

INTERAÇÃO DE *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) E  
GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO: RESPOSTA BIOLÓGICA E COMPORTAMENTAL

por

JULIANA BARROSO SILVA

(Sob Orientação de Jorge Braz Torres e Christian Sherley Araújo da Silva Torres)

RESUMO

As plantas podem obter proteção contra a herbivoria através de mecanismos intrínsecos e extrínsecos de defesa. A defesa intrínseca está relacionada às defesas constitutiva e induzida da planta contra os herbívoros afetando aspectos de sua biologia; enquanto a defesa extrínseca está relacionada à associação das plantas com os inimigos naturais para atuarem contra os herbívoros. O bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), é uma espécie oligófaga que se alimenta de ponteiros e estruturas reprodutivas do algodoeiro. A alimentação e o desenvolvimento em botões florais e maçãs do algodoeiro resulta em perdas diretas para a produção. Este trabalho avaliou a resposta de *A. grandis* para alimentação e oviposição em quatro genótipos de algodoeiro CNPA TB15, CNPA TB85, CNPA TB90 e BRS Rubi, bem como a produção de voláteis por plantas dos genótipos CNPA TB90 e BRS Rubi submetidas ou não a herbivoria pelo bicudo-do-algodoeiro durante as fases vegetativa e reprodutiva da planta e a resposta a esses voláteis. Resultados de laboratório e semi-campo demonstraram que o bicudo-do-algodoeiro oviposita similarmente nos quatro genótipos de algodoeiro estudados; porém com significativa variação no tempo de desenvolvimento e peso de adultos. A composição de voláteis produzidos foi similar entre os genótipos e quando submetidos ou não á herbivoria, porém a produção de voláteis foi superior em plantas na fase reprodutiva e submetidas à herbivoria. Em

testes de olfatometria, adultos do bicudo-do-algodoeiro responderam positivamente aos voláteis de plantas com 96h de herbivoria. Os resultados permitem concluir que o bicudo-do-algodoeiro não apresenta preferência alimentar e oviposição entre os genótipos de algodoeiro em estudo, e que as variações na duração e no peso de adultos observadas estão associadas ao tamanho do botão floral de cada genótipo. Também, que o bicudo-do-algodoeiro responde significativamente a voláteis de plantas submetidas à herbivoria, especialmente, durante a fase reprodutiva da planta.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bicudo-do-algodoeiro, herbivoria, voláteis de plantas, biologia, comportamento.

INTERACTION OF *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) AND  
COTTON GENOTYPES: BIOLOGY AND BEHAVIOURAL RESPONSES

by

JULIANA BARROSO SILVA

(Under the Direction of Jorge Braz Torres e Christian Sherley Araújo da Silva Torres)

ABSTRACT

The plants evolved mechanisms to gain resistance against herbivores through intrinsic and extrinsic defenses. The intrinsic defense are involved with constitutive and induced compounds affecting the biology of the herbivore; while the extrinsic mechanisms are related to the associations established between plants and natural enemies. The boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), is an oligophagous species that feeds on cotton plant buds and fruiting structures. Feeding punctures caused by adult weevils and whole immature stages development inside the cotton squares or young bolls result in direct yield lost. We evaluated the response of the boll weevil regarding its feeding and oviposition to four cotton genotypes (CNPA TB15, CNPA TB85, CNPA TB90 and BRS Rubi), and the production of volatile organic compounds (VOC) by genotypes CNPA TB90 and BRS Rubi when subjected to injury at vegetative and reproductive stages, and boll weevil response to these compounds. Laboratory and semi-field results showed that the boll weevil feeds and lays eggs similarly across all four cotton genotypes studied. However, the developmental times and adult body mass of the weevils varied and were related to the size of the cotton square. The VOC compounds were qualitatively similar between genotypes and damaged and undamaged plants, but differed quantitatively with more volatiles produced by damaged plants and in the reproductive stage. The

bioassays using Y-tube olfactometer showed a positive response of weevils to volatiles from 96h-collection period. The results allow to concluding that the boll weevil did not exhibit oviposition and feeding preference among the tested cotton genotypes, and the variation observed on developmental times and adult body mass are related to the size of the square of each genotype. Further, the boll weevil exhibit a significant and positive response to cotton plant volatiles produced by plants under herbivory, specially, from plant at reproductive stage.

**KEY WORDS:** Boll weevil, herbivory, plant volatiles, biology, behavior.

INTERAÇÃO DE *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) E  
GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO: RESPOSTA BIOLÓGICA E COMPORTAMENTAL

Por

JULIANA BARROSO SILVA

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

Dezembro – 2013

INTERAÇÃO DE *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) E  
GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO: RESPOSTA BIOLÓGICA E COMPORTAMENTAL

por

JULIANA BARROSO SILVA

Comitê de Orientação:

Christian Sherley Araújo da Silva Torres - PNPd/CAPES

Maria Carolina Blassioli Moraes - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Jorge Braz Torres – UFRPE

INTERAÇÃO DE *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) E  
GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO: RESPOSTA BIOLÓGICA E COMPORTAMENTAL

por

JULIANA BARROSO SILVA

Orientadores:

---

Jorge Braz Torres – UFRPE

---

Christian S. Araújo da Silva-Torres – PNP/CAPE

Examinadores:

---

Mirian Fernandes Furtado Michereff – EMBRAPA

---

Clécio Souza Ramos – UFRPE

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Ivanete Barroso Silva e José Júlio Braga da Silva, as minhas amadas irmãs, Ivana, Ivaneida e Anna Juliete e meus amados sobrinhos, Milay, Dudu, Nicole, Livia e Paulo.

Ofereço

A toda minha família pela confiança, pelo incentivo, por me passarem garra e determinação e a todos os professores que contribuíram para que eu chegasse até aqui!

Meu muito obrigada!

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida, por sempre iluminar meus caminhos, pela proteção, por permitir que eu concluísse mais uma etapa da minha vida profissional, enfim por todas as bênçãos, sem Ele nós não somos nada. Obrigada meu pai!

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 concessão da bolsa de Mestrado.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela ajuda de custo (AMD), para que parte desse trabalho fosse realizado em outra instituição.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN), pela possibilidade de realização deste trabalho.

Aos meus orientadores, Jorge Braz Torres e Christian Sherley Araújo da Silva Torres, por todos os ensinamentos, as informações compartilhadas, pela paciência, pelo respeito e pelo profissionalismo; pessoas por quem tenho grande admiração.

A minha Co-Orientadora Pesquisadora, Maria Carolina Blassioli Moraes, pela paciência, pelos ensinamentos, pela confiança, pela dedicação e profissionalismo.

À equipe de Pesquisadores da Embrapa: Miguel Borges e Raúl Lauman, pela amizade e pelo apoio durante a execução do trabalho.

Os técnicos da Embrapa/Cenargen, Marcio Wandré Morais de Oliveira, pelo grande apoio e auxílio durante a execução do trabalho, principalmente pela sua paciência e dedicação. A amiga Isabela Grisi que cuidou da criação e esteve sempre por perto.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola (PPGEA), por todos os ensinamentos e informações passados, em especial ao professor Vargas Oliveira pela amizade, pelas brincadeiras e por todo apoio durante essa caminhada, uma pessoa muito querida por mim.

Aos funcionários Darcy, Romildo e Ariella pela dedicação nos serviços prestados; em especial a Darcy (mana) pelo carinho e pela amizade.

As minhas grandes amigas de república: Iwanne Lima, Caroline Amaral, Tamiris Kempner e Gerson Barros (Agregado), pela confiança, pelo apoio e por serem parte da minha família durante todo esse período.

Aos caríssimos amigos do laboratório em especial: Felipe, Guilherme (Guizinho), Eduardo, Rodrigo, Paulo, Beth, Péricles, Rogério, Sibebe, Martin, Aline e Robério pela amizade e pelas brincadeiras. As minhas amadas amigas Agna Rita, Karla Sombra (mana) e Clara Elizabete, por todo o carinho, pelas palavras e por terem cuidado da minha ansiedade.

Aos demais colegas do PPGEA, Jaconias Neto (Jaconidae), Douglas, Cynara, Mauri, Mariana, Lucas, Camila, Luziane, Luan, Thiago, Alberto, Tadeu, Nicole, Martin, Maurício, Wendel, Aleuni, Nane, Franciele, Fabiana, Carlos Henrique (Xandy), Paolo, Débora, Wagner, André, Emerson, Ana Paula e Auridete.

Aos Amigos do Laboratório de Semioquímicos da Embrapa Cenargen, em especial: Diego Magalhães, Michele Aquino, Mirian Michereff, Isabela Grisi, Jéssica, Rita, Vitória, Samantinha, Amanda, Pedro e Dolores. Só tenho a dizer que sem vocês esse sonho não seria possível, e eu reconheço, chegar até aqui já foi uma grande vitória.

## SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS .....	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO .....	1
Bicudo-do-algodoeiro, <i>Anthonomus grandis</i> Boh. (Coleoptera: Curculionidae).....	6
Resistência do algodoeiro ao bicudo do algodoeiro.....	11
Interação inseto-planta mediada por voláteis.....	13
Localização da planta pelo hospedeiro.....	16
LITERATURA CITADA .....	17
2 INTERAÇÃO DE <i>Anthonomus grandis</i> BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDADE) E GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO: RESPOSTA BIOLÓGICA E COMPORTAMENTAL .....	27
RESUMO .....	28
ABSTRACT .....	29
INTRODUÇÃO .....	30
MATERIAL E MÉTODOS .....	32
RESULTADOS .....	44
DISCUSSÃO.....	50
AGRADECIMENTOS.....	57
LITERATURA CITADA.....	57

## CAPÍTULO 1

### INTRODUÇÃO

A interação inseto-planta tem sido alvo de estudos para o entendimento da co-evolução desta relação, em especial a resposta da planta à herbivoria envolvendo os mecanismos de defesa como os caracteres morfológicos, produção de aleloquímicos e emissão de compostos orgânicos voláteis. As plantas e os herbívoros estão em constante adaptação mútua, do ponto de vista do herbívoro para a utilização eficiente das plantas como hospedeiro, e do ponto de vista das plantas para se defenderem do ataque dos herbívoros (Ehrlich *et al.* 1965, Schoonhoven *et al.* 2005). Assim, plantas de alta qualidade nutritiva podem ser um recurso escasso em algumas situações, quando os herbívoros competem para o melhor aproveitamento destas plantas de qualidade superior. Muitos desses herbívoros se especializam em explorar de forma eficiente determinadas partes das plantas mais ricas em nutrientes em relação aos herbívoros menos competidores (Evans 1977, Strong *et al.* 1984, Bernays & Chapman 1994). Desta forma, alguns herbívoros se especializaram com sucesso em partes das plantas que permitem a eles obterem maior desempenho (maior sobrevivência e fecundidade) por fornecerem alimento de melhor qualidade e proteção contra fatores abióticos e bióticos de regulação populacional.

Neste contexto, o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), pode ser considerado um exemplo desta adaptação por alimento de melhor qualidade e abrigo contra os fatores de mortalidade. Adultos do bicudo-do-algodoeiro alimentam-se de folhas, ponteiros e das estruturas reprodutivas do algodoeiro, como botões florais e maçãs. Assim, podem obter alimento durante toda a fenologia da planta, e dessa forma podem colonizar a planta em qualquer idade fenológica. No entanto, o desenvolvimento deste inseto ocorre apenas

nas estruturas reprodutivas como botões florais e maçãs, as quais são mais ricas em nutrientes em relação às folhas e ponteiros, e fornecem proteção parcial contra fatores de mortalidade. Em especial, melhor desempenho é obtido nos botões florais por apresentarem maiores teores de proteínas que as maçãs em formação (Tingle *et al.* 1971), e serem mais facilmente atacados (Showler 2007). Além disso, apesar do bicudo-do-algodoeiro se reproduzir em maçãs em formação, a maturação sexual e a produção do feromônio sexual são estimulados quando os adultos se alimentam de botões florais (Lloyd 1986). Os adultos colonizando as lavouras com plantas antes da produção de botões florais se alimentam de ponteiros e folhas do algodoeiro, e se tornam reprodutivamente ativos quando passam a se alimentar de botões florais (Cross & Mitchell 1969).

A planta de algodoeiro possui constitutivamente compostos secundários como o gossipol (aldeído terpênico) entre outros, que estão associados a defesa contra a herbivoria. Porém, herbívoros especializados como o curuquerê-do-algodoeiro, *Alabama argilacea* (Hübner), e a lagarta-das-maçãs, *Heliothis virescens* Fabr. (Lepidoptera: Noctuidae), são adaptados a este composto (Stipanovic *et al.* 1988), tanto que *H. virescens* apresenta melhor desempenho em dieta enriquecida com o gossipol (Berembaum 1978). Por outro lado, herbívoros não especializados no algodoeiro como a *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) e *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) são negativamente afetadas pelo gossipol (Stipanovic *et al.* 1988, 2006). Isto demonstra que a planta possui compostos com função de defesa contra a herbivoria, mas alguns herbívoros conseguem contornar esta defesa. No caso do bicudo-do-algodoeiro, o comportamento de alimentação no interior de botões florais (pólen) e maçãs (endocarpo, sementes em formação, etc.) reduz as chances de ingestão de grande quantidade de gossipol e outros compostos de defesa da planta, uma vez que as glândulas produtoras desta substância encontram-se na superfície das estruturas reprodutivas. Além da especialização no modo de alimentação dos adultos, o

desenvolvimento de todas as fases ocorre no interior das estruturas de reprodução conferindo alimento de melhor qualidade para a praga.

A planta de algodoeiro, responde quimicamente ao ataque de herbívoros. Ao sofrer herbivoria, a planta pode produzir e liberar voláteis que funcionam como sinais para inimigos naturais na localização do hospedeiro (Hare 2011). Um exemplo claro ocorre com *H. zea*. Após a sua alimentação no algodoeiro ocorre a liberação de compostos como mirceno, (*Z*)-3-acetato de hexenila, (*E*)-beta-ocimeno, linalol, (*E*) 4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT) e (*E,E*)-4,8,12-trimetil-1,3,7,11-tridecatetraeno (TMTT) atraentes para o parasitoide generalista *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) e para o parasitoide especialista *Microplitis croceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) (Röse *et al.* 1998).

Entre as pragas do algodoeiro, o bicudo-do-algodoeiro é considerado a principal praga nas Américas. O potencial do bicudo em causar perdas à produção advém do fato do inseto se alimentar, ovipositar e desenvolver nas estruturas reprodutivas (Praça 2007). Devido a alimentação e desenvolvimento nas estruturas reprodutivas, a planta atacada apresenta desenvolvimento vegetativo normal, porém as estruturas reprodutivas são perdidas (botões florais e pequenas maçãs) comprometendo a produção e a qualidade do algodão colhido (quando ocorre em maçã deixando ela parcialmente aberta) (Showler, 2008).

A produção de algodão está entre as principais atividades do agronegócio brasileiro, com o Brasil ocupando o quinto lugar na produção mundial (CONAB 2013a), ficando atrás apenas da China, Índia, Estados Unidos e do Paquistão, respectivamente (USDA 2013). No ano 2011/2012, o Brasil produziu 4,9 milhões de toneladas de algodão em caroço, com produtividade média de 3.544 kg/ha. Na safra 2012/13 a produção foi de 3,3 milhões de toneladas, havendo uma redução de 33,7% em relação a safra passada 2011/2012, ocasionada sobretudo pelo recuo dos preços nos mercados interno e externo, os altos custos de produção, e os atraentes preços do milho e da soja

(CONAB 2013a). Segundo a CONAB a intenção de plantio de algodão para a safra 2013/14 no país é de 1,04 e 1,09 milhões de hectares (CONAB 2013b).

No Brasil, as maiores produtividades de algodão são verificadas nos estados de Mato Grosso, Bahia e Goiás. Nestes estados, o cultivo é realizado como monocultura em grande extensões de terra e utilização de insumos. De maneira contrária, na maioria dos estados do Nordeste (no Semiárido), incluindo Pernambuco, o cultivo é realizado por pequenos produtores, utilizando mão-de-obra familiar, com baixo uso de insumos. O estado de Pernambuco é o 12º produtor de algodão, com área plantada em 2011/2012 de 800 ha, obtendo um rendimento médio de 230 kg/ha de algodão em caroço (CONAB 2012), sendo uma das razões de redução de área a presença do bicudo-do-algodoeiro. Em 1980, antes da constatação do bicudo-do-algodoeiro no Brasil, a área cultivada com algodoeiro em Pernambuco era de 44.595 ha, a qual reduziu para 18.325 ha em 1990 e, posteriormente, para 10.930 ha em 2000 (CONDEPE 2002).

O cultivo do algodoeiro é relevante, tanto pelo aspecto econômico quanto pelo aspecto social. Presente em vários países, o algodoeiro é considerado uma planta com baixa exigência hídrica (Kohel 1974), quando comparada às culturas alimentícias como o milho, soja, feijão, etc., e por isso representa uma opção de cultivo em regiões semiáridas. A cultura demanda grande quantidade de mão-de-obra gerando emprego e renda para a agricultura de pequena escala nas regiões semiáridas e, conseqüentemente, funciona como fixadora da população no meio rural. Por ser cultivado em áreas com baixa precipitação, o algodoeiro torna-se uma cultura alternativa para gerar renda através da fibra comercializada e alimento para o gado, pois, o algodão produz, em média, 65% de caroço e 35% de pluma (Buainain & Batalha 2007). Além dos produtos caroço e pluma e dos subprodutos da industrialização desses, a parte vegetativa do algodoeiro pode ser utilizada para alimentação do gado. Fato este que contribui para a maioria dos produtores em Pernambuco não realizar práticas de finalização da lavoura com a destruição dos restos culturais, e

equivocadamente liberando o gado na lavoura para pastejo, assim favorecendo a manutenção do bicudo-do-algodoeiro nas áreas (Neves 2013). Alternativamente, a prática da poda apical quando as plantas apresentam abertura dos primeiro capulhos foi desenvolvida e realizada visando a finalização da lavoura (homogeneidade de maturação) (Neves *et al.* 2010a). Esta prática, além de retirar pragas alojadas nos ponteiros das plantas como mosca-branca, ácaros, pulgões, tripses, bicudo, dentre outras, o material podado serve também como forragem para o gado (Neves *et al.* 2010b).

A pluma de algodão destaca-se entre os vários tipos de fibras, de origem natural, artificial ou sintética como a mais importante matéria-prima utilizada em toda a cadeia têxtil do Brasil. Este setor é um dos principais segmentos da indústria de transformação e, conseqüentemente, da economia do país, onde emprega de forma direta um contingente de 1.669.388 pessoas (Aquino 2013).

Apesar de toda sua importância, o cultivo do algodoeiro sofre com fatores de ordem econômica e fitossanitária que podem contribuir para diminuição da área de plantio e, conseqüentemente, redução da produção. As pragas constituem um fator determinante para o sucesso da cultura do algodão. Cerca de 250 espécies de insetos e ácaros ocorrem no agroecossistema do algodoeiro no Brasil (Silva *et al.* 1968, Fontes *et al.* 2006). E, dentre essas, o bicudo-do-algodoeiro é considerado praga chave e sendo responsável por um custo de controle nas safras 2007/08, 2008/09 e 2009/10 estimado em 67,53 milhões de dólares (<http://www.kleffmann.com/opencms/opencms/pt/index.html>). Este custo deverá ser mantido devido ao intensivo uso de inseticidas com a média de 17 pulverizações utilizadas na safra 2012/13 (Miranda 2013).

**Bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae)**

O bicudo-do-algodoeiro foi uma das principais causas do declínio do plantio do algodoeiro em todo o Nordeste do Brasil (Torres 2008). Em 1987 a área cultivada com algodoeiro no nordeste foi reduzida em 54% e a produção de algodão em caroço passou de 473 mil toneladas para 218 mil toneladas (Casto 1992). E, mesmo em outras áreas com atual cultivo do algodoeiro como no Cerrado, o bicudo-do-algodoeiro é o responsável por maior parte das pulverizações com inseticidas de largo espectro de ação durante a fase reprodutiva da cultura (Richetti *et al.* 2004). As pulverizações são feitas constantemente tornando-se um entrave para o manejo integrado de pragas, pois compromete o manejo das demais pragas com a redução das populações de inimigos naturais.

O mesmo acontece nas demais regiões produtoras no mundo onde esta praga ocorre (Haney *et al.* 2009). Assim, ainda existem várias questões ecológicas que precisam ser melhor entendidas, uma vez que esse inseto é uma praga chave da cultura onde há a sua ocorrência.

O bicudo-do-algodoeiro apresenta metamorfose completa, passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto. O adulto é relativamente pequeno com 5 a 8 mm de comprimento e possui coloração marrom avermelhada quando recém emergido e cinza escuro quando mais velho (Saran & Santos 2007). As fêmeas preferem ovipositar nos botões florais com cerca de 6mm de diâmetro (Showler & Cantu 2005), e quando ovipositam em maçãs preferem àquelas macias ainda no início da formação (Busoli *et al.* 1994).

Os ovos são depositados isoladamente no botão floral, mas as fêmeas não discriminam botões previamente ovipositados e, assim, em infestações elevadas mais de um ovo por botão floral pode ser encontrado. Em infestações acima de 50% já foram encontrados até cinco orifícios de oviposição e emergência de mais de um adulto por botão floral (Soares & Yamamoto 2003).

A fêmea pode depositar de 7 a 11 ovos por dia, atingindo em média 150 ovos por fêmea em 21 dias de duração da fase adulta, e podem viver mais de 100 dias em condições de laboratório

(Santos 1999, Gallo *et al.* 2002). Em campo, a longevidade do bicudo pode chegar a 40 dias (Gallo *et al.* 2002). Em condições de 25-27 °C, a eclosão da larva ocorre no terceiro dia após a oviposição. Esta possui três instares 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 recém emergidas precisam se alimentar por três a cinco dias antes de iniciarem a oviposição e podem ocorrer de cinco a sete gerações durante o ciclo da cultura do algodoeiro (Lloyd 1986), dependendo das condições climáticas, do início da colonização em relação a idade fenológica da planta e da duração do ciclo da variedade cultivada.

Devido à oviposição e o desenvolvimento do bicudo no interior dos botões florais, flores e maçãs pequenas, estas caem precocemente, entre cinco a oito dias após a oviposição (Showler & Cantu 2005, Neves *et al.* 2013). A queda das estruturas atacadas ocorre devido a enzimas produzidas pelas larvas de segundo e terceiro instares ao se alimentarem e se desenvolverem dentro da estrutura (Beltrão *et al.* 1994). Desta maneira, dependendo da infestação, além da queda natural, existe um aumento em até 80% na queda das estruturas reprodutivas do algodoeiro pelo ataque do bicudo-do-algodoeiro (Neves *et al.* 2013).

