

HERNANE DIAS ARAÚJO

FEROMÔNIO SEXUAL DE *Leucoptera coffeella*: PAPEL DO
COMPONENTE MINORITÁRIO E AVALIAÇÃO DE
ISÔMEROS EM DIFERENTES POPULAÇÕES

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das exigên-
cias do Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2011

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A663f
2011

Araújo, Hernane Dias, 1985-

Feromônio sexual de *Leucoptera coffeella* : papel do componente minoritário e avaliação de isômeros em diferentes populações / Hernane Dias Araújo. – Viçosa, MG, 2011.

xii, 37f. : il. ; 29cm.

Orientador: Eraldo Rodrigues de Lima.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 30-37

1. Bicho-mineiro-do-café - Populações.
2. *Leucoptera coffeella*.
3. Feromonas.
4. Quiralidade.
5. Inseto - Atração sexual.
6. Pragas - Controle integrado.
7. Café - Doenças e pragas - Controle. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 595.781788

HERNANE DIAS ARAÚJO

FEROMÔNIO SEXUAL DE *Leucoptera coffeella*: PAPEL DO
COMPONENTE MINORITÁRIO E AVALIAÇÃO DE
ISÔMEROS EM DIFERENTES POPULAÇÕES

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das exigên-
cias do Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 22 de Julho de 2011.

Eliseu José Guedes Pereira

Flávio Lemes Fernandes

Eraldo Rodrigues de Lima
(Orientador)

A meus pais, David e Nilsa, que
me ensinaram na prática os
valores mais importantes da
vida: amor, educação,
honestidade e caráter.

Agradecimentos

A Deus.

A meus pais, David e Nilsa, minha tia Nita e meus irmãos Alysson, Leandro e Gil pelo apoio constante e dedicação.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós Graduação em Entomologia pela oportunidade da realização desse curso.

A Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Professor Eraldo Lima, pela orientação e ensinamentos desde a graduação.

A Bárbara e família por todo o carinho e apoio e por entenderem minhas inúmeras ausências.

Aos amigos do Laboratório de Feromônios e Comportamento de Insetos pela amizade, pelo apoio e pelos vários bons momentos.

Aos Drs. Shigefumi Kuwahara do Laboratory of Agricultural Chemistry, Ibaraki University, Japão; Kenji Mori do Photosensitive Materials Research Center, Toyo Gosei Co., Ltd, Japão; e Miklós Tóth do Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, Hungria pelo envio das substâncias utilizadas.

A empresa Datterra Atividades Rurais, que permitiu a instalação de armadilhas em sua propriedade, em especial ao Gustavo, a Beatriz e a Darly.

A Pablo Benavides Machado e Juan Carlos Florez do Centro Nacional de Investigaciones de Café - Cenicafé, por possibilitarem os experimentos feitos na Colômbia.

A todos aqueles que de alguma maneira fizeram parte dessa fase da minha vida.

Biografia

Hernane Dias Araújo, filho de Nilsa Dias Araújo e David Couto Araújo, nasceu em Ponte Nova, Minas Gerais, em 03 de abril de 1985.

Em julho de 2009 graduou-se em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG. Durante a graduação, de 2005 a 2009, foi estagiário nos laboratórios de Ecologia de Comunidades e Semioquímicos.

Em agosto de 2009, iniciou o curso de Mestrado em Entomologia na UFV, defendendo a tese em julho de 2011

Em junho de 2011, foi aprovado para ingresso no curso de Doutorado em Entomologia da UFV.

Conteúdo

	Página
Lista de Figuras	vii
Resumo	ix
Abstract	xi
1 Introdução	1
2 Revisão Bibliográfica	4
2.1 Lepidoptera e feromônios de insetos	4
2.2 Uso de feromônios no controle de pragas	6
2.3 Feromônios de insetos e isomeria	7
2.4 Variação geográfica do feromônio sexual	9
2.5 Pragas do cafeeiro	11
2.5.1 Bicho-mineiro	11
2.6 Feromônios sexuais na família Lyonetiidae	12
3 Material e Métodos	15
3.1 Compostos sintéticos	15
3.2 Localidades	15
3.3 Delineamento experimental	17
3.4 Análises estatísticas	17

4 Resultados	18
5 Discussão	24
6 Conclusões	28
7 Referências	30

Lista de Figuras

	Página
1	Estrutura dos componentes de feromônios de mariposas da família Lyonetiidae. * Centros quirais. ¹ Estereoisômero atrativo ao inseto ainda não determinado. Adaptado de Gries <i>et al.</i> (1997) 14
2	Estrutura dos isômeros do componente principal do feromônio sexual de <i>Leucoptera coffeella</i> . RR, 5R,9R-dimetilpentadecano; RS, 5R,9S-dimetilpentadecano; SR, 5S,9R-dimetilpentadecano; e SS, 5S,9S-dimetilpentadecano. Adaptado de Malo <i>et al.</i> (2009) 16
3	Machos de <i>Leucoptera coffeella</i> capturados em armadilhas Delta contendo 5,9-dimetilpentadecano (C15-2) e seus isômeros em Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Médias de mesma cor não diferem estatisticamente entre si (Chi-quadrado seguido de Análise de Contraste, $p < 0.001$). EP = Erro Padrão. 19
4	Machos de <i>Leucoptera coffeella</i> capturados em armadilhas Delta contendo isômeros de 5,9-dimetilpentadecano em Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Médias de mesma cor não diferem estatisticamente entre si (Chi-quadrado seguido de Análise de Contraste, $p = 0.006$). EP = Erro Padrão. 20
5	Machos de <i>Leucoptera coffeella</i> capturados em armadilhas Delta contendo diferentes sínteses de 5,9-dimetilpentadecano (C15-1,C15-2,C15-3) e seus isômeros e uma mistura de C15-3 e 5,9-dimetilhexadecano (C15,C16) em Patrocínio, Minas Gerais, Brasil. Médias de mesma cor não diferem estatisticamente entre si (Chi-quadrado seguido de Análise de Contraste, $p < 0.001$). EP = Erro Padrão 21

- 6 Machos de *Leucoptera coffeella* capturados em armadilhas Delta contendo isômeros de 5,9-dimetilpentadecano em Patrocínio, Minas Gerais, Brasil. Médias de mesma cor não diferem estatisticamente entre si (Chi-quadrado seguido de Análise de Contraste, $p = 0.0018$). EP = Erro Padrão. 22
- 7 Machos de *Leucoptera coffeella* capturados em armadilhas Delta contendo 5,9-dimetilpentadecano (C15-2) e seus isômeros em Chinchiná, Caldas, Colômbia. Médias de mesma cor não diferem estatisticamente entre si (Chi-quadrado seguido de Análise de Contraste, $p < 0.001$). EP = Erro Padrão. 23

Resumo

ARAÚJO, Hernane Dias, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2011. **Feromônio sexual de *Leucoptera coffeella*: papel do componente minoritário e avaliação de isômeros em diferentes populações.** Orientador: Eraldo Rodrigues de Lima.

O bicho-mineiro-do-café, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) é a principal praga do café no Brasil e seu controle é feito principalmente por meio de aplicações de inseticidas com características prejudiciais ao homem, cultura e ambiente. Em contraste, o uso de feromônios sexuais no manejo de pragas é tido como uma forma de se diminuir a aplicação e os efeitos tóxicos desses inseticidas. Nesse trabalho, avaliou-se a captura de machos de *L. coffeella* em armadilhas contendo diferentes isômeros e mistura racêmica de 5,9-dimetilpentadecano, componente majoritário de seu feromônio sexual, em duas localidades de Minas Gerais. Também foi verificado se o componente minoritário, 5,9-dimetilhexadecano, exerce influência na captura de machos em armadilhas de feromônio e se diferentes sínteses da mistura racêmica de 5,9-dimetilpentadecano levam a diferenças na captura de machos em campo. Em todos os casos, a mistura racêmica atraiu mais indivíduos que os isômeros, reforçando a ideia de que uma mistura de isômeros deve ser produzida pela fêmea. O isômero RS atraiu mais machos que os outros isômeros em ambos os locais. Dessa forma, parece não haver variação geográfica do feromônio sexual entre esses lugares. No entanto, populações do México são mais atraídas

pelo isômero SR, abrindo margem para se especular que há variação entre essas populações e as encontradas no Brasil. O componente minoritário não influenciou a captura de machos. Portanto, não deve ser considerado parte do feromônio sexual de *L. coffeella*. Das três misturas racêmicas testadas, apenas uma se mostrou ineficiente, de modo que a razão disso ainda precisa ser investigada. Aspectos da evolução dos sistemas de comunicação química e a possível aplicação dos resultados obtidos são discutidos.

Abstract

ARAÚJO, Hernane Dias, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2011.
Sex pheromone of *Leucoptera coffeella*: role of the minor component and evaluation of isomers in different populations. Adviser: Eraldo Rodrigues de Lima.

The coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) is the main pest of coffee in Brazil and its control is achieved through application of insecticides with features harmful to man, culture and environment. In contrast, the use of sex pheromones in pest management is seen as a way to reduce the implementation and toxic effects of these insecticides. In this study, was evaluated the capture of males of *L. coffeella* in traps containing different isomers and racemic mixtures of 5,9-dimethylpentadecane, a major component of its sex pheromone, in two localities of Minas Gerais. It was observed too if the minor component, 5,9-dimethylhexadecane influences the capture of males in pheromone traps and if different syntheses of racemic mixture of 5,9-dimethylpentadecane lead to differences in the capture of males in the field. In all cases, the racemic mixture attracted more individuals than isomers, reinforcing the idea that a mixture of isomers should be produced by the female. The RS isomer attracted more males than the other isomers in both places. Thus, there seems not to be geographic variation of the sex pheromone between these sites. However, Mexico populations are more attracted by the SR isomer, opening room to speculate that there is variation

between these populations and those found in Brazil. The minor component did not influence the capture of males. Therefore, should not be considered part of the sex pheromone of *L. coffeella*. Of the three racemic mixtures tested, only one proved inefficient, but the reason for this remains to be investigated. Aspects of the evolution of chemical communication systems and the possible application of the results obtained are discussed.

1 Introdução

O bicho-mineiro-do-café, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae), é uma importante praga do cafeeiro. É uma espécie neotropical, encontrada no México, América Central, América do sul e Caribe (Barrera, 2008). O consumo do parênquima paliçádico das folhas de café pelas larvas de *L. coffeella* reduz a área fotossintética foliar, levando à perda de produtividade e qualidade do café (Reis & Souza, 1998). No Brasil, o bicho-mineiro é considerado a principal praga do café, podendo causar perdas de 50% na produção (Souza & Reis, 1992).

