultos de *S. levis*. Este resultado demonstrou a necessidade de se manter a cana em constante contato com o solo, o que fez com que os bioensaios posteriores, obrigatoriamente utilizassem esta estratégia. Outra alternativa seria a substituição quase que diária das canas suspensas, entretanto, o custo da mão-de-obra neste caso seria inviável.

Tabela 14 - Captura média de fêmeas, machos e total de adultos de *Sphenophorus levis* em armadilhas contendo cana-de-açúcar, cana-de-açúcar + machos, cana-de-açúcar + fêmeas, ou somente machos e fêmeas durante 12 dias

Idade (dias)	Fêmeas	Machos	Total adultos
	Média ± DP*	Média ± DP*	Média ± DP*
Controle (isca CTC)	15,20 ± 7,19 a	16,40 ± 2,70 a	31,60 ± 9,78 a
Cana + 4 machos	1,20 ± 1,36 b	2,20 ± 2,28 b	3,40 ± 2,60 b
Cana + 4 fêmeas	1,40 ± 1,14 b	1,60 ± 1,81 b	3,00 ± 2,34 b
4 machos	1,40 ± 1,14 b	0,00 ± 0,00 b	2,80 ± 1,14 b
4 fêmeas	1,60 ± 1,14 b	1,20 ± 0,83 b	2,40 ± 1,78 b
Cana	1,20 ± 0,83 b	0,80 ± 1,30 b	1,40 ± 1,51 b

*Média seguida da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade

2.3.3.4 Avaliação da atratividade dos sexos e dos extratos naturais de *S. levis*

Não houve diferença nas capturas de machos, fêmeas ou totais de adultos de *S. levis* quando foram utilizadas cana + machos, cana + fêmeas, cana + extrato de machos, e cana + extrato de fêmeas, comparadas com o controle ('isca CTC') (Tabela 15). Estes resultados indicaram que os toletes de cana sozinhos, sem a adição de coespecíficos ou seus extratos naturais foram suficientes para capturar os insetos. Aparentemente, o número de insetos virgens (4 por sexo) e/ou a concentração do extrato (15 equivalentes/macho ou fêmea) por armadilha não foram suficientes para promover uma maior captura em relação ao controle ('isca CTC'). Ao mesmo tempo, ficou evidente que a colocação dos toletes de cana no solo igualou os tratamentos em relação ao controle ('isca CTC') no quesito captura.

Tabela 15 - Captura média de fêmeas, machos e total de adultos de *Sphenophorus levis* em armadilhas contendo cana, cana + machos, cana + fêmeas, cana + extrato de machos e cana + extrato de fêmeas durante 12 dias

Idade (dias)	Fêmeas	Machos	Total adultos
	Média ± DP*	Média ± DP*	Média ± DP*
Controle (isca)	3,83 ± 2,40 a	6,00 ± 4,38 a	9,83 ± 5,91 a
Cana + 4 machos	4,33 ± 3,91 a	5,33 ± 3,72 a	9,66 ± 6,02 a
Cana + 4 fêmeas	5,33 ± 5,60 a	6,33 ± 1,50 a	11,66 ± 6,91 a
Cana + extrato de machos	3,33 ± 3,07 a	2,66 ± 3,20 a	6,00 ± 5,69 a
Cana + extrato de fêmeas	4,16 ± 2,85 a	2,66 ± 2,16 a	6,83 ± 4,70 a

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade;

Entre os curculionídeos, além do feromônio de agregação, a presença de voláteis da planta hospedeira parece ter papel essencial na atração destes insetos. De acordo com Cerda et al. (1999) para captura de várias espécies da subfamília Rhynchophorinae, precisa-se do sinergismo com os voláteis das plantas hospedeiras. Tianzaara et al. (2003), demonstraram também que *C. sordidus* responde significativamente à combinação do feromônio sintético e os voláteis do pseudocaule fermentado; indicando que isto aumenta a eficiência de armadilhas no campo. O mesmo resultado foi encontrado com *M. hemipterus sericus*, onde os voláteis

fermentados produzidos por diferentes hospedeiros foram atrativos para esta praga, enquanto que os mesmos em estado fresco não apresentaram atração. A adição de 20 machos ou 20 fêmeas + 250 g de caule de palmito (*Sabal palmetto*) incrementou a captura quando comparada ao palmito sozinho (GIBLIN-DAVIS; PEÑA, DUNCAN, 1994).

As baixas capturas diárias nas armadilhas são reportadas por vários estudos, e parece estar associada a vários fatores como densidade populacional do inseto na área e a sua mobilidade.

2.3.3.5 Comparação da atração dos extratos naturais e dos compostos sintéticos

A captura de fêmeas e total de adultos nas armadilhas contendo o isômero-R do feromônio de agregação de *S. levis* foram superiores em relação ao controle ('isca CTC'), embora, não tenha diferido dos demais tratamentos, incluindo o isômero S e a mistura racêmica S-R (Tabela 16). Observou-se que as capturas foram altas ao longo do período estudado, ficando em média entre 9,6 a 17,6 adultos/armadilha. Estes resultados, somados aqueles encontrados em laboratório sugerem que a presença do feromônio de agregação produzido pelo macho de *S. levis* tem um papel preponderante na atração de coespecíficos como já discutido anteriormente (vide item 4.3.2.). Contudo, particularmente para as condições de campo, os resultados indicam ainda a necessidade de ajustes nas formulações do feromônio de agregação de *S. levis* para uma maior eficiência na captura.

