

**EVIDÊNCIA DE FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO E CICLO DE VIDA
DO CARUNCHO-DO-CAFÉ, *Araecerus fasciculatus* (Degeer, 1775)
(COLEOPTERA: ANTHRIBIDAE)**

JOSÉ POLEZE SOARES NOVO
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. GILBERTO CASADEI DE BAPTISTA

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiróz", da Universidade de São Paulo,
para obtenção do título de Doutor em Ciências,
Área de Concentração: Entomologia

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Novembro - 1994

A

MARIA DO CARMO, CAROLINA E BRUNO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Gilberto Casadei de Baptista**, do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, pela amizade, estímulo e orientação.

Ao Prof. Dr. **Octávio Nakano**, do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, pelas sugestões no estudo de comportamento de insetos.

Aos Professores do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, pelos ensinamentos.

Ao Sr. **José Benedito Paduanello**, do Instituto Biológico, pela amizade e colaboração.

Aos acadêmicos **Vania Maria Vieira de Mello**, **Regina Mitie Kazama** e **Fernando Sousa de Camargo Pinto**, pela colaboração.

Aos Institutos Biológico e Agrônomico (IAC), pelas condições oferecidas.

Ao CNPq pela concessão de Bolsa de Estudos.

SUMÁRIO

	página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	xi
SUMMARY	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. <i>Araecerus fasciculatus</i>	4
2.1.1. Distribuição geográfica e hospedeiros	4
2.1.2. Danos ao café armazenado	5
2.1.3. Biologia e comportamento	7
2.2. Feromônios	10
2.2.1. Considerações gerais	10
2.2.2. Feromônios em coleópteros pragas de grãos armazenados	12
2.3. Bioensaios no estudo do feromônios de insetos	17
2.3.1. Influência de fatores ambientais	19
2.3.2. Influência de fatores biológicos	23
2.3.3. Tipos de olfatômetros	27
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1. Criação de <i>A. fasciculatus</i>	31
3.2. Ciclo de vida	33
3.3. Preparação e realização dos bioensaios	34
3.3.1. Sexagem e manutenção dos adultos	34

3.3.2. Determinação da Idade de acasalamento	37
3.3.3. Bioensaios para avaliação de feromônios ...	38
4 . RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1. Ciclo de vida de <i>A. fasciculatus</i>	44
4.2. Idade da cópula	45
4.3. Feromônios	49
4.3.1. Bioensaios	49
4.3.2. Atratividade de voláteis de fêmeas adultas..	50
4.3.3. Atratividade de voláteis de machos adultos..	53
5 . CONCLUSÕES	62
6 . REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

LISTA DE FIGURAS

	página
FIGURA 1. Sistema de umidificação utilizado na criação de <i>A. fasciculatus</i>	32
FIGURA 2. Diferenciação de sexos de <i>A. fasciculatus</i> por características morfológicas da região posterior do abdome de adultos (EL SAYED, 1940).....	35
FIGURA 3. Mesa de microscópio binocular utilizada para a sexagem de <i>A. fasciculatus</i>	36
FIGURA 4. Olfatômetro utilizado nos bioensaios com <i>A. fasciculatus</i>	40
FIGURA 5. Número medio de acasalamentos de machos de <i>A. fasciculatus</i> , de 1 a 10 dias de idade (medias de 10 repetições). Temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, Umidade relativa do ar $90\pm 5\%$	48
FIGURA 6. Número medio de acasalamentos de fêmeas de <i>A. fasciculatus</i> , de 1 a 10 dias de idade (medias de 10 repetições). Temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, Umidade relativa do ar $90\pm 5\%$	48
FIGURA 7. Respostas de machos ativos de <i>A. fasciculatus</i> de 8 a 10 dias de idade, atraídos por machos de 5 a 10 dias de idade. (médias de 10 repetições). Temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, Umidade relativa do ar $90\pm 5\%$	55
FIGURA 8. Respostas de fêmeas ativas de <i>A. fasciculatus</i> de 8 dias de idade, atraídas por machos de 2 a 10 dias de idade. (medias de 10 repetições). Temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, Umidade relativa do ar $90\pm 5\%$	58

FIGURA 9. Resposta de fêmeas ativas de *A. fasciculatus* de 3 a 10 dias de idade, atraídas por machos de 8 dias. (médias de 10 repetições). Temperatura $27 \pm 2^\circ\text{C}$, Umidade relativa do ar $90 \pm 5\%$60

LISTA DE TABELAS

	página
TABELA 1. Componentes principais de feromônios de coleópteros de graos armazenados, citados por BURKHOLDER 6 MA 1985.....	13
TABELA 2. Feromônios de coleópteros de graos armazenados identificados após 1985.....	15
TABELA 3. Idades (dias) e sexos, dos adultos de <i>A. fasciculatus</i> usados como fonte de voláteis e como receptores nos bioensaios realizados...	43
TABELA 4. Número de acasalamentos de <i>A. fasciculatus</i> em cada combinação de idades, de 1 a 10 dias. (Número de casais observados em cada idade =10)	46
TABELA 5. Respostas de fêmeas virgens de <i>A. fasciculatus</i> de 7 a 9 dias, atraídas por voláteis de fêmeas virgens de 6 a 9 dias (médias de 10 repetições). Temperatura 27±2°C, Umidade relativa do ar 90±5%	51
TABELA 6. Respostas de machos virgens de <i>A. fasciculatus</i> de 7 a 9 dias, atraídos por voláteis de fêmeas virgens de 7 a 9 dias (médias de 10 repetições). Temperatura 27±2°C, Umidade relativa do ar 90±5%	52
TABELA 7. Respostas de machos virgens de <i>A. fasciculatus</i> de 6 a 10 dias, atraídos por voláteis de machos virgens de 5 a 10 dias (médias de 10 repetições). Temperatura 27±2°C, Umidade relativa do ar 90±5%	54

TABELA 8. Respostas de fêmeas virgens de *A. fascicu-*
latus de 3 a 10 dias, atraídas por voláteis
de machos virgens de 2 a 10 dias (médias
de 10 repetições). Temperatura $27 \pm 2^\circ\text{C}$,
Umidade relativa do ar $90 \pm 5\%$57

**EVIDÊNCIA DE FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO E CICLO DE VIDA
DO CARUNCHO-DO-CAFÉ, *Araecerus fasciculatus* (Degeer, 1775)
(COLEOPTERA: ANTHRIBIDAE)**

Autor: JOSÉ POLEZE SOARES NOVO

Orientador: DR. GILBERTO CASADEI DE BAPTISTA

RESUMO

Com o objetivo de verificar a ocorrência de feromônios em *Araecerus fasciculatus* (Degeer, 1775), estudou-se o seu comportamento, em olfatômetro de dupla escolha sem corrente de ar. Os insetos foram criados em grãos beneficiados de café do cultivar Mundo Novo, com 12% de umidade, em sala mantida a $27 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $90 \pm 5\%$, e fotofase de 12 horas.

Utilizou-se como fonte de atração, adultos de *A. fasciculatus* recém-emergidos, mantidos em tubos de vidro com uma camada de algodão e um grão de café, por períodos de 1 a 10 dias. Como testemunha foram usados tubos idênticos, sem os adultos. Nos bioensaios foram usados insetos adultos virgens, sexados no dia da emergência, e mantidos separados por períodos de 1 a 10 dias. Os bioensaios foram realizados entre

9 e 11 horas, no escuro, ficando os insetos por um período de 15 minutos no olfatômetro, para condicionamento. O período de atração teve duração de 40 minutos. Foram ainda determinadas a idade da cópula, observando-se insetos de 1 a 10 dias de idade e a duração do ciclo.

O ciclo de vida do inseto, de ovo a adulto variou entre 57 e 97 dias com média de $72,4 \pm 1,0$ dias. A primeira cópula, entre adultos de até cinco dias de idade, ocorreu entre fêmeas de 2 dias com macho de 3 dias. O maior número de cópulas ocorreu com fêmeas de 4 a 9 dias e machos de 5 a 10 dias.

Fêmeas de *A. fasciculatus* não atraíram machos ou fêmeas da espécie de forma significativa. Machos atraíram tanto fêmeas quanto machos, havendo atração significativa de machos de 3 dias, atraindo fêmeas de 3 dias ou mais, e machos de 5 dias ou mais. A porcentagem de fêmeas que apresentaram respostas, atraídas por machos variou entre 61 e 97%, enquanto a de machos variou de 62 a 74%. Os resultados obtidos evidenciam a existência de feromônio de agregação, produzido pelos machos desta espécie.

**EVIDENCE FOR AN AGGREGATION PHEROMONE AND LIFE
CYCLE OF THE COFFEE BEAN WEEVIL, *Araecerus fasciculatus*
(Degeer, 1775) (COLEOPTERA: ANTHRIBIDAE)**

Author: JOSÉ POLEZE SOARES NOVO

Adviser: DR. GILBERTO CASADEI DE BAPTISTA

SUMMARY

The response of adult *Araecerus fasciculatus* (Degeer, 1775) (Coffee bean weevil) to volatile stimuli was tested in a closed dual choice pitfall bioassay System, investigating the occurrence of pheromones in this species. *A. fasciculatus* was reared in green coffee beans (*Coffea arabica* cv. Mundo Novo), with a moisture content of 12%, in a climatic room at $27 \pm 2^\circ\text{C}$, $90 \pm 5\%$ RH and a 12' hours photophase.

The source of attraction were newly emerged adults, placed in vials containing a layer of cotton and a single coffee bean. Identical vials were used as controls, without the insect. Test insects were virgin adults, separated by sex on the day of emergence and kept for 1 to 10 days, in the same environmental conditions. The bioassays were conducted between 9:00 and 11:00 AM, in the dark, with a period of 15 minutes of conditioning, and a period of attraction of 40

minutes. The age of the copula, among 1 to 10 days old insects and the life cycle were also determined.

The life cycle of *A. fasciculatus*, from egg to adult, extended from 57 to 97 days, with average of 72.4 ± 1.0 days. The first copula, among up to 5 days old adults, occurred with 2 days old females and 3 days old males. Most of the females copulated with 4 to 9 days, and males with 5 to 10 days.

A. fasciculatus female did not significantly attracted virgin adults of both sexes. Males attracted both sexes: 3 days old or more showed significant attraction to 3 or more days old females and 5 or more days old males. Sixty-seven to 97% of the responding females, and 62 to 74% of the responding males were attracted to the volatiles of the males. The results evidence the occurrence of a male produced aggregation pheromone in *Araecerus fasciculatus*.

1. INTRODUÇÃO

O estudo de feromônios desenvolveu-se muito nas últimas décadas, inclusive no Brasil, incentivado principalmente pela possibilidade de uso desses produtos no manejo de pragas, permitindo o monitoramento e o controle através do comportamento dos insetos, diminuindo a utilização de produtos tóxicos.

A utilização de feromonios é uma das técnicas modernas promissoras para o controle de pragas de **grãos** armazenados (BURKHOLDER & MA, 1985). Quatro formas de utilização têm sido mais estudadas: o monitoramento de populações, a coleta massal, a supressão de acasalamento pelo confundimento e o uso de armadilhas com inseticidas.

Para diversas pragas de **grãos** armazenados já existem feromonios sintéticos e armadilhas comercialmente disponíveis para monitoramento e coleta massal (ARSURA & ACCINELLI, 1990 e 1991). A plena utilização dessas substancias depende ainda de muitos estudos, praticamente em todos os aspectos envolvidos, havendo ainda muitos pontos a elucidar, desde a determinação da existencia de

feromônios até a esclarecimento do seu modo de ação, cujo conhecimento poderia permitir o controle através da inibição da comunicação.

O caruncho-do-café, também conhecido como caruncho-das-tulhas, *Anacorus fasciculatus* (Degeer, 1775) (Coleoptera: Anthribidae) é considerado a principal praga do café armazenado no Brasil e, em outros países produtores. Em condições propícias, pode causar severos danos ao café armazenado.

O Brasil é o principal produtor mundial de café, tendo produzido em 1993, 17,2 milhões de sacas de café beneficiado (LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA, 1994). Grande parte de nossa produção é destinada à exportação, e a presença de insetos ou de danos por eles causados pode até impedir a exportação para países como os Estados Unidos da América, muito exigentes nesse aspecto.

O uso de feromônios para monitoramento ou controle de pragas de grãos armazenados foi muito pouco estudado no Brasil e até o presente apenas um único trabalho relata a ocorrência de feromônios liberados pelo caruncho-do-café (SINGH, 1993).

Procurando testar a hipótese de que o caruncho-do-café utiliza a comunicação química para unir os membros da espécie, realizou-se este trabalho, cujos objetivos foram desenvolver um método adequado para o estudo do

comportamento de *A. fasciculatus* em relação a feromonios, e determinar a ocorrência e o tipo de feromônios nesta espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Araecerus fascioulatus*

2.1.1. Distribuição geográfica e hospedeiros

O caruncho-do-café é um coleóptero da família Anthribidae, descrito por Carl Degger¹ em 1775 como *Curculio fascioulatus* (EL SAYED, 1935). O genero *Araecerus* foi criado por Schoenherr em 1826, sendo a especie incluída no mesmo, como *Araecerus fascioulatus* (Degger, 1775) (BLACKWELDER, 1957).

É um inseto originario da Asia, provavelmente da regioa que compreende a Índia e a Malásia, segundo EL SAYED (1935). É considerado cosmopolita, com ampla distribuição, principalmente em regiões tropicais e subtropicais. É um inseto polifago, praga primaria de **graos** armazenados, sendo registradas infestações em mais de 136 produtos armazenados e culturas, em cerca de **40** paises, segundo levantamento bibliográfico de CHILDERS & WOODRUFF (19801).

¹ Grafia correta, segundo BLACKWELDER (1957), p. 1045.

No Brasil, segundo SILVA et al. (1968), *A. fascioulatus* foi encontrado em sementes e grãos de café, algodão, cacau, chá-da-Índia, *Euterpe sp*, feijão, girassol, milho, tungue e *Sabal palmeto*, atacando ainda manivas e hastes mortas de mandioca, frutos secos ou decompostos de abacaxi, ameixa, figo, marmelo, e raízes de batata doce armazenadas. Segundo GONÇALVES et al. (1976), ataca também raízes de gengibre, plantas medicinais secas, farinhas, biscoitos e outros produtos armazenados. IMENES et al. (1993) registraram sua ocorrência em *Raphia pedunculata*, em Jundiá, SP.

