

DESENVOLVIMENTO, REPRODUÇÃO E SOBREVIVÊNCIA DO BICUDO-DO-
ALGODOEIRO EM FUNÇÃO DO TIPO DE ALIMENTO

por

GUILHERME GOMES ROLIM

(Sob Orientação do Professor Jorge Braz Torres e Dr. Franklin Magliano da Cunha)

RESUMO

O bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) é a principal praga do algodoeiro no Brasil. Até o momento, é conhecido que no Brasil esta praga se reproduz apenas em estruturas frutíferas do algodoeiro. Assim, ele deve apresentar estratégias que favorecem a sua sobrevivência, especialmente, no período de entressafra. Este trabalho testou a hipótese que o alimento da larva influencia a história de vida do bicudo-do-algodoeiro, com adultos oriundos de botões florais, mais áptos à reprodução, enquanto aqueles oriundos de maçãs, mais áptos a sobrevivência. O desenvolvimento, a reprodução e a sobrevivência do bicudo-do-algodoeiro, bem como o desenvolvimento do sistema reprodutivo e conteúdo de açúcares, lipídios e proteínas totais, em adultos, oriundos de botão floral ou maçã foram determinados. Os resultados mostram que, independente do sexo e da origem dos parentais (emergidos de botões ou maçãs), insetos alimentados em maçãs do algodoeiro apresentam duração do desenvolvimento e peso de adultos 1,94x e 1,63x respectivamente superiores que aqueles alimentados em botão floral. Fêmeas alimentadas com folhas cotiledonares durante cinco dias e, posteriormente, confinadas em plantas de algodão com apenas botões florais ou maçãs, ovipositaram 1,92x mais em botões florais, independente da sua origem. Fêmeas oriundas de maçãs apresentaram ovariolos menores e com menor número de oócitos comparado às fêmeas de botões florais. A quantidade de

proteína e lipídios foi 1,52x e 2,1x superiores em fêmeas criadas com botões florais e maçãs de campo, respectivamente. Insetos oriundos de maçãs, tanto de casa-de-vegetação como de campo e, posteriormente, alimentados com pólen, viveram mais que adultos emergidos de botão floral e alimentados com folhas cotiledonares. Assim, podemos concluir que bicudos que alimentaram de maçãs atrasaram o desenvolvimento, são maiores, apresentaram maior longevidade e foram menos fecundos que aqueles desenvolvidos em botões florais e, portanto, mais áptos a sobrevivência corroborando com a hipótese proposta.

PALAVRAS-CHAVE: *Anthonomus grandis*, ecofisiologia, desenvolvimento, oviposição, acúmulo de reservas, sobrevivência.

REPRODUCTION AND DEVELOPMENT OF SURVIVAL BOLL WEEVIL DEPENDING ON
THE TYPE OF FOOD

by

GUILHERME GOMES ROLIM

(Under the Direction of Professor Jorge Braz Torres e Dr. Franklin Magliano da Cunha)

ABSTRACT

The boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), is the major cotton pest in Brazil. Up to date, it is known that boll weevil only fulfill development and reproduction feeding on fruiting bodies of cotton. Therefore, it needs to exhibit life strategies to support its survival during the off season periods. Thus, this work tested the hypothesis that the food source of the larvae plays important role life history of boll weevil with adults raised from flower buds more prone to reproduce; while those adults from bolls are more prone to survival. The developmental time, reproduction, adult survival, sugar, lipid, and protein contents in the body of boll weevil adults raised fed flower buds or bolls were determined. The results show that irrespective of the adult gender and origin (from flower buds or bolls), those insects fed cotton bolls exhibited delayed development and larger body size at rate of 1.94x and 1.63x greater than insects fed flower buds. Females reared with flower buds or bolls when caged on plants with only flower buds or only bolls, laid on average 1.92x more eggs on flower buds irrespective of the origin. Females fed bolls exhibited smaller ovarioles with lower number of oocytes compared to females fed flower buds. The amount of protein and lipid was 1.52x and 2.1x greater in females raised from flower buds and from bolls, respectively. Furthermore, adults emerged from larvae fed bolls, and after fed pollen at adult stage, lived longer than adults raised from flower buds. We

can conclude about our hypothesis that boll weevil fed bolls delayed its development, exhibited larger body size, lived longer and was less fecund than weevils fed flower buds and, therefore, more prone to survival than females raised from flower buds.

KEY WORDS: *Anthonomus grandis*, ecophysiology, development, oviposition, body reserve, survival.

DESENVOLVIMENTO, REPRODUÇÃO E SOBREVIVÊNCIA DO BICUDO-DO-
ALGODOEIRO EM FUNÇÃO DO TIPO DE ALIMENTO

por

GUILHERME GOMES ROLIM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da
Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro - 2014

DESENVOLVIMENTO, REPRODUÇÃO E SOBREVIVÊNCIA DO BICUDO-DO-
ALGODOEIRO EM FUNÇÃO DO TIPO DE ALIMENTO

por

GUILHERME GOMES ROLIM

Comitê de Orientação:

Jorge Braz Torres – UFRPE

Franklin Magliano da Cunha - PNP/DFRPE/CAPES

Christian Sherley Araújo da Silva Torres - PNP/DFRPE/CAPES

DESENVOLVIMENTO, REPRODUÇÃO E SOBREVIVÊNCIA DO BICUDO-DO-
ALGODOEIRO EM FUNÇÃO DO TIPO DE ALIMENTO

por

GUILHERME GOMES ROLIM

Orientadores:

Jorge Braz Torres - UFRPE

Franklin Magliano da Cunha - PNP/CAPE

Examinadores:

Christian S.A. da Silva Torres - PNP/CAPE

Marcos José Correia - UFRPE

DEDICATÓRIA

Eu dedico esse trabalho a meus pais Tiburcio Neto e Francinalda Aniceto Rolim, a meu irmão Gustavo Gomes Rolim e a meus avos Francisco de Sousa Rolim e Joana Aniceto Rolim (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre ter iluminado os meus caminhos e guiado os meus passos, sendo a minha força, auxílio e amparo.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola pela realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida e pelo suporte para a realização deste trabalho.

Aos meus pais pelo afago nas derrotas e pelos aplausos nas horas de vitória, sempre acreditando no meu potencial.

Ao professor Jorge Braz Torres pela orientação, paciência e experiências compartilhadas ao longo dessa caminhada.

Ao professor Reginaldo Barros pela amizade, incentivo, ensinamentos e conselhos tão valiosos em tempos de crise.

Ao professor José Vargas pela amizade e ensinamentos durante esse curso.

Ao Dr. Franklin Magliano da Cunha pela amizade, força, ensinamentos e participação ativa nas atividades experimentais.

A Dra. Christian S.A. Silva Torres pela participação e observações valiosas sobre o tema abordado no trabalho de dissertação.

Aos amigos Felipe, Paulo, Eduardo, Rodrigo, Jaconias, Roberio, Rogerio, Sibeli, Juliana, Bete, Fabiana, Maria Flavia e todos os amigos que me acompanharam nessa caminhada.

À Flaviana pela força, amizade, amor e principalmente por estar presente nas horas mais difíceis.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
LITERATURA CITADA	8
2 INFLUÊNCIA DA ALIMENTAÇÃO DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO EM NA REPRODUÇÃO E SOBREVIVÊNCIA	11
RESUMO	12
ABSTRACT	13
INTRODUÇÃO	14
MATERIAL E MÉTODOS	15
RESULTADOS	23
DISCUSSÃO	25
AGRADECIMENTOS	31
LITERATURA CITADA	31

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), está classificado na subfamília Anthonominae com 350 espécies registradas (Burke 1986). Esse inseto foi constatado pela primeira vez e descrito, posteriormente, a partir de espécimes coletados em Vera Cruz, no México. Informações anteriores mostram que este inseto foi citado pelo entomologista Francês L.A.A. Chevrolat em sua obra *Coleopteres Du Mexique*, publicada em 1834, mas sem estabelecer com precisão onde o inseto foi coletado (Braga Sobrinho & Lukefahr 1983).

O bicudo-do-algodoeiro foi encontrado nos Estados Unidos (Texas) em 1892. Em 1949, foi verificado na Venezuela, e em 1950, na Colômbia (Silva *et al.* 1995). No Brasil o bicudo-do-algodoeiro foi registrado pela primeira vez em Sorocaba e Campinas (SP) no mês de fevereiro em 1983 e em julho do mesmo ano foi encontrado nas lavouras do nordeste, precisamente no município de Ingá (PB) (Barbosa *et al.* 1983). Na região Centro-Oeste, o bicudo-do-algodoeiro foi constatado no Mato Grosso em junho de 1993 nos municípios de Mirassol D'Oeste e Cáceres. Em Goiás, a ocorrência foi detectada nos municípios de Itumbiara, Cachoeira Dourada, Inaciolândia e Panamá em maio de 1996 (Bastos *et al.* 2005). Atualmente, ele se encontra em todas as regiões produtoras de algodão do país, especialmente onde o algodão é cultivado continuamente durante três a quatro safras (Ramalho *et al.* 2001).

A metamorfose do bicudo-do-algodoeiro é completa passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto. As fêmeas depositam os ovos no interior dos botões florais e das maçãs do algodoeiro (Santos 1999). A oviposição é preferencialmente realizada nos botões florais do

algodoeiro quando atingem cerca de 6 mm de diâmetro (Showler & Cantú 2005). Os ovos são colocados isoladamente no botão floral, usualmente um a dois ovos por botão floral. Entretanto, pode ter muito mais devido a fêmea não discriminar botões atacados em altas densidades, pode depositar de 7 a 11 ovos por dia, atingindo em média 150 ovos por fêmea em 21 dias de fase adulta, e podem viver mais de 100 dias em condições de laboratório. Em condições de 25-27 °C, a eclosão da larva ocorre no terceiro dia após a oviposição. A larva possui três ínstars, sendo os dois primeiros com duração média de dois dias cada e o terceiro instar com duração média de quatro dias. O período pupal dura de quatro a seis dias quando, então, emergem os adultos. As fêmeas jovens precisam alimentar-se por três a cinco dias antes de iniciarem a oviposição e, no campo, podem ocorrer de cinco a sete gerações durante o ciclo da cultura do algodoeiro (Lloyd 1986).

O bicudo-do-algodoeiro é uma praga importante pelo fato de causar grandes perdas a cultura (Degrande 1998). Altas infestações podem ocasionar perdas na ordem de 85% da produção de fibras (Busoli *et al.* 1994). Além disso, é uma praga de difícil controle. No Brasil, o controle do bicudo-do-algodoeiro é feito principalmente através do uso de inseticidas organosintéticos tais como metidationa e fenitrothion (Agroft 2013). Nos Estados Unidos, onde a praga ocorre por mais de 100 anos e com pesquisas desenvolvidas para o seu controle, as únicas medidas que têm valor real contra a praga são o controle químico e o controle cultural (Knipling 1986). Entretanto, os inseticidas apresentam efeito local e passageiro, além de oferecerem o perigo de intoxicação direta como também através de resíduos (Beltrão & Azevedo 2008). A ampla utilização de inseticidas na cultura do algodão é uma das razões para diversos problemas como a mudança de status de espécies pragas, como pragas secundária ou de menor importância assumindo status de praga-chave devido a eliminação de inimigos naturais (Ruberson *et al.* 1994) e, inúmeros outros problemas de ordem econômica, social e ecológica (Suarez *et al.* 2000).

O potencial do bicudo-do-algodoeiro como praga se dá em consequência das perdas estarem relacionadas com o seu desenvolvimento nas partes reprodutivas e comerciais da planta – queda acentuada de botões florais e ataque de maçãs com abertura irregular do capulho (capulhos carimãs). Mesmo não havendo a queda precoce de maçãs, quando atacadas na fase intermediária de desenvolvimento, ocorre abertura irregular do capulho tornando difícil a colheita da pluma, gerando perdas diretas e significativas a produção. No Semiárido de Pernambuco e da Paraíba, o bicudo-do-algodoeiro causa redução na produtividade do algodão herbáceo que varia entre 54 a 87% (Almeida *et al.* 2008).

Além das injúrias diretas ocasionadas devido ao desenvolvimento no interior das estruturas reprodutivas, este comportamento torna o bicudo-do-algodoeiro parcialmente protegido dos métodos de controle. Devido a isso, são necessárias várias pulverizações na forma de baterias (i.e. seguidas pulverizações em curtos intervalos de tempo, usualmente cinco dias de intervalos, para controlar bicudos emergidos e antes de iniciarem a oviposição). Esta frequente aplicação é responsável por 50% das pulverizações direcionadas á lavoura de algodão (Richetti *et al.* 2004). Isso eleva os custos de produção, além de dificultar o manejo, devido a necessidade de pulverizações com inseticidas de largo espectro e não seletivos (Bastos & Torres 2006).

