

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

**Comportamento sexual da broca-do-café, *Hypothenemus hampei*
(Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)**

Weliton Dias da Silva

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2009

Weliton Dias da Silva
Engenheiro Agrônomo

**Comportamento sexual da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867)
(Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)**

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

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba
2009**

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

Silva, Weliton Dias da

Comportamento sexual da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867)
(Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) / Weliton Dias da Silva. - - Piracicaba, 2009.
58 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.
Bibliografia.

1. Acasalamento 2. Café 3. Comportamento animal 4. Feromônios 5. Semioquímico
Título

CDD 632.78
S586c

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

Aos meus pais, CÁSSIO e ARACI

Aos meus irmãos, WILLIAN e HUDSON

A minha tia, CLEUZA, e ao meu tio, OTÁVIO (in memoriam)

A minha namorada, EMILIANA

Dedico

AGRADECIMENTOS

A DEUS pela saúde, força e por tantas graças e bênçãos derramadas em minha vida.

Aos MEUS PAIS pelo incentivo e oportunidade de estudar.

À minha querida companheira e mestranda, EMILIANA MANESCO ROMAGNOLI, pelo incentivo, ajuda e apreço dados a minha pessoa.

Ao meu orientador, JOSÉ MAURÍCIO SIMÕES BENTO, pela convivência, amizade, incentivo, ajuda e por ter sempre acreditado em mim.

Ao APARECIDO DA SILVA JUNIOR, CRISTIANE NARDI, DAIAN GUILHERME PINTO DE OLIVEIRA, DIOGO CARNEIRO DE MELO, EVERTON MICHEL DE LIMA, GABRIEL DE MOURA MASCARIN, JULIANA MORENO TRIGO, MARCIO MAHMOUD MEGDA, MICHELE XAVIER VIEIRA e PIAUÍ (THIAGO DE ARAÚJO MASTRANGELO) pela amizade inefável.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e, em especial, ao Departamento de Entomologia e Acarologia com seus professores e funcionários.

Ao professor JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA pelo espaço cedido em seu laboratório para criação da broca-do-café e pela atenção e incentivo dados a esta pesquisa.

À professora ROZIMAR DE CAMPOS PEREIRA da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia pela disponibilidade em ajudar com a presente pesquisa.

Aos doutorandos GABRIEL DE MOURA MASCARIN, LEONARDO SANTA ROSA PIERRE e THIAGO DE ARAÚJO MASTRANGELO pela ajuda inestimável dada a esta pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia Química e Comportamento de Insetos: ANA CRISTINA PELLEGRINO, ANA LIA PARRA PEDRAZZOLI, ANDRÉ GUSTAVO CORRÊA SIGNORETTI, ANDREA GRAF WERNEBURG, LAURA DRUMMOND DE ANDRADE, MARIA ISABEL FANCELLI TOMAZELLA, MARIANA MONTAGNER DE MORAES SARMENTO, MAYRA AMBROZANO, NANCY BARRETO TRIANA, NEWTON CAVALCANTI DE NORONHA JUNIOR, MARIA FERNANDA GOMES VILLALBA PEÑAFLORES (pelo abstract também, Fer), REJANE CRISTINA ROPPA KUSS ROGGIA, REJANE ANGÉLICA GRIGIO LUVIZOTTO, RENATA MORELLI-DE-ANDRADE e VITOR BERTONI CONTO pelo convívio e companheirismo.

À bibliotecária SÍLVIA ZINSLY pela normatização desta dissertação.

E ao CNPq e INCT de Semioquímicos na Agricultura (FAPESP-CNPq) pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
LISTA DE FIGURAS	13
2 DESENVOLVIMENTO.....	17
2.1 Revisão bibliográfica	17
2.1.1 Importância de <i>Hypothenemus hampei</i> para cafeicultura.....	17
2.1.2 Aspectos bioecológicos da broca-do-café.....	18
2.1.2.1 Descrição do adulto	18
2.1.2.2 Oviposição.....	19
2.1.2.3 Fases de desenvolvimento.....	19
2.1.2.4 Duração do ciclo de vida (ovo a adulto)	22
2.1.2.5 Longevidade de adultos.....	22
2.1.2.6 Proporção sexual	23
2.1.2.7 Aspectos do comportamento reprodutivo de <i>H. hampei</i>	23
2.1.2.8 Comportamento de abandono do fruto nativo	24
2.1.2.9 Resposta olfativa de <i>H. hampei</i> por voláteis de frutos de café.....	25
2.1.3 Comportamento sexual em Curculionidae	26
2.1.3.1 Pré cópula	26
2.1.3.2 Cópula.....	27
2.1.3.3 Pós-cópula	27
2.1.4 Importância dos estudos comportamentais.....	28
2.2 Material e Métodos	29
2.2.1 Estabelecimento da criação de <i>H. hampei</i> em laboratório	29
2.2.2 Obtenção de adultos virgens.....	30
2.2.3 Estudos comportamentais.....	31
2.2.3.1 Horário e idade de acasalamento, duração e número de cópulas por casal	31
2.2.3.2 Seqüência do acasalamento	32
2.2.3.3 Determinação do sexo responsável pela atração.....	33
2.2.4 Análise estatística dos dados	34
2.3 Resultados	35

2.3.1 Horário e idade de acasalamento, duração e número de cópulas por casal	35
2.3.2 Seqüência do acasalamento.....	37
2.3.2.1 Pré-cópula	38
2.3.2.2 Cópula	38
2.3.2.3 Pós-cópula.....	38
2.3.3 Duração das fases comportamentais de pré-cópula, cópula e pós-cópula.....	41
2.3.4 Determinação do sexo responsável pela atração	41
2.4 Discussão	43
2.4.1 Horário e idade de acasalamento, duração e número de cópulas por casal	43
2.4.2 Sequência do acasalamento.....	44
2.4.3 Sexo responsável pela atração	46
3 CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	51

RESUMO

Comportamento sexual da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)

O estudo do comportamento sexual dos insetos abrange todos os eventos ocorridos desde a formação dos casais por meio do cortejo, até a separação dos mesmos após a cópula. Esses estudos são importantes e representam o primeiro passo em pesquisas que visam à elucidação de feromônios da espécie alvo. No caso da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), que é considerada mundialmente a principal praga do café, existe uma lacuna de informações sobre o comportamento sexual dessa espécie. Além disso, as pesquisas têm sido direcionadas para o uso de armadilhas contendo alcoóis (ex: etanol e metanol) visando o manejo dessa praga, mas com resultados conflitantes. Em razão disso, o objetivo do presente trabalho foi estudar o comportamento sexual de *H. hampei*, como suporte para estudos subseqüentes visando a elucidação do feromônio da espécie. As cópulas de *H. hampei* ocorreram em qualquer horário dentro de um ciclo de 24 horas. Embora em menor freqüência, 60% dos casais realizaram pelo menos uma cópula na idade de 0-24 horas, chegando a 100% dos casais nas demais idades. A maior atividade sexual foi observada nas idades de 48-72 e 72-96 horas, onde, nessa última, ocorreram $6,9 \pm 0,47$ cópulas por casal com duração de $2,04 \pm 0,13$ minutos cada. Os padrões comportamentais exibidos foram semelhantes a outros grupos de curculionídeos, com pré-cópula, cópula e pós-cópula. Os resultados indicaram ainda a presença de um feromônio produzido pelos machos mediando o acasalamento. A possibilidade de as fêmeas de *H. hampei* realizarem a recópula após sua saída dos frutos abre novas perspectivas sobre a viabilidade deste feromônio no manejo desta praga.

Palavras-chaves: Café; Comportamento; Acasalamento; Feromônio; Semioquímicos

ABSTRACT

Sexual behavior of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)

The sexual behavior study in insects includes all the events occurred since of pair encounter by means of courtship until their separation after mating. These studies are important and represent the first step of researches that aim to elucidate pheromones of target species. Regarding the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), which is the most important coffee pest around the world, little is known about its sexual behavior. Furthermore, the researchers have been focused on the use of traps based on alcohols (e.g. ethanol and methanol) with aims of managing this pest, but its results are conflicting. For that reason, the aim of the present work was to study the sexual behavior of *H. hampei*, whose it will give support to subsequent studies about evaluation of pheromone this species. Daily mating rhythm of *H. hampei* occurred on any time of 24-hour cycle. Although at low rates, 60% of paired adults mated at least once when they were 0-24 hours, reaching 100% in older pairs. The highest sexual activity was observed in the ages of 48-72 and 72-96 hours, being in this last one the occurrence of $6,9 \pm 0,47$ matings/pair with a mean duration of $2,04 \pm 0,13$ minutes each. The pattern behavior displayed was similar to other groups of Curculionidae, with premating, mating and postmating. The results also indicated the presence of a pheromone produced by the males that mediates mating. The possibility of the *H. hampei* females recopulates after they leave the fruits opens new perspectives to investigate the viability of using this pheromone in management of this pest.

Keywords: Coffee; Behavior; Mating; Pheromone; Semiochemicals

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Etapas do processo de colonização de um fruto de café por uma fêmea de <i>Hypothenemus hampei</i>	21
Figura 2 - Fases de desenvolvimento de <i>Hypothenemus hampei</i>	22
Figura 3 - Recipiente plástico 17,5 x12,5 x 6,5 cm (comprimento x largura x altura), utilizado para criação de <i>Hypothenemus hampei</i> em laboratório.....	30
Figura 4 - Casais de <i>Hypothenemus hampei</i> individualizados em células de uma placa de poliestireno para observação do comportamento sexual.....	32
Figura 5 - Dispositivo experimental utilizado para os bioensaios comportamentais de <i>Hypothenemus hampei</i>	34
Figura 6 - Porcentagem de cópulas em adultos de <i>Hypothenemus hampei</i> de 72-96 horas de idade em função do horário, sob condições de laboratório.....	35
Figura 7 - Porcentagem de cópulas em adultos de <i>Hypothenemus hampei</i> em função da idade, sob condições de laboratório.....	36
Figura 8 - Número de cópulas por casal (média \pm EP) de <i>Hypothenemus hampei</i> em função da idade.....	37
Figura 9 - Etograma do comportamento sexual de <i>Hypothenemus hampei</i>	39
Figura 10 - Comportamento de cópula de <i>Hypothenemus hampei</i>	40
Figura 11 - Resposta (tempo de permanência em segundos \pm EP) de machos de <i>Hypothenemus hampei</i> de 72-96 horas de idade na presença de voláteis defêmeas e do hospedeiro (endosperma de café) em olfatômetro de quatro vias.....	42

Figura 12 - Resposta (tempo de permanência em segundos \pm EP) de fêmeas de *Hypothenemus hampei* de 72-96 horas de idade na presença de voláteis de machos e do hospedeiro (endosperma de café) em olfatômetro de quatro vias.....42

1 INTRODUÇÃO

O estudo do comportamento sexual em insetos abrange todos os eventos ocorridos desde a formação dos casais a partir do cortejo até a separação dos mesmos após a cópula, apresentando grande variabilidade e flexibilidade entre as mais diversas espécies (GWYNNE, 2003).

As pesquisas que envolveram a elucidação de feromônios e aleloquímicos em Curculionidae, visando sua utilização no manejo integrado de pragas, estiveram calcadas em estudos comportamentais da espécie alvo (CALYECAC-CORTERO et al., 2006, PRASUNA et al., 2008).

Em Curculionidae, merece destaque a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), que é considerada a principal praga da cultura do café em todas as regiões produtoras do mundo, causando perdas quantitativas e qualitativas na produção (DAMON, 2000). Além de seu controle, estudos bioecológicos são dificultados, devido ao hábito críptico e ao ciclo multivoltino da praga (BAKER; BARREIRA; RIVAS, 1992).

Em relação ao comportamento sexual de *H. hampei*, as informações disponíveis são baseadas em poucos estudos biológicos sobre a espécie (BERGAMIN, 1943, GIORDANENGO, 1992). Além disso, boa parte dos trabalhos envolve relatos sobre a utilização de armadilhas contendo alcoóis para monitoramento e controle da broca, sem, no entanto, demonstrar resultados satisfatórios (SILVA, VENTURA, MORALES, 2006).