Além deste potencial de perdas, todas as fases da praga estão protegidas no interior das estruturas reprodutivas da planta tornando-se um alvo difícil de controle, seja por inseticidas sintéticos, condições adversas do ambiente e até mesmo a ação de inimigos naturais (Busoli *et al.* 1994). Por esta razão a aplicação de inseticidas visa apenas atingir os adultos, pois as larvas e pupas sobrevivem a aplicação na maioria das vezes produzindo novos adultos. O número de aplicações voltadas ao controle do bicudo-do-algodoeiro pode variar de 5 a 6 pulverizações sequenciais com intervalos de 5 dias durante a fase reprodutiva da planta, mas pode chegar a 14 pulverizações dependendo da intensidade das infestações com inseticidas de largo espectro de ação como fosforados, piretróides, e carbamatos (Richetti *et al.* 2004, Miranda 2013).

O grande potencial como praga do bicudo-do-algodoeiro passa, também, pelo fato deste inseto sofrer baixa mortalidade por inimigos naturais em comparação às demais pragas desta mesma cultura (Ramalho 1994, Santos *et al.* 2013). Apesar disso, 13 espécies de parasitoides e 10 espécies de predadores são descritas parasitando ou predando o bicudo-do-algodoeiro (Ramalho & Wanderley 1996, Evangelista Júnior *et al.* 2006, Bastos & Torres 2006). Dentre esses, *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) é um ectoparasitóide gregário e larval que juntamente com o *Catolaccus grandis* Burks (Hymenoptera: Pteromalidae) constituem os principais agentes biológicos responsáveis pela redução natural das populações do bicudo nos agroecossistemas do algodoeiro no Nordeste brasileiro (Wanderley 1998, Ramalho *et al.* 2007, Santos *et al.* 2013). No entanto, a ação exclusiva destes parasitoides não é suficiente para manter a população do bicudo-do-algodoeiro abaixo do nível de dano econômico, além de serem, impactados pela aplicação massiva de inseticidas não seletivos.

Em regiões subtropicais e, possivelmente, também nos trópicos, quando termina o ciclo vegetativo do algodoeiro, o bicudo possui o comportamento de sair para áreas de refúgio composto pela vegetação nativa, ou mesmo, outras culturas de porte alto que fornecem abrigo, onde os adultos permanecem durante o período de entressafra (Degrande 1991, Gondim *et al.* 2001, Showler 2010). Quando as condições ambientais são favoráveis pela presença do alimento no início da próxima safra, essa população dispersa dos locais de refúgio para as lavouras de algodoeiro. Isso ocorre principalmente, no início da produção de botões florais, cuja atração é intensificada pelo feromônio de agregação produzido pelos machos, logo após se alimentarem das primeiras estruturas florais (Leggett 1986, White & Rummel 1978). De cada 50 adultos que sobrevive a entressafra, pode-se esperar uma população de 500.000 adultos ao final da safra subsequente (Barbosa *et al.* 1986). Além disso, os adultos sobreviventes da entressafra podem se

dispersar por longas distâncias à procura de hospedeiros para alimentação e oviposição (Sobrinho & Lukefahr 1983).

O controle do bicudo-do-algodoeiro pode ser planejado com práticas voltadas ao agroecossistema antes, durante e após a colheita; as quais se iniciam pela seleção da área de plantio, escolha da cultivar, preparo do solo, determinação da densidade de plantas por área, data de plantio e sua uniformidade, cultura armadilha, manipulação ambiental com planejamento da rotação de culturas, faixas de cultivo, barreiras e culturas adjacentes (revisado por Torres *et al.* 2013). Durante o cultivo é importante o manejo das plantas invasoras dentro e no entorno da lavoura, adubações equilibradas, catação e destruição de partes atacadas, uso de reguladores de crescimento das plantas e maturador/desseccante ao final do cultivo e poda apical. A seleção da cultivar, a densidade de plantas, os reguladores de crescimento e a poda buscam precocidade através da uniformidade de frutificação e abertura de capulhos. Ainda, após a colheita é de fundamental importância a destruição dos restos culturais, a limpeza de equipamentos que transitam entre lavouras e a aração do solo em áreas com alto riscos de infestação do complexo de lagartas das maçãs na fase final da lavoura.

Outro método de controle do bicudo-do-algodoeiro está no uso de soqueiras-isca com a finalidade de atrair e matar os adultos após a colheita do algodão, antes que eles saiam para áreas de refúgios. Por ocasião da destruição dos restos culturais da lavoura, recomenda-se deixar algumas linhas de plantas 200 metros umas das outras, ou 5% das plantas como soqueira-isca (Neves 2013). As soqueiras-isca terão a duração máxima de 15 dias, e nesse período, deverão ser pulverizadas, obrigatoriamente, a cada três a cinco dias e destruídas imediatamente após a última pulverização (Martin *et al.* 1987, Degrande 1991). O uso de soqueira-isca pode ser feito juntamente com tubos de captura massal do bicudo-do-algodoeiro contendo o feromônio

Grandlure (Neves 2013). Estas medidas podem reduzir em até 70% a população de bicudo (Busoli *et al.* 1994).

Outro método de controle empregado visando o manejo do bicudo-do-algodoeiro é o controle comportamental por meio de armadilhas como o tubo que atrai e mata bicudo, a qual consiste de um tubo de papelão endurecido revestido com cola e inseticida, iscados com septos contendo o feromônio Grandlure disposto na parte superior do tubo (Santos 1991).

A utilização do feromônio foi considerado um dos maiores avanços para monitorar a presença do bicudo-do-algodoeiro nas lavouras (Leggett 1986). Os machos de *A. grandis* produzem quatro compostos específicos, que não são produzidos pelas fêmeas da espécie: dois alcoóis, (+)-(Z)-2-isopropenil-1-metilciclobutano-etanol, (Z)-3,3-dimetilcicloexilideno-etanol, e dois aldeídos, (E)-3,3-dimetilcicloexilideno-acetaldeído e (Z)-3,3-dimetilcicloexilideno-acetaldeído (Tumlimson *et al.* 1969).

A utilização do feromônio do bicudo-do-algodoeiro permitiu o seu monitoramento rápido e contínuo em grandes áreas cultivadas com o algodoeiro. No entanto, estudos de campo demonstraram que durante a época da floração, o número de insetos capturados nas armadilhas reduz consideravelmente, já que os botões são preferidos pelo bicudo e, também, devido à competição com a emissão natural do feromônio (insetos que infestam a lavoura) (Lloyd 1986, Rummel & Curry 1986).

A redução da população da praga depende no número e da eficiência das armadilhas utilizadas, do número de machos presentes no campo (competição) e do estágio de desenvolvimento da planta (Leggett 1986). Dickens *et al.* (1990), mostraram que a eficiência do feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro aumenta consideravelmente com a adição de  $\beta$ -bisabol e (E)-2-hexan-1-ol, componentes dos voláteis do algodoeiro, sugerindo que os insetos

adultos utilizam compostos orgânicos voláteis (COVs) de plantas durante a procura por hospedeiros, apresentando uma ação aditiva de captura.

### **Resistência da planta ao bicudo-do-algodoeiro**

Dentre os métodos de controle de pragas, o emprego de variedades resistentes desponta como tática ideal de controle de pragas, pois sua utilização reduz as populações de insetos a níveis que não causam danos às plantas; não promove desequilíbrio ambiental; seu efeito é cumulativo e persistente; não é poluente; não acarreta maiores custos de produção quando de domínio público e finalmente não exige conhecimentos específicos por parte dos agricultores para a sua utilização, visto que a tecnologia está difundida na semente (Lara 1991).

Uma planta resistente é aquela que devido a sua constituição genotípica é menos atacada que uma outra em igualdade de condições (Rosseto 1973). A resistência de plantas pode ser classificada em três tipos: antibiose, tolerância e antixenose ou não preferência. Segundo Bueno *et al.* (2001), o tipo de resistência por antibiose ocorre quando o inseto se alimenta normalmente da planta e esta exerce um efeito adverso sobre a sua biologia, afetando direta ou indiretamente o seu potencial de reprodução; algumas das causas da antibiose são: toxinas, inibidores do crescimento e/ou reprodução, falta ou deficiência de um elemento nutritivo, especialmente na relação carboidrato-aminoácido. Alguns dos efeitos adversos sobre os insetos caracterizam-se pela morte das formas jovens, especialmente nos instares iniciais, pequeno tamanho e baixo peso, baixa fecundidade das fêmeas, redução da longevidade (Painter 1968).

A capacidade da própria planta para suportar ou recuperar-se das injúrias ocasionadas por uma população de insetos, a qual normalmente causaria prejuízos a uma outra planta suscetível é denominada de tolerância (Lara 1991). Este tipo de resistência depende primordialmente da própria planta e não da relação inseto-planta, mas o ambiente pode influenciar este tipo de

resistência, pois as plantas mais vigorosas podem tolerar melhor um ataque de pragas (Bueno *et al.* 2001).

A não-preferência se dá quando uma planta é menos preferida pelo inseto que outra em igualdade de condições, para alimentação, oviposição ou abrigo. De acordo com Kogan & Ortman (1978), o termo “antixenose” melhor representa o comportamento da não preferência por tratar-se de qualquer efeito adverso da planta sobre o comportamento do inseto. Contudo, a expressão “não preferência” continua a ser a mais utilizada por pesquisadores da área (Bastos *et al.* 2008).

Desde que o bicudo-do-algodoeiro foi detectado atacando o algodoeiro em 1885, muitas tentativas vêm sendo feitas visando à identificação de plantas com resistência a este inseto. Em algumas pesquisas já desenvolvidas, vários genótipos apresentaram diferença significativa para preferência e oviposição, porém não resultaram em níveis econômicos de supressão quando testadas em condições de campo (Lukefahr & Vieira 1986).

Entre as alternativas de manejo do bicudo-do-algodoeiro, plantas com características morfológicas e fenologia modificada vêm sendo estudadas visando à resistência da planta e o controle do bicudo-do-algodoeiro. Modificações morfológicas como maior pilosidade, coloração de folhas e estruturas reprodutivas, modificações de folhas e brácteas, bem como modificações fenológicas, a exemplo de frutificação vigorosa e precoce são consideradas importantes no manejo do bicudo-do-algodoeiro (Gannaway 1994).

Nos trabalhos desenvolvidos por Jones *et al.* (1986) foi dada ênfase nos caracteres de não preferência como folha vermelha (talo e folha), bráctea "frego", reduzido número de anteras, copa mais aberta propiciado por plantas com folha "okra" (folha similar a folha de quiabo), esterilidade masculina e pilosidade. Estas características ocasionaram menor preferência para oviposição do bicudo-do-algodoeiro em testes de laboratório. A característica bráctea "frego" significa brácteas de formato alongado, estreitas e retorcidas, ficando em posição ortogonal ao eixo da maçã,

tornando a maçã desprotegida pela bráctea e, assim, menos preferida pelos adultos do bicudo-do-algodoeiro.

### **Interação inseto-planta mediada por voláteis**

Os agroecossistemas consistem em complexas relações tróficas entre plantas hospedeiras, herbívoros e seus inimigos naturais. Os mecanismos de ação utilizados em diferentes níveis tróficos são complexos e sua eficiência irá depender de estratégias corretas de proteção e busca de hospedeiros, os quais devem envolver o menor gasto energético possível.

As relações ecológicas dos insetos com diferentes organismos nos agroecossistemas ocorrem principalmente através da comunicação química, sendo os compostos químicos envolvidos nessa comunicação chamados de semioquímicos (Vilela & Pallini, 2002). Ainda, os compostos envolvidos nas interações intraespecíficas são chamados de feromônios, enquanto aqueles envolvidos nas interações interespecíficas de aleloquímicos (Nordlund & Lewis 1976). Os semioquímicos são responsáveis por reações comportamentais específicas entre esses indivíduos (Dicke & Sabelis 1988). Através da percepção e emissão dos sinais químicos, os insetos são possibilitados de buscar alimento, encontrar parceiros para o acasalamento, escolher abrigo e local para oviposição, além de se defenderem contra predadores (Dicke & Van Loo 2000, Zarbin *et al.* 2009).

Estudos realizados com o intuito de compreender a comunicação química existente entre plantas e insetos herbívoros têm tido grande enfoque, haja vista que as substâncias envolvidas na comunicação entre estes organismos, por mediar as interações intra e inter-específicas, possuem inúmeras possibilidades de uso no manejo integrado de pragas (MIP) (Moraes *et al.* 2003). Nesse sentido, o uso de semioquímicos pode auxiliar os métodos convencionais de controle e monitoramento populacional de pragas (Vilela & Pallini 2002, Bastos *et al.* 2008).

As plantas podem diferenciar as injúrias mecânicas daquelas causadas por herbívoros, tendo em vista que, as primeiras desencadeiam respostas diferentes das injúrias causadas por herbívoros (Smith & Back 2013). As plantas identificam as secreções orais liberadas no ato da alimentação, bem como os fluidos liberados na oviposição pelos insetos (Loughrin *et al.* 1994, Mattiacci *et al.* 1995, Paré *et al.*, 1998). Assim, as plantas não permanecem passivas às injúrias causadas pelos herbívoros; elas se defendem através de mecanismos químicos, físicos e morfológicos, que podem afetar diretamente o desempenho dos mesmos (defesas diretas ou intrínsecas) ou auxiliar no recrutamento de inimigos naturais desses herbívoros (defesas indiretas ou extrínsecas) (Agrawal *et al.* 1999, 2005, Schoonhoven *et al.* 2005, Dicke 2009). A utilização de mecanismos de defesa indireta pelas plantas pode ocorrer através da liberação de compostos voláteis que atraem os inimigos naturais, ou ainda, pela presença de estruturas morfológicas nas plantas que favorecem a sua presença e manutenção. Esses mecanismos podem afetar o terceiro nível trófico resultando em interações tritróficas (Ahmad *et al.* 2004, D'Alessandro & Turlings 2005, Heil 2008).

A injúria provocada por herbívoros pode ativar os sistemas de defesa direta e indireta das plantas (De Moraes *et al.* 1998, 2001, Moraes *et al.* 2005, 2008). Após a chegada dos primeiros insetos herbívoros ocorrem mudanças na produção dos metabólitos secundários envolvidos na defesa induzida alterando o perfil de voláteis que podem ser usados como sinais químicos por outros insetos (Bruce *et al.* 2005, Adesso & McCauslane 2009). As misturas de voláteis emitidas por plantas atacadas por herbívoros são complexas, freqüentemente com mais de 200 compostos, muitos dos quais ocorrem como constituintes de menor importância (Dicke & Van Loon 2000). Além disso, o perfil dos voláteis produzidos por plantas cultivadas pode mudar dependendo da variedade e da fase fenológica da planta (Hare 2011). Muito embora as plantas possam emitir voláteis durante seu crescimento, a emissão é elevada e modificada de forma significativa durante o ataque por herbívoros (Arimura, *et al.* 2005, Kappers, *et al.* 2011). Os compostos voláteis

emitidos em resposta à herbivoria são derivados de processos bioquímicos complexos e que são comuns em várias espécies de plantas. Entre os compostos orgânicos voláteis mais comuns encontram-se os álcoois de seis carbonos, aldeídos, acetatos, monoterpenos, sesquiterpenos e compostos derivados do ácido chiquímico e álcoois saturados ou monoinsaturados (Turlings *et al.* 1998, Ferry *et al.* 2004, Schoonhoven *et al.* 2005).

A liberação de voláteis tem sido citada em muitas plantas, e está envolvida nas interações tróficas entre plantas e insetos, como por exemplo, entre lagartas e plantas, lagartas e parasitoides; ácaros de plantas e ácaros predadores; lagartas e percevejos predadores, entre outras (Dicke *et al.* 2000, Bruce *et al.* 2005, Baldwin 2010, Tamiru *et al.* 2011, McCormik *et al.* 2012). A liberação de voláteis atrativos, também, pode ocorrer quando a planta é exposta a fitormônios como o ácido jasmônico (AJ) (Halitschke 2001). A resposta específica do inseto, a atração do inimigo natural, ou a repelência do herbívoro, depende do nível de indução na planta (Horiuchi *et al.* 2003, Heil 2004, Gols *et al.* 2003); assim como da habilidade do inseto em discriminar diferentes misturas de voláteis emitidos (Dicke 1999).

As misturas de voláteis induzidos pela herbivoria podem variar quantitativamente e qualitativamente para uma mesma espécie de planta (Gouinguéné *et al.* 2001); embora possa apresentar alguns compostos em comum, como por exemplo, salicilato de metila e alguns terpenóides (Dudavera *et al.* 2006). Contudo, as diferenças entre essas misturas liberadas por uma mesma espécie de planta são, normalmente, menores do que as diferenças entre as misturas liberadas por espécies distintas de plantas (Tabayashi *et al.* 1991).

O comportamento de insetos herbívoros é com frequência integrado com a planta hospedeira, e essa integração pode ser observada nos efeitos induzidos pelas plantas hospedeiras na fisiologia e comportamento dos insetos, inclusive na reprodução, e pelas respostas de defesa das plantas ao ataque de insetos (Ceruti 2007). São esses artrópodes que mais utilizam odores para

desempenhar suas funções vitais como, seleção de plantas hospedeiras, agregação, escolha dos locais para oviposição, corte e acasalamento (Tegoni *et al.* 2004, Sant'Ana & Stein 2001).

A resposta dos herbívoros para os voláteis de plantas induzidos pela herbivoria pode ser vantajosa para os mesmos, uma vez que pode estar evitando competições intra-específicas, ou até mesmo evitando que estes herbívoros se desloquem para sítios aos quais predadores e parasitoides podem estar sendo atraídos. Por outro lado, inúmeras espécies de insetos herbívoros são conhecidamente atraídas pelos voláteis induzidos em plantas por herbivoria, a fim de encontrar plantas hospedeiras ou parceiros para acasalamento (Prokopy & Roitberg 2001). No caso do algodoeiro foi relatado que após a chegada dos primeiros indivíduos de *A. grandis* na lavoura, o recrutamento de novos indivíduos parece ser estimulado por um sinergismo entre o feromônio de agregação e os voláteis florais (Lloyd 1986, Rummel & Curry 1986). Dessa forma, os voláteis induzidos pela herbivoria tem sido alvo de muitas pesquisas, uma vez que estes além de guiar os inimigos naturais em direção a planta hospedeira atacada pelo inseto herbívoro, também atuam na mediação de uma série de interações ecológicas com potencial para desenvolvimento de novas estratégias de monitoramento dentro no manejo integrado de pragas (MIP).

### **Localização da planta pelo hospedeiro**

O processo de seleção do hospedeiro compreende várias etapas, a saber: a procura do hospedeiro, através da movimentação, utilizando recursos visuais e olfativos que ocorre de forma aleatória ou direcionada; em segundo lugar ocorre a seleção, através da visualização e discriminação das plantas alternativas utilizando tanto pistas visuais como químicas; em terceiro pode ocorrer a aceitação, quando o inseto se alimenta ou oviposita na planta de sua escolha; e por fim ocorre a preferência quando o inseto se alimenta ou oviposita mais de um vez na planta reconhecida como hospedeira (Schoonhoven *et al.* 2005).

A relação entre o bicudo-do-algodoeiro e sua planta hospedeira é de fato interessante uma vez que este inseto é oligófago e precisa encontrar um hospedeiro adequado para a produção do seu feromônio, para o acasalamento e posterior deposição dos ovos (Cross 1983). Os machos podem ser responsáveis pela localização de um hospedeiro adequado, onde após a localização, começam a liberar o feromônio de agregação que servirá como atrativo para ambos os sexos (Cross & Hardee 1968).

Segundo White & Rummel (1978) a colonização das lavouras pelo bicudo-do-algodoeiro que saem das áreas de refúgio de entressafra, não ocorre ao acaso. A migração parece ser uma resposta positiva dos adultos do bicudo-do-algodoeiro a plantas do algodoeiro com botões florais. Posteriormente, esta atração é intensificada pela produção de feromônio pelos primeiros bicudos que entraram nos campos e passaram a se alimentar dessas estruturas reprodutivas do algodoeiro.

Em vista do exposto os objetivos deste trabalho foram: i) estudar a preferência e o desenvolvimento do bicudo-do-algodoeiro em quatro genótipos de algodoeiro CNPA TB90, BRS Rubi, CNPA TB85 e CNPA TB15; ii) qualificar e quantificar a produção de compostos orgânicos voláteis de plantas submetidas ou não a herbivoria pelo bicudo-do-algodoeiro nas fases vegetativa e reprodutiva em dois destes genótipos (CNPA TB90 e BRS Rubi); iii) averiguar a resposta de adultos do bicudo-do-algodoeiro a esses voláteis em olfatômetro tipo Y.

### **Literatura citada**

**Addesso, K.M & H.J. Mcauslane. 2009.** Pepper weevil attraction to volatiles from host and nonhost plants. *Environ. Entomol.* 38: 216–224.

**Agrawal, A.A. 2005.** Future directions in the study of induced plant responses to herbivory. *Entomol. Exp. Appl.* 115: 97-105.

**Agrawal, A., S. Tuzun & E. Bent. 1999.** Induced plant defense: evolution of induction and adaptive phenotypic plasticity, p. 251-268. In A.A. Agrawal, S. Tuzun, & E. Bent. (eds),

Induced plant defenses against pathogens and herbivores: biochemistry ecology and agriculture. APS Press, Minnesota, 268p.

**Ahmad, F., M. Aslam & M. Razaq. 2004.** Chemical ecology of insects and tritrophic interactions. *J. Res. Sci.* 15: 181-190.

**Aquino, D.F. 2013.** Algodão prospecção para a safra 2012/2013. CONAB. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/camaras\\_setoriais/Algodao.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Algodao.pdf)> Acesso Jun/2013.

**Arimura, G.I., C. Kost & W. Boland. 2005.** Herbivore-induced, indirect plant defences. *Biochim. Biophys. Act.* 1734: 91-111.

**Baldwin, I.T. 2010.** Plant volatiles. *Curr. Biol.* 20: 392-397.

**Barbosa, S., R.B. Sobrinho & C. Campanhola. 1986.** O bicudo do algodoeiro no Brasil: ocorrência, distribuição geográfica e medidas de erradicação propostas, 7-29. In S. Barbosa, M.J. Lukefahr & R. Braga Sobrinho (eds.), *O bicudo do algodoeiro*. Brasília, EMBRAPA-DDT, 314p.

**Bastos, C.S. & J.B. Torres. 2006.** Controle biológico e o manejo integrado de pragas do algodoeiro. Embrapa Algodão, Campina Grande, PB, 63p.

**Bastos, C.S., F.A Suinaga, R.M. Vieira & E.F Lima. 2008.** Resistência do algodoeiro a artrópodes-praga, p. 357-411. In N.E.M. Beltrão & D.M.P. Azevedo (eds.), *O agronegócio do algodão no Brasil*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 355-412p.

**Beltrão, N.E.M., J.G. Souza, D.M.P. Azevedo & L.B. Nobrega. 1994.** Plasticidade morfofisiológica do algodoeiro herbáceo em função da queda induzida das estruturas de reprodução. Campina Grande: Embrapa- CNPA, 40p.

**Berenbaum, M. 1978.** Toxicity of a furanocoumarin to armyworms: a case of biosynthetic escape from insect herbivores. *Science* 201: 532-534.