2.1.2. Danos ao café armazenado

O caruncho-das-tulhas é a principal praga do café armazenado, no Brasil e em outros países produtores. HEMPEL (1901) o identificou causando danos a café no Estado de São Paulo, e afirmou que era inseto conhecido já há algum tempo, no Brasil. Segundo FIGUEIREDO Jr. (1957), chega a causar 30% de perdas em um período de 6 meses.

LAVABRE e DECAZY (1968) verificaram que o café da espécie *Coffea arabica* torna-se muito suscetível, em ambientes com UR de 80% e temperatura de 25°C, após 3 meses de armazenamento, chegando a 80% de grãos atacados após 9 meses. OS autores verificaram que o café robusta resiste ao ataque nestas condições, apresentando menos de 1% de grãos

atacados, após 9 meses. Essa resistência desaparece quando a umidade relativa é mantida em 100%.

BITRAN (1973) determinou que em um quilo de café, mantido em frasco plástico por 6 meses, com uma infestação inicial de 100 insetos, ocorreu uma perda de 13,7% em peso, com 67,8% dos grãos apresentando danos. Em sacos de juta, com infestações de 17 insetos por quilo no início, e acrescentando 8 insetos/quilo aos 30 dias, 17 aos 60 dias, 8 aos 90 dias, 17 aos 120 dias e 8 aos 150 dias, totalizando 75 insetos/quilo, encontrou aos 180 dias, perdas de peso variando de 0,48 a 9,57%, com 2,4 a 44,5% de grãos com danos. Aos 9 meses, as perdas de peso ficaram entre 1,72 e 24,63%, com 8,1 a 93,5% dos grãos danificados.

Segundo FONSECA (1935), os grãos atingidos ainda se prestam para a torrefação, não havendo alteração da cor, aroma e sabor. BITRAN (1973) verificou que amostras armazenadas em sacos de juta, após 6 meses não apresentaram alteração no tipo de bebida: entretanto, após 9 meses, o tipo de bebida não pode ser determinado pelo fato das amostras encontrarem-se mofadas.

GEKAN et al. (1988), em levantamento realizado nos Estados Unidos, em amostras de café importado, encontraram danos causados por insetos (broca-do-café e caruncho-do-café) em 70,6% das amostras, com média de 1,7% dos grãos danificados. As médias de grãos danificados,

conforme a procedência das amostras foram, Asia, 3,6%, Africa, 2,8% e América do Sul, 1,0%.

2.1.3. Biologia e comportamento

A biologia do caruncho-do-café foi estudada por vários autores. EL SAYED (1935) determinou alguns aspectos em milho, cacau e noz-moscada:

.as condições ideais para o desenvolvimento são temperatura de 27°C e umidade relativa do ar de 90 a 100%;

.a razão sexual em milho é de 1:1 e em noz moscada de 1:1,3;

.a maturação sexual dos machos deu-se aos 3 dias de vida e das fêmeas aos 6 dias:

.a cópula ocorre aos 6 dias após a emergência e dura de 6,5 a 8 minutos. Fêmeas podem copular mais de uma vez, mas uma 4 suficiente para que todos os seus ovos sejam férteis;

.o período de incubação foi de 5-8 dias em umidades relativas de 50 - 100%;

.o número de ovos/fêmea em milho variou de 42 a 125, com media de 79. A umidade tem influência no número de

ovos e em sua viabilidade. A viabilidade variou de 67% em 60% UR a 98% em 100% UR;

.o ciclo de vida mínimo em milho, a 27°C, variou de 29 dias em umidade relativa de 100% a 57 dias em 60%UR, que foi considerado.o limite mínimo de umidade para desenvolvimento em milho e também em noz moscada, onde o ciclo variou de 38 dias em 100% UR a 69 dias em 60%UR. Em cacau o limite mínimo de umidade foi de 80% UR, com um ciclo de vida de 66 dias; em 100% UR, o ciclo foi de 37 dias;

.os adultos viveram 27-29 dias a 50%de UR e 86-134 dias em UR de 100%.

BRICENO-IRAGORRY (1940), estudando o caruncho em cafe, estabeleceu a duração do ciclo em 56 dias. CABAL CONCHA (1956) determinou alguns aspectos da biologia do caruncho em cafe, a 28°C e 80% de UR:

- .cópula aos 4-5 dias, com duração de 5-9 minutos;
- .média de 52 ovos/fêmea;
- .periodo de incubação de 5-7 dias;
- .fase larval de 46-66 dias;
- .periodo pupal de 5-8 dias;
- .duração do ciclo de 56-81 dias.

LAVABRE & DECAZY (1968), comparando o desenvolvimento em café, em umidade relativa de 100%, encontraram ciclos de 28-35 dias a 30°C, 45-60 dias a 25°C e 53-66 dias a 22°C. Com 80%UR e 25°C, o ciclo foi de 65-90 dias, não havendo nesta umidade diferenças entre arábica e robusta. Em estudos de termo e higropreferência, verificaram que o ótimo de umidade é 90%, e que os adultos não apresentam preferência por temperaturas, enquanto as larvas preferem temperaturas entre 23 e 33°C.

No Brasil, AUTUORI (1931) estabeleceu a duração do ciclo em café em 47-63 dias e a idade da primeira cópula em 2-3 dias. O autor apresenta ainda uma descrição do comportamento do inseto, principalmente quanto ao acasalamento, posturas e movimentos.

FONSECA (1935), em uma nota sobre o caruncho, apresentou os dados de AUTUORI (1931), entretanto com uma diferença no período de incubação de 1 dia a menos. Autores posteriores consideraram os dados de AUTUORI e FONSECA como trabalhos independentes, com resultados diferentes.

GONÇALVES et al. (1976) determinaram alguns aspectos, em café beneficiado:

.maturação sexual da fêmea aos 6 dias:

.duração do ciclo:

44-56 dias (temperaturas médias entre 25 e 29°C);

53-75 dias (temperaturas medias entre 21 e 24°C);
.longevidade das femeas: 83-114 dias, com media de 50 descendentes por casal.

2.2. Feromônios

2.2.1. Considerações gerais

A maioria dos insetos tem necessidade de comunicar-se com outros individuos da mesma espécie. Entre individuos que vivem em sociedades, como formigas, cupins e abelhas, essa necessidade de comunicação é mais facilmente compreendida, uma vez que a interação entre eles é fundamental para a manutenção de uma sociedade complexa. Em individuos solitários a comunicação, embora possa ocorrer somente em algumas fases de sua vida, é igualmente importante, especialmente por permitir a aproximação dos sexos levando à perpetuação das espécies.

Segundo SHOREY (1976), a comunicação biológica envolve a emissão de um ou mais estímulos por um individuo, que provocam uma reação em outro, que pode ser benéfica ao emissor, ao receptor ou a ambos. Um estímulo pode agir diretamente causando uma reação no comportamento do receptor ou pode apenas causar alterações no nível de resposta do receptor a outros estímulos.

Diferentes tipos de estímulos podem ser usados na comunicação entre insetos, sendo os principais classificados como químicos (olfativos ou gustativos), mecânicos (tácteis ou sonoros) e radiantes (percepção de luz ou visuais).

KARLSON & LUSCHER (1959) propuseram o termo *feromônio*, definido como "substâncias secretadas para o exterior por um indivíduo e recebidas por um segundo indivíduo da mesma espécie, no qual provocam uma reação específica, por exemplo, um comportamento definido ou um processo de desenvolvimento".

Desde a descoberta, isolamento e identificação química do bomicol, o feromônio sexual da mariposa do bicho-da-seda (*Bombyx mori*), por A. Butenandt (HECKER e BUTENANDT, 1984), a ecologia química teve um desenvolvimento muito grande. Segundo HUMMEL (1984), mais de oitocentas substâncias já haviam sido identificadas e sintetizadas até então, graças aos métodos de estudo de comportamento, a disponibilidade de métodos cromatográficos e espectrométricos e de técnicas microquímicas refinadas.

Segundo CAMPIOM (1984), duas classes de feromônios são mais utilizadas para o controle de pragas: os feromônios sexuais, que aproximam machos e fêmeas da mesma espécie, visando a cópula, e os feromônios de agregação que aproximam indivíduos da mesma espécie para

alimentação e reprodução. Essas duas classes de feromônios estão intimamente relacionadas, uma vez que ocorrendo a agregação, aumenta a possibilidade de acasalamentos bem sucedidos (VILELA & DELLA LUCIA, 1987).

2.2.2. Feromônios em coleópteros pragas de graos armazenados

A. partir da identificação do feromônio de **Attagenus unicolor** (Coleoptera, Dermestidae), por SILVERSTEIN et al. (1967), um grande número de insetos de graos armazenados tem sido estudado quanto ao comportamento reprodutivo e à constatação e identificação de feromônios.

BURKHOLDER *h* MA (1985) relacionaram insetos de 9 famílias, nos quais já haviam sido identificados feromônios, sexuais ou de agregação (TABELA 1). Segundo os autores, existiam até então sete feromônios principais, disponíveis para o monitoramento e o controle de pragas de graos armazenados: isômeros de trogodermal (gênero **Trogoderma**); isômeros do ácido megatomóico (gênero **Attagenus**); dominicalure (**Rhyzopertha dominica**; **Prostephanus truncatus**); 4,8-dimetildecanal (gênero **Tribolium**); sitophilure (gênero **Sitophilus**); TDA (Tetradecadien acetato) (**Cadra cautella**; **Plodia interpunctella**; outras mariposas); serricornin (**Lasioderma serricornis**).

TABELA 1. Componentes principais de feromônios de coleópteros de graos armazenados, citados por BURKHOLDER 6 MA, 1985.

FAMÍLIA E ESPÉCIE	FONTE	FEROMÔNIO
DERMESTIDAE		
<i>Trogoderma inclusum</i>	fêmea	(2)-14-Methyl-8-hexadecan-1-ol (2)-14-Methyl-8-hexadecanal
<i>Trogoderma variabile</i>	fêmea	(2)-14-Methyl-8-hexadecanal
<i>Trogoderma glabrum</i>	fêmea	(E)-14-Methyl-8-hexadecan-1-ol (E)-14-Methyl-8-hexadecanal
<i>Trogoderma granarium</i>	fêmea	92:8 (Z:E)-14-Methyl-8-hexadecanal
<i>Attagenus unicolor</i>	fêmea	(E, Z)-3,5-Tetradecadienoic acid (ácido megatomóico)
<i>Attagenus elongatus</i>	fêmea	(Z, Z)-3,5-Tetradecadienoic acid
<i>Anthrenus flavipes</i>	fêmea	(Z)-3-Decanoic acid
ANOBIIDAE		
<i>Stegobium paniceum</i>	fêmea	2,3-Dihydro-2,3,5-trimethyl-6-(1-methyl-2-oxobutyl)-4H-pyran-4-one
<i>Lasioderma serricorne</i>	fêmea	4,6-Dimethyl-7-hydroxynonan-3-one
BRUCHIDAE		
<i>Acanthoscelides obtectus</i>	macho	(E)-(-)-Methyl-2,4,5-tetradecatrienoate
BOSTRICHIDAE		
<i>Rhyzoperta dominica</i>	macho	1-Methylbutyl(E)-2-methyl-2-pentenoate (dominicalure 1) 1-Methylbutyl(E)-2,4-dimethyl-2-pentenoate (dominicalure 2)
TENEBRIONIDAE		
<i>Tribolium castaneum</i>	macho	4,8-Dimethyldecanal
<i>Tribolium confusum</i>	macho	4,8-Dimethyldecanal
CUCUJIDAE		
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	macho	(E,E)-4,8-Dimethyl-4,8-decadien-10-olide (ferrulactone 1) (3Z,11E)-3-dodecan-11-olide (ferrulactone 2)
CURCULIONIDAE		
<i>Sitophilus oryzae</i>	macho	(R*,S*)-4-Methyl-5-hydroxy-3-heptanona (sitophilure)
<i>Sitophilus zeamais</i>	macho	(R*,S*)-4-Methyl-5-hydroxy-3-heptanona (sitophilure)

Na TABELA 2, estão relacionados alguns coleópteros pragas de graos armazenados cujos feromônios foram identificados mais recentemente, em função do grande número de pesquisas que vem sendo realizado nesta Area, pelo seu potencial de aplicação prática.

No Brasil, SILVEIRA NETO & NAKANO (1984) estudaram a atratividade do feromônio de *L. serricornis* e FAVERO *et al.* (1993) avaliaram a resposta olfativa de *S. zeamais* a seu feromônio sintético de agregação.

Segundo BURKHOLDER (1982), os insetos de graos armazenados apresentam dois tipos de estratégia reprodutiva e de comunicação. Espécies com adultos de vida curta (< 1 mês), que não necessitam de alimentação para reproduzir, como mariposas, dermestídeos, bruchídeos e anobiídeos, utilizam feromônios sexuais para comunicação, que são geralmente produzidos pelas fêmeas. Espécies com adultos de vida longa (> 1 mês) que necessitam alimentação para reproduzir, como curculionídeos, tenebrionídeos, cucujídeos, geralmente usam feromônios de agregação produzidos pelos machos para comunicação, e tanto machos como fêmeas respondem a esses feromônios.

Feromônios de pragas de graos armazenados tem sido utilizados de forma promissora no seu monitoramento e controle. TREMATERRA (1989) revisou a utilização de feromônios de pragas de graos armazenados, citando os

TABELA 2. Feromônios de coleópteros de graos armazenados, identificados após 1985.

família / espécie	feromônio	font.	referência
CUCUJIDAE			
<i>Cryptolestes pusillus</i>	3(Z)-dodecenolide (VI)	macho	MILLAR et al. (1985a)
<i>Cryptolestes tuzicus</i>		macho	MILLAR et al. (1985b)
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	3(Z), 6(Z), 11R-dodecadien-11-olide (II)	macho	PIERCE et al. (1984)
	3(Z), 6(Z)-dodecadienolide (III)		
	5(Z), 8(Z), 13(R)-tetradecadien-13-olide (IV)		
<i>Cathartus quadricollis</i>	7-methyl-6E-nonen-3R-yl acetate	nacho	PIERCE et al. (1988)
CURCULIONIDAE			
<i>Sitophilus granarius</i>	2S, 3R-2-methyl-3-hydroxipentanoate	macho	PHILLIPS et al. (1987)
DERMESTIDAE			
<i>Anthrenus verbasci</i>	(Z)-5-undecenoic acid	fêmea	KUWAHARA e NAKAMURA (1985)
	(Z)-5-undecenoic acid		
<i>Anthrenus sarinicus</i>	decanol	fêmea	FINNEGAN & CHAMBERS (1993)
	decyl-n-butyrate		
TEMBRIONIDAE			
<i>Tribolium castaneum</i>	Z-2-nonyl propionate	fêmea	RANGASWAMY & SASIKALA (1991)

principais trabalhos desenvolvidos na Area, visando principalmente o monitoramento populacional, a coleta massal e a supressão de acasalamentos. Esse autor revisou ainda os principais tipos de armadilha disponíveis para a captura de insetos de grãos armazenados.