Tabela 16 - Captura média de fêmeas, machos, e total de adultos de *Sphenophorus levis* atraídos por extratos naturais de machos e fêmeas, isômeros-R e S, e mistura S-R do possível feromônio sintético de agregação durante 21 dias

Idade (dias)	Fêmeas	Machos	Total adultos
	Média ± DP*	Média ± DP*	Média ± DP*
Isômero R	9,60 ± 1,94 a	8,80 ± 2,58 a	17,60 ± 3,50 a
Isômero S	6,60 ± 3,91 ab	8,80 ± 5,21 a	15,40 ± 8,26 ab
Mistura S-R	8,20 ± 4,96 ab	8,20 ± 2,86 a	16,40 ± 7,02 ab
Extrato de machos	7,80 ± 3,56 ab	6,80 ± 2,68 a	14,60 ± 5,12 ab
Extrato de fêmeas	7,20 ± 3,70 ab	6,00 ± 3,00 a	13,20 ± 6,30 ab
Controle (isca)	5,00 ± 1,41 b	4,60 ± 2,19 a	9,60 ± 2,60 b

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste LSD ao nível de 5% de probabilidade; Dados de captura das avaliações 1 a 5 transformados em $\log_{10}(x+0,5)$, e avaliação 6 em $(1/x+0,5)$.

2.3.4 Avaliação da eficiência de diferentes tipos de armadilhas na captura de *S. levis*

A armadilha tipo ‘isca CTC’ foi a mais eficiente na captura de adultos de *S. levis* comparada aos demais modelos testados (modelos ‘galão’, ‘funil’ e ‘moleque da bananeira’) (Tabela 17). Observou-se que as médias de capturas foram baixas em todos os tratamentos, ficando entre 0,4 e 4,4 num período de 21 dias. Aparentemente, a época de realização deste experimento pode ter contribuído para este fato, uma vez que foi conduzido entre o final de abril e início de maio, e tradicionalmente, de acordo com Precetti e Arrigoni (1990), a maior densidade de adultos de *S. levis* ocorre entre novembro e março de cada ano.

As baixas capturas das diferentes armadilhas (modelos ‘galão’, ‘funil’ e ‘moleque da bananeira’) comparadas a ‘isca CTC’ confirmou a importância dos toletes de cana estarem em contato com o solo para manter sua umidade e consequente durabilidade, favorecendo sua perfeita fermentação e atração dos adultos de *S. levis*. No caso do modelo ‘funil’ foi observado que a cana apodreceu em sua grande maioria devido a queda de água no seu interior e morte de insetos rasteiros. Nos modelos ‘galão’ e ‘moleque da bananeira’ as canas ressecaram mais rapidamente que a ‘isca CTC’, pois não estavam em contato direto com o solo (ver Figura 3).

Portanto, o futuro desenvolvimento de uma armadilha para a captura de *S. levis* deve considerar a necessidade da presença de um atraente alimentar ('em fermentação') e do feromônio de agregação. Caso o atraente alimentar ('em fermentação') seja o tolete de cana este deverá obrigatoriamente estar em contato com o solo para garantir sua eficiência e durabilidade.

Diferentes estudos com outros curculionídeos demonstraram a importância do desenho da armadilha assim como de outros diferentes fatores na eficiência de captura das mesmas. Tiglia (1998), avaliou armadilhas para captura de *R. palmarum*, demonstrando baixas capturas nas mesmas contendo apenas o feromônio 'Rhynchophorol', o que indicou a necessidade da presença de uma planta hospedeira para obter o efeito esperado na captura da praga. Janson et al. (1993), mencionaram as inconsistências nos resultados de diferentes ensaios com armadilhas em *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Apionidae), podendo ser causados pela densidade de insetos residentes na área, tempo de avaliação, distância entre armadilhas, interação entre armadilhas, entre outros.

Tianzaara et al. (2003), afirmaram que a combinação de feromônios sintéticos com os voláteis de tecidos vegetais fermentados (hospedeiros) aumentaram a eficácia das armadilhas para ser utilizado no manejo de *C. sordius*; no entanto, novos estudos foram sugeridos para determinar a dose-resposta e longevidade dos extratos de tecidos de plantas frescos e fermentados para otimizar a combinação de esses voláteis com feromônios sintéticos.