A principal forma de controle utilizada contra o bicho-mineiro tem sido o uso de inseticidas, como organofosforados e piretróides. No entanto, são produtos altamente tóxicos e podem causar distúrbios como a seleção de insetos resistentes e presença de resíduos no café; o que pode afetar a saúde humana (Fragoso *et al.*, 2002; Barrera, 2008).

Como alternativa ao uso somente de inseticidas, tem-se usado feromônios para o controle e monitoramento de diversos insetos praga (Witzgall *et al.*, 2010). Francke *et al.* (1988) identificaram o 5,9-dimetilpentadecano como o componente majoritário e o 5,9-dimetilhexadecano como o componente minoritário do feromônio sexual de *L. coffeella*. No entanto, por possuir dois centros quirais, o componente principal poderia ser encontrado em quatro formas isoméricas: 5S,9S-, 5R,9R-, 5R,9S- e 5S,9R-dimetilpentadecano. Devido a dificuldade em se quantificar esses diferentes isômeros, a configuração que ocorre naturalmente ainda não foi identificada.

Várias formas de sintetizar a mistura racêmica e os diferentes isômeros do componente principal já foram elucidadas (Francke *et al.*, 1988; Poppe *et al.*, 1991; Kuwahara *et al.*, 2000; Liang *et al.*, 2000; Moreira & Corrêa,

2003; Zarbin *et al.*, 2004; Doan *et al.*, 2007; Mori, 2008) e respostas comportamentais e fisiológicas do bicho-mineiro vem sido observadas na presença desses compostos sintéticos.

Lima (2001) observou que machos virgens de *L. coffeella* responderam de forma satisfatória ao isômero 5S,9S-dimetilpentadecano quando avaliados por meio de eletroantenografia e túnel de vento em comparação aos outros isômeros. No entanto, em experimentos de campo, os isômeros puros não atraíram muitos machos para as armadilhas com feromônio sexual, ao contrário da mistura racêmica. Uma possível explicação pra esse resultado seria que os estudos fisiológicos e comportamentais foram realizados em localidades distantes a cerca de 800 km do local onde se realizou o monitoramento com armadilhas. Ou seja, haveria diferenças geográficas qualitativas na produção de feromônios entre fêmeas de populações diferentes. No México, Malo *et al.* (2009) observaram que o isômero 5S,9R-dimetilpentadecano teve maior sucesso no uso de armadilhas em campo quando comparado com os outros isômeros. No entanto, a mistura racêmica não foi testada. Dessa forma, há indícios apontando que diferentes populações de *L. coffeella*, quando separadas geograficamente, possam ter diferentes conformações de seu feromônio sexual, seja de forma quantitativa ou qualitativa.

A adição de componentes na mistura do feromônio sexual pode muitas vezes ser crítico para a atração de machos (Anderbrant *et al.*, 2010). Até hoje, somente foi avaliada a eficiência em campo do 5,9-dimetilpentadecano (Lima, 2001; Zarbin *et al.*, 2004; Malo *et al.*, 2009), mas o componente minoritário, 5,9-dimetilhexadecano, poderia intensificar a captura de machos em armadilhas por meio de sinergia com o componente principal.

Nesse trabalho, avaliou-se a captura de machos de *L. coffeella* em armadilhas contendo diferentes isômeros e mistura racêmica de 5,9-dimetilpentadecano em diferentes localidades. Também foi verificado se o componente minoritário, 5,9-dimetilhexadecano, exerce influência na captura de machos em armadilhas de feromônio. Por fim, foi observado se diferentes

sínteses da mistura racêmica de 5,9-dimetilpentadecano levam a diferenças na captura de machos em campo.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Lepidoptera e feromônios de insetos

Mariposas e borboletas, insetos da ordem Lepidoptera, estão entre os mais diversos grupos de organismos. Com mais de 150,000 espécies eles compreendem a segunda maior ordem de animais, ficando atrás apenas dos Coleoptera. Suas larvas fitófagas representam importantes componentes dos principais habitats terrestres do mundo. Muitas espécies têm um impacto significativo sobre a sociedade humana, tanto negativamente como pragas da agricultura ou de forma benéfica como polinizadores e fonte de alimento a outros animais (Goldsmith & Marec, 2010).

Segundo Willis *et al.* (1995), as origens da pesquisa em lepidópteras se deu por meio de três interesses iniciais distintos: O primeiro interesse foi inspirado pela beleza e variedade de espécies, principalmente em relação aos padrões de cor das asas. Essa variedade foi e continua sendo importante nos estudos de sistemática e evolução do grupo. A análise detalhada da pigmentação das asas também foi importante para estimular pesquisas em outros campos, como em química orgânica. O segundo aspecto dos Lepidoptera que favoreceu seu uso como modelo de sistema biológico, é o grande tamanho corporal de algumas espécies e a facilidade em se fazer manipulações cirúrgicas. Muito do que sabemos sobre como os hormônios regulam a vida dos insetos teve origem em pesquisas com essa ordem. O grande tamanho corporal das larvas e adultos de certas espécies também tem sido significativo em vários estudos bioquímicos. A maioria dos produtos da hemolinfa foi caracterizada pela primeira vez em espécies de mariposas. O terceiro ímpeto principal para a pesquisa com lepidópteras foi econômico, e aqui se pode dividir esse interesse de duas formas. De um lado, várias espécies tem alto valor econômico por

meio da polinização e produção de seda. O bicho-da-seda, *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae), cuja criação começou a mais de cinco mil anos atrás na China; é a principal espécie envolvida nessa produção, sendo uma das mais importantes indústrias em mais de 30 países.

Por outro lado, de forma negativa, os Lepidoptera são importantes economicamente por seu papel como insetos praga: atacando plantações, pomares e florestas. O conhecimento sobre sinalização por meio de feromônios por fêmeas virgens adveio da necessidade de identificar alguma vulnerabilidade nessas pragas. Cerca de 50 anos atrás, Butenandt *et al.* (1959) isolaram pela primeira vez o atraente sexual de um inseto; no caso, o da fêmea do bicho-da-seda. O termo “feromônio” foi cunhado no mesmo ano por Karlson & Lüscher (1959), nome derivado do grego *pherein*, transferir, e *hormon*, excitar. São substâncias secretadas externamente por um indivíduo e recebidas por um segundo indivíduo da mesma espécie, onde são eliciadas respostas específicas como comportamentos definidos ou processos fisiológicos. Entre os fatores que podem ter levado ao grande número de espécies de Lepidoptera está sua habilidade de persistir em densidades relativamente baixas, habilidade esta facilitada pela comunicação por meio dos feromônios que permitem aos machos a localização das fêmeas a dezenas ou mesmo centenas de metros (Cardé & Haynes, 2004). Esse sistema também pode servir como base primária para o isolamento reprodutivo pré-copulatório entre as espécies.

O feromônio sexual de muitas mariposas é formado por cadeias longas de 10 a 18 carbonos, derivados insaturados de ácidos graxos, com o carbono da carbonila modificado em um grupo funcional contendo oxigênio (álcool, aldeído, acetato) (Goldsmith & Marec, 2010). Então, com uma ampla gama de compostos distintos possíveis, os canais de comunicação química permitem a coexistência de várias espécies em um mesmo habitat ou região (Cardé & Haynes, 2004).

2.2 Uso de feromônios no controle de pragas

O uso de feromônios no controle de pragas cresceu de forma expressiva nas últimas décadas, baseado na ideia da manipulação específica do sistema de comunicação dos insetos sem afetar outros organismos. Há várias vantagens desse método de controle sobre o uso de inseticidas convencionais. Os feromônios são atóxicos e não persistentes; sendo espécie-específicos, eles eliciam respostas comportamentais em doses extremamente baixas. A aplicação de feromônios se concentra em duas vertentes: confundimento sexual e atração para armadilhas, utilizadas para o monitoramento do inseto praga ou sua coleta massal. O conceito do confundimento do acasalamento é interferir ou bloquear fortemente a transmissão de sinais entre os parceiros sexuais. O monitoramento de insetos é útil na detecção ou determinação da incidência prematura de pragas, levando à redução do uso de inseticidas convencionais. A coleta massal é um método de controle por meio do qual se utiliza o feromônio sintético ou o sexo emissor aprisionado em gaiolas em um grande número de armadilhas com o intuito de capturar seletivamente o maior número possível de indivíduos do inseto praga alvo para manter sua população abaixo do nível de dano econômico (Bento, 2001; Matthews & Matthews, 2010). Há ainda um método pouco usado conhecido como “atrai e mata”. Esta técnica consiste essencialmente de dois componentes: uma isca, que pode ser um feromônio, um atrativo visual ou ambos, e um produto químico (inseticida de contato, regulador de crescimento, um esterilizador ou ainda um organismo patogênico) que irá controlar o inseto (Bento, 2007). O método da confusão sexual tem sido usado principalmente contra mariposas enquanto a utilização de armadilhas tem tido efeito contra besouros e moscas, além das próprias mariposas (Matthews & Matthews, 2010).

O uso de feromônios de insetos pode minimizar os danos causados nas culturas e, em alguns casos, exterminar populações isoladas (Bento, 2001). No entanto, a eficiência desses compostos depende de uma gama de fatores. A pesquisa de liberadores de feromônio é uma área crítica; materiais econômicos

e eficientes devem ser desenvolvidos e devem ter a capacidade de liberar quantidades suficientes de feromônio por um longo período e por grandes áreas. Variáveis climáticas como temperatura, umidade e vento devem ser analisadas na implantação de um programa de manejo de pragas com o uso de feromônios. Além disso, também deve se levar em conta aspectos físicos das armadilhas, como cor, formato e local, posição e altura de instalação (Bento, 2001; Matthews & Matthews, 2010).

2.3 Feromônios de insetos e isomeria

A síntese de feromônios é catalisada por enzimas e os feromônios são detectados por receptores, ambas proteínas, que reconhecem seus substratos e moléculas ligantes, respectivamente, pelo formato tridimensional. Moléculas de mesma fórmula atômica podem, às vezes, formar diferentes compostos químicos; e moléculas com a mesma estrutura (conexão entre os átomos) podem ter diferentes formas tridimensionais. Essas variações são conhecidas como isômeros.