CHAMBERS (1990) também revisou a utilização de feromônios no monitoramento e controle de pragas dos grãos armazenados, citando inúmeros casos de aplicação bem sucedida de feromônios, e também de sua associação com atraentes alimentares, que podem atuar como sinergistas, aumentando bastante o poder de captura.

MUELLER et al. (1990) informam que os feromônios têm sido bastante usados em armazéns, indústrias de alimentos, produtores de sementes e empresas de controle de pragas. No período de 1987-1988, os feromônios mais comercializados foram os de *T. serricornis* (48,8%), *P. interpunctella* (20,3%), *Trogoderma spp* (14,3%) e *Tribolium spp* (5,3%).

Segundo AMURA e ACCINELLI (1990), o monitoramento de populações com o uso de armadilhas, tem possibilitado a redução do número de aplicações de agroquímicos; os autores listaram os 78 tipos de feromônios até então disponíveis e as espécies atraídas, entre elas seis pragas de grãos armazenados.

Segundo CHAMBERS (1990), para a exploração completa do potencial de feromônios e atraentes alimentares, ainda são necessários estudos em praticamente todas as Areas, desde o desenvolvimento de bioensaios que permitam testar componentes individuais de feromônios em cada comportamento isolado apresentado pelo inseto quando se aproxima de uma armadilha, até o estudo do modo de ação dos feromônios, que pode indicar formas de interromper a comunicação, como forma de controle.

Recentemente, SINGH (1993) relatou a ocorrência de feromônios de agregação em machos de *A. fasciculatus*, e sexuais em fêmeas da espécie, que segundo o autor "induziu o comportamento copulatório em machos".

2.3. Bioensaios no estudo do feromônios de insetos

Segundo BAKER e CARDÉ (1984), estudos de comportamento são essenciais para provar a atividade dos compostos, e o tipo de resposta dos insetos testados pode ser usado para a determinação da função do feromônio (alarme, agregação, sexual, etc.). Os primeiros passeos em um estudo de feromônios de uma determinada espécie referem-se à detecção experimental da ocorrência dos mesmos, identificação dos sexos que liberam essas substâncias, determinações da função dos feromônios e das condições

fisiológicas e ambientais em que ocorrem a liberação e a atração.

Os bioensaios não precisam ser caros' ou tecnologicamente complexos, porém devem ser conduzidos de forma a aproveitar os mecanismos de resposta usados pelos indivíduos na recepção de mensagens químicas. Eles devem ser desenvolvidos ou adaptados para cada caso, de forma a permitir respostas rápidas e eficientes às situações testadas (BAKER & CARDE, 1984).

Os bioensaios podem avaliar reações diretas ou indiretas a gradientes de concentração, e também considerar o comportamento global do inseto ou apenas alguns aspectos do mesmo. Geralmente, bioensaios que medem o comportamento global e não se restringem a uma ou duas atividades do comportamento são mais discriminatórios (BAKER & CARDE, 1984).

No planejamento de um bioensaio, devem ser considerados todos os fatores que influenciam o tipo de informação obtida. Isto inclui o tipo de equipamento onde os insetos são observados, a forma de obter respostas reprodutíveis, o número de insetos avaliado (em grupos ou individualmente), a forma de liberação do feromônio, a extensão do estímulo, o tipo de comportamento a ser observado, e a melhor forma de registrar essas respostas (BAKER & CARDE, 1984).

2.3.1. Influência de Fatores ambientais

Os fatores ambientais têm grande influência no estudo de feromônios. Segundo SHOREY (1976), o sexo que libera o feromônio tem a tendência de produzi-lo sob certas condições favoráveis, e os sexos que recebem o estímulo geralmente têm a tendência de responder melhor sob as mesmas condições.

Temperatura

A temperatura pode impor limites superiores e inferiores à resposta e à emissão de feromônios (SHOREY, 1976). Geralmente, a temperatura em que os insetos apresentam maior atividade e melhor desenvolvimento, é utilizada para estudos de comportamento. Segundo PAIVA & PEDROSA-MACEDO (1985), em escolitídeos, a maior atividade é obtida entre 18 e 23°C, e por isso o vôo destes insetos na primavera registra-se por volta do meio dia, enquanto no verão o maior número de insetos é capturado de manhã e à tarde.

PEÑA et al. (1992) em bioensaios com *Phloeotribus scarabaeoides* (Coleoptera: Scolitidae), um escolitídeo praga de oliveiras, verificou que a melhor resposta a feromônios foi a 20°C, sendo as fêmeas mais sensíveis à variação de temperatura.

Umidade relativa **do ar**

A umidade relativa, além de afetar o comportamento dos insetos, segundo **PAIVA e PEDROSA-MACEDO (1985)**, influi na sua capacidade de percepção do estímulo olfativo. É de se esperar que insetos cujo desenvolvimento é muito afetado pela umidade, como o **caruncho-do-café**, também tenham seu comportamento alterado pelas condições de umidade.

Intensidade luminosa

A intensidade de luz também exerce grande influência na atividade dos insetos, e conseqüentemente nas respostas a bioensaios. **PENA et al. (1992)** verificaram que **P. scarabaeoides** responde melhor a feromônios em intensidades entre 1000 e 1500 lux. **PHILLIPS e BURKHOLDER (1981)**, conduziram bioensaios com **S. oryzae** no escuro, considerando que o ambiente natural desses insetos é escuro ou com muito pouca luz. O mesmo deve ser válido para a maioria das pragas de grãos armazenados..

Velocidade do ar

A velocidade do ar é um fator fundamental, em bioensaios com corrente de ar, como túneis de vento, usados principalmente com lepidópteros, em que a velocidade

excessiva pode inibir o voo, enquanto a velocidade muito baixa pode impedir a orientação do inseto em relação à fonte emissora do feromônio.

Fotofase

As condições fisiológicas do inseto controlam o seu comportamento, e em interação com as condições ambientais, determinam quando onde e como a comunicação química ocorrerá.

A maioria dos comportamentos dos insetos são exibidos somente durante horários específicos de cada dia. Esses ritmos diários de comportamento (ritmos circadianos) são frequentemente controlados por processos endógenos, que são sincronizados com o horário através da percepção pelo inseto das alterações diárias do ambiente, como luz e escuridão.

A fotofase influencia o ritmo de produção e resposta a feromônios, embora este seja um aspecto pouco estudado em pragas de grãos armazenados. HAMMACK & BURKHOLDER (1976) estudaram o efeito de variações na fotofase em *Trogoderma glabrum* e verificaram que o pico de emissão e resposta a feromônios, à medida que aumenta a fotofase, vai ocorrendo a intervalos maiores em relação ao

seu início, mantendo-se em torno de uma hora após a metade da fotofase.

A hora do dia é considerada na maioria dos bioensaios com pragas dos **grãos** armazenados, por determinar o horário em que os insetos estão mais ativos, respondendo melhor aos estímulos olfativos. HAMMACK et al. (1976) verificaram que o comportamento de chamada e a produção de feromônios em *T. glabrum* em uma fotofase de 16 horas, concentrava-se em um período de oito horas, localizado no meio do período de luz. PHILLIPS & BURKHOLDER (1981) observaram que a maior atividade de *S. oryzae* ocorreu entre 11 e 15 horas, com uma fotofase de 16 horas.

OBENG-OFORI & COAKER (1990) avaliaram a resposta de quatro espécies, *T. castaneum*, *T. confusum*, *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae) e *R. dominica*, em diferentes horários. *R. dominica* e *P. truncatus* atingiram um pico de resposta acima de 60% entre 14 e 15 horas, e um mínimo de 27-30% entre 21 e 1 hora, para os dois sexos. Em *T. castaneum*, machos atingiram pico de 67% e fêmeas de 57%, entre 13 e 14 horas, declinando a 30-33% às 22-23 horas. Machos e fêmeas de *T. confusum* atingiram picos de 60 e 63% entre 12 e 13 horas, e um mínimo de 30-33% entre 23 e 24 horas.

FINNEGAM & CHAMBERS (1993) coletaram o feromônio de *A. sarinicus* entre 13:30 e 15 horas, por ser o período em

que o maior número de fêmeas apresenta comportamento de chamada.

2.3.2. Influência de fatores biológicos

Idade

A idade em que os insetos atingem a maturidade sexual é geralmente aquela em que se inicia a produção e a resposta a feromonios. HAMMACK et al. (1976) utilizaram adultos de 6 a 12 dias de idade, na avaliação da liberação de feromônios em fêmeas de *T. glabrum*. BORDEN et al. (1979) verificaram que em *C. ferrugineus*, adultos de 4-6 meses não respondiam a feromonios, mas atraíam besouros de 3-20 dias. Esses autores utilizaram insetos com menos de 3 meses para a determinação de feromônios na espécie.

PHILLIPS e BURKHOLDER (1981) utilizaram insetos de 6-7 dias na determinação do feromônio de agregação de *S. oryzae*. Para essa espécie, WALGENBACH e BURKHOLDER (1986) verificaram que o máximo de resposta foi obtido com adultos de até uma semana de idade, a partir da qual a resposta diminuía significativamente. OBENG-OFORI e COAKER (1990) verificaram que adultos de *T. castaneum* e *T. confusum* responderam significativamente a feromonios entre 1 e 21 dias, e o aumento da idade teve um efeito significativo na

resposta. Em *T. castaneum* 40% dos machos de 1 a 3 dias responderam ao estímulo, e 63% aos 19 dias: 30% das fêmeas responderam aos 1-3 dias e 50% aos 21 dias. Em *T. confusum* o comportamento dos machos foi semelhante, enquanto as fêmeas apresentaram o máximo de 60% de respostas aos 16 dias, caindo para 34% aos 21 dias.

Sexo

O sexo é uma condição que obviamente interfere na produção e resposta a feromônios. Embora em muitas espécies os dois sexos os produzam, cada sexo produz um feromônio específico, e os sexos que respondem dependem do tipo de feromônio, se de agregação ou sexual.

Acasalamento

A condição de acasalado também pode influenciar a produção de feromônios, especialmente os sexuais. No caso de feromônios de agregação, PHILLIPS & BURKHOLDER (1981) verificaram que machos e fêmeas de *S. oryzae* acasalados responderam ao feromônio de machos, porém machos acasalados atraíram um número menor de machos e fêmeas virgens, mas ainda em níveis significativos. OBENG-OFORI e COAKER (1990) não observaram diferenças nas respostas de adultos

acasalados de *T. castaneum*, *T. confusum*, *P. truncatus* e *R. dominica*.

Habituação

Habituação é definida como um decréscimo gradual na intensidade de resposta a um estímulo repetido. OBENGOFORI & COAKER (1990) verificaram que a exposição a feromônios por 2 a 8 horas reduziu a resposta de *T. castaneum*, *T. confusum* a feromônios, entretanto a capacidade de resposta foi recuperada 48 horas depois, exceto para machos de *T. confusum*.

Alimentação

A falta de alimentação pode alterar o nível de resposta, especialmente em feromônios de agregação. WALGENBACH e BURKHOLDER (1986) avaliaram o efeito da falta de alimento na resposta de *S. zeamais* a sitofinone, e verificaram um aumento na mesma em períodos de até 12 horas sem alimentação. Períodos maiores levaram a uma diminuição da resposta, enquanto a atividade dos insetos aumentou de forma significativa até o maior período sem alimento, de 48 horas.

Densidade populacional

A resposta pode ainda ser influenciada pela população de insetos, ocorrendo em altas densidades populacionais uma maior tendência à procura de novas fontes de alimento. WALGENBACH & BURKHOLDER (1986) avaliaram o efeito de populações de *S. zeamais* de 0,1; 0,4; 1,0 e 10 insetos por ml de trigo, com idades de 1-2 dias e 10 semanas. Observaram que nos insetos mais novos, em populações de 0,4-10 adultos por ml de trigo, houve um aumento significativo na resposta a feromônios, ao contrário do ocorrido com insetos com 10 semanas. A atividade aumentou com a densidade nas duas idades, porém de forma mais significativa nos insetos de 10 semanas. PIERCE et al. (1983), ao contrário, encontraram respostas menores com o aumento da densidade de *O. surinamensis*, que em altas densidades chegaram até a ser repelidos pelos voláteis de insetos. Neste caso a capacidade de resposta foi recuperada quando os insetos foram transferidos para um meio novo, com baixa densidade populacional.

Todos esses aspectos mostram o nível de detalhes necessário na condução e interpretação de bioensaios de comportamento de insetos em laboratório. As flutuações de resposta são a regra, e o bioensaio deve ser otimizado para o período em que o inseto demonstra resposta mais intensa ao estímulo (BAKER & CARDÉ, 1984).

2.3.3. Tipos de olfatômetros

Os bioensaios para estudo do comportamento de insetos a estímulos olfativos são desenvolvidos geralmente em olfatômetros, que podem ser de diversos tipos e devem ser adaptados ou desenvolvidos para cada caso, de forma a permitir respostas rápidas e eficientes às situações testadas.

BAKER e CARDÉ (1984) revisaram as técnicas de bioensaios para estudo de comportamento, examinando inúmeros tipos de aparelhos utilizados em pesquisas de feromônios, classificando-os em quatro categorias:

Sem corrente de ar:

.Com deslocamento dos insetos em relação à fonte;

.Sem deslocamento dos insetos em relação à fonte:

Com corrente de ar:

.Com deslocamento dos insetos em relação à fonte;

.Sem deslocamento dos insetos em relação à fonte.