Alternativas para o manejo integrado de *H. hampei*, como o uso de feromônios visando um melhor monitoramento de adultos, a detecção de áreas livres ou infestadas e um possível controle por coleta massal ou confusão sexual seria bastante oportuno, além de vantajoso do ponto de vista ambiental. Em razão disso, o objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento sexual de *H. hampei*, determinando o horário, idade, número de cópulas por casal e o sexo responsável pela atração sexual, como suporte para estudos subseqüentes visando à elucidação do feromônio da espécie.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

2.1.1 Importância de *Hypothenemus hampei* para cafeicultura

O café é considerado um dos produtos mais demandados do mundo depois do petróleo (MACHADO, 2007). O Brasil se destaca no cenário mundial como o maior produtor e exportador de café verde. A safra 2007/2008 ultrapassou a casa de 37 milhões de sacas, das quais 27 milhões foram destinados a exportação, o que corresponde a 27,8 % das exportações mundiais. No Brasil, a área destinada à colheita do café ocupa mais de 2,2 milhões de hectares, destacando os estados de Minas Gerais, Espírito Santo e São Paulo como os principais produtores (FNP, 2009).

Nos países produtores, a cafeicultura é assolada por diversos problemas fitossanitários, dos quais merece destaque a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Essa espécie foi descrita primeiramente em 1867 em amostras de café vindas de Uganda, de onde, possivelmente, se espalhou para outras regiões do continente africano e para outras partes do globo (BERGAMIN, 1943, GIORDANENGO; BRUN; FREROT, 1993). Atualmente, somente o Hawaii (EUA) e Porto Rico se encontram livres da praga (VEGA et al., 2006 apud MENDESIL et al., 2009). Na América do Sul, o primeiro registro da presença da broca foi feito no Brasil, em Campinas, estado de São Paulo, em 1913 (BERTHET, 1913 apud BENASSI, 2007). Entretanto, o registro oficial da praga no país foi somente documentado em 1924 (CORBETT, 1933, BERGAMIN, 1943). Desde então, *H. hampei* foi se espalhando, estando hoje presente em todas as regiões cafeeiras do Brasil (BENASSI, 2007).

Segundo Decazy (1989 apud DAMON, 2000) a maioria dos indivíduos de *H. hampei* voa pouco, mas uma pequena proporção pode viajar longas distâncias a procura de novos frutos auxiliados por correntes de vento. De um modo geral, pode se considerar que a disseminação da praga ocorre por meio de vôos de curta a longa

distância, transporte passivo (animais, veículos, pessoas, vento, etc.) e por café comercializado.

A broca é bastante prejudicial à produção de café, pois ataca o fruto nos vários estágios de maturação, alimentando-se dos tecidos da semente (espermatófaga) (DAMON, 2000) (Figura 1E). Isso resulta na perda de peso dos grãos e/ou qualidade do café, refletindo negativamente sobre o valor comercial do produto (GALLO, 2002). Dependendo do nível de infestação as perdas podem chegar a 80% (REIS, 2002). A qualidade da bebida também é prejudicada, uma vez que as lesões ocasionadas pelo inseto no fruto servem de entrada para microorganismos, bactérias e fungos, que são agentes responsáveis pelo apodrecimento e queda dos frutos (SPONAGEL, 1994). Além disso, muitos dos microorganismos têm associação direta com a broca-do-café, os quais são responsáveis pela produção de toxinas no grão, representando um perigo para saúde humana (PÉREZ; INFANTE; VEJA, 2007, TANIWAKI, 2007).

2.1.2 Aspectos bioecológicos da broca-do-café

2.1.2.1 Descrição do adulto

H. hampei é um coleóptero pertencente à família Curculionidae, subfamília Scolytinae, sendo o adulto um besourinho preto luzido, de corpo cilíndrico e ligeiramente recurvado para a região posterior. Os élitros são revestidos de cerdas e escamas piriformes características (GALLO, et al.; 2002) (Figura 1A). Os machos são menores, tendo o seu corpo um comprimento médio de 1,24 milímetros enquanto que o das fêmeas é de 1,74 milímetros (BERGAMIN, 1943). Além do tamanho, o macho distingue-se facilmente da fêmea por apresentar vestígios de asas membranosas, motivo pelo qual é incapaz de voar (BERGAMIN, 1943, GALLO et al., 2002) (Figura 2E).

A broca é uma espécie críptica, passando seu ciclo de vida (ovo a adulto) dentro do fruto de café (BERGAMIN, 1943, MATHIEU et al., 2001). Além disso, o ciclo da dessa praga é multivoltino com sobreposição de gerações, o que resulta na presença de indivíduos de diferentes idades dentro do mesmo fruto (Figura 1F). Algumas dessas

características dificultam não só o controle, mas também a realização de estudos bioecológicos dessa praga (BAKER; BARREIRA; RIVAS, 1992).

2.1.2.2 Oviposição

Após encontrar um fruto em condições adequadas, a fêmea acasalada abre um orifício na região da coroa do fruto a partir da qual começa a construir uma galeria até atingir uma das sementes (Figura 1B e 1C). No seu interior, o inseto alarga a galeria em aspecto piriforme o qual se torna uma câmara para colocação de seus ovos (BERGAMIN, 1943, GALLO et al., 2002) (Figura 1D). O tempo de penetração é variável de acordo com o estado de desenvolvimento do fruto, podendo levar de 5 a 11 horas (PARDEY; GUOTT, 2007). A fêmea põe, em média, dois ovos por dia, sendo a oviposição regular até 15 ou 20 dias após o seu início, diminuindo, depois, de intensidade (BERGAMIN, 1943). Uma fêmea é capaz de ovipositar entre 31 e 119 ovos ao longo de sua vida (DAMON, 2000, GALLO et al., 2002).

2.1.2.3 Fases de desenvolvimento

Fase de ovo

Os ovos apresentam forma elíptica, ou levemente ovóide, e brilho leitoso, com dimensão média dos eixos maior e menor de 0,599 milímetros e 0,314 milímetros, respectivamente (BERGAMIN, 1943, GALLO et al., 2002) (Figura 2A). As larvas eclodem cerca de 4 a 10 dias após a oviposição (GALLO et al., 2002). Em condições de laboratório, Fernández e Cordero (2007) verificaram uma viabilidade média de ovos de 99,2%.

Fase larval

As larvas recém-eclodidas apresentam a cápsula cefálica pouco mais larga e de coloração amarelo-palha bem distinta do resto do corpo, com bordos levemente recurvados (Figura 2B). As larvas fêmeas passam por dois instares e as larvas machos por apenas um (BERGAMIN, 1943). É nessa fase de desenvolvimento em que ocorrem os maiores danos no fruto de café decorrentes da atividade larval (FERNÁNDEZ; CORDERO, 2007).

Fase de pré-pupa

Na fase de pré-pupa observa-se a formação dos primórdios da perna do inseto à medida que este passa para fase de pupa (BERGAMIN, 1943) (Figura 2C).

Fase de pupa

As pupas são de coloração branca e se tornam marrons com a formação dos apêndices externos do inseto, indicando que o adulto está prestes a emergir. O tamanho é variável entre os sexos, tendo as pupas fêmeas e machos um comprimento médio de 1,89 e 1,22 milímetros, respectivamente (FERNÁNDEZ; CORDERO, 2007) (Figura 2D).

Fase adulta

O adulto recém-emergido apresenta uma coloração marrom tornando-se negro à medida que o inseto atinge a maturidade fisiológica (FERNÁNDEZ, CORDERO, 2007) (Figura 2E e 2F). A broca permanece na câmara em que emergiu ao lado da exúvia pupal, durante três ou quatro dias, após o qual inicia a atividade sexual. Além disso, a protândria é característica da espécie (BERGAMIN, 1943).

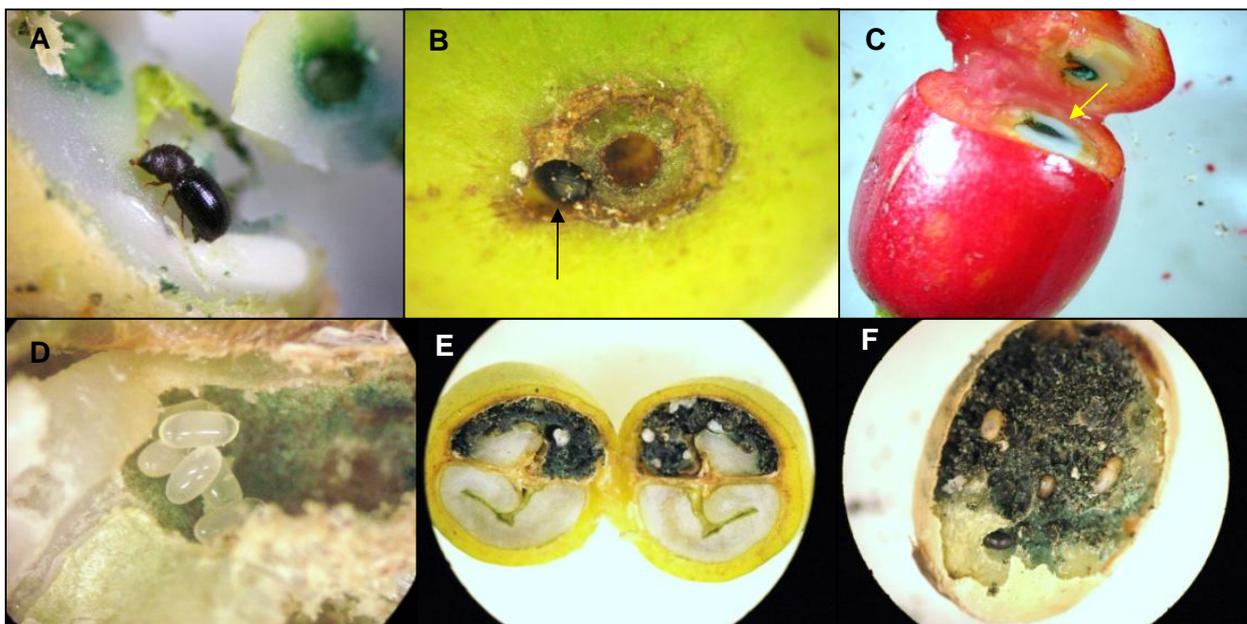


Figura 1 – Etapas do processo de colonização de um fruto de café por *Hypothenemus hampei*. [A] Fêmea adulta. [B] Fêmea (seta) abrindo um orifício na coroa do fruto. [C] Aspecto do orifício aberto pela broca, partindo da coroa até atingir uma das sementes. [D] Câmara de oviposição contendo ovos da broca. [E] Aspecto do fruto danificado pela broca. [F] Endosperma de café contendo fêmeas adultas recém emergidas

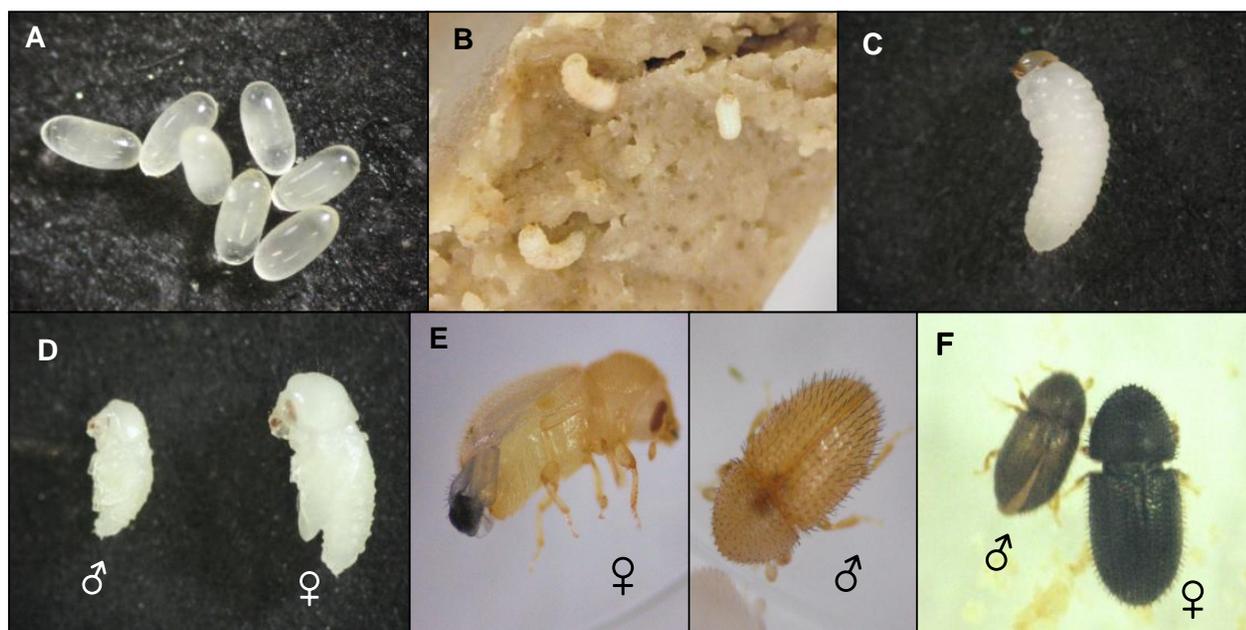


Figura 2 – Fases de desenvolvimento de *Hypothenemus hampei*. [A] Ovo. [B] Larva. [C] Pré-pupa. [D] Pupa. [E] Adultos recém-emergidos. [F] Adultos