Tabela 17 - Captura média de adultos de *Sphenophorus levis* em quatro tipos de armadilhas em campo durante 21 dias (n= 5)

Tipo armadilha	Captura de adultos
	Média $\pm$ DP*
Isca CTC	4,40 $\pm$ 2,19 a
Modelo galão	0,40 $\pm$ 0,89 b
Modelo funil	0,40 $\pm$ 0,00 b
Modelo moleque da bananeira	0,00 $\pm$ 0,00 b

*Média seguida da mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade

2.3.5 Raio de ação das iscas modelo CTC

A recaptura de adultos de *S. levis* nas duas distâncias avaliadas (5 e 10 m), foi baixa até o 21º dia, correspondendo a 2% dos indivíduos liberados. Para a distância de 5 m, foram encontradas na sua maioria fêmeas, a partir do 7º dia para um total recapturado de 8 fêmeas e 2 machos. Já, na distância de 10 m, só foram recuperados 1 fêmea e 1 macho, aos 17 e 21 dias após a liberação, respectivamente (Figuras 13 e 14). Estes resultados demonstram a baixa mobilidade do *S. levis*, como já relatado por Precetti et al. (1983), Degaspari et al. (1987) e Arthur et al. (1987).

Figura 13 - Total de fêmeas e machos marcados de *Sphenophorus levis* recapturados em iscas de cana-de-açúcar localizadas a 5m do ponto de liberação, durante 21 dias

Figura 14 - Total de fêmeas e machos marcados de *Sphenophorus levis* recapturados em iscas de cana-de-açúcar localizadas a 10m do ponto de liberação, durante 21 dias

A maior porcentagem de recaptura dos adultos liberados correspondeu as fêmeas (75%). De acordo com Precetti et al. (1983), a dispersão diária de machos de *S. levis* foi menor que a encontrada para as fêmeas, com distancias médias de 3 e 5 m, respectivamente. Contudo, estes resultados diferem dos encontrados por Arthur et al. (1987), que demonstraram que os machos dispersaram-se mais rapidamente que as fêmeas, com distâncias de até 24,7 e 9,12 m, respectivamente. No entanto, o número de machos recapturado por semana durante 3 semanas foi menor que o número de fêmeas, sendo de 4, 6 e 2 para machos e de 27, 25 e 25 para fêmeas, respectivamente. Segundo Degaspari et al. (1987), a dispersão de adultos de *S. levis* no campo foi de 6,6 a 11,1 m por mês numa área aproximada de 98,2 m², após a liberação continua de um total de 2000 adultos marcados. Neste último caso, a recaptura total foi de 346 adultos durante 6 meses, e os autores não discriminaram entre fêmeas ou machos.

Estas discrepâncias nos estudos de dispersão de *S. levis*, possivelmente, devem-se às diferentes condições e metodologias utilizadas, incluindo o tempo de realização do ensaio, condições ambientais, presença ou ausência de plantas daninhas, estágio da cultura, período de avaliação, método de marcação do inseto, estado fisiológico da praga, entre outras. De

qualquer modo, os diferentes estudos permitem concluir que *S. levis* tem baixa capacidade de deslocamento em condições naturais.

A captura massal de *C. sordidus* mediada pelo uso de infoquímicos é particularmente viável porque o inseto apresenta baixa dispersão, ambos os sexos são atraídos e sua capacidade reprodutiva é baixa (TIANZAARA et al., 2003); características também apresentadas por *S. levis*.

Na prática, o sucesso para o manejo integrado de curculionídeos baseado em uso de semioquímicos aproveita o sinergismo existente entre os feromônios de agregação e os voláteis de plantas ou partes de plantas em fermentação, melhorando a atração da praga alvo. Do ponto de vista do manejo destes insetos, a captura massal é uma excelente alternativa de controle, especialmente, pelo fato de ambos os sexos serem atraídos e apresentarem longo ciclo de vida, longevidade dos adultos, baixa fecundidade e alta resposta aos feromônios de agregação. Um exemplo é o manejo de *R. palmarum* em palmáceas na Costa Rica, onde a captura massal é mais efetiva ao combinar o uso de armadilhas na periferia e no interior da área, capturando e removendo os potenciais adultos imigrantes. Os mesmos critérios são aplicados para outras pragas de palmáceas como *R. ferrugineus* nos Emirados Árabes, *R. cruentatus* na Flórida e *R. phoenicis* na África (GIBLIN-DAVIS et al., 1996).

De forma geral, estes resultados contribuem para o conhecimento do comportamento reprodutivo e sexual de *S. levis* e são a base para futuros programas de MIP que incluem controle cultural, biológico, além de incorporar o componente de manipulação do comportamento. Segundo Roitberg (1992), a manipulação do comportamento consiste no uso de estímulos para estimular ou inibir os insetos e dessa forma sua população; sendo uma prática bem apropriada e aceita no manejo de pragas. A manipulação tem vantagens porque inclui várias táticas que podem ser utilizadas em conjunto como o uso de atraentes, feromônios, controle biológico, e mesmo controle químico.