**Bernays, E.A., R.L. Chapman. 1994.** Host-plant selection by phytophagous insects. Chapman and Hall, New York, 312p.

**Bruce, T.J.A., L.J. Wadhams & C.M. Woodcock. 2005.** Insect host location: a volatile situation. *Trends Pl. Sci.* 10: 269-274.

**Buainain, A.M & M.O. Batalha, 2007.** Cadeia produtiva do algodão Brasília, IICA: MAPA/SPA, 108 p.

**Bueno, L.C.S., A.N.G. Mendes & S.P. Carvalho. 2001.** Melhoramento de plantas: princípios e procedimentos. Lavras, UFLA, 282p.

- Busoli, A.C., J.J Soares, F.M. Lara. 1994.** O bicudo do algodoeiro e seu manejo. Jaboticabal, FUNEP, 32p.
- Castro, L.A.B. 1992.** Plantas transgênicas resistentes a insetos-perspectivas e limitações. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 27: 319-324.
- Ceruti, F.C. 2007.** Interações entre feromônio de insetos e semioquímicos de plantas. *Rev. Acad. Cur.* 5: 73-82.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2013a.** Acompanhamento de safra brasileira: grãos, safra 2012-2013, décimo segundo levantamento, setembro 2013, 30p. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_10\\_16\\_14\\_32\\_01\\_boletim\\_portugues\\_-\\_setembro\\_2013.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_10_16_14_32_01_boletim_portugues_-_setembro_2013.pdf)> Acesso:01/11/2013.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2013b.** Acompanhamento de safra brasileira: grãos, safra 2013/2014, segundo levantamento, novembro 2013, 71p. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_11\\_11\\_08\\_54\\_13\\_boletim\\_portugues\\_novembro\\_2013\\_-\\_ok.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_11_11_08_54_13_boletim_portugues_novembro_2013_-_ok.pdf)> Acesso: 02/12/2013.
- CONAB. 2012.** (Companhia Nacional de Abastecimento). Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2012/13 – terceiro levantamento – dezembro/2012. Brasília, CONAB, 29p.
- CONDEPE (Instituto de Planejamento de Pernambuco). 2002.** Anuário Estatístico de Pernambuco, 42:1-609.
- Cross, W.H. 1983.** Ecology of cotton insects with special reference to the boll weevil. In R.L Ridgway., E.P. Lloyd & W.H. Cross. (eds), Cotton insect management with special reference to the boll weevil. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Handbook No. 589. 612 p.
- Cross, W.H. & D.D. Hardee. 1968.** Traps for survey of overwintered boll weevil populations, P. 53-58. In P.E. Degrande (ed.), Bicudo do algodoeiro: manejo integrado. Dourados, UFMS/EMBRAPA – UEPAE, 141p.
- Cross, W.H. & H.C. Mitchell. 1969.** Distribution and importance of *Heterolaccus grandis* as a parasite of the boll weevil. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 62: 235-236.
- D’Alessandro, M & T.C.J. Turlings. 2005.** Advances and challenges in the identification of volatiles that mediate interactions among plants and arthropods. *The Analyst* 131:24-32.
- De Moraes, C.M., W.J. Lewis, P.W. Paré, H.T. Alborn & J.H. Tumlinson. 1998.** Herbivory-infested plants selectively attract parasitoids. *Nature* 393: 570-574.
- De Moraes., C.M., M.C. Mescheer & J.H. Tumlinson. 2001.** Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. *Nature* 410: 577-580.
- Degrande, P.E. 1991.** Aspectos biológicos do bicudo, p. 11-27. In P.E Degrande., (ed.), Bicudo do Algodoeiro: Manejo Integrado. Dourados, UFMS/EMBRAPA-UEPAE, 141p.

- Dicke, M & M.W. Sabelis. 1988.** Infochemical terminology based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? *Funct. Ecol.* 2:131-139.
- Dicke, M. 1999.** Are herbivore-induced plant volatiles reliable indicators of herbivore identity to plant foraging carnivorous arthropods? *Entomol. Exp. Appl.* 91: 131-142.
- Dicke, M. 2009.** Behavioural and community ecology of plants that cry for help. *Pl. Cell Environ.* 32: 654-665.
- Dicke, M., C. Schutte, H. Dijkman. 2000.** Change in behavioral response to herbivore-induced plant volatiles in a predatory mite population. *J. Chem. Ecol.* 26: 1497-1514.
- Dicke, M.; J.J.A & Van Loon. 2000.** Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomol. Exp. Appl.* 97: 237-249.
- Dickens, J.C., E.B. Jang, D.M. Light & A.R. Alford. 1990.** Enhancement of insect pheromone responses by green leaf volatiles. *Naturwissenschaften* 77: 29–31.
- Duravera, N., F. Negre, D.A. Nagegowda & I. Orlova. 2006.** Plant volatiles: Recent advances and future perspectives. *Crit. Rev. Pl. Sci.* 25: 417–440.
- Ehrlich, P.R. & Raven P.H. 1965.** Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586–608.
- Evangelista Júnior, W.S., J.S. Zanuncio Júnior & J.C. Zanuncio. 2006.** Controle biológico de artrópodes pragas do algodoeiro com predadores e parasitóides. *Rev. Bras. Ol. Fibr.* 10: 1147-1165.
- Evans, G. 1977.** The life of beetles. Allen & Unwin, London, 232p.
- Ferry, N., M.G Edwards J.A Gatehouse, A.M.R. Gatehouse 2004.** Plant-insect interactions: molecular approaches to insect resistance. *Curr. Opin. Biotechnol.* 15: 155-161.
- Fontes, E.M.G., F.S. Ramalho, E. Underwood, P.A.V. Barroso, M.F. Simon, E.R. Sujii, C.S.S. Pires, N. Beltrão, W.A. Lucena & E.C. Freire. 2006.** The cotton agricultural context in Brazil, p. 21-66. In A. Hilbeck, D.A. Andow & E.M.G. Fontes (eds.), *Environmental risk assessment of genetically modified organisms*. Wallingford, CABI Publishing, 373p.
- Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E.B. Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia agrícola*. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Gannaway, J. R. 1994.** Breeding for insect resistance, p. 431–453. In G.A. Matthews & J. P. Tunstall (eds.), *Insect pests of cotton*. Willingford, CAB International, 593p.

- Godim, D.M.C., B. Jean-Louis, P. Silvie, N. Peiti. 2001.** Manual de identificação das pragas, doenças, deficiências minerais e injúrias do algodoeiro no Brasil. 3ª ed. Cascavel, COODETEC/CIRAD-CA. 120p.
- Gols, R., M. Roosjen, H. Dijkman & M. Dicke. 2003.** Induction of direct and indirect plant responses by jasmonic acid, low spider mite densities, or a combination of jasmonic acid treatment and spider mite infestation. *J. Chem. Ecol.* 29: 2651-2666.
- Gouinguéné, S., T. Degen & T.C.J Turlings. 2001.** Variability in herbivore-induced odour emissions among maize cultivars and their wild ancestors (teosinte). *Chemoecology* 11: 9-16.
- Halitschke, R., U. Schittko, G. Pohnert, W. Boland. & I.T. Baldwin. 2001.** Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. *Pl. Physiol.* 125: 711-717.
- Haney, P.B., W.J. Lewis & W.R. Lambert. 2009.** Cotton production and the boll weevil in Georgia: history, cost of control, and benefits of eradication. College of Agricultural and Environmental Sciences, The University of Georgia, Athens, GA, 60p.
- Hare, J.D. 2011.** Ecological role of volatiles produced by plants in response to damage by herbivorous insects. *Annu. Rev. Entomol.* 56: 161-180.
- Heil, M. 2008.** Indirect defense via tritrophic interactions. *New Phytol.* 178: 41-61.
- Heil, M. 2004.** Direct defense or ecological costs: responses of herbivorous beetles to volatiles herbivore released by wild lima bean (*Phaseolus lunatus*). *J. Chem. Ecol.* 30: 1298-1295.
- Horiuchi, J. I., G.I. Arimura, R. Ozawa, T. Shimoda, M. Dicke, J. Takabayashi & T. Nishioka. 2003.** Lima bean leaves exposed to herbivore-induced conspecific plant volatiles attract herbivores in addition to carnivores. *Appl. Entomol. Zool.* 38: 365-368.
- Jones, J.E., J.B. Weaver & M.F. Shuster. 1986.** Plantas resistentes ao bicudo. O bicudo do algodoeiro. Brasília, EMBRAPA, DDT, 314p.
- Kappers, I. F.,H. Hoogerbrugge, H. J. Bouwmeester & M. Dicke. 2011.** Variation in herbivory-induced volatiles among cucumber (*Cucumis sativus* L.): varieties has consequences for the attraction of carnivorous natural enemies. *J. Chem. Ecol.* 37: 150-160.
- Kogan, M., E.F. Ortman. 1978.** Antixenosis- A new term proposed to define Painter's " Non preference" modality of resistance. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 24: 175-176.
- Kohel, R.J. 1974.** Influence of certain morphological characters on yield. *Cotton Growth Rev.* 51: 281-292.
- Lara, F.M. 1991.** Princípios de resistência de plantas a insetos. 2 ed., São Paulo, Ícone, 336p.

- Leggett, J.E. 1986.** Uso de armadilhas de feromônio para levantamento e detecção e controle do bicudo, p. 145-158. In S. Barbosa, M.J. Lukefahr & R. Braga Sobrinho (eds.), O bicudo do algodoeiro. Brasília, EMBRAPA-DDT, 314p.
- 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.
- Loughrin J.H., A. Manukian, R.R. Heath, T.C.J. Turlings & J.H. Tumlinson. 1994.** Diurnal cycle of emission of induced volatile terpenoids by herbivore-injured cotton plants. Proc. Natl. Acad. Sci. 91: 11836-11840.
- Lukefahr, M.J & R.M. Vieira. 1986.** New sources of boll weevil resistance in primitive race Stokes of *Gossypium hirsutum*, p. 493-495. In Beltwide Cotton Production Research Conference, Las Vegas, Nevada (CD-Rom).
- Martin, D.F., S. Barbosa & C. Campanhola. 1987.** Observações preliminares e comentários sobre o bicudo do algodoeiro, no Estado de São Paulo. Jaguariúna, EMBRAPA-CNPDA, 21p.
- Mattiacci, L., M. Dicke & M.A Posthumus. 1995.**  $\beta$ -Glucosidase: an elicitor of herbivore-induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. Proc. Natl. Acad. Sci. 92: 2036-2040.
- McCormick A.C., S.B. Unsicker & J.Gershenson. 2012.** The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. Trends Pl. Sci. 17: 303-310.
- Miranda, J.E. 2013.** Perdas por pragas e impacto sobre o custo de produção do algodão brasileiro nas safras 2011/12 e 2012/13. In IX Congresso Brasileiro de Algodão, Brasília, DF (CD-Room).
- Moraes, M.C.B., L.M.P. Souza, R. Laumann & M. Borges. 2003.** Metodologia para estudo de semioquímicos e a sua aplicação no manejo de pragas. A influência de soja no comportamento do parasitoide *Telenomus podisi*. Brasília, Embrapa, 6p.
- Moraes, M.C.B., M. Pareja, R.A. Laumann, C.B. Hoffmann-Campo & M. Borges, 2008.** Response of the parasitoid *Telenomus podisi* to induced volatiles from soybean damaged by stink bug herbivory and oviposition. J. Pl. Interact. 3: 118-118.
- Moraes, M.C.B., R. Laumann, E.R. Sujii, C. Pires & M. Borges. 2005.** Induced volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the neotropical brow stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the egg parasitoid, *Telenomus podisi*. Entomol. Exp. Appl. 115: 227-237.
- Neves, R.C.S. 2013.** Práticas alternativas para detecção e controle do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae). Tese Doutorado. Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 99p.

- Neves, R.C., J.B. Torres, E.M. Barros & F. Colares. 2010a.** Descarte da parte apical do algodoeiro visando o controle de pragas. Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 4p (Informativo REDALGO 003).
- Neves, R.C.S., J.B. Torres & M.N.B. Silva. 2010b.** Época apropriada para a poda apical do algodoeiro para o controle de pragas. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 45: 1342-1350.
- 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.
- Nordlund, D.A, W.J Lewis. 1976.** Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *J. Chem. Ecol.* 2:211-220.
- Painter, R.H. 1968.** Insect resistance in crop plants. New York, MacMillan, 520p.
- Paré, P.W & Tumlinson, J.H. 1998.** Cotton volatiles synthesized and released distal to the site of insect damage. *Phytochemistry* 47: 521–526.
- Praça, L.B. 2007.** *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae). Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 23p.
- Prokopy, R.J. & B.D. Roitberg, 2001.** Joining and avoidance behavior in non-social insects. *Annu. Rev. Entomol.* 41: 631-665.
- Ramalho, F.S. & J.R.B Silva. 1994.** Período de emergência e mortalidade natural do bicudo-do-algodoeiro. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 28: 1221-1231.
- Ramalho, F.S. & P.A. Wanderley. 1996.** Ecology and management of cotton boll weevil in south America cotton. *Am. Entomol.* 42: 41- 47.
- Ramalho, F.S., A.M.C. Silva, J.C. Zanuncio & J.E Serrão. 2007.** Competition between *Catolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae) and *Bracon vulgaris* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of the boll weevil. *Braz. Arch. Biotechnol.* 50: 371-378.
- 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. Embrapa Pecuária Oeste, Dourados, MS, 16p.
- Röse, U.R.S.; W.J. Lewis, J.H. Tumlinson. 1998.** Specificity of systemically released cotton volatiles as attractants for specialist and generalist parasitoid wasps. *J. Chem. Ecol.* 24:303-319.
- Rosseto, C.J. 1973.** Resistência de plantas a insetos. ESALQ-USP, Piracicaba-SP, (Mimeografado).171p.

- Rummel, D.R., G.L. Curry. 1986.** Dinâmica populacional e níveis de dano econômico. O Bicudo do Algodoeiro. Brasília, Embrapa DDT, 20p
- Sant'ana, J & K. Stein. 2001.** Extração e identificação de substâncias bioativas de insetos. 47-74. In J.T.B. Ferreira, A.G. Corrêia & P.C. Vieira (eds), Produtos naturais no controle de insetos. Série textos da Escola de Verão em Química. São Carlos, Editora da UFSCAR, 176p.
- Santos, R.L., R.C.S. Neves, F. Colares & J.B. Torres, 2013.** Parasitoides do bicudo *Anthonomus grandis* e predadores residentes em algodoeiro pulverizado com caulim. Semina: Ciências Agr. 34: 93–98.
- 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.
- Santos, W.J. 1991.** Estratégia para o combate do bicudo do algodoeiro no estado do Paraná, p. 53-58. In P.E. Degrande (ed.), Bicudo do algodoeiro: manejo integrado. Dourados, UFMS/EMBRAPA, UEPAE, 141p.
- Saran, P.E & W.J. Santos. 2007.** Manual de pragas do algodoeiro: Identificação, biologia, sintomas e danos. São Paulo, FMC, 280p.
- Schoonhoven, L.M, J.J Van Loon & M. Dicke. 2005.** Insect plant biology. 2nd ed. Oxford University Press, Oxford, 421p.
- 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. 2010.** Do boll weevils really diapause? Am. Entomol. (Summer): 100-105.
- 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.
- Silva, A.G.A., C.R. Gonçalves, D.M. Galvão, A.J.L. Gonçalves, J. Gomes, M. Silva & L. Simoni. 1968.** Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil. Seus parasitos e predadores. Parte 2, Tomo 1º, insetos, hospedeiros e inimigos naturais. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 622p.

- Smith, L & J.J. Beck. 2013.** Effect of mechanical damage on emission of volatile organic compounds from plant leaves and implications for evaluation of host plant specificity of prospective biological control agents of weeds. *Biocontrol. Sci. Tecnol.* 23: 880-907.
- Soares, J.J. & P.T. Yamamoto. 1993.** Comportamento de oviposição de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) em diferentes níveis de infestação natural. *An. Soc. Entomol. Brasil* 22: 333-339.
- Sobrinho, B.R., M. J. Lukefahr. 1983.** Bicudo (*Anthonomus grandis* Boheman). Nova ameaça a cotonicultura brasileira - biologia e controle. Campina Grande, EMBRAPA-CNPA, 32p. (Documentos, 22).
- Stipanovic, R.D., J.D. Lopez, M.K. Dowd, L.S. Puckhaber & S.E. Duke. 2006.** Effect of racemic and (+)- and (-)-gossypol on the survival and development of *Helicoverpa zea* larvae. *J. Chem. Ecol.* 32: 959-968.
- Stipanovic, R.D., D.W. Altman, D.L. Begin, G.A. Greenblatt & J.H. Benedict. 1988.** Terpenoid aldehydes in upland cottons: analysis by aniline and HPLC methods. *J. Agric. Food Chem.* 36: 509-515
- Strong, D. R., J.H. S. Lawton & T.R.E. Southwood. 1984.** *Insects on plants.* Cambridge, Harvard University Pres, 313p.
- Tabayahshi, J., M. Dicke & M.A Posthumus. 1991.** Variation in composition of predator attracting allelochemicals emitted by herbivore-infested plants: Relative influence of plant and herbivore. *Chemoecology* 2: 1-6.
- Tamiru A., T.J.A. Bruce, C.M. Woodcock, J.C. Caulfield, C.A.O. Midega, C.K.P.O. Gol, P. Mayon, M.A. Birkett, J.A. Pickett & Z.R. Khan. 2011.** Maize landraces recruit egg and larval parasitoids in response to egg deposition by a herbivore. *Ecol. Lett.* 14:1075–1083.
- Tegoni, M., V. Campanacci & C. Cambillau. 2004.** Structural aspects of sexual attraction and chemical communication in insects. *Trends Bioch. Sci.* 29:257-264.
- 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.
- Torres, J.B. 2008.** Controle de pragas do algodoeiro: expectativas de mudanças. *Ciênc. Agríc.* 8: 37-49.
- Torres, J.B., C.S. Bastos & E.M. Barros. 2013.** Controle cultural como método de convivência com as pragas do algodoeiro. In IX Congresso Brasileiro de Algodão, Brasília, DF (CD-Room).
- Tumlinson, J.H., D.D. Hardee, R.C. Gueldner, A.C. Thompson, P.A. Hedin & J.P. Minyard. 1969.** Sex pheromones produced by male boll weevils: Isolation, identification, and synthesis. *Science* 166: 1010-1012.

- Turlings, T.C.J., U.B Lengwiler, M.L. Bernasconi & D. Wechsler. 1998.** Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. *Planta* 207: 146-152.
- USDA. 2013.** United States Department of Agriculture. Cotton:World Markets and Trade. Foreign Agricultural Service Approved by the World Agricultural Outlook Board/USDA. Disponível em:<<http://usda01.library.cornell.edu/usda/current/cotton-market/cotton-market-06-12-2013.pdf>.> Acesso 06/2013.
- Vilela, E.F & A. Pallini. 2002.** Uso de semioquímico no controle biológico de pragas, p. 529-542. In J.R.P Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento (eds.), Controle biológico no Brasil: predadores e parasitóides. São Paulo, Manole, 585p.
- Wanderley, P.A. 1998.** Biologia e exigências térmicas de *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae), parasitóide do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). Dissertação de mestrado, Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 107p.
- White, J.R & D.R. Rummel. 1978.** Emergence profile of overwintered boll weevils and entry into cotton. *Environ. Entomol.* 7: 7-14.
- Zarbin, P.H.G., M.A.C.H. Rodrigues, E.R.Lima. 2009.** Feromônio de insetos tecnologia e desafios para um agricultura competitiva no Brasil. *Quim. Nova* 32: 722-731.

## CAPÍTULO 2

### INTERAÇÃO DE *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) E GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO: RESPOSTA BIOLÓGICA E COMPORTAMENTAL<sup>1</sup>

JULIANA B. SILVA<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

---

<sup>2</sup>Silva, J.B. Interação de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) e genótipos de algodoeiro: resposta biológica e comportamental. A ser submetido.

RESUMO – O bicudo-do-algodoeiro é uma praga chave da cultura. O conhecimento do comportamento de escolha da planta hospedeira e aos voláteis emitidos por genótipos do algodoeiro atacados pela praga poderá subsidiar o seu manejo pela resistência de plantas, melhoria dos métodos de monitoramento populacional e de coleta massal. Este trabalho estudou a resposta do bicudo-do-algodoeiro a quatro genótipos de algodoeiro (CNPA TB90, CNPA TB85, CNPA TB15 e BRS Rubi) quanto a preferência para alimentação, oviposição e desenvolvimento da fase imatura. Além disso, para os genótipos CNPA TB90 e BRS Rubi foi identificado e avaliado o perfil químico dos compostos orgânicos voláteis liberados por plantas submetidas ou não a herbivoria de 24 a 96h, bem como a resposta do inseto a esses voláteis em oftatômetro do tipo Y. O bicudo-do-algodoeiro não mostrou preferência para os genótipos em estudo, mas apresentou um prolongamento no tempo de desenvolvimento e adultos menores quando desenvolvidos no genótipo CNPA TB85. O perfil dos voláteis liberados pelos genótipos CNPA TB90 e BRS Rubi apresentou semelhança qualitativa e diferença quantitativa em relação a herbivoria e a fase fenológica da planta. Na fase reprodutiva, plantas submetidas a herbivoria liberaram maior concentração de compostos em comparação às plantas na fase vegetativa sem herbivoria. A resposta do bicudo-do-algodoeiro foi positiva aos voláteis de plantas após 96h de herbivoria. Os resultados ajudam a explicar a baixa captura de bicudos em armadilhas com feromônio durante a fase reprodutiva da planta e as dificuldades da obtenção de genótipos com resistência a esta praga.

PALAVRAS-CHAVE: Bicudo-do-algodoeiro, herbivoria, ecologia química, voláteis de plantas  
resistência de plantas

INTERACTION OF *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) AND  
COTTON GENOTYPES: BIOLOGICAL AND BEHAVIORAL RESPONSES

ABSTRACT – The boll weevil is a key pest of cotton. The knowledge about boll weevil feeding and oviposition behavior and its response to plant volatile can help to understand the host plant resistance, monitoring and mass capture. The boll weevil response to four cotton genotypes (CNPA TB90, CNPA TB85, CNPA TB15 and BRS Rubi) regarding oviposition preference and immature development were investigated. Furthermore, organic compound volatiles (VOC) produced by CNPA TB90 and BRS Rubi genotypes was determined with plants under boll weevil injury at two developmental stages (vegetative and reproductive) and investigated the effect of the plant volatile extract on boll weevil olfactory response using an Y-tube olfactometer. The boll weevil exhibited similar feeding and oviposition behavior across the four tested cotton genotypes, although delayed development and production of smaller adults was found when fed CNPA TB85. The VOC compounds was similar qualitatively between cotton genotypes and under boll weevil injury across the two developmental stages, but differed in the amount of volatile produced. Plants in the reproductive stage produced more VOC compared to plants in the vegetative stage and the difference was enhanced by the injury. Boll weevil responses in Y-olfactometer was positive to the extracts of volatiles obtained from plant under injury at 96h of collection period. The results help to understand the lower response of boll weevil to pheromone trap during the reproductive stage of cotton plants in the field, and how is difficult to obtain cotton genotypes with resistance to this pest.