2.1.2.4 Duração do ciclo de vida (ovo a adulto)

O ciclo de vida de *H. hampei* (ovo a adulto) em condições de laboratório, com temperaturas entre $23,3 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ e $81,6 \pm 12,4\%$ de UR foi de 35,8 dias (MUÑOZ, 1989). Entretanto, Bergamin (1943) obteve a $24,5^{\circ}$ uma duração total do ciclo de 27,5 dias. Damon (2000) relata que o período de desenvolvimento nos diferentes estágios do inseto, a 27°C , é de 4 dias (ovo), 14 dias (larva) e 7 dias (pupa), totalizando um tempo médio do ciclo de 28 a 34 dias.

2.1.2.5 Longevidade de adultos

A longevidade dos adultos é variável. Os machos podem viver, em média, por 20 a 87 dias (DAMON, 2000) ou 78 a 103 dias (BERGAMIN, 1943), enquanto que as fêmeas podem viver em média por 157 dias (BERGAMIN, 1943, DAMON, 2000).

2.1.2.6 Proporção sexual

As populações de *H. hampei* são caracterizadas pela proporção sexual a favor das fêmeas. Essa proporção (fêmea:macho) pode variar de 10:1 (BERGAMIN, 1943, BAKER; BARRERA; RIVAS, 1992) até 14:1 (FERNÁNDEZ; CORDERO, 2007). No período em ocorre maior disponibilidade de fruto e conseqüente aumento da população da praga, o número de machos não constituem mais do que 15% da população (GIORDANENGO, 1992). Entretanto, essa desproporção sexual pode diminuir significativamente nos descendentes quando existe competição entre fêmeas fundadoras em um mesmo fruto (BORSA; KJELLBERG, 1996b).

2.1.2.7 Aspectos do comportamento reprodutivo de *H. hampei*

A broca-do-café exibe características de uma espécie que se reproduz sob condições de competição local por cópula (do inglês 'Local Mate Competition – LMC'). De acordo com Borsa; Kjellberg (1996a), neste sistema de competição os machos são menores no tamanho e em número de indivíduos e apresentam asas atrofiadas, sendo obrigados a acasalarem com as suas irmãs.

Em espécies que apresentam acasalamentos entre irmãos, a haplodiploidia é tida como o modo determinação sexual, mas no caso da broca, a pseudoarrenoquia é a mais aceita (BORSA; KJELLBERG, 1996b). Nesse caso, ambos os filhos e filhas se desenvolvem a partir de ovos fertilizados, sendo que dos ovos não fertilizados não eclodem larvas (BERGAMIN, 1943, GIORDANENGO, 1992), embora exista uma discordância quanto a isso em Muñoz (1989). Além disso, estudos cariológicos demonstraram que *H. hampei* é diplodiplóide (BERGAMIN; KERR, 1951), mas os filhos não expressam nem transmitem a F2 os genes que eles herdaram dos pais (BRUN; BORSA; GAUDICHON, 1995). Isso ocorre porque um conjunto de cromossomos, aparentemente o paternal, fica heterocromatizado e presumivelmente é eliminado após a meiose I (BRUN; BORSA; GAUDICHON, 1995, BORSA; KJELLBERG, 1996b). Estudos desse âmbito, se intensificaram a partir da constatação de altos níveis de resistência a endossulfan (BRUN et al., 1989) e de resistência cruzada com outros

ciclodienos (BRUN; MARCILLAUD; GAUDICHON, 1994) em populações da broca-do-café na Nova Caledônia.

Em outra linha, Vega et al. (2002), sugere uma ação de *Wolbachia* na determinação sexual de *H. hampei* por meio da incompatibilidade citoplasmática. Segundo os autores, essa bactéria agiria sobre os cromossomos, removendo seletivamente ou modificando proteínas hospedeiras envolvidas na condensação e descondensação cromossomal antes e depois da formação do zigoto.

2.1.2.8 Comportamento de abandono do fruto nativo

Em *H. hampei*, as fêmeas que abandonam o fruto nativo para colonizarem outras áreas são chamadas 'fêmeas colonizadoras' (MATHIEU et al., 2001, SILVA; VENTURA; MORALES, 2006). O comportamento de abandono do fruto é estimulado por diversos fatores, tais como: olfativos, ou seja, resposta aos voláteis emitidos por frutos de café; intensidade luminosa; umidade relativa do ar; cor do fruto; e estado fisiológico da fêmea (MATHIEU; BRUN; FRÉROT, 1997, MATHIEU et al., 2001). Contudo, os machos nunca exibem esse comportamento (MATHIEU; BRUN; FRÉROT, 1997). Posteriormente, o processo de colonização irá depender das condições internas do fruto (DAMON, 2000, ORTIZ et al., 2004).

Dentre os fatores envolvidos no processo de abandono do fruto, merece atenção o estado fisiológico da fêmea. No estudo realizado por Mathieu; Brun; Frérot (1997) e posteriormente por Mathieu et al. (2001), verificou-se que somente as fêmeas acasaladas abandonam os frutos nativos, as quais são capazes de responder positivamente aos voláteis dos frutos de café. Além disso, após a cópula ocorre uma inversão do fototropismo do inseto, onde fêmeas virgens fototrópicas negativas tornam-se fototrópicas positivas (GIORDANENGO, 1992). Entretanto, fêmeas acasaladas que iniciam o processo de oviposição, mesmo no fruto nativo, perdem o comportamento de abandono, não sendo consideradas fêmeas colonizadoras (MATHIEU; BRUN; FRÉROT, 1997, MATHIEU et al., 2001). De acordo com Ticheler (1961 apud DAMON, 2000) a musculatura alar das fêmeas degenera quando se dá início o período de oviposição, impedindo, desta forma, que o inseto colonize mais do que um fruto.

2.1.2.9 Resposta olfativa de *H. hampei* por voláteis de frutos de café

Há muito é conhecida a preferência da broca por frutos maduros de café (COBERTT, 1933). Posteriormente, foi evidenciado que *H. hampei* é atraído pelos voláteis dos frutos (GIORDANENGO; BRUN; FRÉROT et al., 1993). Entretanto, essa resposta, assim como o comportamento de abandono, varia com o estágio fisiológico do inseto. Nesse caso, somente fêmeas acasaladas que não iniciaram a oviposição, respondem positivamente aos voláteis dos frutos (MATHIEU; BRUN; FRÉROT, 1997, MATHIEU et al., 2001). Além disso, a intensidade da resposta varia com o estágio de amadurecimento do fruto, sendo preferidos frutos maduros ao invés de verdes ou secos (GIORDANENGO; BRUN; FRÉROT et al., 1993).

Dentro dos voláteis liberados por frutos de café, foram identificadas 45 substâncias, as quais foram divididas em cinco grupos: alcoóis, cetonas/aldeídos, terpenos e sesquiterpenos (MATHIEU et al., 1998). Esses autores evidenciaram que o maior número de voláteis emitidos por frutos maduros comparados com frutos verdes, deve-se ao aumento da quantidade de terpenos no primeiro.

A constatação da atração aleloquímica da broca por voláteis do fruto, fez com que a utilização de armadilhas contendo alcoóis (etanol: metanol) para o manejo e controle dessa praga tenha despertado muito interesse em escala mundial (BARRERA et al., 2007). Dentro desse contexto, muitos estudos foram realizados sobre os materiais utilizados para confecção das armadilhas, cor de armadilha, difusores, proporção dos atraentes na mistura, etc. (DUFOUR; FRÉROT, 2008). Contudo, os resultados obtidos por diversos trabalhos são conflitantes. Embora Mathieu et al. (1999), tenha encontrado uma relação linear entre as capturas e as infestações nos frutos, ainda não se dispõe de uma estratégia adequada de utilização das armadilhas para caracterizar o momento correto para estabelecer a forma de controle. Além disso, a utilização dessa estratégia para o controle da broca-do-café, não se demonstrou efetiva para manter as populações do inseto abaixo do nível de dano econômico (SILVA; VENTURA; MORALES, 2006).

Recentemente foram identificadas por meio de estudos eletroantenográficos quatro substâncias voláteis presentes nos frutos que elicitaram uma resposta significativa sobre fêmeas da broca (MENDESIL et al., 2009). Os autores esperam utilizar essas substâncias visando contornar os problemas das armadilhas convencionalmente utilizadas dentro do contexto de manejo integrado da broca-do-café.

2.1.3 Comportamento sexual em Curculionidae

O comportamento dos insetos é governado por um complexo de interações entre sinais químicos e físicos no ambiente (DICKENS, 2002). Por exemplo, em escolitíneos da madeira, a atração primária para fontes seguras de alimento e locais de reprodução se dá a partir da orientação dos insetos pelos aleloquímicos da planta hospedeira, sem a influência dos voláteis produzidos pelos besouros. Numa segunda etapa, a orientação dos besouros aumenta em resposta aos voláteis produzidos por um dos sexos e, posteriormente, por ambos os sexos (SCHLYTER; BIRGERSSON, 1999).

O estudo do comportamento sexual em insetos abrange todos os eventos ocorridos desde a formação do casal por meio do cortejo até a separação dos mesmos após a cópula. Esse comportamento tem sido visto como relativamente invariável dentro das espécies. Contudo, hoje é evidente que os acasalamentos em diversas espécies de insetos podem apresentar uma grande flexibilidade e variação adaptativa (GWYNNE, 2003).

Nos curculionídeos a sequência de corte e acasalamento geralmente ocorre em três etapas: pré cópula, cópula e pós cópula.

2.1.3.1 Pré cópula

A pré-cópula consiste na aproximação dos sexos, com movimentos do rosto e antenas sobre o abdome e/ou rosto do (a) parceiro(a). Para algumas espécies, o sucesso do macho na fase reprodutiva depende diretamente de seu desempenho durante o cortejo da fêmea. Em *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae) o cortejo está

ligado com a seleção críptica exercida pela fêmea, ou seja, a paternidade do macho dependerá da estimulação da parceira para que ocorra a transferência do esperma da bolsa copuladora até a espermateca (EDVARDSSON; ARNQVIST, 2000). Numerosos aspectos do cortejo do macho podem ser interpretados como um desempenho requerido pela fêmea para testar o vigor, resistência e competitividade do parceiro (THORNHILL; ALCOCK, 1983). Entretanto, em alguns casos, não ocorre estes padrões comportamentais e a cópula se processa imediatamente, como o que acontece em *Cosmopolites sordidus* (VIANA; VILELA, 1996) e *Spermogolus rufus* Boheman (BARRETO et al., 1999).

2.1.3.2 Cópula

A cópula tem duas fases, a passiva e ativa. A primeira consiste na monta do macho sobre a parceira sem procurar a genitália, sendo esse padrão chamado de 'fase passiva de Parker' (THORNHILL; ALCOCK, 1983). Nessa posição os machos podem realizar o cortejo e tentativas de cópulas enquanto previne que outros machos montem em sua parceira. Na fase ativa o macho introduz seu edeago na bolsa copuladora da fêmea, sendo sua duração variável, podendo ser de 91 minutos em *Aegorhinus superciliosus* (MUTIS et al., 2009) e de 55 horas em *Gonipterus scutellatus* (CARBONE; RIVERA, 1998).

