

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**PERCEPÇÃO QUÍMICA DE *Grapholita molesta* (BUSCK, 1916)  
(LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) AO FEROMÔNIO SEXUAL E A VOLÁTEIS  
DE PLANTAS HOSPEDEIRAS**

**Deisi Luizelli Altafini  
Bióloga (PUCRS)**

**Dissertação apresentada como um dos  
requisitos à obtenção do Grau de  
Mestre em Fitotecnia  
Área de Concentração Fitossanidade**

**Porto Alegre (RS), Brasil  
Março de 2008**

**(Página de homologação e ficha cartográfica: a serem inseridos)**

*À memória de minha querida avó Maria Dora, que sempre me deu exemplo de força, além de muito amor e ternura. Aos meus pais, Rinaldo e Naia, que por toda minha vida me incentivaram nos estudos e fizeram sentir amada. Aos meus queridos irmãos Naira, Daniel, Luciana e Leonardo, meus companheiros. Ao meu amor, Fabrício, que me apoiou e animou em todos os momentos, fazendo tudo parecer mais leve.*

*Com amor,*

*Dedico*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Dr. Josué Sant’Ana, primeiramente, por ter acreditado em mim e ter me permitido a honra desta parceria. Por toda paciência, dedicação, pelos valiosos ensinamentos e pela amizade que guardo com muito carinho.

À minha querida co-orientadora (minha “Co”), Dra. Luiza Rodrigues Redaelli, por ter se disposto a me ajudar nesta empreitada no “mundo da ecologia química de insetos”, por todos os incentivos e contribuições, com os quais aprendi muito. E principalmente, pela amizade.

Aos colegas que fazem parte da equipe do BIOECOLAB ou já fizeram, Aline, Alessandro, Caio, Diogo, Ester, Eduardo, Fernando, Gabriel, Luidi, Patrícia, Paula, Rafael L., Rafael M., Ricardo, Roberta, Rodrigo (Pedrinho), Rogério, Rosana, Sílvia, Thiago, e às professoras Ana Paula e Simone, por toda ajuda que recebi na execução do meu trabalho, pelo apoio, pela chance de aprendermos juntos, pelas palavras de estímulo e por tantos momentos de alegria que passamos.

Ao Rafael Lorscheiter, pela disposição e bom humor com que sempre me ajudou para que a realização dos experimentos fosse possível.

Aos colegas Caio e Ricardo, em especial, pela paciência e disposição em responder minhas dúvidas e atender a tantos pedidos de socorro e, em especial, pela amizade tão sincera.

À minha querida amiga Aline, a “Gringa”, por ter me iluminado nestes dois anos com todo seu entusiasmo e alegria de viver, pelas trocas de idéias durante este caminho do mestrado em que fomos companheiras, e pela profunda amizade.

À minha linda amiga Rosana, minha “Pequena”, que tem um coração enorme, sempre disposta a me acolher, seja com palavras ou na sua casa. Pela amizade, carinho, e alegria que me transmitiu.

Aos meus amados pais, por todas as apostas que fizeram em mim, me permitindo os benefícios do estudo e por toda assistência desde sempre. Acima de tudo, por todo amor, atenção e felicidade que me permitem por fazerem parte da minha vida.

Aos meus irmãos, queridos, amados, Naira, Daniel, Lu e Leo, por me acompanharem nas minhas escolhas e meus caminhos, pelo amor e amizade, pela certeza de que seremos eternos companheiros.

À minha sogra, Janete, e seu esposo, Marcelo, pelo acolhimento, carinho e amizade, em todos os momentos.

Às minhas sobrinhas lindas, Bibiana e Melissa, por serem estas princesas que me dão muita felicidade.

À minha paixão, meu parceiro, Fabrício, pela paciência e pela dedicação a mim. Por todas as demonstrações de carinho, ajudas, incentivos, apoio e, principalmente, por compartilhar comigo este amor tão especial.

Aos amigos Fabrício Naciuk e Luiz Antônio Mazzini da CIENTEC, pela colaboração na elaboração dos extratos de planta e diluições feromonais que permitiram a execução deste trabalho.

Ao CNPq, pela bolsa de estudos e pela oportunidade concedida.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta pesquisa ou, simplesmente, para me fazer feliz, alcançando meus objetivos.

**PERCEPÇÃO QUÍMICA DE *Grapholita molesta* (BUSCK, 1916)  
(LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) AO FEROMÔNIO SEXUAL E A VOLÁTEIS  
DE PLANTAS HOSPEDEIRAS<sup>1</sup>**

Autora: Deisi Luizelli Altafini

Orientador: Josué Sant'Ana

Co-orientadora: Luiza Rodrigues Redaelli

**RESUMO**

A mariposa-oriental, *Grapholita molesta* (Lep.: Tortricidae), se destaca como uma das principais pragas das culturas de rosáceas no Brasil. Durante a alimentação, as lagartas fazem galerias em brotos, ramos e frutos, prejudicando a produção comercial destes. Este trabalho teve como objetivo estudar a influência de voláteis de plantas hospedeiras e de fatores fisiológicos dos insetos na percepção química e no comportamento quimiotáxico da espécie, visando à otimização do monitoramento e do controle comportamental da praga. Foram avaliadas as respostas eletroantegráficas (EAG) e quimiotáxicas (olfatometria) de machos ao feromônio sexual sintético em diferentes idades, virgens e não virgens, e alimentados ou em jejum. No estudo da interação dos insetos com os voláteis de planta, foram elaborados extratos de broto, fruto verde e fruto maduro de macieira (*Malus domestica*, var. Gala) e pessegueiro (*Prunus persicae*, var. Chiripá), utilizados como estímulo sobre ambos os sexos, alimentados ou não, em EAG. O comportamento quimiotáxico em resposta ao extrato de broto de pessegueiro (EBP) foi observado em fêmeas e machos virgens e fêmeas não virgens. O efeito da interação entre o feromônio e os voláteis de planta hospedeira foi avaliado em machos. As respostas eletroantegráficas, em machos, não diferiram significativamente para os todos os fatores avaliados. No entanto, o comportamento quimiotáxico dos machos parece diminuir com o avanço da idade, sem variar em função do status de cópula ou da alimentação. A percepção eletrofisiológica de machos e fêmeas aos voláteis de planta não variou com a condição alimentar. Para ambos os sexos, o extrato de broto de pessegueiro foi o que gerou as maiores respostas eletrofisiológicas. O comportamento quimiotáxico ao EBP tende a ser maior em fêmeas não virgens. Na percepção eletrofisiológica houve efeito aditivo entre o atraente sexual e o EBP em antenas de machos. No entanto, os resultados comportamentais não corroboraram o observado em eletroantegráfia. O conhecimento da interferência destes fatores em *G. molesta*, poderá auxiliar na interpretação dos resultados provenientes do campo, possibilitando maior adequação e confiabilidade na utilização do controle comportamental com o uso de infoquímicos.

---

<sup>1</sup>Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (65p.) Março, 2008.

**CHEMICAL PERCEPTION OF *Grapholita molesta* (BUSCK, 1916)  
(LEPIDOPTERA, TORTRICIDAE) TO SEXUAL PHEROMONE AND HOST  
PLANT VOLATILES<sup>1</sup>**

Author: Deisi Luizelli Altafini  
Advisor: Josué Sant'Ana  
Co-advisor: Luiza Rodrigues Redaelli

**ABSTRACT**

The oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lep.: Tortricidae), stands out as one of the most important pest in Rosaceae orchards in Brazil. During feeding, caterpillars bore into shoots, branches and fruits, impairing the commercial production. This work aimed to study the influence of the host plant volatiles and physiological factors in the chemical perception and in the species chemotactic behavior, seeking to optimize monitoring and the behavioral control of this pest. Were evaluated male electroantennographical (EAG) and chemotactical (olfactometry) responses to the synthetic sexual pheromone in different ages, virgins or mated and fed or unfed. In the study of insect interaction with plant volatiles, were elaborated extracts of shoots and of ripe and unripe fruits of apple trees (*Malus domestica*, Gala cv.) and peach trees (*Prunus persicae*, Chiripá cv.), employed as stimuli upon both sexes, fed or not, in EAG. The chemotactical behavior in response to the peach tree shoots (PSE) extract was observed in virgins females and males, and mated females. The effect of interaction between pheromone and the host plant volatiles was evaluated for males. The electroantennographical responses of males did not differed significantly for all physiological evaluated factors. Nevertheless, the chemotactical behavior of males seems to decrease with ageing, not varying as a function of mating or feeding conditions. The electrophysiological perception of males and females to the plant volatiles did not varied with feeding status. For both sexes, peach tree shoot extract was the one that elicited the stronger electrophysiological responses. The chemotactical behavior to PS shows a tendency to be higher in mated females. In the electrophysiological perception, was noticed an additive effect between the sexual attractant and the PSE in males antennae. However, the behavioral results did not corroborate those obtained by electroantennography. The knowledge about the interference of these factors in *G. molesta*, may help to interpret the field results, allowing a better adequation and reliability of infochemicals in the behavioral control.

---

<sup>1</sup>Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (65p.) March, 2008.

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2.1 Culturas de pessegueiro e macieira.....	03
2.2 <i>Grapholita molesta</i> (Lepidoptera: Tortricidae).....	05
2.2.1 Distribuição geográfica.....	05
2.2.2 Aspectos morfológicos e biológicos.....	06
2.2.3 Comportamento alimentar e danos.....	08
2.2.4 Comportamento reprodutivo e comunicação química.....	09
2.2.5 Monitoramento e controle.....	10
2.3 Fatores envolvidos na percepção olfativa.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Criação de <i>Grapholita molesta</i> .....	18
3.2 Obtenção dos infoquímicos.....	19
3.2.1 Feromônio.....	19
3.2.1.1 Teste de sensibilidade.....	19
3.2.2 Voláteis de planta.....	20
3.3 Bioensaios eletroantenográficos.....	21
3.4 Bioensaios comportamentais.....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1 Bioensaios relativos ao feromônio sexual sintético.....	29
4.1.1 Influência da idade na percepção ao feromônio.....	30
4.1.2 Influência da condição alimentar na percepção ao feromônio	34
4.1.3 Influência do status de cópula na percepção ao feromônio....	38
4.2 Bioensaios relativos aos voláteis de plantas.....	41



4.2.1	Influência do hospedeiro na percepção química de adultos....	41
4.2.2	Influência do status de cópula na percepção química de fêmeas.....	46
4.2.3	Influência da idade na percepção química de fêmeas.....	49
4.2.4	Influência da condição alimentar na percepção química de adultos.....	50
4.2.5	Influência da interação com feromônio na percepção química de machos.....	50
5.	CONCLUSÕES.....	55
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

## RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$ erro padrão), em milivolts (mV), de machos de <i>Grapholita molesta</i> , de diferentes idades, ao feromônio sexual e ao solvente hexano (controle).....	30
2. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$ erro padrão), em milivolts (mV), de machos de <i>Grapholita molesta</i> ao feromônio sexual e ao solvente hexano (controle), em função da sua condição alimentar (n= 15).....	34
3. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$ erro padrão), em milivolts (mV), de machos de <i>Grapholita molesta</i> , virgens e não virgens, ao feromônio sexual e ao solvente hexano (controle) (n = 15).....	37
4. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$ erro padrão), em milivolts (mV), de fêmeas virgens e não virgens de <i>Grapholita molesta</i> , de diferentes idades, aos voláteis emitidos pelo extrato etanólico de broto de pessegueiro (n = 10).....	48

## RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Estágios de desenvolvimento de <i>Grapholita molesta</i> : A) ovos na superfície da gaiola de criação, B) lagarta, C) crisálida e D) adulto. Escala igual a um milímetro.....	07
2. Criação de <i>Grapholita molesta</i> : A) gaiola de criação e B) recortes da gaiola de criação sobre dieta artificial.....	19
3. Eletroanténografo: A) eletrodo, em detalhe, B) pré-amplificador de sinal elétrico, C) controlador de aquisição de dados e D) controlador de fluxo de ar.....	22
4. Olfatómetro “Y” de dupla escolha: A) vista geral, B) inseto em tubo de vidro na abertura da arena e C) papel filtro dentro de um dos braços do olfatómetro.....	27
5. Médias das respostas eletroanténográficas (EAG), em milivolts (mV), de machos de <i>Grapholita molesta</i> às somas das massas de seis diferentes doses da mistura feromonal dos isômeros Z- e E-8-acetato de dodecenila (10:1). Doses (ng) em ordem crescente, relativas aos pontos da curva: 4,875; 48,75; 487,5; 4.875; 48.750 e 487.500. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si (P < 0,05).....	30
6. Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de machos de <i>Grapholita molesta</i> com 1 (n=30), 5 (n=32), 10 (n=30) e 15 (n=30) dias de idade ao feromônio sexual, em olfatómetro “Y.” Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.....	34
7. Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de machos de <i>Grapholita molesta</i> , alimentados (n=32) e não-alimentados (n=30), ao feromônio sexual em olfatómetro “Y”. Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.....	37
8. Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de machos de <i>Grapholita molesta</i> , não virgens (n=42) e virgens (n=32), ao feromônio sexual em olfatómetro “Y”. Números dentro	

das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.....	38
9. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$ erro padrão), em milivolts (mV), de fêmeas de <i>Grapholita molesta</i> (n=15) a voláteis de diferentes extratos etanólicos de plantas hospedeiras: EBM = broto de macieira; EMM = maçã madura; EMV = maçã verde; EBP = broto de pessegueiro; EPM = pêssego maduro; EPV = pêssego verde. Barras seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P < 0,05$ ).....	42
10. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$ erro padrão), em milivolts (mV), de machos de <i>Grapholita molesta</i> (n=15) a voláteis de diferentes extratos etanólicos de plantas hospedeiras: EBM = broto de macieira; EMM = maçã madura; EMV = maçã verde; EBP = broto de pessegueiro; EPM = pêssego maduro; EPV = pêssego verde. Barras seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P < 0,05$ ).....	43
11. Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de fêmeas de <i>Grapholita molesta</i> , não virgens (n=30) e virgens (n=30), ao extrato etanólico de broto de pessegueiro (EBP), em olfatômetro “Y”. Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.....	47
12. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$ erro padrão), em milivolts (mV), de machos de <i>Grapholita molesta</i> (n=15) ao feromônio sexual, ao extrato etanólico de broto de pessegueiro, ou a combinações destes. A = extrato de broto de pessegueiro (EBP); B = feromônio; C = feromônio + 5 $\mu$ L de EBP; D = feromônio + 7,5 $\mu$ L de EBP. Barras seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P < 0,01$ ).....	51
13. Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de machos de <i>Grapholita molesta</i> ao extrato etanólico de broto de pessegueiro (EPB) (n=30), ao feromônio sexual (n=32) e a interação destes dois (n=30), em olfatômetro “Y”. Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.....	52

## 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas vem crescendo na sociedade, nos meios científicos e políticos, a preocupação com os rumos do desenvolvimento, ganhando força a noção do desenvolvimento sustentável. Esta idéia adquire grande importância quando relacionada à agricultura, pois é da associação entre a produção de alimentos, a preservação dos recursos naturais e do bem estar social que depende grande parte do futuro da humanidade. Sendo assim, para que se possa estabelecer um novo modelo de desenvolvimento agrícola, é necessário fazer uma reavaliação a respeito das estratégias convencionais até hoje empregadas, em contraste à nova visão de agricultura direcionada ao estabelecimento de uma produção agrícola sustentável. Um exemplo efetivo da “insustentabilidade” dos agroecossistemas está diretamente relacionado ao controle de insetos fitófagos.

A mariposa-oriental, *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae), é uma das principais pragas das culturas da macieira e do pessegueiro no Brasil. O controle deste inseto tem sido realizado, principalmente, através do emprego de inseticidas sintéticos, com ênfase nos fosforados, o que resulta em riscos sobre a saúde dos aplicadores, e na possibilidade de retenção de resíduos tóxicos nos frutos e no ambiente.

Na agricultura atual, é fundamental o desenvolvimento de táticas que aprimorem não somente o monitoramento, mas o controle de pragas, através do emprego de métodos que eliminem ou reduzam o uso de agrotóxicos,

adequando-se, desta forma, às exigências estabelecidas pelas normas da Produção Integrada.

A utilização dos feromônios sexuais sintéticos como uma ferramenta para monitoramento e controle, por meio da técnica de confusão sexual de populações da mariposa-oriental, já é uma prática adotada em diversos pomares brasileiros.

Para que o uso de feromônios seja aprimorado e ampliado, são necessários estudos que busquem maior compreensão a respeito da biodinâmica destes atraentes e de possíveis efeitos aditivos ou sinérgicos com voláteis de plantas. Trabalhos desta natureza podem elucidar as influências das características fisiológicas do inseto, bem como, de fatores fenológicos da planta hospedeira, na ocorrência, distribuição e flutuação populacional da mariposa-oriental. O conhecimento da interferência destes fatores poderá auxiliar na interpretação dos resultados provenientes do campo, possibilitando maior adequação e confiabilidade na utilização do controle comportamental com o uso de infoquímicos, colaborando, em última análise, na viabilização e no uso racional desta ferramenta em agroecossistemas.