3 CONCLUSÕES

1. Adultos de *Sphenophorus levis* com idades entre 14 a 35 dias apresentam maior frequência de acasalamento (76 a 88%), múltiplas cópulas e acasalam em qualquer hora do dia, sendo que a duração da primeira cópula é maior que as demais ($5,75 \pm 4,22$ h);

2. O período de pré-oviposição para fêmeas de 7 a 35 dias de idade varia entre 5,52 a 20,0 dias; o número médio de ovos/fêmea varia de 0,25 e 7,80 com viabilidade entre 33 e 63%;

3. Existe correlação positiva entre as variáveis idade, duração da primeira cópula, tempo total de cópula, fertilidade e viabilidade de ovos;

4. Fêmeas com idade entre 85 e 210 dias são receptivas para a cópula (>66%), ovipositam em média 4,50 a 7,09 ovos/fêmea com uma viabilidade média entre 49 e 79%;

5. O comportamento sexual de machos e fêmeas de *S. levis* apresenta uma sequência típica para seu acasalamento. A pré-cópula é caracterizada pela ‘procura’, ‘reconhecimento’, ‘chamamento’, ‘monta’ e ‘posição de cópula’. A cópula compreende a ‘introdução do edeago na bolsa copuladora’ e movimentação do rostro do macho sobre o pronoto da fêmea e, a pós-cópula é caracterizada pela posição de “guarda” do macho;

6. A duração média da pré-cópula em *S. levis* varia entre 2 a 5 horas, a cópula é longa com variação entre 7 a 13 horas e a pos-cópula entre 1,35 a 1,41 horas;

7. A cópula de *S. levis* é influenciada pelo contato visual e físico do macho com seus coespecíficos;

8. Os resultados obtidos nos diferentes bioensaios são a primeira evidência de que fêmeas e machos de *S. levis* são atraídos por seus coespecíficos e seu hospedeiro;

9. Os machos de *S. levis* produzem compostos voláteis atrativos para ambos os sexos, os quais possivelmente correspondem ao feromônio de agregação, no entanto, as fêmeas também liberam voláteis atrativos para ambos os sexos, ainda não caracterizados;

10. Os isômeros S, R e mistura racêmica são atrativos para adultos de *S. levis* em laboratório e em campo;

11. As dosagens dos extratos naturais e dos compostos sintéticos, embora tenham sido baixas, apresentaram atratividade para ambos os sexos de *S. levis*, indicando a potencialidade de sua utilização;

12. Machos e fêmeas de *S. levis* são atraídos por coespecíficos, extratos naturais e compostos sintéticos em presença de cana, no entanto, requiere-se de mais estudos que permitam determinar as proporções dos isômeros na mistura, dosagem do feromônio, tipo de armadilha e número de armadilhas por área, entre outros, permitindo sua implementação no manejo da praga.

13. A armadilha tipo ‘isca CTC’ é eficiente na captura de adultos de *S. levis* comparada aos demais modelos testados (modelos ‘galão’, ‘funil’ e ‘moleque da bananeira’);

14. A baixa recaptura de adultos marcados de *S. levis* nas iscas de 5m (10 adultos) demonstra a baixa mobilidade do inseto;

15. Estes resultados contribuem para o conhecimento do comportamento reprodutivo e sexual de *S. levis* e são a base para futuros programas de MIP que incluem controle cultural, biológico, além de incorporar o componente de manipulação do comportamento.

REFERÊNCIAS

- ADAIR, R.C.; NIGG, H.N.; SIMPSON, S.E.; LEFEVRE, L. Observations on the oviposition process of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). **Florida Entomologist**, Litz, v. 82, n. 2, p. 362-365, 1999.
- ALCOCK, J. Postinsemination associations between males and females in insects: The mate-guarding hypothesis. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 39, n. 1, p. 1-21, 1994.
- ALMEIDA, L.; STINGEL, E. **Curso de monitoramento e controle de pragas da cana-de-açúcar**. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira, 2005. 32 p.
- ALPIZAR, D.; FALLAS, M.; OEHLISCHLAGER, A.C.; GONZALEZ, L.M.; CHINCHILLA, C.M.; BULGARELLI, J. Pheromone mass trapping of the west indian sugarcane weevil and the american palm weevil (Coleoptera: Curculionidae). In palmito palm. **Florida Entomologist**, Litz, v. 85, n. 3, p. 426-430, 2002.
- AMBROGI, B.G.; ZARBIN, P.H.G. Aggregation pheromone in *Sternechus subsignatus* (Coleoptera: Curculionidae): olfactory behaviour and temporal pattern of emission. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 132, n. 1, p. 54-60, 2008.
- ARNQVIST, G.; NILSSON, T. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. **Animal Behaviour**, Amsterdam, v. 60, n. 2, p. 145-164, 2000.
- ARNQVIST, G.; NILSSON, T.; KATVALA, M. Mating rate and fitness in female bean weevils. **Behavioral Ecology**, Oxford, v. 16, n. 1, p. 123-127, 2004.
- ARTHUR, V.; PRECETTI, O.; ARRIGONI, E. Determinação da dose esterilizante de radiação gama para adultos de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Col: Curculionidae) praga da cana-de-açúcar. **Ecosistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 19, p. 23-29, 1994.
- ARTHUR, V.; WIENDL, F.; PRECETTI, O.; ARRIGONI, E. Comportamento e competitividade sexual de adultos de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Col: Curculionidae) uma praga da cana-de-açúcar, irradiados com radiações gama do cobalto-60. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 68, n. 1, p. 57-66, 1993.
- ARTHUR, V.; WALDER, F.; WIENDL, Q.; PRECETTI, O.; TERÁN, O.; HENRIQUE, B. Dispersão de adultos de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Col: Curculionidae) em cana-de-açúcar marcados com ^{32}P . **Energia Nuclear na Agricultura**, Piracicaba, v. 8, n. 1/2, p. 79-86, 1987.
- BADILLA, F.; ALVES, S. Control del picudo de la caña de azúcar *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Col: Curculionidae) con *Beauveria bassiana* y *Beauveria brongniartii* em condiciones de laboratorio y campo. **Manejo Integrado de Plagas**. San José, n. 20/21, p. 34-38, 1991.