O crescimento populacional do bicudo-do-algodoeiro é favorecido por uma série de fatores inerentes à praga e ao agroecossistema. Quanto à praga, podemos citar o ciclo relativamente rápido, alta sobrevivência das fases imaturas no interior das estruturas de frutificação e capacidade de passar a entressafra em outros hospedeiros ou hibernando (Busoli *et al.* 1994, Gondim *et al.* 2001). O inseto, ao se desenvolver no interior das estruturas reprodutivas do algodoeiro, fica parcialmente protegido de inimigos naturais, das condições adversas do meio ambiente e da ação dos inseticidas (Busoli *et al.* 1994). Quanto ao agroecossistema, a fenologia da planta de algodão é longa com uma contínua produção de sítio de alimentação e desenvolvimento

(i.e., botões florais) que se inicia em torno dos 40 dias após o plantio e, podendo, produzir botões florais e maçãs até o final do ciclo que chega a 150 dias para a maioria das variedades. Outro fator que também tem grande influência na dinâmica populacional do bicudo-do-algodoeiro é a capacidade de sobreviver os períodos desfavoráveis ao desenvolvimento - entressafra seca e fria - assumindo um estado de diapausa reprodutiva para passar por este período (Brazzel & Newsom 1959). Nos Estados Unidos, o período de entressafra coincide com o início do outono, período pelo qual os bicudos ficam em estado de diapausa reprodutiva (Lloyd 1986). Na primavera do ano seguinte, essa população, saindo da diapausa, migra dos locais de refúgio (matas, bordaduras de lavouras, lavouras perenes, e etc.) para as lavouras de algodão (Showler & Abrigo 2007). Isso ocorre principalmente no início da produção de botões florais, cuja atração é muito intensificada pelo feromônio de agregação produzido pelos machos logo após se alimentarem das primeiras estruturas florais (Parajulee & Slosser 2001).

No Brasil, ainda é discutido se o bicudo-do-algodoeiro entra ou não em diapausa reprodutiva já que o país se localiza na zona subtropical do globo e acredita-se que ele não entra em diapausa reprodutiva nas regiões subtropicais (Showler 2009). Porém, recentemente, Paula *et al.* (2013) verificaram que a falta ou a inadequação alimentar pode causar uma supressão do desenvolvimento do aparelho reprodutor do bicudo-do-algodoeiro durante no período de entressafra no Centro-Oeste brasileiro, sendo essa apontada pelos autores como uma possível diapausa reprodutiva. Se ocorre a diapausa reprodutiva ou não, o inseto necessita apresentar modificações comportamentais e fisiológicas que favorecem a sua sobrevivência no período de entressafra. Uma delas seria o abandono das lavouras na sua fase final para áreas onde podem obter alimento alternativo (não permitem reprodução do bicudo) em plantas não hospedeiras como pólen (Ribeiro *et al.* 2010), bem como de frutos de outras culturas como laranja, cactus, e etc. (Showler & Abrigo 2007). Este deslocamento é favorecido pela capacidade de dispersão do

bicudo que pode chegar a 272 Km em poucos dias, a procura de alimento ou outros campos de algodão (Guerra 1988).

Os insetos também podem permanecer na área de cultivo alimentando-se de estruturas reprodutivas restantes ao final da safra, como maçãs e botões florais não comerciais. Como ocorre nas condições do Semiárido onde não há a destruição dos restos culturais, tornando possível a captura do bicudo-do-algodoeiro durante todo o ano (Neves 2013). Os poucos botões florais de final e entressafra existentes podem ter grande influência sobre a população remanescente de bicudos, sendo que fêmeas do bicudo, alimentadas exclusivamente com o interior de estruturas reprodutivas, tanto de botões florais de diâmetro médio ou grande tiveram longevidade média de 153,2 dias (Showler 2007). Este período equivale a entressafra, o que permite colonizar o cultivo subsequente. Embora, possa ocorrer uma baixa sobrevivência nessas condições de alimento subótimo e condições adversas de clima, um pequeno número de insetos sobreviventes é capaz de atingir altas populações durante a safra subsequente. Estudos mostram que cerca de 50 adultos que sobrevivem o período de entressafra serão suficientes para causar perdas consideráveis a um novo cultivo (Braga Sobrinho & Lukefahr 1983).

Quando as fêmeas se alimentam de botões florais grandes, ocorre um aumento de aproximadamente 3,8 vezes no número de fêmeas grávidas e 4,8 vezes mais ovos coriônicos por fêmea do que quando estas se alimentam de pequenos botões florais, maçãs brácteas (5 a 10 dias de idade), ou maçãs velhas (3 a 5 semanas de idade) (Showler 2004). Partes reprodutivas internas de maçãs pós-flor (1 a 2 dias após queda das pétalas) e maçãs jovens (5 a 10 dias de idade) proporcionam uma redução de 44% e 89% de fêmeas grávidas, respectivamente, quando comparado com o número de fêmeas grávidas alimentadas com estruturas reprodutivas contidas dentro de botões florais grandes. Quando a fonte de alimento são partes reprodutivas contidas em maçãs velhas não há ocorrência de fêmeas grávidas (Showler 2007).

Além do baixo aporte nutricional ofertado pelas maçãs, principalmente as mais velhas, existe uma maior dificuldade para a obtenção de alimento e oviposição nessas estruturas. Segundo Showler & Cantú (2008), adultos do bicudo-do-algodoeiro podem perfurar as cascas de botões florais, independentemente do tamanho, e com o rostro longo típico de Curculionidae, são capazes de se alimentarem de partes reprodutivas internas como o pólen. Contudo as, cascas das maçãs, além de mais duras, são 1,4 a 2,1 vezes mais espessas que cascas de botões florais grandes, o que dificulta tanto a alimentação quanto a abertura de pontos de oviposição (Showler 2007).

A redução na reprodução ocasionada quando as fêmeas do bicudo-do-algodoeiro se alimentam de maçãs pode estar relacionada com a baixa quantidade e/ou disponibilidade nessa estrutura, de aminoácidos essenciais como a cistina e metionina, sendo a cistina mais abundante na parte reprodutiva de botões florais médios e grandes, que quando usados como fonte de alimento proporcionam maior fecundidade das fêmeas (Showler 2008). Já a metionina, presente em maior quantidade na casca de botões florais grandes, proporciona uma longevidade média de 108 dias, em contraste com a longevidade média de 64 dias em tratamentos com ausência desse aminoácido essencial (Showler 2008). Além dos aminoácidos essenciais, outros nutrientes também são necessários para a reprodução e manutenção do sistema imunológico, incluindo minerais (Vanderzant 1965), lipídios (Vanderzant & Richardson 1964) e açúcares (Vanderzant & Davich 1961). Além desses, o ácido glutâmico e a glicina são citados como sendo as únicas fontes de nitrogênio para o organismo (Vanderzant 1963). No entanto, a deficiência de alguns aminoácidos essenciais pode ser compensado por os mesmos aminoácidos em forma ligada (por exemplo, em peptídios ou proteínas).

As proteínas são macromoléculas versáteis nos sistemas vivos e estão presentes nas funções cruciais de todos os processos biológicos, funcionando como catalisadores, transportadora e armazenadora de outras moléculas, tais como oxigênio e lipídios, fornecem apoio mecânico e

proteção imunológica, geram movimento, transmitem impulsos nervosos, e controlam o crescimento e diferenciação (Marzzoco & Torres 1999). Na reprodução dos insetos, as proteínas funcionam tanto como estruturas de estoque de nutrientes como também veículos transportadores de substâncias essenciais como lipídios, carboidratos e outros recursos para o sustento do embrião em desenvolvimento (Sappington & Raikhel, 1998; Aguirre *et al.* 2007). A maior parte das proteínas constituintes da reserva, ou gema, é produzida fora do ovário no corpo gorduroso. (Roth *et al.* 1976, Telfer *et al.* 1982).

Embora vários tipos de precursores protéicos sejam acumulados por oócitos de insetos, as vitelogeninas são os mais abundantes na maioria dos insetos (Aguirre *et al.* 2007). Vitelogeninas são fosfoglicolipoproteínas grandes que, uma vez absorvidas seletivamente pelos oócitos, são armazenadas como vitelina dentro dos grânulos de vitelo, até o início do desenvolvimento embrionário. Vitelogeninas, portanto, constituem o principal componente proteico dos ovos de insetos, suportando o desenvolvimento embrionário e, em alguns casos, o desenvolvimento precoce das larvas (Postlethwait & Giorgi 1985, Oliveira *et al.* 1989, Giorgi & Nordin 2005). Portanto, qualquer desequilíbrio nutricional, principalmente a falta de proteína na dieta de *A. grandis*, pode influenciar no transporte de lipídios e aminoácidos essenciais, impedindo assim que esses sejam absorvidos pelos oócitos e, como consequência, causando o não desenvolvimento dos ovariolos, bem como a redução da longevidade dos adultos.

Assim, este trabalho visou gerar informações que buscam esclarecer a influência da alimentação das larvas e dos adultos sobre o desenvolvimento, o status reprodutivo e a capacidade de sobreviver através de fontes alternativas de alimento disponíveis no período entressafra.

Literatura Citada

AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários). 2013. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.>, Acessado em: 10/11/2013

- Aguirre S.A., S. Frede, E.R. Rubiolo & L.E. Canavoso. 2007.** Vitellogenesis in the hematophagous *Dipetalogaster maxima* (Hemiptera: Reduviidae), a vector of Chagas' disease. *J. Insect Physiol.* 54: 393-402.
- Almeida, R.P., C.A.D. Silva & F.S. Ramalho. 2008.** Manejo integrado de pragas do algodoeiro no Brasil, p. 1035-1098. In N.E.M. Beltrão & D.M.P. Azevedo (eds.), *O agronegócio do algodão no Brasil*. Brasília, Embrapa, 1309p.
- Barbosa, S., R. Braga Sobrinho, M.J. Lukefahr & G.O. Beingolea. 1983.** Relatório sobre a ocorrência do bicudo do algodoeiro *Anthonomus grandis* Boheman, "Boll weevil", no Brasil e recomendações sobre sua erradicação. Campina Grande, EMBRAPA-CNPA, 12p.
- Bastos, C.S. & J.B. Torres. 2006.** Controle biológico e o manejo integrado de pragas do algodoeiro. 2.ed. Campina Grande, Embrapa Algodão, 63p. (Circular Técnica, 72).
- Braga Sobrinho, R. & M.J. Lukefahr. 1983.** Bicudo (*Anthonomus grandis* Boheman): nova ameaça à cotonicultura brasileira; biologia e controle. Campina Grande, EMBRAPA-CNPA, 32p.
- Brazzel, J. R. & L. D. Newsom. 1959.** Diapause in *Anthonomus grandis* Boh. *J. Econ. Entomol.* 52: 603-611.
- Burke, H.R. 1986.** Situação taxonômica do bicudo do algodoeiro no Brasil e em outras áreas da América do Norte e do Sul, p. 89-134. In S. Barbosa, M.J. Lukefahr, & R.B. Sobrinho (eds.), *O bicudo-do-algodoeiro*. Brasília, EMBRAPA-DDT, 314p.
- Busoli, A.C., J.J. Soares & F.M. Lara. 1994.** O bicudo do algodoeiro e seu manejo. Jaboticabal, Funep, 32p.
- Degrande, P.E. 1998.** Guia prático de controle de pragas do algodoeiro. Dourados, UFMS, 60p.
- Giorgi, F. & J.H. Nordin. 2005.** Biochemical and ultrastructural aspects of vitellin utilization during embryogenesis. *Reprod. Biol. Invertebr.* 12: 355-391.
- Gondim, D.M.C., J-L. Belot, P. Silvie & N. Petit. 2001.** Manual de identificação das pragas, doenças, deficiências minerais e injúrias do algodoeiro no Brasil. Boletim Técnico, 33. Cascavel, COODETEC, 120p.
- Guerra, A.A. 1988.** Seasonal boll weevil movement between northeastern Mexico and the Rio Grande Valley of Texas, USA. *Southwest. Entomol.* 13: 261-271.
- Knipling, E.F. 1986.** Tecnologia disponível para a erradicação ou manejo do bicudo do algodoeiro, p. 201-220. In: M.J. Lukefahr & R.B. Sobrinho (eds.), *O Bicudo do Algodoeiro*. Embrapa: Departamento de Difusão Tecnológica Documentos 4, 314p.
- Lloyd, E.P. 1986.** Ecologia do bicudo-do-algodoeiro, p. 135-144. In S. Barbosa, M.J. Lukefahr & R.B. Sobrinho (eds.), *O bicudo-do-algodoeiro*. Brasília, EMBRAPA-DDT, 314p.