Neste contexto, esta dissertação teve como objetivo estudar a influência da idade, do status de cópula e da condição alimentar, bem como, da atividade de voláteis da planta hospedeira, na percepção química de *G. molesta*, no sentido de aprimorar os conhecimentos a respeito da biodinâmica de feromônios e cairomônios nesta espécie.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Culturas de pessegueiro e macieira

A fruticultura vem assumindo uma importância cada vez maior no Rio Grande do Sul, estando presente em todas as regiões do estado. As diferentes condições climáticas e de solos permitem a instalação de uma ampla diversidade de espécies, de modo que se torna possível cultivar tanto as frutas de clima temperado, como as tropicais (Emater, 2004). Dentre as espécies cultivadas, as da família Rosaceae, tais como o pessegueiro e a macieira, merecem destaque tanto pela produção de frutos para consumo *in natura*, quanto para exportação.

Em relação ao comércio das frutas de caroço, o pessegueiro é a cultura de maior expressão mundial (Biasi *et al.*, 2004). O Brasil destaca-se na produção comercial de pêssegos, tendo alcançado a marca de mais de 199 mil toneladas colhidas na safra de 2006, em uma área de cultivo distribuída em 22.453 hectares (Sidra, 2008). O abastecimento nacional provém de cinco pólos de produção: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Minas Gerais (Mandail, 1998; Embrapa, 2005).

O Rio Grande do Sul é o principal produtor de pêssegos, representando 43,51% do volume nacional, concentrado numa área de 14.706 hectares, sendo grande parte desta produção destinada para o consumo *in natura*. No estado existem três regiões de produção: região da metade sul, que compreende 29 municípios e concentra mais de 90% da produção, a qual destina-se ao

processamento industrial; região da grande Porto Alegre, composta por nove municípios, que produz parte da oferta de pêssegos para consumo *in natura*; e a região da serra gaúcha, com 32 municípios fornecedores dos frutos de mesa (Embrapa, 2003; Sidra, 2008).

Na região da serra do Rio Grande do Sul, nos municípios como Bento Gonçalves, Caxias do Sul, Farroupilha, Flores da Cunha e Veranópolis, o pessegueiro é cultivado em áreas de, em média, dois hectares, por agricultores que utilizam mão-de-obra familiar e que têm na cultura, grande parte da renda anual da propriedade (Embrapa, 2003).

Alguns cultivares de pessegueiro apresentam um melhor potencial de adaptação às condições da serra, destacando-se Chiripá, Chimarrita e Marli, nos quais a maior parte da produção se estabelece (Embrapa, 2003).

No cultivo de macieiras, o Brasil possui uma área de 36.107 hectares, que resultou numa produção de 863.019 toneladas na safra de 2006 (Sidra, 2008). A maçã é a fruta de clima temperado mais importante comercializada *in natura*, tanto no contexto internacional quanto no brasileiro (Mello, 2004).

A produção brasileira de maçã está concentrada na região sul, que foi responsável por 99,56% do total da safra de 2006 (Sidra, 2008). No Rio Grande do Sul, a área de cultivo abrange 15.260 hectares (Sidra, 2008), e os municípios de maior produção, na safra 2006/2007, foram Vacaria (215 mil t), Caxias do Sul (54 mil t) e Bom Jesus (42 mil t) (Agapomi, 2007). Os cultivares de maior importância econômica nestas regiões são: Gala, Fuji e Golden Delicious. A cultivar Gala é a primeira a ser colhida, em fevereiro, e representou na safra gaúcha de 2006/2007 60,9% da produção total; a Fuji, cuja colheita se dá em abril, participou com 32,91% e a Golden Delicious, colhida em março, representou



0,46%, sendo os 5,73% restantes compostos por outros cultivares (Mello, 2004; Agapomi, 2007).

Alguns fatores restringem a expansão da produção dos frutos, dentre estes, o fato de serem frutas altamente perecíveis, com pouca possibilidade de conservação após a maturação, e dependentes de uma eficiente estrutura de armazenamento. Para o aumento da produtividade, ainda é necessário a utilização de métodos mais econômicos e racionais de produção, sobretudo os que dizem respeito à poda e condução das plantas. Com o melhoramento genético já foram obtidas diversas variedades produtivas e de grande aceitação no mercado. No entanto, ainda é necessária a utilização de agrotóxicos para combater insetos e patógenos, aumentando o custo de produção e os danos ambientais (Biasi *et al.*, 2004).

As culturas da macieira e do pessegueiro estão sujeitas ao ataque de diversos insetos-praga, dentre os quais, se destaca a mariposa-oriental ou broca-dos-ponteiros, *Grapholita molesta* (Salles, 2001).

## **2.2 *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae)**

### **2.2.1 Distribuição geográfica**

A espécie *G. molesta* tem como centro de origem o continente asiático (Gonzalez, 1989), sendo, em 1900, já considerada importante praga no Japão e Austrália (Reichart & Bondor, 1972) e, em 1913, registrada nos Estados Unidos da América (Rice *et al.*, 1982). Na região do Mediterrâneo, foi constatada em 1920, alcançando a Áustria em 1951, a Iugoslávia em 1952 e a Hungria em 1966 (Besson & Joly, 1976). Atualmente, a mariposa-oriental é praga de importância primária em toda a Europa, principalmente nos países ao sul. No Brasil, foi

registrada primeiramente no Rio Grande do Sul, em 1929 (Silva *et al.*, 1962), de onde se expandiu para os demais estados.

Hoje, a mariposa-oriental é considerada uma praga cosmopolita, presente em diversas regiões agrícolas do mundo, onde se cultivam espécies frutíferas da família Rosaceae, seus principais hospedeiros (Salles, 2001). No Brasil, ocorre principalmente no centro-sul do país, região produtora de pêssego (Salles, 1998) e maçã (Mello, 2004).

### **2.2.2 Aspectos morfológicos e biológicos**

Os adultos de *G. molesta*, cujos hábitos são crepusculares, possuem cerca de 12 mm de envergadura, coloração pardo-escuro-acizentada, com algumas estrias de cor branca (Monteiro & Hickel, 2004) (Figura 1 D). A longevidade média das fêmeas é de 16,18 dias, enquanto, a de machos, é de 14,08 dias (Alfonso & Marin, 2004). Os ovos são diminutos, com cerca de 0,7 mm de diâmetro (Figura 1 A) e colocados isoladamente sobre a planta. Possuem formato de discos, ligeiramente convexos e esbranquiçados, dificultando, deste modo, sua visualização (Monteiro & Hickel, 2004). A postura é feita, preferencialmente, na face inferior das folhas novas, nas brotações e nos frutos, com um período de incubação que varia de 2 a 6 dias (Grellmann, 1991).

As lagartas recém-eclodidas são branco-acinzentadas com cabeça preta até os três primeiros instares, tornando-se branco-rosadas nos dois últimos, quando atingem de 12 a 14 mm de comprimento (Figura 1 B). As pupas ficam envoltas em casulos de seda e, geralmente, permanecem em fendas das cascas dos troncos e ramos, no pedúnculo dos frutos ou em detritos do solo, sob a copa da planta. Apresentam coloração amarelo-acastanhada e medem

aproximadamente 6 mm de comprimento (Salles, 2001; Monteiro & Hicel, 2004) (Figura 1 C).

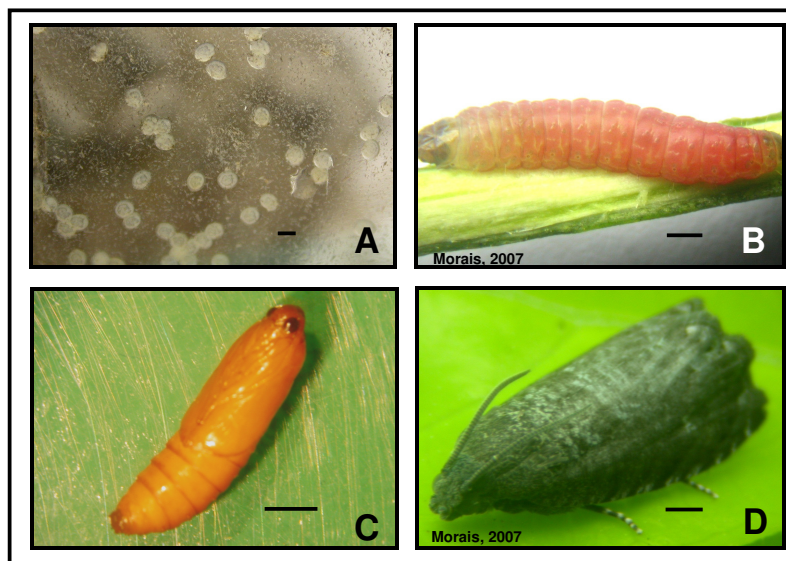


FIGURA 1. Estágios de desenvolvimento de *Grapholita molesta*: A) ovos na superfície da gaiola de criação, B) lagarta, C) crisálida e D) adulto. Escala igual a um milímetro.

O período larval, em laboratório, tem a duração de 11 a 36 dias e a fase de pupa, normalmente, de 6 a 14, resultando num ciclo de vida de 19 a 56 dias (Grellmann, 1991). Arioli (2007) afirma que, em dieta artificial, o desenvolvimento de uma geração (ovo-pupa) leva 39,22 dias, ocorrendo aproximadamente, 10,7 gerações/ano. A duração de cada estágio depende basicamente da temperatura, havendo assim, uma relação inversa entre esta e o número de dias para completar o ciclo de vida. Em condições desfavoráveis de fotoperíodo, *G. molesta* pode entrar em diapausa (Poltronieri *et al.*, 2008).

O desenvolvimento da mariposa-oriental é paralisado com temperaturas abaixo de 9°C, sendo esta, sua temperatura base (Grellmann, 1991).

A atividade dos adultos também é dependente da temperatura, sendo necessário, no mínimo, 16°C para que ocorra o comportamento de vôo. No Rio

Grande do Sul, a atividade de vôo inicia em meados de setembro e ocorre até o final de abril, podendo haver sete gerações anuais (Salles, 2001).

### **2.2.3 Comportamento alimentar e danos**

Os danos de *G. molesta* são decorrentes do hábito alimentar da fase larval, que consome os brotos, ramos e frutos (Salles, 2001).

A lagarta perfura os brotos novos e pouco lignificados, ou o pecíolo da folha, migrando para os ramos principais, onde constrói galerias, através do consumo da parte interna do ramo, provocando murchamento e deformações (Grellmann *et al.*, 1992). Ocorre ainda o secamento do ponteiro e exsudação de goma resinosa, pelo orifício de entrada da lagarta, caracterizando o dano (Lorenzato, 1988). Para as plantas jovens, durante a primeira e a segunda brotação, estes danos tornam-se ainda mais relevantes, por provocarem perda na dominância apical do ramo, devido à emissão de brotações laterais, o que prejudica a arquitetura da planta (Monteiro & Hickel, 2004).

Nos frutos, as lagartas penetram principalmente na área da base, próximo à cavidade peduncular, formando uma galeria em direção ao centro, em torno do caroço (Embrapa, 2005). No entanto, a infestação pode ocorrer inicialmente em outras partes do fruto, conforme foi evidenciado por Rosenthal & Loeck (1994), os quais registraram em frutos de pêsego caídos no solo, 18% com o ataque de lagartas de *G. molesta* no pedicelo e apenas 4% na epiderme do fruto. Já nos frutos colhidos diretamente da planta, o ataque foi na mesma proporção (14%), em ambas as partes. Normalmente, observa-se uma só lagarta por fruto, mas eventualmente podem ocorrer duas. A galeria resultante da alimentação destas, contém excrementos envoltos em fios de seda e aderidos a uma goma de resina (Embrapa, 2005). Devido aos danos provocados, os frutos ficam murchos e caem

prematuramente, tornando-se inviáveis para a comercialização (Monteiro & Hickel, 2004).

De acordo com Salles (1998) as lagartas de *G. molesta* atacam pêssegos verdes ou em vias de maturação, mas não maduros. Souza *et al.* (2000) em estudo realizado em Caldas, Minas Gerais, observaram que os danos em ramos e frutos de pessegueiro ocorrem em épocas distintas, ligados ao estágio fenológico da planta mais propício para o desenvolvimento do inseto. Estes períodos correspondem à fase de brotação dos ramos e início da maturação dos frutos. Os autores observaram ainda, variação na intensidade de ataque para ambos os locais alvos da espécie, sendo os frutos mais atingidos que os ramos, com 21,6 e 19,4% de ataque, respectivamente. A suscetibilidade ao ataque de pragas também pode variar entre os cultivares. Segundo Afonso (2001), Chimarrita é um dos cultivares de pêssego de mesa mais atacados por *G. molesta*.

Na macieira, a lagarta ataca os brotos e broqueia os frutos causando deformações e maturação irregular (Gallo *et al.*, 2002). A estes danos ainda somam-se aqueles provocados por fungos e outros insetos que se instalam nas lesões produzidas pela praga. O dano, quando presente, indica que a população já está estabelecida, sendo esta de difícil controle, visto que as lagartas encontram-se protegidas dentro dos brotos, ramos e frutos (Souza *et al.*, 2000).

#### **2.2.4 Comportamento reprodutivo e comunicação química**

O comportamento reprodutivo de *G. molesta* envolve um complexo de sinais e respostas correspondentes, sendo este um diálogo químico entre o chamado da fêmea e a resposta do macho.

A corte inicia-se quando a fêmea receptiva ao acasalamento atrai o macho através da liberação de feromônio (*Z*- e *E*-8-acetato de dodecenila), que induz a

uma resposta comportamental deste. Esta resposta é caracterizada, inicialmente, por vibrações contínuas das asas, curvatura do abdome para cima e para baixo e curtos saltos ou vôos (Dustan, 1964). Inclui ainda, a exibição de tufos de pêlos presentes no final do abdome do macho. Estes pêlos têm um papel importante no aceite para cópula, pois estimulam química e visualmente a fêmea a uma distância de 1 a 2 cm (Baker & Cardé, 1979).

Algumas tentativas, por um ou mais machos, são geralmente necessárias antes da cópula. Normalmente, ocorre a transferência de apenas um espermatóforo por cópula. Deste modo, quando examinada a *bursa copulatrix*, tem-se uma avaliação do número de vezes que ocorreu acasalamento. O sucesso reprodutivo é geralmente verificado em maior número nas mariposas que mantêm um tempo de cópula mais longo, podendo este variar de um a 29,3 minutos. A maioria dos acasalamentos se dá no período entre o final da fotofase e o início da escotofase. Assim, de modo geral, o período de acasalamento coincide com o vôo diário e o período de deposição dos ovos. Mesmo nas primeiras horas após a emergência, machos e fêmeas podem acasalar com sucesso. Durante a primeira semana de vida, copulam, em média, uma vez por dia, sendo as fêmeas virgens preferidas para cópula (Dustan, 1964).

### **2.2.5 Monitoramento e controle**

Nas técnicas de monitoramento e controle é comum o uso de infoquímicos, os quais são definidos como substâncias químicas que mediam a interação entre indivíduos, provocando no receptor um comportamento ou uma resposta fisiológica. Estas substâncias podem ter ação intra (feromônios) ou interespecífica (aleloquímicos), sendo de vital importância na reprodução da maioria das espécies de insetos (Dicke & Sabelis, 1988).

O feromônio sexual sintético é a principal ferramenta utilizada por produtores para o monitoramento de adultos de *G. molesta* no campo. A especificidade dos compostos feromonais se dá, principalmente, devido às diferenças estruturais e/ou das proporções destes (Corrêa & Sant'Ana, 2007). *Grapholita molesta* tem como principais componentes de sua mistura feromonal as substâncias *Z*- e *E*-8-acetato de dodecenila, numa proporção aproximada de 12:1, respectivamente (Linn *et al.*, 1991).

Para o monitoramento da mariposa-oriental, a armadilha é mantida no pomar do início da brotação até a colheita, instalada a uma altura de 1,7 m do nível do solo, em local livre de ramos que possam interferir na captura dos insetos. O controle da praga é direcionado aos períodos de vôo, estabelecendo-se, como nível de controle, a captura de 20 machos/armadilha/ semana (Embrapa, 2003).

Após o monitoramento, são efetuados métodos de controle para a praga, dentre estes, o controle químico. No Brasil, estão registrados para o controle da *G. molesta*, junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, inseticidas com os seguintes ingredientes ativos: álcool laurílico, parationa-metílica, deltametrina, fosmete, fentiona, malationa, fenitrotona e triclorfom (Agrofit, 2008). O controle com inseticidas também pode ser integrado à armadilha contendo feromônio sexual (Pitfall), onde os machos são atraídos e mortos.

A técnica de confusão sexual, é outra alternativa no controle de *G. molesta* e consiste na liberação de uma grande quantidade de feromônio sexual no pomar, o que dificulta a orientação do macho na busca de parceiras para o acasalamento. Não se conhece exatamente como a orientação do inseto é comprometida nesta técnica. No entanto, sabe-se que os órgãos receptores dos

machos tornam-se muitas vezes insensíveis quando expostos a altas dosagens do feromônio sintético. Esta insensibilidade, deve-se à saturação dos receptores nervosos olfativos que podem entrar em um processo de adaptação ou habituação, não mais percebendo o estímulo. Entre os machos, existe uma competição pelos pontos de liberação do composto e uma desorientação na linha de vôo, devido ao número excessivo de trilhas feromonais no campo, impedindo o encontro com as fêmeas e, conseqüentemente, reduzindo ou impedindo o desenvolvimento de novas gerações da praga no campo (Cardé & Minks, 1995).

Alguns estudos já demonstram a eficácia desta metodologia no controle de tortricídeos, em diferentes culturas. Em pomares de pessegueiro, no município de Pelotas, RS, Salles & Marini (1989) testaram o uso da confusão sexual como medida de controle de *G. molesta*, e observaram que houve uma redução significativa da população e dos danos nos ponteiros e frutos. Kovanci *et al.* (2005) constataram, com esta técnica, em pomares de macieira, a redução populacional desta mesma espécie. Arioli (2007) observou que a aplicação de 1kg/ha, das formulações SPLAT Grafo® e SPLAT Cida Grafo®, nas cultivares Gala e Fugi, promoveram redução significativa de machos da mariposa oriental em armadilhas de monitoramento, quando comparados às áreas sem aplicação.