BAILEZ, O.E.; VIANA, BAILEZ, A.M.; LIMA J.O.G.; MOREIRA, D.D.O. Life history of the guava weevil, *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae), under laboratory conditions. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 203-207, 2003.

BARRETO, M.; ANJOS, N.; DELLA LUCIA, T. Comportamento reprodutivo de *Spermologus rufus* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 8, n. 2, p. 351-354, 1999.

BARTELT, R. Weevils. In: HARDIE, J; MINKS, A. (Ed.). **Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants**. Wallingford: CAB International, 1999. p. 91-112.

BARTELT, R.; BLIGHT, M.M.; LANE, P.; WILLIAMS, I.H. The responses of the cabbage seed weevil *Ceutorhynchus assimilis* to volatile compounds from oilseed rape in a linear track olfactometer. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 85, n. 3, p. 257-262, 1997.

BIRKINSHAW, L.A.; SMITH, R.H. Function of aggregation pheromone in the larger grain borer *Prostephanus truncatus*: Variation in response to individuals as evidence for a role in sexual selection. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 26, n. 6, p. 1325-1339, 2000.

CALYECAC-CORTERO, H.G.; CIBRIÁN-TOVAR, J.; BAUTISTA-MARTINEZ, N.; LÓPEZ-COLLADO, J. Comportamento de alimentación, cortejo, cópula y oviposición de *Trichobaris championi* Barber (Coleoptera: Curculionidae). **Agrociencia**, Texcoco, v. 38, n. 3, p. 365-373, 2004.

CALYECAC-CORTERO, H.G.; CIBRIÁN-TOVAR, J.; LÓPEZ-COLLADO, J.; GARCÍA-VELASCO, R. Emisores de los volátiles de atracción de *Trichobaris championi* Barber. **Agrociencia**, Texcoco, v. 40, n. 5, p. 655-663, 2006.

CAMPBELL, J.F. Fitness consequences of multiple mating on female *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 34, n. 4, p. 833-843, 2005.

CERDA, H.; FERNANDEZ, G.; LOPEZ, A.; VARGA, J. Olfactory attraction of the sugar cane weevil (Coleoptera: Curculionidae) to host plant odors, and its aggregation pheromone. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 82, n. 1, p. 103-112, 1999.

COUDRIET, D.L.; KISHABA, A.N. Bioassay procedure for an attractant of the pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 81, n. 5, p. 1499-1502, 1988.

DEGASPARI, N.; BOTELHO, P.; ALMEIDA, L.; CASTILLO, H. Biologia de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Col: Curculionidae) em dieta artificial e no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 22, n. 6, p. 553-558, 1987

DINARDO-MIRANDA, L. Cana. **Revista Cultivar Grandes Culturas**. Caderno Técnico Cultivar, Pelotas, n. 80, 10 p, dez. 2005.

DUARTE, A.G.; BENVENUTO, I.D.; AMORIM, S.C.R.; LIMA, I.S.; FERREIRA, J.M.S. Comportamento de Acasalamento de *Homalinotus coriaceus*, Gyll. (Coleoptera: Curculionidae) em Laboratório. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém. **Resumos...** Belém: SBF, 2002.

FRANCKE, W.; DETTNER, K. Chemical signalling in beetles. **Topics in Current Chemistry**. Berlin, v. 240, p. 85-166, 2005.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ; 2002. 920 p.

GIBLIN-DAVIS, R.M.; PEÑA, J.E.; DUNCAN, R.E. Lethal pitfall trap for evaluation of semiochemical, mediated attraction of *Metamasius hemipterus sericeus* (Coleoptera: Curculionidae). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 77, n. 2, p. 247-255, 1994.

GIBLIN-DAVIS, R.; OEHLISCHLAGER, A.; PEREZ, A.; GRIES, G.; GRIES, R.; WEISLING, T.; CHINCHILLA, C.; PEÑA, J.; HALLETT, R.; PIERCE, D.; GONZALEZ, L. Chemical and behavioral ecology of palm weevils (Curculionidae: Rhynchophorinae). **Florida Entomologist** Lutz, v. 79, n. 2, p. 153-167, 1996.

GOES, T.; MARRA, R.; SOUSA e SILVA, G. Setor sucroalcooleiro no Brasil. Situação atual e perspectivas. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, ano 17, n. 2, p: 39-63, abr./jun. 2008

GOLD, C.S.; MESSIAEN, S. **The banana weevil *Cosmopolites sordidus***. Montpellier: National Research Center for Banana, 2000. 4 p. (Musa Pest Fact Sheet, 4). Disponível em: <<http://www.inibap.org>>. Acesso em: 13 jun. 2007.