KEY WORDS: Boll weevil, herbivory, chemical ecology, plant volatiles, host plant resistance

## Introdução

Muitas espécies de plantas produzem compostos orgânicos voláteis após sofrerem herbivoria, ou até mesmo, pelo simples fato de terem sido alvo da oviposição (Hare 2007, Gulan & Cranston 2008, Dicke & Baldwin 2010). Além da emissão de voláteis induzidos pela herbivoria que podem funcionar como repelentes ou atraentes para herbívoros; as plantas submetidas a herbivoria podem também aumentar a produção de compostos secundários capazes de reduzir a alimentação dos herbívoros servindo como deterrentes alimentares e, conseqüentemente, afetar o seu desempenho (Benarsoni *et al.* 1998).

As respostas induzidas que são ocasionadas após a herbivoria nas plantas são denotadas pela redução na qualidade nutricional da planta, indução de proteínas de defesa, como redutores da digestibilidade, repelentes, inibidores de proteases, que reduzem a disponibilidade de nutrientes e, conseqüentemente afetam negativamente o desenvolvimento dos herbívoros, além da produção de metabólitos tóxicos (aleloquímicos), como a nicotina ou furanocumarinas, que podem matar herbívoros generalistas não adaptados (Karban & Baldwin 1997, Walling 2000, Schoonhoven *et al.* 2005, Gulan & Cranston 2008, Arimura *et al.* 2009). Por outro lado, insetos especialistas, podem utilizar os mesmos compostos induzidos pela herbivoria para aumentar a atratividade pela planta hospedeira e seu desempenho (Bolder *et al.* 1997, Adesso *et al.* 2009, Szendrei *et al.* 2009, Adesso *et al.* 2011, Magalhães *et al.* 2012).

A composição dos compostos orgânicos voláteis (COVs) liberados após a herbivoria apresenta grande variabilidade e depende da espécie da planta, do genótipo, partes da planta, o estágio fenológico, o tipo de herbívoro e sua idade e ao tipo de herbivoria ocasionada (Rostás & Eggert 2008, Yoneya *et al.* 2009, Hare 2011, Michereff *et al.* 2011, Kappers *et al.* 2011). Os voláteis emitidos também podem ser afetados por fatores abióticos como umidade do solo e ar, fotoperíodo, intensidade luminosa e nível de adubação (Gouinguéné & Turlings 2002). Os

voláteis produzidos, por sua vez, são utilizados como sinais facilitadores para encontrar indivíduos da mesma espécie, ou auxiliar inimigos naturais na busca pelos hospedeiros e presas. Esses sinais, também, servem para detectar a presença de competidores no ambiente fazendo com que insetos evitem ambientes já colonizados (ex. plantas atacadas) (Kalberer *et al.* 2001, Meiners *et al.* 2005, Mérey *et al.* 2013). Um fato importante é que herbívoros exploram os voláteis como sinais, reduzindo seu tempo de forrageamento, minimizando os custos de busca e exposição aos fatores de mortalidade (Stamps & Krishnan 2005). Assim, os compostos orgânicos voláteis induzidos pela herbivoria podem provocar mudanças comportamentais nos diversos agentes da comunidade (Poelman *et al.* 2012).

Durante o período de produção de botões florais pela planta do algodoeiro, o número de insetos capturados nas armadilhas com feromônio sexual e de agregação “grandlure” reduz consideravelmente (Rummel & Curry 1986, Lloyd 1986, Neves 2013). No início desse processo as plantas exercem papel importante no comportamento do bicudo-do-algodoeiro saindo dos refúgios e colonizando as lavouras (Rummel & Curry 1986). A medida que os machos passam a se alimentar dos botões florais ocorre aumento na produção do feromônio, intensificando a agregação de machos e fêmeas na área (Leggett 1986, White & Rummel 1978). Através das técnicas de eletroantenografia e olfatometria, Dickens (1984, 1989) demonstrou que o bicudo é atraído por voláteis de folhas verdes do algodoeiro. De acordo com Dickens (1990) neurônios receptores do bicudo foram capazes de reconhecerem odores de sua planta hospedeira. Estes estudos subsidiam a hipótese de que voláteis induzidos pela herbivoria do bicudo-do-algodoeiro podem mediar comportamentos interessantes para a elaboração de medidas de monitoramento e controle da praga.

O bicudo-do-algodoeiro é um inseto oligófago que dispersa a grandes distâncias em busca da planta hospedeira e refúgio e, assim, utiliza substâncias químicas olfativas emitidas pela planta.

Fato este que maior captura do bicudo-do-algodoeiro em armadilhas com o feromônio foi observado quando adicionado os voláteis do algodoeiro como  $\beta$ -cariofileno, (*E*)-2-hexen-1-ol e (*E*)- $\beta$ -ocimeno (Dickens 1990). Os adultos do bicudo-do-algodoeiro colonizam as lavouras de algodão predominantemente quando as plantas produzem os primeiros botões florais (Neff & Vanderzant 1963, Smith *et al.* 1965) e a oviposição nestes botões induz a abscisão acentuada destas estruturas após cinco a oito dias (White & Rummel 1978, Showler 2008, Neves *et al.* 2013), sendo uma causa direta da redução da produção. Apesar da adoção intensiva de pulverizações com inseticidas (Miranda 2013, Lima Junior *et al.* 2013), a eficácia dessas e de outras medidas de controle são reduzidas porque o seu desenvolvimento (ovo, larva e pupa) ocorre no interior dos botões florais e maçãs. Portanto, devido à dificuldade de controle após o estabelecimento do bicudo-do-algodoeiro na lavoura, uma forma de minimizar o problema é reduzir a colonização das lavouras pela praga interferindo no processo de localização e aceitação da planta como hospedeiro.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi investigar as seguintes hipóteses: (i) O genótipo algodoeiro CNPA TB90 apresenta efeito adverso na preferência e no desenvolvimento do bicudo-do-algodoeiro, (ii) a produção de voláteis devido a herbivoria do bicudo-do-algodoeiro varia entre genótipos em estudo, de acordo com a idade da planta e, (iii) voláteis produzidos pela planta atacada interferem no comportamento de atração do bicudo-do-algodoeiro.

### **Material e Métodos**

Plantas de algodão dos genótipos: CNPA TB90, CNPA TB85, CNPA TB15 e BRS Rubi foram cultivadas em casa telada no Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). As sementes de BRS Rubi foram oriundas de plantas mantidas no campo experimental da mesma instituição, enquanto as demais foram obtidas junto a Embrapa Algodão,

Campina Grande, PB. O plantio foi realizado em microparcels de concreto (0,5m de altura e 1,0m de diâmetro) preenchidos com solo até 20 cm da borda superior. Três plantas de algodão foram cultivadas em cada microparcela. As plantas receberam adubação no plantio com fertilizante NPK (04-14-08), e aos 15 e 30 dias após a emergência foi realizado adubação de cobertura com uma solução de sulfato de amônia (10g/L).

Os adultos do bicudo-do-algodoeiro utilizados neste experimento foram provenientes de plantas infestadas de algodão da cultivar CNPA 7H mantidas no campo experimental da UFRPE. Semanalmente botões florais e maçãs atacadas foram coletadas, acondicionadas em potes plásticos de 500 mL e monitorados para a emergência de adultos em condições de laboratório. Após a emergência, machos e fêmeas foram separados com base na morfologia final do abdome conforme descrito em Sappington & Spurgeon (2000) com auxílio de estereomicroscópio binocular (Motic, SMZ-168). Os adultos foram alimentados com folhas cotiledonares de algodoeiro durante cinco dias quando foram agrupados em uma caixa de acrílico 40x25x20cm (comprimento x altura x largura) para o acasalamento. No momento do pareamento, os casais foram transferidos para placas de Petri (3cm de diâmetro) contendo alimento, o qual consistiu de ponteiros de algodoeiro e permaneceram por 72h. Após este período, as fêmeas foram retiradas para a utilização nos estudos.

**Preferência de Oviposição de *Anthonomus grandis* entre Genótipos de Algodoeiro.** O experimento foi conduzido no Laboratório de Comportamento de Insetos da UFRPE, bem como em casa telada localizada na Área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da UFRPE. Em laboratório, a temperatura e o fotoperíodo foram regulados para 25 °C e 13h de luz e a umidade relativa do ambiente variando entre 67 a 75%, respectivamente. Na casa telada as condições de temperatura e de umidade relativa foram monitoradas a intervalos de 30 minutos empregando Datalogger HOBO® (Onset Computer Coop, Bourne, MA, EUA) e foram, em média

( $\pm$  desvio padrão),  $27,2 \pm 5,1$  °C e  $76,7 \pm 14,9\%$  e fotoperíodo natural médio no período de 12,8h de luz.

Em laboratório, o estudo foi conduzido empregando recipientes plásticos de 500mL com tampa contendo abertura circular coberta com tecido *voal* para ventilação interna. Estes recipientes constituíram arena de exposição de botões florais para oviposição (Foto 1). Em cada recipiente foi adicionado água até 2cm de altura sobre a qual foi disposto um disco de isopor (10cm de diâmetro e 1cm de altura) com as bordas justamente encaixadas a parede interna do recipiente isolando as partes inferior e superior ao disco de isopor. Os discos tinham dois orifícios equidistantes onde foram colocados os pecíolos de botões florais do algodoeiro a serem testados, de maneira que os pecíolos ficassem em contato a água para mantê-los túrgidos durante o período de avaliação de 48h. Além disso, os botões florais a serem ofertados foram coletados momentos antes da montagem do experimento. Em seguida, no centro do recipiente foi liberada uma fêmea do bicudo-do-algodoeiro previamente acasalada e com 10 dias de idade.

O experimento foi constituído por três tratamentos, com e sem chance de escolha sendo 20 repetições por tratamento. Dois tratamentos foram correspondentes ao teste sem chance de escolha (CNPA TB90 vs. CNPA TB90 e BRS Rubi vs. BRS Rubi) e um tratamento com chance de escolha (CNPA TB90 vs. BRS Rubi). As avaliações foram realizadas 1h, 6h, 24h e 48h após a liberação das fêmeas no interior do recipiente, observando-se a presença (escolha) do inseto no botão floral.

Em casa telada, as plantas de algodoeiro dos genótipos CNPA TB90 e BRS Rubi foram cultivadas como previamente descrito, sendo duas plantas por microparcela. As plantas foram confinadas em gaiolas de tela antiafídica (1,4m de altura e 1,0m de diâmetro) suspensa em armação de vergalhão aos 46 dias após o plantio e utilizadas entre 50 e 60 dias de idade por ocasião do pico de produção de botões florais e primeiras maçãs em desenvolvimento. Duas

fêmeas do bicudo-do-algodoeiro, previamente acasaladas e com 10 dias de idade foram liberadas no interior das gaiolas permanecendo por três dias. Os tratamentos com chance de escolha foram: CNPA TB90 vs. BRS Rubi e sem chance de escolha foram: CNPA TB90 vs. CNPA TB90 e BRS Rubi vs. BRS Rubi, empregando oito repetições por tratamento (microparcelas). As avaliações procederam com a inspeção completa da planta quando anotou-se a presença do inseto nas plantas, número total de botões florais e número de botões com sinais de alimentação ou oviposição e número total de estruturas disponíveis por planta.



Foto 1. Arenas de escolhas confeccionadas com recipientes plásticos de 500mL empregadas no experimento de escolha em laboratório. Na parte superior direita é apresentado o exemplo do teste com chance de escolha e disposição dos botões florais.

**Desenvolvimento de *Anthonomus grandis* em Diferentes Genótipos de Algodoeiro.** Plantas de algodão dos genótipos CNPA TB90, CNPA TB85, CNPA TB15 e BRS Rubi cultivadas em microparcelas foram confinadas em gaiolas de tela antiafídica (1,4m de altura e 1,0m de diâmetro) suspensa em armação de vergalhão. Um total de 12 plantas foram empregadas por genótipo

(repetições). A gaiola possui uma abertura em toda sua extensão lateral fechada com Velcro<sup>®</sup>, o que permite o acesso ao seu interior para avaliação das plantas. Em seguida, duas fêmeas do bicudo-do-algodoeiro previamente acasaladas e com nove dias de idade foram liberadas em cada gaiola. As fêmeas após três dias de confinadas sobre as plantas foram retiradas e as plantas inspecionadas para a verificação de oviposição nos botões florais, os quais foram marcados. Os botões florais atacados sofrem abscisão entre cinco a oito dias após a oviposição (Showler & Cantú 2005). Assim, a duração média do desenvolvimento foi considerada como sendo o tempo a partir da data da coleta diária de botões florais atacados e caídos ao solo até à emergência do adulto. Os botões atacados e caídos foram levados para o laboratório e pesados em balança de precisão 0,0001g (Bioprecisa Eletronic, Modelo FA-2104N) e mantidos isolados em recipientes de 80mL até a emergência de adultos a 25 °C, fotoperíodo de 13h e umidade de 65%. No dia da emergência, os adultos foram sexados e pesados antes de qualquer alimentação.

**Identificação de Voláteis do Algodoeiro Submetido ou não à Herbivoria.** A aeração das plantas de algodoeiro para a coleta e identificação dos voláteis foi conduzido no Laboratório de Semioquímicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF; enquanto que a resposta olfativa do bicudo aos extratos de voláteis das plantas foi realizado no Laboratório de Comportamento de Insetos da UFRPE.

Plantas de algodoeiro dos genótipos CNPA TB90 e BRS Rubi foram cultivadas em casa-de-vegetação no período de 13/07/12 a 14/10/2012 na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. As plantas foram cultivadas em vasos de 5L contendo solo Latossolo vermelho, adubado com NPK (04-30-16 Nutriplant<sup>®</sup>) com 5g/vaso, onde também incorporou-se húmus de minhoca na proporção 2:1. As plantas receberam duas adubações de cobertura com sulfato de amônia (NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub>), sendo realizadas aos 15 e 30 dias após o plantio, empregando-se 4mL por vaso da solução de 20g/L de

sulfato de amônia. Durante o crescimento, as plantas permaneceram em casa-de-vegetação com circulação de ar e livre de pragas sob condições naturais de luminosidade e temperatura.

Os insetos utilizados na aeração das plantas submetidas a herbivoria foram provenientes da criação em dieta artificial de acordo com a metodologia descrita por Monnerat *et al.* (2000). Para a herbivoria das plantas foram empregadas fêmeas do bicudo-do-algodoeiro com 10 dias de idade e que permaneceram 24h sem alimento antes da exposição às plantas para igualar o nível de saciação, assim, obter aproximadamente similar quantidade de injúria nas plantas. As injúrias do bicudo-do-algodoeiro incluem alimentação em folhas e ponteiros causando pequenos furos feito com o rostro, o que não permite quantificar a área foliar para posterior correlacionar à quantidade de voláteis produzidos.

As aerações das plantas foram conduzidas em sala climatizada a 25 °C e umidade relativa de 65%. As plantas foram confinadas em câmaras de vidro de 50cm de altura e 17,5cm de diâmetro, com capacidade para 12L.

As plantas submetidas à aeração foram retiradas um dia antes da casa-de-vegetação e levadas para o laboratório. A superfície dos vasos contendo as plantas foi envolvida com papel alumínio visando a não contaminação das amostras com voláteis do solo. As aerações foram conduzidas com plantas em duas idades: fase vegetativa com no mínimo seis folhas expandidas e fase reprodutiva quando apresentando ao menos um botão floral desenvolvido. O solo presente no vaso foi umedecido antes de ser coberto com o papel alumínio e as plantas foram acondicionadas individualmente nas câmaras de vidro. Cada câmara, em forma de campânula, tem um pequeno orifício (1cm) na parte superior onde são conectados os tubos contendo o adsorvente, sendo um tubo por câmara. Antes das aerações, foram preparados tubos de vidro de 15cm de comprimento e 5mm de diâmetro preenchidos com 100mg do adsorvente porapak-Q (80-100 mesh, Supelco, USA), suportado por uma pequena porção de lã de vidro nas extremidades. Para o condicionamento prévio

do polímero adsorvente, os tubos permaneceram por 12h a uma temperatura de 250 °C fluxo constante de nitrogênio. A cada montagem de aeração os tubos contendo o adsorvente voltavam ao forno para condicionamento, onde permaneciam por 2h a uma temperatura de 180 °C.

No sistema de aeração, os tubos contendo os adsorventes são conectados a mangueiras de silicone, conectados ao sistema de vácuo. O fluxo de saída de ar é regulado por um fluxômetro com vazão de 0,6L/min. Lateralmente, na parte inferior da câmara, há um orifício para a entrada de ar, conduzido por mangueiras de teflon [politetrafluoretileno (PTFE)], os quais são conectados a um tubo de vidro de 12cm de comprimento e 5mm de diâmetro, contendo carvão ativado garantindo a entrada de ar purificado nas câmaras, regulada por um fluxômetro com vazão de 0,8L/min. Em cada câmara foi confinado uma planta de algodão. Para a obtenção da herbivoria foram liberadas duas fêmeas do bicudo-do-algodoeiro por planta/câmara. A aeração das plantas foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 x 2 totalizando seis tratamentos correspondentes aos dois genótipos (CNPA TB90 e BRS Rubi), duas idades de plantas (vegetativa e reprodutiva) e status de herbivoria (com herbivoria e sem herbivoria). Os voláteis foram coletados a cada 24h durante quatro dias consecutivos e com um total de 12 repetições por tratamento em cada fase fenológica estudada, totalizando 48 plantas.

Os tubos contendo os adsorventes provenientes da aeração foram retirados das câmaras para eluição dos compostos. Os compostos voláteis foram eluídos utilizando-se aproximadamente 2mL do solvente orgânico *n*-hexano. As amostras após a eluição foram pré-concentradas para 100µL sob fluxo suave de nitrogênio e armazenadas em frascos de vidro de 2mL devidamente identificados. Para a análise quantitativa dos compostos uma alíquota de 50µl foi separada e foi adicionado 1µL do padrão interno (PI) 16-hexadecanolactonana, concentração final de 0,108mg/mL. Após a adição do PI a amostra foi agitada em Vórtex. Os 50µl restantes da amostra inicial receberam 100µl de hexano

e foram armazenados em freezer a -20 °C até sua utilização nos bioensaios comportamentais com *A. grandis*.

As análises quantitativas foram conduzidas injetando 1µL de cada amostra em um cromatógrafo gasoso (Shimadzu 17A, coluna apolar DB-5 5% de difenil-dimetilpolisiloxano, 0,25mm de diâmetro x 30m de comprimento, filme 0,25µm, J&W Scientific, Folsom, CA, USA), equipado com detector de ionização por chama (CG-DIC) a 270 °C, injetor no modo splitless a temperatura de 250 °C, usando hélio como gás carreador. Para as análises foi utilizado temperatura inicial do forno a 50 °C ficando nesta temperatura por 2 minutos, depois a temperatura aumentou a uma taxa de 5 °C/min até chegar a 180 °C, permanecendo por 0,1 minuto, subindo em seguida a uma taxa de 10 °C/min até chegar a 250 °C, onde permaneceu por 20 minutos. A quantificação foi realizada usando o método do padrão interno, comparando a área do PI com a área das amostras, para todos os compostos, o fator de resposta do detector foi considerado como sendo igual a 1.

Para a identificação dos compostos foram escolhidas quatro amostras mais representativas de cada tratamento e foram injetadas no cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM) (Agilent 7890<sup>a</sup>-MSD7959MSD) , equipado com coluna apolar DB-5MS (60m x 0.32mm ID, 1.0µm film, Supelco, Bellefonte, PA, USA), ionização por impacto de elétrons (energia de ionização de 70eV) e analisador quadrupolar. Um microlitro dos extratos selecionados foram injetados no modo *splitless* e hélio foi usado como gás de arraste. O programa de temperatura e a coluna foram idênticos aos usados na análise por CG-DIC previamente descritos. Para identificação, o padrão de fragmentação dos compostos nos extratos foi comparado com o padrão de fragmentação de espectros da biblioteca de espectro de massas (NIST e Wiley database, 2008). As identificações foram confirmadas por comparação do índice de retenção e comparação do espectro de massas com padrões autênticos.

Os compostos  $\alpha$ -pineno (98%), canfeno (75%), benzotiazol (96%),  $\beta$ -pineno (99%), (*Z*)-3-acetato de hexenila (98%), limoneno (97%), benzaldeído, indol (98,5%), salicilato de metila,  $\alpha$ -copaeno (90%),  $\alpha$ -cariofileno e aloaromadendreno (90%) foram obtidos da Sigma Aldrich (Steinheim, Alemanha). Linalol e  $\beta$ -cariofileno foram adquiridos da TCI-América (Portland, EUA). Geranilacetona e *cis*-jasmona da TCI-Japão (Tóquio, Japão). Os compostos (*E*)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trieno (DMNT) e (*E,E*)-4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno TMTT fornecidos pelo Dr. Michael Birkett do Rothamsted Research (UK). O hexano foi obtido da Sigma Aldrich (Steinheim, Alemanha) e re-destilado antes do uso.

**Olfatometria com o Bicudo-do-Algodoeiro.** Os bioensaios de resposta olfativa foram realizados com adultos emergidos de botões florais e maçãs atacadas da cultivar NuOPAL RR<sup>®</sup>, provenientes de coletas realizadas no Município de Surubim, PE. A resposta olfativa foi avaliada a partir da utilização de machos e fêmeas com idade entre 5 e 10 dias. Os bioensaios foram conduzidos em olfatômetro tipo “Y” utilizando-se como fonte de odor extratos dos voláteis extraídos de plantas de algodoeiro dos genótipos CNPA TB90 e BRS Rubi, fase reprodutiva submetidas ou não a herbivoria pelos adultos do bicudo-do-algodoeiro nos tempos de coleta de 24 e 96h de aeração.

O olfatômetro utilizado consiste de uma placa manufaturada em acrílico (26cm x 23cm), apresentando na linha mediana uma cavidade de formato em “Y”. O corpo do Y antes da bifurcação mede 12cm, e cada braço apresenta 10cm de comprimento e 2,5cm de largura, com espessura de 1,5cm. Esta placa é mantida entre dois vidros de mesma dimensão para vedação e fixados por cliques de metal (Moraes *et al.* 2005).

Uma alíquota de 15 $\mu$ L dos extratos obtidos das plantas foi adicionado em papel de filtro (1,5cm x 1,5 cm; 89g/m<sup>2</sup> de gramatura; 0,18/0,19mm de espessura; e 14,7 $\mu$ m o valor médio dos poros, com volume de poros de 72%, CELAB) com auxílio de uma micropipeta. Em seguida, aguardou-se um tempo médio de 60s para que o solvente evaporasse do papel de filtro; então os

papéis impregnados com os extratos foram colocados dentro de seringas de vidro de 10mL, a qual foi conectada a um dos braços do olfatômetro através de mangueiras de Teflon. Uma bomba de aquário (ALEAS AIR-PUMP-AP9802, 3W) impulsionava o ar que primeiramente passava pelo carvão ativado visando a sua purificação e pelo umidificador antes de entrar no olfatômetro. O fluxo de ar foi regulado por fluxômetros (1L/min, KI<sup>®</sup>) posicionados em cada braço do olfatômetro, na vazão de 0,1L/min. Para regular a saída de ar do olfatômetro foi utilizada uma bomba de sucção (Bioblock Scientific<sup>®</sup>), também regulada por um fluxômetro com saída de vácuo de 0,2L/min.