- Marzzoco, A. & B.B. Torres. 1999.** Bioquímica básica. 2a. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 360p.
- Neves, R.C.S. 2013.** Práticas alternativas para detecção e controle do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* BOH. (Coleoptera: Curculionidae). Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 99p.
- Oliveira, P.L., Petretski, M.D.A. & H. Masuda. 1989.** VT processing and degradation during embryogenesis in *R. prolixus*. Insect Biochem. 19: 489–498.
- Parajulee, M.N. & J.E. Slosser. 2001.** Effect of ethephon on efficacy of grandlure-baited pheromone traps in surveying fall and spring populations of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). Environ. Entomol. 30: 64-69.
- Paula, D.P., D. Claudino, R.V. Timbó, J.E. Miranda, M.P. Bemquerer, A.C.J. Ribeiro, E.R. Sujii, E.M.G. Fontes & C.S.S. Pires. 2013.** Reproductive dormancy in boll-weevil from populations of the Midwest of Brazil. J. Econ. Entomol. 106: 86-96.
- Postlethwait, J.H. & F. Giorgi 1985.** Vitellogenesis, p. 85-136. In L.W. Browder (ed.), Developmental Biology. New York, Plenum Press, 644p.
- Ramalho, F.S., R.S. Medeiros & W.P. Lemos. 2001.** Bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae), p. 113-119. In E.F. Vilela, R.A. Zucchi & F. Cantor (eds.), Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil. Ribeirão Preto, Holos, 173p.
- Ribeiro, P.A., E.R. Sujii, I.R. Diniz, M.A. Medeiros, M.L. Salgado-Laboriau, M.C. Branco, C.S.S. Pires & E.M.G. Fontes. 2010.** Alternative food sources and overwintering feeding behavior of the boll weevil, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) under the tropical conditions of Central Brazil. Neotrop. Entomol. 39: 28-34.
- Richetti, A., G.A. Melo Filho, F.M. Lamas, L.A. Staut & A.C. Fabrício. 2004.** Estimativa do custo de produção de algodão, safra 2004/05, para Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. Dourados, Embrapa Pecuária Oeste, 16p.
- Roth, T.F., J.A. Cutting & S.B. Atlas. 1976.** Protein transport: a selective membran mechanism. J. Supramol. Struct. 4: 527–548.
- Ruberson, J.R., G.A. Herzog, W.R. Lambert & W.J. Lewis. 1994.** Management of the beet armyworm in cotton: role of natural enemies. Fl. Entomol. 77: 440-453.
- Santos, W.J. 1999.** Monitoramento e controle das pragas do algodoeiro, p. 133-179. In E. Cia, E.C. Freire & W.J. Santos (eds.), Cultura do algodoeiro. Piracicaba, Potafós, 286p.
- Sappington, T.W., A.S. Raikhel, 1998.** Molecular characteristics of insect vitellogenins and vitellogenin receptors. Insect Biochem. Mol. Biol. 28: 277–300.
- Showler, A.T. 2004.** Influence of cotton fruit stages as food sources on boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) fecundity and oviposition J. Econ. Entomol. 97: 1330-1334.

- Showler, A.T. 2007.** Longevity and fecundity of adult boll weevils (Coleoptera: Curculionidae) fed exclusively on different parts of cotton squares and bolls. *Entomol. Exp. Appl.* 53: 240-249.
- Showler, A.T. 2008.** Relationships of abscised cotton fruit to boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) feeding, oviposition, and development. *J. Econ. Entomol.* 101: 68-73.
- Showler, A.T. 2009.** Roles of host plants in boll weevil range expansion beyond tropical Mesoamerica. *Am. Entomol.* 55: 234-242.
- Showler, A.T. & R.V. Cantú. 2005.** Intervals between boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) oviposition and square abscission, and development to adulthood in Lower Rio Grande Valley, Texas, field conditions. *Southwest. Entomol.* 30: 161-164.
- Showler, A.T. & V. Abrigo. 2007.** Common subtropical and tropical nonpollen food sources of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.* 36: 99-104.
- Showler, A.T. & R.V. Cantú. 2008.** Effect of adult boll weevil feeding on cotton squares. Beltwide Cotton Conference, Proc. Natl. Cotton Council, Memphis, TN, USA (CD-Rom).
- Silva, N.M., L.H. Carvalho, E. Cia, M.G. Fuzatto, E.J. Chiavegato & L.R.F. Alleoni. 1995.** *Seja o doutor do seu algodoeiro*. Piracicaba, Potafós, 26p.
- Suarez, O.P., J.A. Larson & B.C. English. 2000.** Economic impacts of the boll weevil eradication program in West Tennessee. Tennessee Agricultural Experiment Station, Knoxville, Report 00-13, 98p.
- Telfer WH, E. Huebner & D.S Smith. 1982.** The cell biology of vitellogenic follicles in *Hyalophora* and *Rhodnius*, p. 118-149 In R.C. King & H. Akai (eds), *Insect ultrastructure*, vol. 1, New York, Plenum Press, 508p.
- Vanderzant, E.S. 1963.** Nutrition of the adult boll weevil: oviposition on defined diets and amino acid requirements. *J. Insect Physiol.* 9: 683-691.
- Vanderzant, E.S. 1965.** Axenic rearing of the boll weevil on defined diets: amino acid, carbohydrate and mineral requirements. *J. Insect Physiol.* 11: 659-670.
- Vanderzant, E.S. & T.B. Davich. 1961.** Artificial diets for the adult boll weevils and techniques for obtaining eggs. *J. Econ. Entomol.* 54: 923-928.
- Vanderzant, E.S. & C.D. Richardson. 1964.** Nutrition of the adult boll weevil: lipid requirements. *J. Insect Physiol.* 10: 267-272.

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA DA ALIMENTAÇÃO NA REPRODUÇÃO E SOBREVIVÊNCIA DO BICUDO- DO-ALGODOEIRO¹

GUILHERME G. ROLIM

Departamento de Agronomia – Entomologia, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois
Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

¹Rolim, G.G. Influência da alimentação na reprodução e sobrevivência do bicudo-do-algodoeiro. A ser submetido.

RESUMO – O bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) completa o seu desenvolvimento apenas em estruturas frutíferas do algodoeiro. O presente trabalho testou a hipótese de que o alimento utilizado exerce importante papel na história de vida do bicudo-do-algodoeiro, sendo que os adultos oriundos de botão floral são mais áptos à reprodução, enquanto que aqueles oriundos de maçãs são mais áptos à sobrevivência. Os resultados mostraram que, independente do sexo e da origem dos parentais (emergidos de botões ou maçãs), insetos alimentados em maçãs do algodoeiro apresentaram maior duração de desenvolvimento e peso que aqueles alimentados em botão floral. Fêmeas oriundas de botão floral ou de maçã, alimentadas com folhas cotiledonares durante cinco dias e, posteriormente, confinadas em plantas de algodão com apenas botões florais ou maçãs, ovipositaram mais em botões florais, independente da sua origem. Também, fêmeas oriundas de maçãs, e que posteriormente se alimentaram de folhas cotiledonares e maçãs, apresentaram menor tamanho dos ovariolos e número de oócitos que fêmeas alimentadas com botões florais. Entre os constituintes bioquímicos analisados, fêmeas criadas com botões florais tiveram maior quantidade de proteína, enquanto fêmeas de campo oriundas de maçãs tiveram maior quantidade de lipídios. Adultos do bicudo oriundos de maçãs, tanto de casa-de-vegetação como de campo e, posteriormente, alimentados com pólen, viveram mais que adultos emergidos de botão floral. Com base nos resultados obtidos, podemos concluir sobre a hipótese testada que bicudos atrasam o desenvolvimento alimentando-se em maçãs, são maiores, apresentam maior longevidade e são menos fecundos que aqueles de botões florais.

PALAVRAS-CHAVE: *Anthonomus grandis*, desenvolvimento, oviposição, acúmulo de reservas, sobrevivência

INFLUENCE OF FOOD SOURCE ON REPRODUCTION AND SURVIVAL OF THE BOLL WEEVIL

ABSTRACT – The boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) only fulfill development and reproduction feeding fruiting bodies of cotton. Thus, this work tested the hypothesis that the food source plays important role on the life history characteristics of the boll weevil with adults emerging from flower buds are more prone to reproduce; while those adults emerging from bolls are more prone to survival. The results show that irrespective of the adult gender and origin (from flower buds or bolls), those weevils fed cotton bolls exhibited delayed development and larger body size than insects fed flower buds. Females reared with flower buds or bolls when caged on plants with only flower buds or only bolls, laid more eggs on flower buds irrespective of the origin. Further, females originated from larvae fed bolls and maintained feeding on cotyledon leaves and bolls during five days within the adult stage exhibited smaller size of ovarioles with lower number of oocytes compared to females originated and fed flower buds. Among the chemical body contents analyzed, females fed flower buds had more protein content; while females fed bolls had more lipid content. Furthermore, adults emerging from larvae fed bolls, and after, at adult stage fed with pollen lived longer than adults from larvae fed flower buds. About the hypothesis, boll weevil fed bolls delayed its development, exhibited larger body size, lived longer and was less fecund than weevils fed flower buds and, therefore, more prone to survival than females raised from flower buds.

KEY WORDS: *Anthonomus grandis*, development, oviposition, body content, survival

Introdução

O bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) causa perdas significativas na produção de algodão no Brasil. Isto devido à alimentação e desenvolvimento do inseto no interior de botões florais e maçãs em desenvolvimento, ocasionando abscisão e abertura irregular dos capulhos (Rummel & Summy 1997). Este inseto coloniza a lavoura de algodão, especialmente quando as plantas iniciam o florescimento, com adultos da safra anterior que sobreviveram a entreassafra ou adultos que migraram de lavouras adjacentes (White & Rummel 1978).

Nas regiões de clima tropical e subtropical do Brasil, acredita-se que os adultos oriundos da última geração sobrevivem o período de entressafra alimentando-se de plantas espontâneas de algodão (tigueras), e/ou em outras espécies de plantas nativas (Ribeiro *et al.* 2010). Adicionalmente, estudos também suportam o fato de que os adultos que sobrevivem a entressafra apresentam modificações fenológicas com supressão reprodutiva (Paula *et al.* 2013). A primeira condição é facilitada devido às condições tropicais de temperatura e à diversidade de plantas nativas que fornecem pólen como alimento alternativo para a praga (Greenberg *et al.* 2007, Ribeiro *et al.* 2010).

Parte da população consegue sobreviver sem reproduzir por mais de 120 dias alimentando-se de brotações de algodão ou fontes alternativas, como partes de outras plantas: botões florais de hibiscos, endocarpo da laranja, bagaço de cana-de-açúcar, ou, até mesmo, frutos de cactos, e etc. (Greenberg *et al.* 2007, Showler & Abrigo 2007, Ribeiro *et al.* 2010). Grãos de pólen de 60 gêneros de várias famílias de plantas já foram encontrados no trato digestivo de adultos do bicudo-do-algodoeiro sendo considerado o seu principal alimento (Benedict *et al.* 1991, Jones *et al.* 1993, Hardee *et al.* 1999, Jones & Coppedge 1999). Assim, servindo de alimento durante a entressafra do algodoeiro.

Em condições de campo, o bicudo-do-algodoeiro tem preferência em se alimentar e se reproduzir em botões florais de até 6 mm de diâmetro em relação a outros tamanhos de botão floral e maçãs (Burke *et al.* 1986, Showler 2005). Esta preferência está possivelmente associada a maior dificuldade para a obtenção de alimento e oviposição nas maçãs, bem como o menor valor nutritivo destas (Tingle *et al.* 1971, Showler & Cantú 2008). De acordo com Showler (2008), a redução na reprodução ocasionada pela alimentação de fêmeas em maçãs está relacionada com a baixa quantidade e/ou disponibilidade de aminoácidos essenciais. O bicudo-do-algodoeiro oviposita e se desenvolve em maçãs de diferentes idades na ausência de botões florais, especialmente na fase final da lavoura (Neves *et al.* 2013). De acordo com Paula *et al.* (2013), adultos do bicudo-do-algodoeiro, alimentando-se em maçãs ou submetidos a ausência de alimento, têm o desenvolvimento do aparelho reprodutor limitado, causando uma forma de diapausa reprodutiva nos períodos de entressafra, o que favorece a sua sobrevivência. De acordo com Stearns (1992), a limitação na aquisição de nutrientes por escassez ou baixa qualidade do alimento pode induzir um balanço energético com a energia carreada para a sobrevivência com redução na reprodução. Desta maneira, bicudos desenvolvendo em maçãs no final da safra deverão apresentar alterações comportamentais e fisiológicas que favoreçam a sua sobrevivência. Assim, este trabalho testou a hipótese que a estrutura utilizada para a alimentação da larva, como botões florais que são abundantes na fase inicial da lavoura e maçãs na fase final desta, influenciam o desenvolvimento, a reprodução e a sobrevivência do bicudo-do-algodoeiro.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos utilizando insetos criado em algodoeiro cultivado em microparcels na Área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Campus Recife, PE, bem como no Laboratório de Controle

Biológico e Ecologia de Insetos da UFRPE e de coletas realizadas em campo conforme descrito em cada experimento.