GOLD, C.S.; PENA, J.E.; KARAMURA, E.B. Biology and integrated pest management for the banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). **Integrated Pest Management Reviews**, Heidelberg, v. 6, n. 2, p. 79-155, 2001.

HARARI, A.R. Orientation of sugarcane rootstalk borer weevil, *Diaprepes abbreviatus*, to weevil, frass, and food odors. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.23, n.3, p.857-868, 1997.

HARARI, A.R.; LANDOLT, P.J.; O'BRIEN, C.W.; BROCKMANN, H.J. Prolonged mate guarding and sperm competition in the weevil *Diaprepes abbreviatus* (L.). **Behavioral Ecology**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 89-96, 2003.

HARDEE, D.D.; MITCHELL, E.B.; HUDDLEST, P.M. Laboratory studies of sex attraction in boll weevil. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 60, n. 5, p. 1221-1224, 1967.

HARDEE, D.D.; GUELDNER, R.C.; TUMLINSO, J.H.; CROSS, W.H.; MITCHELL, E.B.; MCKIBBEN, G.H. Boll weevils Coleoptera Curculionidae in nature respond to Grandlure, a synthetic pheromone. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 65, n. 1, p. 97-100, 1972.

HEDIN, P.A.; DOLLAR, D.A.; COLLINS, J.K.; DUBOIS, J.G.; MULDER, P.G.; HEDGER, G.H.; SMITH, M.W.; EIKENBARY, R.D. Identification of male pecan weevil pheromone. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 23, n. 4, p. 965-977, 1997.

HEDIN, P.A.; PAYNE, J.A.; CARPENTER, T.L.; NEEL, W. Sex pheromones of the male and female pecan weevil, *Curculio caryae* (Horn) (Coleoptera, Curculionidae), Behavioral and chemical studies. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 8, n. 3, p. 521-523, 1979.

HERNADEZ, M.; GUTIÉRREZ, M.; ALDANA, L.; VALDÉS, M. Fecundity of the sisal weevil, *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae), on *Polianthes tuberosa* (Liliales: Agavaceae). **Florida Entomologist**, Lizt, v. 89, n. 4, p. 518-520, 2006.

HOWSE, P.; STEVENS, I.; JONES, O. **Insect pheromones and their use in pest management**. London: Chapman & Hall, 1998. 369 p.

JANSSON, R.K.; MASON, L.J.; HEATH, R.R.; LECRONE, S.H.; FOREY, D.E. Pheromone trap monitoring system for sweetpotato weevil (Coleoptera: Apionidae) in the Southern United States: effects of lure type, age, age and duration in storage. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 86, n. 4, p. 1109-1115, 1993.

JANSSON, R.K.; MASON, L.J.; HEATH, R.R.; SORESENSEN, K.A.; HAMMOND, A.M.; ROBINSON, J.V. Pheromone-trap monitoring system for sweetpotato weevil (Coleoptera: Apionidae) in the Southern United States: effects of trap type and pheromone dose. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 85, n. 2, p. 416-423. 1992.

JONES, I.F.; SCHROEDER, W.J. Capture of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in frass extract baited traps in citrus. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 77, n. 2, p. 334-336, 1984.

KOHAMA, T.; SHIMOJI, Y. Reproductive maturity of the female West Indian sweet potato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera : Curculionidae), **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 33, n. 1, p. 1-4, 1997.

LAPOINTE, S.L.; HUNTER, W.B.; ALESSANDRO, R.T. Cuticular hydrocarbons on elytra of the diaprepes root weevil *Diaprepes abbreviatus* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). **Agricultural and Forest Entomology**, Oxford, v. 6, n. 4, p. 251-257, 2004.

Le CATO, G.L.; PIENKOWSKI, R.L. Laboratory mating behavior of the alfalfa weevil *Hypera postica*. **Annals of the Entomological Society of America**. Lanham, v. 63, n. 4, p. 1000-1007, 1970.

LESKEY, T.C.; PROKOPY, R.J. Adult plum curculio (Coleoptera: Curculionidae) attraction to fruit and conspecific odors. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 94, n. 2, p. 275-288, 2001.

LOPES, F. **Caracterização da atividade proteinásica digestiva de *Sphenophorus levis* (Coleoptera, Curculionidae) e sua sensibilidade à Chagasina**. 2002. 58 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002

MARVALDI, A; LANTERI, A. Key to hogher taxa of South America weevils based on adult characters (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Chilena de Historia Natural**, Valparaíso, v. 78, p. 65-87, 2005.

MAYER, M.S.; BRAZZEL, J.R. The mating behavior of the boll weevil, *Anthonomus grandis*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 56, n. 5, p. 605-609, 1963.

MENDES, A.C.B.; MAGALHÃES, B.P.; OHASHI, O.S. Biologia de *Conotrachelus humeropictus*, Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae), praga do cacaueiro e do cupuaçuzeiro na Amazônia brasileira. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 27, n. 2, p. 135-144, 1997.