Antes do início dos bioensaios, os insetos foram mantidos sem alimentação por 24h para que fosse estimulado seu comportamento de busca pela planta hospedeira. Assim, um adulto, macho ou fêmea do bicudo-do-algodoeiro, foi introduzido na área de liberação (braço ímpar) do olfatômetro, sendo esta área oposta a entrada de ar, e sua atratividade pelos odores ofertados em cada braço foi observado durante 10 minutos. A primeira escolha do inseto ao entrar em um dos braços pares do olfatômetro foi anotada, sendo considerada a primeira escolha quando o inseto caminhava por no mínimo 3cm ao longo de um dos braços e permanecia lá por no mínimo 20 segundos, além disso foi contabilizado o tempo total de permanência do inseto em cada um dos braços do olfatômetro (Magalhães *et al.* 2012). Cada inseto foi testado apenas uma vez e os filtros de papel contendo os extratos foram trocados a cada cinco repetições. Além disso, a disposição dos tratamentos foi trocado para eliminar os efeitos de posição da fonte de odor sobre a escolha dos insetos. A cada 20 repetições todo o aparato foi desmontado e o olfatômetro foi lavado com água e detergente neutro e, posteriormente, secado. Todos os bioensaios foram conduzidos entre 9:00 e 17:00h. Foram conduzidas um total de 40 repetições, sendo 20 machos e 20 fêmeas, com respostas para cada par de tratamento ofertado, a saber:

1. CNPA TB90 com herbivoria vs. hexano;

2. CNPA TB90 sadia vs. hexano;
3. BRS Rubi com herbivoria vs. hexano;
4. BRS Rubi sadia vs. hexano;
5. BRS Rubi sadia vs. CNPA TB90 sadia;
6. BRS Rubi com herbivoria vs. CNPA TB90 sadia;
7. BRS Rubi sadia vs. CNPA TB90 com herbivoria;
8. BRS Rubi com herbivoria vs. CNPA TB90 com herbivoria;
9. BRS Rubi com herbivoria vs. BRS Rubi sadia;
10. CNPA TB90 com herbivoria vs. CNPA TB90 sadia;

**Análises Estatísticas.** Para o experimento em laboratório os dados do número total de insetos por botão floral e o número de botões com alimentações foram submetidos ao teste de  $\chi^2$  testando a hipótese de igualdade de escolha entre genótipos (50:50%) empregando o Proc FREQ do SAS (SAS Institute 2001). Os experimentos de preferência em casa telada foram analisados através do teste de t pareado utilizando-se o Proc TTEST do SAS (SAS Institute 2001), comparando a preferência do inseto quanto a escolha do genótipo e a média do número de botões florais atacados, número de flores e maçãs.

Os dados de peso de botões florais caídos ao solo no dia de sua coleta, duração do desenvolvimento e peso de adultos machos e fêmeas foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade de variância, sendo que a duração do desenvolvimento e o peso de adultos necessitaram transformação em raiz ( $x + 0,5$ ) para atender os pré-requisitos da ANOVA. Os dados foram submetidos a ANOVA considerando como fatores principais os quatro genótipos do algodoeiro e o sexo do adulto pelo Proc GLM do SAS (SAS Institute 2001). Em seguida, os resultados foram submetidos ao teste de Tukey HSD a 5% de probabilidade para separação das médias entre genótipos. A duração do desenvolvimento e o peso de adultos emergidos foram associados como variáveis dependente do tamanho do botão floral para cada genótipo considerando genótipo como variável independente através de análise de regressão pelo Proc

REG do SAS (SAS Institute 2001). O modelo selecionado foi aquele que apresentou todos os parâmetros significativos, além de maior valor do coeficiente de determinação e explicação do fenômeno.

A mudança no perfil químico das plantas de algodão submetidas ou não à herbivoria ao longo do tempo de aeração, 24, 48, 72 e 96h, foi analisada através de Curvas de Respostas Principais (PRC) (Van Den Brink & Ter Braak, 1999, Moser *et al.* 2007, Michereff *et al.* 2011). A análise PRC foi aplicada separadamente para cada genótipo e fase fenológica das plantas de algodão. Em cada conjunto de análise, a significância foi determinada pelo teste de permutação de Monte Carlo (número de permutações = 999). Todos os dados foram analisados com o programa R 2.14.0 (R Development Core Team 2009).

Para a análise de voláteis totais coletados, os dados foram submetidos aos teste de normalidade (Kolgomorov-Smirnov) e homogeneidade de variância (Bartlett) e transformados em  $\log(x)$  para assumirem as pré-suposições da ANOVA. Em seguida, os dados foram submetidos à ANOVA com medidas repetidas no tempo considerando o esquema fatorial com três fatores principais: genótipo (BRS Rubi e CNPA TB90), fenologia da planta (Vegetativo e Reprodutivo) e status da planta quanto à herbivoria (com ou sem herbivoria) e os quatro intervalos de coleta como medidas repetidas no tempo. Essas análises foram realizadas empregando o Proc GLM dos SAS para medidas repetidas no tempo do SAS (SAS Institute 2001). No caso de efeito significativo pela ANOVA, a média de emissão de voláteis em cada intervalo de coleta foi comparada entre os genótipos, fenologia da planta e condição de herbivoria pelo teste de Tukey HSD a 5% de probabilidade.

Nos bioensaios de resposta em olfatômetro, os dados da primeira escolha de *A. grandis* foram analisados através do teste  $\chi^2$  (5% de probabilidade) utilizando-se o Proc FREQ dos SAS;

enquanto que o tempo de residência em cada braço do olfatômetro foi analisado através do teste de t pareado utilizando-se o Proc TTEST do SAS (SAS Institute 2001).

## Resultados

**Preferência de Oviposição de *Anthonomus grandis* entre Genótipos de Algodoeiro.** O teste de preferência em laboratório demonstrou que o bicudo-do-algodoeiro não apresentou preferência entre os genótipos CNPA TB90 e BRS Rubi. No teste com chance de escolha, após 1h da liberação foi observado maior número de fêmeas nos botões florais do genótipo BRS Rubi ( $\chi^2 = 4,04$ ;  $P = 0,0442$ ). No entanto, após 6h ( $\chi^2 = 1,22$ ;  $P = 0,2690$ ) e 24h da liberação ( $\chi^2 = 3,43$ ;  $P = 0,0640$ ) foi observado similar número de fêmeas em ambos os genótipos, bem como sinais de alimentação, e não foram observados sinais de oviposição (Tabela 1). Após 48h de observação, maior número de fêmeas foi encontrado no genótipo CNPA TB90 ( $\chi^2 = 6,42$ ;  $P = 0,0112$ ).

De forma a colaborar com os resultados de laboratório, o estudo de preferência conduzido em casa telada demonstrou similaridade de oviposição do bicudo entre os genótipos CNPA TB90 e BRS Rubi ( $t = 0,09$ ;  $P = 0,9318$ ). O número médio de botões atacados (média  $\pm$ EP) foi de  $12,3 \pm 1,82$  em BRS Rubi e de  $13,62 \pm 2,21$  em CNPA TB90 ( $t = 0,38$ ;  $P = 0,7127$ ). A disponibilidade de botões florais e flores nas plantas durante a avaliação foi similar ( $P > 0,05$ ) entre os genótipos sendo de  $41,8 \pm 4,20$  e  $36,8 \pm 4,52$  botões e  $4,9 \pm 0,97$  e  $5,3 \pm 1,16$  flores, respectivamente, em BRS Rubi e CNPA TB90.

**Desenvolvimento de *Anthonomus grandis* em Diferentes Genótipos de Algodoeiro.** Não foi observado efeito significativo dos diferentes genótipos testados no desenvolvimento ( $P = 0,5134$ ) e no peso de adultos ( $P = 0,4256$ ) considerando os machos e as fêmeas agrupados. Assim, os resultados são apresentados apenas em função do genótipo do algodoeiro como fator de variação.

A duração do desenvolvimento do bicudo-do-algodoeiro considerando as etapas de casa telada (infestação à abscisão do botão atacado;  $F_{3, 202} = 9,20$ ;  $P < 0,0001$ ) e de laboratório (coleta do botão caído à emergência do adulto;  $F_{3, 180} = 10,08$ ;  $P < 0,0001$ ), bem como o período total da infestação à emergência do adulto ( $F_{3, 180} = 12,20$ ;  $P < 0,0001$ ) e o peso dos adultos ( $F_{3, 180} = 3,99$ ;  $P = 0,0217$ ) diferiram significativamente em função dos genótipos estudados, enquanto a viabilidade foi similar entre os genótipos e variou de 66,0 a 81,7% de emergência (Tabela 2). Entre os genótipos, o período requerido para completar o desenvolvimento foi um dia mais longo no genótipo CNPA TB85, seguido pelo genótipo BRS Rubi (Tabela 2). A duração do desenvolvimento da queda do botão à emergência de adultos, monitorados em laboratório, apenas apresentou relação significativa com o tamanho do botão floral para os genótipos CNPA TB15 e CNPA TB85 (Fig. 1).

Apesar de maior duração no desenvolvimento, os adultos emergidos do genótipo CNPA TB85 foram menores que aqueles oriundos do genótipo CNPA TB90 (Tabela 2). Além disso, o maior peso do botão floral produzido pelo genótipo CNPA TB85 não resultou em maior peso do adulto em relação aos demais genótipos (Tabela 2). Botões florais maiores geraram adultos do bicudo-do-algodoeiro mais pesados, e maior resposta em ganho de peso do adulto em função do tamanho do botão floral é observado para os genótipos CNPA TB15 e CNPA TB90 (Fig. 1).

**Identificação de Voláteis do Algodoeiro Submetido ou não à Herbivoria.** Foram identificados 30 compostos orgânicos voláteis nos extratos obtidos das aerações dos genótipos BRS Rubi e CNPA TB90 com e sem herbivoria do bicudo-do-algodoeiro tanto na fase vegetativa como na reprodutiva das plantas (Tabela 3). A identificação correspondeu aos compostos majoritários produzidos pelos genótipos BRS Rubi e CNPA TB90, qualquer outro composto que por ventura foi liberado e não identificado estava apenas em traços, abaixo do nível de detecção dos equipamentos, e dessa forma não incluídos nas análises comparativas. A composição qualitativa

do conjunto de voláteis não diferiu entre os genótipos testados, as fases fenológicas e o status de herbivoria do bicudo-do-algodoeiro. No entanto, a quantidade de voláteis produzida foi significativamente diferente para as interações dos tempos de coleta, considerados como medidas repetidas no tempo, entre os genótipos (Wilks'Lambda = 20,09; GL = 3,79;  $P < 0,0001$ ), status de herbivoria (Wilks'Lambda = 6,47; GL = 3,79;  $P = 0,0006$ ) e das fases fenológicas (Wilks'Lambda = 2,74; GL = 3,79;  $P = 0,0489$ ) (Fig. 2). A produção de voláteis foi superior no genótipo BRS Rubi ( $F_{1, 81} = 45,24$ ;  $P < 0,0001$ ) ao longo de todas as coletas (Fig. 2A). Aproximadamente 2,4x mais voláteis foram produzidos pelo genótipo BRS Rubi ( $166,1 \pm 10,06$  ng/24h) em relação ao genótipo CNPA TB90 ( $71,1 \pm 6,2$  ng/24h; Fig. 3A). Também, plantas de algodão na fase reprodutiva produziram mais voláteis comparadas às plantas na fase vegetativa ( $F_{1, 81} = 18,98$ ;  $P < 0,0001$ ), exceto na coleta de 48h em que a quantidade total de voláteis foi similar entre as fases reprodutiva e vegetativa (Fig. 2B). Em média, ao longo de todas as coletas, na fase reprodutiva foi quantificado 1,6x mais voláteis ( $147,3 \pm 10,1$  ng/24h) comparado à fase vegetativa ( $89,8 \pm 7,22$  ng/24h). A quantidade total de voláteis liberados pelas plantas submetidas à herbivoria foi 1,6x superior às plantas sem herbivoria ( $F_{1, 81} = 15,36$ ;  $P = 0,0002$ ), exceto na coleta 72h (Fig. 2C). Em média, as plantas submetidas à herbivoria produziram  $144,8 \pm 9,89$  ng/24h de voláteis comparadas às plantas sem herbivoria,  $92,4 \pm 7,7$  ng/24h (Fig. 3B).

Os compostos identificados por GC/MS foram: canfeno (IR=959),  $\alpha$ -pineno (IR=941),  $\beta$ -pineno (IR=982), mirceno (IR=991), limoneno (IR=1035), *E*- $\beta$ -ocimeno (IR=1050),  $\gamma$ -terpineno (IR=1063), linalol (IR=1098), copaeno (IR=1380), *cis*-jasmona (IR=1394),  $\beta$ -cariofileno (IR=1425), geranilacetona (IR=1449),  $\beta$ -farneseno (IR=1454),  $\alpha$ -cariofileno (IR=1461), alloaromadendreno (IR=1465), germacreno D (IR=1483),  $\alpha$ -farneseno (IR=1505), guaieno (IR=1437), nerolidol (IR=1566), benzaldeído (IR=966), salicilato de metila (IR=1194),

benzotiazole (IR=1229), indol (IR=1293), (*Z*)-3-acetato de hexenila (IR=1004), (*E*)-2-hexenil acetato (IR=1015), (*E*)-2-hexenil butirato (IR=1144), (*E*)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trieno (DMNT) (IR=1115), (*E,E*)-4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno (TMTT) (IR=1575), 1-decino (RI=1024), etilhexanol (RI=1029) (Figs. 4 e 5). Dentre os voláteis liberados pelas plantas, os terpenóides (sesquiterpenos e monoterpenos) foram as classes que apareceram com maior número de compostos, seguidos por ésteres e álcoois (Tabela 3).

A análise do conjunto de voláteis apontou diferenças entre os tratamentos com e sem herbivoria ao longo do tempo de aeração das plantas nas fases vegetativa e reprodutiva mediante a análise de componentes principais (PRC) para ambos os genótipos (Figs. 6 e 7). O peso de importância de cada composto, na composição total de voláteis produzida pelas plantas para a diferenciação dos tratamentos com e sem herbivoria, pode ser observado para os principais compostos no eixo y2 (Figs. 6 e 7). Com base nos resultados, todos os compostos representados com valores acima de +0,5 ou abaixo de -0,5 contribuem para a diferenciação entre tratamentos com herbivoria e sem herbivoria (Van Den Brink & Ter Braak 1999). Compostos com valores maiores e positivos indicam maior contribuição entre todos os compostos, conseqüentemente, de maior contribuição para diferenciar o tratamento com herbivoria do tratamento (sem herbivoria (Linha y=0)). Por outro lado, valores negativos indicam que os compostos são mais importantes para o conjunto de voláteis das plantas sem herbivoria (tratamento controle), em relação a herbivoria.

Para as quatro condições de comparação considerando plantas dos dois genótipos (CNPA TB90 e BRS Rubi) nas duas idades fenológicas (vegetativa e reprodutiva) a herbivoria ocasionada pelo bicudo-do-algodoeiro ocasionou superior emissão de voláteis. Assim, plantas do genótipo CNPA TB90 submetidas a herbivoria na fase vegetativa diferiram das plantas sem herbivoria ( $F = 6,78$ ;  $P = 0,005$ ), sendo que 86,5% da variância foi explicada pela herbivoria e 10,7% foi

explicada pelo tempo de coleta. Os compostos que mais contribuíram para a mudança no perfil de voláteis neste tratamento foram:  $\beta$ -cariofileno, Z-3-acetato de hexenila, mirceno,  $\alpha$ -farneseno, canfeno, bezotiazole, DMNT,  $\beta$ -pineno, germacreno D,  $\alpha$ -cariofileno, *cis*-jasmone, 1-decino (Fig. 6 - Fase vegetativa). O mesmo é observado para plantas durante a fase reprodutiva, com as plantas submetidas à herbivoria diferindo daquelas sem herbivoria ( $F = 11,18$ ;  $P = 0,005$ ), sendo que 74,8% da variância foi explicada pela herbivoria e 16,7% explicada pelo tempo. Dentre os compostos que mais contribuíram para a mudança no perfil neste tratamento foram: Mirceno,  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -pineno, canfeno, limoneno,  $\alpha$ -cariofileno, *E*- $\beta$ -ocimeno, copaeno, germacreno D, etilhexanol,  $\alpha$ -pineno,  $\gamma$ -terpineno, TMTT e DMNT (Fig. 6 - Fase reprodutiva).

Plantas na fase vegetativa e sob herbivoria do genótipo BRS Rubi mostraram significância no perfil de voláteis em relação às plantas sem herbivoria ( $F = 22,17$ ;  $P = 0,005$ ), onde 53,4% da variância é explicada pela herbivoria e 35,5% é explicada pelo tempo de coleta. Os compostos que mais contribuíram para a mudança no perfil de voláteis produzidos foram:  $\beta$ -cariofileno, Z-3-acetato de hexenila, canfeno, mirceno,  $\beta$ -pineno, *E*-2-hexenil butirato,  $\alpha$ -cariofileno, copaeno, limoneno, *cis*-jasmona,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -farneseno, indol, linalol e salicilato de metila (Fig. 7 Rubi vegetativo). Também, a produção de voláteis na fase reprodutiva foi superior em plantas com herbivoria ( $F = 5,98$ ;  $P = 0,01$ ), e que 79,8% da variância é explicada pelo efeito do tratamento herbivoria e 6,3% da variância é explicada pelo fator tempo. Os compostos que influenciaram na mudança de perfil emitidos foram:  $\beta$ -cariofileno, linalol, copaeno,  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -cariofileno, Z-3-acetato de hexenila, mirceno, canfeno,  $\beta$ -pineno, *E*- $\beta$ -ocimeno e benzotiazol (Fig. 7 - Rubi reprodutivo).

**Olfatometria com o Bicudo-do-Algodoeiro.** Adultos (machos e fêmeas) do bicudo-do-algodoeiro responderam para voláteis extraídos de plantas com e sem herbivoria nos tempos de coleta de voláteis de 24 e 96h. No entanto, a resposta somente foi significativa entre pares de

tratamento para voláteis obtidos de plantas na idade reprodutiva para o tempo de 96h. Os tempos intermediários de coletas 48 e 72h não foram totalmente testados e resultados não apresentados por na maioria das vezes se mostrarem sem diferença estatística entre os tratamentos.

Voláteis coletados nas primeiras 24h de aeração das plantas dos genótipos de algodoeiro CNPA TB90 e BRS Rubi, submetidos ou não à herbivoria na fase reprodutiva e ofertados no olfatômetro contrastados ao controle (hexano) ou entre si, não resultaram em diferença significativa. Esse resultado foi confirmado tanto para a primeira escolha, quanto para o tempo de residência no braço do olfatômetro referente aos tratamentos (Tabela 4). Com exceção, para a primeira escolha de machos quando ofertados simultaneamente voláteis de Rubi *versus* TB90 ambos submetidos a herbivoria ( $\chi^2=3,95$ ;  $P = 0,0467$ ). Por outro lado, nos bioensaios realizados com voláteis coletados após 96h de aeração das plantas foi possível observar diferença significativa na atratividade dos insetos, tanto para a primeira escolha como para o tempo de residência.

A resposta de fêmeas apresentou diferença significativa quanto ao tempo de permanência quando foram ofertadas voláteis de plantas de TB90 com herbivoria *versus* hexano ( $t = 2,81$ ;  $P = 0,0113$ ) e *versus* Rubi com herbivoria ( $t = 2,42$ ;  $P = 0,0257$ ) (Fig. 8A).

O tempo de residência nos braços do olfatômetro para adultos machos do bicudo-do-algodoeiro foi significativamente maior para voláteis de TB90 com herbivoria *versus* TB90 sadia ( $t = 2,74$ ;  $P = 0,0129$ ) e hexano ( $t = 3,38$ ;  $P = 0,0032$ ). De forma semelhante, também houve diferença no tempo de permanência dos machos quando ofertados voláteis de Rubi com herbivoria *versus* Rubi sadia ( $t = 3,22$ ;  $P = 0,0045$ ) e TB90 sadia ( $t = 2,57$ ;  $P = 0,0189$ ) (Fig. 8B).

Adultos de *A. grandis* (machos e fêmeas agrupados) apresentaram maior tempo de residência nos braços do olfatômetro com voláteis de plantas CNPA TB90 com herbivoria ( $t_{pareado} = 4,34$ ;  $P < 0,0001$ ), e de BRS Rubi sadia ( $t = 2,59$ ;  $P = 0,0135$ ) e com herbivoria ( $t = 2,08$ ;  $P =$

0,0438) comparado ao controle (hexano) (Fig. 8C). Adultos, também, apresentaram maior tempo de residência nos braços do olfatômetro em que foram ofertados voláteis de plantas com herbivoria seja para a variedade BRS Rubi com herbivoria *versus* BRS Rubi sadia ( $t = 3,13$ ;  $P=0,0033$ ) e CNPA TB90 com herbivoria *versus* CNPA TB90 sadia ( $t = 2,74$ ;  $P = 0,0129$ ) (Fig. 8).

Em relação à primeira escolha dos adultos do bicudo-do-algodoeiro quando ofertados voláteis coletados no período de 96h, houve uma maior preferência pelos voláteis de plantas CNPA TB90 sadias ( $\chi^2 = 4,26$ ;  $P = 0,0389$ ) ou submetidas a herbivoria ( $\chi^2 = 6,54$ ;  $P = 0,0105$ ) comparada ao controle (hexano), e por plantas de BRS Rubi com herbivoria ( $\chi^2 = 5,33$ ;  $P = 0,0209$ ), quando comparadas com plantas Rubi sadia ou TB90 com herbivoria. Por outro lado, em todos os outros tratamentos ofertados, não houve preferência dos adultos em relação a primeira escolha aos voláteis ofertados.

## Discussão

Informações sobre a interação inseto e planta, em especial para pragas-chave como o bicudo-do-algodoeiro, possuem aspectos práticos tanto para a pesquisa em melhoramento de plantas como para o setor produtivo. O genótipo CNPA TB90 foi apontado como um genótipo de algodoeiro herbáceo com razoável resistência intrínseca a esta praga (Beltrão *et al.* 2001), porém em nossos testes de desenvolvimento em casa telada e laboratório ficou constatado que a praga apresentou maior peso em função do maior tamanho do botão floral apresentado por este genótipo e similar viabilidade comparado aos demais genótipos. Além disso, nos testes de preferência em laboratório e casa telada, contrastando CNPA TB90 e BRS Rubi, não foi observado efeito dos genótipos para preferência e oviposição, bem como na composição de voláteis e resposta do bicudo a esses compostos. Além disso, ambos os genótipos não apresentaram diferenças quanto

ao número de estruturas de frutificação como flores e botões florais, o que poderia resultar em maior preferência pela praga caso houvesse diferença no número destas estruturas nos genótipos testados.