Obtenção dos Insetos. Botões florais contendo larvas do bicudo-do-algodoeiro em desenvolvimento usualmente caem ao solo entre seis a oito dias após a oviposição (Lloyd 1986). Partindo do pressuposto de que botões florais com sinais de oviposição e caídos ao solo abrigavam larvas e/ou pupas do bicudo-do-algodoeiro, estas estruturas foram coletadas e conduzidas ao laboratório, sendo distribuídas em bandejas plásticas no interior de gaiolas de acrílico transparente (30 x 45 x 50cm), permanecendo até a emergência dos adultos. Os adultos obtidos foram sexados, individualizados em potes plásticos de 80mL e alimentados diariamente com folhas cotiledonares de algodoeiro por quatro dias.

A separação dos indivíduos adultos em machos e fêmeas foi realizada a partir da observação do oitavo segmento do abdômen em estereomicroscópico. Os insetos recém emergidos tiveram seus abdômens levemente pressionados tornando possível a exposição da genitália. A largura do tergo 8 do macho corresponde a aproximadamente metade da largura do sétimo tergo da fêmea, além do que o tergo 8 do macho possui uma curvatura na parte ventral que não ocorre nas fêmeas (Agee 1964, Sappington & Spurgeon 2000).

Após a sexagem, os indivíduos foram pareados aleatoriamente para formação dos casais, os quais foram mantidos por mais dois dias nas mesmas condições para garantir a cópula. As fêmeas copuladas foram então divididas em dois grupos: fêmeas liberadas em casa telada com plantas contendo apenas botões florais; (i) ou em casa telada com plantas contendo apenas maçãs (ii). Essas fêmeas originaram os indivíduos F1 empregados nos experimentos subsequentes.

Influência da Alimentação Larval em Botões Florais ou Maçãs no Desenvolvimento e Reprodução do Bicudo-do-Algodoeiro. Algodoeiros com aproximadamente 60 dias de idade foram preparados por meio da remoção das maçãs ou dos botões florais de acordo com o grupo a

ser infestado com as fêmeas para obtenção da geração F2: plantas contendo apenas botões florais de, aproximadamente, 6mm de diâmetro (i); e plantas contendo apenas maçãs entre 10 a 15mm de diâmetro (ii). Essas plantas foram confinadas a partir do topo com gaiolas cilíndricas de 1,0m de diâmetro e 1,20m de altura confeccionada com tela antiafídica. A gaiola possui uma extremidade aberta para fixar ao solo e uma abertura lateral fechada com velcro que permite o acesso à parte interna da gaiola para liberação dos insetos e avaliações. Três fêmeas com seis dias de idade originadas de botões florais ou de maçãs, acasaladas e alimentadas com folhas cotiledonares, foram liberadas nas gaiolas com três plantas de algodoeiro apresentando apenas botões florais ou maçãs.

Em ambos os casos, as fêmeas do bicudo-do-algodoeiro permaneceram confinadas nas gaiolas, cada gaiola, constitui uma microparcela durante três dias consecutivos, período no qual se alimentaram e ovipositaram nas estruturas reprodutivas disponíveis nas plantas. Após esse período, as fêmeas foram removidas das gaiolas e as plantas observadas diariamente para a coleta de botões caídos e maçãs atacadas. As maçãs atacadas usualmente não caem da planta (Neves *et al.* 2013). Assim, as maçãs que apresentavam sinais de oviposição foram colhidas no 15^o dia após a data de confinamento das fêmeas nas gaiolas. As estruturas colhidas, botões florais caídos ao solo, bem como as maçãs retiradas das plantas, foram levadas ao laboratório para monitoramento da emergência de adultos F2 os quais foram sexados e avaliados quanto ao tempo de desenvolvimento da fase imatura. A duração do desenvolvimento foi calculado como sendo o período decorrido entre a liberação das fêmeas F1 nas gaiolas e a emergência de adultos F2 das estruturas atacadas. Também, o peso de adultos machos e fêmeas foi determinado em balança com precisão de 0,0001g (Bioprecisa Eletronic, Modelo FA-2104N).

As fêmeas F2 emergidas de botões florais ou maçãs foram liberadas em gaiolas contendo plantas com apenas botões florais ou apenas maçãs em desenvolvimento para determinação da

oviposição. Dessa forma, foi estabelecido um experimento inteiramente casualizado em esquema, fatorial com dois fatores principais (origem das fêmeas F2: botões florais e maçãs) e dois subfatores (botões florais e maçãs em desenvolvimento) totalizando quatro tratamentos: fêmeas F2 oriundas de botões florais e liberadas em plantas com apenas botões florais (i); fêmeas F2 oriundas de botões florais e liberadas em plantas com apenas maçãs (ii); fêmeas F2 provenientes de maçãs e liberadas em plantas com apenas maçãs (iii) e, finalmente, fêmeas F2 provenientes de maçãs e liberadas em plantas contendo apenas botões florais (iv). Cada tratamento foi representado por seis microparcels com três plantas cada. Três dias após a liberação das fêmeas, estas foram removidas das gaiolas e as plantas foram avaliadas quanto a presença de oviposição.

A duração da fase imatura, peso de machos e fêmeas F2 provenientes de botões florais ou maçãs o número de posturas foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade sendo necessário transformação em $\log(x)$ e $(x + 0,5)$ para atender estes pré-requisitos da análise de variância (ANOVA). Os resultados quando significativos pela ANOVA, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade empregando o Proc GLM do SAS (SAS Institute 2001).

Influência do Alimento na Longevidade de Adultos do Bicudo-do-Algodoeiro. Machos F2 oriundos de botões florais ou maçãs foram marcados no dorso com tinta colorida inodora Acrilex[®] à base de água e pareados com fêmeas, também, provenientes de botões florais ou maçãs para serem observados quanto à longevidade. Os casais foram mantidos em placas de Petri de 15 x 90mm (altura e diâmetro) onde receberam como alimento: pólen + água (i); apenas folhas cotiledonares + água (ii); e apenas água (iii). A água (algodão umedecido) e pólen misto de abelhas (Breyer[®], União da Vitória, PR) foram ofertados aos bicudos no interior das placas de Petri em tampas de microtubos. De acordo com o fabricante 5g de pólen contém 1,2g de proteínas, 2,5g de carboidratos, 0,7g de fibra alimentar e 0,6g de material mineralizado. Assim,

seis tratamentos foram conduzidos: indivíduos machos e fêmeas oriundos de botões florais ou de maçãs com três tratamentos referente a alimentação em pólen, folhas cotiledonares ou apenas água. Em cada tratamento foi observado 10 fêmeas e 10 machos.

Os insetos foram mantidos em câmara climática regulada para 26 °C, representando a condição média de temperatura para a localidade de Surubim, PE, referente aos meses de entressafra - outubro a março (26 ± 5 °C) e 12h de luz. Os insetos foram observados diariamente para se verificar a mortalidade e substituição do alimento a cada dois dias. A partir dos dados de mortalidade, curvas de sobrevivência dos adultos (machos e fêmeas agrupados) foram calculadas empregando o método Kaplan-Meier e comparadas pelo teste Log-Rank utilizando o Proc LIFETEST do SAS (SAS Institute 2001).

Extração e Quantificação de Proteína Solúvel de Fêmeas F2. As análises foram realizadas no laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE. Foram usadas 10 fêmeas F2 emergidas de botão floral ou maçã foram submetidas a teste bioquímico para determinar a quantidade de proteína solúvel pelo método de Bradford (1976). As fêmeas ao emergirem de botões florais ou maçãs, as quais foram alimentadas, também, com as respectivas estruturas de origem durante os cinco primeiros dias da fase adulta quando, então, foram imobilizadas a baixa temperatura (4 °C). Em seguida, essas fêmeas foram individualizadas em microtubos de 1,5mL contendo 300µL de tampão carbonato (15Mm Na₂CO₃, 35mM NaHCO₃, pH 9,6) e agitados por 30 segundos, no interior dos microtubos, para que fossem lavados. Posteriormente, os insetos foram secados e procedeu-se a retirada das partes mais quitinizadas (pernas, rosto, élitros e as asas). Após essa limpeza, fêmeas foram maceradas individualmente em microtubos de 1,5mL, contendo 300µL de tampão carbonato. Posteriormente ao processo de extração, as amostras foram centrifugadas a temperatura de 4 °C a 10.000 rpm, por 15 minutos (Eppendorf modelo 5810R, Germany). O sobrenadante foi transferido para microtubos de 1,5mL e

mantidos a -20 °C. Para obtenção da curva padrão de proteínas utilizou-se como padrão BSA (1 mg/mL).

As amostras a serem analisadas foram lentamente descongelados dentro de potes de 80mL contendo gelo e água, evitando desnaturação de proteínas. Um alíquota de 100µL cada amostra foi retirada e colocadas individualmente em tubos graduados de 12mL, devidamente identificado. A quantificação foi feita pelo método proposta por Bradford (1976) adicionando-se 5mL de reagente de Bradford (0,01% de Comassie Blue G-250, 8,5% de ácido fosfórico e 4,7% de etanol). Posteriormente, os tubos foram agitados em vórtex e feito a leitura em espectrofotômetro BEL Photonics® S2000uv a 595 nm de absorbância.

A quantidade de proteínas totais em fêmeas F2 alimentadas com botões florais ou maçãs foi submetido a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando o ProcGLM do SAS (SAS Institute 2001).

Lipídios, Açúcar e Glicogênio de Adultos F2 e de Campo. Adultos do bicudo-do-algodoeiro provenientes de botões florais ou maçãs (F2) foram imobilizados à baixa temperatura (4 °C). Em seguida, as pernas, rostro e asas foram retiradas. Fêmeas oriundas de botões florais ou maçãs foram colocadas individualmente em microtubos de 2mL contendo 200µL de sulfato de sódio (Na₂SO₄) a 2%, sendo então homogeneizada. Foram utilizadas 10 fêmeas de botão floral ou maçã F2 e 10 fêmeas de botão floral e maçã oriundas de campo. Ao final do processo de maceração foram adicionados 800µL de solução clorofórmio/metanol (1:1) por amostra e levados a centrifugação durante dois minutos a 3.000 rpm. Após a centrifugação foi realizada a coleta do sobrenadante com auxílio de micropipeta, cada amostra coletada foi transferida individualmente para um novo microtubo devidamente identificado, o pellet restante após a retirada do sobrenadante foi estocado em freezer a -20 °C para posterior análise de glicogênio. Nos microtubos com o sobrenadante foram adicionados 600µL de água destilada e, novamente, foi

realizado o processo de centrifugação do material por dois minutos a 3.000 rpm. Finalizada a centrifugação foi possível observar duas fases dentro do microtubo onde na fase superior (água/metanol), encontravam-se diluídos os açúcares, sendo esta fração coletada para posterior quantificação desses e a porção inferior (clorofórmio) contendo lipídios. Ambas as amostras foram armazenadas em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento de análise. As curvas padrão para lipídio, açúcar e glicogênio foram determinadas com 100 mg/100 mL de óleo vegetal comercial de soja em clorofórmio (lipídios) e 100 mg/100 ml de glicose anidra em água destilada (açúcar e glicogênio).

As amostras de lipídios foram transferidas individualmente para tubos de vidro graduados de 13mL sendo mantidas em banho-maria a $100 \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a completa evaporação do solvente. Em seguida foram adicionados 200 μL de ácido sulfúrico sendo postos novamente em banho-maria por 10 minutos a $100 \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após este período, as amostra foram retiradas do banho-maria e o volume foi completado para 5mL com o reagente vanilina. As amostras foram resfriadas e homogeneizadas em um agitador e levadas a leitura em espectrofotômetro BEL Photonics[®] S2000uv a 625 nm de absorbância.