A variação na forma molecular, na síntese e recepção de feromônios ocorre amplamente entre os insetos, de forma que essas variações são importantes para muitas espécies para reconhecimento específico. Há muitos anos se sabe que cada um dos possíveis isômeros pode ser importante biologicamente já que em cada caso o formato da molécula é diferente e pode estimular diferentes receptores olfatórios (Iwaki *et al.*, 1974; Mori, 1974; Riley *et al.*, 1974). Há dois tipos principais de isômeros. Os constitucionais são aqueles cujos átomos se conectam de maneira diferente. Nessa classificação, há os isômeros funcionais, onde os átomos de compostos de mesma fórmula molecular se conectam de forma a produzir diferentes grupos funcionais, dando diferentes propriedades químicas à molécula; e podem ser isômeros posicionais, que podem diferir entre si, por exemplo, na posição de um grupo funcional ou pela posição de uma dupla ligação. Já os estereoisômeros são aqueles que possuem a mesma conectividade entre os átomos, mas diferem no arranjo desses

átomos no espaço. Geralmente os diferentes estereoisômeros se comportam de maneira idêntica em reações químicas, mas em sistemas biológicos, devido à sensibilidade de enzimas e receptores, essas diferenças podem resultar em respostas diferentes (Wyatt, 2003).

Também há vários tipos de estereoisômeros. As chamadas moléculas quirais são idênticas, exceto que são imagens espelhadas uma da outra e não são sobreponíveis, nem por rotação, nem por translação. Essas imagens espelhadas são chamadas enantiômeros. A quiralidade é uma consequência do arranjo tetraédrico dos átomos de carbono: se diferentes grupos estão ligados em cada uma das quatro ligações de um átomo de carbono (carbono quiral ou centro quiral), então a molécula pode ser encontrada em formas diferentes. Uma propriedade especial dos compostos quirais é sua atividade ótica. Soluções puras de enantiômeros rotacionam o plano de polarização da luz que passa através delas, sendo que enantiômeros opostos rotacionam a luz em direções opostas. Moléculas *L* (do latim *laevo*, esquerda), rotacionam o plano de polarização para a esquerda, enquanto moléculas *D* (*dextro*, direita), para a direita. Uma mistura racêmica é uma mistura igual dos enantiômeros possíveis. Como um cancela o outro opticamente, essas misturas não rotacionam o plano de polarização da luz, sendo opticamente inativas.

O sistema de nomenclatura *L* e *D*, no entanto, não indica a posição real de todos os átomos no espaço ao redor da molécula. Isso é alcançado por meio da configuração absoluta, que permite descrever a orientação de cada centro quiral como sendo *R* (de *rectus*, direita) e *S* (de *sinister*, esquerda).

Quando uma molécula tem mais de um centro quiral, uma segunda forma de estereoisomeria é possível: a diastereoisomeria. Nesse caso, cada um dos centros quirais pode ser de uma das formas: *R* ou *S*. O número de estereoisômeros possíveis em uma molécula se dá pela fórmula 2^n , onde n corresponde ao número de centros quirais presentes. Dentre esses isômeros possíveis, há pares que são enantiômeros, mas também há pares que não são imagens espelhadas: os diastereoisômeros - estereoisômeros que não são enantiômeros e que possuem propriedades físicas diferentes.

Há ainda uma forma particular de diastereoisômero: os isômeros geométricos. Muitos feromônios de mariposas possuem duplas ligações em sua cadeia carbônica, tornando-a rígida neste ponto (Wyatt, 2003). Dependendo de onde o restante da cadeia se liga nessa dupla ligação, pode haver duas versões da molécula: *E* (trans), quando se conectam a lados opostos da dupla, e *Z* (cis), quando se conectam no mesmo lado. Essas duas formas são compostos diferentes, com propriedades físico-químicas distintas.

2.4 Variação geográfica do feromônio sexual

O feromônio sexual de mariposas geralmente tem natureza multicomponente, sendo formado por misturas específicas de dois ou mais componentes (Byers, 2006). Em muitos casos, a combinação de isômeros pode ocorrer. Uma fêmea produz uma razão específica desses componentes e os machos são atraídos por essa mistura nessa razão (Roelofs *et al.*, 1985). Em muitos casos, feromônios de espécies próximas se diferenciam por mudanças sutis no comprimento da cadeia carbônica, na localização da dupla ligação ou na proporção de isômeros (Ando *et al.*, 2004). Essas mudanças também podem ocorrer entre populações da mesma espécie, levando à possível formação de raças feromonais, indivíduos cuja diferença se encontra nos aparatos quimiosensoriais envolvidos na seleção sexual. Estudos de raças de insetos têm sido feitos com o objetivo de elucidar a origem e os mecanismos de variação na detecção que possibilita a evolução de novas misturas de feromônios, além de serem importantes para a correta implantação de programas de manejo integrado utilizando-se feromônios.

A broca-européia-do-milho, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) tem servido de sistema modelo para o estudo da evolução dos feromônios sexuais entre raças e espécies. A maioria das espécies do gênero *Ostrinia* usa proporções variáveis de Z11- e E11-tetradecenil acetato como os dois componentes principais de seus feromônios. Populações de *O. nubilalis* são encontradas na Europa e América do Norte e podem ser de duas raças fe-

romonais (Cardé *et al.*, 1975). A maioria das populações possuem machos da raça Z, que são atraídos por uma mistura na proporção 97:3 de Z11- e E11-14:OAc. Em algumas áreas, machos da raça E, que usam a proporção oposta do feromônio (1:99), ocorrem de forma simpátrica com a raça Z (Roelofs *et al.*, 1985; Linn *et al.*, 2007), embora proponha-se que essas raças se formaram de maneira aloprática (Klun & Huettell, 1988).

Cardé & Haynes (2004) citam o que eles consideram o exemplo mais bem documentado de variação geográfica do feromônio sexual: o caso de *Agrotis segetum* (Lepidoptera: Noctuidae), espécie encontrada em boa parte da África e na maioria da Europa e Ásia. A maioria dos estudos procurou examinar as proporções de três dos quatro acetatos que formam seu feromônio sexual em fêmeas individuais, bem como a atração a machos em campo. Foi encontrada uma variabilidade substancial dentro das populações e entre regiões geográficas nas proporções do feromônio produzido pela fêmea e na atração a machos. Geralmente a produção e a recepção dos componentes co-variavam geograficamente. Algumas populações europeias, como as da França, da Armênia e Bulgária, diferem suficientemente em seus sistemas feromonais, que poderiam ser consideradas como espécies diferentes. Especula-se que, na verdade, *A. segetum* compreenda um complexo de espécies irmãs originadas por alopatria; sendo a interferência nos sistemas de comunicação a força causadora da diversidade.

Com relação a pragas que existem no Brasil pouco ainda foi estudado. Batista-Pereira *et al.* (2006) encontraram diferenças quantitativas e qualitativas entre feromônios sexuais de populações de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) do Brasil em relação a populações da Europa e América do Norte. Isso explicou por que iscas de feromônio importadas não eram efetivas no país. Já Cortés *et al.* (2010) sugerem que *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) possui variação geográfica monomórfica de seu feromônio sexual, com variações na quantidade e proporção dos componentes feromonais.

2.5 Pragas do cafeeiro

O café é uma planta originária da Etiópia, no continente africano. Foi introduzida no Brasil em 1727, no estado do Pará. Aqui, encontrou condições ideais de cultivo e a cultura se espalhou pelo país já no século XVIII e se consolidou no século XIX. O Brasil é o maior produtor mundial de café (FAO, 2008) e as principais áreas de cultivo ocorrem na Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rondônia e São Paulo. Em 2010 a produção nacional foi de cerca de 48 milhões de sacas (ICO, 2011).

Dentre os problemas fitossanitários que ocorrem no cafeeiro, um dos principais é o ataque por insetos praga. Sua natureza perene favorece o ataque por inúmeros insetos e ácaros. Todas as partes da planta são suscetíveis ao ataque, que pode ocorrer desde a sementeira até o armazenamento. Algumas pragas atacam o café de forma temporária, enquanto outras vivem por várias gerações na planta. Em certos casos, o ataque pode levá-la à morte, mas na maioria dos casos a praga apenas enfraquece a planta, reduzindo sua produção. Os insetos constituem o grupo mais numeroso de pragas do café. Das mais de 850 espécies que atacam a cultura, aproximadamente 200 têm sido reportadas na América. Dessas, cerca de 30 causam perdas importantes. A praga considerada mais importante na região neotropical é a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). O bicho-mineiro-do-cafeeiro *L. coffeella* e cochonilhas (Hemiptera: Pseudococcidae) também tem causado problemas em vários países (Barrera, 2008).

2.5.1 Bicho-mineiro

O bicho-mineiro é uma espécie neotropical, sendo encontrada no México, América Central, América do Sul e Caribe (Barrera, 2008). No Brasil, é considerado a principal praga do café, onde pode causar perdas de 50% na produção (Souza & Reis, 1992). As folhas são os únicos órgãos danificados por sua larva. O ataque do bicho-mineiro pode causar severa desfolha. No Equador, desfolhas entre 70 e 90% já foram registradas em *Coffea arabica*

e de 30 a 40% em *Coffea canephora*, as duas espécies de café importantes economicamente (Barrera, 2008). A falta de folhas na planta reduz a atividade fotossintética e, conseqüentemente, a disponibilidade de nutrientes para a produção de frutos (Reis & Souza, 1998).

Na fase adulta, o bicho-mineiro é uma pequena mariposa de corpo medindo entre 2 e 3 mm de comprimento e coberto por escamas prateadas. Possui antenas filiformes. As asas anteriores possuem uma coloração cinza em formato oval, rodeado por uma linha preta e cercado por uma faixa amarela que se estende ao longo das laterais. Os machos tendem a ser levemente menores que as fêmeas. A fêmea deposita seus ovos nas folhas, e, de cada ovo, eclode uma larva que tem um corpo anelado, de cor branca e medindo aproximadamente 5 mm. Depois do período larval, passa pelos estados de pré-pupa e pupa até chegar a adulto. A fêmea geralmente deposita seus ovos de forma irregular sobre a superfície das folhas mais maduras do cafeeiro, particularmente no meio e na parte inferior da planta. Os ovos são postos individualmente ou em pequenos agrupamentos de até sete ovos, com uma fecundidade que varia entre 30 e 80 ovos. Após a eclosão, a larva faz um corte semicircular na folha, penetrando-a rapidamente, minando o parênquima paliádico foliar. Quando está pronta para empupar, a larva completamente desenvolvida deixa a galeria formada fazendo um corte semicircular na folha. A formação do casulo e empupação ocorrem na face abaxial da folha do café, frequentemente em uma curvatura da folha ou próximo a uma nervura (Barrera, 2008). A duração do ciclo de vida, do ovo ao adulto, dura entre 19 e 87 dias, dependendo da temperatura. Varias gerações ocorrem durante o ano, particularmente em cafezais onde há pleno sol ou seja levemente sombreado, variando de 8 a 12 (Gallo *et al.*, 2002; Barrera, 2008).