MENDONÇA, F.A. **Atratividade da planta hospedeira e liberação do feromônio de agregação por *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera:Curculionidae)**. 1995. 61 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.

MOREIRA, M.A.B.; ZARBIN, P.H.G.; CORACINI, M.D.A. Feromônios associados a os coleópteros,praga de produtos armazenados. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 472-477, 2005.

NAKAMUTA, K.; VAN TOL, R.W.H.M.; VISSER, J.H. An olfactometer for analyzing olfactory responses of death-feigning insects. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 40, n. 1, p. 173-175, 2005.

NAVARRO, D.; MURTA, M.; DUARTE, A.; DE LIMA, W.; NASCIMENTO, R. do; SANT’ANA, A. Aspectos práticos relacionados ao uso do rincoforol, o feromônio de agregação da broca do olho do coqueiro *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) no controle de pragas do coqueiro. Análise de sua eficiência em campo. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 32-36, 2002.

NOVO, J.; BATISTA, G.C. Resposta olfativa do caruncho-do-café *Araecerus fasciculatus* (Deg.)(Coleoptera: Anthribidae) a feromônios. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 27, n. 3, p. 337-343, 1998.

PADMANABAN, B., SATHIAMOOTHY, S. **The banana stem weevil *Odoiporus longicollis***. Montpellier: National Research Center for Banana, 2001. 5 p.(Musa Pest Fact Sheet, 5). Disponível em: <<http://www.inibap.org>>. Acesso em: 13 jun. 2007.

PAIVA, M.R., PEDROSA-MACEDO, J.H. **Feromonas de Insetos**. Curitiba: GTZ/CONCITEC, 1985, 94 p.

PENG, G. H.; LEAL, W.S. Identification and cloning of a pheromone-binding protein from the oriental beetle, *Exomala orientalis*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 27, p. 2183-2192, 2001.

POLANCZYK, R.; ALMEIDA, L.; PADULLA, L.; ALVES, S.B. Praga de cana-de-açúcar x métodos alternativos de controle. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 33, p. 13-17, 2004.

PRECETTI, A.; ARRIGONI, E. Aspectos bioecológicos e controle do besouro *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera, Curculionidae) em cana-de-açúcar. **Boletim Técnico Copersucar**, São Paulo, 15 p, 1990.

PRECETTI, A.; WIENDL, F.; TERÁN, F.; SGRILLO, R. Estudos sobre dispersão de adultos de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em cana de açúcar através de traçador radioativo. **Boletim Técnico Copersucar**, Piracicaba, n. 23, p. 12-17, 1983.

RODRIGUES, R. Século XXI, o novo tempo da agroenergia renovável. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 1, p. 4-7, jan./jun. 2004.

ROITBERG, B. Why pest management needs behavioral ecology and vice versa. **Entomological Research**, Oxford, v. 37, p. 14-18, 2007.

ROITBERG, B.; ISMAN, M. **Insect chemical ecology: an evolutionary approach**. New York: Chapman & Hall, 1992. 359 p.

SAÏD, I.; RENOU, M.; MORIN, J.P.; FERREIRA, J.M.S.; ROCHAT, D. Interactions between acetoin, a plant volatile, and pheromone in *Rhynchophorus palmarum*: Behavioral and olfactory neuron responses. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 8, p. 1789-1805, 2005.

SANTOLAMAZZA, S.; CORDERO, A. Sperm competition, cryptic female choice and prolonged mating in the *Eucalyptus* snout-beetle, *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera, Curculionidae). **Etologia**, Pontevedra, v. 6, p. 33- 40, 1998.

SARRO, F. **Biologia da broca do pedúnculo floral do coqueiro *Homalinotus coriaceus* Gyllenhal, 1836, (Coleoptera: Curculionidae) em três diferentes dietas**. 2002. 73 p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) -. Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2002.

SATO, Y.; KOHAMA, T. Post-copulatory Mounting behavior of the West Indian Sweetpotato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae). **Etology**, Berlin, v. 113, n. 2, p. 183-189. 2007.

SCHROEDER, W.J. Attraction, mating, and oviposition behavior in field populations of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) on citrus. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 10, n. 6, p. 898-900, 1981.

SIROT, L.; LAPOINTE, S. Patterns and consequences of mating behavior of the root weevil *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). **Florida Entomologist**. Lutz, v. 91, n. 3, p. 400-406, 2008.

SOUZA, R.M. **Sinais envolvidos na comunicação de *Amerrhinus Ynca* Sahlberg, 1823 (Coleoptera: Curculionidae)**. 2006. 131 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2006.

SPURGEON, D.W. Age dependence of pheromone production by the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 32, n. 1, p. 31-38, 2003.

STUBBS, M. The influence of age of female at mating and duration of male presence upon the length of the pre-oviposition period and productivity of *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) at 20°C. **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v. 18, p. 171-175, 1982.

SUAZO, A.; PACHECO, D.P.; CAVE, R.D.; FRANK, J.H. Longevity and fecundity of *Metamasius quadrilineatus* Champion (Coleoptera: Dryophthoridae) on a natural bromeliad host in the laboratory. **The Coleopterists Bulletin**, Washington, v. 60, n. 3, p. 264-270, 2006.