Os olfatômetros em que não há deslocamento dos insetos em relação à fonte de atração são pouco utilizados com pragas de grãos armazenados. VICK et al. (1970) testaram a resposta de dermestídeos (*Trogoderma spp*) a feromônios, usando um olfatômetro desse tipo, sem corrente de ar. Cada inseto era mantido em um frasco de vidro de 3,7 ml (1 dram) por uma hora, e então era introduzido um disco de papel com o extrato equivalente a 0,01 fêmea,

sendo registrado o comportamento do inseto, principalmente movimentos de antenas e pernas dianteiras, e movimentos em círculos.

Os olfatômetros em que há deslocamento do inseto em relação a fonte são mais comuns. BURKHOLDER & DICKE (1966) detectaram a ocorrência de feromônios em fêmeas de *Attagenus piceus*, *T. inclusum* e *T. glabrum*, utilizando um olfatômetro com três opções de escolha, sem corrente de ar, constituído de um dessecador, dentro do qual encontrava-se a arena, de papel de filtro. Os insetos eram liberados no centro e atraídos para três discos de papel que ficavam suspensos sobre a arena, contendo as substâncias atraentes. Este mesmo tipo de olfatômetro foi utilizado por COFFELT & BURKHOLDER (1972), estudando o feromônio de fêmeas de *L. serricornis*.

BORDEN et al. (1979) utilizaram um olfatômetro com corrente de ar e deslocamento dos insetos em relação a uma única fonte, em uma arena aberta de 7,5 x 7,5 cm, na determinação do feromônio de agregação produzido por machos de *C. ferrugineus*. Os insetos eram liberados do lado oposto ao ponto onde saía uma corrente de ar arrastando os voláteis, que os atraíam.

Para a avaliação do comportamento de *S. oryzae* ao seu feromônio de agregação, PHILLIPS & BURKHOLDER (1981) utilizaram um olfatômetro de duas escolhas, sem corrente de

ar, no qual uma placa de cristalização (80 mm de diâmetro x 50 mm de altura) foi usada como câmara, cobrindo uma arena de vidro com dois furos, com frascos de vidro como alçapões para onde foram atraídos os insetos.

OBENG-OFORI & COAKER (1990) utilizaram um olfatômetro com uma câmara única de 60 cm de comprimento x 20 cm de largura x 2 cm de altura, com corrente de ar, que arrastava os voláteis, atraindo os insetos para a sua fonte de origem, na avaliação de respostas a feromônios de *T. castaneum*, *T. confusum*, *R. dominica* e *P. truncatus*.

FINNEGAN e CHAMBERS (1993) utilizaram um olfatômetro de duas escolhas, sem corrente de ar, consistindo de uma arena de papel de filtro, limitada por um anel de alumínio de 10 cm de diâmetro, coberto por uma placa de Petri de 12 cm de diâmetro. Na arena eram colocados adultos de *A. sarnicus* e dois discos de papel de filtro de 2 cm de diâmetro, impregnados com voláteis de fêmeas da espécie, que atraíam os machos.

CHAMBERS et al. (1990) testaram o comportamento de *C. ferrugineus* e *C. pusillus* em relação a componentes do feromônio sintético de agregação da espécie, utilizando um bioensaio sem corrente de ar com duas escolhas, com alçapões, utilizando como câmara uma placa de Petri de 10 cm de diâmetro.

Verifica-se que os olfatômetros sem corrente de ar são pequenos, e os insetos são liberados próximos da fonte de atração, pois nesse caso a difusão dos voláteis é lenta.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Criação de *A. fasciculatus*

Os carunchos, obtidos em criação mantida no Instituto Biológico, em São Paulo, SP, a partir de insetos coletados em armazéns de café em Santos, SP, foram criados em sala especialmente adaptada, na seção de Pragas das Plantas Industriais do Instituto Biológico, em Campinas, SP, com temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, mantida por aparelho de ar condicionado, fotofase de 12 horas e umidade relativa do ar de $90 \pm 5\%$, condições adequadas ao desenvolvimento dos insetos.

A umidade relativa do ar foi mantida em níveis elevados, $90 \pm 5\%$, através de um sistema de umidificação (FIGURA 1) desenvolvido e instalado na sala de criação, constituído de uma câmara de ebulição, formada por um tubo de cimento amianto de 9 cm de diâmetro por 30 cm de comprimento, fechado em uma das extremidades e com uma resistência (2000 Ω , 220 V) adaptada na outra. Sobre esta câmara foram colocados dois tubos do mesmo material, de 6

nesta câmara por um tubo de ferro de 2 cm de diâmetro por 33 cm de comprimento, acoplado por um tubo plástico flexível a uma caixa d'água de 20 litros, equipada com bóia, que permitia regular o nível de água na câmara de ebulição. A resistência foi ligada à rede elétrica através de um umidistato, que controlava a produção de vapor d'água.

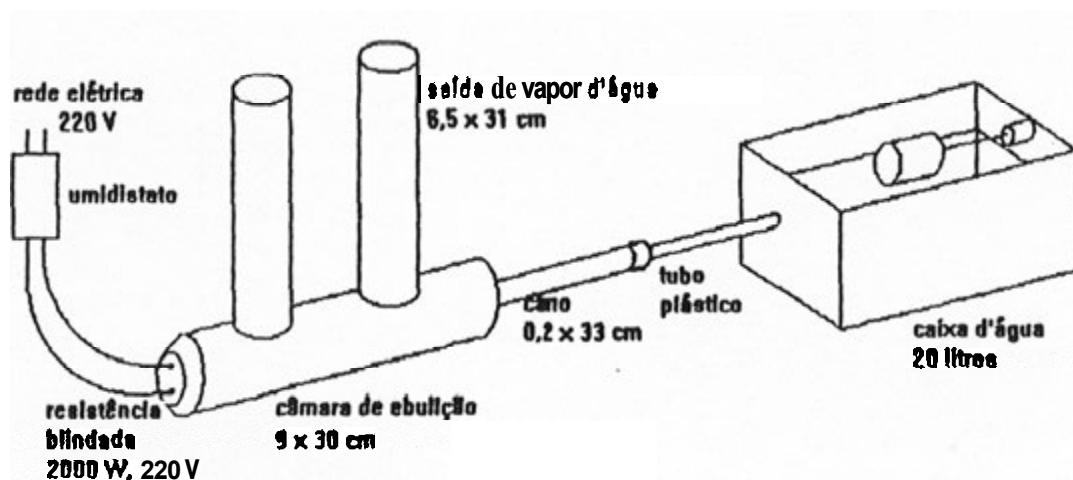


FIGURA 1. Sistema de umidificação utilizado na criação de *A. fasciculatus* (A figura não está em escala. Observar as dimensões indicadas).

Os insetos foram mantidos em frascos de vidro de 500 ml com tampa telada, contendo 200 g de grãos de café da variedade Mundo Novo, com umidade corrigida para 12%, que recebiam no início uma infestação de 150-200 adultos de 1-2 semanas de idade. Para a obtenção do alto número de insetos necessário para os bioensaios, foram preparados dois frascos de criação a cada semana. Em cada frasco de criação, foi colocado um tubo de vidro de 6 mm de diâmetro x 25 mm de altura, contendo algodão umedecido como fonte de umidade adicional, que segundo PUZZI & PEREIRA (1967), favorece o desenvolvimento do inseto.

3.2. Ciclo de vida

O ciclo de vida, de ovo a adulto, foi determinado, colocando-se 100 adultos em 20 g de grãos não infestados, por 24 horas, após o que os adultos eram retirados, sendo os grãos observados diariamente para anotação dos adultos emergidos. Essas observações foram mantidas até ocorrer um período de 15 dias sem nenhuma emergência, quando considerou-se que todos adultos haviam emergido. Foram feitas 6 repetições do experimento, determinando-se a duração média e a intervalo de variação do ciclo, informação utilizada nas fases seguintes do trabalho.

3.3. Preparação e realização dos bioensaios

3.3.1. Sexagem e manutenção dos adultos

Os adultos recém emergidos foram obtidos pelo peneiramento diário dos frascos de criação que contavam entre 60 e 120 dias de infestação, período em que havia maior emergência.

O peneiramento foi realizado utilizando-se um conjunto de três peneiras e fundo, com a seguinte disposição: em cima, peneira de abertura 0,42 mm (Tyler 35), para impedir a saída dos insetos, a seguir peneiras de aberturas de 2,0 mm (Tyler 9), que retêm os grãos de café e de 0,84 mm (Tyler 20), que retêm os insetos, e o fundo, que retém o pó.

Os insetos foram anestesiados com CO_2 , em um frasco de vidro de 500 ml, com um fluxo de 350 ml/min de gás, determinado através de um fluxímetro de bolha. Os insetos anestesiados foram separados de acordo com o sexo, através das características morfológicas descritas por EL SAYED (1940) (FIGURA 2).

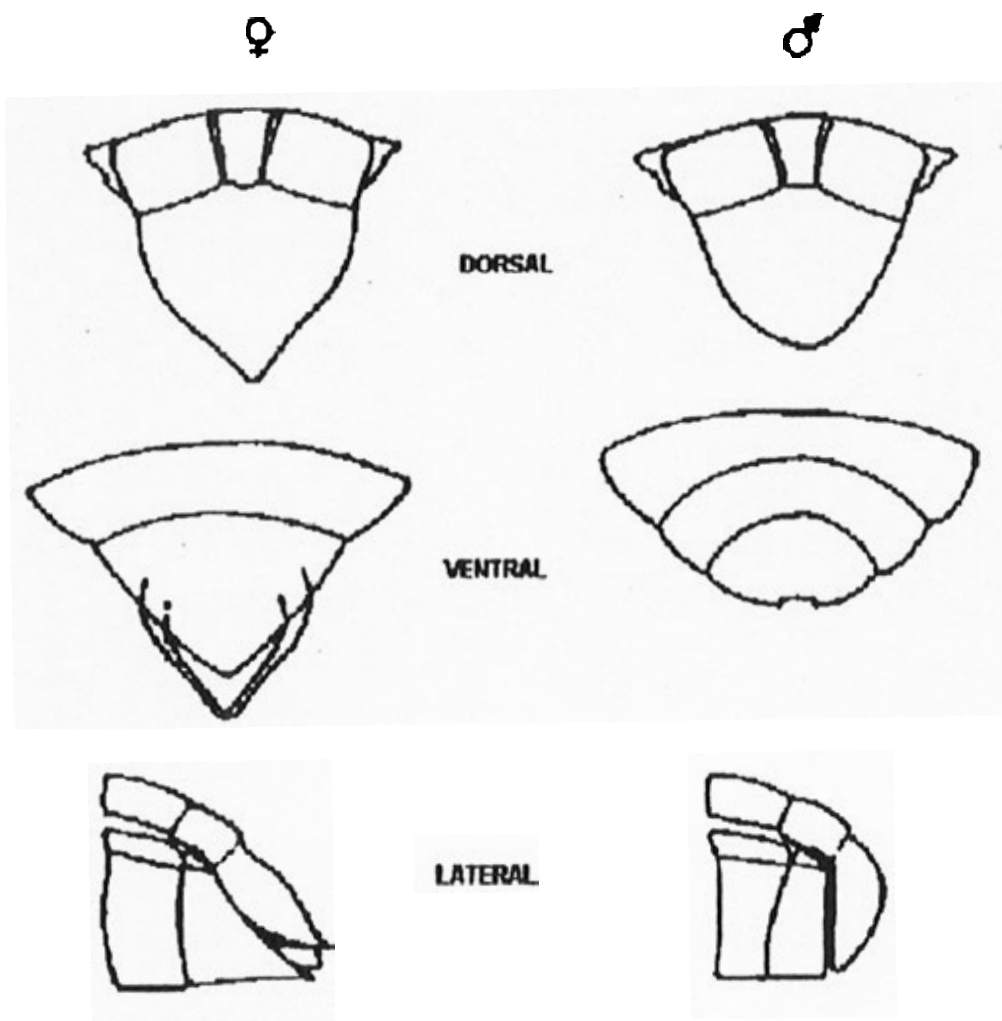


FIGURA 2. Diferenciação de sexos de *A. fasciculatus* por características morfológicas da região posterior do abdome de adultos (EL SAYED, 1940).

A separação foi feita em microscópio binocular, cuja mesa foi substituída por um conjunto de alumínio com dois furos de 6 mm de diâmetro, sob os quais ficavam presos tubos de vidro de 15 mm de diâmetro x 60 mm de altura, fechados por funis de vidro de mesmo diâmetro dos tubos,

que tinham o terço superior interno coberto por uma fina camada de fluon (FIGURA 3). Assim, os insetos eram sexados e com um pincel empurrados para um dos alçapões, conforme o sexo, ficando presos nos tubos de vidro. Esse procedimento permitiu a separação do grande número de insetos necessário, sem danificá-los. Durante a sexagem, os insetos lesionados no peneiramento, e aqueles em que havia dúvidas quanto ao sexo, eram eliminados.

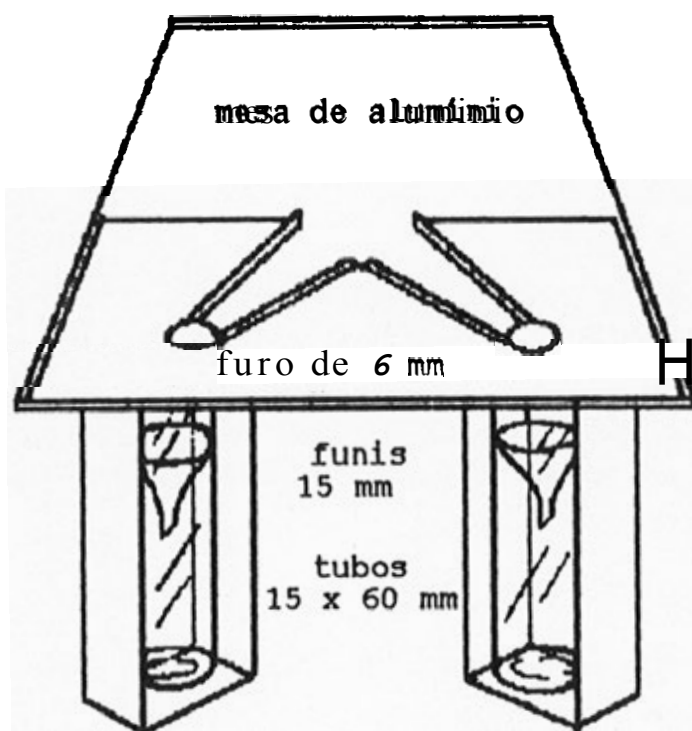


FIGURA 3. Mesa de microscópio binocular utilizada para a sexagem de *A. fasciculatus*.