### **2.3 Fatores envolvidos na percepção olfativa**

Para alcançar sucesso no método de monitoramento e controle comportamental, é necessário o conhecimento não só da efetividade de substâncias atrativas, mas também das características fisiológicas do inseto alvo que estão envolvidas no processo de emissão e percepção do odor (Bento, 2001).



A idade, o status de cópula e a condição alimentar dos insetos são fatores que podem estar relacionados à percepção química e ao comportamento de vôo de machos (Lima & Della Lucia, 2001)

Alguns estudos vêm sendo realizados visando o esclarecimento dos mecanismos neurológicos e hormonais envolvidos na percepção ao feromônio sexual. Hansson (1995) relata que a percepção feromonal em machos ocorre no deutocérebro, em uma região do lobo antenal (LA) denominada complexo macrogglomerular, e pode ser influenciada pela presença do hormônio juvenil (HJ) (Gadenne *et al.*, 1993; Christensen, 1997; Anton & Gadenne, 1999). Como a quantidade de hormônio juvenil varia ao longo da vida do inseto adulto, pode haver uma relação entre a idade do inseto e a sua capacidade perceptiva.

Machos de lepidópteros, em estudos de campo, geralmente exibem níveis crescentes de resposta durante os primeiros dias após a emergência, havendo um decréscimo desta, em insetos mais velhos (Tóth, 1979; Szocs & Tóth, 1979; Tomescu *at al.*, 1981, Turgeon *et al.*, 1983; Werner, 1977; Proshold, 1991; Gadenne & Anton, 2000). No entanto, em algumas espécies, a percepção eletrofisiológica de machos ao feromônio pode não diferir ao longo da vida (Roelofs & Comeau,1971).

A condição de acasalamento dos machos de lepidópteros parece não interferir na sua percepção antenal ao feromônio sexual e mesmo no seu comportamento de vôo em laboratório (Pearson & Schal,1999; Gadenne *et al.*, 2001).

A mesma tendência foi observada para algumas espécies de tortricídeos e crambídeos em trabalhos de campo (Evenden & Gries, 2006; Reardon & Sappington, 2007). Contudo, foi observado por Henneberry & Clayton (1984) um maior número de machos não virgens de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera:

Noctuidae), em armadilhas de feromônio. No entanto, segundo os autores, esta captura diferenciada deve ser examinada com cautela, visto que, este resultado pode estar mais relacionado à flutuação populacional da praga no campo e não propriamente a diferenças de percepção relacionados ao status de cópula.

Diversos estudos com lepidópteros mostraram que o alimento ingerido por insetos adultos, principalmente carboidratos, interferem nos processos fisiológicos e comportamentais, especialmente sobre aqueles relacionados à reprodução (Slansky & Scriber, 1985; Panizzi & Parra, 1991; Benz, 1991; Silva, 1991; Carroll & Quiring, 1992; Fonseca *et al.*, 2005). Para outros autores, no entanto, a presença de carboidratos na dieta de fêmeas e machos não altera parâmetros biológicos e comportamentais (Parra, 1999; Bavaresco, 2000). Em adultos de *Bonagota cranaodes* Meyrick (Lep.: Tortricidae), por exemplo, a água é suficiente para manutenção da longevidade e fecundidade em níveis normais (Fonseca *et al.*, 2005).

Trabalhos que investiguem a influência da quantidade e qualidade do alimento ingerido, nas fases jovem e/ou adulta, sobre a percepção química em insetos, são escassos (Hardee, 1970).

Neste sentido, estudos que avaliem as implicações da idade, status de cópula e condição alimentar de machos na percepção química ao feromônio sexual são importantes para a compreensão do comportamento reprodutivo de *G. molesta* (Lima & Della Lucia, 2001).

Não somente fatores relacionados às condições fisiológicas do inseto influenciam a comunicação intra-específica; a planta hospedeira pode ser um importante mediador desta interação.

As plantas produzem diferentes classes de substâncias químicas e as liberam através das aberturas estomatais na forma de voláteis (Bernays &

Chapman, 1994). Quando estas substâncias atuam na comunicação inseto-planta, beneficiando somente o receptor do sinal químico, são denominadas de cairomônios, os quais pertencem ao grupo dos aleloquímicos (Dicke & Sabelis, 1988). Ao longo da evolução, grande parte dos insetos tornaram-se capazes de identificar algumas destas substâncias e, através delas, encontrar a fonte de recursos de que necessitam (Metcalf & Metcalf, 1992)

Insetos fitófagos utilizam as plantas como fonte de recursos para alimentação, reprodução e/ou proteção. Dentre estes, polípagos e mesmo oligófagos, como *G. molesta*, possuem adaptações químicas relacionadas à percepção de estímulos sensoriais que lhes permitem explorar diferentes alimentos e habitats. Estas adaptações podem estar relacionadas ao fato destes insetos apresentarem na hemolinfa de sensilas quimiorreceptoras presentes nas antenas, maior número de proteínas odoríferas de ligação (POLs), responsáveis pela percepção de voláteis secundários de plantas. Além disso, essas proteínas, por apresentarem maior flexibilidade no mecanismo de reconhecimento molecular, nos sítios de ligações químicas, tornam os indivíduos capazes de identificar um maior número de hospedeiros (Evershed, 1986)

De modo geral, ambos os sexos são capazes de fazer o reconhecimento das plantas hospedeiras, o que possibilita o encontro de parceiros para cópula e sítios de oviposição, conforme o observado em *Cydia pomonella* Linnaeus (Lep.: Tortricidae) (Massante-Roca *et al.*, 2002; Ansebo, 2004).

Órgãos distintos de um mesmo hospedeiro podem liberar diferentes voláteis secundários, e estes, podem variar de acordo com o estágio fenológico da planta (Horvat & Chapman, 1990).

Casado *et al.* (2006) coletaram voláteis em galhos de macieiras (var. Golden Smothee) durante os períodos da manhã e ao anoitecer, em três estádios

do desenvolvimento fenológico da planta (depois da queda das pétalas, abrangendo o período de brotação e nas fases de fruto verde e maduro). As amostras foram analisadas em cromatógrafo a gás acoplado ao espectômetro de massas (CG-EM) e cromatógrafo a gás acoplado ao detector eletroantenográfico (CG-EAD), utilizando a antena de machos de *C. pomonella* como detector biológico. Quarenta e quatro compostos foram obtidos, havendo variação dos mesmos de acordo com os estádios fenológicos da planta e com o horário de coleta. Os compostos mais freqüentes, em todos os tratamentos, foram o (*Z*)-3-acetato de hexenila, (*Z*)-3-hexenol, (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno, acetato de hexenila, hexanoato de hexenila e germacreno. As substâncias que desencadearam as maiores respostas eletrofisiológicas estavam presentes em maior quantidade nos voláteis coletados nos períodos de brotação e fruto verde.

A identificação e quantificação dos principais voláteis presentes em cada fase, durante o período de maturação do pessegueiro, também foi feita por Horvat & Chapman (1990), submetendo frutos de diferentes fases de maturação à destilação por arraste de vapor, utilizando o solvente hexano. Os principais voláteis presentes no destilado foram o benzaldeído, linalol,  $\gamma$ -decalactona,  $\delta$ -decalactona, hexanal e (*E*)-2-hexenal. A comparação entre os estádios de menor e maior maturação da fruta indicou que todas as substâncias elevaram suas concentrações no último estágio (fruto maduro), excetuando o hexanal e o (*E*)-2-hexenal, para o qual ocorreu o inverso. Voláteis obtidos das folhas foram também identificados. A maioria das substâncias presentes no destilado foram os compostos aromáticos, sendo que o benzaldeído correspondeu a mais de 95% deles. Estudando a distribuição de compostos voláteis em diferentes partes do pêssego *white-fleshed*, Aubert & Milhet (2007) observaram diferenças nas

proporções dos compostos presentes nos extratos da casca e da polpa dos frutos. Da totalidade dos voláteis identificados, o benzaldeído não foi registrado.

O status de cópula, especialmente em fêmeas, é outro fator que pode ou não interferir na percepção química aos voláteis de plantas. Para *Lobesia botrana* (Denis e Schiffermüller) (Lep.: Tortricidae) este fator foi relevante (Masante-Roca *et al.*, 2002), no entanto, para *C. pomonella*, não observou-se esta associação (Yan *et al.*, 1999).

Em machos de lepidópteros, os voláteis de plantas expostos conjuntamente ao feromônio sexual podem atuar maximizando a percepção a este. Em experimentos eletroantenográficos e comportamentais, foi constatado que compostos secundários de plantas apresentam ação sinérgica e/ou aditiva com feromônios na atratividade de machos (Stelinski *et al.*, 2003; Deng *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2004).

Existe também a possibilidade da condição alimentar do inseto, além dos demais fatores citados anteriormente, interferir na capacidade perceptiva aos kairomônios liberados pelas plantas hospedeiras. Contudo, trabalhos relatando a influência da condição alimentar de insetos no reconhecimento de plantas não foram encontrados na literatura.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Criação de *Grapholita molesta*

Foi estabelecida uma criação de *G. molesta* no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos da Faculdade de Agronomia (UFRGS), a partir de crisálidas provenientes do Laboratório de Entomologia da Embrapa Uva e Vinho (CNPUV).

A criação foi mantida em sala climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $60 \pm 10\%$  U.R.; fotofase de 16 horas e luminância igual a 1,46 klx). Inicialmente, as crisálidas eram transferidas para gaiolas, confeccionadas com garrafas PET de 2 L, com a extremidade basal retirada e substituída por tecido tipo voile, fixado com atilho. A extremidade apical da garrafa era obstruída com algodão embebido em solução de mel a 15% e Nipagin® (metilparabeno) a 0,15%, fixado com a tampa da garrafa, o qual servia como substrato de alimentação (Figura 2 A). A cada sete dias, as gaiolas eram esvaziadas e as posturas (Figura 1 A), desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 15% (2 % de cloro ativo).

Porções das garrafas PET contendo os ovos eram dispostas, em recipientes plásticos de 500 mL, sobre a dieta artificial para lagartas (Figura 2 B), seguindo a metodologia proposta por Ivaldi-Sender (1974). Quando as lagartas atingiam o último instar, os recipientes plásticos eram cobertos com retalhos de gaze hidrófila (13 fios) para a crisalidação. Posteriormente, as crisálidas eram

removidas da gaze, desinfetadas com solução de água sanitária a 15% (2 % de cloro ativo) e aquelas a serem utilizadas nos bioensaios, eram separadas por sexo sob estereomicroscópio (aumento de 75 X), de acordo com Butt & Cantu (1962), e acondicionadas em recipientes plásticos de 500 mL, sobre algodão umedecido, até a emergência.

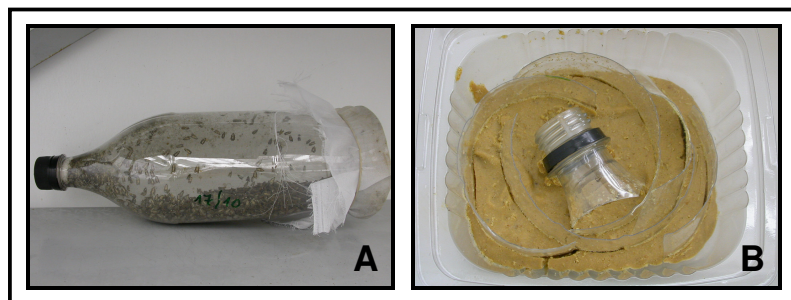


FIGURA 2. Criação de *Grapholita molesta*: A) gaiola de criação e B) recortes da gaiola de criação sobre dieta artificial.

### 3.2 Obtenção dos infoquímicos

#### 3.2.1 Feromônio

##### 3.2.1.1 Teste de sensibilidade

As substâncias que fazem parte do feromônio sexual sintético de *G. molesta* (*Z*- e *E*-8-acetato de dodecenila (10:1)) foram fornecidas pela empresa Isca Tecnologias Ltda. Foram realizadas diluições do feromônio em solvente hexano (Mallinckrodt, 99% de pureza) por colaboradores do Laboratório de Química da CIENTEC – Fundação de Ciência e Tecnologia.

Seis diluições progressivas da mistura feromonal dos isômeros *Z*- e *E*-8-acetato de dodecenila foram feitas, com a dose destes variando de 89 a 0,00089  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e de 8,5 a 0,000085  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. Estas diluições foram utilizadas como estímulo para medir a sensibilidade olfativa de *Grapholita molesta* em eletroantenografia (EAG) à mistura feromonal dos dois isômeros ( $n =$

10). As dosagens, em nanogramas, relativas ao somatório das massas dos isômeros, da menor para maior, foram as seguintes: 4,875; 48,75; 487,5; 4.875; 48.750 e 487.500. Estes valores foram transformados pelo logaritmo (log) da soma das massas para melhor representação gráfica dos resultados.

### **3.2.2 Voláteis de planta**

Partes vegetais (brotos, frutos verdes e frutos maduros) de plantas de pessegueiro, *Prunus persicae*, (cultivar Chiripá) e de macieira, *Malus domestica*, (cultivar Gala) foram coletadas na Serra Gaúcha, no distrito de Pinto Bandeira (29°06' S e 51°27' W) (nos meses de outubro de 2006 e janeiro de 2007) e no município de Antônio Prado (28°51'30" S e 51°16'58" W) (no mês de fevereiro de 2007), respectivamente.

Foram elaborados extratos com brotos, frutos verdes e frutos maduros de pessegueiro (EBP, EPV e EPM) e brotos, frutos verdes e frutos maduros de macieira (EBM, EMV e EMM), obtidos através da técnica de refluxo, com o solvente etanol (Synth, 99% de pureza) pelo mesmo grupo do Laboratório de Química da CIENTEC. Para a elaboração dos extratos de pessegueiro foram utilizados 6,55 g de brotos extraídos em 40 mL de solvente etanol, 14,52 g de casca de frutos verdes e 15,13 g de casca de frutos maduros extraídos em 50 mL do mesmo solvente. Os extratos de macieira foram obtidos através da imersão de 11,98 g de brotos em 100 mL de etanol, 15,24 g de casca de frutos verdes e 15,27 g de casca de frutos maduros imersos em 50 mL do solvente. Todos os extratos foram armazenados a -4°C.



### 3.3 Bioensaios eletroantenográficos

As técnicas eletroantenográficas utilizadas nestes experimentos são similares às aquelas descritas por Trimble & Marshall (2007). Machos e fêmeas de *G. molesta* de até um dia de idade foram, inicialmente, individualizados em recipientes plásticos (500 mL) e mantidos desta forma, até que atingissem a idade estabelecida para os experimentos, recebendo solução alimentar ou apenas água.

Cada inseto testado foi imobilizado por resfriamento (30s a -20°C) e levado à observação em estereomicroscópio (aumento de 400 X), onde foi feita a secção de uma das antenas na altura do pedicelo, a qual foi posicionada em eletrodo bifurcado de prata (Figura 3 A). As extremidades basal e apical da antena ficaram aderidas ao eletrodo registrador e ao neutro, respectivamente. Ambas foram imersas em gel condutor, para possibilitar a condutividade elétrica da amostra. A resposta analógica do sinal, em milivolts, relativa ao somatório dos potenciais de ação gerados a partir do estímulo de células nervosas quimiorreceptoras, foi capturada, amplificada (Figura 3 B) e processada com um controlador de aquisição de dados (IDAC-4, Syntech® ,the Netherlands) (Figura 3 C) e, posteriormente, registrada através de software (EAG2000, Syntech® , The Netherlands).

Uma alíquota de feromônio, na dose de 487,5 ng (pré-estabelecida nos testes de sensibilidade) ou de extrato de planta era aplicada sobre recortes de papel filtro (1,5 X 2,5 cm) dobrados em forma de gaita. Cinco minutos eram dados para a evaporação do solvente e, após este período, o papel filtro impregnado com as soluções era colocado na extremidade posterior de uma pipeta Pasteur. O estímulo controle continha papel filtro impregnado com o solvente no mesmo volume da amostra testada, podendo ser etanol, hexano ou ambos. A

extremidade anterior da pipeta era colocada dentro de um orifício na parede de um tubo de metal (1 cm de diâmetro X 18 cm de comprimento), orientado em direção à antena, a uma distância aproximada de 1 cm.

Para evitar o ressecamento e, conseqüentemente, aumentar a durabilidade da antenas, estas foram constantemente umidificadas durante os testes. Para tanto, uma corrente de ar, direcionada à antena, passava por um balão de Erlenmeyer (50mL) contendo água destilada (borbulhador).

As antenas foram submetidas a pulsos de ar, gerados por um controlador de fluxo (CS-02, Syntech®\_ The Netherlands) (Figura 3 D), em um volume de 2,5 mL/ 0,5 s, com os diferentes tratamentos testados. Foi estipulado um tempo de um minuto entre sucessivos estímulos, para que a antena recobrasse sua capacidade de percepção odorífera. Os papéis filtro contendo todos os extratos e o feromônio sintético eram renovados a cada seis antenas testadas, para que a volatilização dos compostos não interferisse nas respostas.