O algodoeiro BRS Rubi não apresentou interferência no desenvolvimento e preferência do bicudo-do-algodoeiro, o que era de se esperar, pois este genótipo já é conhecido como suscetível ao ataque de *A. grandis* (Carvalho 2006), assim como outra praga como a lagarta rosada *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Oliveira *et al.* 2007). Assim, estes resultados de laboratório e casa telada indicam que todos os genótipos estudados foram susceptíveis ao bicudo-do-algodoeiro quanto à preferência para a oviposição. Quanto ao peso e duração de desenvolvimento entre machos e fêmeas, também, não houve diferenças significativas. Porém, uma relação positiva entre o maior tamanho do botão floral e o tamanho do adulto foi caracterizada para todos os genótipos (Fig. 1). Este resultado é corroborado pelo fato do bicudo-do-algodoeiro preferir botões florais maiores que 6mm de diâmetro para oviposição (Ramalho & Jesus 1988, Soares *et al.* 1998, Showler 2005), onde há reservas suficientes para o seu desenvolvimento de sua prole. De maneira similar, Michelotto *et al.* (2007) encontraram que botões florais com maiores diâmetros produziram adultos maiores do bicudo-do-algodoeiro. Por outro lado, a duração do desenvolvimento e o peso do botão floral não foram consistentes. O genótipo CNPA TB85 foi o que apresentou o menor efeito (coeficiente de inclinação) da relação do tamanho do botão floral e tamanho do bicudo-do-algodoeiro produzido e, ainda, teve o desenvolvimento prolongado em relação aos demais genótipos. Assim, este resultado mostra que houve algum efeito negativo sobre o desenvolvimento da praga, o que precisa mais estudos no aspecto da antibiose quanto ao genótipo CNPA TB85.

O bicudo-do-algodoeiro apresentou resposta positiva em relação aos voláteis constitutivos emitidos por plantas saudáveis, bem como a resposta foi aumentada quando expostos aos voláteis de plantas submetidas à herbivoria após 96 horas de coleta.

Além disso, a herbivoria ocasionada pela alimentação do bicudo-do-algodoeiro ocasionou aumento na produção total de voláteis, o que já era esperado diante de vários estudos que também constataram o mesmo comportamento das plantas atacadas, inclusive plantas e herbívoros de espécies diferentes (Dicke 1998, Paré & Tumlinson 1998, Magalhães *et al.* 2012). No geral, foi verificado que machos e fêmeas apresentaram basicamente o mesmo padrão de resposta, isto é, permanecendo o maior tempo em áreas do olfatômetro com voláteis de plantas após a herbivoria, em ambos os genótipos, ou apresentando estas como primeira escolha, sugerindo que os insetos foram mais atraídos pelos voláteis de plantas nesta condição. Os compostos, mirreno,  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -pineno, canfeno, limoneno,  $\alpha$ -cariofileno, *E*-ocimeno, copaeno, germacreno D, etilhexanol,  $\alpha$ -pineno,  $\gamma$ -terpineno, DMNT e TMTT, linalol, copaeno, *E*-3-acetato de hexenila, canfeno, e *E*-ocimeno, poderiam estar envolvidos na atração de *A. grandis* uma vez que foram estes que mais contribuíram para a mudança quantitativa no perfil de voláteis das plantas submetidas à herbivoria em relação às plantas sem herbivoria (Figs. 5, 6 e 7).

Uma das possíveis explicações para maior atratividade por plantas submetidas à herbivoria, embora podendo acarretar aumento de competição intraespecífica, seria a garantia da presença da planta hospedeira de boa qualidade, além do que indicaria a idade fenológica adequada ao seu desenvolvimento, que seria a fase reprodutiva do algodoeiro, ao contrário de outros insetos que podem alimentar de diferentes partes da planta e não necessitam diretamente da presença de botões florais. O bicudo-do-algodoeiro tem seu comportamento de atratividade estimulado pelos voláteis emitidos por plantas sob herbivoria de coespecíficos. De acordo com Magalhães *et al.* (2012), machos e fêmeas do bicudo-do-algodoeiro respondem preferencialmente

por voláteis de algodoeiro na idade reprodutiva submetidas à herbivoria por coespecíficos em relação aos voláteis de plantas submetidas a herbivoria por outros insetos como *Euschistus heros* (Fabr.) (Hemiptera: Pentatomidae) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).

Uma fêmea do bicudo-do-algodoeiro é capaz de ovipositar de 7 a 11 vezes por dia (Lloyd 1986), e pode haver mais de um orifício de oviposição no mesmo botão floral na mesma planta. No entanto, nem sempre ocorre a oviposição, muitas vezes os insetos apenas se alimentam da estrutura, em especial se o tamanho do botão floral não for adequado. Isto foi verificado nas nossas observações de laboratório e casa telada. Assim, uma planta emitindo voláteis devido a herbivoria do bicudo-do-algodoeiro indicaria a sua presença e idade fenológica, mas não necessariamente indica que há indivíduos em desenvolvimento.

Como já foi observado em curculionídeos, ambos os sexos podem se orientar para sua planta hospedeira através de voláteis constitutivos na ausência de pistas visuais (Addesso & Mcauslane 2009). No trabalho envolvendo *Anthonomus pomorum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), na cultura da macieira, foi mostrado que este inseto também utiliza voláteis para localizar suas plantas hospedeiras (Kalinova *et al.* 2000). Além disso, em estudos realizados com *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae), praga do pimentão, foi verificado que esses insetos, machos e fêmeas, demonstram preferência pelas plantas de *Capsicum annuum* L. (Solanaceae) nas fases de florescimento e frutificação, sobretudo após a herbivoria e quando os insetos alimentavam-se ativamente das plantas. Assim, os resultados mostram que esses insetos são capazes de identificar a fenologia da planta a partir do perfil de voláteis emitidos, sem que haja necessidade de pistas visuais ou gustativas. Em testes conduzidos em olfâmetro tipo Y mostraram que os adultos são mais atraídos para plantas com frutos do que com flores, indicando que a praga é capaz de discriminar a fase de desenvolvimento da planta, diferenças estas que

foram confirmadas a partir do perfil dos voláteis das fases analisadas (Addesso *et al.* 2011). Dessa forma, é plausível a nossa hipótese de que o mesmo possa ocorrer para o bicudo-do-algodoeiro apesar de nós não termos contrastado em testes de olfatometria voláteis de plantas na fase vegetativa *versus* voláteis de plantas na fase reprodutiva. Em testes preliminares, adultos do bicudo-do-algodoeiro não apresentaram atratividade significativa tanto em relação a primeira escolha como no tempo de permanência por voláteis emitidos por plantas de ambos os genótipos na fase vegetativa (dados não mostrados). Isto nos levou a prosseguir com os testes com voláteis relativos a fase reprodutiva. Este resultado de certa forma, já era esperado diante do fato que o bicudo-do-algodoeiro é uma praga que coloniza o algodoeiro por ocasião da emissão dos primeiros botões florais. Rummel & Curry (1986), observaram que a idade do algodoeiro parece influenciar diretamente as respostas de insetos herbívoros, em que no início da floração onde há produção de botões florais e maçãs é constatado os primeiros indivíduos do bicudo-do-algodoeiro na lavoura. No entanto, o bicudo-do-algodoeiro pode alimentar de folhas e ponteiros da planta (Gilliand & McCoy 1969), bem como de maçãs em formação (Neves *et al.* 2013), na falta de estruturas reprodutivas.

Estudos que envolvem a atração do bicudo-do-algodoeiro a voláteis de plantas de algodão tornam-se de grande importância para a compreensão desta interação, esclarecimentos referentes a sua dispersão ou, até mesmo, na otimização de métodos de monitoramento e controle desta praga. Em vista disso, voláteis de plantas são pistas promissoras para a captura de insetos pragas (Collatz & Dorn 2013). Nheme *et al.* (2010) verificaram respostas positivas quando utilizando voláteis de plantas combinados com o feromônio de agregação para o besouro asiático *Anoplophora glabripennis* (Mots.) (Coleoptera: Cerambycidae). Armadilhas em que foram adicionadas a mistura (-)-linalol, (Z)-3-hexen-1-ol, linalol óxido, (E)-cariofileno e (E)-pinocarveol aumentaram a captura em 85% para fêmeas virgens. No agroecossistema do algodoeiro, voláteis como  $\beta$ -

cariofileno, (*E*)-2-hexen-1-ol, (*E*)- $\beta$ -ocimeno e  $\beta$ -bisabol podem ser utilizados como sinergistas em armadilhas com feromônio de agregação aumentando a captura dos insetos como sugerido por Dickens (1990). Apesar de alguns desses compostos não terem sido encontrados nos genótipos estudados, podemos afirmar que outros voláteis estejam envolvidos na atração do bicudo-do-algodoeiro. Magalhães *et al.* (2012), também, demonstraram um aumento no potencial de atração do feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro quando enriquecido com os compostos voláteis provenientes da cultivar Delta Opal após a herbivoria.

Bioensaios utilizando voláteis com 24h de aeração não influenciaram na escolha de *A. grandis*. Isto sugere que voláteis coletados durante este tempo não surtiram efeito na taxa do inseto. Este curto período de tempo, talvez, tenha sido insuficiente para causar produção acentuada de voláteis nestes genótipos que estimulasse uma reposta do bicudo-do-algodoeiro. Além disso, a emissão de voláteis no referido tempo foi mais baixa entre todos os tempos avaliados neste estudo (Fig. 3B). Por outro lado, Magalhães *et al.* (2012) encontraram que machos e fêmeas do bicudo-do-algodoeiro apresentaram atratividade aos voláteis coletados da cultivar Delta Opal com 24h de aeração na fase reprodutiva e submetida à herbivoria, e que nos testes com voláteis de 96h de aeração, os bicudos começaram a apresentar uma resposta preferencial para as plantas de ambos os genótipos em relação ao controle (hexano).

Baseado nos resultados deste estudo, os quais corroboram com estudos prévios, podemos concluir que compostos voláteis emitidos pelo algodoeiro após a herbivoria podem modificar o comportamento do bicudo-do-algodoeiro e servir como atraentes para esta praga. Segundo Hegde *et al.* (2012), o algodoeiro quando induzido pelo composto indutor *cis*-jasmona emite uma mistura de compostos orgânicos voláteis incluindo (*Z*)-3-acetato de hexenila, (*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT), salicilato de metila e (*E,E*)-4,8,12-trimetil-1,3,7,11-tridecatetraeno (TMTT) que repele o pulgão do algodoeiro *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae).

Adicionalmente, a liberação de semioquímicos por plantas de algodoeiro pode servir como pistas na atração de inimigos naturais, não somente a partir da injúria de folhas atacadas, mas da planta como um todo. Um exemplo disso ocorre com *Helicoverpa zea* (Bod.) (Lepidoptera: Noctuidae) que após sua alimentação no algodoeiro desencadeou a liberação de compostos como: mirceno, (Z)-3-acetato de hexenila, (E)- $\beta$ -ocimeno, linalol, (E), 4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT) e (E,E)-4,8,12-trimetil-1,3,7,11-tridecatetraeno (TMTT) atraentes para o parasitóide generalista *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) e para o parasitóide especialista *Microplitis croceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) (Röse *et al.* 1998). Assim, uma resposta positiva de atração do herbívoro a compostos induzidos após a herbivoria pode resultar em aspecto negativo para o herbívoro, pois apesar da indicação da presença da planta hospedeira, esses herbívoros atraídos também poderiam ser alvos de maior ataque por seus inimigos naturais.

Os voláteis emitidos pelas plantas de algodoeiro após a herbivoria são de grande importância para estudos envolvendo o terceiro nível trófico, parasitoides e predadores. Desta maneira, o conjunto de compostos identificados neste estudo, em especial aqueles de maior contribuição poderão ser futuramente avaliados quanto a atratividade de inimigos naturais do bicudo-do-algodoeiro. Apesar de compostos induzidos por herbivoria apresentarem potencial para atração de inimigos naturais, o aumento na emissão destes, podem contribuir também para a atração de novos herbívoros em busca de hospedeiros, constituindo, assim, um risco potencial para as plantas. Assim, o estudo da emissão de compostos orgânicos voláteis induzidos pela herbivoria tem fundamental importância no manejo de pragas de plantas cultivadas, como é o caso do bicudo-do-algodoeiro.

Adultos do bicudo-do-algodoeiro expostos em olfatômetro aos voláteis de plantas sadias de algodoeiro, ou com herbivoria, apresentaram em geral resposta positiva para voláteis de ambos os genótipos quando contrastados ao controle (hexano). Além disso, os adultos do bicudo-do-

algodoeiro apresentaram superior resposta aos voláteis de plantas submetidas à herbivoria. Isto corrobora com os resultados de similar oviposição e alimentação e, posteriormente, de adequação do hospedeiro através do desenvolvimento com sucesso nos diferentes genótipos estudados. A resposta, no entanto, foi aumentada com voláteis de plantas submetidas à herbivoria por um período de 96h. Além disso, voláteis do genótipo BRS Rubi submetido à herbivoria foram mais atrativos para os adultos em relação aos outros tratamentos, inclusive TB90 quando também submetido à herbivoria (Fig. 8). Assim, podemos concluir que possíveis diferenças morfológicas, e no conjunto de voláteis emitidos pelos genótipos de algodoeiro estudados, não foram suficientes para uma diferenciação clara entre eles quanto ao comportamento de atratividade e oviposição do bicudo-do-algodoeiro.

### **Agradecimentos**

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado ao primeiro autor e a FACEPE pela ajuda de custo (AMD) durante a realização dos estudos na Embrapa Recursos Genéticos e ao Dr. Fábio Aquino de Albuquerque, Embrapa Algodão, pela concessão das sementes de algodoeiro.

### **Literatura Citada**

**Addesso, K. M & H. J. Mcauslane. 2009.** Pepper weevil attraction to volatiles from host and nonhost plants. *Environ. Entomol.* 38: 216–224.

**Addesso, K.M., H.J. Mcauslane & H.T. Alborn. 2011.** Attraction of pepper weevil to volatiles from damaged pepper plants. *Entomol. Exp. Appl.* 138:1–11.

**Arimura, G., K. Matsui, & J. Takabayashi. 2009.** Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: proximate factors and their ultimate functions. *Pl. Cell Physiol.* 50: 911–923.

- Beltrão, N. E.M., J. R. Pereira & J. N. Oliveira. 2001.** Comportamento de cultivares precoces de algodão, com resistência ao bicudo em várias densidades de plantio no Cariri do Ceará. In Congresso Brasileiro de Algodão, Campo Grande, MS, 3p.
- Bernasconi, M.L., T.C.J. Turlings, L. Ambrosetti, P. Bassetti & S. Dorn. 1998.** Herbivore-induced emissions of maize volatiles repel the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. Entomol. Exp. Appl. 87: 133-142.
- Bolder, C.J., M. Dicke, J.J.A Van-Loon, J.H. Visser & M.A Posthumus. 1997.** Attraction of Colorado potato beetle to herbivore-damaged plants during herbivory and after its termination. J. Chem. Ecol. 23: 1003–1023.
- Carvalho, L.P. Cultivo do algodão herbáceo na agricultura familiar. 2006.** Sistema de Produção-Embrapa Algodão. (Versão Eletrônica). Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar\\_2ed/cultivares.html](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar_2ed/cultivares.html)>. Acesso Set/2013.
- Collatz, J & S. Dorn. 2013.** A host-plant-derived volatile blend to attract the apple blossom weevil *Anthonomus pomorum*-the essential volatiles include a repellent constituent. Pest Manag. Sci. 69: 1092–1098.
- Dicke, M & I.T. Baldwin. 2010.** The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help'. Trends Pl. Sci.15: 167-175.
- Dickens, J. C. 1984.** Olfaction in the boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae): eletroantennogram studies. J. Chem. Ecol. 10: 1759–1785.
- Dickens, J. C. 1989.** Green leaf volatiles enhance aggregation pheromone of boll weevil, *Anthonomus grandis*. Entomol. Exp. Appl. 52: 191–203.
- Dickens, J. C. 1990.** Specialized receptor neurons for pheromones and host plant odors in the boll weevil, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). Chem. Senses 15: 311-331.
- Gilliand, F.R.Jr & McCoy, C.E. 1969.** The behavior of newly emerged boll weevils. Ann. Entomol. Soc. Am. 62: 602-605.
- Gouinguéné, S.P & T.C.J. Turlings. 2002.** The effects of abiotic factors on induced volatile emissions in corn plants. Pl. Physiol. 129: 1296-1307.
- Gullan, P.J. & P.S. Cranston. 2008.** Os Insetos: Um resumo de Entomologia. 3a. ed. São Paulo, Roca, 456p.
- Hare, J.D. 2011.** Ecological role of volatiles produced by plants in response to damage by herbivorous insects. Annu. Rev. Entomol. 56: 161–180.

- Hare, J.D. 2007.** Variation in herbivore and Methyl Jasmonate, induced volatiles among genetic lines of *Daruta wrightii*. *J. Chem. Ecol.* 33: 2018-2043.
- Hegde, M., J.N. Oliveira, J.G. da Costa, E. Loza-Reyes, E. Bleicher, A. E.G. Santana, J.C. Caulfield, P. Mayon, S. Y. Dewhurst, T.J.A. Bruce, J.A. Pickett & Michael A. Birkett. 2012.** Aphid antixenosis in cotton is activated by the natural plant defence elicitor cis-jasmone. *Phytochemistry* 78: 81-88.
- Kalberer, N.M, T.C.J.Turlings & M. Rahier. 2001.** Attraction of leaf beetle (*Oreina cacaliae*) to damaged host plants. *J. Chem. Ecol.* 27: 647–661.
- Kalinova, B., K. Stransky, J. Harmatha, R. Ctvrticka & J. Zd'arek. 2000.** Can chemical cues from blossom buds influence cultivar preference in the apple blossom weevil (*Anthonomus pomorum*)? *Entomol. Exp. Appl.* 95: 47-52.
- Kappers, I.F, H. Hoogerbrugge, H.J. Bouwmeester & M. Dicke. 2011.** Variation in herbivory-induced volatiles among cucumber (*Cucumis sativus* L.) varieties has consequences for the attraction of carnivorous natural enemies. *J. Chem. Ecol.* 37: 150-160.
- Karban, R & I. T. Baldwin. 1997.** *Induced Responses to Herbivory.* University of Chicago Press, Chicago, IL. 319p
- Leggett, J.E. 1986.** Uso de armadilhas de feromônio para levantamento e detecção e controle do bicudo, p. 145-158. In S. Barbosa, M.J. Lukefahr & R.B. Sobrinho (eds.), *O bicudo-do-algodoeiro.* Brasília, EMBRAPA-DDT, 314p.
- Lima Junior, I.S., P.E. Degrande, J.E. Miranda & W.J. Santos. 2013.** Evaluation of the boll weevil *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) suppression program in the state of Goiás, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 42: 82-88.
- 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.
- Magalhães, D.M., M. Borges, R.A. Laumann, E.R. Sujii, P. Mayon, J.C. Caulfield, C. A.O. Midega, Z.R. Khan, J.A. Pickett, M.A. Birkett & M.C.B Moraes. 2012.** Semiochemicals from herbivory induced cotton plants enhance the foraging behavior of the cotton boll weevil, *Anthonomus grandis*. *J. Chem. Ecol.* 38:1528–1538.
- Meiners, T, N.K. Hacker, P. Anderson & Hilker, M. 2005.** Response of the elm leaf beetle to host plants induced by oviposition and feeding: the infestation rate matters. *Entomol. Exp. Appl.* 115: 171–177.
- Mérey, V.G.E, N. Veyrat, M. D' Alessandro, M. T.C.J. Turlings. 2013.** Herbivore induced maize leaf volatiles affect attraction and feeding behavior of *Spodoptera littoralis* caterpillars. *Frontier Pl. Sci.* 4: 1–9.

- Michelotto, M.D.N., R.C.Filho, R.A.Silva, & A.C.Busoli. 2007.** Effect of diameter of the cotton squares in the development of boll weevil. *Bragantia* 66: 97–100.
- Michereff, M.F.F, R.A. Laumann, M. Borges, M. Michereff Filho, I. R Diniz, A. L Farias-Neto & M.C.B Moraes. 2011.** Volatiles mediating plant-herbivory-natural enemy interaction in resistant and susceptible soybean cultivars. *J. Chem. Ecol.* 37: 273–285.
- Miranda, J.E. 2013.** Perdas por pragas e impacto sobre o custo de produção do algodão brasileiro nas safras 2011/12 e 2012/13. In IX Congresso Brasileiro de Algodão, Brasília, DF (CD-Room).
- Monnerat, R.G., S.C. Dias, O.B. Oliveira-Neto, S.D. Nobre, J.O. Silva-Werneck & M.F.G. Sá. 2000.** Criação massal do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* em laboratório. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 4p.
- Moraes, M.C.B., R.A Laumann, E.R Sujii, C.S.S Pires, M. Borges & J.G Millar. 2005.** Sex attractant pheromone from the neotropical red-shouldered stink bug, *Thyanta perditor* (F.). *J. Chem. Ecol.* 31: 1415–1427.
- Moser, T., J. Römbke, H.J. Schallnass & C.A.M. Van Gestel. 2007.** The use of the multivariate Principal Response Curve (PRC) for community level analysis: a case study on the effects of carbendazim on enchytraeids in Terrestrial Model Ecosystems (TME). *Ecotoxicology* 16: 573–583.
- Neff, D.L. & E.S. Vanderzant. 1963.** Methods of evaluating the chemotropic response of boll weevils to extracts of the cotton plant and various other substances. *J. Econ. Entomol.* 56: 761–766.
- Nehme, M.E., M.A. Keena, A. Zhang, T.C. Baker, Z. Xu & K. Hoover. 2010.** Evaluating the use of male-produced pheromone components and plant volatiles in two trap designs to monitor *Anoplophora glabripennis*. *Environ. Entomol.* 39:169-176.
- Neves, R.C.S. 2013.** Práticas alternativas para detecção e controle do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae). Tese de Doutorado, Recife, UFRPE, 86p.
- 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.
- Oliveira, I.R., H.W.L. Carvalho, M.A.B. Moreira & J.N. Costa. 2007.** Bicudo e lagarta-rosada em algodoeiros no sertão sergipano. Aracaju SE, Embrapa Tabuleiros Costeiros (Circular Técnica), 5p.
- Paré, P.W & J.H. Tumlinson. 1998.** Cotton volatiles synthesized and released distal to the site of insect damage. *Phytochem.* 47: 521-526.