Os insetos de cada sexo foram mantidos em tubos de vidro de 30 mm de diâmetro x 160 mm de altura, contendo cerca de 20g de café, e um tubo de 6x25mm, contendo algodão umedecido com água e tampados com uma placa de Petri de 40 mm de diâmetro x 15 mm de altura. Em cada tubo foram colocados cerca de 70 insetos, resultando uma infestação de 3,5 insetos/g de graos. Esses tubos foram mantidos em câmaras de temperatura controlada separadas, para evitar o condicionamento aos voláteis do sexo oposto. As condições de temperatura e umidade relativa do ar foram iguais às da sala de criação, em todos os testes realizados.

3.3.2. Determinação da idade de acasalamento

Foram testados insetos de 1 até 10 dias de idade, em todas as 100 combinações possíveis de machos e fêmeas, sendo observados 10 casais em cada uma. As observações foram realizadas entre 9 e 11 horas, em sala isolada da sala de criação. Cada casal foi colocado em frasco de vidro de 5 ml de capacidade, e durante uma hora o seu comportamento foi avaliado, principalmente quanto à ocorrência de cópula.

A cada teste, a sala era ventilada por 4 horas e a vidraria lavada com detergente alcalino, enxaguada com água e álcool etílico absoluto, e seca em estufa a 110°C. O total de machos e fêmeas de cada idade, que copularam, foi

submetido a análise de variância, sendo as medias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

3.3.3. Bioensaios para avaliação de feromônios

Em estudos preliminares, foram avaliadas diversas substancias que poderiam atuar como absorvente do material atrativo, como papel de filtro, algodão e discos de ensaio bacteriano, altamente absorventes (n° 740-E, Carl Schleicher and Co., Keene, N.H., USA), entretanto só houve respostas consistentes quando foram usados adultos vivos como fonte de atração.

Esses adultos, virgens, foram mantidos em tubos de vidro de 6 mm de diametro x 25 mm de altura, por periodos variáveis, de 1 a 10 dias, a partir do dia da emergencia. Em cada tubo foi colocada ainda, uma camada de 3 mm de algodão hidrófilo, previamente mantido em ambiente saturado de umidade por 24 horas, e um grao de café beneficiado. Para cada tubo com adulto foi também preparado um tubo contendo somente o algodão e o grao de café, usado como testemunha. Estes tubos, fechados com filme de PVC, foram mantidos em câmara de temperatura controlada em sala separada, pelas razões já expostas.

O olfatômetro utilizado, com dois alcapdes, foi modificado daquele proposto por PHILLIPS & BURKHOLDER

(1981), sem corrente de ar forçada e com deslocamento dos insetos em relação à fonte de atração (FIGURA 4). Consistiu de uma câmara, formada por uma placa de cristalização de 90 nun de diâmetro x 50 mm de altura, mantida invertida sobre uma base de plástico (arena) de 95 nun de diâmetro, com uma pequena saliência ao longo da borda, permitindo o encaixe da placa. Na arena haviam dois furos de 20 nun de diâmetro, em posições opostas, distantes entre si 30 mm, e a 15 mm do centro da arena. No centro da arena foi colocada uma placa de vidro, invertida, de 20 nun de diâmetro x 15 nun de altura, que podia ser elevada através de uma haste metálica de 1 mm de diâmetro que atravessava o centro da arena. A arena foi mantida sobre dois tubos de vidro (alcapdes) de 20 nun de diâmetro x 50 mm de altura, encaixados nos furos.

Antes de cada teste todo material foi lavado com detergente alcalino, enxaguado com Água e álcool etílico absoluto, e seco em estufa a 110°C (vidraria) ou à temperatura ambiente (plástico). Foram aplicadas, uma fina camada de vaselina neutra, internamente na placa de cristalização, e uma camada de fluon, no terço interno superior dos tubos e em toda a placa de 20 nun de diâmetro x 15 mm de altura, para forçar os insetos a permanecerem na arena de plástico e impedi-los de escapar dos alcapdes.

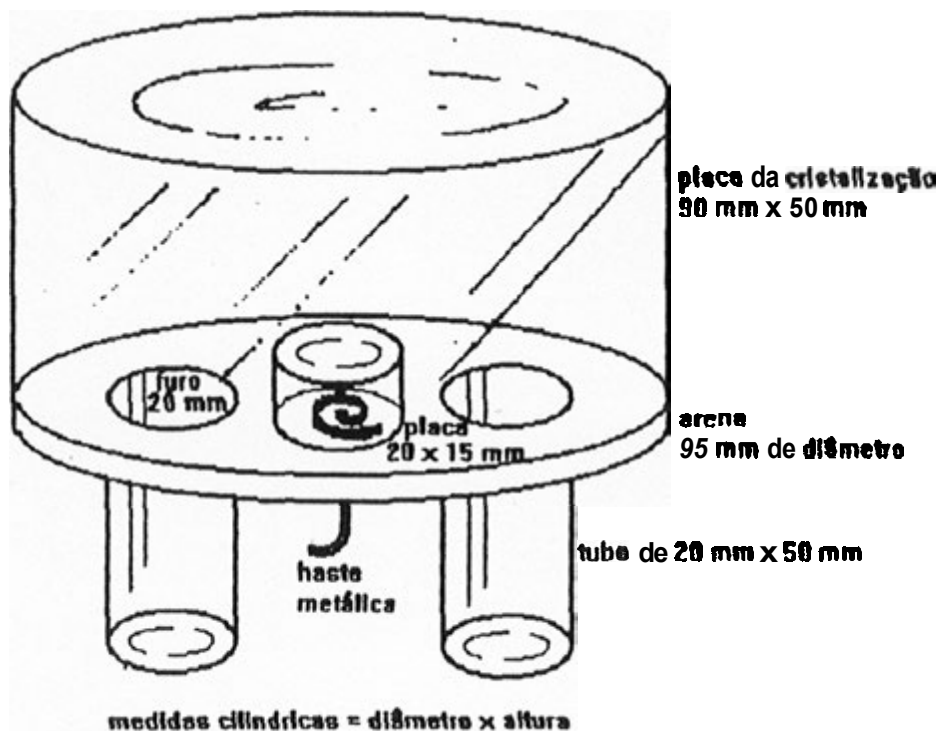


FIGURA 4. Olfatômetro utilizado nos bioensaios com *A. fascioulatus* (A figura não está em escala. Observar as dimensões indicadas.).

Para a realização dos bioensaios, 10 insetos, machos ou fêmeas, retirados dos tubos de manutenção eram colocados na placa de 20 mm de diâmetro X 15 mm de altura, que era então colocada no centro da areia. Após um período de condicionamento de 15 minutos, no escuro, a sala era iluminada com uma lâmpada vermelha de 40 W, e eram

colocados em um alcapão o tubo contendo o caruncho (material em teste), e no outro o tubo testemunha, sendo a posição de cada um aleatória. Nos dois casos, o filme de PVC era furado 5 vezes com um alfinete entomológico n°5, permitindo-se a liberação dos odores.

A placa de cristalização era então colocada sobre a arena, e a placa de 20 mm de diâmetro X 15 mm de altura era levantada, permitindo-se a livre movimentação dos carunchos. Após 40 minutos no escuro, tempo suficiente para os insetos efetuarem a escolha, determinado em testes preliminares, era feita a contagem do número de insetos em cada alcapão e dos remanescentes na arena.

Foi utilizado um conjunto de 6 olfatômetros, permitindo-se a realização de seis bioensaios simultâneos. Os testes foram realizados em sala utilizada somente para este fim, mantida a $27 \pm 2^\circ\text{C}$, e UR de $90 \pm 5\%$, entre 9 e 11 horas. Os insetos eram utilizados nos bioensaios apenas uma vez.

A atratividade dos voláteis de machos e fêmeas foi avaliada em relação a machos e fêmeas virgens, com idades variando de 2 a 10 dias em 38 combinações de idades e sexos (tratamentos), totalizando 380 bioensaios (TABELA 3). Em cada bioensaio sempre foi utilizada uma testemunha, preparada no mesmo momento que o indivíduo usado como fonte. As combinações testadas foram determinadas ao longo

do trabalho, em função dos resultados que iam sendo obtidos.

Cada bioensaio foi repetido 10 vezes, sendo os resultados analisados pelo teste t para dados pareados. Foram considerados significativos os resultados em que $P < 0,05$.

TABELA 3. Idades (dias) e sexos, dos adultos de *A. fasciculatus* usados como fonte de voláteis e como receptores nos bioensaios realizados.

FONTE	IDADE	RECEPTORES	IDADE
FÊMEA	6	FÊMEAS	1
	1		1
	7		8
	8		8
	8		9
FÊMEA	9	MACHOS	1
	7		7
	7		8
	8		8
	9		8
MACHO	9	MACHOS	9
	5		8
	6		7
	6		8
	1		6
	7		7
	7		10
	8		8
	8		9
	9		8
10	8		
MACHO	2	FÊMEAS	8
	3		8
	4		8
	5		8
	6		6
	6		8
	7		4
	7		7
	7		8
	8		3
	8		5
	8		1
	8		8
	8		10
	9		8
	9		9
10	8		

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Ciclo de vida de *A. fasciculatus*

Foram obtidos um total de 96 adultos, com o ciclo de ovo a adulto variando de 57 a 97 dias, com uma média de $72,4 \pm 1,0$ dias, em café da variedade Mundo Novo, com umidade corrigida para 12%, temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar de $90 \pm 5\%$. O intervalo de variação diferiu daquele obtido por AUTUORI (1931) de 47-63 dias e dos obtidos por GONÇALVES *et al.* (1976), de 53-75 dias em temperatura de $21-24^\circ\text{C}$ e de 44-56 dias em temperatura de $25-29^\circ\text{C}$. Foi semelhante ao obtidos por CABAL CONCHA (1956), 56-81 dias a 28°C e 80% UR e por LAVABRE & DECAZY (1968), de 65-90 dias a 25°C e 80% UR.

O caruncho-do-café é um inseto muito sensível à umidade e por isto, o seu teor nos grãos certamente tem grande influência no desenvolvimento do inseto. PUZZI & PEREIRA (1967) verificaram que as infestações ocorrem com maior intensidade em Santos, SP, do que em São Paulo, SP, considerando as maiores temperaturas e umidades relativas

da primeira como os fatores responsáveis. Esses autores ainda citaram que o teor medio de umidade dos graos de cafe no final do experimento foi 14,7% em São Paulo e 17,6% em Santos, discutindo a possibilidade de uma "ação conjunta" da alta umidade relativa e da maior umidade dos graos, favorável à infestação.

Os demais autores, apesar de considerarem a umidade relativa do ar muito importante, não mencionam a umidade dos graos usados em seus experimentos, tendo-se difundido o conceito de que as infestações somente ocorrem com gravidade em locais de umidade relativa alta.

A umidade dos graos é dependente da umidade relativa do ar e certamente é tão importante quanto esta no desenvolvimento do caruncho-do-café, devendo este aspecto ser citado para permitir comparação mais precisa dos resultados obtidos por diferentes pesquisadores.

4.2. Idade da cópula

Os machos e femeas copularam em todas as idades avaliadas; entretanto machos de 1 e 2 dias somente o fizeram com femeas de 6 ou mais dias, e femeas de 1 dia somente copularam com machos de 8 ou mais dias (TABELA 4). Entre adultos de 1 a 5 dias, primeiro acasalamento ocorreu entre macho de 3 dias e fêmea de 2 dias, coincidindo com a

observação de AUTUORI (1931), que obteve as primeiras cópulas com adultos de 2-3 dias.

TABELA 4. Número de acasalamentos de *A. fasciculatus* em cada combinação de idades, de 1 a 10 dias. (Número de casais observados em cada idade = 10).

idade dos machos	idade das fêmeas									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
2	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
3	0	1	0	1	2	3	1	5	2	1
4	0	1	1	1	3	3	1	2	2	3
5	0	3	3	5	6	4	3	4	5	4
6	0	1	2	5	6	4	4	6	6	4
7	0	0	6	6	5	8	8	7	7	3
8	1	0	4	5	4	7	8	6	8	1
9	0	2	4	5	6	5	5	4	4	2
10	1	3	3	3	5	3	4	6	5	4

De um total de 281 acasalamentos observados, ocorreram apenas 5 entre machos e fêmeas de até 4 dias de idade, machos de 3 dias com fêmeas de 2 e 4 dias e machos de 4 dias com fêmeas de 2,3 e 4 dias, representando 1,8% do total. Quando se consideram machos de 5 a 10 dias e fêmeas

de 4 a 10 dias, ocorreram 210 acasalamentos, ou 74,7% do total.

Na FIGURA 5 verifica-se que o número de acasalamentos de machos de 3 e 4 dias foi significativamente maior que o de machos de 1 e 2 dias. Os maiores números de acasalamentos de machos ocorreram nas idades de 5 a 10 dias, diferindo de forma significativa das demais idades.

Na FIGURA 6 verifica-se que o número de acasalamentos de fêmeas de 2 dias foi significativamente maior que o de fêmeas de 1 dia. Os maiores números de acasalamentos de fêmeas ocorreram aos 5, 6, 8 e 9 dias, não diferindo de 4 e 7 dias, e diferindo significativamente dos demais.

Deve-se considerar que os insetos tiveram apenas uma hora para mostrar o comportamento de cópula, uma vez que procurava-se determinar uma atratividade imediata, que poderia estar associada a uma maior liberação de feromônios. Naturalmente, se esses insetos permanecessem juntos por um tempo maior, e na presença de alimentos, o número de cópulas seria maior.