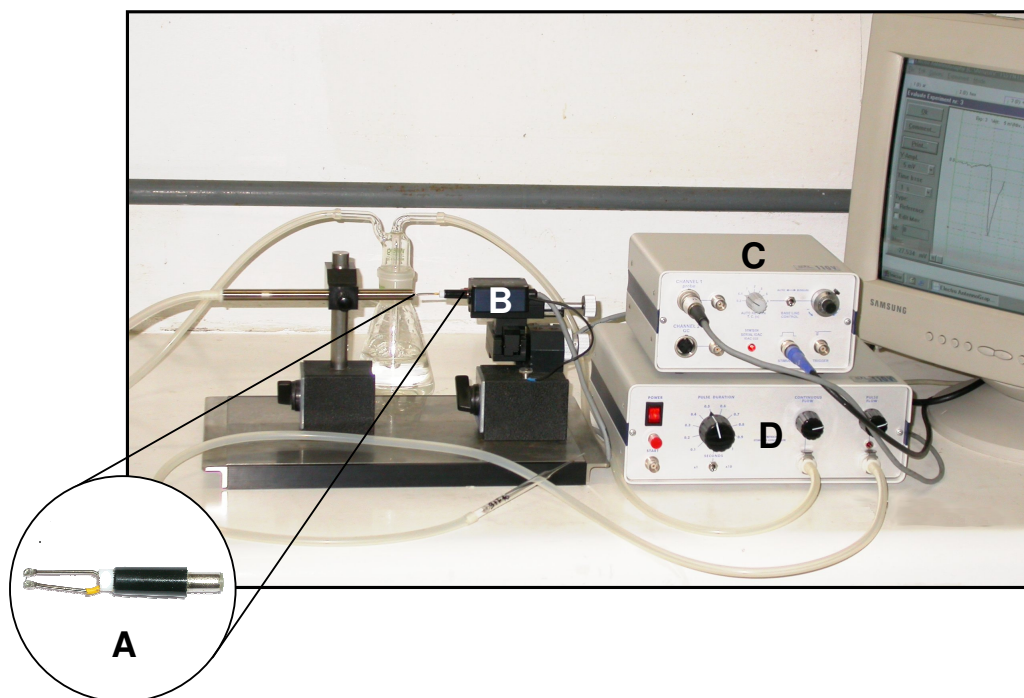


FIGURA 3. Eletroantenógrafo: A) eletrodo, em detalhe, B) pré-amplificador de sinal elétrico, C) controlador de aquisição de dados e D) controlador de fluxo de ar.

A ordem de exposição dos tratamentos de voláteis de planta foi aleatória. Nos bioensaios em que foi utilizado o feromônio sexual sintético, as antenas eram inicialmente submetidas ao controle (hexano) e, subsequentemente, ao feromônio.

Foram realizadas 15 repetições para cada tratamento em todos os bioensaios eletroantegráficos com feromônio.

A percepção eletrofisiológica de machos de *G. molesta* ao feromônio sexual foi avaliada em função de três diferentes fatores, ordenados a seguir.

a) Idade dos insetos

Machos, a partir da emergência, foram alimentados com solução de mel a 15% e Nipagin® a 0,15%, disponibilizada através de algodão embebido, dentro de um tubo de vidro (6 cm de comprimento X 1 cm de diâmetro), e mantidos na câmara climatizada até atingirem a idade necessária para realização dos testes. Foram avaliadas as respostas ao feromônio em antenas de machos de até 24 horas, 3, 7, 9, 11 e 13 dias de vida.

b) Condição alimentar

Machos recém-emergidos foram individualizados e, metade destes, recebeu solução de mel a 15% e Nipagin® a 0,15%, sendo que a outra metade foi mantida sem alimento, apenas com água destilada. Os adultos permaneceram nestas condições por três dias, quando os testes foram então realizados.

c) Status de cópula

Machos de até 24 horas de idade foram confinados com uma fêmea da mesma idade em recipientes plásticos de 500 mL e alimentados com solução de mel a 15% e Nipagin® a 0,15%. Após 48 horas do início do pareamento, o macho foi individualizado em outro recipiente similar, com alimento. As fêmeas de cada casal tiveram suas *bursas copulatrix* analisadas para a confirmação da cópula.

Somente os machos que haviam acasalado foram utilizados nos experimentos. Machos virgens foram obtidos mantendo-se indivíduos recém-emergidos previamente isolados das fêmeas na fase de pupa, em copos plásticos de 500 mL, com solução de mel a 15% e Nipagin® a 0,15%. As respostas de machos não virgens e virgens aos extratos feromonais foram avaliadas quando os adultos tinham três dias de idade.

Nos testes relativos à percepção olfativa aos voláteis de planta, foram utilizados extratos preparados conforme descrito no item 3.2.2, além do solvente etanol (controle). Todos os tratamentos descritos foram testados em insetos virgens de ambos os sexos, alimentados e não-alimentados, com três dias de idade.

Posteriormente, avaliou-se a percepção de fêmeas alimentadas, virgens e não virgens de 4, 7, 10 e 13 dias de idade, somente aos extratos de broto de pessegueiro, pois foi o que apresentou, em experimentos anteriores, as maiores respostas eletrofisiológicas. Fêmeas virgens foram obtidas, isolando-se previamente na fase de pupa e, posteriormente, mantendo-as em copos plásticos de 500 mL, com solução de mel a 15% e Nipagin® a 0,15%. As fêmeas não virgens foram pareadas logo após a emergência com um macho de mesma idade e mantidas desta forma até o dia anterior ao experimento. Após a realização do bioensaio, as *bursas copulatrix* foram examinadas sob estéreomicroscópio, para certificação da cópula.

Para se avaliar a interação de voláteis das plantas hospedeiras e de substâncias feromonais na percepção eletrofisiológica de machos de *G. molesta*, indivíduos recém-emergidos e virgens foram individualizados, alimentados (mel a 15% e Nipagin® a 0,15%) e mantidos nestas condições por três dias, quando foram realizados os testes.

Os estímulos utilizados nestes bioensaios foram os solventes controle (etanol e/ou hexano) testados de forma isolada (5  $\mu$ L) ou em mistura (5  $\mu$ L de cada) , bem como, o feromônio e o extrato de broto de pessegueiro (EBP) isoladamente (5  $\mu$ L). Quando utilizados em conjunto, o volume da mistura feromonal (MF) foi sempre de 5  $\mu$ L, enquanto o EBP foi empregado em dois volumes, 5  $\mu$ L e 7,5  $\mu$ L. A primeira proporção (5  $\mu$ L MF + 5  $\mu$ L EBP) foi estabelecida visando comparar estas respostas com as dos solventes, nos testes de eletroantenografia. A segunda (5  $\mu$ L MF + 7,5  $\mu$ L EBP) teve como objetivo comparar as respostas de percepção eletroantegráficas com as dos testes comportamentais, nos quais os volumes utilizados foram de 10  $\mu$ L (MF) + 15  $\mu$ L (EBP). Os volumes maiores usados nos testes comportamentais, foram estabelecidos em experimento piloto.

Nas análises estatísticas foram utilizados os softwares Bioestat<sup>®</sup> 4.0 e SPSS<sup>®</sup> for Windows 13.0. Foram calculadas as médias, os erros padrões e as variâncias, sendo os resultados comparados por ANOVA, com 95% de confiabilidade.

### **3.4 Bioensaios comportamentais**

Nos experimentos em olfatométrica, foram avaliadas as respostas comportamentais de machos ao feromônio, nas mesmas condições fisiológicas descritas no item 3.3. Em relação aos voláteis de planta, utilizou-se, em ambos os sexos, somente o extrato de broto de pessegueiro, selecionado com base nos experimentos eletroantegráficos.

O comportamento de adultos de *G. molesta* foi observado em olfatômetro “Y” de vidro de dupla escolha (Figura 4 A), com diâmetro de 4 cm, arena inicial de 22 cm, bifurcada em dois “braços” de 24cm cada. A metodologia foi adaptada de

trabalho realizado por Gokçe *et al.* (2005). Os testes foram conduzidos em capela com sistema de exaustão de ar, mantida em sala climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $60 \pm 10\%$  U.R.). O fluxo de ar, previamente filtrado com carvão ativo, foi conduzido para dentro do sistema com o auxílio de um propulsor conectado a um fluxímetro, a uma taxa de 0,79 L/min. A observação do comportamento dos insetos era realizada sempre à tarde, no período das quatorze até as dezoito horas. Em testes preliminares não se observou variação das respostas de machos na fotofase ou na escotofase, no entanto, a atividade das fêmeas foi maior na escotofase. Sendo assim, estas foram mantidas até a idade de três dias em câmaras de criação tipo B.O.D., nas mesmas condições controladas da sala de criação, porém com o fotoperíodo invertido, a fim de possibilitar a execução dos experimentos durante a tarde.

Os testes com machos foram conduzidos na fotofase sob luz incandescente (60W, luminância igual a 0,518 klx) e aqueles com fêmeas, foram realizados na escotofase, com o auxílio de uma lâmpada vermelha (70W, luminância igual a 135 lx).

Antes do início dos experimentos, as mariposas foram aclimatadas por uma hora na sala de testes. Após este período, um tubo de vidro (1 cm de diâmetro X 8 cm de comprimento), contendo no seu interior um indivíduo, foi colocado na entrada da arena (Figura 4 B). O tubo era aberto em uma das extremidades, sendo a outra, coberta por um tecido tipo voile, para possibilitar a livre passagem do ar, evitando a concentração de odores no seu interior.

Os insetos foram submetidos à escolha entre dois tratamentos, posicionados nas extremidades de cada braço do olfatômetro. Nos bioensaios em que se utilizou feromônio sexual sintético como estímulo, 10  $\mu\text{L}$  da solução, na dose de 487,5 ng da mistura, foram injetados em papel filtro de dimensões 1,5 X

12 cm, dobrado em forma de gaita e posicionado em uma das extremidades do olfatômetro (Figura 4 C), sendo colocado, na outra extremidade, o mesmo volume de solvente.

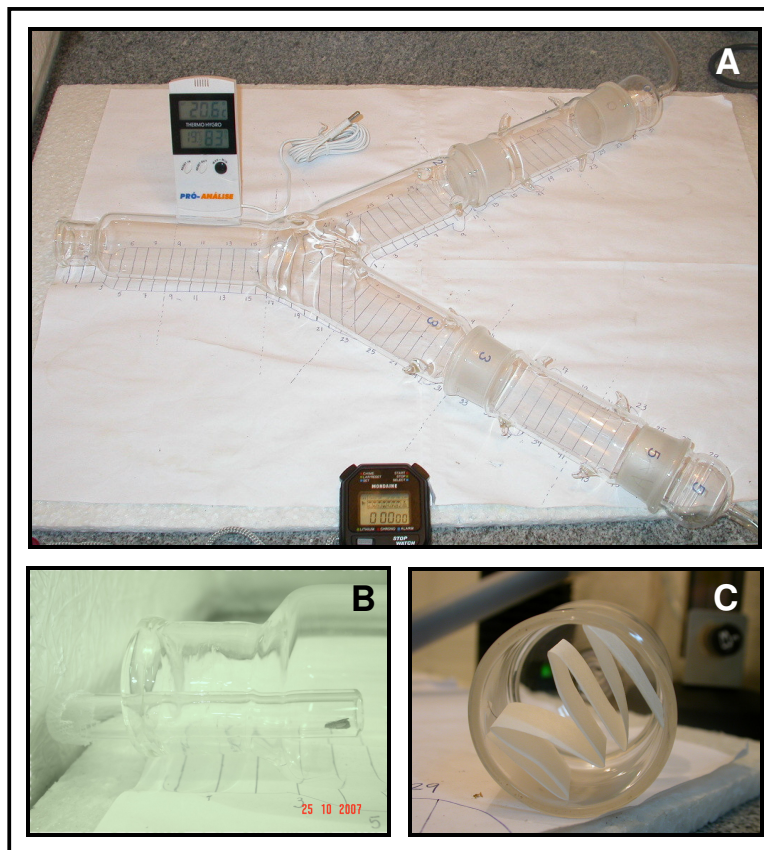


FIGURA 4. Olfatômetro “Y” de dupla escolha: A) vista geral, B) inseto em tubo de vidro na abertura da arena e C) papel filtro dentro de um dos braços do olfatômetro.

Para obtenção de machos com diferentes idades, status de cópula e condição alimentar, seguiu-se os mesmos protocolos experimentais descritos no item 3.3.

Nos testes comportamentais, as idades dos machos testados foram de 1, 5, 10 e 15 dias, sendo estabelecida, posteriormente, a idade de cinco dias para a realização dos bioensaios relacionados ao status de cópula e à condição alimentar.

O comportamento quimiotático de machos, frente à interação do extrato de broto de pessegueiro e do feromônio sexual, também foi observado. Para execução deste bioensaio, foram utilizados machos virgens. Todos os indivíduos possuíam cinco dias de idade e foram alimentados com mel a 15% e Nipagin® a 0,15%. Nos testes em que avaliou-se somente o broto de pessegueiro, o volume de extrato utilizado foi de 15 µL. Naqueles em que a interação entre este extrato e o feromônio sexual foi verificada, os volumes utilizados foram de 15 e 10 µL, respectivamente, totalizando um volume de 25 µL. No controle, foram usados os solventes etanol e hexano, isoladamente ou em mistura, em volumes iguais aos utilizados nos extratos.

As respostas foram consideradas positivas quando os insetos percorreram, pelo menos, 4 cm dentro dos braços contendo o tratamento teste e permaneceram nesta área por, no mínimo, 1 min, e negativas, caso os indivíduos percorressem a mesma distância e ficassem o mesmo tempo no braço contendo o tratamento controle. Foi registrada ausência de resposta quando os insetos permaneceram apenas no braço principal do olfatômetro.

O olfatômetro foi invertido (rotação de 180°), a cada duas repetições e a cada seis, este era lavado com sabão neutro e etanol, e seco em estufa de esterilização a 150°C. Após este procedimento, os papéis filtro, contendo as diferentes substâncias, eram renovados. Foram realizadas, no mínimo, 30 repetições para cada tratamento e cada inseto foi observado por 10 minutos.

Nos experimentos comportamentais, as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Bioestat® 4.0. Realizou-se o cálculo das médias, erros padrões e as variâncias, sendo os resultados comparados pelo Teste t ou Exato de Fischer, com 95% de confiabilidade.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Bioensaios relativos ao feromônio sexual sintético

A sensibilidade das sensilas antenais de machos de *G. molesta* ao feromônio sexual sintético foi diretamente proporcional à dose do estímulo químico. A figura 5 apresenta as respostas obtidas como função do logaritmo da dose aplicada, expressa no somatório das massas dos dois isômeros. O terceiro ponto da curva, equivale a  $2,69 \log [M_{Z+E}]$  (ng) e é o ponto de inflexão, correspondendo à dose de 487,5 ng. As respostas eletroantegráficas a doses inferiores a esta, não foram significativamente diferentes daquelas obtidas com o solvente hexano, isto é, geraram respostas de baixa intensidade. Por outro lado, observou-se o início de uma estabilização de respostas, estimulando-se as antenas com doses acima de 487,5 ng. Neste caso, a antena entra em processo de saturação e a resposta não mais aumenta proporcionalmente à dose. Desta forma, a dose de 487,5 ng foi selecionada e utilizada em todos os experimentos eletrofisiológicos e comportamentais, referentes aos testes com feromônio.

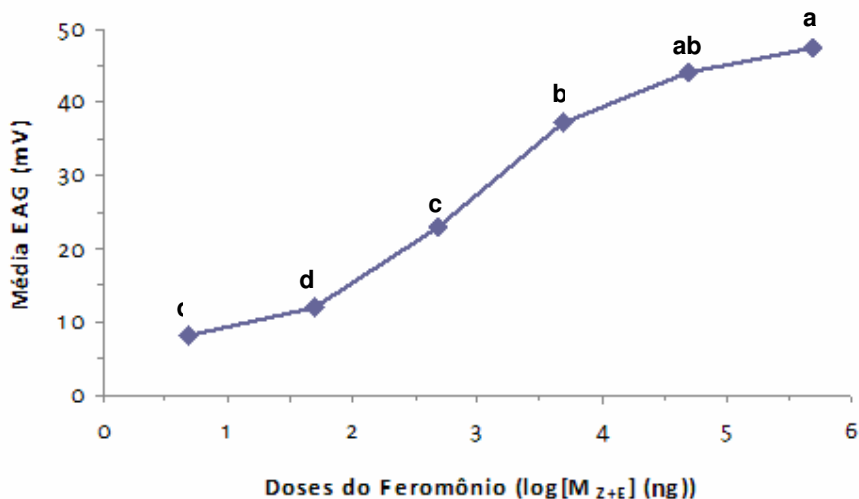


FIGURA 5. Médias das respostas eletroantegráficas (EAG) de machos de *Grapholita molesta* às somas das massas de seis diferentes doses da mistura feromonal dos isômeros Z- e E-8-acetato de dodecenila (10:1). Doses (ng) em ordem crescente, relativas aos pontos da curva: 4,875; 48,75; 487,5; 4.875; 48.750 e 487.500. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

#### 4.1.1 Influência da idade na percepção ao feromônio

As respostas eletrofisiológicas de machos de *G. molesta* ao feromônio sexual sintético não diferiram estatisticamente entre as idades testadas ( $P > 0,05$ ,  $F = 36,695$ ) (Tabela 1), indicando que a capacidade de percepção química periférica antenal não varia com o avanço da idade dos insetos.

Diversos processos neurofisiológicos têm sido investigados para a avaliação do efeito da idade na percepção olfativa de feromônios em insetos.