2.6 Feromônios sexuais na família Lyonetiidae

Espécies próximas geralmente possuem similaridades estruturais entre os componentes de seu feromônio, o que ajuda em classificações taxonômicas.

Esses componentes podem ser tratados como caracteres e mapeados em filogenias para inferir o padrão de ganhos e perdas evolutivas desses componentes e, conseqüentemente, o modo de evolução (Symonds & Elgar, 2008).

Dentro da família Lyonetiidae essa semelhança estrutural entre os feromônios de algumas espécies é observada (Figura 1). Assim como ocorre em *L. coffeella*, os componentes do feromônio sexual de outros lionetiídeos são formados por hidrocarbonetos contendo entre 1 e 2 grupos metila em posições iguais, se diferenciando pelo tamanho da cadeia e pela presença de insaturações. *Lyonetia prunifoliella* (anteriormente *Lyonetia speculella*), *Leucoptera malifoliella* (anteriormente *Leucoptera scitella*) e *Lyonetia clerkella* são pragas de árvores frutíferas em regiões da Europa e Ásia e possuem, respectivamente, 10,14-dimetiloctadec-1-eno, 5,9-dimetilheptadecano e 14-metil-1-octadeceno como componente principal de seu feromônio sexual (Gries *et al.*, 1997; Francke *et al.*, 1987; Sugie & Tamaki, 1984).

Em todos os casos, o isômero que desencadeia a maior captura de machos em armadilhas de feromônio é o SS (ou S, no caso de *L. clerkella*) (Park *et al.*, 2002; Sato *et al.*, 1985; Tóth *et al.*, 1989), contrastando com o resultado encontrado por Lima (2001) em *L. coffeella*, onde somente a mistura racêmica levou a maiores capturas, apesar de ter tido maior resposta eletro-antenográfica ao isômero SS.

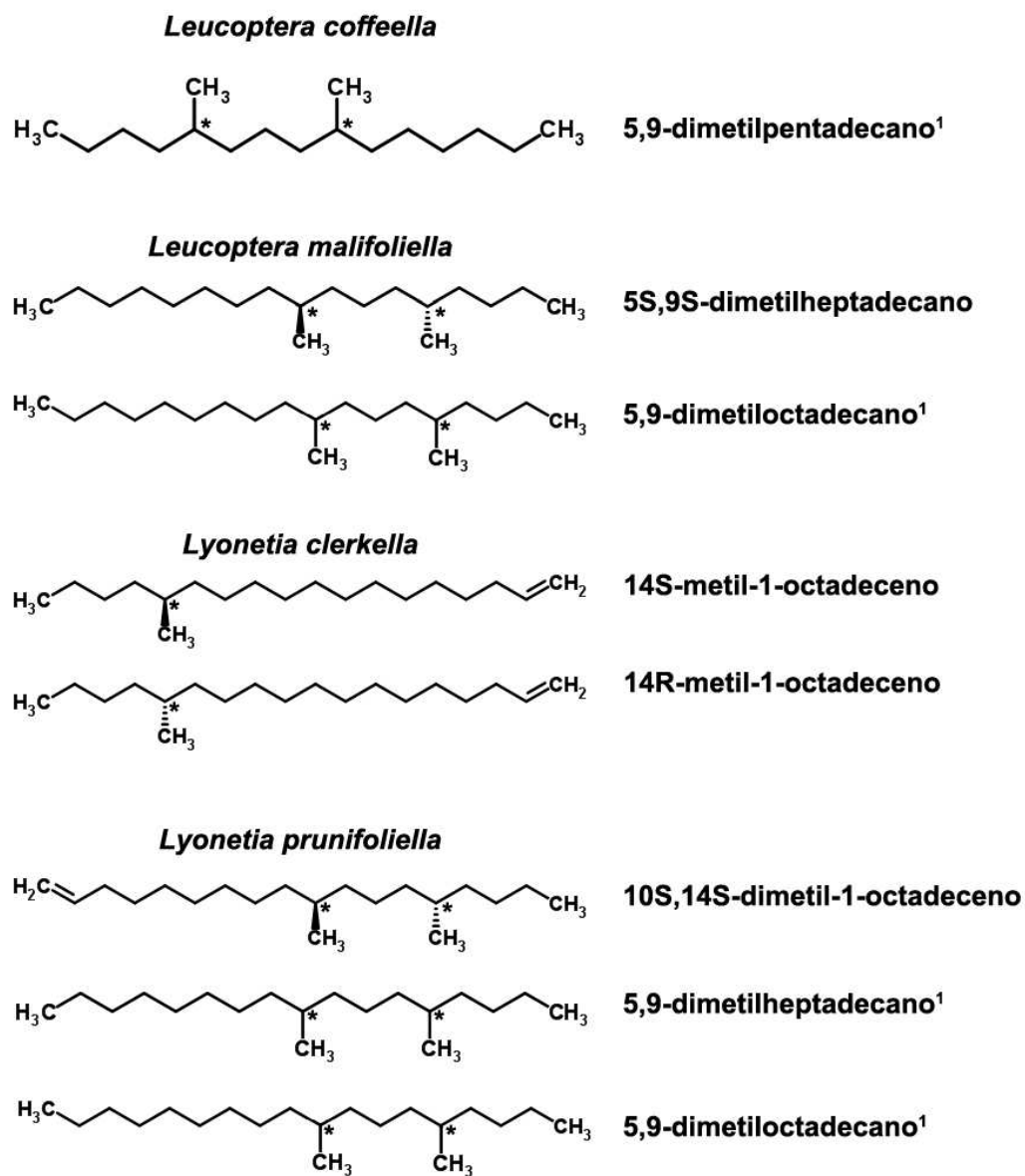


Figura 1: Estrutura dos componentes de feromônios de mariposas da família Lyonetiidae. * Centros quirais. ¹Estereoisômero atrativo ao inseto ainda não determinado. Adaptado de Gries *et al.* (1997)

3 Material e Métodos

3.1 Compostos sintéticos

Os isômeros puros de 5,9-dimetilpentadecano (SS, SR, RR e RS) (Figura 2) foram sintetizados no Laboratory of Agricultural Chemistry, Ibaraki University, Japão.

As misturas racêmicas desse composto foram sintetizados em 3 locais diferentes: Photosensitive Materials Research Center, Toyo Gosei Co., Ltd, Japão (C15-1); Shin-etsu Chemical Co. (C15-2), Ltd, Japão e Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, Hungria (C15-3).

A mistura racêmica de 5,9-dimetilhexadecano (C16) foi sintetizado no Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, Hungria.

Para o uso nas armadilhas, os compostos foram diluídos em hexano em grau HPLC.

3.2 Localidades

O estudo ocorreu entre os meses de junho e julho de 2011 em duas localidades: Viveiro de Café da Universidade Federal de Viçosa (20°44'35"S; 42°50'51"O, 700 m de altitude) em Viçosa, Minas Gerais e na fazenda Daterra Atividades Rurais LTDA (18°45'31"S; 46°58'10"O, 1160 m de altitude), em Patrocínio, Minas Gerais. Estes locais se distanciam em aproximadamente 800 km. Entre os meses de setembro e outubro de 2011 o estudo ocorreu em Pereira, Risaralda, Colômbia. Em Viçosa, a área de estudo possuía plantas de *Coffea arabica* de diferentes variedades, dentre elas Catuaí, Mundo Novo e Bourbon. Em Patrocínio, o estudo foi realizado em um talhão contendo

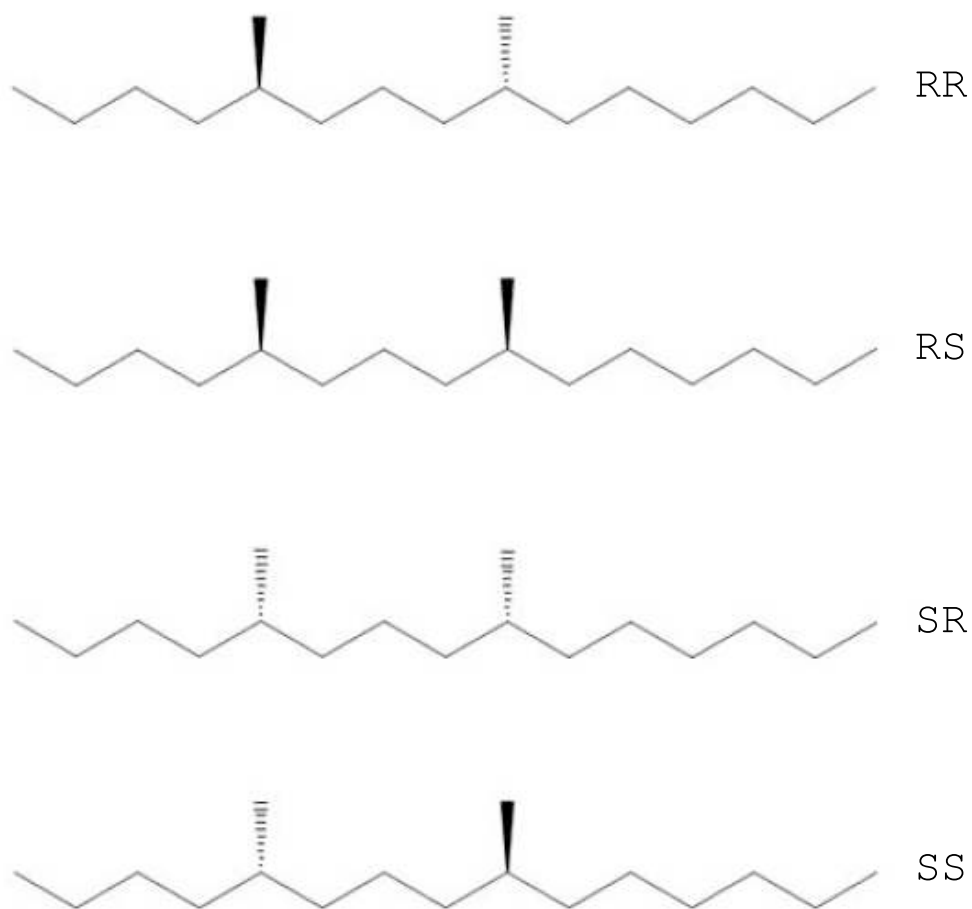


Figura 2: Estrutura dos isômeros do componente principal do feromônio sexual de *Leucoptera coffeella*. RR, 5R,9R-dimetilpentadecano; RS, 5R,9S-dimetilpentadecano; SR, 5S,9R-dimetilpentadecano; e SS, 5S,9S-dimetilpentadecano. Adaptado de Malo *et al.* (2009)

apenas *C. arabica* var. Mundo Novo, enquanto em Pereira a área utilizada possuía somente *C. arabica* var. Colombia.