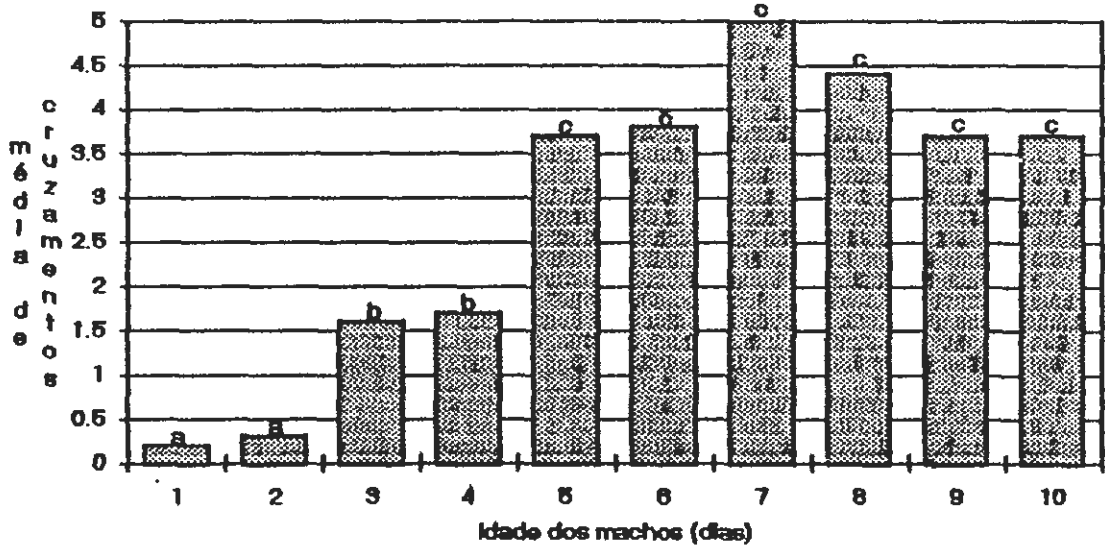


FIGURA 5. Número médio de acasalamentos de machos de *A. fasciculatus*, de 1 a 10 dias de idade (média de 10 repetições). Temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, Umidade relativa do ar $90\pm 5\%$. Colunas com letras iguais não diferiram pelo teste de Duncan a 5% ($F=19,66^{**}$, $CV=22,064\%$).

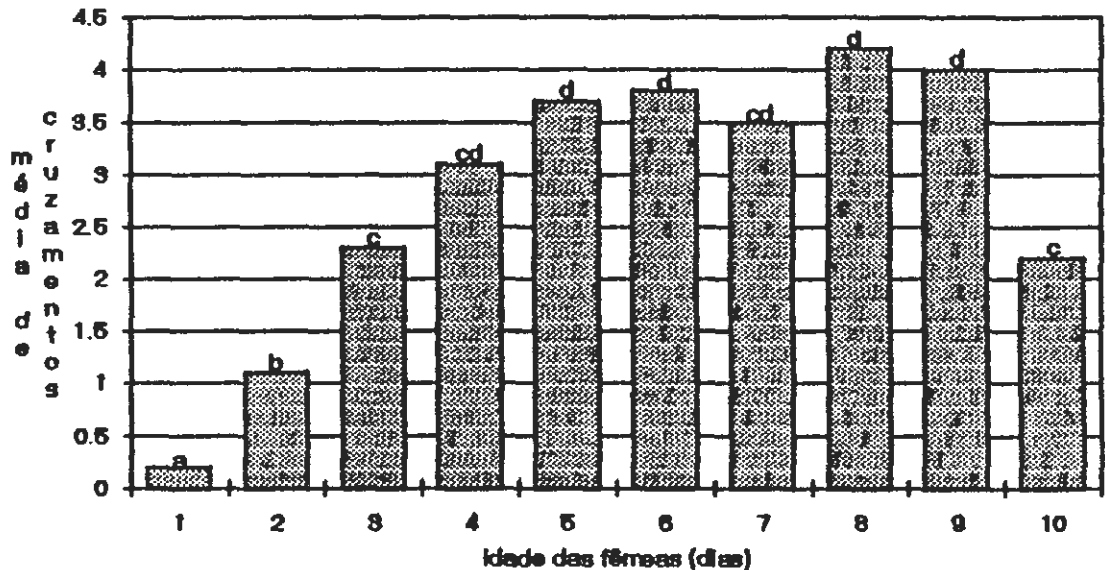


FIGURA 6. Número médio de acasalamentos de fêmeas de *A. fasciculatus*, de 1 a 10 dias de idade (médias de 10 repetições). Temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, Umidade relativa do ar $90\pm 5\%$. Colunas com letras iguais não diferiram pelo teste de Duncan a 5% ($F=12,35^{**}$, $CV=22,064\%$).

4.3. Feromônios

4.3.1. Bioensaios

Em estudos preliminares, observou-se que a temperatura influi bastante na resposta do caruncho, sendo a melhor intensidade de resposta obtida à mesma temperatura em que os insetos foram criados, 27°C. Verificou-se que 40 minutos foram suficientes para a escolha de até 100% dos insetos, quando a atratividade foi suficientemente grande. Esse tempo foi maior que o utilizado por PHILLIPS e BURKHOLDER (1981) para *S. oryzae*, de 10 minutos.

Foi mantida uma fotofase de 12 horas, iniciada às 7:00 horas, e verificou-se que a maior atividade do caruncho ocorreu entre 9:00 e 14:00 horas, sendo os bioensaios conduzidos entre 9:00 e 10:00 horas. Grande parte dos trabalhos, estudando respostas de coleópteros de grãos armazenados a feromônios, tem sido realizada no período da fotofase, por ser o período de maior atividade desses insetos.

A umidade relativa alta é essencial para o desenvolvimento do caruncho, conforme já verificaram PUZZI & PEREIRA (1967). Neste estudo, verificou-se que os insetos mantidos nos tubos individuais, usados como fonte de atração, não sobrevivem mais que 4-5 dias se o algodão

colocado no tubo for mantido na umidade ambiente. A manutenção do algodão em uma câmara saturada de umidade por 24 horas, permitiu a sobrevivência dos carunchos por até 20 dias, fornecendo a umidade necessária.

Verificou-se que a resposta era drasticamente reduzida, nos dias em que havia alterações bruscas no clima, como temporais, e por isso evitou-se a realização de bioensaios nessas condições. Segundo LANIER & BURNS (1978), a sensibilidade às flutuações da pressão atmosférica pode ser o mecanismo que leva à redução da resposta em bioensaios de laboratório em tempo de tempestade, onde há alterações barométricas.

O olfatômetro e as condições utilizadas na condução dos bioensaios mostraram-se adequados para avaliação de respostas de *A. fasciculatus* à atração por substâncias voláteis.

4.3.2. Atratividade de voláteis de fêmeas adultas

Os bioensaios usando fêmeas como fonte de atração mostraram (TABELA 5) que estas não atraíram fêmeas de forma significativa. Foram testadas fêmeas de 6 a 9 dias atraindo fêmeas de 7 a 9 dias, e somente fêmeas de 9 dias atraíram mais que a testemunha, mas ainda assim a diferença não foi significativa, devendo ainda ser considerado que apenas 32%

dos insetos se mostraram ativos, isto é, apresentaram algum tipo de resposta. A atividade obtida nesta serie de bioensaios foi de 388

TABELA 5. Respostas de fêmeas virgens de *A. fasciculatus* de 7 a 9 dias, atraídas por voláteis de fêmeas virgens de 6 a 9 dias (medias de 10 repetições). Temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, Umidade relativa do ar $90\pm 5\%$.

TRATAMENTO		FONTE	TESTEMUNHA	SEM RESPOSTA	PROB>T
fonte	receptor	\pm EP ¹	\pm EP ¹	\pm EP ¹	
6	7	17 \pm 4,2	19 \pm 3,1	64 \pm 4,5	0,74
7	7	16 \pm 4,0	20 \pm 2,6	64 \pm 5,8	0,27
7	8	21 \pm 4,3	30 \pm 3,3	49 \pm 5,3	0,15
8	8	15 \pm 3,4	23 \pm 4,7	62 \pm 5,1	0,25
8	9	17 \pm 2,6	17 \pm 3,3	66 \pm 4,0	1,00
9	7	22 \pm 5,7	10 \pm 2,1	68 \pm 6,6	0,06

¹ erro padrão da media

Da mesma forma, fêmeas de 7 a 9 dias não atraíram machos de 7 a 9 dias de forma significativa (TABELA 6), e neste caso fêmeas de 7 e 8 dias atraíram mais machos que a testemunha, tendo a maior atração ocorrido entre fêmeas e machos de 8 dias, sem diferença significativa entre as

respostas, e com 53% dos insetos apresentando atividade. A porcentagem media de insetos ativos foi de 56%.

TABELA 6. Respostas de machos virgens de *A. fasciculatus* de 7 a 9 dias, atraídos por voláteis de fêmeas virgens de 7 a 9 dias (médias de 10 repetições). Temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, Umidade relativa do ar $90\pm 5\%$.

TRATAMENTO		FONTE	TESTEMUNHA	SEM RESPOSTA	PROB>T
fonte	receptor	\pm EP ¹	\pm EP ¹	\pm EP ¹	
7	7	36 \pm 5,6	24 \pm 5,2	40 \pm 4,7	0,25
7	8	32 \pm 3,9	30 \pm 3,3	38 \pm 3,9	0,75
8	8	31 \pm 5,5	22 \pm 3,9	47 \pm 8,3	0,08
9	8	23 \pm 5,4	27 \pm 6,8	50 \pm 5,2	0,73
9	9	20 \pm 3,9	33 \pm 5,8	47 \pm 6,3	0,12

¹ erro padrão da media

Esses resultados nao indicam a ocorrência de feromônios liberados pelas fêmeas, porem nao eliminam a possibilidade dos mesmos existirem. PHILLIPS & BURKHOLDER (1981) observaram que a baixa concentração pode ter impedido a obtenção de prova experimental da existencia de feromônios produzidos por fêmeas de *S. oryzae* e segundo HEDIN et al.(1979), esse fato dificultou a prova da ocorrência do feromônio emitido pelas fêmeas de *Anthonomus*

grandis Boheman (Coleoptera: Curculionidae). Segundo SINGH (1993), o feromônio sexual de fêmeas de *A. fasciculatus* provoca somente comportamento de acasalamento em machos da espécie.

4.3.3. Atratividade de voláteis de machos adultos

Os bioensaios usando machos como fonte de atração, atraíram tanto fêmeas como machos. Na atração a machos (TABELA 7), somente em dois casos, machos de 6 e 9 dias atraindo machos de 8 dias, houve atração maior pela testemunha, mas em ambos a diferença entre as respostas não foram significativas. No tratamento em que machos de 7 dias atraíram os de 6 dias, apesar da resposta ser maior ao tratamento, também foi não significativa.

Nos demais tratamentos, houve atração dos machos, significativas a níveis inferiores a 5%. A porcentagem média de insetos ativos foi 61%, maior que as apresentadas quando as fêmeas atraíram fêmeas (38%) e machos (56%). A preferência dos machos ativos, nos tratamentos em que houve diferenças significativas entre a fonte de voláteis e a testemunha (FIGURA 7), indica que pelo menos 60% deles preferiram o tubo com o inseto, sendo atraídos pelos voláteis dos machos.

TABELA 7. Respostas de machos virgens de *A. fasciculatus* de 6 a 10 dias, atraídos por voláteis de machos virgens de 5 a 10 dias (médias de 10 repetições). Temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, Umidade relativa do ar $90\pm 5\%$.

TRATAMENTO		FONTE	TESTEMUNHA	SEM RESPOSTA	PROB>T
fonte	receptor	\pm EP ¹	\pm EP ¹	\pm EP ¹	
5	8	47 \pm 4,7	20 \pm 4,2	33 \pm 2,6	0,01
6	7	37 \pm 6,3	13 \pm 2,1	50 \pm 6,3	0,01
6	8	23 \pm 5,0	42 \pm 6,1	35 \pm 5,4	0,08
7	6	34 \pm 5,0	22 \pm 2,0	44 \pm 4,3	0,09
7	1	43 \pm 5,6	17 \pm 3,0	40 \pm 6,1	0,00
7	10	40 \pm 5,6	18 \pm 4,2	42 \pm 5,7	0,02
8	8	39 \pm 4,8	22 \pm 4,7	39 \pm 6,2	0,04
8	9	40 \pm 4,7	25 \pm 2,7	35 \pm 5,4	0,02
9	8	30 \pm 4,5	36 \pm 3,7	34 \pm 5,6	0,34
10	8	40 \pm 2,6	25 \pm 3,4	35 \pm 3,7	0,01

¹ erro padrão da média

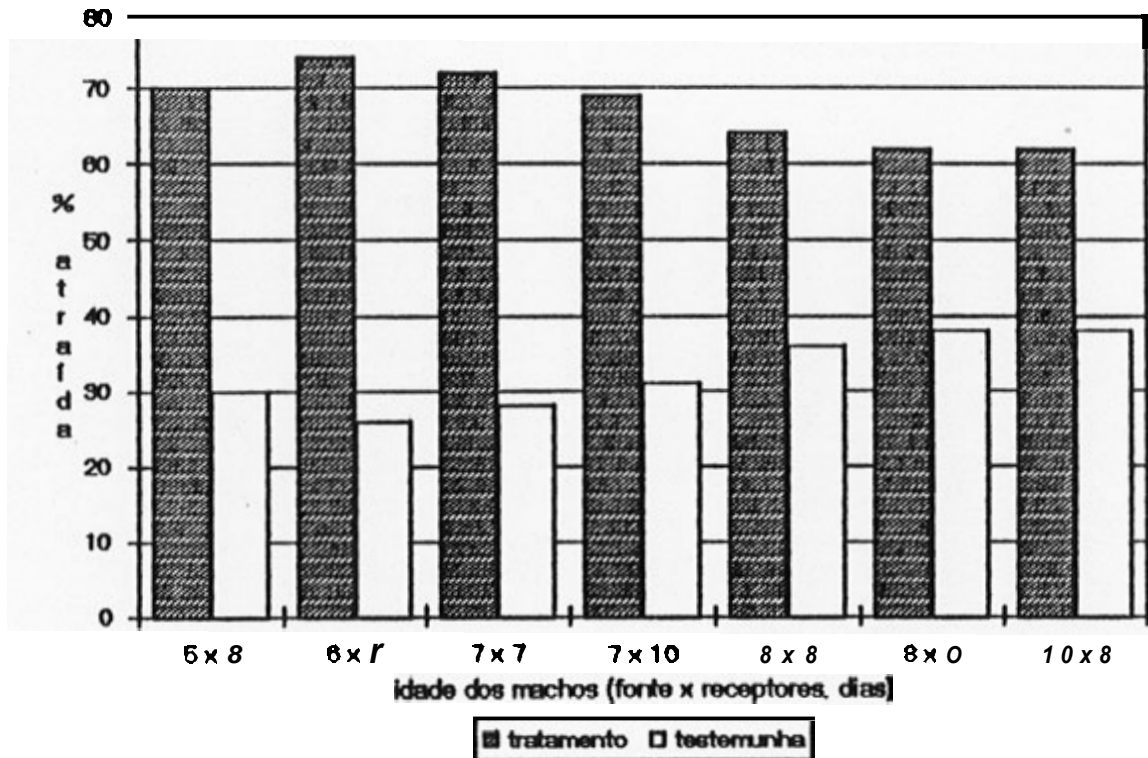


FIGURA 1. Respostas de machos ativos de *A. fasciculatus* de 8 a 10 dias de idade, atraídos por machos de 5 a 10 dias de idade (médias de 10 repetições). Temperatura $27 \pm 2^\circ\text{C}$, Umidade relativa do ar $90 \pm 5\%$.