2.1.3.3 Pós-cópula

O período de pós-cópula na maioria dos casos se caracteriza pela presença do macho sobre a fêmea. Quando se encontram agrupados, o macho guarda a fêmea por um período determinado após o acasalamento, enquanto que casais individualizados terminam a cópula e o macho desmonta a fêmea imediatamente. De maneira a evitar problemas com competidores, machos executam uma série de táticas que evitam que sua parceira seja copulada por outro coespecífico. Uma tática é de se manter em contato próximo na fase pós-copulatória. Em vários besouros, o macho agarra uma

parceira potencial com algumas porções de seu corpo e não a larga por horas ou por até dias (THORNHILL; ALCOCK, 1983).

2.1.4 Importância dos estudos comportamentais

Estudos realizados sobre feromônios ou aleloquímicos em curculionídeos, nos quais se objetivaram a determinação da fonte responsável pela liberação e o padrão de resposta, estiveram calcados em estudos comportamentais da espécie alvo (WEISSLING et al., 1993, RAVI; PALANISWAMI, 2002, RUIZ-MONTIEL et al., 2003, TAFOYA et al., 2003, CALYECAC-CORTERO et al., 2006, PRASUNA et al., 2008). Particularmente em escolitíneos, estudos comportamentais que contemplam as interações entre os sinais químicos do inseto e do hospedeiro e sua possível aplicação no manejo integrado de pragas estão restritos as espécies de importância florestal (BYERS, 1981, ATKINSON; EQUIHUA, 1986, KIRKENDALL, 1993, LONDOLT; PHILLIPS, 1997, KIRKENDALL; JORDAL, 2006).

No caso de *H. hampei*, as informações sobre aspectos do comportamento sexual da espécie, como idade, horário, número e padrão de acasalamentos, além do sexo responsável pela atração permanecem no terreno das conjeturas, baseada em poucos trabalhos biológicos sobre a espécie (BERGAMIN, 1943, GIORDANENGO, 1992, BORSA; KJELLBERG, 1996b). Além disso, as pesquisas têm concentrado seus esforços somente na obtenção de aleloquímicos do hospedeiro para manejo e controle dessa praga (MENDESIL et al., 2009).

Alternativas para o manejo integrado de *H. hampei*, como o uso de feromônios visando um melhor monitoramento de adultos, a detecção de áreas livres ou infestadas e um possível controle por coleta massal ou confusão sexual seria bastante oportuno, além de vantajoso do ponto de vista ambiental.

2.2 Material e Métodos

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Ecologia Química e Comportamento de Insetos e no Laboratório de Biologia de Insetos, do Departamento de Entomologia e Acarologia, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Piracicaba-SP, com adultos virgens de *H. hampei*.

2.2.1 Estabelecimento da criação de *H. hampei* em laboratório

A criação da broca foi iniciada com frutos de café infestados, da variedade Catuaí Vermelho (*Coffea arabica*), coletados em uma propriedade rural dedicada a produção orgânica da cultura em Dois Córregos/SP. No laboratório, foi realizada a assepsia dos frutos utilizando uma solução de água contendo detergente neutro (15%) e hipoclorito de sódio (5%). Os frutos foram imersos na solução por 10 minutos e em seguida lavados em água corrente. Após a secagem a sombra por 24 horas, os frutos foram acondicionados, em camada única, em recipientes plásticos de 17,5 x 12,5 x 6,5 cm (comprimento x largura x altura), forrados com papel toalha. As tampas dos recipientes foram cortadas e vedadas com tecido voile preto para permitir a circulação de ar (Figura 3). A criação foi mantida no Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ/USP em sala climatizada (23±2°C, 24h de escotofase e UR 60±10%).

Visando a continuidade da criação, fêmeas adultas da broca que saíam naturalmente dos frutos infestados (fêmeas colonizadoras), foram coletadas e colocadas em recipientes contendo frutos sadios para realizarem novas infestações. Considerando o ciclo de vida (ovo-adulto) da espécie (BERGAMIN, 1943), a coleta de pupas nos frutos foi possível cerca de 30 dias após a infestação.

Outro aspecto considerado para manutenção da criação no laboratório foi a estocagem de frutos maduros de café (cereja) sob congelamento. Essa necessidade surgiu pelo fato de não haver frutos o ano todo no campo, além do tempo despendido para coleta em locais distantes contendo a cultura. Após o descongelamento em temperatura ambiente, os frutos foram levados para estufa a 40°C por cinco horas para retirada do excesso de umidade. Foram realizados testes visando avaliar a qualidade

dos frutos que foram estocados frente a frutos recém coletados. Foi observado que não houve diferença aparente no desenvolvimento dos insetos nos frutos que foram estocados e nos que foram coletados recentemente no campo.



Figura 3 – Recipiente plástico de 17,5 × 12,5 × 6,5 cm (comprimento × largura × altura), utilizado para criação de *Hypothenemus hampei* em laboratório. A abertura na tampa (13 × 8 cm) está vedada com tecido voile preto, e o fundo do recipiente forrado com papel tolha. Os frutos de café estão acondicionados em camada única

2.2.2 Obtenção de adultos virgens

Para obtenção de adultos virgens e nas idades adequadas, pupas de *H. hampei* foram coletadas em frutos infestados, utilizando-se um bisturi e um microscópio estereoscópico binocular. Grupos de cinco pupas separados por sexo, de acordo com Bergamin (1943) (Figura 2D), foram individualizados em tubos de vidro (7,5 cm de comprimento × 9 mm de diâmetro) e acondicionados em uma câmara climatizada ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 24h de escotofase e UR $70\pm 10\%$). Os adultos recém emergidos foram

separados das pupas remanescentes e acondicionados em outros tubos de vidro contendo um pedaço de endosperma e mantidos nas mesmas condições climatizadas até a realização dos experimentos.

2.2.3 Estudos comportamentais

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

Para a avaliação dos parâmetros envolvidos nesse experimento, foram utilizados adultos virgens de *H. hampei* com idades entre 0-24, 24-48, 48-72 e 72-96 horas para formação de casais, sendo 40 por idade. Cada casal foi colocado individualmente em células de 7 × 3 mm (diâmetro × altura), forradas com papel de filtro umedecido, de uma placa de poliestireno (7,6 cm × 2,6 cm × 2 mm). A fim de criar condições tão próximas das encontradas na natureza, um pedaço de endosperma de café foi colocado em cada um das células contendo um casal (Figura 4). Foram realizadas várias tentativas a fim de se determinar a quantidade de endosperma utilizada, de forma a não comprometer a observação dos casais. Finalmente, a placa foi vedada com filme de PVC (Magipac[®]) para evitar a fuga dos insetos e manutenção da umidade.

Devido ao tamanho diminuto e ao hábito críptico de *H. hampei* e, também, para evitar uma possível interferência humana sob o comportamento dos insetos, foi utilizada uma câmera filmadora Sony modelo HDR-SR12 para filmagem dos casais. Para cada idade foi realizada uma filmagem de 24 horas de duração, sendo, posteriormente, feita a edição das imagens com auxílio de um *software* fornecido pelo fabricante da câmera.

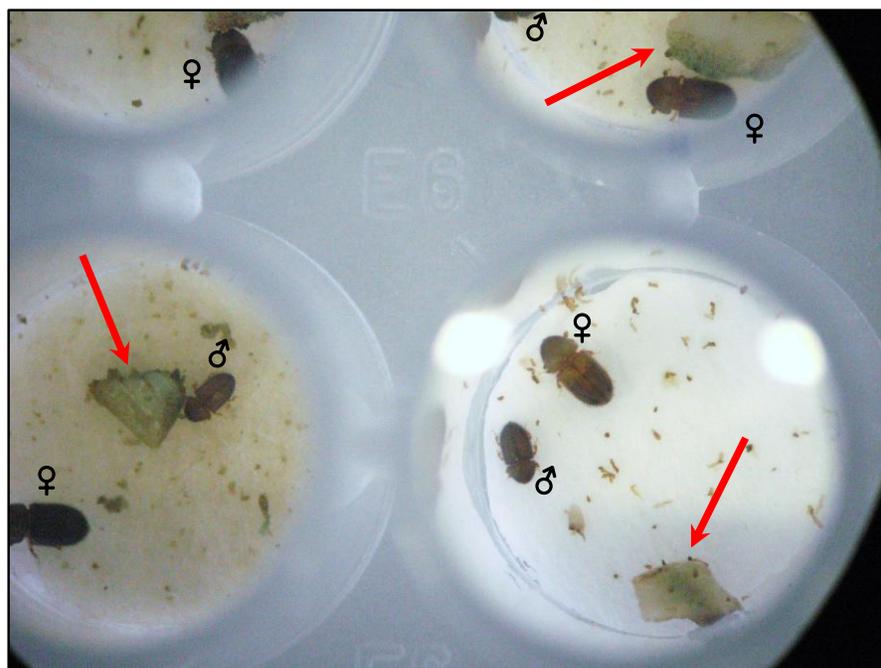


Figura 4 - Casais de *Hypothenemus hampei* individualizados em células de uma placa de poliestireno para observação do comportamento sexual. As setas vermelhas indicam o pedaço de endosperma de café

2.2.3.2 Seqüência do acasalamento

Nesse estudo foram analisadas as imagens da primeira cópula dos casais na idade em que apresentaram a maior atividade sexual, ou seja, maior número de cópulas (item 2.2.3.1). Foram observadas as etapas de pré-cópula, cópula e pós-cópula de *H. hampei*. Com base nos casais que desempenharam cada comportamento, foi realizada a descrição qualitativa dos padrões motores exibidos (índice), estabelecendo-se um etograma do comportamento sexual da espécie. Para o presente experimento, foi esperado que os passos exibidos dentro de cada etapa do acasalamento fossem semelhantes aos encontrados no interior de um fruto de café.

2.2.3.3 Determinação do sexo responsável pela atração

Esse experimento teve por objetivo determinar qual o sexo da broca é responsável pela atração e se o hospedeiro, endosperma de café, exerce alguma influência na atratividade sexual dos adultos.

O dispositivo experimental utilizado consistiu de um olfatômetro de acrílico de quatro braços, adaptado do modelo desenvolvido por Vet et al. (1983) (Figura 5). Os braços foram confeccionados com mangueira de silicone de 5 cm de comprimento x 8 mm de diâmetro. O fundo do olfatômetro foi forrado com papel de filtro visando melhorar a mobilidade dos insetos. O fluxo de ar foi obtido por uma bomba de vácuo e regulado por meio de fluxômetros, dispostos nas extremidades da entrada de cada dois braços do olfatômetro. O fluxo de ar filtrado e umidificado no centro do olfatômetro foi definido como 1,2 L.min⁻¹ (fluxo de 0,3 L.min⁻¹ por braço), após bioensaios preliminares.

As fontes de estímulo utilizadas consistiram de 20 adultos virgens da broca, de ambos os sexos, e de 300 miligramas de endosperma de café cortados em pedaços de um milímetro. Esse material foi acondicionado em um dos quatro braços do olfatômetro, sendo os três braços restantes utilizados como controle (branco).

Em cada teste, uma fêmea ou macho foi introduzido na câmara principal do olfatômetro, sendo contabilizado o número de entradas e o tempo de permanência do inseto em cada arena de exposição, sob um período de oito minutos, o qual foi determinado em bioensaios preliminares. Foram utilizadas 20 repetições para cada tratamento. Após cada repetição, o olfatômetro foi rotacionado em um quarto de volta, visando eliminar algum efeito de posição. Em todos os bioensaios, foi contrastada uma fonte de estímulo (tratamento) contra três controles (branco). No término de cada bioensaio, todos os componentes do olfatômetro foram lavados com detergente neutro Extran[®] e secados em temperatura ambiente.

Os bioensaios foram realizados em sala climatizada (23±2°C, 24 horas de escotofase e UR 65±10%) utilizando adultos virgens de *H. hampei* na idade de maior atividade sexual da espécie (item 2.2.3.1).