3.3 Delineamento experimental

Foram montadas de forma aleatória armadilhas de feromônio do tipo Delta Branca (Biocontrole[®], São Paulo, Brasil) suspensas nos galhos do café a uma altura entre 0.20 e 0.50 m do solo e distantes 30 m uma das outras (Bacca *et al.*, 2006). Cada armadilha continha um piso adesivo e a isca (pastilha ou septo de borracha) foi colocada em seu centro. As armadilhas foram vistoriadas semanalmente para retirada dos machos capturados durante 30 dias em Viçosa, 35 dias em Patrocínio e 35 dias em Pereira.

Em Viçosa e Chinchiná, foram testadas pastilhas contendo 500 μg de SS, SR, RR, RS e C15-2, com cinco repetições por tratamento.

Em Patrocínio, foram testadas pastilhas contendo 500 μg de SS, SR, RR, RS, C15-1 e C15-2. Ainda testou-se septos de borracha contendo 200 μg de C15-3 e uma mistura contendo 200 μg de C15-3 e 20 μg de C16 (C15,C16). Cada tratamento foi repetido dez vezes.

3.4 Análises estatísticas

As médias do número de insetos capturados por armadilha por semana em cada tratamento foram analisadas através de Modelos Lineares Generalizados (GLM) com distribuição de erros quasi-poisson. Foi feito um teste de Chi-quadrado seguido de uma análise de contraste para saber quais médias diferiam entre si (Crawley, 2007). Todas as análises foram realizadas no programa estatístico R (R Development Core Team, 2011).

4 Resultados

Em Viçosa, armadilhas contendo a mistura racêmica de 5,9-dimetilpentadecano (C15-2) capturaram mais machos que armadilhas contendo os isômeros ($gl = 4$, $\chi^2 = 17.582$, $P < 0.001$)(Figura 3). Analisando somente a captura pelos isômeros, RS capturou mais machos que os outros isômeros e o controle ($gl = 3$, $\chi^2 = 7.8254$, $p = 0.006$)(Figura 4).

Em Patrocínio, armadilhas contendo C15-2, C15-3 e C15,C16 capturaram mais machos que os outros tratamentos ($gl = 7$, $\chi^2 = 61.78$, $p < 0.001$)(Figura 5). RS capturou mais machos que os outros isômeros ($gl = 3$, $\chi^2 = 19.133$, $p = 0.0018$)(Figuras 5 e 6).

Em Chinchiná, armadilhas contendo C15-2 capturaram mais machos que as que continham isômeros ($gl = 4$, $\chi^2 = 11.435$, $p < 0.001$)(Figura 7). SS, RR e RS capturaram mais machos que SR ($gl = 3$, $\chi^2 = 7.419$, $p = 0.0053$).

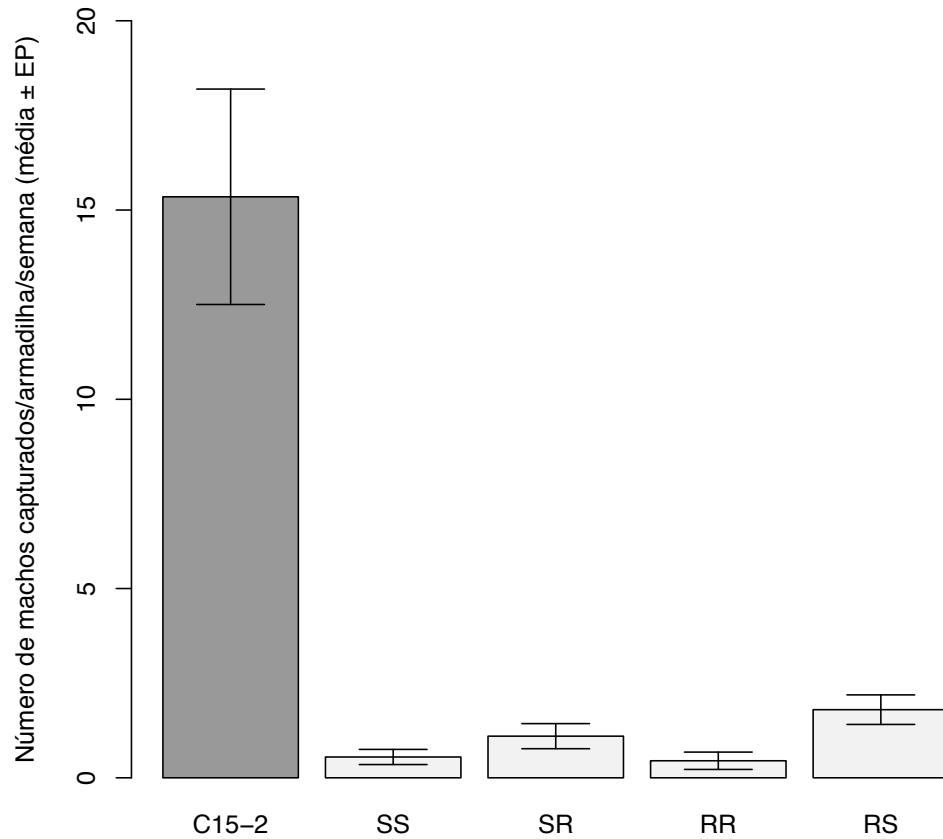


Figura 3: Machos de *Leucoptera coffeella* capturados em armadilhas Delta contendo 5,9-dimetilpentadecano (C15-2) e seus isômeros em Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Médias de mesma cor não diferem estatisticamente entre si (Chi-quadrado seguido de Análise de Contraste, $p < 0.001$). EP = Erro Padrão.

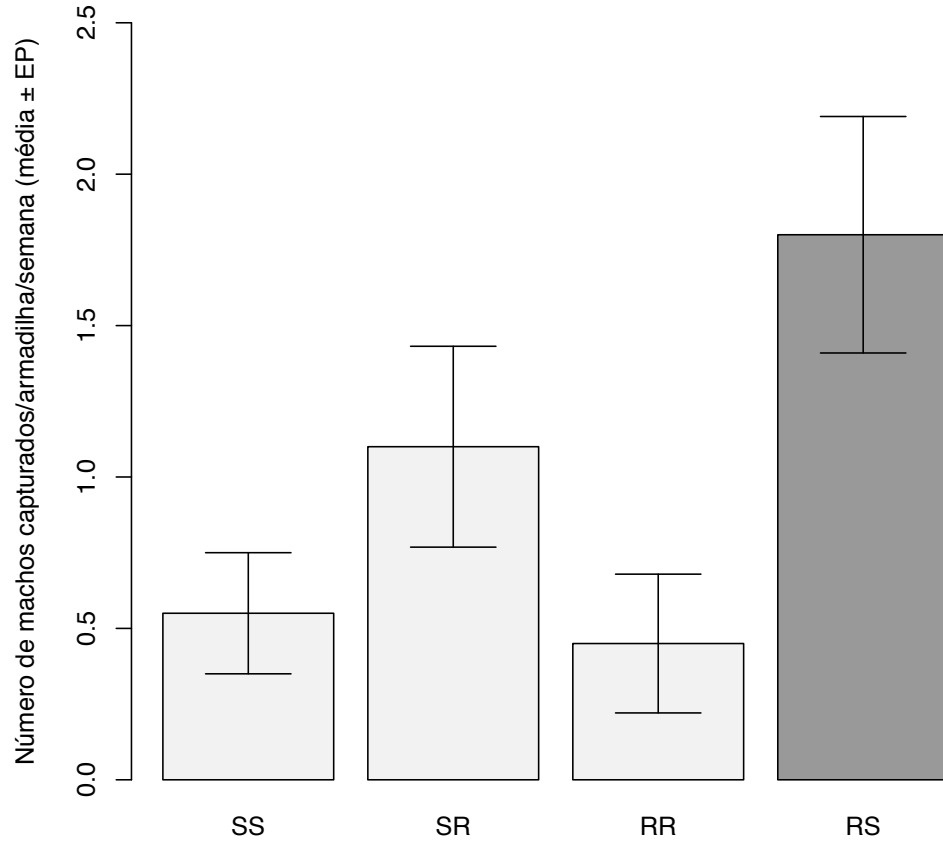


Figura 4: Machos de *Leucoptera coffeella* capturados em armadilhas Delta contendo isômeros de 5,9-dimetilpentadecano em Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Médias de mesma cor não diferem estatisticamente entre si (Chi-quadrado seguido de Análise de Contraste, $p = 0.006$). EP = Erro Padrão.