As amostras para a quantificação de açúcar foram transferidas individualmente para tubos de vidro graduados de 13mL e mantidas em banho-maria a $100 \pm 10^{\circ}\text{C}$ permitindo a evaporação do solvente até atingir um volume entre 200 e 100 μL de solução nos tubos. Após a evaporação, os tubos foram retirados do banho-maria e completado a amostra para o volume de 5mL com o reagente antrona. Em seguida, os tubos foram agitados para homogeneização da amostra com o reagente. Os tubos contendo as amostras com reagente foram novamente colocados em banho-maria por 17 minutos e após este tempo, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente e efetuado a leitura em espectrofotômetro BEL Photonics[®] S2000uv a 625 nm de absorbância.

As amostras destinadas a quantificação de glicogênio foram transferidas individualmente para tubos de vidro graduados de 13mL, onde foi adicionado o reagente antrona até completar o volume de 5mL. Posteriormente, as amostras foram mantidas em banho-maria a 100 ± 10 °C por 17 minutos quando, então, as amostras foram retiradas do banho-maria e resfriadas à temperatura ambiente. Após o resfriamento foi realizado a leitura em espectrofotômetro BEL Photonics® S2000uv a 625 nm de absorbância.

Os resultados dos teores de lipídios, açúcares e glicogênio foram submetidos a teste de normalidade e homogeneidade de variância sendo necessário, apenas, a transformação em raiz quadrada ($x + 0,5$) dos dados relativo a quantidade de lipídeos de insetos de campo. Todos os dados foram comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade e as análises foram realizadas no programa SAS (SAS Institute 2001).

Efeito da Alimentação sobre o Desenvolvimento do Ovariolo em *Anthonomus grandis*.

Fêmeas recém emergidas de maçãs carimãs foram submetidas a alimentação durante cinco dias com botão floral, maçã e folhas cotiledonares de algodão. Cada tratamento foi composto por 15 fêmeas. Após o quinto dia, as fêmeas foram imobilizadas a baixa temperatura (4°C) e dissecadas sob esteriomicroscópio para a verificação de possíveis alterações na morfologia dos ovariolos e, posteriormente, submetidos a análise histológica.

Os ovariolos das fêmeas submetidas aos tratamentos supracitados foram fixados com formol a 10% em tampão Mollinig-Carson (0,1 M, pH 7,2) por 24h. A desidratação foi realizada em gradientes crescentes de banhos de etanol por 10 minutos e embebidos em historesina Leica® por 24h. Cortes de 3µm, foram obtidos em um micrótomo Leica RM 2245, e corados com hematoxilina-eosina. Foram utilizados cinco ovariolos por tratamento considerando cada ovariolo como uma repetição. Para a determinação de compostos proteicos foi utilizado Xilidina (Pearse, 1960); o P.A.S – Ácido Periódico de Schiff (Junqueira & Junqueira, 1983) para glicogênio, após

serem coradas as laminas foram fotografadas e as imagens submetidas ao programa editor de imagens GIMP[®] 2.0 para obtenção da medida dos pixels. Os resultados dos teores de proteína e glicogênio foram submetidos a teste de normalidade e homogeneidade, para análise da quantidade de proteína e glicogênio de insetos provenientes de campo os dados foram submetidos ao Proc ANOVA e comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade usando o programa SAS (SAS Institute 2001).

Resultados

Influência da Alimentação Larval em Botões Florais ou Maçãs no Desenvolvimento e Reprodução do Bicudo-do-Algodoeiro. Entre os fatores principais analisados quanto à duração do desenvolvimento: origem dos parentais (de botão floral ou maçã), sexo dos adultos emergidos e o tipo de alimento utilizado pela larva (botão floral ou maçã) e suas interações duplas e triplas, apenas o tipo de alimento resultou em efeito significativo ($F_{1, 230} = 1100,09$; $P < 0,0001$). A duração do desenvolvimento foi prolongada quando os bicudos foram criados em maçãs, independente da origem dos parentais e do sexo (Tabela 1). De forma semelhante, o peso dos insetos emergidos não variou em função da origem dos parentais, do sexo dos adultos emergidos, bem como das interações entre esses fatores, sendo novamente apenas influenciado pelo tipo de alimento ($F_{1, 203} = 96,42$; $P < 0,0001$). Adultos oriundos de maçãs foram sempre mais pesados que aqueles de botão floral (Tabela 1).

Fêmeas F2, oriundas de botões florais ou maçãs e confinadas em plantas contendo apenas botões florais, apresentaram maior taxa de oviposição que aquelas liberadas em gaiolas cujas plantas continham apenas maçãs independente de sua origem (botões florais ou maçãs) ($F_{1, 15} = 200,92$; $P < 0,0001$) (Tabela 1).

Influência do Alimento na Longevidade de Adultos do Bicudo-do-Algodoeiro. A sobrevivência em todos os tratamentos foi similar entre machos e fêmeas ($P > 0,05$) e, portanto este efeito foi desconsiderado nas análises. Por outro lado, a origem dos adultos, de botão floral ou de maçã, bem como o alimento empregado durante a fase adulta afetou significativamente a sobrevivência do adulto, tanto em estudos com gerações controladas com insetos criados em casa-de-vegetação (Log-Rank; $\chi^2 = 8,06$; $P < 0,0447$; G.L. = 5; Fig. 1A), bem como adultos oriundos de campo ($\chi^2 = 199,35$; $P < 0,0001$; G.L.= 5; Fig. 1B). Considerando a origem dos adultos e o tipo de alimento oferecido, pode-se observar que adultos oriundos de maçãs e alimentados com pólen viveram mais. Alguns indivíduos viveram mais de 120 dias quando oriundos de casa-de-vegetação, bem como quando oriundos de maçãs de campo (Fig. 1A e B). Adultos que não tiveram acesso a alimento vegetal, mantidos apenas com água, também viveram mais quando foram oriundos de maçãs em comparação a adultos oriundos de botão floral, tanto de casa-de-vegetação como de campo (Fig. 1A e B).

Proteína Total em Fêmeas F2. Fêmeas provenientes de botões florais ou de maçãs apresentaram significativamente maior quantidade de proteína ao se alimentar de botões florais que ao se alimentar de maçãs durante os primeiros dias de vida da fase adulta ($F_{3, 36} = 9,35$; $P < 0,0001$) (Tabela 1).

Lipídios, Açúcares e Glicogênio. Fêmeas e machos de casa-de-vegetação, provenientes de botões florais ou maçãs e alimentados durante cinco dias com folhas cotiledonares do algodoeiro, apresentaram a mesma quantidade de lipídios em seu corpo ($F_{3, 24} = 0,85$; $P = 0,4810$), a qual variou de 226,8 a 289,5 $\mu\text{g/mL}$. Por outro lado, fêmeas de campo oriundas de maçãs carimãs, coletadas ao final da safra, apresentaram 2,1x vezes maior quantidade de lipídios ($502,4 \pm 79,78 \mu\text{g/mL}$), em comparação às fêmeas oriundas de botões florais ($238,9 \pm 22,91 \mu\text{g/mL}$) ($F_{3, 29} = 7,6$; $P = 0,0007$). Por outro lado, não foi encontrada diferença, entre machos ($P > 0,05$).

Adultos do bicudo-do-algodoeiro oriundos de botões florais ou de maçãs, tanto de casa-de-vegetação como de campo, não diferiram na quantidade de açúcar e glicogênio ($P > 0,05$). Em média, as quantidades de açúcares variaram de 23,9 a 37,2 $\mu\text{g/mL}$ para insetos criados em casa-de-vegetação e de 38,5 a 55,5 $\mu\text{g/mL}$ para insetos oriundos de campo, respectivamente. As quantidades de glicogênio variaram de 71,8 a 101,4 $\mu\text{g/mL}$ para insetos criados em casa-de-vegetação e de 64,92 a 92,5 $\mu\text{g/mL}$ para insetos oriundos de campo, respectivamente.

Efeito da Alimentação sobre o Desenvolvimento do Ovariolo em *Anthonomus grandis*.

Fêmeas provenientes de campo emergidas de maçãs carimãs e submetidas a alimentação por cinco dias com folhas cotiledonares de algodão, botões florais ou maçãs jovens, demonstraram alterações relacionadas ao tamanho dos ovariolos, principalmente das fêmeas alimentadas com cotilédones quando comparadas às de botão floral e maçã (Fig. 2). Menor número de oócitos em desenvolvimento foi observado nos tratamentos com cotilédones e maçãs, respectivamente, em comparação às fêmeas alimentadas com botão floral (Fig. 3).

A quantidade de proteína foi superior em indivíduos alimentados com botões florais em relação aos demais alimentos ($F_{2, 6} = 9,58$; $P = 0,0021$) (Fig. 4). Da mesma forma, os teores de glicogênio em insetos alimentados com botões florais e maçãs jovens apresentaram maior quantidade desses sacarídios livres do que fêmeas alimentadas em folhas cotiledonares ($F_{2, 6} = 34,7$; $P = 0,0025$) (Fig. 4).

Discussão

A estrutura reprodutiva do algodoeiro utilizada pelo bicudo-do-algodoeiro para o seu desenvolvimento influenciou as características da história de vida estudadas. A alimentação do bicudo-do-algodoeiro em maçãs resultou em atraso na duração do desenvolvimento, emergência

de insetos maiores e com ovariolos e oócitos menos desenvolvidos, diferentemente de insetos criados em botões florais. Além disso, alguns adultos oriundos de maçãs e, posteriormente, alimentados com pólen viveram além de 120 dias. Esses resultados suportam a hipótese proposta de que o tipo de estrutura reprodutiva do algodoeiro utilizada pelo bicudo-do-algodoeiro influencia o seu desenvolvimento, a reprodução e a sua sobrevivência, sendo os adultos oriundos de botão floral mais áptos a reprodução, enquanto aqueles oriundos de maçãs são mais áptos à sobrevivência.

Além disso, o prolongamento do desenvolvimento nas maçãs conforme encontrado e, anteriormente observado por Sterling & Adkisson (1971), favorece a sobrevivência do adulto por menor tempo de exposição às condições do ambiente. Também, o desenvolvimento em maçãs gera indivíduos maiores e com indícios de maior conteúdo de reservas, como encontrado neste estudo para lipídios, o que deve exercer papel importante na dispersão e sobrevivência dos adultos. Insetos adultos podem ser encontrados presos no interior de maçãs carimãs ressecadas logo após a colheita (J.B. Torres, observações). Supostamente, os adultos que sobreviverem nesta condição saem das maçãs quando essas entrarem em decomposição no início das chuvas.

Os resultados mostraram que a alimentação em botões florais propicia a emergência de adultos que irão reproduzir mais rapidamente permitindo ao inseto aproveitar a abundância de recursos (botões florais durante o desenvolvimento da lavoura). Por outro lado, ao final da safra, quando os insetos realizam a última geração desenvolvendo em maçãs, os adultos emergidos terão que passar o período de entressafra a espera do novo ciclo da cultura. Assim, é esperado alta mortalidade desses adultos após a colheita, quando não há disponibilidade de hospedeiro de alta qualidade como botões florais, e os insetos são forçados a se alimentarem de ponteiros, pólen de outras plantas, e etc. após a emergência, diferente daqueles emergidos ao longo da fenologia da planta que podem se alimentar de pólen.

Fêmeas oriundas de maçãs e alimentadas com folhas cotiledonares podem viver em torno de 45 dias, e se tiverem acesso a pólen de outras culturas, pode ocorrer um aumento significativo da sobrevivência, o que possibilita que os insetos consigam infestar cultivos posteriores. Assim, isto subsidia a necessidade de um longo vazio sanitário (período sem hospedeiros em campo), o qual é uma das primeiras práticas culturais recomendadas para a convivência com o bicudo-do-algodoeiro (Burt *et al.* 1969).

Com base nos resultados, estima-se que os insetos oriundos de maçãs no final da safra, possuem características morfológicas (maiores) e fisiológicas (menor reprodução e maior reserva) que favorecem a sua sobrevivência. Assim, alguns desses indivíduos quando tendo acesso a alimento alternativo, como pólen durante a entressafra, podem viver o suficiente para iniciar nova geração em plantas de algodão (tigueras) que germinam antes mesmo do plantio comercial, ou entre outras culturas; ou mesmo, em plantios antecipados de algodão (Fig. 1 A e B). Mesmo assim uma alta mortalidade é esperada durante a entressafra. De acordo com Braga Sobrinho & Lukefahr (1983), em clima temperado, apenas, 10% dos adultos que abandonam a lavoura sobrevivem até a primavera seguinte. Apesar desta alta mortalidade do bicudo-do-algodoeiro durante a entressafra, é estimado uma população de até 500.000 adultos ao final da safra com a colonização de apenas 50 adultos no início da próxima safra (Barbosa *et al.* 1986). Os resultados deste estudo com insetos do Semiárido, e estudos futuros de sobrevivência do bicudo-do-algodoeiro em campo sob condições subtropical e tropical irão auxiliar na decisão do tempo necessário para o vazio sanitário em condições tropicais. Além disso, subsidiar práticas que podem ser utilizadas para minimizar a colonização das lavouras como o uso do tubo de coleta de bicudos (Neves *et al.* 2013). O fato é que se não houver uma boa prática de destruição dos restos culturais, adultos do bicudo podem ser coletados durante todo o ano em áreas cultivadas com o algodão no Semiárido (Neves 2013).