TAFOYA, F.; LOPEZ, COLLADO, J.; STANLEY, D.; ROJAS, J.C.; CIBRIAN, TOVAR, J. Evidence of an aggregation pheromone in males of *Metamasius spinolae* (Coleoptera: Curculionidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 32, n. 3, p. 484-487, 2003.

TERÁN, F.; PRECETTI, A. *Sphenophorus levis* e *Metamasius hemipterus* como pragas na cana-de-açúcar. **Boletim Técnico Copersucar**. São Paulo, n. 18, p. 24-26, 1982.

TIGLIA, E.; VILELA, E.; MOURA, I.L.; ANJOS, N. Eficiência de Armadilhas com Feromônio de Agregação e Cana-de-Açúcar na Captura de *Rhynchophorus palmarum* (L.) **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 177-183, 1998.

TINZAARA, W.; DICKE, M.; VAN HUIS, A.; GOLD, C.S. Use of infochemicals in pest management with special reference to the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). **Insect Science and its Application**, Nairóbi, v. 22, n. 4, p. 241-261, 2002.

TINZAARA, W.; DICKE, M.; VAN HUIS, A.; VAN LOON, J.J.A.; GOLD, C.S. 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**, Oxford, v. 106, n. 3, p. 169-175, 2003.

TIRONI, P.; VON TREUENFELS, A.; PARRA, J.R.P. Population dynamics of *Cyrtomonus luridus* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) on *Duboisia* sp. (Solanaceae) in Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 5, p. 473-477, 2005.

TOTH, M.; FURLAN, L.; CAMPAGNA, G. Attractant for the sugar-beet weevil *Conorrhynchus* (Cleonus) *mendicus* (Col.: Curculionidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 131, n. 8, p. 569-572, 2007.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DA CANA-DE-AÇÚCAR. Disponível em:
<http://www.unica.com.br/pages/agroindustria_alta.asp>. Acesso em: 16 fev. 2006.

VANDERBILT, C.F.; GIBLIN-DAVIS, R.M.; WEISSLING, T.J. Mating behavior and sexual response to aggregation pheromone of *Rhynchophorus cruentatus* (Coleoptera: Curculionidae). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 81, n. 3, p. 351-360, 1998.

VANIN, S.A. **Reino animalia: Curculionidae**. Disponível em:
<<http://www.biota.org.br/pdfv5cap14.pdf>>. Acesso em: 16 fev. 2006.

VAURIE, P. Revision of the Genus *Sphenophorus* in South America. **American Museum Novitates**, New York, v. 26, p. 1-30, 1978.

VIANA, A.M.M. **Comportamento de agregação e acasalamento de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae), mediado por semioquímicos, em olfatômetro**. 1991. 75 p. Tese (M.S. em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1992.

VIANA, A.; VILELA, E. Comportamento de agregação e acasalamento de *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 347-350, 1996.

VILELA, E.; DELLA LUCIA, T. **Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação**. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos, 2001. 206 p.

WAINHOUSE, D.; ASHBURNER, R.; BOSWELL, R. Reproductive development and maternal effects in the pine *Hylobius abietis*. **Ecological Entomology**, Sheffield, v. 26, n. 6, p. 655-661, 2001.

WANGELBACH, C.A.; BURKHOLDER, W.E. Mating of the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 80, n. 5, p. 578-583, 1987.

WEISSLING, T.J.; GIBLIN-DAVIS, R.M. Fecundity and fertility of *Rhynchophorus cruentatus* (Coleoptera: Curculionidae). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 77, n. 3, p. 373-376, 1994.

WEN, X.; KUANG, Y.; SHI, M.; LI, H.; LUO, Y.; DENG, R. Biology of *Hylobitelus xiaoi* (Coleoptera: Curculionidae), a new pest of slash pine, *Pinus elliottii*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 97, n. 6, p. 1958-1964, 2004.

ZARBIN, P.H.G.; FERREIRA, J.T.B.; LEAL, W.S. Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônios de insetos. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 263-268, 1999.

ZARBIN, P.H.G.; PRINCIVAL, J.L.; SANTOS, A.A.; OLIVEIRA, A.R.M. Synthesis of (S),(+),2,Methyl,4,octanol: Male-specific compound released by sugarcane weevil *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v.15, n.2, p.331-334, 2004.

ZARBIN, P.H.G.; MOREIRA, M.A.B.; HAFTMANN, J.; FRANCKE, W.; OLIVEIRA, A.R.M. Male-specific volatiles released by the Brazilian papaya weevil, *Pseudopiazurus obesus*: Partial identification and evidence of an aggregation pheromone. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 18, n. 5, p. 1048-1053, 2007.

ZARBIN, P.H.G.; ARRIGONI, E.; RECKZIEGEL, A.; MOREIRA, J.; BARALDI, P.; VIEIRA, P. Identification of male specific chiral compound from the sugarcane weevil *Sphenophorus levis*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.29, n.2, p. 377-386, 2003.