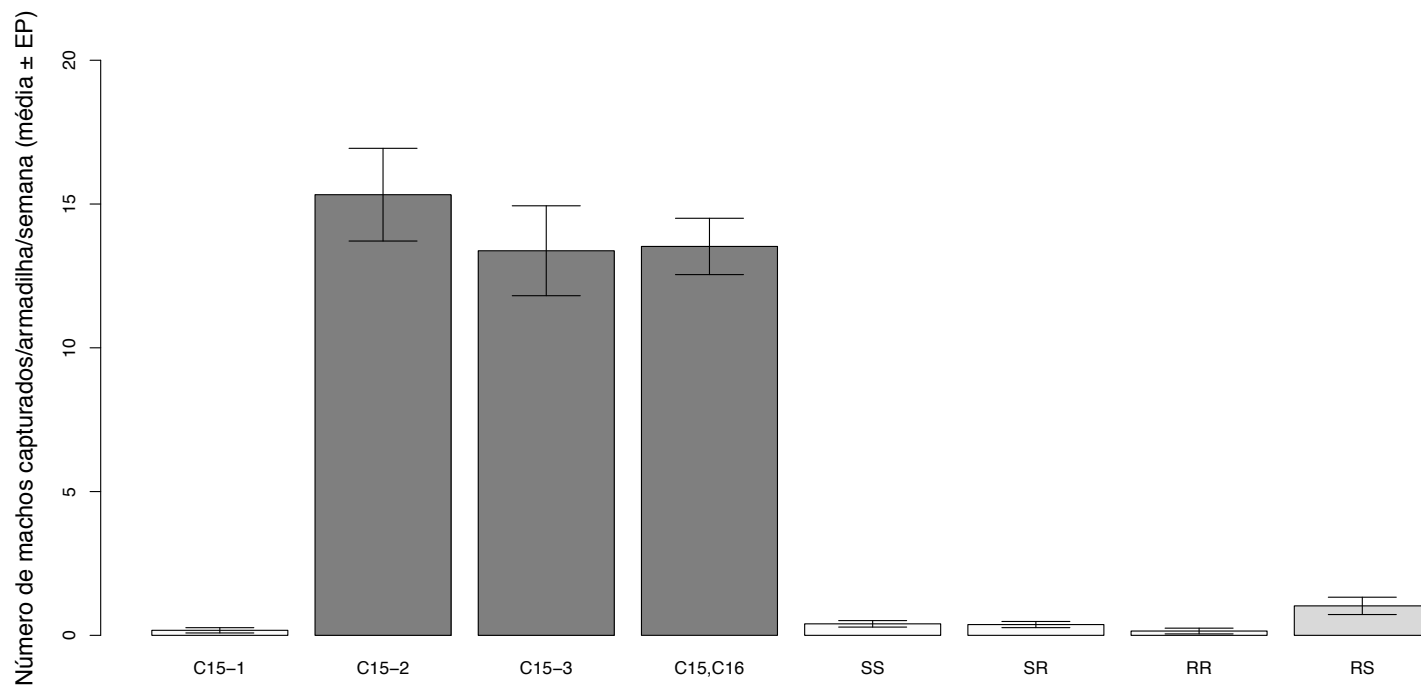


Figura 5: Machos de *Leucoptera coffeella* capturados em armadilhas Delta contendo diferentes sínteses de 5,9-dimetilpentadecano (C15-1,C15-2,C15-3) e seus isômeros e uma mistura de C15-3 e 5,9-dimetilhexadecano (C15,C16) em Patrocínio, Minas Gerais, Brasil. Médias de mesma cor não diferem estatisticamente entre si (Chi-quadrado seguido de Análise de Contraste, $p < 0.001$). EP = Erro Padrão

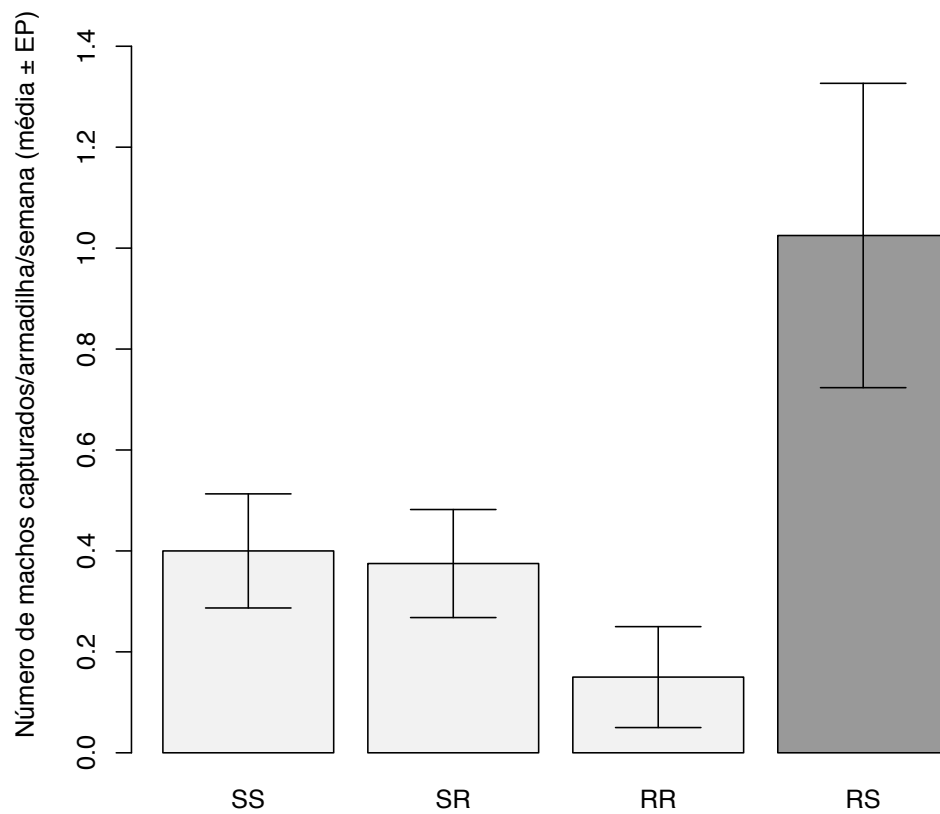


Figura 6: Machos de *Leucoptera coffeella* capturados em armadilhas Delta contendo isômeros de 5,9-dimetilpentadecano em Patrocínio, Minas Gerais, Brasil. Médias de mesma cor não diferem estatisticamente entre si (Chi-quadrado seguido de Análise de Contraste, $p = 0.0018$). EP = Erro Padrão.

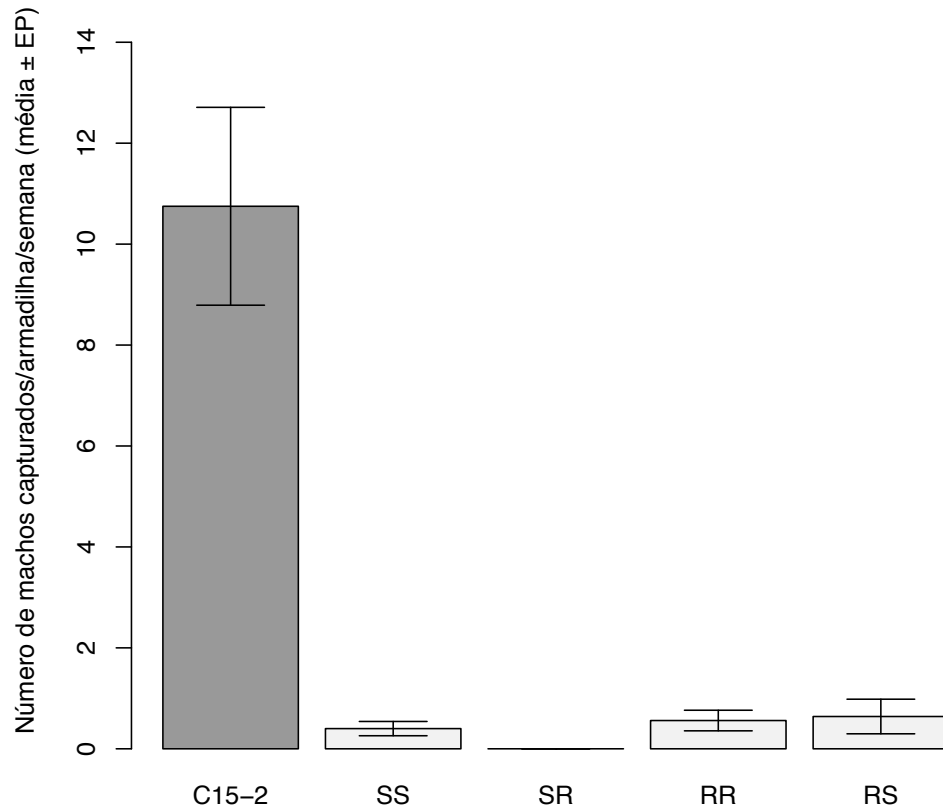


Figura 7: Machos de *Leucoptera coffeella* capturados em armadilhas Delta contendo 5,9-dimetilpentadecano (C15-2) e seus isômeros em Chinchiná, Caldas, Colômbia. Médias de mesma cor não diferem estatisticamente entre si (Chi-quadrado seguido de Análise de Contraste, $p < 0.001$). EP = Erro Padrão.

5 Discussão

Compostos minoritários extraídos de glândulas de feromônio muitas vezes aumentam a eficiência do composto majoritário, sendo então, parte da mistura feromonal. 5,9-dimetilhexadecano, composto minoritário presente na glândula de feromônio de fêmeas de *L. coffeella* (Francke *et al.*, 1988), não exerceu efeito algum sobre a captura de machos por meio de armadilhas. Dessa forma, esse composto não deve ser considerado como parte do feromônio sexual de *L. coffeella*.

Das três diferentes sínteses testadas, C15-2 e C15-3 tiveram a maior atração a machos, não diferindo entre si. Portanto, também não houve diferença entre os liberadores utilizados (pastilha e septo de borracha, respectivamente); aspecto importante que deve ser levado em conta, não apenas pelos parâmetros físicos envolvidos no processo de liberação do feromônio, mas também pelos custos envolvidos em sua produção. Formas de se baratear a aplicação desses compostos devem sempre ser almejadas. Armadilhas contendo a síntese C15-1 tiveram desempenho igual às armadilhas controle. Uma explicação para isso seria uma possível decomposição do composto, gerando subprodutos que afetariam a atração de machos. Møttus *et al.* (1997) observaram que iscas contendo 50% de produtos de decomposição do feromônio sexual de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) prejudicaram a atração a machos em armadilhas. Fatores que afetam a pureza de compostos químicos podem ocorrer com frequência (Armarego & Chai, 2009) e a análise desse composto em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massa ajudará a entender o porquê desse resultado.

Em ambas as regiões amostradas, misturas racêmicas de 5,9-dimetilpentadecano atraíram mais machos de *L. coffeella* que seus isômeros

individuais. Esse resultado coincide com o encontrado por Lima (2001) em Patrocínio. No entanto, quando analisados somente a captura obtida pelas armadilhas contendo isômeros, RS se destaca como o isômero que mais atrai machos, contrastando com os resultados de testes comportamentais e fisiológicos encontrados por Lima (2001). Em seu trabalho, foi observado que o isômero SS produzia as maiores respostas em eletroanténografo e túnel de vento. Apesar dos resultados parcialmente divergentes, os dois trabalhos reforçam a ideia de que fêmeas de *L. coffeella* produziriam uma mistura binária ou ternária de isômeros de 5,9-dimetilpentadecano que atuariam em sinergia (Lima, 2001), semelhante ao que ocorre em alguns insetos (Mori, 1998).