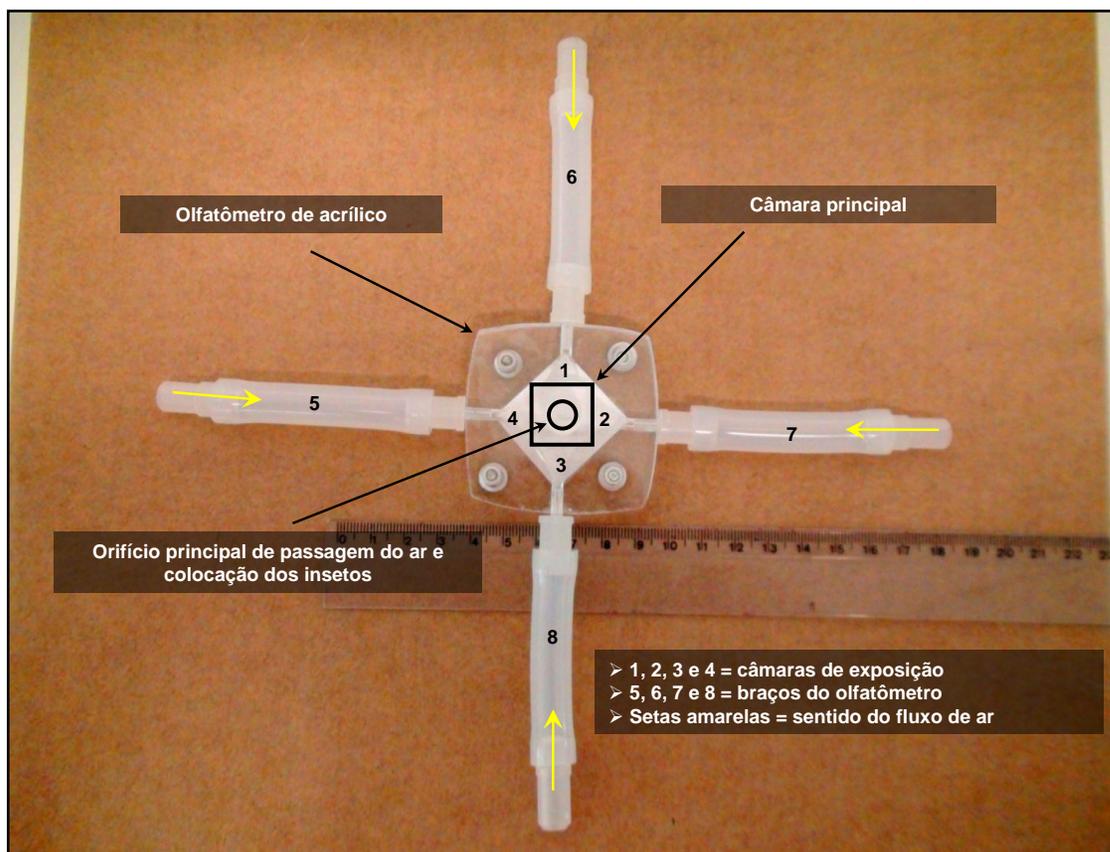


Figura 5 – Dispositivo experimental utilizado para os bioensaios comportamentais de *Hypothenemus hampei*

2.2.4 Análise estatística dos dados

O delineamento experimental empregado para todos os bioensaios foi o inteiramente aleatorizado. Nos testes paramétricos, foi empregada a análise de variância (ANOVA) e, em seguida, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Antes de submeter os dados ao teste de Tukey, as variáveis recópulas e número de cópulas por casal foram transformados em, respectivamente, $\log(x + 1)$ e $(x + 10)^{-2}$, a fim de atender as exigências de homocedasticidade do modelo estatístico paramétrico. Nos bioensaios em olfatômetro, o tempo gasto pelos insetos na área de estímulo e no controle (branco) do olfatômetro foi analisado por estatística não paramétrica, utilizando a análise de variância de Friedman (ANOVA), e posteriormente, as médias foram comparadas pelo teste de Bonferroni ($P \leq 0,05$).

Todas as análises foram processadas no programa estatístico SAS 9.1 (SAS INSTITUTE INC., 2004).

2.3 Resultados

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

A atividade de cópula de *H. hampei* ocorreu em qualquer horário dentro de um ciclo de 24 horas de duração ($F = 1,39$; $P = 0,15$) (Figura 6). Além disso, foi observado que a espécie inicia a atividade sexual poucas horas após a emergência do adulto. Embora em menor frequência, 60% dos casais entre 0 e 24 horas de idade realizaram a primeira cópula dentro das primeiras 24 horas, chegando a 100% dos casais nas demais idades ($F = 32$; $P = 0,001$) (Figura 7).

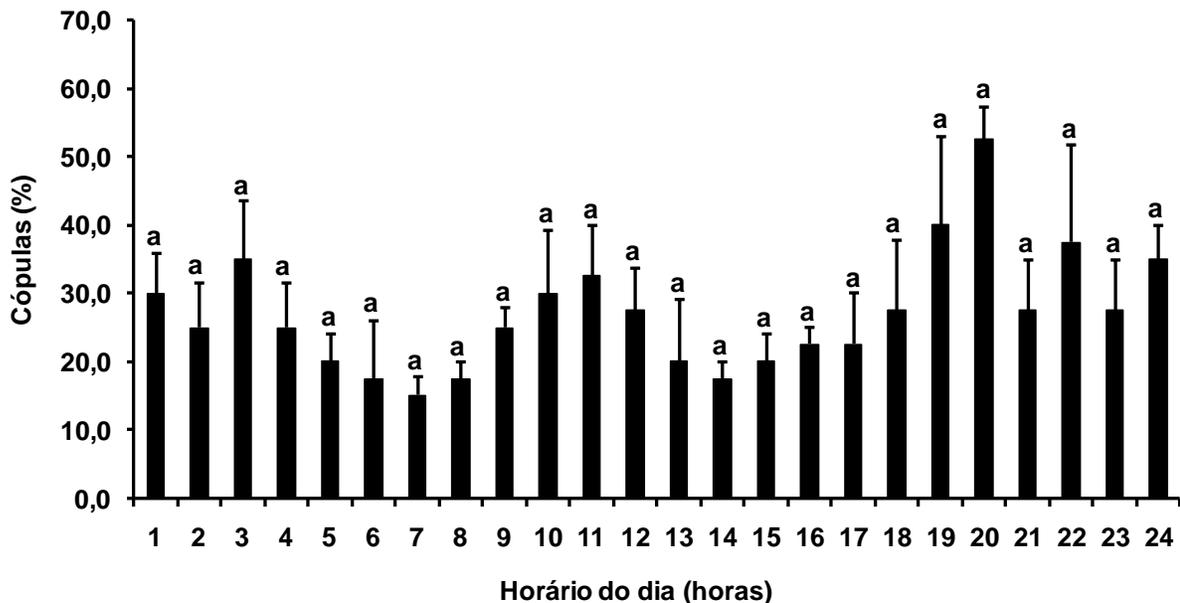


Figura 6 – Porcentagem de cópulas em adultos de *Hypothenemus hampei* de 72-96 horas de idade em função do horário do dia, sob condições de laboratório. Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Barras de erros = erro padrão (EP); N = 40 casais

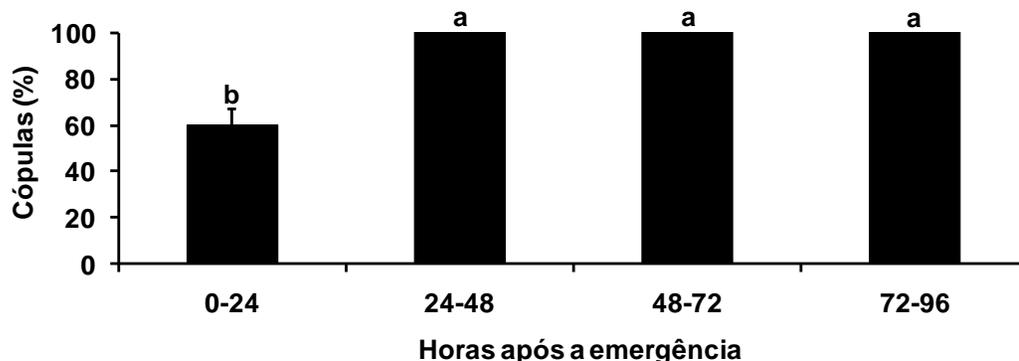


Figura 7 – Porcentagem de cópulas em adultos de *Hypothenemus hampei* em função da idade após a emergência, sob condições de laboratório. Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Barras de erros = erro padrão (EP); N = 40 casais

Foi verificada a ocorrência de múltiplas cópulas por casal, sendo esse número maior em casais mais velhos. A ocorrência de uma, duas, três ou mais recópulas foi maior nos casais com idades entre 0-48 h ($F = 6,12$; $P = 0,009$), 24-72 h ($F = 8,08$; $P = 0,003$) e 48-96 h ($F = 178,42$; $P = 0,001$), respectivamente (Tabela 1).

Totalizado o número de acasalamentos (cópulas + recópulas), os maiores valores foram encontrados nos casais mais velhos, entre 48 e 96 horas de idade, variando entre $5,8 \pm 0,52$ e $6,9 \pm 0,47$ cópulas por casal ($X \pm EP$), respectivamente (Figura 8).

Tabela 1 – Porcentagem de recópulas ($\pm EP$) em casais de *Hypothenemus hampei* em diferentes idades

Idade dos casais (horas)	Recópulas*		
	1	2	3 ou mais
0-24	17,5 \pm 6,3 a	5,0 \pm 5,0 b	0,0 \pm 0,0 c
24-48	22,5 \pm 2,5 a	30 \pm 4,1 a	20 \pm 5,8 b
48-72	12,5 \pm 6,3 b	12,5 \pm 4,8 a	70 \pm 7,1 a
72-96	0,0 \pm 0,0 b	0,0 \pm 0,0 b	100 \pm 0,0 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

(*) Dados transformados em $\log(x+1)$; N = 40 casais

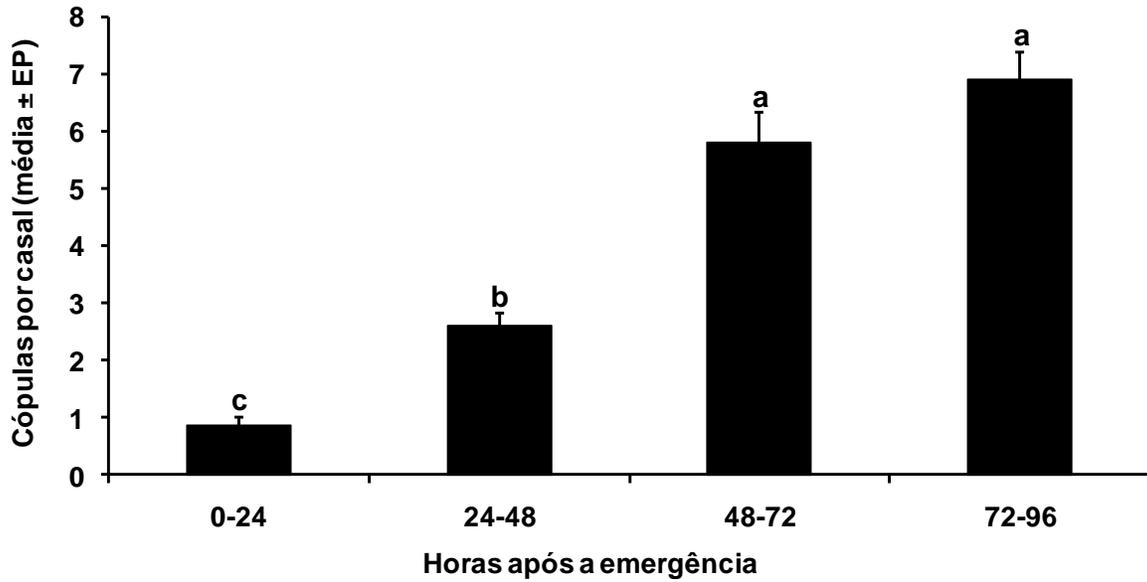


Figura 8 – Número de cópulas por casal de *Hypothenemus hampei* em função da idade após a emergência. As médias incluem cópulas + recópulas. Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). EP = Erro Padrão. N = 40 casais

2.3.2 Seqüência do acasalamento

Machos e fêmeas de *H. hampei* aptos ao acasalamento, apresentaram uma seqüência típica de comportamentos para efetuar a cópula (Figuras 9 e 10). Assim como em outros curculionídeos, essa seqüência ocorreu em três etapas distintas: pré-cópula, cópula e pós-cópula.