O aumento do tempo observado para a fase larval quando alimentando de maçãs (Tabela 1), possivelmente está ligado a menor qualidade nutricional desta estrutura em relação aos botões florais (Tingle *et al.* 1971). Segundo Tobler *et al.* (2009) indivíduos alimentando de dieta com menor quantidade de nutrientes consomem mais, o que ocasiona um prolongamento das fases jovens. Por outro lado, insetos emergidos de maçãs são mais pesados independentemente da origem de seus parentais (Tabela 1). Esse fato pode estar relacionado com o maior tempo de consumo, mas também a uma estratégia do inseto em armazenar nutrientes para a sua sobrevivência durante o período de entressafra, sendo o fator desencadeador a alimentação da larva na maçã. Isto pode ocorrer através de uma alimentação compensatória em que eles seriam capazes de usar mecanismos para aumentar a eficiência da assimilação sendo capazes de armazenar reservas, mesmo quando submetidos a dietas pobres em nutrientes (Simpson *et al.* 1995).

Os testes de oviposição realizados mostram que fêmeas confinadas em plantas contendo apenas botões florais ou maçãs em casa-de-vegetação apresentam maior taxa de oviposição em botões florais, independente da origem dessas fêmeas (botões ou maçãs) e da grande disponibilidade de maçãs para oviposição. Isto demonstra que o maior tamanho e reservas acumuladas pelas fêmeas que se desenvolveram em maçãs, bem como menor tamanho de ovariolos, não é condição limitante para a oviposição. As fêmeas oriundas de maçãs estão menos predispostas a reprodução, mas quando alimentaram de botões florais, realizaram oviposição similar aquelas criadas em botões florais. A menor taxa de oviposição em maçãs é caracterizada por uma menor preferência por esta estrutura corroborando com os resultados de Showler (2005). Este autor encontrou taxa de oviposição de aproximadamente 2,7 e 1,0 ovos/dia em botões florais e em maçãs jovens, respectivamente. Previamente a este estudo, o mesmo autor (Showler 2004)

encontrou 3,8x e 4,8x mais fêmeas grávidas e ovos coriônicos por fêmea quando alimentadas em botões florais.

A maior taxa de oviposição em botões florais está ligada à disponibilidade de nutrientes essenciais presentes nessas estruturas reprodutivas, que estimulam a produção de ovos, como aminoácidos livres presentes na casca de botões florais, sendo a cistina o principal aminoácido ligado a reprodução (Showler 2009). Por outro lado, a alimentação da fêmea adulta em maçãs causa uma redução nas quantidades de proteínas, tendência a um menor desenvolvimento dos órgãos reprodutivos e redução de aproximadamente 5,8 vezes na longevidade (Tingle *et al.* 1971, Showler 2008). A redução nas quantidades de proteínas pode repercutir em redução da capacidade de produção de proteínas específicas, como a vitelogenina, que após a fecundação são utilizadas como fonte de carboidratos, lipídios, fosfato e aminoácidos para apoiar o crescimento embrionário (Kunkel & Nordin 1985, Bownes 1986, Byrne *et al.* 1989). Entretanto, nesse estudo a vitelogenina não foi quantificada, podendo esta ser medida em estudos futuros.

Insetos provenientes de botões e maçãs de casa-de-vegetação e, posteriormente alimentados com folhas cotiledonares de algodoeiro, não diferiram na quantidade de lipídio, diferentemente das fêmeas emergidas de maçãs carimãs de campo. Isto, possivelmente, está associado a maçãs jovens utilizadas pelos insetos em casa-de-vegetação. Maçãs jovens, em que as sementes ainda estão em fase de formação, possuem baixa quantidade de lipídio acumulado disponível para os insetos. De acordo com Ritchie *et al.* (2007), somente em torno de seis semanas do surgimento das maçãs é que se inicia o processo de perda de água e acúmulo de reservas nas sementes. De acordo com Beltrão (1999) e Cherry & Leffler (1984), a quantidade de lipídios em maçãs em estágio avançado de desenvolvimento pode corresponder entre 14 a 25% das sementes.

O acúmulo de reservas em lipídio também ocorre em vários outros insetos durante a fase de larva. Os lipídios ficam armazenados no corpo gorduroso, os quais são utilizados na fase adulta

(Ziegler 1991), como glicolípídios, fosfolípídios, e etc., passando a ter papel importante como constituinte de estruturas celulares e hormônios (Arrese *et al.* 2001) e, especialmente, como reserva para a manutenção durante períodos de diapausa (Deninger 2003). Indivíduos predispostos a diapausa possuem mais que o dobro de lipídios em seu corpo comparado aos indivíduos normais (Deninger 2003). O que nosso estudo confirma com adultos do bicudo-do-algodoeiro oriundos de maçã carimã de campo. Assim, supostamente o acúmulo de lipídios auxilia a sobrevivência do bicudo-do-algodoeiro durante o período de entressafra, bem como auxilia na sua dispersão entre lavouras a longas distâncias. De acordo com Guerra (1988), o bicudo-do-algodoeiro pode dispersar até 48 Km por dia podendo percorrer distâncias de até 272 Km em uma semana, à procura de fontes de alimento, bem como novas lavouras de algodoeiro. Portanto, o deslocamento em grandes distâncias demandam elevada quantidade de energia disponível, através da utilização direta de reservas de gordura, como ácidos graxos armazenados nas gotículas lipídicas da gordura corporal (Arrese & Soulages 2010). Esses, então são mobilizados para os músculos alares, na forma de diglicerídeo, trealose ou prolina (Beenackers *et al.* 1985). A alimentação dos insetos adultos com folhas cotiledonares de algodoeiro, não influenciaram nas quantidade de glicogênio e açúcar de insetos provenientes de botões florais ou maçãs. Provavelmente devido à baixa qualidade nutricional do alimento na fase adulta (folhas cotiledonares de algodoeiro).

As fêmeas do bicudo-do-algodoeiro provenientes de maçãs e submetidas a alimentação em botão floral, maçã e folhas cotiledonares durante cinco dias demonstraram alterações relacionadas ao tamanho dos ovariolos, principalmente das fêmeas alimentadas com cotilédones quando comparadas às de botão floral e maçã (Fig. 2). Essas diferenças refletem a preferência alimentar em campo, para botões florais. Além disso, as análises histológicas demonstraram não haver comprometimento da estrutura dos ovariolos em nenhum dos tratamentos. As regiões do germário

e vitelário foram observadas em todos os grupos (Fig. 3). Novamente, um resultado passível de estar associado à nutrição obtida pela fêmea durante o período de maturação sexual.

As análises histoquímicas mostram que fêmeas alimentadas com maçã ou cotilédones possuem menor quantidade de proteína presente nas marcações feitas pelo corante Xilidina Pouceau, em relação às fêmeas alimentadas com botão floral (Fig. 4). A diferença observada em proteína demonstra que pode ter havido redução na qualidade ou falta de aminoácidos essenciais para a reprodução quando alimentadas com folhas cotiledonares ou maçãs (Tingle *et al.* 1971). A taxa de desenvolvimento folicular pode ser alterada em mais de 60 vezes, em insetos como *Drosophila melanogaster* Meigen, em dietas pobres em proteína (Drummond-Barbosa & Spradling 2001). Deste modo, a capacidade de absorção de outros nutrientes promovida pelas células foliculares e direcionadas aos oócitos pode ter sido comprometida e, assim, explicar a redução observada para os polissacarídeos nas fêmeas alimentadas com cotilédones.

Em resumo, a variação na fonte de alimento utilizada pelo bicudo-do-algodoeiro durante o seu desenvolvimento e na fase adulta influencia várias características da sua história de vida. Contudo, vale ressaltar que para a população do bicudo-do-algodoeiro usada e, nas condições do estudo, a alimentação na maçã do algodoeiro ocasiona efeitos na sua fisiologia, porém não foi limitante para a sua reprodução, desde que as fêmeas adultas passem a ter disponibilidade de alimento de qualidade (botão floral). Além disso, o maior acúmulo de reservas ao desenvolver de maçãs mais alimento de qualidade durante a fase adulta (pólen) favorecem à sobrevivência dos adultos na ausência da planta hospedeira, o algodoeiro.

Agradecimentos

A CAPES pela concessão de bolsa de Mestrado ao primeiro autor; ao Programa PNPd/CAPES pela bolsa ao segundo e terceiro autores e ao CNPq pelo financiamento da pesquisa e bolsa de produtividade ao terceiro e quarto autores.

Literatura Citada

- Agee, H.R. 1964.** Characters for determination of sex of the boll weevil. *J. Econ. Entomol.* 57: 500-501.
- Arrese, E.L. & J.L. Soulages. 2010.** Insect body: energy, metabolism and regulation. *Annu. Rev. Entomol.* 55: 207-225.
- Arrese, E.L., L.E. Canavoso, Z.E. Jouni, J.E. Pennington, K. Tsuchida & M.A. Wells. 2001.** Lipid storage and mobilization in insects: current status and future directions. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31: 7-17.
- Barbosa, S., R.B. Sobrinho & C. Campanhola. 1986.** O bicudo do algodoeiro no Brasil: ocorrência, distribuição geográfica e medidas de erradicação propostas, p. 7-29. In S. Barbosa, M.J. Lukefahr & R. Braga Sobrinho (eds.), *O bicudo do algodoeiro*. Brasília, EMBRAPA-DDT, 314p.
- Beenackers, A.M, D.J. Van der Horst & W.J. Van Marrewijk. 1985.** Insect lipids and lipoproteins, and their role in physiological processes. *Prog. Lipid Res.* 24:19-67.
- Beltrão, N.E.M. 1999.** Agronegócio do Algodão no Brasil, 1ª edição, EMBRAPA, Campina Grande -PB, V. 1. 1-491
- Benedict, J.H., D.A. Wolfenbarger, V.M.J. Bryant & D.M. George. 1991.** Pollens ingested by boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) in southern Texas and northeastern Mexico. *J. Econ. Entomol.* 84: 126-131.
- Bownes, M. 1986.** Expression of the genes coding for vitellogenin (yolk protein). *Annu. Rev. Entomol.* 31:507-531.
- Bradford, M.M. 1976.** A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Braga Sobrinho, R. & M.J. Lukefahr. 1983.** Bicudo (*Anthonomus grandis* Boheman): nova ameaça à cotonicultura brasileira; biologia e controle. Campina Grande, EMBRAPA-CNPA, 32p.
- Burke, H.R., W.E. Clark, J.R. Cate & P.A. Fryxell. 1986.** Origin and dispersal of the boll weevil. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 32: 228-238.
- Burt, E.C., E. Lloyd. & D.B. Smith. 1969.** Control of the boll weevil mechanically destroying fallen infested cotton squares. *J. Econ. Entomol.* 62: 862-865.