É comum a ocorrência de variação geográfica intraespecífica do feromônio sexual, principalmente em mariposas (Cardé *et al.*, 1975; McElfresh & Millar, 2001; El-Sayed *et al.*, 2003; Batista-Pereira *et al.*, 2006; Cortés *et al.*, 2010). A descoberta de distinções entre esses compostos é fundamental para que se faça um uso correto do feromônio em programas de manejo em diferentes populações. Pelo presente trabalho, não há evidências da ocorrência de variação geográfica no feromônio de populações do bicho-mineiro de Viçosa e Patrocínio. Apesar da grande distância entre essas duas regiões, não deve haver uma barreira de isolamento geográfico consistente entre elas, sendo que este é o primeiro passo para que se desenvolva mecanismos de isolamento reprodutivo em alopatria (Ridley, 2006). As regiões produtoras de café em Minas Gerais são próximas umas das outras, e talvez funcionem como uma ponte entre pontos distantes, o que diminuiria o isolamento entre populações, permitindo fluxo gênico. Apesar disso, há evidências de que ocorra variação geográfica do feromônio entre populações de Minas Gerais e populações do bicho-mineiro no México. Nesse país, machos são mais atraídos por armadilhas contendo o isômero SR (Malo *et al.*, 2009) em vez do isômero RS, relatado neste trabalho. Contudo, não se pode afirmar que há isolamento reprodutivo entre as populações.

O modo como os feromônios evoluem, sofrendo modificações entre indivíduos da mesma espécie e levando ao isolamento reprodutivo pré-copulatório, tem sido alvo de estudos há várias décadas. Por muito tempo acreditou-se que haveria uma forte seleção no sentido de manterem os feromônios estáveis dentro da espécie, visto a alta especificidade desses compostos (Glover *et al.*, 1990). Tanto a sinalização quanto a recepção do feromônio teriam que evoluir simultaneamente para que novos sistemas de comunicação química se estabelecessem. Mudanças adaptativas ocorreriam de forma gradual, com pequenas modificações, e a coadaptação entre machos e fêmeas teria que se reestabelecer a cada passo (Paterson, 1985). Outra alternativa a essa hipótese seria de que a sinalização e a resposta estariam ligados geneticamente por meio de, por exemplo, pleiotropia, onde um gene influencia mais de uma característica fenotípica. Caracteres que influem na adaptação ecológica estariam geneticamente correlacionados com os caracteres que influem no isolamento pré-zigótico (Ridley, 2006). No entanto, não há evidências de que isso ocorra nos genes relacionados com a produção e recepção de sinais químicos (Phelan, 1992).

O modelo de evolução da comunicação química em mariposas mais aceito foi proposto por Phelan (1992), sendo conhecido como “Rastreamento Assimétrico”. Segundo seu autor, “o termo é utilizado para enfatizar a visão de que sistemas de sinalização raramente estarão sob forte seleção mutuamente estabilizadora”, ou seja, a seleção do sinal químico e da resposta será assimétrica. Basicamente, prediz-se que a produção de feromônio estará sobre fraca seleção e sua evolução ocorrerá principalmente ao acaso e machos raros que possuísem uma amplitude maior de respostas em seus quimiorreceptores iriam rastrear esses novos compostos. As mudanças ocorreriam então de forma saltacional, não gradual. Roelofs *et al.* (2002) encontraram indícios na natureza que validam esse modelo. Foi evidenciado que um evento saltacional ocorreu em uma população ancestral de mariposas do gênero *Ostrinia*, levando ao surgimento da espécie *O. furnacalis*. Um gene não expresso ligado à produção de certa desaturase, enzima participante da biossíntese de

feromônios, passou a ser expresso em alguns indivíduos ancestrais, mudando a conformação de seu feromônio. A prova de que alguns machos raros rastream esse novo feromônio veio de experimentos onde alguns machos de *O. nubilalis* eram atraídos tanto por seu como pelo feromônio de *O. furnacalis* (Roelofs *et al.*, 2002). Desse modo, alterações na atividade de qualquer enzima são capazes de causar significantes mudanças evolutivas na mistura feromonal emitida (Baker, 2002).

É provável que esse mesmo modo de evolução tenha ocorrido na diferenciação dos feromônios sexuais da família Lyonetiidae. *Lyonetia prunifoliella*, *Leucoptera malifoliella* e *Lyonetia clerkella* são lionetiídeos que têm como hospedeiro árvores frutíferas da Europa e Ásia. Os feromônios dessas espécies e de *L. coffeella* são estruturalmente muito semelhantes, sendo hidrocarbonetos contendo um ou dois grupos metila em posições equivalentes (Gries *et al.*, 1997; Francke *et al.*, 1987; Sugie & Tamaki, 1984). Mas, diferente do encontrado no bicho-mineiro, o isômero SS (ou S, no caso de *L. clerkella*) leva a maiores capturas em armadilhas de feromônio para essas espécies (Park *et al.*, 2002; Sato *et al.*, 1985; Tóth *et al.*, 1989). Mutações em genes de lionetiídeos ancestrais devem ter levado à formação de novos feromônios por meio de acréscimo ou retirada de duplas ligações, grupos metila e carbonos da cadeia principal.

6 Conclusões

A determinação da proporção correta dos componentes do feromônio sexual de um inseto é de suma importância para a implantação de um programa de manejo utilizando-se estes compostos, dada a alta especificidade do sistema de comunicação química. A mistura feromonal produzida por fêmeas do bicho-mineiro ainda permanece uma incógnita, mas alguns avanços foram alcançados. 5,9-dimetilhexadecano não parece fazer parte dessa mistura, visto que não eliciou respostas em machos de *L. coffeella*. Do ponto de vista econômico é um resultado satisfatório, já que é um composto a menos a ser sintetizado para a composição da mistura. Pela resposta dos machos aos isômeros de 5,9-dimetilpentadecano, parece não haver diferença no feromônio produzido por fêmeas de Viçosa e de Patrocínio, mas haveria diferença em relação a fêmeas do México. No entanto, por não se tratar do feromônio completo, é preciso cautela ao se fazer qualquer suposição.

Experimentalmente, a mistura racêmica de 5,9-dimetilpentadecano vem sendo utilizada para estudos (Lima, 2001) e já existe inclusive um plano de amostragem por meio de armadilhas de feromônio contendo essa mistura (Bacca *et al.*, 2008), mas ainda não é utilizada em programas de manejo. Tóth *et al.* (1989) e Park *et al.* (2002) sugerem o uso de misturas racêmicas dos componentes principais dos feromônios de *L. malifoliella* e *L. prunifoliella*, respectivamente, em armadilhas de feromônio. Dependendo da proporção da mistura, não há diferença na captura de machos em relação ao isômero SS, tido como o produzido pela fêmea. A síntese de misturas racêmicas é mais fácil e mais barata, tornando-se vantajosa em relação à utilização de isômeros. É provável, então, que para *L. coffeella* seja vantajoso a utilização de misturas racêmicas mesmo quando a mistura feromonal correta for elucidada.

Experimentos fisiológicos e comportamentais com misturas de isômeros de 5,9-dimetilpentadecano podem esclarecer como é a mistura produzida pelo bicho-mineiro. Além disso, análises do genótipo de populações nas variadas regiões produtoras de café por meio de técnicas moleculares seria uma forma mais confiável de se avaliar diferenças entre elas.

7 Referências

- Anderbrant, O.; Löfqvist, J.; Hedenström, E.; Bang, J.; Tai, A. & Högborg, H. (2010). Field response of male pine sawflies, *Neodiprion sertifer* (Diprionidae), to sex pheromone analogs in Japan and Sweden. *Journal of Chemical Ecology*, 36, 969–977.
- Ando, T.; Inomata, S. & Yamamoto, M. (2004). Lepidopteran sex pheromones. *Topics in Current Chemistry*, 239, 51–96.
- Armarego, W. L. F. & Chai, C. L. L. (2009). *Purification of Laboratory Chemicals*. Butterworth–Heinemann, 6th ed.
- Bacca, T.; Lima, E. R.; Picanço, M. C.; Guedes, R. N. C. & Viana, J. H. M. (2006). Optimum spacing of pheromone traps for monitoring the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 119, 39–45.
- Bacca, T.; Lima, E. R.; Picanço, M. C.; Guedes, R. N. C. & Viana, J. H. M. (2008). Sampling plan for the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* with sex pheromone traps. *Journal of Applied Entomology*, 132, 430–438.
- Baker, T. C. (2002). Mechanism for saltational shifts in pheromone communication systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 13368–13370.

- Barrera, J. F. (2008). *Encyclopedia of Entomology*, Springer, chap. Coffee pests and their management. pp. 961–998.
- Batista-Pereira, L. G.; Stein, K.; Paula, A. F. D.; A., J.; Cruz, I.; Figueiredo, M. L. C.; Jr., J. P. & Corrêa, A. G. (2006). Isolation, identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone of the brazilian population of *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Chemical Ecology*, 32, 1085–1099.
- Bento, J. M. S. (2001). *Feromônios de Insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas*, Editora Holos. Ribeirão Preto, SP, chap. Fundamentos do monitoramento, da coleta massal e do confundimento de insetos-praga. 2nd ed., pp. 135–144.
- Bento, J. M. S. (2007). Feromônios. In: *Workshop tecnológico sobre pragas da cana-de-açúcar*.
- Butenandt, A.; Beckmann, R.; Stamm, D. & Hecker, E. (1959). Über den sexuallockstoff des seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und konstitutionsermittlung. *Z. Naturforsch*, 14b, 283–284.
- Byers, J. A. (2006). Pheromone component patterns of moth evolution revealed by computer analysis of the pherolist. *Journal of Animal Ecology*, 75, 399–407.
- Cardé, R. T. & Haynes, K. F. (2004). *Advances in Insect Chemical Ecology*, Cambridge University Press, Cambridge, chap. Structure of the pheromone communication channel in moths. pp. 283–332.
- Cardé, R. T.; Kochansky, J.; Stimmel, J. F.; Wheeler, A. G. & Roelofs, W. L. (1975). Sex pheromone of the european corn borer (*Ostrinia nubilalis*): cis- and trans- responding males in Pennsylvania. *Environmental Entomology*, 4, 413–414.
- Cortés, A. M. P.; Zarbin, P. H. G.; Takiya, D. M.; Bento, J. M. S. & A. S. Guidolin, F. L. C. (2010). Geographic variation of sex pheromone

and mitochondrial DNA in *Diatraea saccharalis* (Fab., 1794) (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Insect Physiology*, 56, 1624–1630.