Na atração de fêmeas (TABELA 8), somente dois tratamentos não apresentaram resultados significativos: machos de 2 dias atraindo fêmeas de 8 dias e machos de 7 dias atraindo fêmeas de 4 dias, embora o número de insetos atraídos pelo tratamento tenha sido maior que o atraído pela testemunha: em todos os outros tratamentos, houve respostas significativas em nível inferior a 5% de probabilidade. A porcentagem média de insetos ativos foi de 57%, porém se forem considerados somente machos de 5 ou mais dias atraindo fêmeas de 7 ou mais dias, essa média aumenta para 68%, maior que a ocorrida quando foram atraídos machos e quando fêmeas foram a fonte de atração, nas mesmas condições de idade.

A atratividade de machos de 2 a 10 dias atraindo fêmeas de 8 dias, considerando apenas as fêmeas ativas (FIGURA 8), aumenta com a idade. Assim, machos de 2 e 3 dias atraíram menos de 70% das fêmeas ativas, e a partir de 4 dias atraíram mais de 80% delas, com exceção de machos de 6 dias, que atraíram 77%. A maior atratividade, 97%, foi obtida com machos de 10 dias.

TABELA 8. Respostas de fêmeas virgens de *A. fasciculatus* de 3 a 10 dias, atraídas por voláteis de machos virgens de 2 a 10 dias (médias de 10 repetições). Temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, Umidade relativa do ar $90\pm 5\%$.

TRATAMENTO		FONTE	TESTEMUNHA	SEM RESPOSTA	PROB>T
fonte	receptor	\pm EP ¹	\pm EP ¹	\pm EP ¹	
2	8	27 \pm 2,6	25 \pm 2,7	48 \pm 3,6	0,62
3	8	27 \pm 4,7	13 \pm 2,1	60 \pm 5,4	0,02
4	8	25 \pm 4,3	5 \pm 1,7	70 \pm 4,2	0,00
5	8	53 \pm 5,0	4 \pm 1,6	43 \pm 4,7	0,00
6	6	40 \pm 3,3	14 \pm 2,2	46 \pm 5,0	0,00
6	8	54 \pm 3,4	16 \pm 4,5	30 \pm 4,9	0,00
7	4	22 \pm 4,7	17 \pm 4,7	61 \pm 7,7	0,38
7	7	47 \pm 5,6	22 \pm 3,6	31 \pm 5,9	0,01
7	8	72 \pm 3,9	9 \pm 2,3	19 \pm 3,1	0,00
8	3	21 \pm 2,8	12 \pm 1,3	67 \pm 3,3	0,01
8	5	38 \pm 4,7	10 \pm 2,6	52 \pm 7,0	0,00
8	7	38 \pm 5,7	3 \pm 1,5	59 \pm 6,2	0,00
8	8	60 \pm 4,2	11 \pm 2,3	29 \pm 5,7	0,00
8	10	70 \pm 2,6	13 \pm 3,0	17 \pm 3,7	0,00
9	8	70 \pm 5,2	8 \pm 2,5	22 \pm 5,3	0,00
9	9	37 \pm 2,6	15 \pm 3,4	48 \pm 5,3	0,00
10	8	72 \pm 4,2	2 \pm 1,3	26 \pm 5,0	0,00

¹ erro padrão da média

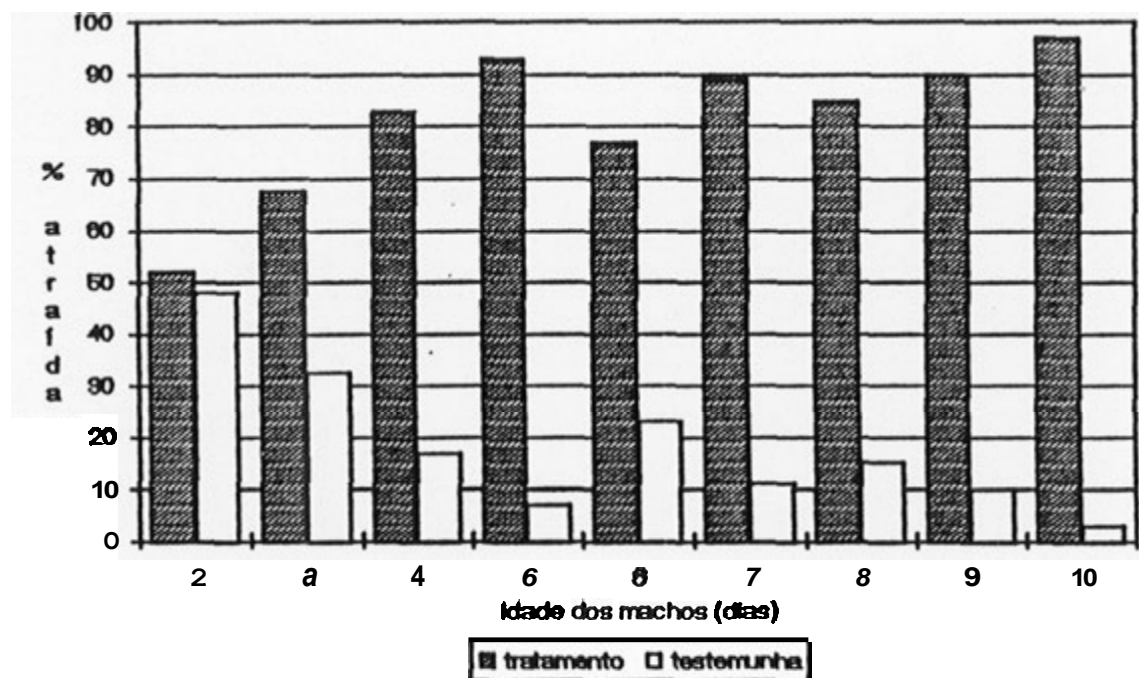


FIGURA 8. Respostas de fêmeas ativas de *A. fasciculatus* de 8 dias de idade, atraídas por machos de 2 a 10 dias de idade (médias de 10 repetições). Temperatura $27 \pm 2^\circ\text{C}$, Umidade relativa do ar $90 \pm 5\%$.

PHILLIPS & BURKHOLDER (1981) consideraram que discos de ensaio bacteriano que permaneciam em um pequeno frasco, com um adulto de *S. oryzae* por 7 dias, continham o feromônio equivalente ao liberado por 7 insetos em 1 dia. Neste estudo, por estar o inseto presente, não foi possível verificar se a atratividade resultou da idade do inseto no dia do bioensaio, ou do feromônio acumulado no período,

devendo ter ocorrido uma soma dos dois efeitos. Entretanto, pelo pequeno número de acasalamentos ocorridos com machos de 1 e 2 dias, pode-se considerar que a emissão de feromônios nesses dois dias deve ser muito pequena. A produção de feromônios deve iniciar-se ou pelo menos atingir um nível mais alto a partir de 3 dias de idade.

Como o limiar de resposta de insetos a feromônios é muito baixo, o aumento da concentração do mesmo tem pouco efeito na resposta. WALGENBACH e BURKHOLDER (1986) verificaram que fêmeas de *S. zeamais* respondem significativamente a concentrações a partir de 1 ng e machos a partir de 10 ng, provavelmente por estarem acostumados a baixas concentrações de feromônio, por eles produzido. Ainda segundo esses autores, a produção diária de feromônios por inseto entre 1 e 10 dias de idade foi de cerca de 27 ng, suficiente portanto para atrair machos e fêmeas.

A atratividade de machos de 8 dias, para fêmeas de 3 a 10 dias (FIGURA 9), considerando-se os insetos ativos, mostra que 64% das fêmeas de 3 dias, a menor idade em que houve atração significativa, foram atraídas. A partir de 5 dias, quando a atração foi de 79%, esta manteve-se acima de 80%. As fêmeas de 7 dias foram as mais atraídas, 93%, havendo uma diminuição com 9 e 10 dias. O período de maior resposta das fêmeas e machos estão assim

de acordo com o período em que apresentam maior número de cópulas.

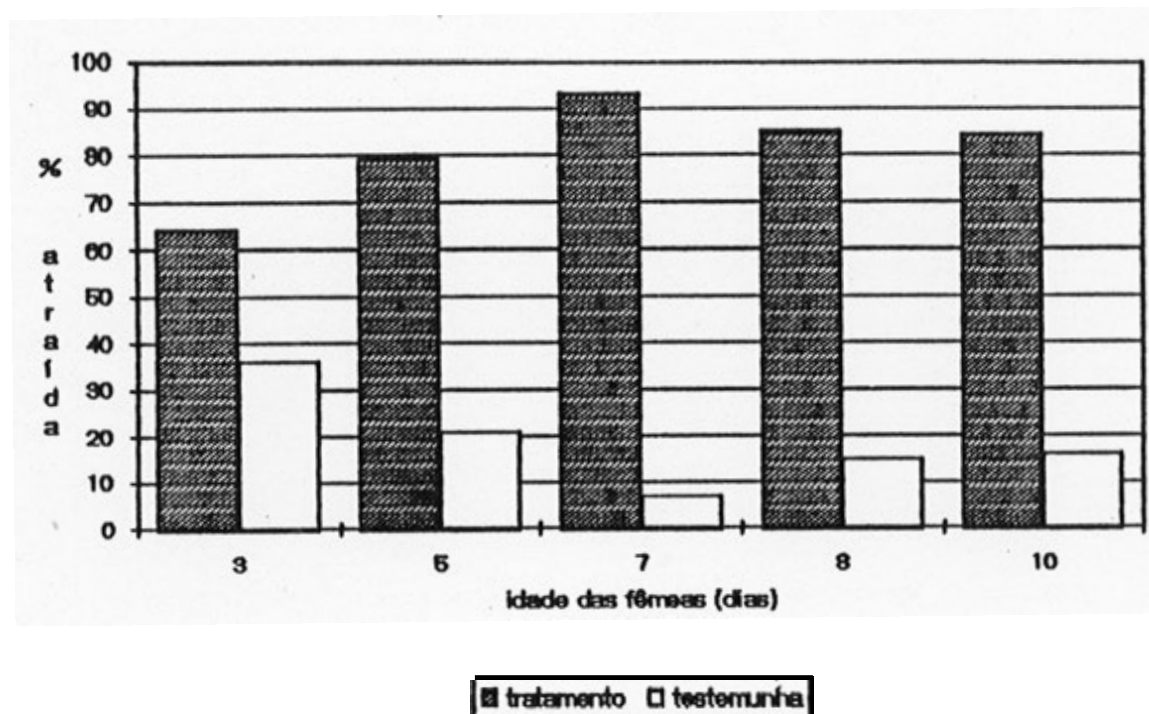


FIGURA 9. Resposta de fêmeas ativas de *A. fascioulatus* de 3 a 10 dias de idade, atraídas por machos de 8 dias (médias de 10 repetições). Temperatura $27 \pm 2^\circ\text{C}$, Umidade relativa do ar $90 \pm 5\%$.

Estes resultados evidenciam a existencia de um feromônio de agregação, produzido por machos de *A.*

constatação confirma a proposição de BURKHOLDER (1982), de que geralmente insetos de graos armazenados de vida superior a 1 mês, e que necessitam de alimentação para reproduzir, apresentam feromônios de agregação, produzidos pelos machos.

A viabilidade da utilização dessas substâncias na detecção ou controle desta especie depende ainda de estudos visando sua identificação, síntese e posteriormente, bioensaios para avaliar o comportamento desse inseto a quantidades conhecidas do feromônio, a determinação do tipo de armadilha mais eficiente, e a forma de sua utilização.

5. CONCLUSÕES

1. O ciclo de *A. fascioulatus*, de ovo a adulto, em café do cultivar Mundo Novo com 12% de umidade inicial, a $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, $90\pm 5\%$ UR, e fotofase de 12h, varia de 57 a 97 dias, com uma média de $72,4\pm 1,0$ dias.
2. A primeira cópula de *A. fascioulatus*, entre machos e fêmeas de até 5 dias de idade, ocorre entre fêmeas de 2 dias e machos de 3 dias.
3. O olfatômetro de dupla escolha e o método utilizado são eficientes para a avaliação do comportamento de adultos de *A. fascioulatus* em relação a substâncias voláteis.
4. Machos e fêmeas virgens de *A. fascioulatus* são atraídos pelos voláteis de machos virgens, evidenciando a existência nesta espécie de feromônio de agregação, produzido por machos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARSURA, E. & ACCINELLI, U. I feromoni di sintesi nella tecnica del monitoraggio. *Informatore Fitopatologico*, Bologna, 40(6):5-11, 1990.

ARSURA, E. e ACCINELLI, U. La "cattura di massa" nella lotta contro gli insetti. *Informatore Fitopatologico*, Bologna, 41(9):11-16, 1991.

AUTUORI, M. Dados biológicos sobre o *Araecerus fasciculatus* (De Geer) (Col. Anthribidae). *Revista de Entomologia*, São Paulo, 1(1):52-61, 1931.

BAKER, T.C. e CARDÉ, R.T. Techniques for Behavioral Bioassays. In: HUMMEL, H.E.; MILLER, T.A., (eds). *Techniques in Pheromone Research*. New York, Springer-Verlag, 1984, p.45-73.

BITRAN, E.A. Avaliação experimental de prejuízos causados pelo caruncho-do-café, *Araecerus fasciculatus* (De Geer, 1775) (Coleoptera, Anthribidae), em café beneficiado armazenado. *Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo*, **40(4):343-355**, 1973.