Em mariposas, as informações olfativas são detectadas por neurônios presentes nas sensilas receptoras das antenas que, por sua vez, são interligadas no lobo antenal (LA), o qual faz parte do deutocérebro. Em machos, os processos neurológicos relativos à percepção feromonal ocorrem em uma região do LA denominada de complexo macrogglomerular (Hansson, 1995). A percepção feromonal nesta região pode ser influenciada pela presença do hormônio juvenil (HJ) (Gadenne *et al.*, 1993; Christensen, 1997; Anton & Gadenne, 1999).

TABELA 1. Média das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$  erro padrão), em milivolts (mV), de machos de *Grapholita molesta*, de diferentes idades, ao feromônio sexual e ao solvente hexano (controle).

Tratamento	Idade (dias)					
	1	3	7	9	11	13
<b>Feromônio</b>	43,4 $\pm$ 0,098 Aa	44,3 $\pm$ 0,129 Aa	39,3 $\pm$ 0,134 Aa	40,0 $\pm$ 0,107 Aa	41,2 $\pm$ 0,103 Aa	42,2 $\pm$ 0,066 Aa
<b>Controle</b>	25,3 $\pm$ 0,142 Ab	28,5 $\pm$ 0,136 Ab	21,6 $\pm$ 0,221 Ab	23,3 $\pm$ 0,134 Ab	24,7 $\pm$ 0,110 Ab	21,2 $\pm$ 0,099 Ab

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas, nas linhas, e minúsculas, nas colunas, diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

Em insetos adultos, o HJ é um dos fatores responsáveis pela produção e percepção de feromônios, podendo modular o comportamento sexual destes (Raina,1997; Schal *et al.*, 1997).

Outro fator associado ao HJ, está relacionado à sua função no desenvolvimento de glândulas acessórias reprodutivas. A percepção de machos de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) ao feromônio sexual de fêmeas coespecíficas é controlada pelo nível de HJ que, por sua vez, atua na maturação destas glândulas. Este processo fisiológico é necessário no reconhecimento do macho ao feromônio sexual e, conseqüentemente, na viabilização do processo reprodutivo (Gadenne *et al.*, 1993; Anton & Gadenne, 1999).

A biossíntese de substâncias que influenciariam a percepção ao feromônio, tais como o HJ, diminui ao longo da vida adulta do inseto, afetando a percepção química. Em experimentos em que as respostas ao estímulo feromonal foi avaliada em nível de LA, observou-se a que a percepção química tem uma tendência a aumentar durante o período de maturação sexual, com posterior decréscimo à medida que o inseto envelhece (Seabrook *et al.*, 1979; Masson & Arnold, 1984; Gadenne & Anton, 2000). Este fato pode estar vinculado à regulação endócrina relacionada ao efeito cronológico da resposta.

Em estudos comportamentais com *A. ipsilon* observou-se que as respostas de machos ao feromônio decresceram com o avanço da idade. No entanto, em testes de eletroantenografia periférica, com esta mesma espécie, este fator não foi relevante (Gadenne *et al.*, 1993). Roelofs & Comeau (1971) também não evidenciaram a influência da idade na percepção periférica de machos de *Argyrotaenia velutinana* (Walker) (Lep.: Tortricidae) ao feromônio sexual de fêmeas coespecíficas.

Neste experimento, avaliou-se somente a resposta eletrofisiológica periférica. Neste nível de percepção, o fator mais relevante relacionado à sensibilidade da antena ao estímulo químico, é a presença e a quantidade de proteínas feromonais de ligação (PFLs) na hemolinfa da antena, sendo estas responsáveis pela transdução do sinal químico até as paredes dos dendritos das células nervosas que inervam as sensilas quimiorreceptoras (Prestwich & Du, 1997). Sendo assim, como não observou-se diferenças entre as idades testadas acredita-se que as PFLs não tenham se alterado ao longo do período observado.

Nos bioensaios comportamentais, o número de machos de *G. molesta* que se locomoveram em direção ao feromônio sexual (respostas positivas) foi maior do que o dos indivíduos que se dirigiram ao tratamento controle (respostas negativas), independentemente da idade. No entanto, o número total de respostas positivas foi superior nas idades de um e cinco dias em comparação às idades de 10 e 15 dias. Respostas negativas não ocorreram nas idades mais avançadas (Figura 6). Constatou-se, dessa forma, um decréscimo da quimiotaxia dos machos frente ao feromônio com o aumento da idade.

Trabalhos que evidenciam a influência da idade no comportamento quimiotático de insetos, em laboratório, são escassos. No entanto, em experimentos de campo, alguns autores relatam que machos de lepidópteros geralmente exibem níveis crescentes de resposta ao feromônio, durante os primeiros dias após a emergência, havendo um decréscimo, ao longo de suas vidas (Tóth, 1979; Szocs & Tóth, 1979; Tomescu *at al.*, 1981, Turgeon *et al.*, 1983; Werner, 1977).

Sendo assim, como já relatado anteriormente, observou-se neste trabalho uma faixa de idade onde o comportamento quimiotático tende a ser maior, devido, possivelmente, a fatores neurofisiológicos e endócrinos, com posterior

senescência do sistema e diminuição deste comportamento. As diferenças observadas, com relação ao fator idade, entre as respostas eletrofisiológicas e comportamentais evidenciam que a capacidade de percepção ao feromônio não está diretamente vinculada à capacidade motora de resposta do inseto frente ao estímulo, e sim, a um complexo de fatores fisiológicos envolvidos no comportamento reprodutivo.

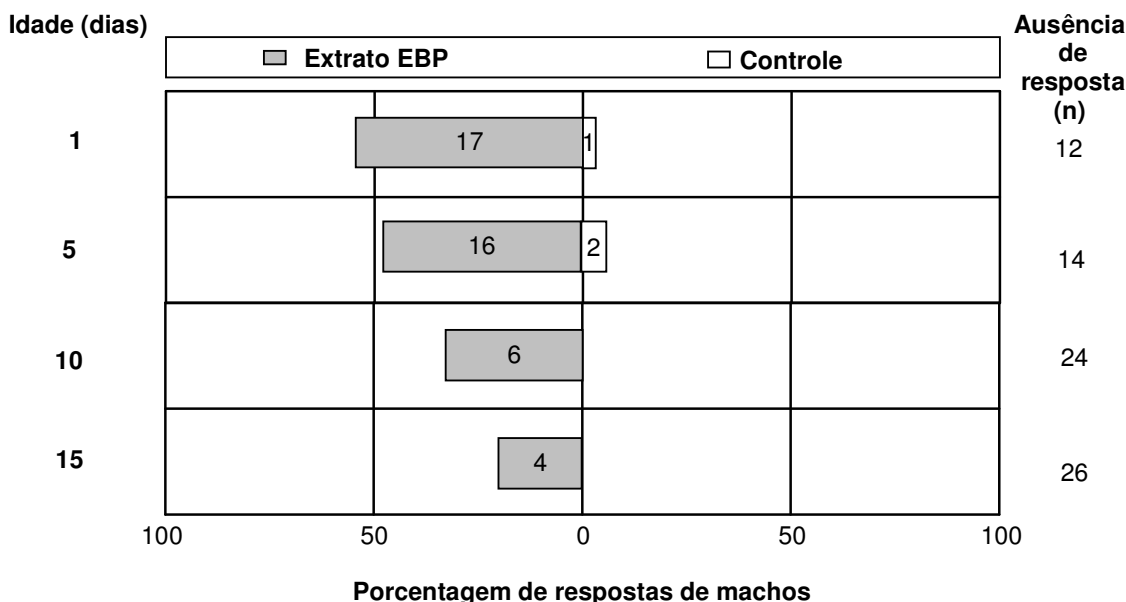


FIGURA 6. Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de machos de *Grapholita molesta* com 1 (n= 30), 5 (n= 32), 10 (n= 30) e 15 (n= 30) dias de idade ao feromônio sexual, em olfatômetro “Y”. Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.

#### 4.1.2 Influência da condição alimentar na percepção ao feromônio

As respostas eletroantenográficas de machos de *G. molesta* ao feromônio de fêmeas coespecíficas não foram influenciadas pela condição alimentar, ou seja, a percepção química de adultos alimentados com mel não foi significativamente distinta daqueles que receberam apenas água como recurso alimentar ( $P > 0,05$ ,  $F = 29,853$ ). Em ambos os casos, as respostas foram maiores ao tratamento feromônio (Tabela 2).

TABELA 2. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$  erro padrão), em milivolts (mV), de machos de *Grapholita molesta* ao feromônio sexual e ao solvente hexano (controle), em função da sua condição alimentar (n= 15).

Tratamento	Condição alimentar	
	Machos alimentados	Machos não-alimentados
	(mV $\pm$ EP)	(mV $\pm$ EP)
<b>Feromônio</b>	77,0 $\pm$ 9,083 Aa	63,9 $\pm$ 5,619 Aa
<b>Controle</b>	17,4 $\pm$ 2,024 Ab	26,4 $\pm$ 3,718 Ab

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas, nas linhas, e minúsculas, nas colunas, diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

O desenvolvimento dos insetos está diretamente relacionado à quantidade e à qualidade do alimento ingerido durante as fases jovem e adulta. A alimentação inadequada pode provocar mudanças morfológicas, fisiológicas e comportamentais, podendo este fator ser o responsável pela redução do tamanho corporal, da fecundidade, da fertilidade e da competitividade reprodutiva. Estes fatores podem influenciar, de forma negativa, o comportamento sexual e, conseqüentemente, diminuir o potencial biótico da espécie (Slansky & Scriber, 1985; Panizzi & Parra, 1991; Myers *et al.*, 2006).

Diversos estudos com lepidópteros, constataram que o consumo e a utilização do alimento, em insetos adultos, estão intimamente relacionados a processos fisiológicos e comportamentais direcionados, principalmente, à reprodução e, em alguns casos, à dispersão (Panizzi & Parra, 1991). No entanto, são poucos os trabalhos que relatam de que forma a alimentação de adultos pode afetar a percepção a substâncias feromonais. Um exemplo deste tipo de interação, foi registrado por Hardee (1970). Segundo o autor, machos de

*Anthonomus grandis* Boheman (Col.: Curculionidae) alimentados com o botão floral do algodoeiro, foram mais atraídos ao feromônio de agregação do que aqueles que receberam outras partes desta planta.

No presente trabalho, foi comparada a atratividade de machos não alimentados, com aqueles que receberam solução de mel, o qual apresenta nutrientes à base, essencialmente, de carboidratos. Os carboidratos, por sua vez, não são relatados como substâncias que atuem diretamente no metabolismo fisiológico de percepção química, sendo outros grupos, tais como, proteínas, aminas e hormônios do inseto, os principais responsáveis por esta função (Dickens, 1997; Hildebrand, 1997; Anton & Gadenne, 1999).

Na maioria dos lepidópteros jovens e adultos, os carboidratos, atuam como reserva de energia, as quais auxiliam na manutenção e prolongamento de sistemas vitais, ocasionando um incremento de parâmetros biológicos e comportamentais como a longevidade, número de ovos/fêmea, peso do corpo, período de oviposição e aumento da atividade motora (Panizzi & Parra, 1991; Benz, 1991; Silva *et al.*, 1991; Carroll & Quiring, 1992; Fonseca *et al.*, 2005).

Contudo, em outros lepidópteros, os parâmetros citados não foram influenciados pela presença de carboidratos na alimentação de adultos (Parra, 1999; Bavaresco, 2000). Howell (1981) observou que a fecundidade, a fertilidade, o número de cópulas e as taxas de mortalidade de adultos de *Cydia pomonella* Linnaeus (Lep.: Tortricidae) não diferenciaram significativamente daqueles que receberam alimento (carboidratos e proteínas) ou somente água. No entanto, o autor constatou que adultos alimentados foram mais longevos. Segundo Fonseca *et al.* (2005), em muitos adultos de Tortricidae somente a água é suficiente para manutenção da longevidade e fecundidade em níveis normais, embora, para



algumas espécies, seja necessário açúcares para a manutenção ou incremento do potencial biótico.

De acordo com Slansky & Scriber (1985), em alguns insetos holometábolos a alimentação é ausente ou reduzida durante a fase adulta. O potencial reprodutivo destes fundamenta-se, principalmente, no valor nutricional do alimento adquirido e armazenado durante a fase larval, tendo a alimentação do adulto pouca influência sobre estes fatores.

No bioensaio de olfatometria avaliado, não se observou diferenças significativas da atividade motora quimiotática entre machos alimentados com solução de mel, em comparação com aqueles que receberam somente água ( $P = 0,1835$ ) (Figura 7). Neste caso, é possível que a presença de carboidratos na dieta alimentar de machos não seja um fator decisivo na indução da atividade locomotora ou que a presença do estímulo feromonal, suplemente um déficit físico relacionado à alimentação.

Trabalhos que relatem as implicações da qualidade do alimento na percepção química ao feromônio sexual devem ser conduzidos, para uma melhor compreensão do comportamento reprodutivo de *G. molesta*.

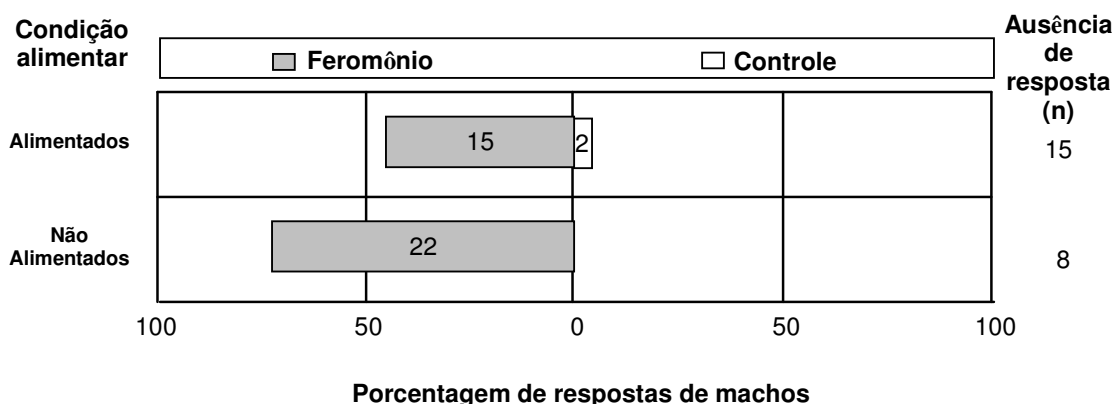


FIGURA 7. Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de machos de *Grapholita molesta*, alimentados ( $n = 32$ ) e não-alimentados ( $n = 30$ ), ao feromônio sexual, em olfatômetro "Y". Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.

#### 4.1.3 Influência do status de cópula na percepção ao feromônio

A percepção eletrofisiológica de machos, não virgens e virgens, de *G. molesta*, ao feromônio sexual, não diferiu estatisticamente ( $P < 0,05$ ,  $F = 27,695$ ) (Tabela 3). O mesmo foi observado quanto ao comportamento quimiotático ( $P = 0,782$ ) (Figura 8). Contudo, as respostas dos machos foram maiores para o tratamento feromônio nos dois biensaios.

TABELA 3. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$  erro padrão) de machos de *Grapholita molesta*, virgens e não virgens, ao feromônio sexual e ao solvente hexano (controle) ( $n = 15$ ).

Tratamento	Status de cópula	
	Machos virgens	Machos não virgens
	(mV $\pm$ EP)	(mV $\pm$ EP)
<b>Feromônio</b>	75,3 $\pm$ 9,637 Aa	60,6 $\pm$ 6,540 Aa
<b>Controle</b>	17,7 $\pm$ 2,296 Ab	10,8 $\pm$ 0,945 Ab

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas, nas linhas, e minúsculas, nas colunas, diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

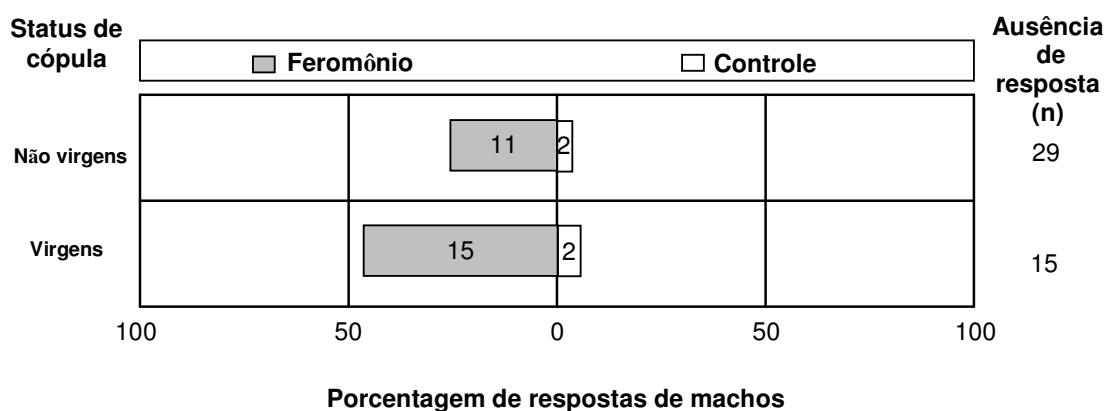


FIGURA 8. Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de machos de *Grapholita molesta*, não virgens ( $n = 42$ ) e virgens ( $n = 32$ ), ao feromônio sexual, em olfatômetro "Y". Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.

