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

**Respostas olfativas de *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera:
Curculionidae) aos voláteis do algodoeiro *Gossypium hirsutum* L.**

Milton Fernando Cabezas Guerrero

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

**Piracicaba
2017**

Milton Fernando Cabezas Guerrero
Engenheiro Agrônomo

**Respostas olfativas de *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera:
Curculionidae) aos voláteis do algodoeiro *Gossypium hirsutum* L.**

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ MAURÍCIO SIMÕES BENTO**

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

Piracicaba
2017

SUMÁRIO

RESUMO.....	4
ABSTRACT	5
1 INTRODUÇÃO	7
2 CONSIDERAÇÕES FINAIS	9
REFERÊNCIAS.....	11

RESUMO

Respostas olfativas de *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) aos voláteis do algodoeiro *Gossypium hirsutum* L.

As respostas comportamentais do bicudo-do-algodoeiro aos compostos orgânicos voláteis de plantas em fase vegetativa, plantas com botão floral, botão floral, flor e maçã e plantas em floração do algodoeiro, e a presença dos semioquímicos que responsáveis pela interação inseto-planta foram investigadas neste trabalho. Todos os experimentos foram realizados em condições de laboratório usando insetos criados em dieta artificial e planta cultivadas em casa de vegetação. Bioensaios usando olfatômetro em ípsilon demonstraram que macho são atraídos pelos voláteis das plantas em fase vegetativa e flores, e as fêmeas pelos voláteis das flores e plantas em floração. Ambos os sexos do bicudo-do-algodoeiro não foram atraídos pelos voláteis de planta com botão floral, botão floral e maçã. Compostos voláteis destes tratamentos foram coletados por oito horas e analisados por GC-MS, revelando 13 compostos liberados pelas plantas em floração e 11 nas flores e plantas em fase vegetativa. As plantas em suas respectivas fases de desenvolvimento liberam maiores quantidades de compostos que as flores. As antenas de machos e fêmeas foram eletrofisiologicamente responsivas aos extratos voláteis destes tratamentos, confirmando o mesmo padrão de resposta observado nos bioensaios de olfatometria. Os compostos sintéticos β -caryophyllene e *cis*-3-hexenyl-acetate presentes em maiores quantidades em plantas em floração não foram atrativos para as fêmeas na concentração utilizada nos bioensaios de olfatometria. Os resultados encontrados neste trabalho demonstram que machos e fêmeas exploram os compostos orgânicos voláteis liberados pelas diferentes fases desenvolvimento da planta e pelas flores, aportando assim, com novas evidências sobre a interação entre *A. grandis* e seu principal hospedeiro, *G. hirsutum*, abrindo a possibilidade de realizar novos estudos visando a aplicabilidade de estes semioquímicos no monitoramento e controle deste importante inseto-praga.

Palavras-chave: Ecologia química, semioquímicos, Curculionidae, Compostos orgânicos voláteis, bicudo-do-algodoeiro

ABSTRACT

Olfactory responses of *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) to the volatiles of cotton *Gossypium hirsutum* L.

The behavioral responses of the cotton boll weevil to the volatile organic compounds of plants in the vegetative stage, plants with square, squares, flower, boll and flowering plants of cotton, and the presence of semiochemicals responsible for the insect-plant interaction were investigated in this work. All experiments were carried out in laboratory conditions using insects raised in artificial diet and plant grown under greenhouse conditions. Y-tube olfactometer bioassays showed that male were attracted by volatiles of plants in vegetative phase and flowers, and the females by flowers and flowering plants volatiles. Both sexes of the cotton boll weevil were not attracted by plant with squares, squares and boll volatiles. Volatile compounds of these treatments were collected for eight hours and analyzed by GC-MS, revealing 13 compounds released by flowering plants and 11 by flowers and plants in the vegetative stage. Plants in their respective stages of development release larger amounts of compounds than flowers. Male and female antennae were electrophysiologically responsive to the volatile extracts of these treatments, confirming the same response pattern observed in the olfactory bioassays. The synthetic compounds β -caryophyllene and *cis*-3-hexenyl-acetate present in larger quantities at flowering plants were not attractive for females at the concentration used in Y-tube olfactometer bioassays. The results obtained in this work demonstrate that males and females exploit the volatile organic compounds released by cotton plant at different development stages and by the flowers, thus contributing with new evidence about the interaction between *A. grandis* and their major host plant, *G. hirsutum*, which will serve as support for studies aiming at the applicability of these semiochemicals in the monitoring and control of the cotton boll weevil.

Keywords Chemical ecology, semiochemicals, Curculionidae, Volatile organic compounds, cotton boll weevil.