- Poelman, E.H, M. Bruinsma, F. Zhu, B.T. Weldegergis, A.E Boursault, Y. Jongema, J. J.A. Van Loon, L.E.M. Vet, J. A. Harvey & M. Dicke. 2012.** Hyperparasitoids use herbivore-induced plant volatiles to locate their parasitoid host. *PLoS Biol.* 10: 1–13.
- R Development Core Team. 2009.** R: a language and environment for statistical computing. Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Ramvalho, F.S & F.M.M. Jesus. 1988.** Distribution of boll weevil (*Anthonomus grandis*) eggs within cotton squares. *Trop. Agric.* 65: 245-248.
- Röse, U.R.S.; W.J. Lewis, J.H. Tumlinson. 1998.** Specificity of systemically released cotton volatiles as attractants for specialist and generalist parasitoid wasps. *J. Chem. Ecol.* 24:303-319.
- Rostás, M. & K. Eggert. 2008.** Ontogenetic and spatio-temporal patterns of induced volatiles in *Glycine max* in the light of the optimal defence hypothesis. *Chemoecology* 18: 29–38.
- Rummel, D.R., G.L. Curry. 1986.** Dinâmica populacional e níveis de dano econômico, p. 201-220. In S. Barbosa, M.J. Lukefahr & R.B. Sobrinho (eds.), *O bicudo-do-algodoeiro*. Brasília, EMBRAPA-DDT, 314p.
- 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 User`s guide: statistic version 8 for Windows. SAS Institute, Cary, NC.
- Schoonhoven, L.M, J.J Van Loon & M. Dicke. 2005.** *Insect plant biology*. 2nd ed. Oxford University Press, Oxford, 421p.
- 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. & 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. 2008.** Relationships of abscised cotton fruit to boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) feeding, oviposition, and development. *J. Econ. Entomol.* 101: 68–73.
- Smith, G.L., T.C. Cleveland & J.C. Clark. 1965.** Boll weevil movement hibernation sites to fruiting cotton. *J. Econ. Entomol.* 58: 357–358.
- Soares, J.J, L.P.M. Macedo, J.B. Oliveira & S.R.M. Souto. 1998.** Efeito do tamanho dos botões florais na postura de fêmeas de *Anthonomus grandis* Boh. em duas cultivares de algodão *Gossypium hirsutum*. Campina Grande, Embrapa Algodão, 6p.

- Stamps, J. & V.V Krishnan. 2005.** Nonintuitive cue use in habitat selection. *Ecology* 86: 2860-2867.
- Szendrei, Z., E. Malo, L. Stelinski, & C. Rodriguez-Saona. 2009.** Response of cranberry weevil (Coleoptera: Curculionidae) to host plant volatiles. *Environ. Entomol.* 38:861-869.
- Van den Brink, P.J & C.J.F Ter Braak. 1999.** Principal response curves: analysis of time dependet multivariate responses of a biological community to stress. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 138–148.
- Walling, L.L. 2000.** The myriad plant responses to herbivores. *J. Pl. Growth Regul.* 19: 195–216.
- White, J.R & D.R. Rummel. 1978.** Emergence profile of overwintered boll weevils and entry into cotton. *Envirom. Entomol.* 7: 7–14.
- Yoneya, K. S. Kugimiya & J. Takabayashi. 2009.** Can herbivore-induced plant volatiles inform predatory insect about the most suitable stage of its prey? *Physiol. Entomol.* 34: 379–386.

Tabela 1. Preferência do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*, entre os genótipos CNPA TB90 e BRS Rubi em laboratório. Temperatura  $25 \pm 2$  °C, 65% de U.R. e 13h de fotofase.

Genótipos <sup>1</sup>	Tempo (h)			
	1	6	24	48
CNPA TB 90	6	11	12	11
BRS Rubi	11	8	7	5
Estatística	$\chi^2 = 4,04; P = 0,0442$	$\chi^2 = 1,22; P = 0,2690$	$\chi^2 = 3,43; P = 0,0640$	$\chi^2 = 6,42; P = 0,0112$
CNPA TB90	9	7	10	5
CNPA TB90	9	11	10	11
Estatística	$\chi^2 = 0,00; P = 1,000$	$\chi^2 = 2,36; P = 0,1241$	$\chi^2 = 0,00; P = 1,000$	$\chi^2 = 6,43; P = 0,0112$
BRS RUBI	8	13	11	6
BRS RUBI	9	6	8	11
Estatística	$\chi^2 = 0,16; P = 0,6900$	$\chi^2 = 6,83; P = 0,0089$	$\chi^2 = 1,22; P = 0,2690$	$\chi^2 = 4,04; P = 0,0442$

<sup>1</sup>Dados testados através da hipótese de igualdade de escolha entre os genótipos (50:50%), através do teste de  $\chi^2$  (P = 0,05).

Tabela 2. Duração (dias) do período de desenvolvimento e peso do adulto de *Anthonomus grandis*, e peso do botão floral (mg). Casa telada:  $27,1 \pm 5,1$  °C e  $76,7 \pm 14,9\%$  de U.R.; e laboratório:  $25 \pm 1,0$  °C e 60-75% de U.R. e 13h de fotofase..

Genótipos <sup>1</sup>	Duração (infestação-queda)	Duração (queda-emergência)	Duração infestação a emergência	Peso do bicudo (mg)	Peso do botão floral (mg)
BRS Rubi	$8,6 \pm 0,18$ a	$12,2 \pm 0,18$ b	$21,1 \pm 0,51$ a	$8,0 \pm 0,43$ ab	$457,7 \pm 35,99$ ab
CNPA TB15	$7,1 \pm 0,29$ b	$12,1 \pm 0,12$ b	$18,8 \pm 0,26$ b	$7,9 \pm 0,36$ b	$431,2 \pm 21,29$ b
CNPA TB85	$8,6 \pm 0,26$ a	$13,3 \pm 0,22$ a	$21,5 \pm 0,30$ a	$7,6 \pm 0,37$ b	$577,8 \pm 48,25$ a
CNPA TB90	$7,0 \pm 0,30$ b	$12,2 \pm 0,13$ b	$18,9 \pm 0,26$ b	$9,6 \pm 0,54$ a	$440,9 \pm 27,86$ b

<sup>1</sup>Médias ( $\pm$  EP) seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey HSD a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Compostos voláteis (ng/24h) coletados de plantas de algodão do genótipo CNPA TB90 e BRS Rubi nas fases vegetativa e reprodutiva no intervalo de 24 a 96h com e sem injúria de *Anthonomus grandis*.

Compostos	BRS Rubi				CNPA TB90			
	Vegetativa		Reprodutiva		Vegetativa		Reprodutiva	
	Controle	Herbivoria	Controle	Herbivoria	Controle	Herbivoria	Controle	Herbivoria
(Monoterpenos)								
Canfeno	162,2±24,85b	871,6±155,27a	914,2±167,71a	1313,4±220,99a	33,4±7,92c	152,7±28,98b	974,6±30,27bc	1151,7±372,86a
α-Pineno	574,4±0,54cd	15,7±2,22abc	15,2±4,39abcd	20,0±3,13ab	5,1±0,54d	7,5±1,23cd	7,7±0,94bcd	29,9±7,91a
β-Pineno	363,6±4,94c	188,5±34,27a	173,5±35,59ab	254,3±45,09a	13,7±2,82d	68,5±12,44bc	40,2±11,62c	347,3±127,77a
Mirceno	115,8±20,19d	501,4±66,34ab	399,2±77abc	587,9±74,28a	38,9±6,6e	266,5±25,55bc	1,936±24,76dc	765,7±97,46a
Limoneno	20,7±2,22b	66,8±11,24a	80,3±13,92a	110,2±17,18a	9,1±1,07b	22±3,05b	21,35±3,29b	111,0±25,46a
<i>E</i> -β-Ocimeno	11,4±1,03bc	21,1±1,62ab	17,2±1,62ab	28,8±2,9a	7,8±0,75c	19,4±2,67ab	132,8±1,3bc	28,1±2,74a
γ-Terpineno	84,5±0,67a	6,8±0,7a	9,7±0,8a	9,4±0,91a	5,4±0,49a	7,4±0,82a	5,5±0,8a	9,6±1,26a
Linalol	28,9±3,42bc	90,0±14,11a	33,3±8,14bc	87,6±16,13a	21,2±1,28bcd	52,6±7,07ab	18,3±3,48cd	11,2±1,56d
(Sesquiterpenos)								
Copaeno	2,9±0,31cde	11,0±1,16ab	6,1±0,38abc	14,5±1,55a	2,4±0,32de	6,6±1,72bcd	2,1±4,08e	6,5±1,71bcd
<i>cis</i> -Jasmona	3,0±0,25bc	11,8±1,64a	6,7±0,7abc	6,8±0,87ab	2,1±0,25c	6,1±0,6abc	79,6±1,17abc	2,8±0,4bc
β-Cariofileno	23,9±3,15d	310,1±34,28a	128±16,63bc	241,3±32,1ab	12±2,17e	112,0±11,03c	481,5±69,7d	163,7±28,69abc
Geranilacetona	17,5±1,70a	14,2±1,11a	15,3±2,10a	19,8±2,12a	12,5±1,32a	14,2±1,25a	12,7±18,9a	11,4±1,57a
β-Farneseno	7,1±0,92ab	25,0±5,66a	14,1±2,05ab	17,1±1,63a	5,7±1,13ab	11,9±2,74ab	59,6±3,2ab	5,0±0,64b
α-Cariofileno	16,7±1,38b	92,5±9,95a	51,0±5,92ab	80,0±9,07ab	17,9±4,15b	45,9±6,44ab	8,8±28,86ab	63,7±10,2a
Alloaromadendreno	3,9±1,58ab	3,7±0,46ab	10,8±3,33a	8,1±0,77a	1,6±0,30b	13,0±7,41a	81,2±3,35ab	4,2±0,52ab
Germacreno D	6,5±0,43ab	14,7±2,77a	6,6±0,41ab	8,4±0,53ab	6,2±1,1b	13±0,99ab	6,4±11,63b	13,0±1,86ab
α-Farneseno	10,8±0,98abc	10,7±0,98abc	10,4±1,54bc	18,8±1,73ab	6,8±0,75c	28,4±5,39a	4,6±1,28c	11,2±2,65bc
Guaieno	2,4±0,22ab	2,3±0,23ab	2,5±0,21ab	3,2±0,28ab	2,5±0,31ab	4,4±1,27a	1,9±0,89b	3,1±0,39ab
Nerolidol	12,7±1,16ab	10,0±0,84ab	16,5±2,26ab	20,4±2,85a	7,3±0,88b	7,5±0,78b	99,4±4,08ab	6,9±0,65b

Continuação Tabela 3.

	(Ésteres)							
Benzaldeído	14,2±1,11a	25,2±5,7a	23,1±2,18a	27,4±3,14a	9,8±0,67a	18,3±2,31a	4,2±0,96a	15,8±1,5a
Salicilato de metila	141,5±33,6ab	51,6±12,23abc	104,0±36,31abc	208,7±61,02a	53,2±23,98abc	34,2±9,67abc	47,5±12,9c	6,5±5,02bc
Benzothiazole	5,9±0,56a	213,9±0,56a	8,9±3,86a	39,5±16,51a	7,6±1,14a	34,4±5,32a	8,1±0,39a	12,0±0,74a
Indol	8,7±0,72a	29,9±4,84a	7,2±1,7a	11,3±2,14a	7,7±1,09a	9,0±1,75a	44,5±0,87a	4,7±0,65a
Z-3-Acetano de hexenila	63,8±9,99cd	1180,1±203,73a	138,5±38,027bc	252,0±45,47b	23,4±3,66d	269,6±50,46b	55,7±13,28cd	43,2±6,11cd
E-2-hexenil Acetato	3,2±0,23a	8,9±5,03a	3,4±0,73a	5,3±0,93a	3,1±0,49a	3,9±0,4a	7,1±4,11a	3,4±0,41a
E-2-Hexenil Butirato	3,9±1,01a	127,0±54,41a	3,6±44,33a	6,2±3,28a	14,2±0,007a	17,5±1,67a	17,5±0,34a	3,6±1,06a
	(Homoterpenos)							
DMNT	571,6±89,23abc	784,5±92,96ab	1033,6±228ab	1287,6±192,46a	187,7±31,14bc	281,9±35,48abc	410,9±65,74abc	156,3±22,29c
TMTT	1116,8±199,43a	702,8±112,46a	1654,3±395,1a	1968,1±361,02a	513,6±80,86a	434,6±65,1a	897,3±168,84a	153,3±32,47a
	(Álcoois)							
1-Decino	38,0±2,98de	54,6±5,96bcde	163,7±19,06a	93,9±7,37abcd	22,9±2,88e	56,4±9,45cde	106,1±12,33abc	131,2±14,94ab
Ethilhexanol	19,0±2,47a	23,2±2,71a	25,9±6,8a	30,1±4,4a	13,5±1,62a	18,7±2,47a	32,7±5,89a	54,5±7,11a

<sup>1</sup>Médias (±EP) seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05), TMTT ((E,E)-4,8,12

trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno), DMNT ((E)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trieno)

Tabela 4. Comportamento de primeira escolha de adultos de *Anthonomus grandis* quando ofertados em olfatômetro tipo-Y voláteis coletados no tempo de 24h dos algodoeiros TB90 e BRS Rubi sem herbivoria ou com herbivoria (RubiH e TB90H) por um período de 10 minutos de observações.

Pares de comparações <sup>1</sup>	Primeira escolha (Estatística- $\chi^2$ ; P)		
	Machos (n=20)	Fêmeas (n=20)	Ambos os sexos (n = 40)
TB90H x Hexano	$\chi^2=0,92; P=0,337$	$\chi^2=0,00; P=1,000$	$\chi^2=0,45; P=0,501$
TB90 x Hexano	$\chi^2=0,92; P=0,337$	$\chi^2=0,92; P=0,337$	$\chi^2=1,84; P=0,174$
RubiH x Hexano	$\chi^2=0,10; P=0,751$	$\chi^2=0,10; P=0,751$	$\chi^2=0,00; P=1,000$
Rubi x Hexano	$\chi^2=0,10; P=0,751$	$\chi^2=0,40; P=0,525$	$\chi^2=0,45; P=0,5011$
TB90H x Rubi	$\chi^2=0,40; P=0,525$	$\chi^2=0,40; P=0,525$	$\chi^2=0,81; P=0,368$
RubiH x TB90	$\chi^2=0,00; P=1,000$	$\chi^2=0,10; P=0,751$	$\chi^2=2,55; P=0,110$
RubiH x TB90H	$\chi^2=3,96; P=0,046$	$\chi^2=0,10; P=0,751$	$\chi^2=2,52; P=0,111$
Rubi x TB90	$\chi^2=0,10; P=0,751$	$\chi^2=0,10; P=0,751$	$\chi^2=0,00; P=1,000$
TB90H x TB90	$\chi^2=0,40; P=0,525$	$\chi^2=0,40; P=0,525$	$\chi^2=0,81; P=0,368$
RubiH x Rubi	$\chi^2=0,10; P=0,751$	$\chi^2=0,10; P=0,751$	$\chi^2=0,20; P=0,654$

<sup>1</sup>Dados testados através da hipótese de igualdade de escolha entre os tratamentos através do teste de  $\chi^2$  (P = 0,05).

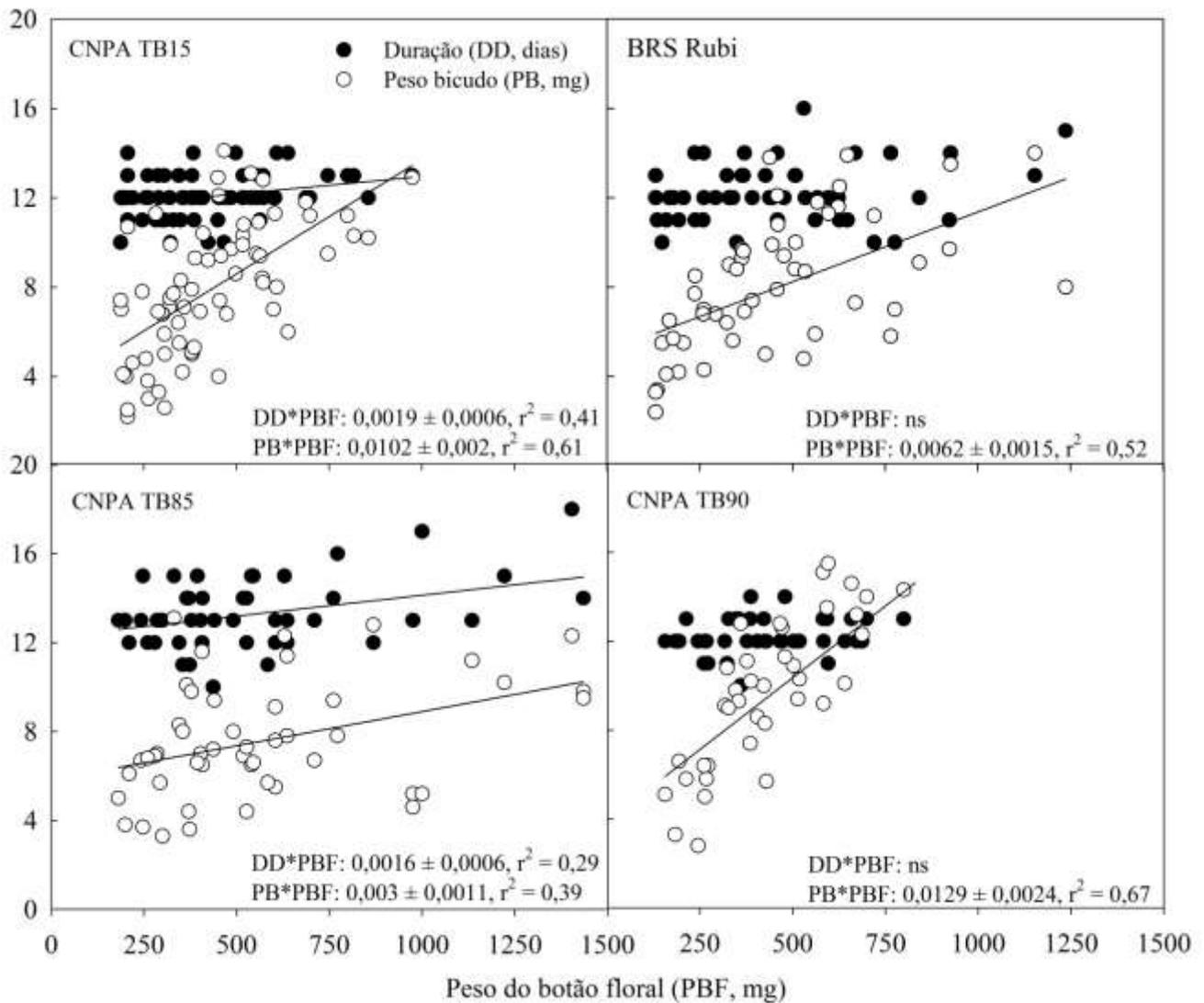


Figura 1. Duração do desenvolvimento (DD) da queda do botão floral à emergência e peso do adulto do bicudo (PB), *Anthonomus grandis*, emergido em função do peso do botão floral (PBF) para cada genótipo de algodoeiro estudado. Valores representam o coeficiente de inclinação ( $\pm$ EP) e respectivos coeficientes de determinação para as respectivas curvas de regressão linear; ns, não significativo.

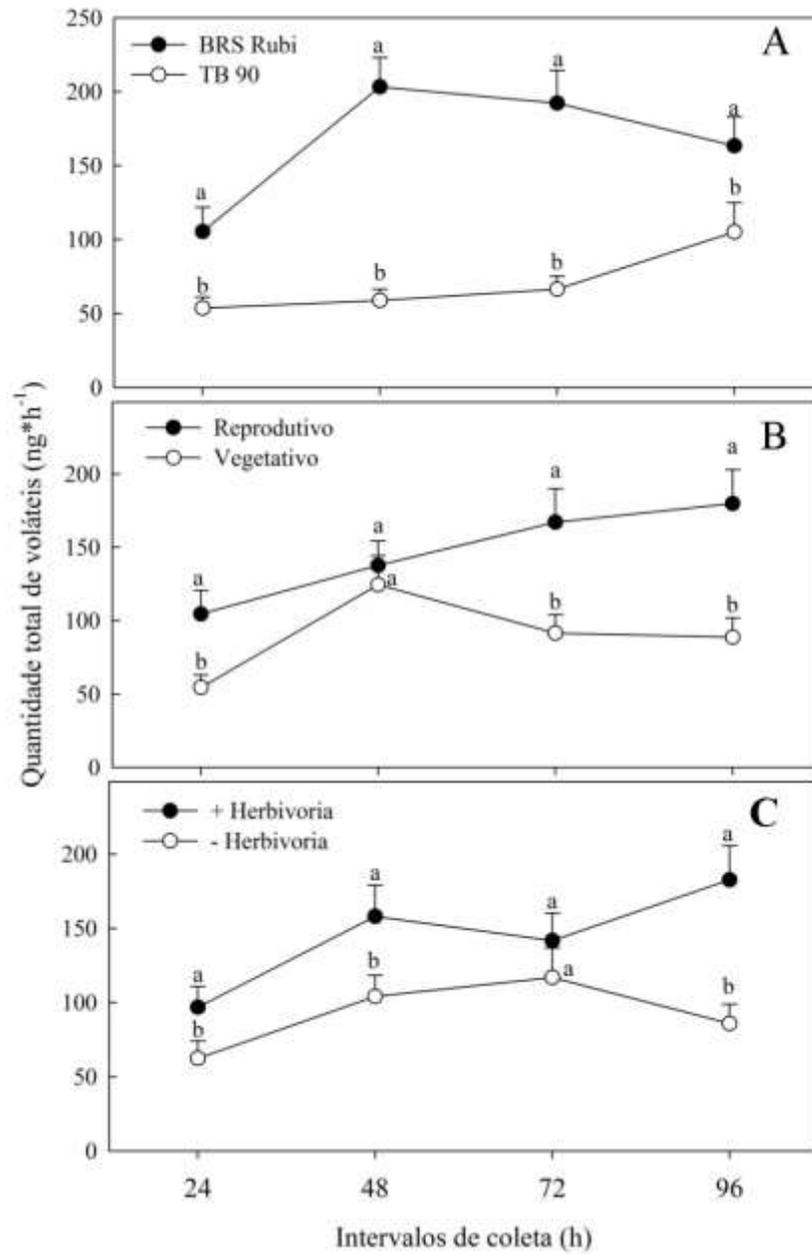


Figura 2. Liberação de voláteis a partir da interação dos fatores genótipos de algodão (A), fase fenológica da planta (B) e condição de herbivoria (C) em função dos intervalos de coleta. Médias (+EP) seguidas de letras diferentes, em cada intervalo de coleta, diferem pelo teste de Tukey HSD ( $P < 0,05$ ).