BLACKWELDER, R.E. Checklist of the coleopterous insects of Mexico, Central America, The West Indies and South America. Washington, Smithsonian Institution, 1957. 1492 p. (Bulletin 185)

BORDEN, J.H.; DOLINSKY, M.G.; CHONG, L. VERIGIN, V.; PIERCE, H. D. ,JR.; OEHLISCHLAGER, A.C. Aggregation pheromone in the rusty grain beetle, *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Cucujidae). *Canadian Entomologist*, Ottawa, **111(6):681-688**, 1979.

BRICENO-IRAGORRY, L. Nota sobre *Araecerus fasciculatus* De Geer, coleoptero atacante del grano del café. *Boletín do Laboratorio Luis Razetti*, Caracas, **1(1):2-14**, 1940.

BURKHOLDER, W.E. Reproductive biology and communication among grain storage and warehouse beetles. *Journal of the Georgia Entomological Society*, Athens, **17(4):1-10(suppl. 2)**, 1982.

BURKHOLDER, W.E. & DICKE, R.J. Evidence of sex pheromones in females of several species of Dermestidae. *Journal of Economic Entomology*, College Park, 59 (3):540-543, 1966.

BURKHOLDER, W.E. & MA, M. Pheromones for monitoring and control of stored-product insects. In: *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, 30:257-272, 1985.

CABAL CONCHA; A. Biología y control del gorgojo del café: *Araecerus fasciculatus* De Geer, Fam.: (Anthribidae) en Barranquilla, Colombia. *Revista da Faculdade Nacional de Agronomia, Medellin*, 17 (49):49-72, 1956.

CAMPION, D.G. Survey of pheromone uses in pest control. In: HUMMEL, H.E. & MILLER, T.A., (eds). *Techniques in Pheromone Research*, New York, Springer-Verlag, 1984, p.405-449.

CHAMBERS, J. overview on stored-product insect pheromones and food attractants. *Journal of the Kansas Entomological Society*, Manhattan, 63(4):490-499, 1990

- CHAMBERS, J.; MORGAN, C.P.; WHITE, P.R.; MORI, K.; FINNEGAN, D.E.; PINNIGER, D.B. Rust-red grain beetle, *Cryptolestes ferrugineus*, and flat grain beetle, *Cryptolestes pusillus*: Antennal and behavioral responses to synthetic components of their aggregation pheromones. **Journal of Chemical Ecology**, New York, **16 (12):3353-3372, 1990.**
- CHILDERS, C.C. & WOODRUFF, R.E. A bibliography of the coffee bean weevil *Arasceorus fascioulatus* (Coleoptera: Anthribidae). **Bulletin of The Entomological Society of America**, College Park, **26(3):384-394, 1980.**
- COFFELT, J.A. & BURKHOLDER, W.E. Reproductive biology of the cigarette beetle, *Lasiodesma serricornis*. I. Quantitative laboratory bioassay of the female sex pheromone from females of different ages. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, **65(2):447-450, 1972.**
- EL SAYED, M.T. On the biology of *Arasceorus fascioulatus* De Geer (Col., Anthribidae) with special reference to the effects of variations in the nature and water content of the food. **Annals of Applied of Biology**, London, **22 (3): 557-577, 1935.**

- EL SAYED, M.T. The morphology, anatomy and biology of *Araecerus fasciculatus* De Geer (Coleoptera: Anthribidae) **Bulletin de la Société Fouad 1er. d'Entomologie**, Cairo, **24:82-151**, 1940.
- FAVERO, S.; SALGADO, L.O.; VILELA, E.F.; PILLI, R.A. Resposta olfativa de *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) ao feromônio sintético de agregação sitophilure. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, **22 (3):427-432**, 1993
- FIGUEIREDO JR, E.R. O controle do caruncho-das-tulhas. **Biológico**, São Paulo, **23(10):197-200**, 1957.
- FINNEGAN, D.E. h CHAMBERS, J. Identification of the sex pheromone of the Guernsey carpet beetle, *Antrrenus sarnicus* Hroczkowski (Coleoptera: Dermestidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, **19 (5):971-983**, 1993.
- FONSECA, J.P. O caruncho-das-tulhas do cafeeiro. **Biológico**, São Paulo, **1(10):368-369**, 1935.
- GECAN, J.S.; BANDLER, R.; ATKINSON, J.C. Microanalytical quality of imported green coffee beans. **Journal of Food Proteation**, (s.l.), **51(7):569-570**, 1988.

GONÇALVES, L.I.; BITRAN, H.V.; BITRAN, E.A. Contribuição ao estudo da biologia do caruncho-do-café *Arascerus fasciculatus* (De Geer, 1775) (Coleoptera, Anthribidae). **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 43(3/4):81-88, 1976.**

HAMMACK, L. h BURKHOLDER, W.E. Circadian rhythm of sex pheromone-releasing behaviour in females of the dermestid beetle, *Trogoderma glabrum*: regulation by photoperiod. **Journal of Insect Physiology, London, 22(3):385-388, 1976.**

HAMMACK, L: MA, M.: BURKHOLDER, W.E. Sex pheromone-releasing behaviour in females of the dermestid beetle, *Trogoderma glabrum*. **Journal of Insect Physiology, London, 22(4):555-561, 1976.**

HECKER, E. & BUTENANDT, A. Bombykol revisited - reflections on a pionering period and on some of its consequences. In: HUMMEL, H.E. & MILLER, T.A., (eds). **Techniques in Pheromone Research**. New York, Springer-Verlag, 1984, p. 1-44.

HEDIN, P.A.: MCKIBBEN, G.H.; MITCHELL, E.B.; JOHNSON, W.L. Identification and field evaluation of the compounds comprising the sex pheromone of the female boll weevil. **Journal of Chemical Ecology, New York, 5(4): 617-627, 1979.** Apud PHILLIPS & BURKHOLDER (1981).

- HEMPEL, A. Praga do café. *Boletim de Agricultura*, São Paulo, **2(4):265-268**, 1901.
- HUMMEL, H. E. Preface. In: HUMMEL, H. E. h MILLER, T. A., (eds). **Techniques in Pheromone Research**. New York, Springer-Verlag, 1984, p.VII-IX.
- IMENES, S. D. L. ; ZORZENON, F. J. ; BERGMANN, E. C. ; SILVA, L. E. F. R. Ocorrência de *Araecerus fasciculatus* (Coleoptera: Anthribidae) em frutos de *Raphia pedunculata* Beauv. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, Recife, 1993. Resumos. Recife, Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais, 1993. s.p.
- KARLSON, P. h LÜSCHER, M. 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature*, London, **183(1) :55-56**, 1959.
- KUWAHARA, Y. h NAKAMURA, S. (Z)-5- and (E)-5-undecenoic acid: identification of the sex pheromone of the varied carpet beetle *Anthrenus verbasci* (L.) (Coleoptera: Dermestidae). *Applied Entomology and Zoology*, Tokyo, **20:354-356**, 1985. Apud FINNEGAN h CHAMBERS (1993).

LANIER, G.N. & BURNS, B.W. Barometric flux: effects on the responsiveness of bark beetles to aggregation attractants. *Journal of Chemical Ecology*, New York, 4(2):139-147, 1978. Apud *Review of Applied Entomology*, London, 66(10):597, 1978. (Resumo 4828).

LAVABRE, E.M. & DECAZY, B. Contribution a l'etude des problèmes poses par le stockage des cafes dans les pays de production. Primières données sur le comportement de l'*Araecerus fasciculatus* à temperature et humidité contrôlées. *Café Cacao Thé*, Paris, 12(4):321-342, 1968.

LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA, Rio de Janeiro, 6(4):23, 1994.

MILLAR, J.G.; PIERCE, H.D., Jr.; PIERCE, A.M.; OEHLISCHLAGER, A.C.; BORDEN, J.H.; BARAK, A.V. Aggregation pheromones of the flat grain beetle, *Cryptolestes pusillus* (Coleoptera: Cucujidae). *Journal of Chemical Ecology*, New York, 11(8):1053-1070, 1985a.

MILLAR, J.G.; PIERCE, H.D., Jr.; PIERCE, A.M.; OEHLISCHLAGER, A.C.; BORDEN, J.H. Aggregation pheromones of the grain beetle, *Cryptolestes turcicus* (Coleoptera: Cucujidae). *Journal of Chemical Ecology*, New York, 11(8):1071-1081, 1985b.

- MUELLER, D.; PIERCE, L.; BENEZET, H.; KRISCHIK, V.
Practical application of pheromone traps in food and tobacco industry. **Journal of the Kansas Entomological Society**, Manhattan, **63**(4) : 548-553, 1990.
- OBENG-OFORI, D. h COAKER, T.H. Some factors affecting responses of four stored products beetles (Coleoptera: Tenebrionidae h Bostrichidae) to pheromones. **Bulletin of Entomological Research**, London, **80**:433-441, 1990.
- PAIVA, M.R. h PEDROSA-MACEDO, J.H. **Feromonas de Insetos**. Curitiba, Secretaria de Estado do Planejamento do Paraná/Agência Alemã de Cooperação Técnica, 1985. 84p.
- PEÑA, A.; KELLY, D.R.; SZAUMAN-SZUMSKI, C.; CAMPOS, M. Optimization of bioassay conditions for the olive bark beetle, **Phloeotribus scarabaeoides**. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, **63**(1):81-86, 1992.
- PHILLIPS, J.K. h BURKHOLDER, W.E. Evidence for a male-produced aggregation pheromone in the rice weevil. **Journal of Economic Entomology**, College Park, **74**(5):539-542, 1981.

- PHILLIPS, J.K.; MILLER, S.P.F.; ANDERSEN, J.F.; FALES, H.M.; BURKHOLDER, W.E. The chemical identification of the granary weevil aggregation pheromone. *Tetrahédon Letters*, London, 28(49):6145-6146, 1987.
- PIERCE, A.M.; BORDEN, J.H.; OEHLISCHLAGER, A.C. Effects of age and population density on response to beetle and food volatiles by *O. surinamensis* and *O. mercator* (Coleoptera: Cucujidae). *Environmental Entomology*, College Park, 12(6):1367-1374, 1983.
- PIERCE, H.D., Jr.; PIERCE, A.M.; JOHNSTON, B.D., OEHLISCHLAGER, A.C.; BORDEN, J.H. Aggregation pheromone of the square-necked grain beetle, *Cathartus quadricollis* (Guer.). *Journal of Chemical Ecology*, New York, 14(12):2169-2184, 1988.
- PIERCE, H.D., Jr.; PIERCE, A.M.; MILLAR, J.G.; WONG, J.W.; VERIGIN, V.G.; OEHLISCHLAGER, A.C.; BORDEN, J.H. Methodology for isolation and analysis of aggregation pheromones in the genera *Cryptolestes* and *Oryzaephilus* (Coleoptera: Cucujidae). *Proceedings of the Third International Working Conference on Stored-Product Entomology*, Manhattan, Kansas, p.121-137. 1984. Apud CHAMBERS (1990)

- PUZZI, D. *h* PEREIRA, H.F. Dados preliminares sobre estudos de ecologia do caruncho-do-café - *Araecerus fasciculatus* De Geer. *Biológico*, São Paulo, 33(5):97-101, 1967.
- RANGASWAMY, J.R. *h* SASIKALA, V.B. Sex pheromone properties of 2-2, noneyl propionate isolated from virgin females of red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera). *Indian Journal of Experimental Biology*, 29(3)263-266, 1991. Apud *Review of Agricultural Entomology*, London, 80(2):178, 1992. (Resumo 1531).
- REIS, P.R. *h* SOUZA, J.C. Pragas do cafeeiro. In: RENA, A. B., MALAVOLTA, E., ROCHA, M.; YAMADA, T. eds. *Cultura do Cafeeiro: Fatores que afetam a produtividade*. Potafos, Piracicaba, 1986, p.323-378.
- SHOREY, H.H. *Animal communication by pheromones*. New York, Academic Press, 1976. 167p.
- SILVA, A.G.d'A.; GONÇALVES, C.R.; GALVÃO, D.M.; GONÇALVES, A. J. L.; GOMES, J.; SILVA, M.N.; SIMONI, L. *Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil. Seus parasitos e predadores. Parte 11, Tomo 1, Insetos, hospedeiros e inimigos naturais*. Rio de Janeiro, Ministerio da Agricultura, 1968. 622p.

- SILVEIRA NETO, S. & NAKANO, O. Teste de atratividade de *Lasioderma serricorne* (F.) com o feromônio "Serrico". In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 9, Londrina, 1984. *Resumos*, Londrina, Sociedade Entomológica do Brasil, 1984. p. 317.
- SILVERSTEIN, R.M.; RODIN, J.O.; BURKHOLDER, W.E.; GORMAN, J.E. Sex attractant of the black carpet beetle. *Science*, Washington, **157**:85-87, 1967.
- SINGH, K. Evidence of male and female of coffee bean weevil, *Araccerus fasciculatus* (Deg) (Coleoptera: Anthribidae) emitted aggregation and sex pheromones. *Crop Research (Hysar)*, **6**(1):97-101, 1993. Apud *Review of Agricultural Entomology*, London, **82**(7):769, 1994. (Resumo 6707).
- TREMATERRA, P. Pheromone trapping and mating disruption leading to insectistasis. (Proceedings of a Scientific Congress, Barcelona, Spain, 25-28 of October, 1988). *Boletin de Sanidad Vegetal*, Madrid, **17**(Fuera de serie):495-510, 1989.
- VICK, K.W. , BURKHOLDER, W.E.,; GORMAN, J.E. Interspecific response to sex pheromones of *Trogoderma* species (Coleoptera: Dermestidae). *Annals of the Entomological Society of America*, College Park, **63**(2):379-381, 1970.

- VILELA, E.F. *h* DELLA LUCIA, T.M.C. **Feromônios de insetos** (biologia, química e emprego no manejo de pragas). Viçosa, Imprensa Universitária, UFV, 1987. 155p.
- WALGENBACH, C.A. *h* BURKHOLDER, W.E. Factors affecting the response of the maize weevil, ***Sitophilus zeamais*** (Coleoptera: Curculionidae), to its aggregation pheromone. **Environmental Entomology**, College Park, 15 (3): 733-738, 1986.