Estudos relatando a influência da condição de acasalamento na percepção química de machos sob condições controladas, são escassos. A maioria dos trabalhos publicados refere-se à influência negativa da cópula na capacidade biossintética de produção e liberação de feromônio de fêmeas de lepidópteros (Ando *et al.*, 1996; Delisle *et al.*, 1999).

Contudo, como foi constatado neste trabalho, este fator parece não influenciar a percepção química periférica de machos. Em experimentos realizados por Pearson & Schal (1999), as respostas eletrofisiológicas de machos virgens e não virgens de *Vitacea polistiformis* (Harris) (Lep.: Sesiidae) não diferiram significativamente quando os mesmos foram expostos ao feromônio sexual de fêmeas coespecíficas. Da mesma forma, Gadenne *et al.* (2001) não registraram alterações das respostas eletroantegráficas periféricas em antenas de machos de *A. ipislon* virgens, recém-acasalados (1 hora após a cópula) e com 24 horas após a cópula.

Em trabalhos de campo, Reardon & Sappington (2007) observaram que não houve influência do status de cópula na recaptura de machos de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lep.: Crambidae) em armadilha contendo feromônio sexual sintético. O mesmo foi relatado por Evenden & Gries (2006) em machos de *Choristoneura conflictana* (Walker) (Lep.: Tortricidae). Estes autores, no entanto, constataram que um número superior de indivíduos não virgens foi capturado no período de maior densidade populacional no campo. Sendo assim, esta diferença estaria relacionada à flutuação populacional da espécie e não diretamente à diferença de percepção química relacionada ao status de cópula.

Em *G. molesta*, assim como na maioria dos lepidópteros, os machos são poligênicos, ou seja, copulam com mais de uma fêmea ao longo da vida (Baker & Cardé, 1979; Dustan, 1964). Assim, é relevante para a viabilização de um maior

número de encontros entre casais e, conseqüentemente, para o aumento do potencial biótico da espécie, que a percepção química de machos não se altere com a variação do status de cópula, podendo, desta forma, o macho copular o maior número possível de fêmeas.

Contudo, a constância desta percepção parece não ser a mesma ao longo do período de pós-cópula. De acordo com Gadenne *et al.* (2001), as respostas eletrofisiológicas registradas no complexo antenal glomerular do deutocérebro e o comportamento quimiotáxico, em túnel-de-vento, de machos de *A. ipsilon* recém-acasalados foram menores, quando comparadas com aqueles testados 24 horas após a cópula.

O período refratário de machos, ou seja, o tempo necessário para ocorrência de uma re-cópula parece ser mediado pela presença de hormônios, aminas biogênicas, tais como serotonina e octopamina, ou mesmo de neuropeptídeos que, quando presentes, poderiam modular a sensibilidade dos neurônios do lobo antenal, em resposta ao feromônio de fêmeas coespecíficas (Linn & Roelofs, 1992; Gadenne *et al.*, 2001). A inibição ou ausência de respostas relacionadas à quimiotaxia ou mesmo de comportamento reprodutivo durante o período refratário, como citado para *A. ipsilon* (Gadenne *et al.*, 2001), também pode estar relacionado à quantidade de substâncias protéicas presentes nas glândulas acessórias sexuais dos machos, as quais podem ter um importante papel na regulação da percepção olfativa durante este período.

Segundo Duportets *et al.* (1998), quando os machos de *A. ipsilon* são sexualmente imaturos ou durante o período imediatamente após a cópula, as glândulas acessórias sexuais ficam vazias. Como estas glândulas atuam na formação do espermatóforo, durante este período o macho estaria pouco perceptivo ou mesmo inapto a copular devido à baixa produção e formação de

esperma. A ausência destas proteínas, também poderia influenciar a síntese de neuromoduladores que, por sua vez, também estariam atuando na sensibilidade olfativa nervosa. Os autores sugerem que o período refratário de um dia é necessário para a formação de novos espermátóforos, caso contrário, haveria um gasto desnecessário de energia na cópula, com ausência, ou com uma taxa muito baixa de transferência de esperma.

Os dados de percepção eletrofisiológica e de comportamento quimiotático observados neste trabalho, em machos de *G. molesta*, não evidenciam diferenças de respostas relacionadas ao status reprodutivo. É importante ressaltar, que em todos os tratamentos, os insetos testados tinham acasalado há mais de 24 horas. Desta forma, em *G. molesta*, assim como em *A. ipsilon*, os machos com um período refratário de, pelo menos, 24 horas, parecem estar fisiologicamente aptos a não somente perceber o feromônio sexual de fêmeas, mas também a desenvolver um comportamento quimiotático frente a este estímulo. Bioensaios com machos que tenham realizado cópula recente poderiam elucidar a importância deste fator no comportamento reprodutivo de *G. molesta*.

## **4.2 Bioensaios relativos aos voláteis de plantas**

### **4.2.1 Influência do hospedeiro na percepção química de adultos**

As respostas eletrofisiológicas de fêmeas de *G. molesta* foram significativamente maiores para o extrato de broto de pessegueiro (EBP) ( $23,12 \pm 2,264$  mV), seguido de broto de macieira (EBM) ( $14,34 \pm 1,198$  mV) ( $P < 0,01$ ) (Figura 9). Não houve diferença entre os demais tratamentos e o etanol ( $P = 0,364$ ) ( $F = 18,395$ ).

Resultado semelhante foi encontrado para machos (Figura 10), sendo as respostas eletroantegráficas ao EBP ( $35,24 \pm 3,395$  mV) e EBM ( $26,06 \pm$

2,913 mV) diferentes do controle ( $P < 0,01$ ) e os demais tratamentos, estatisticamente iguais ao etanol ( $P = 0,250$ ) ( $F = 6,938$ ).

As respostas eletrofisiológicas de machos a todos os tratamentos foram superiores às de fêmeas ( $P < 0,01$ ). No entanto, não é possível associar este resultado a uma maior bioatividade destes extratos em antenas de machos, uma vez que as respostas obtidas com o tratamento controle (etanol) também foram significativamente superiores neste sexo. Sendo assim, as diferenças nas médias de despolarização (mV) entre os sexos estão relacionadas à maior sensibilidade das antenas de machos ao solvente etanol.

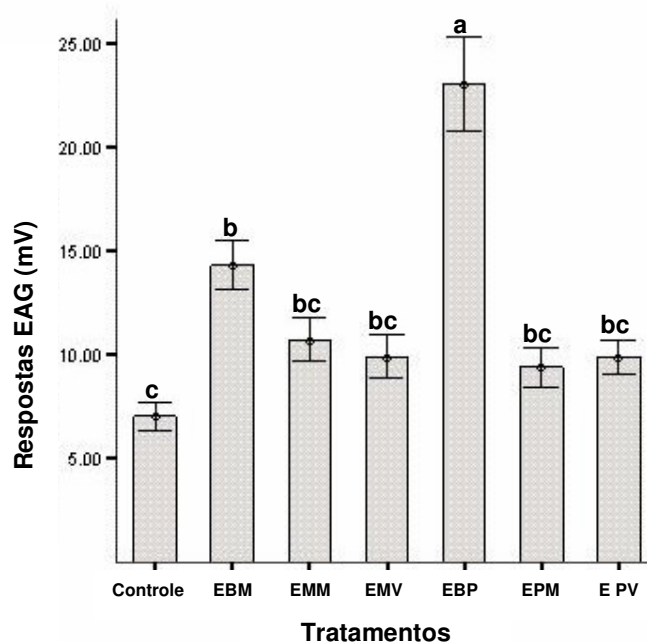


FIGURA 9. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$  erro padrão), em milivolts (mV), de fêmeas de *Grapholita molesta* ( $n = 15$ ) a voláteis de diferentes extratos etanólicos de plantas hospedeiras: EBM = broto de macieira; EMM = maçã madura; EMV = maçã verde; EBP = broto de pessegueiro; EPM = pêssego maduro; EPV = pêssego verde. Barras seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

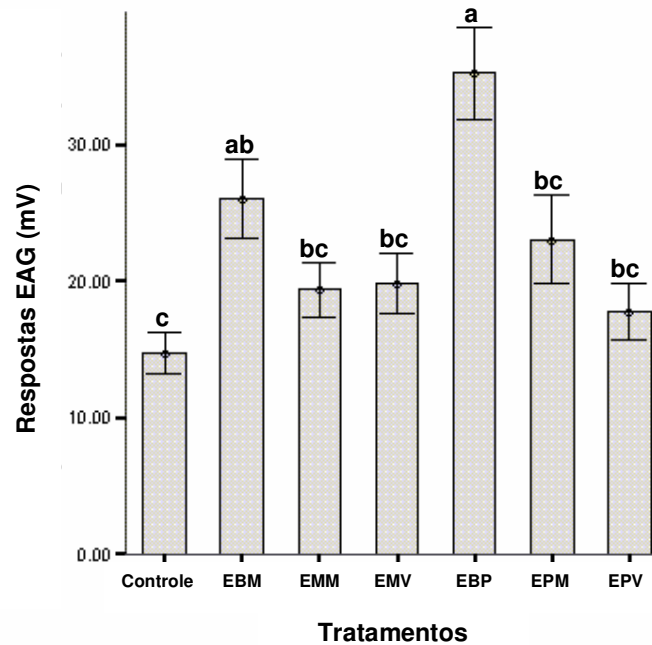


FIGURA 10. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$  erro padrão), em milivolts (mV), de machos de *Grapholita molesta* (n= 15) a voláteis de diferentes extratos etanólicos de plantas hospedeiras: EBM = broto de macieira; EMM = maçã madura; EMV = maçã verde; EBP = broto de pessegueiro; EPM = pêsego maduro; EPV = pêsego verde. Barras seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

A seleção da planta hospedeira por insetos herbívoros é mediada por uma série complexa de fatores evolutivos que envolvem mecanismos de atração e defesa. Segundo Metcalf & Metcalf (1992), os voláteis secundários de plantas, participam de forma expressiva desses mecanismos de interação que irão intermediar, em última análise, a orientação em direção ao recurso e o aceite do hospedeiro. Existe uma especificidade de tipos de substâncias produzidas por cada planta. Além disso, espécies que possuem uma relação taxonômica próxima, geralmente possuem também uma proximidade da qualidade e quantidade de substâncias produzidas e liberadas. Num mesmo organismo vegetal, órgãos distintos, tais como flores, folhas e frutos, em diferentes estádios de maturação, podem apresentar variações na produção e liberação de substâncias químicas. Em *C. pomonella* já foram constatados diferentes níveis de

atratividade aos voláteis emitidos por distintas partes da planta hospedeira e estádios de desenvolvimento (Horvat & Chapman, 1990; Vallat & Dorn, 2005; Casado *et al.*, 2006).

Piñero & Dorn (2007) avaliaram o efeito sinérgico de dez compostos químicos sintéticos, presentes em broto de pessegueiro, na atratividade de fêmeas não virgens de *Cydia* (= *Grapholita*) *molesta*, em olfatômetro de dupla escolha. Os autores concluíram que a mistura de cinco substâncias foi tão atrativa quanto o broto de pessegueiro *in natura*, sendo esta mistura composta por (Z)-3-acetato de hexenila, (Z)-3-hexenol, benzaldeído, (E)-2-hexanal e benzonitrila. Segundo os autores, a presença de benzaldeído e benzonitrila na mistura é fundamental na atratividade de fêmeas. No entanto, quando testados de forma isolada ou em combinação, estes não desencadearam comportamento de atratividade ou de repelência.

Através da análise cromatográfica dos extratos utilizados neste experimento, observou-se que o benzaldeído foi o composto majoritário nas amostras de broto de pessegueiro, resultado este confirmado pelo tempo de retenção de um padrão autêntico injetado. No entanto, este composto não foi detectado em cromatogramas obtidos a partir de extratos do fruto (Fabrício Naciuk, CIENTEC, comunicação pessoal). Desta forma, assim como foi observado por Piñero & Dorn (2007), a presença do benzaldeído no extrato da planta parece ser importante para o aumento da percepção aos voláteis do pessegueiro.

Em macieira, os compostos predominantes são o (Z)-3-acetato de hexenila, (Z)-3-hexenol, (E,E)- $\alpha$ -farneseno, acetato de hexenila, hexanoato de hexenila e germacreno (Hern & Dorn, 1999; Ansebo *et al.*, 2004, Casado *et al.*, 2006). Entretanto, não foi feita análise cromatográfica comparativa entre os



extratos de macieira utilizadas neste bioensaio para justificar quimicamente o resultado superior apresentado pelo broto de macieira.

Apesar das variações entre o tipo e a quantidade de voláteis em determinadas partes e/ou fases de desenvolvimento da planta, Natale *et al.* (2003), em olfatômetro, não encontraram diferenças na percepção quimiotáxica de fêmeas de *C. pomonella* a brotos de pessegueiro e de macieira. Em *C. molesta* (= *G. molesta*) foi observado comportamento semelhante, ou seja, tanto voláteis emitidos por pêssago como por maçã, verdes e maduros, foram atrativos a fêmeas não virgens (Natale *et al.*, 2004).

Neste estudo, observou-se que as respostas, tanto de machos quanto de fêmeas, foram significativamente maiores aos extratos de broto de pessegueiro e de macieira. Resultados semelhantes foram registrados por Gökçe *et al.* (2006). Segundo os autores, as respostas das antenas de machos e fêmeas de *Paralobesia viteana* (Clemens) (Lep.: Tortricidae), não diferiram significativamente, quando as mesmas foram estimuladas com extratos de quatro plantas não hospedeiras desta espécie. Ansebo *et al.* (2004) não observaram diferenças de percepção entre os sexos comparando as respostas eletroantegráficas de antenas de adultos de *C. pomonella* a diversas substâncias secundárias sintéticas presentes em extratos de maçã. Entretanto, a campo, apenas (*E,E*)- $\beta$ -farneseno atraiu significativamente mais machos, não havendo influência das demais substâncias na atratividade de ambos os sexos.

A percepção química aos voláteis de planta, de modo geral, é realizada por machos e fêmeas. No entanto, supõe-se que, em *G. molesta*, os sexos utilizem esta percepção para desempenhar, principalmente, duas funções biológicas distintas. Para machos e fêmeas, os voláteis secundários teriam o objetivo de orientar os parceiros sexuais para possíveis sítios de cópula. Já as fêmeas,

utilizariam este recurso para localizar sítios de oviposição, os quais estariam relacionados a hospedeiros palatáveis para sua prole (Metcalf & Metcalf, 1992).

#### **4.2.2 Influência do status de cópula na percepção química de fêmeas**

As médias das respostas eletroantenográficas periféricas de fêmeas virgens e não virgens de 4, 7 e 13 dias, não diferiram significativamente quando estimuladas com voláteis provenientes do broto de pessegueiro ( $P > 0,05$ ,  $F= 4,076$ ). No entanto, fêmeas não virgens de dez dias foram mais responsivas a esta fonte de estímulo do que as fêmeas virgens ( $P < 0,05$ ,  $F= 5,423$ ) (Tabela 4).

Masante-Roca *et al.* (2002) testaram as respostas do lobo antenal (LA) de machos e fêmeas de *Lobesia botrana* (Denis e Schiffermüller) (Lep.: Tortricidae) e concluíram que as respostas a 13 voláteis presentes em videiras não diferiram significativamente nos neurônios testados, independentemente do sexo e do status de cópula. Apesar de não haver diferença estatística, os autores constataram uma tendência de respostas maiores dos neurônios presentes no LA de fêmeas não virgens, em detrimento da de machos não virgens e de fêmeas virgens.

Esta tendência também foi observada neste trabalho em bioensaios comportamentais (olfatometria). De acordo com os resultados obtidos, o status de cópula parece ter influenciado a percepção de fêmeas aos voláteis presentes neste extrato, já que sete fêmeas não virgens foram atraídas pelos voláteis do broto de pessegueiro, em contraste com apenas uma virgem (Figura 11). Entretanto, por ter havido um grande número de fêmeas, independentemente do status de cópula e do tratamento, que não responderam aos odores (ausência de resposta), não foi possível realizar a análise estatística comparativa entre

respostas positivas e negativas, para confirmação da significância deste resultado).

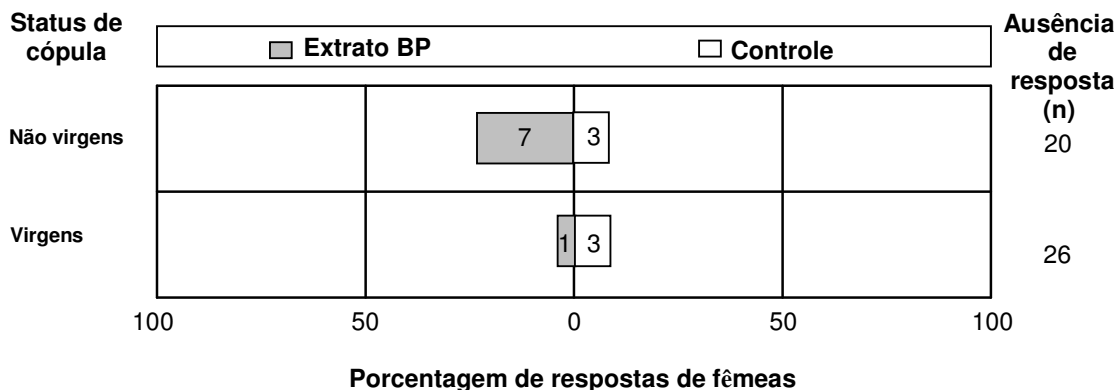


FIGURA 11. Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de fêmeas de *Grapholita molesta*, não virgens (n= 30) e virgens (n= 30), ao extrato etanólico de broto de pessegueiro (EBP), em olfatômetro “Y”. Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.