1 INTRODUÇÃO

A localização de uma planta hospedeira é crucial para que um inseto herbívoro satisfaça suas necessidades nutricionais e encontre locais de oviposição adequados (BRUCE; WADHAMS; WOODCOCK, 2005). Devido à grande diversidade de hospedeiros no ambiente, há insetos herbívoros altamente especializados – que se alimentam de apenas uma, ou de um número limitado de espécies de plantas – e há também os generalistas, que se alimentam de uma ampla gama de plantas de diferentes famílias (BERNAYS; CHAPMAN, 1994).

Determinar a presença e localizar plantas hospedeiras adequadas é uma tarefa que requer um sofisticado mecanismo de detecção (BRUCE; WADHAMS; WOODCOCK, 2005). Este mecanismo é mediado pela integração de diversos estímulos sensoriais, que agem sobre o sistema nervoso central do inseto, incluindo pistas químicas olfativas ou gustativas, e físicas como a cor, a forma e a textura das plantas (BRUCE; WADHAMS; WOODCOCK, 2005). Portanto, um inseto herbívoro deve identificar corretamente os voláteis produzidos pelas plantas no ambiente, para distinguir aqueles produzidos por seus hospedeiros dos não hospedeiros (SCHOONHOVEN; VAN LOON; DICKE, 2005; BRUCE; PICKETT, 2011; BEYAERT; HILKER, 2014).

Estruturas reprodutivas como flores possuem sinais olfativos e visuais que as tornam altamente evidente para os polinizadores, mas isto pode também incrementar sua atratividade para os herbívoros (RÖSE; TUMLINSON, 2004; KNOLHOFF; HECKEL, 2014). A exploração de compostos voláteis de flores já tem sido constatada para insetos fitófagos generalistas (BRUCE; CORK, 2001; PAN et al., 2015; ONDIKA et al., 2016), e especialistas (RIFFELL et al., 2008) para localização de hospedeiros. Voláteis liberados pelos frutos também são descritos como atrativos para insetos fitófagos (ADDESSO; MCAUSLANE; ALBORN, 2011).

O bicudo-do-algodoeiro, uma das principais pragas do algodoeiro, pode ser monitorado usando armadilhas iscadas com o seu próprio feromônio sintético, comercialmente disponível, constituindo uma importante estratégia para determinar o momento apropriado de aplicação química (FONTES et al., 2006). No entanto, quando o algodoeiro atinge seu estado reprodutivo, o número de insetos capturados nas armadilhas iscadas com o feromônio é drasticamente reduzido (RUMMEL; CURRY, 1986).

Compostos orgânicos voláteis (COVs) de plantas de algodoeiro, como os compostos de folhas verdes, e da planta em estados vegetativo e reprodutivo têm sido relatados como atraentes para o *A. grandis* (DICKENS et al., 1990; MAGALHÃES et al., 2012, 2016; SILVA et al., 2015). Entretanto, os resultados não foram conclusivos sobre quais são as pistas químicas que o inseto utiliza para localizar seu hospedeiro, ficando evidente a necessidade de explorar os voláteis liberados pelas estruturas vegetativas e reprodutivas da planta de algodoeiro e com isso abrindo novas perspectivas para compreender a sincronia da chegada do bicudo ao cultivo.

Assim, este trabalho visou investigar as respostas comportamentais de machos e fêmeas do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*, aos compostos orgânicos voláteis das plantas de algodoeiro nas fases vegetativa e em floração, além de suas estruturas reprodutivas, buscando compreender estas interações e permitir à obtenção de novas alternativas para o seu monitoramento e controle.

2 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Machos de *A. grandis* responderam positivamente aos compostos orgânicos voláteis das plantas de algodoeiro em fase vegetativa e flores, seguindo o padrão de forrageamento já descrito na literatura. Por sua vez, as fêmeas foram atraídas pelos voláteis das flores e das plantas em floração (fase reprodutiva). Estas respostas indicaram que estes insetos podem encontrar seus hospedeiros a longas distancias, que existe uma sequência temporal de atração de acordo com o sexo, e que os voláteis correspondentes ao estado fenológico da planta contribuíram de modo significativo nesta resposta.

Neste sentido, houve diferença no perfil de voláteis entre as plantas de algodoeiro nas diferentes fases de desenvolvimento e nas flores. No total foram observados 13 compostos na planta em floração, e 11 na planta em fase vegetativa e também nas flores.

A busca por uma melhor compreensão dos compostos envolvidos na atração de ambos os sexos de *A. grandis* poderá representar um grande avanço para novas alternativas de monitoramento e controle deste inseto no campo. Assim, será possível, por exemplo, detectar a chegada dos primeiros machos na área, ainda na fase vegetativa da cultura, ou mesmo a remoção de fêmeas durante a fase reprodutiva evitando maiores perdas para o algodoeiro.

A indicação de que os voláteis presentes nas flores do algodoeiro, exercem atração aos machos e fêmeas de *A. grandis*, representa um novo conhecimento ainda inexplorado na literatura para este inseto, e isso também poderá representar uma nova linha de investigação, para o entendimento da bioecologia e manejo desta praga.