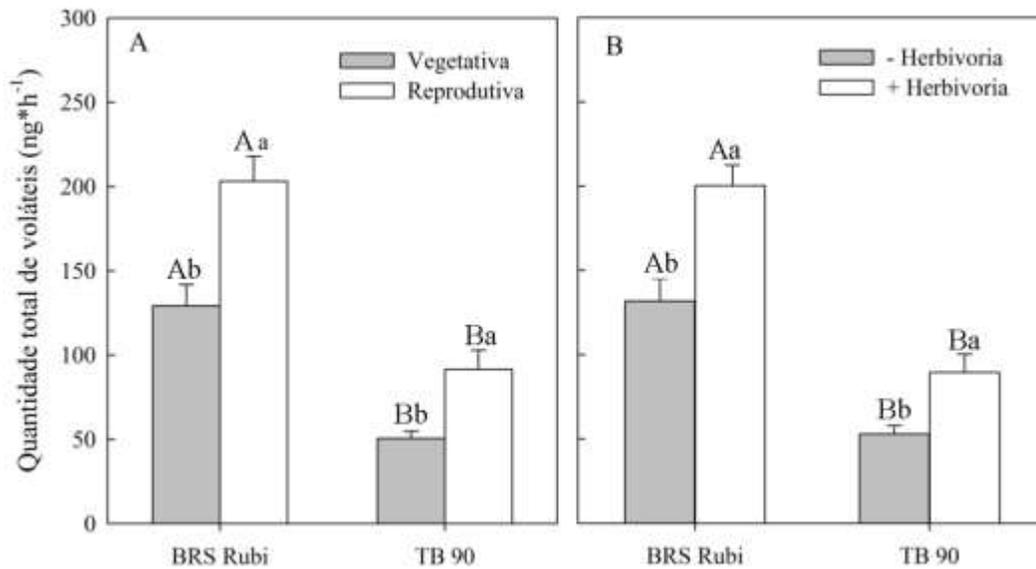


Figura 3. Produção total de voláteis (ng/24h) em função da fenologia das plantas de algodão e condições de herbivoria nos dois genótipos BRS Rubi e CNPA TB90. Barras seguidas de mesma letra minúscula comparando médias entre fase fenológicas e condição de herbivoria para o mesmo genótipo não diferem pelo teste de Tukey HSD ( $P < 0,05$ ); assim como letras maiúsculas entre genótipos para a fase fenológica e condição de herbivoria.

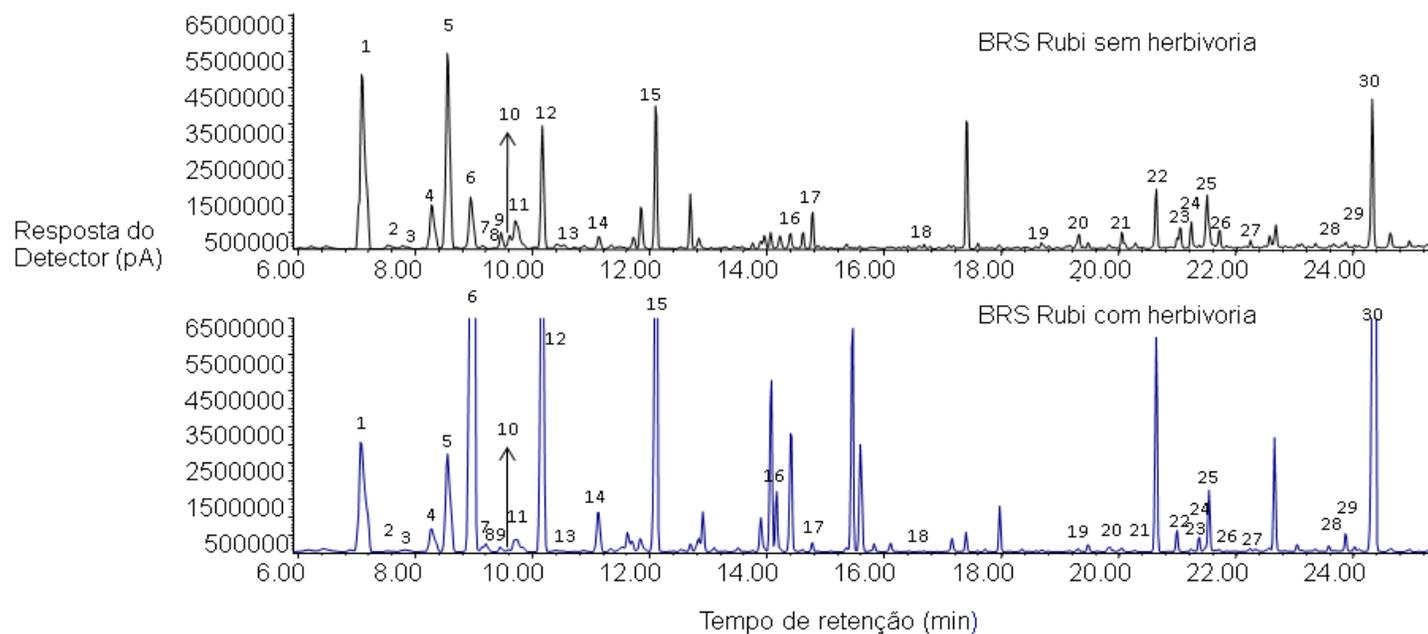


Figura 4. Perfis cromatográficos de plantas de algodão do genótipo BRS Rubi na fase vegetativa em diferentes tratamentos. Os cromatogramas mostram a eluição dos compostos na coluna ao longo do tempo de análise em (min) e a resposta do detector (pA). Os números correspondem aos seguintes compostos: Alfa pineno. 2.canfeno.3 benzaldeído. 4.  $\beta$  pineno. 5. mirceno. 6. Z-3-acetato de hexenila. 7. E-2-hexenil acetato. 8. 1-decino. 9. etilhexanol. 10. limoneno. 11. E- $\beta$ -ocimeno. 12.  $\gamma$ -terpineno. 13. linalol. 14. E-2-hexenil Butirato. 15. DMNT. 16. salicilato de metila. 17. benzotiazol. 18. indol. 19. copaeno. 20.  $\beta$ -cariofileno. 21.guaieno. 22. geranilacetona. 23.  $\beta$ -farneseno. 24. $\alpha$ -cariofileno. 25.alloaromadendreno. 26. germacreno D. 27.  $\alpha$ -farneseno. 28. cis-jasmona. 29. nerolidol. 30. TMTT.

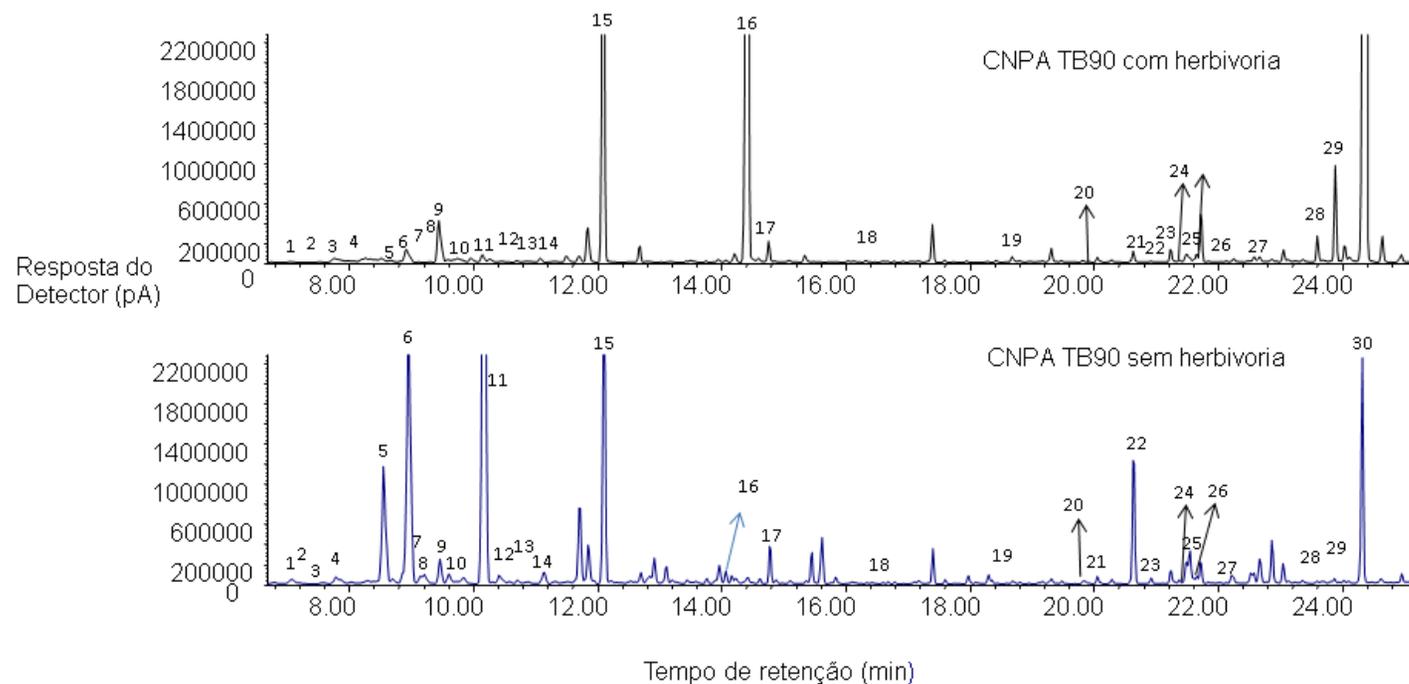


Figura 5. Perfis cromatográficos de plantas de algodão do genótipo CNPA TB90 na fase vegetativa em diferentes tratamentos. Os cromatogramas mostram a eluição dos compostos na coluna ao longo do tempo de análise em (min) e a resposta do detector (pA). Os números correspondem aos seguintes compostos: 1. Alfa pineno. 2. Canfeno. 3. Benzaldeído. 4. Beta pineno. 5. Mirceno. 6. Z-3-Acetato de hexenila. 7. *E*-2-Hexenil acetato. 8. 1-decino. 9. Etilhexanol. 10. Limoneno. 11. *E*-ocimeno. 12.  $\gamma$ -terpineno. 13. Linalol. 14. *E*-2-Hexenil Butirato. 15. DMNT. 16. Salicilato de metila. 17. Benzotiazole. 18. Indol. 19. Copaeno. 20.  $\beta$ -cariofileno. 21. Guaieno. 22. Geranilacetona. 23.  $\beta$ -farneseno. 24.  $\alpha$ -cariofileno. 25. Alloaromadendreno. 26. Germacreno D. 27.  $\alpha$ -farneseno. 28. Cis-jasmone. 29. Nerolidol. 30. TMTT.

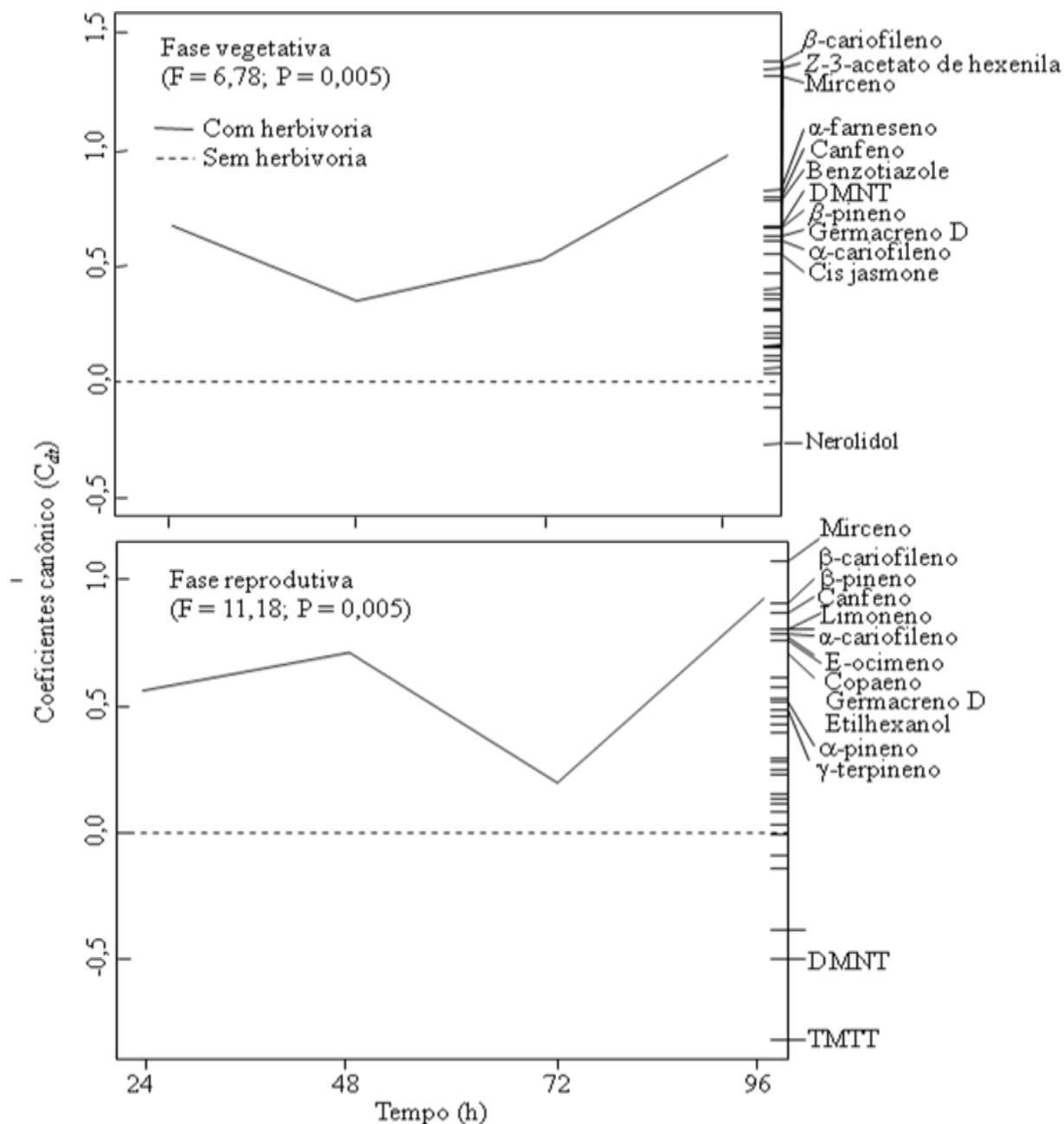


Figura 6. Diagrama PRC com curvas de resposta principal (eixo y1) e peso da contribuição dos voláteis liberados (eixo y2) por plantas de algodoeiro CNPA TB90 nas fases vegetativa e reprodutiva. A curva mostra o efeito principal da planta com herbivoria sobre a produção de voláteis em relação as plantas sem herbivoria (linha y = 0). Os valores de F e P indicam a significância do diagrama considerando todos os voláteis e intervalos de aeração das plantas baseado no teste de permutação de Monte Carlo. Voláteis indicados no diagrama são aqueles com maior contribuição ( $< -0,5$  e  $> +0,5$ ) para o padrão demonstrado pela PRC. A lista completa dos voláteis considerada nas análises encontra-se na Tabela 3.

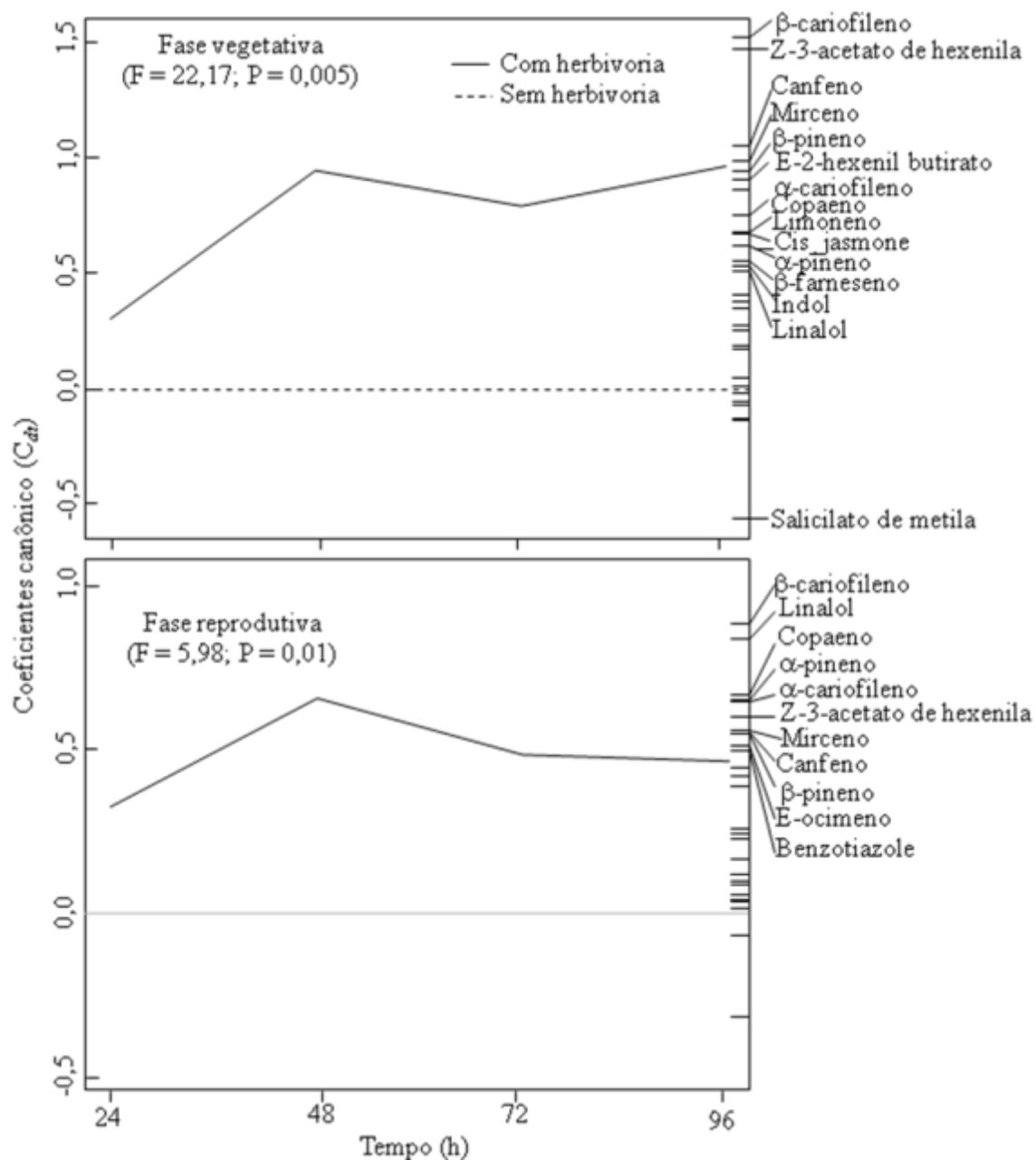


Figura 7. Diagrama PRC com curvas de resposta principal (eixo y1) e peso da contribuição dos principais voláteis liberados (eixo y2) por plantas de algodoeiro BRS Rubi nas fases vegetativa e reprodutiva. A curva mostra o efeito principal da planta com herbivoria sobre a produção de voláteis em relação as plantas sem herbivoria (linha  $y = 0$ ). Os valores de F e P indicam a significância do diagrama considerando todos os voláteis e intervalos de aeração das plantas baseado no teste de permutação de Monte Carlo. Voláteis indicados no diagrama são aqueles com maior contribuição ( $< -0,5$  e  $> +0,5$ ) para o padrão demonstrado pela PRC. A lista completa dos voláteis considerado nas análises encontra-se na Tabela 3.

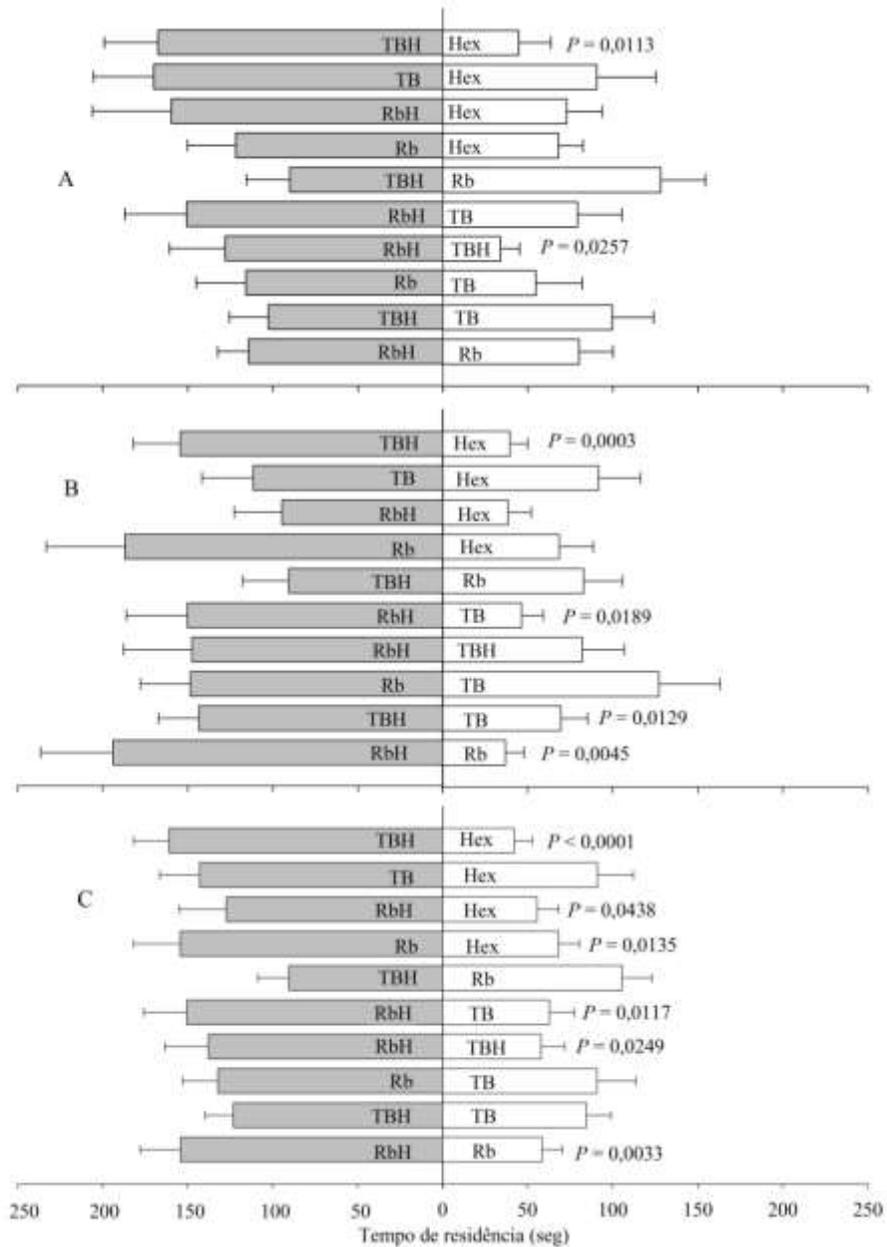


Figura 8. Tempo de residência de fêmeas (A, n = 20 fêmeas), machos (B, n = 20 machos) e fêmeas + machos (C, n = 40 insetos) do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*, a extratos voláteis dos genótipos de algodoeiro BRS Rubi (Rb) e TB90 (TB) submetidos ou não a herbivoria (H) e ao solvente hexano (Hex). Valores de *P* indicam significância de escolha entre o par de tratamentos pelo teste t pareado.