- Byrne, B.M., Gruber, M., AB, G., 1989.** The evolution of egg yolk proteins. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 53: 33-69.
- Cherry, J.P. & H.R. Leffler. 1984.** Seed, p. 512-570. In R.J Kohel & C.F. Lewis. *Cotton*. Madison, American Society of Agronomy, 605p.
- Deninger, D.G. 2003.** Diapause, p. 305-310. In V.H. Resh & R.R. Cardé. *Encyclopedia of insects*. San Diego, Academic Press, 166p.
- Drummond-Barbosa, D. & A.C. Spradling. 2001.** Stemcells and their progeny respond to nutritional changes during *Drosophila* oogenesis. *Develop. Biol.* 231: 265–278.
- Greenberg, S.M., G.D. Jones, F. Eischen, R.J. Coleman, J.J. Adamczyk, T.X. Liu & M. Setamu. 2007.** Survival of boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) adults after feeding on pollens from various sources. *Insect Sci.* 14: 503-510.
- Guerra, A.A. 1988.** Seasonal boll weevil movement between northeastern Mexico and the Rio Grande Valley of Texas, USA. *Southwest. Entomol.* 13: 261-271.
- Hardee, D.D., G.D. Jones & L.C. Adams. 1999.** Emergence, movement, and host plants of boll weevils (Coleoptera: Curculionidae) in the Delta of Mississippi. *J. Econ. Entomol.* 92: 130-139.
- Jones, G.D. & J.R. Coppedge. 1999.** Foraging resources of boll weevils (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 92: 860-869.
- Jones, R.W., J.R. Cate, E.M. Hernandez & E.S. Sosa. 1993.** Pollen feeding and survival of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) on selected plant species in northeastern Mexico. *Environ. Entomol.* 22: 99-108.
- Junqueira, L.C.U. & L.M. M.S JUNQUEIRA. 1983.** Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo, Santos 124p.
- Kunkel, J.G. & J.H. Nordin. 1985.** Yolk proteins, p. 83-111. In G.A. Kerkut & L.I. Gilbert (eds.), *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*. Vol. I, Minnesota, Pergamon Press, 505p.
- Lloyd, E.P. 1986.** Ecologia do bicudo do algodoeiro, p. 134-144. In S. Barbosa, M.J. Lukefahr & R. Braga Sobrinho (eds.), *O bicudo do algodoeiro*. Brasília, EMBRAPA-DDT, 314p.
- Neves, R.C.S., L.M. Vivan & J.B. Torres. 2013.** Opção ecológica para o monitoramento e coleta massal do bicudo-do-algodoeiro. Informativo REDALGO 006, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 6p.
- Neves, R.C.S., A.T. Showler, E.S. Pinto, C.S. Bastos & J.B. Torres. 2013.** Reducing boll weevil populations by clipping terminal buds and removing abscised fruiting bodies. *Entomol. Exp. Appl.* 146: 276-285.

- Paula, D.P., D. Claudino, R.V. Timbó, J.E. Miranda, M.P. Bemquerer, A.C.J. Ribeiro, E.R. Sujii, E.M.G. Fontes & C.S.S. Pires. 2013.** Reproductive dormancy in boll-weevil from populations of the Midwest of Brazil. *J. Econ. Entomol.* 106: 86-96.
- Pearse, A.G.E. 1960.** *Histoquímica teórica y aplicada.* Madrid, Aguilar 118p.
- Ribeiro, P.A., E.R. Sujii, I.R. Diniz, M.A. Medeiros, M.L. Salgado-Laboriau, M.C. Branco, C.S.S. Pires & E.M.G. Fontes. 2010.** Alternative food sources and overwintering feeding behavior of the boll weevil, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) under the tropical conditions of Central Brazil. *Neotrop. Entomol.* 39: 28-34.
- Ritchie, G.L., C.W. Bednarz, P.H Jost & S.M. Brown. 2007.** Cotton Growth and Development: <http://pubs.caes.uga.edu/caespubs/pubcd/B1252.htm>. Acessado em 20 de Janeiro de 2014.
- Rummel, D.R. & K.R. Summy. 1997.** Ecology of the boll weevil in the United States Cotton Belt. *Southwest. Entomol.* 22: 356–376.
- Sappington, T.W. & D.W. Spurgeon. 2000.** Preferred technique for adult sex determination of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93: 610-615.
- SAS Institute. 2001.** SAS/STAT User's Guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Showler, A.T. 2004.** Influence of cotton fruit stages as food sources on boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) fecundity and oviposition *J. Econ. Entomol.* 97: 1330-1334.
- Showler, A.T. 2005.** Relationships of different cotton square sizes to boll weevils (Coleoptera: Curculionidae) in field conditions. *J. Econ. Entomol.* 98: 1572-1579.
- Showler, A.T. 2008.** Longevity and egg development of adult female boll weevils fed exclusively on different parts and stages of cotton fruiting bodies. *Entomol. Exp. Appl.* 127:125-132.
- Showler, A. 2009.** Roles of host plants in boll weevil range expansion beyond tropical Mesoamerica. *Am. Entomol.* 55: 234-242.
- Showler, A.T. & V. Abrigo. 2007.** Common subtropical and tropical nonpollen food sources of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.* 36: 99 104.
- Showler, A.T. & R.V. Cantú. 2008.** Effect of adult boll weevil feeding on cotton squares. In *Beltwide Cotton Conferences, National Cotton Council, Memphis, TN (CD-Rom).*
- Simpson, S.J., I. Raubenhe & P.G. Chambers. 1995.** The mechanisms of nutritional homeostasis, p. 251-278 In R.F. Chapman & G. Boer (eds.), *Regulatory mechanisms in insect feeding.* Chapman Hall, New York, 401p.
- Stearns, S.C. 1992.** *The evolution of life histories.* Oxford University Press, Oxford, 264p.

- Sterling, W.L. & P.L. Adkisson. 1971.** Seasonal biology of the boll weevil in the High and Rolling Plains of Texas as compared with previous biological studies of this insect. *Tex. Agr. Exp. Sta. MP-993*. 12p.
- Tingle, F.C., H.C. Lane, E.E. King & E.P. Lloyd. 1971.** Influence of nutrients in the adult diet on diapause in the boll weevil. *J. Econ. Entomol.* 64: 812-814.
- Tobler, M., R. Riesch, C.M. Tobler & M. Plath. 2009.** Compensatory behaviour in response to sulphide-induced hypoxia affects time budgets, feeding efficiency, and predation risk. *Evol. Ecol. Res.* 11: 935–948.
- White, J.R. & D.R. Rummel. 1978.** Emergence profile of overwintered boll weevils and entry into cotton. *Environ. Entomol.* 7: 7-14.
- Ziegler, R.C. 1991.** Changes in lipid and carbohydrate metabolism during starvation in adult *Manduca sexta*. *J. Comp. Physiol. B.* 161:125–31.

Tabela 1. Características do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* em função da estrutura usada para o desenvolvimento da descendência de acordo com a origem dos parentais.

Parentais ¹	F2 ²	Duração do desenvolvimento (dias)	Peso dos adultos (mg)	No. de ovos/fêmea/dia	Proteína solúvel (µg/mL)
Botão floral	Botão floral	14,8 ± 0,31b	7,8 ± 0,36 b	2,6 ± 0,08 a	152,7 ± 4,69 a
	Maçã	29,1 ± 0,64 a	13,1 ± 0,59 a	1,3 ± 0,07 b	91,9 ± 10,49 b
Maçã	Botão floral	14,7 ± 0,21 b	7,5 ± 0,37 b	2,4 ± 0,11 a	144,4 ± 10,11 a
	Maçã	28,1 ± 0,54 a	12,9 ± 0,81 a	1,3 ± 0,04 b	103,3 ± 12,28 b

¹Não houve efeito da origem dos parentais nas características avaliadas ($P > 0,05$).

²Médias (+EP) seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey HSD a 5% de probabilidade.

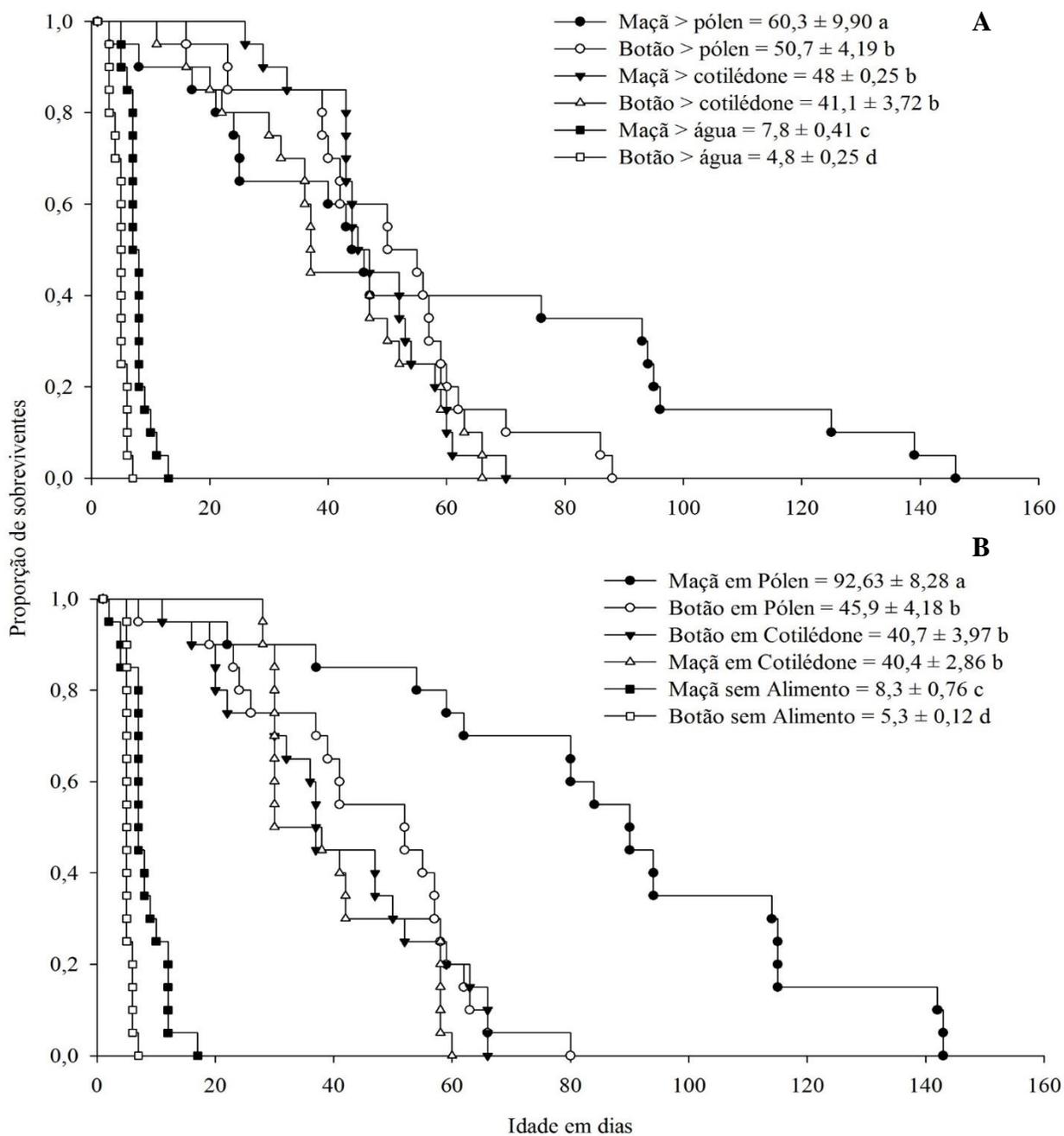


Figura 1. Proporção de sobreviventes de *Anthonomus grandis* provenientes de geração em casa-de-vegetação (F2) (A) e provenientes de campo (B) oriundos de botões florais ou maçãs, alimentados com pólen, folhas cotiledonares de algodoeiro e sem alimentação. As médias \pm EP de sobrevivência forma estimada pelo método Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank a 5% de probabilidade.