2.3.2.1 Pré-cópula

Inicialmente, o encontro dos sexos se deu pela aproximação do macho em direção a fêmea, a qual se deu de três formas: lateralmente ($n = 0,325$), frontalmente ($n = 0,175$) ou por trás ($n = 0,5$). Isso era observado nas situações em que a fêmea permanecia se alimentando ou passava muito próxima do macho. Ao se aproximar, o macho tocava a fêmea com as antenas e o rostro na região dos élitros ($n = 0,95$) ou do pronoto ($n = 0,05$). Nessa fase também se verificou que o cortejo foi discreto, onde a fêmea permaneceu imóvel enquanto o macho realizou toques com as antenas e o rostro.

A monta ocorreu por trás ($n = 0,7$) ou pelas laterais ($n = 0,3$) da fêmea. Quando a monta ocorria lateralmente, o macho alinhava o seu corpo com o da fêmea ($n = 0,3$), o qual não era necessário quando a monta ocorria por trás ($n = 0,7$). Sobre a fêmea, o macho afastava-se ântero-posteriormente até a região posterior do abdome da parceira ($n = 1$). Após inclinar o corpo para trás apoiando nas cerdas da fêmea, o macho curvava o abdome expondo o edeago ($n = 1$).

2.3.2.2 Cópula

Essa fase iniciava com introdução do edeago na bolsa copuladora da fêmea ($n = 1$). Durante a cópula, algumas fêmeas caminharam brevemente pela placa ($n = 0,4$), mas a maioria permaneceu imóvel durante essa fase ($n = 0,6$). A cópula terminava com a retração do edeago do macho ($n = 1$).

2.3.2.3 Pós-cópula

Após a retração do edeago, o macho desmontava a fêmea imediatamente. Os insetos permaneceram imóveis próximos um do outro e em poucos segundos se afastavam ($n = 1$). Parte dos casais retomava a alimentação antes de realizar uma nova cópula ($0,4$) e a outra parte recopulou sem se alimentar ($0,6$).

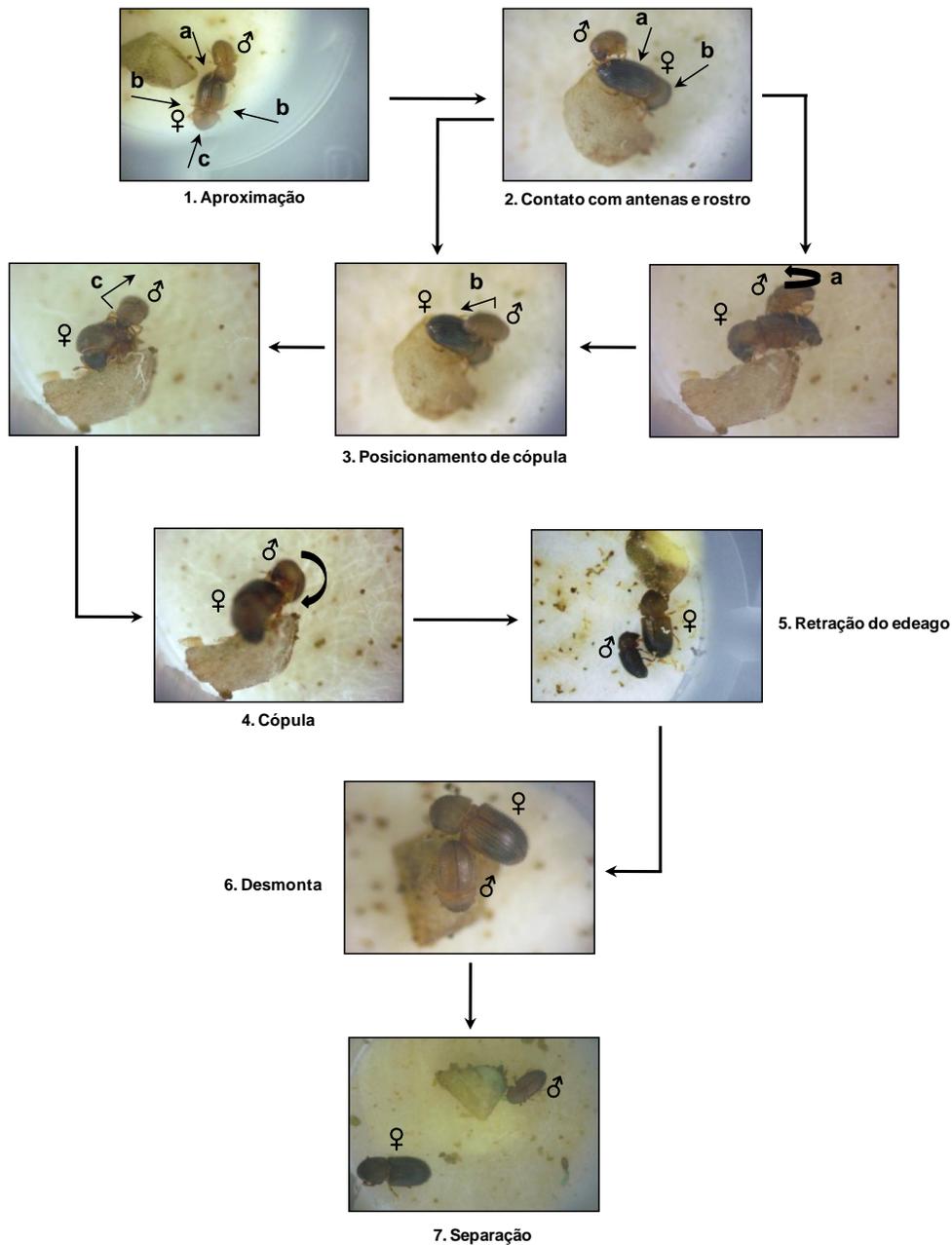


Figura 10 - Comportamento de cópula de *Hypothenemus hampei*. (1) Aproximação do macho: podendo ser por trás (a), lateralmente (b) ou frontalmente (c) a fêmea. (2) Contato: macho se apóia nas cerdas da fêmea com antenas e rostro do macho, podendo ser nos élitros (a) ou pronoto (b) da fêmea. (3) Posicionamento de cópula após a monta: macho alinhando o corpo no sentido da seta (a); macho afasta-se ântero-posteriormente em direção a região posterior da fêmea (b) e (c). (4) cópula. (5) Retração do edeago. (6) Desmonta: macho permanece ao lado da fêmea. (7) Separação dos casais

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

A duração média da pré-cópula, cópula e pós-cópula em *H. hampei* foi de $1,34 \pm 0,21$ min, $2,04 \pm 0,13$ min e $0,95 \pm 0,15$ min, respectivamente. ($X \pm EP$) (N = 20).

2.3.4 Determinação do sexo responsável pela atração

Nos bioensaios em olfatômetro, as fêmeas de *H. hampei* permaneceram mais tempo na câmara de exposição contendo os odores dos machos em relação ao controle (ar limpo) ($F = 0,52$; $P = 0,945$) (Figura 10). Entretanto, quando as fêmeas foram expostas aos odores do hospedeiro (endosperma de café) junto com dos machos, a fêmea não apresentou atratividade ($F = 0$; $P = 1$). A mesma resposta foi observada quando somente o hospedeiro era a fonte de estímulo ($F = 0,06$; $P = 1$).

No caso dos machos, os insetos responderam aos odores das fêmeas junto com o hospedeiro ($F = 0,56$; $P = 0,922$) (Figura 11). Por outro lado, não houve resposta quando foi testado somente o hospedeiro ($F = 0,09$; $P = 1$) ou fêmea ($F = 0,05$; $P = 1$) como fonte de estímulo.

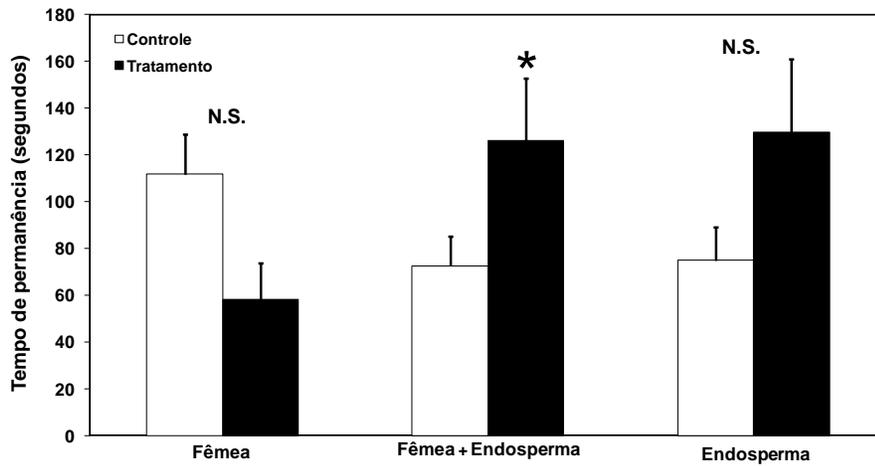


Figura 11 – Resposta de machos de *Hypothenemus hampei* de 72-96 horas de idade na presença de voláteis de fêmeas e do hospedeiro (endosperma de café) em olfatômetro de quatro vias. N=20; Barras de erros = erro padrão; N.S. = Não Significativo ($P > 0,05$); (*) Significativo ($P \leq 0,05$)

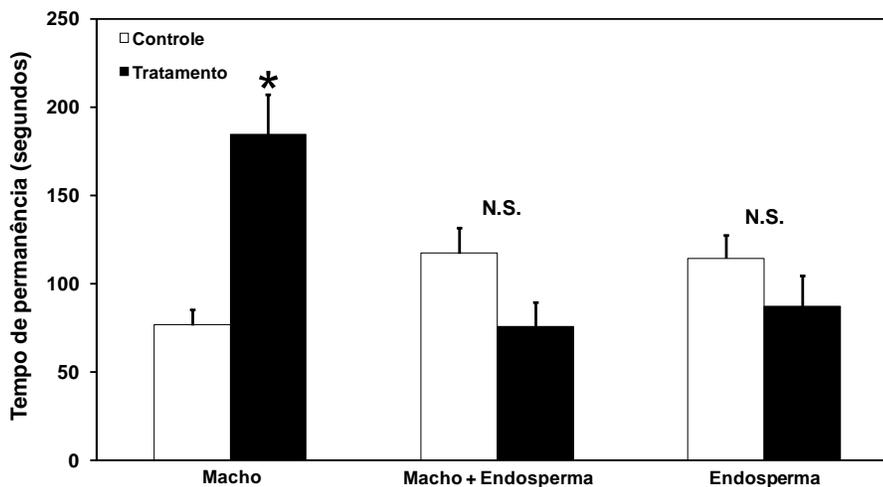


Figura 12 – Resposta de fêmeas de *Hypothenemus hampei* de 72-96 horas de idade na presença de voláteis de machos e do hospedeiro (endosperma de café) em olfatômetro de quatro vias. N=20; Barras de erros = erro padrão; N.S. = Não Significativo ($P > 0,05$); (*) Significativo ($P \leq 0,05$)

2.4 Discussão

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

A regularidade de acasalamentos observada na broca-do-café, *H. hampei* ao longo de 24 horas, pode ser considerada um dos reflexos do comportamento reprodutivo e, também, do hábito críptico desta espécie. Em um fruto tipicamente infestado, não é raro encontrar na mesma população indivíduos em diferentes estágios de desenvolvimento (DAMON, 2000). Conseqüentemente, o padrão de emergência de adultos se torna irregular, fazendo com que os machos, em menor número, copulem com suas irmãs à medida que essas vão emergindo (BERGAMIN, 1943). Além disso, no interior do fruto, a broca se desenvolve em um ambiente mais estável se comparado ao meio externo. A ausência de variações bruscas de temperatura e luminosidade, aliado ao fato dos insetos virgens nunca saírem do fruto (MATHIEU; BRUN; FRÉROT, 1997), possivelmente contribuam para que o ciclo diário de cópulas em *H. hampei* seja pouco influenciado pelas condições externas do ambiente.