Resultado semelhante, em experimentos de olfatometria, foi observado para *C. molesta* por Natale *et al.* (2004). No referido trabalho, fêmeas virgens não responderam aos voláteis de pêssigo e maçã, verdes e maduros, enquanto as não virgens foram atraídas por todos, não havendo diferenças significativas no comportamento quimiotáxico, independentemente da fonte de estímulo. Em túnel-de-vento, fêmeas virgens e não virgens de *C. pomonella* foram mais ativas (antenação e aquecimento de asas) na presença de voláteis de maçã do que na ausência destes. No entanto, somente as fêmeas não virgens alçaram vôo em direção à fonte de odor (Yan *et al* 1999).

As maiores respostas quimiotáxicas atribuídas a fêmeas não virgens, em bioensaios comportamentais, corroboram a idéia de que estas teriam um aumento da sensibilidade odorífera aos voláteis da planta hospedeira, em função da necessidade de orientação rápida e seletiva a hospedeiros que propiciariam o encontro do melhor sítio de oviposição e, assim, maximizasse as

TABELA 4. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$  erro padrão), em milivolts (mV), de fêmeas virgens e não virgens de *Grapholita molesta* de diferentes idades aos voláteis emitidos pelo extrato etanólico de broto de pessegueiro (n= 10).

Status de cópula	Idade (dias)			
	4	7	10	13
Virgens	9,60 $\pm$ 2,209 Ba	13,95 $\pm$ 1,942 Aa	12,35 $\pm$ 1,921 ABb	5,35 $\pm$ 2,222 Ba
Não virgens	21,95 $\pm$ 2,523 Ba	31,20 $\pm$ 3,963 Aa	29,80 $\pm$ 3,979 Aa	18,35 $\pm$ 4,519 Ba

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas, nas linhas, e minúsculas, nas colunas, diferem entre si (P < 0,05).

taxas de sobrevivência de prole (Metcalf & Metcalf, 1992).

#### **4.2.3 Influência da idade na percepção química de fêmeas**

As respostas de fêmeas virgens de sete dias foram significativamente maiores que as de quatro e as de 13 dias ( $P < 0,05$ ), não diferindo estatisticamente das fêmeas de dez dias ( $P = 0,0631$ ) ( $F = 3,747$ ). Fêmeas não virgens de dez dias desencadearam maiores respostas eletrofisiológicas, diferindo estatisticamente das de quatro ( $P < 0,05$ ) e 13 dias ( $P < 0,01$ ) e igualando com as de sete dias ( $P = 0,6305$ ) ( $F = 5,554$ ) (Tabela 4).

Sendo assim, não somente o status de cópula influencia a percepção de fêmeas aos voláteis da planta hospedeira, mas também a idade dos indivíduos pode interferir na resposta eletroantegráfica.

A maior percepção foi observada na faixa de sete a dez dias de idade, no entanto fêmeas não virgens de dez dias foram mais responsivas que as virgens. Não foram encontrados na literatura, registros que comparassem a percepção de fêmeas de diferentes idades associadas ao status de cópula, em relação à sensibilidade aos voláteis de plantas hospedeiras. O fato das fêmeas de *G. molesta* serem mais perceptivas nas idades intermediárias testadas, pode estar relacionado a ser este o período de maior atividade reprodutiva, em busca de sítios de cópula (fêmeas virgens) e/ou oviposição. Porém, a cópula, como visto anteriormente, na idade de dez dias, parece desencadear mecanismos biossintéticos que promovem uma otimização da capacidade perceptiva de fêmeas na identificação e localização do hospedeiro.

Levando-se em consideração que a longevidade média de fêmeas, segundo Alfonso & Marín (2004), é de 16,28 dias, seria razoável supor que no período de sete a dez dias estejam no ápice de suas sensibilidades olfativas,

relacionadas à localização da planta hospedeira, possivelmente, porque nesta fase, para a maioria destes indivíduos, já tenha ocorrido a cópula. Além disso, observou-se que o período de oviposição de fêmeas não virgens no primeiro dia de emergência, só inicia três dias após a cópula e estende-se até o décimo primeiro, com pico de fecundidade e fertilidade por volta do oitavo dia (Rosana Matos de Moraes, UFRGS, comunicação pessoal).

#### **4.2.4 Influência da condição alimentar na percepção química de adultos**

Não houve diferença significativa na percepção eletrofisiológica de fêmeas e machos aos voláteis de plantas hospedeiras, em função da condição alimentar ( $P > 0,05$ ). Não foram encontrados trabalhos que avaliassem a influência do fator alimentação, a base de carboidratos, na percepção olfativa a voláteis de plantas hospedeiras. Contudo, acredita-se que os mecanismos de seletividade e sensibilidade química a esses voláteis sejam similares àqueles discutidos no item 4.1.2, ou seja, os açúcares não participariam diretamente das rotas biossintéticas de substâncias envolvidas na percepção química, sendo as proteínas, aminas e hormônios, os principais responsáveis por esta função (Dickens, 1997; Hildebrand, 1997; Anton & Gadenne, 1999).

Trabalhos que avaliem fatores nutricionais da dieta de adultos na percepção a feromônios e plantas hospedeiras em *G. molesta*, poderiam elucidar, pelo menos em parte, a importância desta variável.

#### **4.2.5 Influência da interação com feromônio na percepção química de machos**

Todos os tratamentos com EBP e/ou feromônio diferiram significativamente dos solventes ( $P < 0,01$ ). Observou-se efeito aditivo nas respostas eletrofisiológicas de antenas de machos de *G. molesta* quando as

mesmas foram estimuladas com a mistura do feromônio sexual e o extrato de broto de pessegueiro. No entanto, esta interação só foi significativamente diferente do tratamento feromônio, quando o volume de extrato adicionado a este, foi de 7,5  $\mu$ L (47,93 mV  $\pm$  2,896) ( $P < 0,01$ ,  $F = 27,234$ ) (Figura 12).

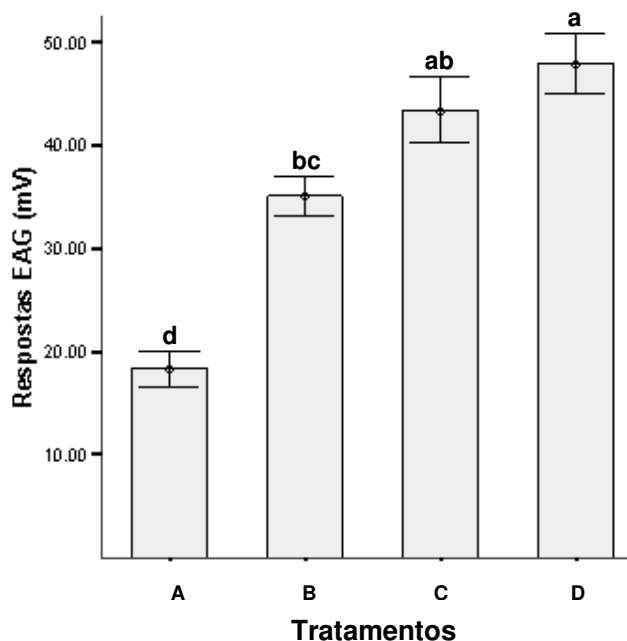


FIGURA 12. Médias das respostas eletrofisiológicas ( $\pm$  erro padrão), em milivolts (mV), de machos de *Grapholita molesta* ( $n = 15$ ) ao feromônio sexual, ao extrato etanólico de broto de pessegueiro, ou a combinações destes. A = extrato de broto de pessegueiro (EBP); B = feromônio; C = feromônio + 5  $\mu$ L de EBP; D = feromônio + 7,5  $\mu$ L de EBP. Barras seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P < 0,01$ ).

Os bioensaios comportamentais, não corroboraram o observado em eletroantenografia, ou seja, não foram constatados efeitos aditivos e/ou sinérgicos entre o feromônio e extrato do broto do pessegueiro ( $P = 0,281$ ,  $F = 8,245$ ) (Figura 13).

Estes resultados evidenciam que a percepção das antenas de machos de *G. molesta* aumenta com a adição de voláteis de planta ao feromônio sintético. Sendo assim, para que os mecanismos de ativação eletrofisiológicos ocorram, é

necessário que chegue à antena deste inseto uma quantidade mínima de substâncias bioativas, capaz de desencadear uma resposta elétrica.

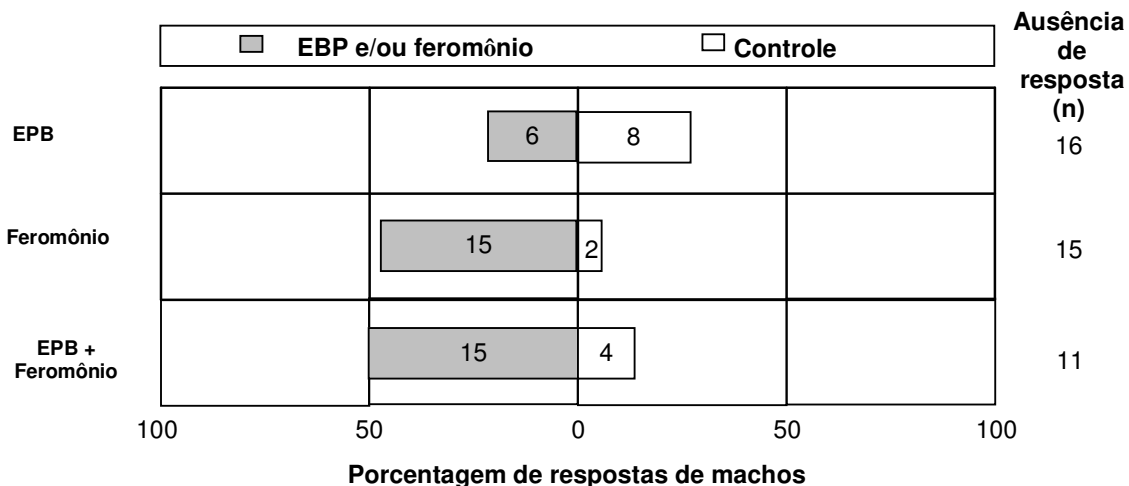


FIGURA 13. Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de machos de *Grapholita molesta* ao extrato etanólico de broto de pessegueiro (EPB) (n= 30), ao feromônio sexual (n= 32) e a interação destes dois (n= 30), em olfatômetro “Y”. Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.

Os mecanismos de ativação do comportamento quimiotático, por sua vez, são mais complexos, e dependerão não somente da qualidade e quantidade de estímulo, mas também de fatores exógenos e endógenos, vinculados, principalmente, a variações no sistema endócrino (Kerkut & Gilbert, 1985). Ansebo *et al.* (2004), por exemplo, observaram que 38 voláteis secundários de maçã desencadearam altas respostas eletroantegráficas em *C. pomonella*. No entanto, segundo Yang *et al.* (2004), entre diversos voláteis de maçã, apenas farneseno, em altas concentrações, foi capaz de estimular o comportamento de vôo desta espécie. Estes mesmos autores observaram que existe um efeito sinérgico, em túnel-de-vento, entre o feromônio sexual de *C. pomonella* (*E,E*-8,10-dodecadienol), conhecido como codlemone, em mistura com três voláteis secundários de maçã: linalol, (*E*)- $\beta$ -farneseno, (*Z*)-3-hexenol. Além disso, também



foi observado que a taxa de liberação dos voláteis da planta influencia a atratividade dos machos a fonte de estímulo, sendo a taxa de liberação igual a 1 pg/min do codlenome para 100 pg/min de cada um dos voláteis testados, a mais responsiva, havendo diminuição da resposta nas taxas de 1:1 e 1:10.000 pg/min, respectivamente. Em bioensaios de campo, a captura de machos de *C. pomonella* foi incrementada com a adição de voláteis de plantas às armadilhas de feromônio (Light *et al.*, 1993).

Ochieng *et al.* (2002) observaram que neurônios receptores de estímulos químicos em antenas de machos de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae) são mais responsivos quando estimulados com a mistura de feromônio sexual e voláteis de planta, tais como linalol e (Z)-3-hexenol, do que quando submetidos a estes infoquímicos isoladamente.

Em termos ecológicos, a interação entre voláteis de planta e feromônio pode representar uma importante pista química utilizada por insetos para facilitar o encontro de parceiros sexuais em sítios de cópula. De acordo com Yang *et al.* (2004) alguns voláteis de maçã, como o (E)- $\beta$ -farneseno, podem amplificar a atratividade de machos de *C. pomonella* quando a comunicação química intra-específica entre os sexos é fraca. Além disso, esta interação também pode ser um fator relevante no isolamento reprodutivo de espécies. Witzgall *et al.* (1991) observaram que as fêmeas de *Spilonota ocellana* (Denis & Schiffermüller) e *S. laricana* (Heinemann) (Lep.: Tortricidae) compartilham o mesmo feromônio sexual. No entanto, a captura de machos de cada uma das espécies em armadilhas de campo, é diretamente influenciada pelo tipo de hospedeiro onde a armadilha é colocada, ou seja, machos de *S. ocellana* são atraídos em armadilhas colocadas em macieiras, enquanto que os de *S. laricana*, nas armadilhas de feromônio situadas em pinheiro.

Os resultados deste trabalho fornecem informações relevantes a respeito da interferência de fatores fisiológicos e fenológicos na comunicação química de *G. molesta*.

A possibilidade de não haver interferência do status de cópula e da condição alimentar na captura de machos a campo, é um resultado positivo, que sustenta a confiabilidade da técnica de monitoramento. Desta forma, não se estaria subestimando a densidade populacional do inseto em armadilhas em virtude destes fatores. Apesar da percepção química diminuir com o aumento da idade e, possivelmente, haver menor captura de machos velhos, este parece não ser um fator relevante na interpretação da armadilha, já que estes machos teriam um menor número de encontros para cópula com fêmeas coespecíficas e, conseqüentemente, sua população não influenciaria significativamente na prole da geração seguinte. Além disso, machos não virgens ou virgens, independentemente da condição alimentar, estariam sujeitos aos mesmos mecanismos de desorientação utilizados na técnica de confusão sexual.

O fato de ambos os sexos serem mais seletivos ao extrato do broto de pessegueiro, e este ter efeito aditivo na percepção eletroantegráfica, quando em combinação com o feromônio, sugere que substâncias bioativas presentes neste extrato, como o benzaldeído, possam ser empregadas em armadilhas de campo, possibilitando a captura de ambos os sexos, o que, com certeza, potencializaria a viabilização desta ferramenta em agroecossistemas.

## 5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente estudo e nas condições em que foram realizados os bioensaios, foi possível concluir que:

- a idade, o status de cópula e a condição alimentar não interferem na percepção eletroantegráfica de machos de *Grapholita molesta* ao feromônio;
- o comportamento quimiotáxico de machos de *Grapholita molesta*, em direção ao feromônio, diminui com o avanço da idade e não é influenciado pelo status de cópula e condição alimentar;
- o extrato de broto de pessegueiro desencadeia as maiores respostas eletroantegráficas de *Grapholita molesta*, em ambos os sexos;
- o status de cópula de fêmeas e a condição alimentar, em ambos os sexos, não interferem na percepção eletroantegráfica de *Grapholita molesta* ao broto de pessegueiro;
- a percepção eletroantegráfica de fêmeas de *Grapholita molesta* ao broto de pessegueiro varia com a idade;

- os voláteis de broto de pessegueiro provocam um efeito aditivo na percepção eletroantegráfica de machos de *Grapholita molesta* ao feromônio;
- a interação de voláteis de broto de pessegueiro com feromônio, não interfere no comportamento quimiotático de machos de *Grapholita molesta*.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, A. P. S. **Controle da *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) no sistema de produção integrada de pêssegos.** Pelotas : UFPel, 2001. 74 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2001.

AGAPOMI - Associação Gaúcha dos Produtores de Maçã/ Vacaria, RS, 2006-2007. **Contém informações institucionais, técnicas, notícias, publicações e dados estatísticos.** Disponível em: <http://www.agapomi.com.br/dadosestatisticos.php>. Acesso em: 20 jan. 2008.

AGROFIT. Brasília. **Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários, 2003-2007.** Contém informações institucionais, técnicas, notícias e publicações. Disponível em: [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 20 jan. 2008.

ALFONSO, A. M.; MARÍN, M. S. *Grapholita molesta* em condiciones de laboratorio: evaluación de la relación de sexos. **Revista de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**, Córdoba, v. 36, n. 2, p. 23-29, 2004.

ANDO, T. *et al.* Termination of sex pheromone production in mated females of the silkworm moth. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, Nova Iorque, v. 31, p. 207-218, 1996.

ANSEBO, L. *et al.* Antennal and behavioural response of codling moth *Cydia pomonella* to plant volatiles. **Journal of Applied Entomology**, Berlim, v. 128, n. 7, p. 488-493, 2004.

ANTON, S.; GADENNE, C. Effect of juvenile hormone on the central nervous processing of sex pheromone in an insect. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 96, p. 5764-5767, 1999.

ARIOLI, C. J. **Técnica de criação e controle de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) na cultura da macieira.** Pelotas : UFPel, 2008. 83 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Fitossanidade - Entomologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

AUBERT, C.; MILHET, C. Distribution of the volatile compounds in the different parts of a white-fleshed peach (*Prunus persica* L. Batsch). **Food Chemistry**, Londres, v. 102, n. 1, p. 375-384, 2007.

BAKER, T. C.; CARDÉ, R. T. Courtship behavior of the oriental fruit moth (*Grapholitha molesta*): experimental analysis and consideration of the role of sexual selection in the evolution of courtship pheromones in the Lepidoptera. **Annals of the Entomological Society of América**, College Park, v. 72, p. 173-188, 1979.