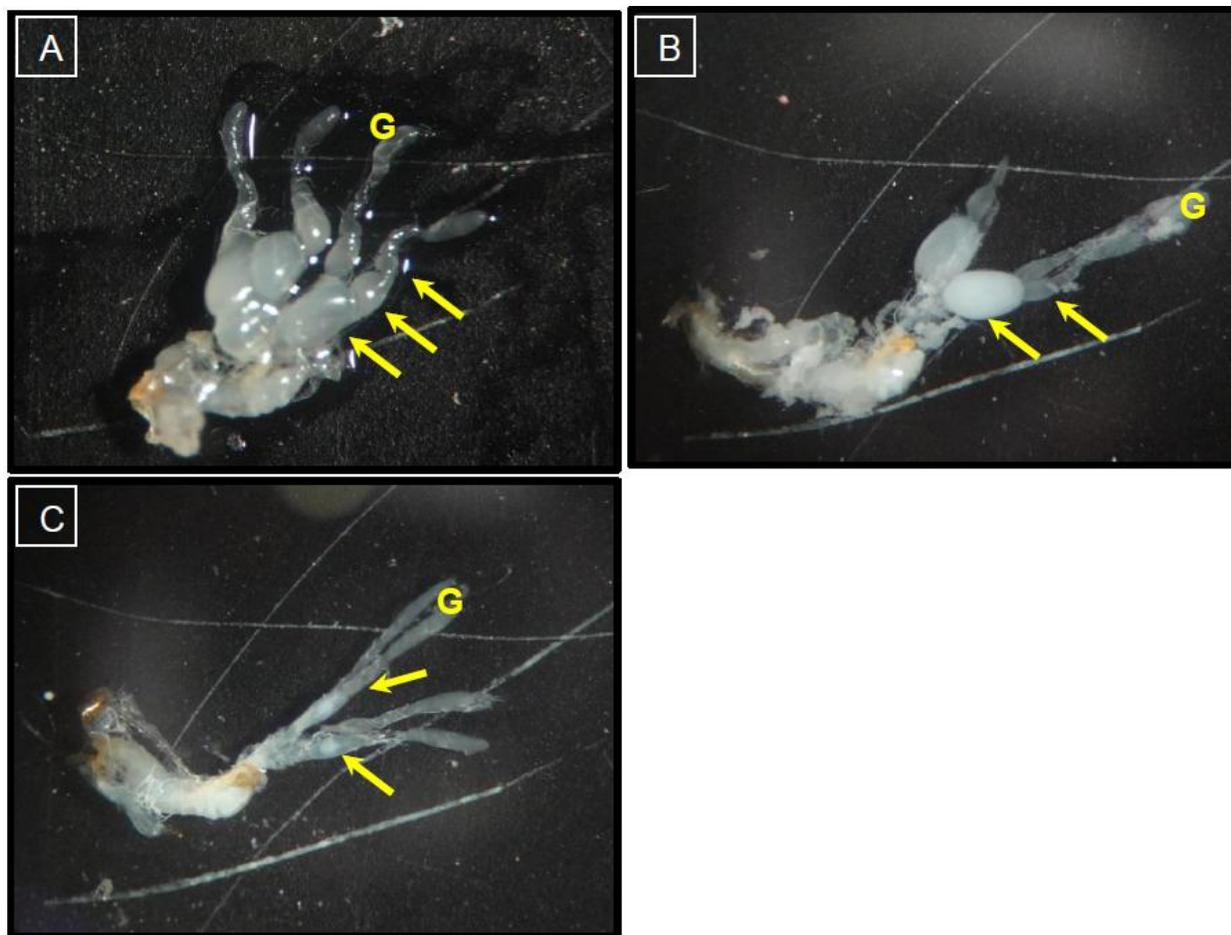


Figura 2. Ovariolos de fêmeas de *Anthonmus grandis* oriundas de maçã e submetidas a alimentação com botão floral (A), maçã intermediária (B) e cotilédones (C) durante cinco dias após a emergência. Em (A) os ovariolos apresentam germário (G) e área do vitelário bem desenvolvidos com presença de oócitos em vários estágios de maturação (seta). Em (B), vitelário com menor quantidade de oócitos em desenvolvimento. (C) ovariolos da fêmeas submetidas a alimentação com cotilédones exibindo vitelário pouco desenvolvimento. Aumento 24X.

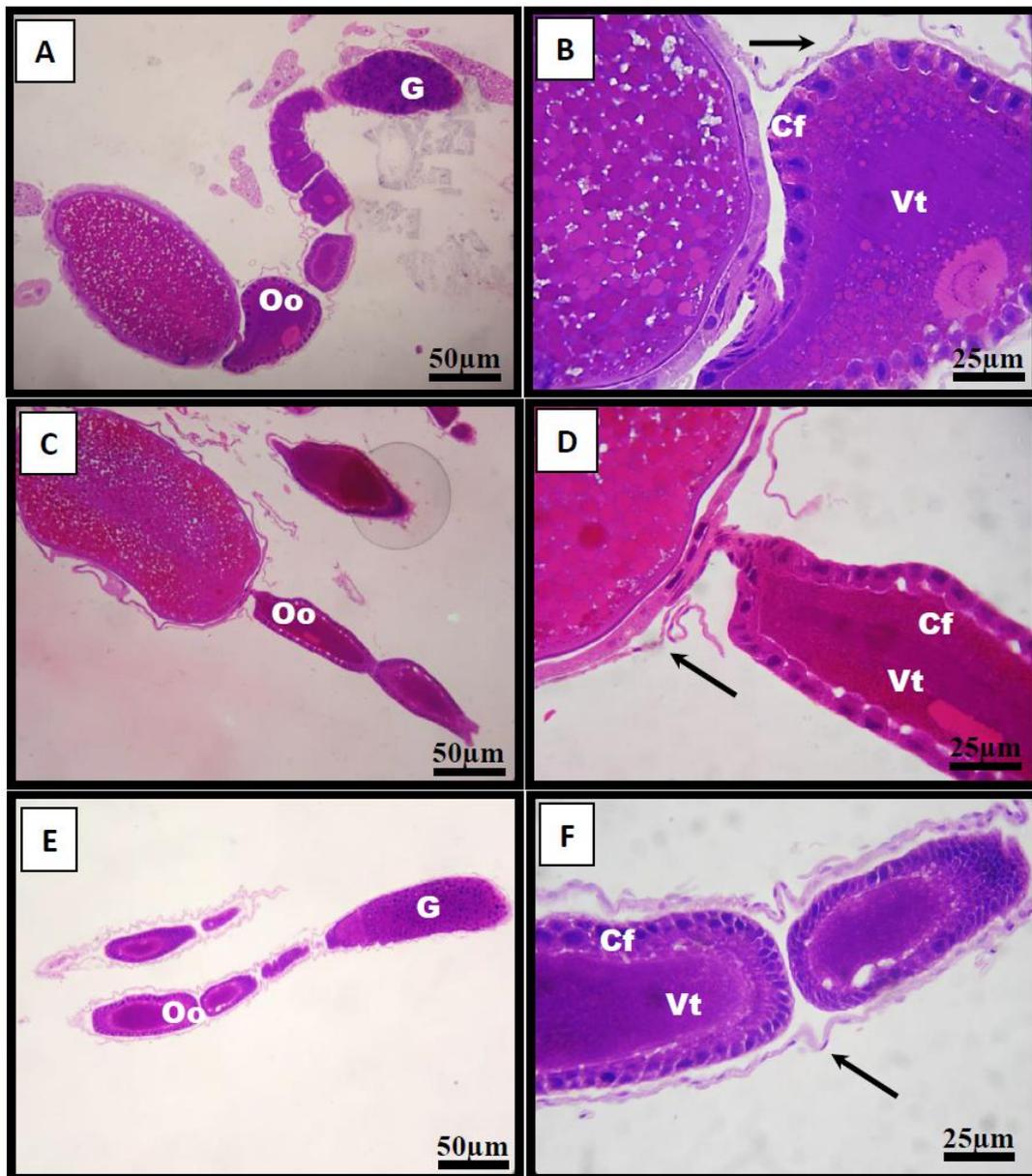


Figura 3. Histologia dos ovaríolos de fêmeas de *Anthonomus grandis* oriundas de maçãs e alimentada durante cinco dias em botão floral (A e B), maçã (C e D) e cotilédones (E e F). Nota-se em todos os tratamentos que não ocorreram alterações histológicas nos ovaríolos com presença de uma delgada camada de tecido conjuntivo (seta) envolvendo o germário (G) e vitelário bem preservados, presença de oócitos (Oo) em desenvolvimento podem ser observados. Célula folicular (Cf), vitelo (Vt) e núcleo (n). Colocaração H.E.

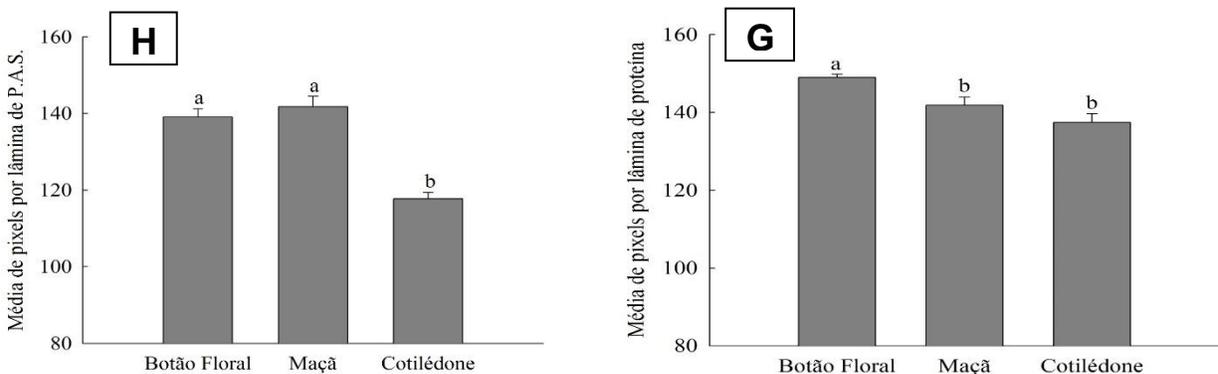
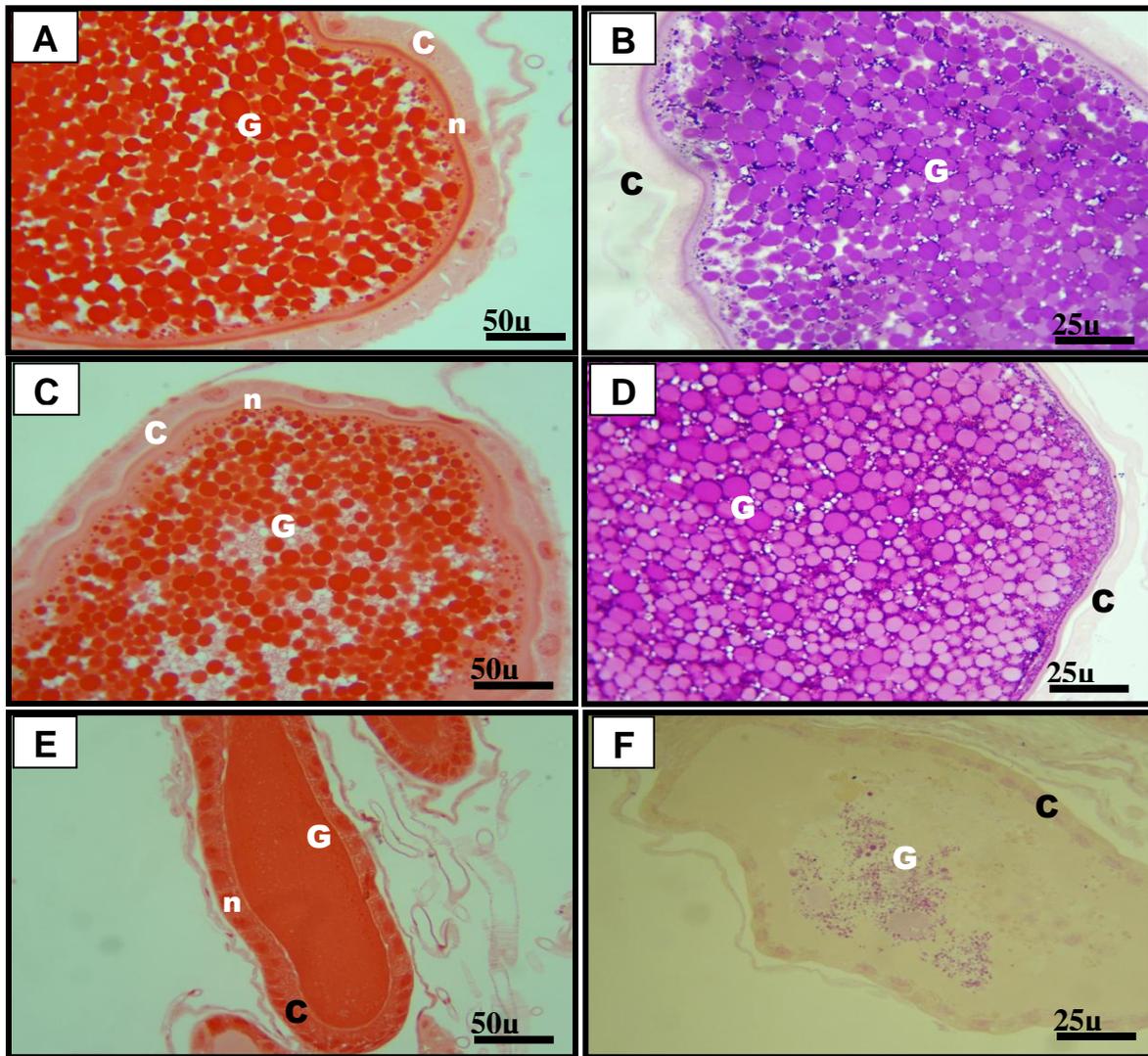


Figura 4. Históquímica dos ovários de fêmeas de *Anthonomus grandis* oriundas de maçãs e alimentadas durante cinco dias em botão floral (A), maçã (C) e cotilédones (E) para proteínas totais (Xilidina Pounceau). Em B, D e F, ovários dos mesmos tratamentos, respectivamente com marcação para polissacarídeos neutros pela técnica do P.A.S. Quantidade média de pixels para proteína total (G) e polissacarídeos neutros (H) das análises histoquímicas. Grânulos de vitelo (Gv), Célula folicular (Cf) e núcleo (n).