Segundo Giordanengo (1992), a atividade sexual da broca se inicia quando as peças genitais de machos e fêmeas estão completamente esclerotizadas. A ocorrência de cópulas nas primeiras 24 horas de vida do inseto sugere, portanto, que essa esclerotização ocorra dentro desse período. De fato, foi observado que nos casais mais novos, com menos de 24 horas, os insetos levaram cerca de algumas horas para realizarem as primeiras cópulas, diferentemente dos casais mais velhos, que levaram apenas alguns minutos.

Embora as condições impostas no presente trabalho de manter um macho para cada fêmea não reflitam as que seriam encontradas numa população normal, que é de um macho para cada dez fêmeas (BERGAMIN, 1943), os resultados mostraram que as recópulas são passíveis de ocorrerem dentro do mesmo casal. Em relação ao macho da broca, os resultados obtidos são condizentes com os observados por Giordanengo (1992). O autor observou que um único macho foi capaz de inseminar 121 fêmeas da broca, com uma média de duas a três cópulas por macho por dia. De fato, como os machos da espécie são sempre em menor número, eles devem ser capazes de copular

com todas as suas irmãs para que essas possam deixar o fruto (MATHIEU; BRUN; FRÉROT, 1997). Contudo, o presente trabalho demonstrou a primeira evidência de que as fêmeas da broca são também passíveis em realizar múltiplas cópulas. Essa evidência pode ser sustentada com observações feitas para outras espécies sobre os benefícios vindos de múltiplas cópulas, como: evitar o esgotamento espermático, aquisição de substâncias não gaméticas que aumentariam a sobrevivência ou fecundidade da fêmea e aumento da qualidade da prole (THORNHILL; ALCOCK, 1983, ARNQVIST; NILSSON, 2000). Além disso, ainda é desconhecido se uma única cópula seria capaz de fertilizar por inteiro todos os ovos de *H. hampei* (BORSA; KJELLBERG, 1996b). Sob outro ponto de vista, a capacidade da fêmea em aceitar mais de uma cópula, levanta a hipótese de que mesmo após a sua saída do fruto nativo para colonizar outro fruto, a fêmea ainda é capaz em realizar outras cópulas, só que agora com seus próprios descendentes, como o que ocorre, por exemplo, em algumas espécies de escolitíneos da madeira (KIRKENDALL, 1993).

2.4.2 Sequência do acasalamento

Não foram encontradas na literatura informações sobre os padrões motores exibidos durante o acasalamento em outros escolitíneos, das quais pudessem servir de comparação com o presente trabalho. Contudo, alguns dos padrões exibidos por *H. hampei* durante o acasalamento, são semelhantes aos encontrados em outras subfamílias de curculionídeos e em outras famílias de coleópteros.

Durante a pré-cópula, o fato do macho da broca tocar com as antenas e o rosto nos élitros e no pronoto da fêmea, seria uma forma de reconhecimento a curta distância de uma parceira potencial. A presença de substâncias cutilculares nessas estruturas, como por exemplo, o feromônio de contato, seria possivelmente, o mediador desse reconhecimento (GINZEL; HANKS, 2003, ZHANG et al., 2003, MUTIS et al., 2009).

Após a monta, o macho imediatamente procurou a genitália da fêmea. Em todas as cópulas analisadas para o presente estudo, não foi verificada a 'fase passiva de Parker' (THORNHILL; ALCOCK, 1983). Nos casos em que ocorriam recópulas ou era a primeira cópula dos casais mais novos, foi observado que algumas fêmeas não

aceitavam os machos. Nessa circunstância, as fêmeas realizavam movimentos bruscos com o corpo visando derrubar o macho de cima delas, semelhante ao que ocorre em *Hypera postica* (LECATO; PIENKOWSKI, 1970) e *Anoplophora malasiaca* (FUKAYA, et al., 2004).

Devido ao tamanho diminuto, a posição de cópula característica de machos da broca foi a de manter o corpo inclinado para trás visando alcançar a genitália da fêmea. Para isso, os insetos contavam somente com as cerdas da parceira para enroscarem seus tarsos e se manterem equilibrados. Em alguns casos, a cópula não se concluía devido à queda do macho. Ao que tudo indica, o tigmotactismo positivo exerce grande influência sobre a coordenação dos movimentos da broca, sendo que a condição ideal é encontrada somente nas galerias construídas em um fruto de café por esse inseto (GIORDANENGO, 1992).

Durante a pós-cópula, não foi evidenciada a posição de guarda em machos de *H. hampei*, característica que é encontrada em alguns curculionídeos (SATO; KOHAMA, 2007). Segundo Alcock (1994), algumas espécies utilizam a guarda ou associação pós-copulatória visando: (1) proteção ou assistência as fêmeas ou a sua prole; (2) transferência de componentes não gaméticos por meio da ejaculação; (3) transferência de gametas extras, ou, posicionamento estratégico dos gametas dentro da fêmea; (4) utilização de sinais adicionais de cortejo que estimulam a fêmea a usar o esperma do macho para fertilizar os seus ovos. Além disso, guarda pós-cópula previne que a fêmea copule com machos rivais (POLLAK; BROWN, 1995). No caso da broca, como a proporção dos sexos é a favor da fêmea (BERGAMIN, 1943, FERNÁNDEZ, CORDERO, 2007), característico de 'Local Mate Competition (LMC)' (BORSA; KJELLBERG, 1996b), a competição entre machos por suas parceiras é remota, além do mais, por estarem em menor número, os machos são obrigados a copular com um grande número de fêmeas antes que estas saiam dos frutos (BRUN; BORSA; GAUDICHON, 1995) não podendo nesse caso despender muito tempo. Essa pode ser a explicação também para o fato do tempo despendido para cada uma das fases comportamentais serem baixos. Os valores obtidos são bem inferiores aos encontrados em outras subfamílias de curculionídeos, nos quais as cópulas podem levar horas

(POLLAK; BROWN, 1995, SIROT; LAPOINTE, 2008, MUTIS, et al., 2009) ou até dias (CARBONE; RIVERA, 1998).

2.4.3 Sexo responsável pela atração

A resposta positiva de fêmeas virgens aos voláteis dos machos indicou a presença de um feromônio mediando o acasalamento em *H. hampei*. O fato de não ter sido estudado a resposta de outros machos a estes mesmos voláteis não permite concluir se este feromônio seja sexual ou de agregação. Contudo, os resultados demonstraram que as fêmeas virgens foram atraídas pelos machos. Aparentemente, esta resposta poderia estar envolvida no encontro da fêmea com seu parceiro no interior do fruto de café. Esse fato pode ser sustentado por diversas características reprodutivas de *H. hampei*. Nessa espécie, os machos sempre estão em menor número na população e emergem primeiro, por outro lado, as fêmeas estão presentes em maior número e com um padrão de emergência assíncrono (BERGAMIN, 1943, GIORDANENGO, 1992). Como conseqüência, no mesmo fruto de café pode ser encontrada uma população bem heterogênia. Essa atração seria um mecanismo adaptativo importante para os machos, uma vez que eles são em menor número e incapazes de voar, o que os impediria de explorar ou ir ao encontro das fêmeas em outros frutos. Além disso, atraindo a fêmea logo após a sua emergência, estes machos garantiriam o seu sucesso reprodutivo antes que elas deixassem os frutos.

O olfatômetro utilizado neste trabalho não permitiu afirmar se o feromônio de atração liberado pelos machos possuía ação somente a curta distância. Todavia, em razão das múltiplas cópulas que as fêmeas realizam após sua emergência, sugere que mesmo após deixarem o fruto nativo, elas venham a realizar novas cópulas em outros frutos, o que abre perspectivas de estudos para atração deste feromônio a longas distâncias, bem como o uso em armadilhas para o monitoramento e coleta massal, ou mesmo na confusão sexual.

No interior do fruto, quando a fêmea se aproxima do macho, atraída possivelmente por seu feromônio, ambos os sexos realizam um mecanismo complexo de corte e acasalamento. Os resultados deste trabalho indicaram um efeito sinérgico

entre a presença da fêmea e do hospedeiro (endosperma) sobre a receptividade dos machos, o que era de se esperar, considerando-se que os mesmos estão continuamente sob a influência do hospedeiro. Estes dados estão de acordo com as observações de Giordanengo (1992). Por outro lado, o endosperma do fruto a princípio não exerceu influência sobre a resposta da fêmea ao feromônio do macho. Vale ressaltar, que neste trabalho, foram estudadas somente as respostas das fêmeas virgens de *H. hampei*. Com isso, um aspecto importante que deve ser explorado em futuros estudos, refere-se ao comportamento sexual das fêmeas acasaladas, pois de acordo com Mathieu; Brun; Frérot (1997) e Mathieu et al. (2001), somente essas abandonam os frutos e que seriam capazes de responder positivamente aos voláteis dos frutos de café. Portanto, é possível que mudanças fisiológicas após o acasalamento das fêmeas virgens resultem em alterações importantes do comportamento sexual em *H. hampei*, haja vista que segundo Giordanengo (1992), após a cópula ocorre uma inversão do fototropismo do inseto, onde fêmeas virgens fototrópicas negativas tornam-se fototrópicas positivas.

Além disso, existe a possibilidade da existência de outros fatores, além dos citados, interagindo na comunicação destes insetos como, por exemplo, a produção de som. Em certas espécies a produção de som por um dos sexos é de extrema importância para estimular o/a parceiro(a) a produção de feromônio. Esse fenômeno foi observado em outros escolitíneos como *Dendroctonus pseudotsugae* e *D. brevicomis*, onde estímulos sonoros produzidos pelas fêmeas evocam a liberação de feromônio pelos machos (RUDINSKY, et al., 1976).

O presente trabalho suprime em grande parte a carência de informações acerca do comportamento sexual de *H. hampei*; sendo este importante para estudos subseqüentes visando à elucidação do feromônio e manejo desta praga.

3 CONCLUSÕES

- Adultos de *H. hampei* realizam a atividade sexual em qualquer horário do dia, sendo as cópulas iniciadas nas primeiras 24 horas após a emergência do inseto;
- A maior atividade sexual é encontrada em casais mais maduros, entre 48 e 96 horas de idade;
- O padrão de acasalamento exibido pela broca-do-café (pré-cópula, cópula e pós-cópula) é semelhante ao encontrado em outros grupos de curculionídeos;
- O sistema de comunicação envolvido entre os coespecíficos de *H. hampei*, são dependentes do sexo, hospedeiro e estado fisiológico do inseto;
- Os machos possuem um feromônio que atrai as fêmeas virgens para o acasalamento no interior do fruto;

REFERÊNCIAS

ALCOCK, J. Postinsemination associations between males and females in insects: the mate-guarding hypothesis. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 39, p. 1-21, 1994.

ARNQVIST, G.; NILSSON, T. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. **Animal Behaviour**, London, v. 60, n. 2, p. 145-164, 2000.

ATKINSON, T.H.; EQUIHUA, A. Biology of the Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera) in a tropical deciduous forest at Chamela, Jalisco, Mexico. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 69, n. 2, p. 303-310, 1986.

BAKER, P.S.; BARRERA, J.F.; RIVAS, A. Life-history studies of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*, Scolytidae) on coffee trees in southern Mexico. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.29, n.3, p.656-662, 1992.

BARRERA, J.; VILLACORTA, J.H.; HEBER, G.; CRUZ, L. Aplicación de trampas para el monitoreo de la broca del café. In: WORKSHOP INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ, 2007, Londrina. **Proceedings...** Londrina: IAPAR, 2007. p. 95-112.

BARRETO, M.R.; ANJOS, N.; DELLA LUCIA, T.M.C. Comportamento reprodutivo de *Spermologus rufus* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 351-354, 1999.