BAVARESCO, A. **Efeito de dietas naturais e artificiais sobre o desenvolvimento de *Spodoptera latifascia* (Walker, 1856) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Pelotas : UFPel, 2000. 83 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2000.

BENZ, G. Physiology reproduction and ecology. In: VANDER GEEST, L.P.S; EVENHUIS, H.H. **Tortricid pests, their biology, natural enemies and control: world crop pests**. Amsterdam: Elsevier Science, 1991. p. 89-147.

BERNAYS, E. A.; CHAPMAN, R. F. **Host-plant selection by phytophagous insects**. Londres: Chapman & Hall, 1994. 312 p.

BESSON, J.; JOLY, E. La tordense orientale du pêcher. **Revue de Zoologie Agricole et de Pathologie Végétale**, Talence, v. 75, p. 1-22, 1976.

BIASI, L. A. *et al.* Cultivares de fruteiras de caroço. In: MONTEIRO, L. B. *et al.* **Fruteiras de caroço – Uma visão ecológica**. Curitiba: UFPR, 2004. 309 p.

BUTT, B. A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae**. Washington: United States, Department of Agriculture, 1962. 7p.

CARDÉ, R. T.; MINKS, A. K. Control of moth pests by mating disruption: successes and constraints. **Annual Review of Entomology**, Standford, v. 40, p. 559-585, 1995.

CARROL, A. L.; QUIRING, D. T. Sucrose ingestion by *Zeiraphera canadensis* mut and free (Lepidoptera: Tortricidae) increases longevity and lifetime fecundity but not oviposition rate. **Canadian Entomologist**, Ottawa v. 124, n. 2, p. 335-340, 1992.

CASADO, D. *et al.* Day-night and phenological variation of apple tree volatiles and electroantennogram responses in *Cydia pomonella* (Lepidoptera : Tortricidae). **Environmental Entomology**, Cambridge, v. 35, n. 2, p. 258-267, 2006.

CHRISTENSEN, T. A. Anatomical and physiological diversity in the central processing of sex-pheromone information in different moth species. In: CARDÉ, R.T.; MINKS, A.K. (Ed.) **Insect pheromone research: new directions**. New York: Chapman & Hall, 1997. p.184-193.

CORRÊA, A.; SANT'ANA, J. Ecologia química de insetos. In: CORRÊA, A.G.; VIEIRA, P.C. (Orgs.). **Produtos naturais no controle de insetos**. São Carlos: UFSCar, 2007. p. 9-17.

DELISLE, J.; PICIMBON, J.; SIMARD, J. Regulation of pheromone inhibition in mated females of *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 46, p. 913-921, 1999.

DENG, J. Y. *et al.* Enhancement of attraction to sex pheromones of *Spodoptera exigua* by volatile compounds produced by host plants. **Journal of Chemical Ecology**, Nova Iorque, v. 30, p. 2037-2045, 2004.

DICKE, M.; SABELIS, M. W. Infochemical terminology: should it be based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? **Functional Ecology**, Oxford, v. 2, p. 131-139, 1988.

DICKENS, J. Neurobiology of pheromonal signal processing in insects. In: CARDÉ, R.T.; MINKS, A.K. (Ed.) **Insect pheromone research: new directions**. New York: Chapman & Hall, 1997. p. 210-217.

DUPORTETS, L. *et al.* Biosynthetic activity of corpora allata, growth of sex accessory glands and mating in the male moth *Agrotis ipsilon* (Hufnagel). **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 201, n. 16, p. 2425-2432, 1998.

DUSTAN, G. G. Mating behaviour of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Olethreutidae). **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 96, p. 1087-1093, 1964.

EMATER/RS-ASCAR. **Levantamento de frutífera comercial do Rio Grande do Sul 2003/2004**. Porto Alegre, 2004. 89 p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa da Uva e Vinho. Bento Gonçalves, 2003. **Contém informações sobre sistemas de produção de pêssego de mesa na região da serra gaúcha**. Disponível em: < <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessegueo/PessegodeMesaRegiaoSerraGaucha/index.htm> >. Acesso em: 20 jan. 2008.

EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. Pelotas, 2005. **Contém informações sobre sistemas de produção, Cultivo do pessegueiro**. 2005. Disponível em: < <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessegueo/CultivodoPessegueiro/index.htm> >. Acesso em: 20 jan. 2008.

EVENDEN, M. L.; GRIES, R. Sex pheromone of the large aspen tortrix, *Choristoneura conflictana* (Lepidoptera: Tortricidae). **Chemoecology**, Bruxelas, v.16, p.115-122, 2006.

FONSECA, F. L. da *et al.* Efeito de dietas artificiais para a alimentação de adultos de *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae), em laboratório. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p.1229-1233, 2005.

GADENNE, C.; ANTON, S. Central processing of sex pheromone stimuli is differentially regulated by juvenile hormone in a male moth. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 46, p. 1195-1206, 2000.

GADENNE, C.; DUFOUR, M.; ANTON, S. Transient post-mating inhibition of behavioural and central nervous responses to sex pheromone in an insect. **Proceedings of the Royal Society of London**, Londres, v. 268, p. 1631-1635, 2001.

GADENNE, C.; RENOUE, M.; STRENG, L. Hormonal control of sex pheromone responsiveness in the male black cutworm, *Agrotis ipsilon*. **Experientia**, Basel, v. 49, p. 721-724, 1993.

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

GÖKÇE, A. *et al.* Behavioural and electrophysiological responses of grape berry moth (Lep.: Tortricidae) to selected plants extracts. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 130, n. 9-10, p. 509-514, 2006.

GONZALEZ, R. H. Fenologia de la grapholita o polilia oriental del durazno. **Aconex**, Melbourne, v. 12, p. 5-12, 1989.

GRELLMANN, E. O. *et al.* Ciclo evolutivo de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera – Olethreutidae) em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, p. 21-26, 1991.

GRELLMANN, E. O. *et al.* Necessidades térmicas e estimativa do número de gerações de *Grapholita molesta* (Busck 1916) (Lepidoptera: Olethreutidae) em Pelotas, RS. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 7, p. 999-1004, 1992.

HANSSON, B. S. Olfaction in Lepidoptera. **Experientia**, Basel, v. 51, n.11, p.1003-1027, 1995.

HARDEE, D. D. *et al.* Survey and control of the boll weevil in West Texas with traps baited with males. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 63, p. 1041-1048, 1970.

HENNEBERRY, T. J.; CLAYTON, T. E. Time of emergence, mating, sperm movement, and transfer of ejaculatory duct secretory fluid by *Heiothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) under reversed light-dark cycle laboratory conditions. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v.77, p.3, p. 301-305, 1984.

HERN, A.; DORN, S. Sexual dimorphism in the olfactory orientation of adult *Cydia pomonella* in response to  $\alpha$  farnesene. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, Dordrecht, v. 92, p. 63-72, 1999.

HILDEBRAND, J. G. Sensory processing of pheromone signals. In: CARDÉ, R.T.; MINKS, A.K. (Ed.) **Insect pheromone research: new directions**. New York: Chapman & Hall, 1997. p.111-114.

HORVAT, R. J.; CHAPMAN, G. W. Comparison of volatile compounds from peach fruit and leaves (cv. Monroe) during maturation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 38, p. 1442-1444, 1990.



HOWELL, J. F. Codling moth: the effect of adult diet on longevity, fecundity, fertility, and mating. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 74, n. 1, p.13-18, 1981.

IVALDI-SENDER, C. Techniques simples pour um élevage permanent de la tordeuse orientale, *Grapholita molesta* (Lepidoptera, Tortricidae) sur milieu artificiel. **Annales Zoologie Ecologie Animale**, Paris, v. 6, n. 2, p. 337-343, 1974.

KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. **Comprehensive insect physiology: biochemistry and pharmacology**. Oxford: Pergamon Press, 1985. v. 9, 735 p.

KOVANCI, O. B. *et al.* Comparison of Mating Disruption with Pesticides for Management of Oriental Fruit Moth (Lepidoptera: Tortricidae) in North Carolina Apple Orchards. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 98, n. 4, p. 1248-1258, 2005.

LIGHT, D. M. *et al.* Host-plant green-leaf volatiles synergize the synthetic sex pheromones of the corn earworm and codling moth (Lepidoptera). **Chemoecology**, Bruxelles, v. 4, p. 145-152, 1993.

LINN, C. E. *et al.* The effects of different blend ratios and temperature on the active space of the oriental fruit moth sex-pheromone. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 16, p. 211-222, 1991.

LINN, C. E.; ROELOFS, W. Role of photoperiod cues in regulating the modulatory action of octopamine on pheromone-response thresholds in the cabbage looper moth. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, Nova Iorque, v.20, 285-302, 1992.

LORENZATO, D. Lepidópteros nocivos em frutíferas rosáceas no sul do Brasil. **Ipagro Informa**, Dourados, v. 3, p. 71-78, 1988.

MANDAIL, J. C. M. Economia da produção. In: MEDEIROS, C. A. B.; RASEIRA, M. do C. B. **A cultura do pessegueiro**. Brasília: Embrapa-CPACT, 1998. 351 p.

MASANTE-ROCA, I. *et al.* Plant odour processing in the antennal lobe of male and female grapevine moths, *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 48, p. 1111-1121, 2002.

MASSON, C.; ARNOLD, G. Ontogeny, maturation and plasticity of the olfactory system in the workerbee. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 30, n. 1, p. 7-14, 1984.

MELLO, L. M. R. **Produção de mercado brasileiro de maçã**. Bento Gonçalves: Embrapa-CNPV, 2004. 4 p. (Embrapa-CNPV. Comunicado Técnico, 50).

METCALF, R. L.; METCALF, E. R. **Plant kairomones in insect ecology and control: contemporary topics in entomology 1**. Londres: Chapman & Hall, 1992. 168 p.

MONTEIRO, L. B.; HICKEL, E. Introdução à fruteiras de caroço. In: MONTEIRO, L. B. **Fruteiras de caroço : Uma visão ecológica**. Curitiba: UFPR, 2004. 309 p.

MYERS, C. T.; HULL, L. A.; KRAWCZYK, G. Comparative survival rates of oriental fruit moth (Lepidoptera : Tortricidae) larvae on shoots and fruit of apple and peach. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 99, n. 4, p. 1299-1309, 2006.

NATALE, D. *et al.* Response of female *Cydia molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) to plant derived volatiles. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 93, p. 335-342, 2003.

NATALE, D. *et al.* Apple and peach fruit volatiles and the apple constituent butyl hexanoate attract female oriental fruit moth, *Cydia molesta*, in the laboratory. **Journal of Applied Entomology**, Berlim, v. 128, p. 22-27, 2004.

OCHIENG, S. A.; PARK, K. C.; BAKER, T. C. Host plant volatiles synergize responses of sex pheromone-specific olfactory receptor neurons in male *Helicoverpa zea*. **Journal of Comparative Physiology**, Nova Iorque, v. 188, p. 325-333, 2002.

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. 359 p.

PARRA, J. R. P. *et al.* Efeito da Nutrição de Adultos e da Umidade na Fecundidade de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 49-57, 1999.

PEARSON, G. A.; SCHAL, C. Electroantennogram responses of both sexes of grape root borer (Lepidoptera: Sesiidae) to synthetic female sex pheromone. **Environmental Entomology**, Cambridge, v. 28, p. 943-946, 1999.

PIÑERO, J. C.; DORN, S. Synergism between aromatic compounds and green leaf volatiles derived from the host plant underlies female attraction in the oriental fruit moth. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 125, n. 2, p. 185-194, 2007.

POLTRONIERI, A. S.; MONTEIRO, L. B.; SCHUBER, J. M. Prospecção da diapausa da mariposa-oriental no período de dormência do pessegueiro. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 67-72, 2008.

PRESTWICH, G. D.; DU, G. Pheromone-binding proteins, pheromone recognition, and signal transduction in moth olfaction. In: CARDÉ, R.T.; MINKS, A.K. (Ed.) **Insect pheromone research: new directions**. New York: Chapman & Hall, 1997. p. 131-143.

PROSHOLD, F. I. Mating status of Tobacco Budworm (Lepidoptera: Tortricidae) males captured in pheromone traps compared with males and females collected at night by hand. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 84, n. 5, p. 1492-1498, 1991.

RAINA, A.K. Control of pheromone production in moth. In: CARDÉ, R.T. & MINKS, A.K. (Ed.) **Insect pheromone research: new directions**. New York: Chapman & Hall, 1997. p.21-30.

REARDON, B. J.; SAPPINGTON, T. W. Effect of age and mating status on adult European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) dispersal from small-grain aggregation plots. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 100, n. 4, p. 1116-1123, 2007.

REICHART, G.; BONDOR, J. Biology of the oriental fruit moth (*Grapholita molesta* Busk). **Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae**, Budapeste, v. 7, p. 279-295, 1972.

RICE, R. E. *et al.* Monitoring and modeling oriental fruit moth in California. **California Agriculture**, Berkeley, v. 6, p. 11-12, 1982.

ROELOFS, W. L.; COMEAU, A. Sex pheromone perception: electroantennogram responses of the red-banded leaf roller moth. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 17, n. 10, p. 1969-1982, 1971.

ROSENTHAL, M. A.; LOECK, A. E. Infestação natural de pêsegos, maçãs e marmelos pela mariposa oriental *Grapholita molesta* (Busk). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 561-563, 1994.

SALLES, L. A. B.; MARINI, L. H. Avaliação de uma formulação de feromônio de confundimento no controle de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera, Tortricidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 18, n. 2, p. 329-336, 1989.

SALLES, L. A. B. Principais pragas e seu controle. In: MEDEIROS, C.A.B. ; RASEIRA, M. do C. B. **A cultura do pessegueiro**. Brasília: Embrapa- CPACT, 1998. 351 p.

SALLES, L. A. Mariposa-oriental, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). In: VILELLA, E.F. *et al.* (ed.) **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 42-45.

SEABROOK, W. D. *et al.* Maturation and senescence of an insect chemosensory response. **Journal of Chemical Ecology**, Nova Iorque, v.5, n.4, p.587-594, 1979.

SCHAL, C.; LIANG, D.; BLOMQUIST, G.L. Neural and endocrine control of pheromone production and release in cockroaches. In: CARDÉ, R.T.; MINKS, A.K. (Ed.) **Insect pheromone research: new directions**. New York: Chapman & Hall, 1997. p.3-20.

SIDRA. Brasília. [Desenvolvido pelo] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Apresenta informações estatísticas**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 20 jan. 2008.

SILVA, A. G. *et al.* **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil**. Rio de Janeiro: MARA-SDSV, 1962. 622 p.

SILVA, R. A. da *et al.* Efeitos de diferentes dietas na biologia da fase adulta de *Mocis latipes* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, 1991.

SLANSKY, J. F.; SCRIBER, J. M. Food consumption and utilization. In: KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. (Eds.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. Pergamom: [s.n.], 1985. 4 v., p. 165-211.

SOUZA, B. *et al.* Ocorrência de danos de *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) em pessegueiros no município de Caldas - MG. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 185-188, 2000.

STELINSKI, L. L. *et al.* Increased EAG responses of tortricid moths after prolonged exposure to plant volatiles: Evidence for octopamine-mediated sensitization. **Journal of Insect Physiology**, v. 49, p. 845-856, 2003.

SZÖCS, G.; TÓTH, M. Daily rhythm and age dependence of female calling behaviour and male responsiveness to sex pheromone in the gamma moth, *Autographa gamma* (L.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae**, Budapeste, v. 14, p. 453-459, 1979.

TOMESCU, N. *et al.* Influence of light and age on the response of males of *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae) to sexual pheromone. **Studia Universitatis Babeş-Bolyai, Series Biologia**, Cluj-Napoca, v. 26, p. 43-47, 1981.

TÓTH, M. Pheromone-related behaviour of *Mamestra suasa* (Schiff.): daily rhythm and age dependence. **Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae**, Budapeste, v. 14, p. 189-194, 1979.

TRIMBLE, R. M.; MARSHALL, D. B. Quantitative method for pheromone delivery in studies of sensory of moth antennae. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 32, p. 388-393, 2007.

TURGEON, J. J.; McNEIL, J. N.; ROELOFS, W. L. Responsiveness of *Pseudaletia unipuncta* males to the sex pheromone. **Physiological Entomology**, Oxford, v.8, p. 339-344, 1983.

VALLAT, A.; DORN, S. Changes in Volatiles Emissions from Apple Trees and Associated Response of Adult Female Codling Moths over the Fruit-Growing Season. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 4083-4090, 2005.

YAN, F.; BENGSTON, M.; WITZGALL, P. Behavioral Response of Female Codling Moths, *Cydia pomonella*, to Apple Volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, Nova Iorque, v. 25, n. 6, p. 1343-1351, 1999.

YANG, Z.; BENGSTON, M.; WITZGALL, P. Host plant volatiles synergize response to sex pheromone in codling moth, *Cydia pomonella*. **Journal of Chemical Ecology**. Nova Iorque, v. 30, n. 3, p. 619-629, 2004.

WERNER, R. A. Behavioral responses of the spear-marked black moth, *Rheumaptera hastata*, to a female produced sex pheromone. **Annals of the Entomological Society of América**, College Park, v. 70, p. 84-86, 1977.

WITZGALL, P. B. et al. Sex pheromones of *Spilonata ocellana* and *Spilonata laricana*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 60, p. 219-223, 1991.