REFERÊNCIAS

- ADDESSO, K. M.; MCAUSLANE, H. J.; ALBORN, H. T. Attraction of pepper weevil to volatiles from damaged pepper plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 138, n. 1, p. 1–11, 2011.
- BERNAYS, E. A.; CHAPMAN, R. F. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York, NY: Chapman & Hall, 1994.
- BEYAERT, I.; HILKER, M. Plant odour plumes as mediators of plant-insect interactions. **Biological Reviews**, v. 89, n. 1, p. 68–81, 2014.
- BRUCE, T. J. A.; PICKETT, J. A. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects – Finding the right mix. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1605–1611, 2011.
- BRUCE, T. J. A.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. Insect host location: a volatile situation. **Trends in Plant Science**, v. 10, n. 6, p. 269–274, 2005.
- BRUCE, T. J.; CORK, A. Electrophysiological and behavioral responses of female *Helicoverpa armigera* to compounds identified in flowers of african marigold, *Tagetes erecta*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, n. 6, p. 1119–1131, 2001.
- DICKENS, J. C.; JANG, E. B.; LIGHT, D. M.; ALFORD, A. R. Enhancement of insect pheromone responses by green leaf volatiles. **Naturwissenschaften**, v. 77, n. 1, p. 29–31, 1990.
- FONTES, E. M. G.; RAMALHO, F. S.; UNDERWOOD, E.; BARROSO, P. A. V.; SIMON, M. F.; SUJII, E. R.; PIRES, C. S. S.; BELTRÃO, N.; LUCENA, W. A.; FREIRE, E. C. The cotton agricultural context in Brazil. In: HILBECK, A.; ANDOW, D.; FONTES, E. M. G. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms. Volume 2: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford, UK.: CABI Publishing, 2006. p. 21–26.
- KNOLHOFF, L. M.; HECKEL, D. G. Behavioral assays for studies of host plant choice and adaptation in herbivorous insects. **Annual Review of Entomology**, v. 59, n. 1, p. 263–278, 2014.
- MAGALHÃES, D. M.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; SUJII, E. R.; MAYON, P.; CAULFIELD, J. C.; MIDEGA, C. A. O.; KHAN, Z. R.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Semiochemicals from herbivory induced cotton plants enhance the foraging behavior of the cotton boll weevil, *Anthonomus grandis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, n. 12, p. 1528–1538, 2012.
- MAGALHÃES, D. M.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; WOODCOCK, C. M.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Influence of two acyclic homoterpenes (tetranorterpenes) on the foraging behavior of *Anthonomus*

grandis Boh. **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, n. 4, p. 305–313, 2016.

ONDIKA, S.; MIGIRO, L.; RUR, M.; BIRGERSSON, G.; PORCEL, M.; RÄMERT, B.; TASIN, M. Sunflower as a trap crop for the European tarnished plant bug (*Lygus rugulipennis*). **Journal of Applied Entomology**, v. 140, n. 6, p. 453–461, 2016.

PAN, H.; LU, Y.; XIU, C.; GENG, H.; CAI, X.; SUN, X.; ZHANG, Y.; III, L. W.; WYCKHUYS, K. A. G.; WU, K. Volatile fragrances associated with flowers mediate host plant alternation of a polyphagous mirid bug. **Scientific Reports**, v. 5, n. 14805, p. 1–11, 2015.

RIFFELL, J. A.; ALARCON, R.; ABRELL, L.; DAVIDOWITZ, G.; BRONSTEIN, J. L.; HILDEBRAND, J. G. Behavioral consequences of innate preferences and olfactory learning in hawkmoth – flower interactions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 9, p. 3404–3409, 2008.

RÖSE, U. S. R.; TUMLINSON, J. H. Volatiles released from cotton plants in response to *Helicoverpa zea* feeding damage on cotton flower buds. **Planta**, v. 218, n. 5, p. 824–832, 2004.

RUMMEL, D. R.; CURRY, G. L. Dinâmica populacional e níveis de dano econômico. In: BARBOSA, S.; LUKEFARH, M. J.; SOBRINHO, R. B. (Ed.). **O Bicudo do Algodoeiro**. Brasília, DF: EMBRAPA DDT, (Documentos, 4), 1986. p. 201–220.

SCHOONHOVEN, L. M.; VAN LOON, J. J. A.; DICKE, M. **Insect-Plant Biology**. 2nd. ed. Oxford, UK: Oxford University Press, 2005.

SILVA, J. B.; SILVA-TORRES, C. S. A. A.; MORAES, M. C. B.; TORRES, J. B.; LAUMANN, R. A.; BORGES, M. Interaction of *Anthonomus grandis* and cotton genotypes: biological and behavioral responses. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 156, n. 3, p. 238–253, 2015.