BENASSI, V.L.R.M. Parasitóides da broca-do-café no Brasil: histórico e perspectivas. In: WORKSHOP INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ, 2007, Londrina. **Proceedings...** Londrina: IAPAR, 2007. p. 11-36.

BERGAMIN, J. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Ipidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 14, p. 31-72, 1943.

BERGAMIN J.; KERR W.E. Determinação do sexo e citologia da broca do café. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.3, p. 117-121, 1951.

BORSA, P.; KJELLBERG, F. Experimental evidence for pseudo-arrhenotoky in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Heredity**, London, v. 76, n. 2, p. 130-135, 1996a.

BORSA, P.; KJELLBERG, F. Secondary sex ratio adjustment in a pseudo-arrhenotokous insect, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris, Sciences de la Vie/Life Sciences**, Paris, v. 319, p. 1159-1166, 1996b.

BRUN, L.O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V.; SUCKLING, D.M. Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.82, n. 5, p.1311-1316, 1989.

BRUN, L.O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V. Cross resistance between insecticides in coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) from New Caledonia. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v.84, n. 2, p.175-178, 1994.

BRUN, L.O.; BORSA, P.; GAUDICHON, V. 'Functional haplodiploidy'. **Nature**, London, v. 374, n. 6522, p. 506-506, 1995.

BYERS, J.A. Effect of mating on terminating aggregation during host colonization in the bark beetle, *Ips paraconfusus*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 7, n. 6, p. 1135-1147, 1981.

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

CARBONE, S.S.; RIVERA, A.C. Sperm competition, cryptic female choice and prolonged mating in the *Eucalyptus* snout-beetle, *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera, Curculionidae). **Etología**, Barcelona, v. 6, p. 33-40, 1998.

CORBETT, G.H. Some preliminary observations on the coffee berry beetle borer *Stephanoderes (Cryphalus) hampei* Ferrari. **Malayan Agricultural Journal**, Kuala Lumpur, v. 21, p. 8-22, 1933.

DAMON, A.A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**; Farnham Royal, v. 90, n. 6, p. 453-465, 2000.

DICKENS, J.C.; OLIVER, J.E.; HOLLISTER, B.; DAVIS, J.C.; KLUN, J.A. Breaking a paradigm: male-produced aggregation pheromone for the colorado potato beetle. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 205, n. 13, p. 1925-1933, 2002.

DUFOUR, B.P.; FRÉROT, B. Optimization of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Col., Scolytidae), mass trapping with an attractant mixture. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 132, n. 7, p. 591-600, 2008.

EDVARDSSON, M.; ARNQVIST, G. Copulatory courtship and cryptic female choice in red flour beetles *Tribolium castaneum*. **Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences**, London, v. 267, n. 1443, p. 559-563, 2000.

FERNANDEZ, S.; CORDERO, J. Biología de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) em condiciones de laboratório. **Bioagro**; Barquisimeto, v.19, n. 1, p. 35–40, 2007.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Café. In: _____. **AGRIANUAL**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2009. p. 213-229.

FUKAYA, M.; YASUDA, T.; AKINO, T.; YASUI, H.; WAKAMURA, S.; FUKUDA, T.; OGAWA, Y. Effects of male body size on mating behavior and female mate refusal in the white-spotted longicorn beetle, *Anoplophora malasiaca* (Thomson) (Coleoptera : Cerambycidae). **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 39, n. 4, p. 731-737, 2004.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S.S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; FILHO, E.B.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHINI, L.C. LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. Pragas das plantas e seu controle: cafeeiro. In:_____ **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. cap. 12, p. 433-450.

GINZEL, M.D.; HANKS, L.M. Contact pheromones as mate recognition cues of four species of longhorned beetles (Coleoptera : Cerambycidae). **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 16, n. 2, p. 181-187, 2003.

GIORDANENGO, P. **Biologie, éco-éthologie et dynamique des populations du scolyte des grains de café, *Hypothenemus hampei* Ferr. (Coleoptera; Scolytidae), en Nouvelle-Calédonie.** 1992. 110 p. These (Docteur dans Sciences Biologiques) - L'Université de Rennes I, Paris, 1992.

GIORDANENGO, P.; BRUN, L.O.; FRÉROT, B. Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, by coffee berries. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.19, n. 4, p. 763-769, 1993.

GWYNNE, D.T. Mating behaviors. In: RESH, V. H.; CARDÉ, R.T. **Encyclopedia of insects.** San Diego: Academic Press, 2003. p. 682-688.

KIRKENDALL, L.R. Ecology and evolution of biased sex ratios in bark and ambrosia beetles (Scolytidae). In: WRENSCH, D.L.; EBBERT M.A. (eds). **Evolution and diversity of sex ratio: insects and mites.** New York: Chapman & Hall, 1993. p. 235–345.

KIRKENDALL, L.R.; JORDAL, B.H. The bark and ambrosia beetles (Curculionidae, Scolytinae) of cocos island, Costa Rica and the role of mating systems in island zoogeography. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 89, n. 4, p. 729-743, 2006.

LANDOLT, P.J.; PHILLIPS, T.W. Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 42, p. 371-391, 1997.

LECATO, G.L.; PIENKOWS.R.L. Laboratory mating behavior of alfalfa weevil, *Hypera-postica* Coleoptera-Curculionidae. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 63, n. 4, p. 1000-1007, 1970.

MACHADO, P.B.; SUART, J.J.; VEJA, F.E.; ROMERO-SEVERSON, J.; BUSTILLO, A.E. Biogeografía y aspectos genéticos de La broca Del café *Hypothenemus hampei*. In: WORKSHOP INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ, 2007, Londrina. **Proceedings...** Londrina: IAPAR, 2007. p. 11-36.

MATHIEU, F.; BRUN, L.O.; FRÉROT, B. Factors related to native host abandonment by the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Col., Scolytidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 121, n. 3, p. 175-180, 1997.

MATHIEU, F.; MALOSSE, C.; FRÉROT, B. Identification of the volatile components released by fresh coffee berries at different stages of ripeness. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n.3, p. 1106-1110, 1998.

MATHIEU, F.; BRUN, L.O.; FRÉROT, B.; SUCKLING, D.M.; FRAMPTON, C. Progression in field infestation is linked with trapping of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Col., Scolytidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.123, n.9, p.535-540, 1999.

MATHIEU, F.; GAUDICHON, V.; BRUN, L.O.; FRÉROT, B. Effect of physiological status on olfactory and visual responses of female *Hypothenemus hampei* during host plant colonization. **Physiological Entomology**, Oxford, v.26, n.3, p.189-193, 2001.

MENDESIL, E.; BRUCE, T. J.A.; WOODCOCK, C.M.; CAULFIELD, J.C.; SEYOUM, E.; PICKETT, J.A. Semiochemicals used in host location by the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 35, n. 8, p. 944-950, 2009.

MUÑOZ, R. Ciclo biológico y reproducción partenogenética de la broca del fruto del caféto *Hypothenemus hampei* (Ferr.). **Turrialba**, San Jose, v. 39, n. 3, p. 415-421, 1989.

MUTIS, A.; PARRA, L.; PALMA, R.; PARDO, F.; PERICH, F.; QUIROZ, A. Evidence of contact pheromone use in mating behavior of the raspberry weevil (Coleoptera: Curculionidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 38, n. 1, p. 192-197, 2009.

ORTIZ, A.; ORTIZ, A.; VEGA, F.E.; POSADA, F. Volatile composition of coffee berries at different stages of ripeness and their possible attraction to the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 19, p. 5914-5918, 2004.

PARDEY, A.E.B.; GUOTT, D.A.V. Efecto del clima y condiciones de cultivo del café en la biología y comportamiento de la broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). In: WORKSHOP INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ, 2007, Londrina. **Proceedings...** Londrina: IAPAR, 2007. p. 95-112.

PÉREZ, J.; INFANTE, F.; VEGA, F.E. Microorganismos asociados a la broca del café. ¿Existe realmente un mutualismo?. In: WORKSHOP INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ, 2007, Londrina **Proceedings...** Londrina: IAPAR, 2007. p. 65-76.

POLAK, M.; BROWN, W.B. Mating tactics and courtship behavior in *Cleogonus rubetra* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae), **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 8, n. 4, p.453-463, 1995.

PRASUNA, A.L.; JYOTHI, K.N.; PRASAD, A.R.; YADAV, J.S.; PADMANABAN, B. Olfactory responses of banana pseudostem weevil, *Odoiporus longicollis* Olivier (Coleoptera: Curculionidae) to semiochemicals from conspecifics and host plant. **Current Science**, Bangalore, v. 94, n. 7, p. 896-900, 2008.

RAVI, G.; PALANISWAMI, M.S. Evidence for a female-produced sex pheromone in the banana pseudostem weevil, *Odoiporus longicollis* Olivier. **Current Science**, Bangalore, v. 83, n. 7, p. 893-898, 2002.

REIS, P.R. Broca-do-café: conheça os métodos para eliminar a ameaça. **Cultivar**, Pelotas, v.38, p.10-13, 2002.

RUDINSKY, J.A.; RYKER, L.C.; MICHAEL, R.R.; LIBBEY, L.M.; MORGANI, M.E. Sound production in Scolytidae: female sonic stimulus of male pheromone release in two *Dendroctonus* beetles. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 22, n. 7, p. 1675-1681, 1976.

RUIZ-MONTIEL, C.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, H.; LEYVA, J.; LLANDERAL-CAZARES, C.; CRUZ-LÓPEZ, L.; ROJAS, J. Evidence for a male-produced aggregation pheromone in *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 96, n. 4, p. 1126–1131, 2003.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT® User's Guide**, version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, 2004.

SATO, Y.; KOHAMA, T. Post-copulatory mounting behavior of the west indian sweetpotato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae). **Ethology**, Berlin, v. 113, n. 2, p. 183–189, 2007.

SCHLYTER, F.; BIRGERSSON, G. A. Forest beetles. In: HARDIE, J; MINKS, A. (eds). **Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants**. Wallingford: CAB International, 1999. chap. 6, p. 113-148.

SILVA, F.C.; VENTURA, M.U.; MORALLES, L. O papel das armadilhas com semioquímicos no manejo da broca-do-café, *Hypothenemus hampei*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 3, p. 399-406, 2006.

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

SPONAGEL, K.W. La broca del cafe *Hypothenemus hampei* en plantaciones de café robusta en la Amazonía Ecuatoriana. **Agrarwissenschaften, Wissenschaftlicher Fachverlag, Giessen**, Giessen. 1994. 185 p.

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

TANIWAKI, M.H. Danos causados pela broca-do-café: Entrada para fungos e toxinas. In: WORKSHOP INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ, 2007, Londrina. **Proceedings...** Londrina: IAPAR, 2007. p. 77-82.

THORNHILL, R.; ALCOCK, J. **The evolution of insect mating systems**. Cambridge: Harvard University Press, 1983. 547 p.

VEGA, F.E.; BENAVIDES, P.; STUART, J.A.; O'NEILL, S.L. *Wolbachia* infection in the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 95, n.3, p. 374-378, 2002.

VET, L.E.M.; LENTEREN, J.C. van.; HEYMANS, M.; MEELIS, E. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. **Physiological Entomology**, Oxyford, v. 8, n. 1, p. 97-106, 1983.

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

ZHANG, A.J.; OLIVER, J.E.; CHAUHAN, K.; ZHAO, B.G.; XIA, L.Q.; XU, Z.C. Evidence for contact sex recognition pheromone of the Asian longhorned beetle, *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae). **Naturwissenschaften**, Berlin, v.90, n. 9, p. 410-413, 2003.

WEISSLING, T.J.; GIBLIN-DAVIS, R.M.; SCHEFFRAHN, R.H. Laboratory and field evidence for male produced aggregation pheromone in *Rhynchophorus cruentatus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 19, n. 6, p. 1195-1203, 1993.

WEN, X.; KUANG, Y.; SHI, M.; LI, H.; LUO, Y.; DENG, R. Biology of *Hylobitelus xiaoi* (Coleoptera: Curculionidae), a new pest of slash pine, *Pinus elliottii*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 97, n. 6, p. 1954–1964, 2004.