Crawley, M. J. (2007). *The R Book*. Wiley.

Doan, N. N.; Le, T. N.; Nguyen, H. C.; Hansen, P. E. & Duus, F. (2007). Ultrasound assisted synthesis of 5,9-dimethylpentadecane and 5,9-dimethylhexadecane – the sex pheromones of *Leucoptera coffeella*. *Molecules*, 12, 2080–2088.

El-Sayed, A.; Delisle, J.; De Lury, N.; Gut, L.; Judd, G.; Legrand, S.; Reising, W.; Roelofs, W.; Unelius, C. & Trimble, R. (2003). Geographic variation in pheromone chemistry, antennal electrophysiology, and pheromone-mediated trap catch of north american populations of the obliquebanded leafroller. *Environmental Entomology*, 32, 470–476(7).

FAO (2008). Faostat: agricultural data. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 27/08/2010.

Fragoso, D. B.; Guedes, R. N. C.; Picanço, M. C. & Zambolim, L. (2002). Insecticide use and organophosphate resistance in the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). *Bulletin of Entomological Research*, 92, 203–212.

Francke, W.; Franke, S.; Tóth, M.; Szöcs, G.; Guerin, P. & Arn, H. (1987). Identification of 5,9-dimethylheptadecane as a sex pheromone of the moth *Leucoptera scitella*. *Naturwissenschaften*, 74, 143–144.

Francke, W.; Tóth, M.; Szocs, G.; Krieg, W.; Ernest, H. & Buschmann, E. (1988). Identification and synthesis of dimethylalkanes as sex attractants of female leaf miner moths. *Z. Naturforsch*, 43c, 787–789.

Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira-Neto, S.; Carvalho, R. P. L.; Baptista, G. C.; Berti-Filho, E.; Parraand, J. R. P.; Alves, S. B.; Vendramin, J. D.; Marchini,

L. C.; Lopes, J. R. S. & Omoto, C. (2002). *Manual de Entomologia Agrícola*. Piracicaba: FEALQ.

Glover, T.; Campbell, M.; Robbins, P. & Roelofs, W. (1990). Sex-linked control of sex pheromone behavioral responses in european corn-borer moths (*Ostrinia nubilalis*) confirmed with TPI marker gene. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 15, 67–77.

Goldsmith, M. R. & Marec, F. (2010). *Molecular Biology and Genetics of the Lepidoptera*. CRC Press.

Gries, R.; Gries, G.; King, G. G. S. & Maier, C. T. (1997). Sex pheromone components of the apple leafminer *Lyonetia prunifoliella*. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1119–1130.

ICO (2011). International Coffee Organization. Trade statistics. Disponível em: <<http://www.ico.org/prices/po.htm>>. Acesso em: 30/06/2011.

Iwaki, S.; Marumo, S.; Saito, T.; Yamada, M. & Katagiri, K. (1974). Synthesis and activity of optically active disparlure. *Journal of the American Chemical Society*, 96, 7842–7844.

Karlson, P. & Lüscher, M. (1959). Pheromones: A new term for a class of biologically active substance. *Nature*, 183, 55–56.

Klun, J. A. & Huettell, M. D. (1988). Genetic regulation of sex pheromone production and response: interaction of sympatric pheromonal types of the european corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Chemical Ecology*, 14, 2047–2061.

Kuwahara, S.; Liang, T.; Leal, W. S.; Ishikawa, J. & Kodama, O. (2000). Synthesis of all four possible stereoisomers of 5,9-dimethylpentadecane, the major sex pheromones component of the coffee leaf miner moth, *Perileucop-
tera coffeella*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64, 2723–2726.

Liang, T.; Kuwahara, S.; Hasegawa, M. & Kodama, O. (2000). Simple synthesis of 5,9-dimethylated long-chain alkanes, the sex pheromones of leaf miner moths. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64, 2474–2477.

Lima, E. R. (2001). *Feromônio Sexual do Bicho-mineiro do Café Leucoptera coffeella: Avaliação Para Uso em Programas de Manejo Integrado*. Tese de doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 71p.

Linn, C. E.; Musto, C. J. & Roelofs, W. L. (2007). More rare males in Ostrinia: response of asian corn borer moths to the sex pheromone of the european corn borer. *Journal of Chemical Ecology*, 33, 199–212.

Malo, E. A.; Rojas, J. C.; Lopez-Guillen, G. & Barrera, J. F. (2009). Chemical analysis of female volatiles and field response of the coffee leafminer moth (Lepidoptera: Lyonetiidae) to stereoisomers of its major sex pheromone component. *Florida Entomologist*, 92(4), 548–593.

Matthews, R. W. & Matthews, J. R. (2010). *Insect Behavior*. Springer Science+Business Media B.V., 2nd ed.

McElfresh, J. S. & Millar, J. G. (2001). Geographic variation in the pheromone system of the saturniid moth *Hemileuca eglanterina*. *Ecology*, 82, 3505–3518.

Moreira, J. A. & Corrêa, A. G. (2003). Enantioselective synthesis of three stereoisomers of 5,9-dimethylpentadecane, sex pheromone component of *Leucoptera coffeella*, from (-)-isopulegol. *Tetrahedron: Asymmetry*, 14, 3787–3795.

Mori, K. (1974). Synthesis of exo-brevicomin, the pheromone of western pine beetle, to obtain optically active forms of known absolute configuration. *Tetrahedron*, 30, 4223–4227.

Mori, K. (1998). Chirality and insect pheromones. *Chirality*, 10, 578–586.

- Mori, K. (2008). Synthesis of the (5S,9R)-isomer of 5,9-dimethylpentadecane, the major component of the female sex pheromone of the coffee leaf miner moth, *Leucoptera coffeella*. *Tetrahedron: Asymmetry*, 19, 857–861.
- Môttus, E.; Nômm, V.; Williams, I. H. & Liblikas, I. (1997). Optimization of pheromone dispensers for diamondback moth *Plutella xylostella*. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 2145–2159.
- Park, J. H.; Han, K. S.; Mori, K. & Boo, K. S. (2002). Right stereoisomers for sex pheromone components of the apple leafminer, *Lyonetia prunifoliella*, in Korea. *Journal of Chemical Ecology*, 28, 2515–2525.
- Paterson, H. E. H. (1985). *Species and Speciation*, Transvaal Museum, chap. The recognition concept of species. pp. 21–29.
- Phelan, P. L. (1992). *Insect Chemical Ecology - An Evolutionary Approach*, Chapman & Hall, chap. Evolution of Sex Pheromone and The Role of Asymmetric Tracking. pp. 265–314.
- Poppe, L.; Novák, L.; Dévényi, J. & Szántay, C. (1991). Baker's yeast mediated synthesis of (5SR, 9S)-5,9-dimethyl-heptadecane and (5SR, 9S)-5,9-dimethyl pentadecane; the main sex-pheromone components of *Leucoptera scitella* and *Perileucoptera coffeella* enriched in 9S-isomers. *Tetrahedron Letters*, 32, 2643–2646.
- R Development Core Team (2011). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reis, P. R. & Souza, J. C. (1998). Manejo integrado das pragas do cafeeiro em Minas Gerais. *Informe Agropecuário*, 19, 17–25.
- Ridley, M. (2006). *Evolução*. Artmed, 3rd ed.

- Riley, R. G.; Silverstein, R. M. & Moser, J. C. (1974). Biological responses of *Atta texana* to its alarm pheromone and the enantiomer of the pheromone. *Science*, 183, 760–762.
- Roelofs, W. L.; Du, J. W.; Tang, H. X.; Robinson, P. S. & Eckenrode, C. J. (1985). Three european corn borer populations in New York based on sex pheromones and voltinism. *Journal of Chemical Ecology*, 11, 829–836.
- Roelofs, W. L.; Liu, W.; Hao, G.; Jiao, H.; Rooney, A. P. & Linn, C. E. (2002). Evolution of moth sex pheromones via ancestral genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 13621–13626.
- Sato, R.; Abe, N.; Sonnet, P.; Sugie, H. & Tamaki, Y. (1985). Biological activity of (R)- and (S)-14-methyl-1-octadecene, as the chiral component of the sex pheromone of the peach leafminer moth, *Lyonetia clerkella* Linné: (Lepidoptera: Lyonetiidae). *Applied Entomology and Zoology*, 20, 411–415.
- Souza, J. C. & Reis, P. R. (1992). Bicho–mineiro: biologia, danos e manejo integrado. Boletim técnico 37, EPAMIG, Belo Horizonte, Brazil.
- Sugie, H. & Tamaki, Y. (1984). Sex pheromone of the peach leafminer moth, *Lyonetia clerkella* Linné: isolation and identification. *Applied Entomology and Zoology*, 19, 323–330.
- Symonds, M. R. & Elgar, M. A. (2008). The evolution of pheromone diversity. *Trends in Ecology and Evolution*, 23, 220–228.
- Tóth, M.; Helmchen, G.; Leikauf, U.; Sziráki, G. & Szöcs, G. (1989). Behavioral activity of optical isomers of 5,9-dimethylheptadecane, the sex pheromone of *Leucoptera scitella* L. (Lepidoptera: Lyonetidae). *Journal of Chemical Ecology*, 15, 1535–1543.
- Willis, J. H.; Wilkins, A. S. & Goldsmith, M. R. (1995). *Molecular Model Systems in the Lepidoptera*, Cambridge University Press, Cambridge, chap. A brief history of Lepidoptera as model systems. pp. 1–20.

Witzgall, P.; Kirsch, P. & Cork, A. (2010). Sex pheromones and their impact on pest management. *Journal of Chemical Ecology*, 36, 80–100.

Wyatt, T. D. (2003). *Pheromones and Animal Behaviour: Communication by Smell and Taste*. Cambridge University Press, Cambridge.

Zarbin, P. H. G.; Princival, J. L.; Lima, E. R.; Santos, A. A.; Ambrogio, B. G. & Oliveira, A. R. M. (2004). Unsymmetrical double Wittig olefination on the syntheses of insect pheromones. Part 1: Synthesis of 5,9-dimethylpentadecane, the sexual pheromone of *Leucoptera coffeella*. *Tetrahedron Letters*, 45, 239–241.