

INFLUÊNCIA DE FATORES ENDÓGENOS NA PERCEPÇÃO ELETROFISIOLÓGICA E COMPORTAMENTAL DE *GRAPHOLITA MOLESTA* (BUSCK) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) A VOLÁTEIS DE PLANTAS HOSPEDEIRAS

D.L. Altafini*, J. Sant'Ana, L.R. Redaelli, R. Lorscheiter

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: deisila@gmail.com

RESUMO

A mariposa-oriental *Grapholita molesta* (Lep.: Tortricidae) destaca-se como uma das principais pragas das rosáceas no Brasil. Durante a alimentação, as lagartas fazem galerias em brotos e frutos, prejudicando a produção comercial. Este trabalho objetivou estudar a influência de voláteis de plantas de macieira e pessegueiro e a interação destes com o feromônio sexual sintético, na percepção eletrofisiológica e no comportamento quimiotático (olfatometria) da espécie. Observou-se a percepção eletroantegráfica de ambos os sexos de *G. molesta*, alimentados ou não, a extratos de broto, fruto verde e fruto maduro de macieira (*Malus domestica*, var. Gala) e pessegueiro (*Prunus persicae*, var. Chiripá). Os fatores endógenos avaliados foram a idade, o status de cópula e a alimentação, em resposta ao extrato de broto de pessegueiro (EBP). O efeito da interação desse extrato com o feromônio foi avaliado em machos. A percepção eletrofisiológica de machos e fêmeas aos diferentes extratos de planta não variou com a condição alimentar. Para ambos os sexos, o EBP gerou as maiores respostas eletrofisiológicas. O comportamento quimiotático ao EPB tendeu a ser maior em fêmeas copuladas. Na percepção eletrofisiológica, houve efeito aditivo entre o atraente sexual e o EBP em antenas de machos. No entanto, os resultados comportamentais não corroboraram o observado em eletroantegrafia. Os resultados obtidos auxiliam na compreensão da influência dos fatores endógenos na comunicação química entre *G. molesta* e seus hospedeiros, possibilitando maior adequação e confiabilidade na utilização do controle comportamental com o uso de infoquímicos.

PALAVRAS-CHAVE: Eletroantegrafia, olfatometria, mariposa-oriental, controle comportamental, feromônio.

ABSTRACT

INFLUENCE OF ENDOGENOUS FACTORS ON THE ELECTROPHYSIOLOGICAL AND BEHAVIORAL PERCEPTION OF HOST PLANT VOLATILES BY *GRAPHOLITA MOLESTA* (BUSCK) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE). The oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lep.: Tortricidae), stands out as one of the most important pests in Rosaceae orchards in Brazil. During feeding, caterpillars bore into shoots, branches and fruits, impairing the commercial production. The present work was aimed to study the influence of the host plant volatiles and the interaction of these with synthetic sex pheromone in the chemical perception and in the chemotactic behavior (olfactometry) of this species. The electroantennographic perception of both sexes of *G. molesta* that had been fed or not fed extracts of shoots and ripe and unripe fruits of apple (*Malus domestica*, Gala cv.) and peach (*Prunus persicae*, Chiripá cv.) trees was observed. The endogenous factors evaluated were the age, the mating status and the feeding in response to peach-tree shoots extract (PTSE). The effect of the extract interaction with pheromone was evaluated in males. The electrophysiological perception of the plant volatiles by males and females did not vary with feeding status. For both sexes, PTSE elicited the stronger electrophysiological responses. The chemotactical behavior in the presence of PTSE showed a tendency to be higher in mated females. An additive effect was noticed between the sexual attractant and the PTSE in the males' electrophysiological perception. However, the behavioral results did not corroborate with those obtained in the electroantennography. The results obtained aid in the understanding of the interference of endogenous factors in the chemical communication among *G. molest* and host plants, improving the adaptation and reliability of infochemicals in the behavioral control of the oriental fruit moth.

KEYWORDS: Eletroantennography, olfactometry, oriental fruit moth, behavioral control, pheromone.

*Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

INTRODUÇÃO

A mariposa-oriental, *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae), é uma das principais pragas das culturas da macieira e do pessegueiro no Brasil, cujos danos são decorrentes da alimentação e das galerias das lagartas nos brotos, ramos novos e frutos (SALLES, 2001).

A utilização do feromônio sexual sintético é uma prática adotada para monitoramento e controle comportamental da mariposa-oriental (BOTTON *et al.*, 2005; MONTEIRO *et al.*, 2008).

No entanto, para que o uso de feromônios seja aprimorado e ampliado, são necessários estudos que busquem maior compreensão a respeito da biodinâmica desses atraentes e de possíveis efeitos aditivos ou sinérgicos com voláteis de plantas. Trabalhos dessa natureza podem elucidar as influências dos fatores fenológicos das plantas hospedeiras na ocorrência, distribuição e flutuação populacional de insetos (METCALF; METCALF, 1992).

As plantas produzem diferentes substâncias químicas que atuam na comunicação inseto-planta (METCALF; METCALF, 1992). Órgãos distintos de um mesmo hospedeiro podem liberar diferentes voláteis secundários, os quais podem variar com o estágio fenológico da planta (HORVAT; CHAPMAN, 1990). O reconhecimento das plantas hospedeiras por ambos os sexos possibilita o encontro de parceiros para cópula e sítios de oviposição, conforme o observado em *Cydia pomonella* L. (Lep.: Tortricidae) (MASANTE-ROCA *et al.*, 2002; ANSEBO *et al.*, 2004). A condição alimentar e o *status* de cópula, este especialmente em fêmeas, podem interferir na capacidade perceptiva aos caimônios liberados pelos hospedeiros. Para *Lobesia botrana* (Denis e Schiffermüller) (Lep.: Tortricidae) o *status* de cópula foi relevante na percepção aos odores de planta (MASANTE-ROCA *et al.*, 2002).

Em experimentos eletroantegráficos e comportamentais, foi constatado que compostos secundários de plantas apresentam ação sinérgica e/ou aditiva com feromônios na atratividade de machos (STELINSKI *et al.*, 2003; DENG *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2004).

Neste contexto, o trabalho objetivou estudar a influência de voláteis de plantas hospedeiras e a interação destes com o feromônio sexual sintético na percepção eletrofisiológica (EAG) e no comportamento quimiotático (olfatometria) de *G. molesta*, visando à compreensão da influência dos fatores endógenos na comunicação química entre o inseto e seus hospedeiros, no sentido de aprimorar os conhecimentos a respeito da biodinâmica de feromônios e caimônios nesta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Os insetos utilizados foram provenientes de uma criação de manutenção conduzida conforme ARIOLI *et*

al (2007), em sala climatizada ($25 \pm 1^\circ \text{C}$; $60 \pm 10\%$ U.R.; fotofase de 16 horas e luminância igual a 1,46 klx), onde os adultos eram mantidos em gaiolas formadas por garrafa PET, com solução de mel a 15% e Nipagin® a 0,15% disponível para alimentação em algodão embebido. As fêmeas realizavam as posturas na parede interna da garrafa e esta era recortada após 2 dias e seus pedaços, contendo os ovos de *G. molesta*, eram colocados sobre dieta artificial à base de maçã seca e farinha de milho para desenvolvimento das lagartas. Para o estabelecimento da criação, foram coletados insetos em pomares de pessegueiro, em Bento Gonçalves, RS, mantidos por muitas gerações em dieta artificial até a realização dos experimentos.

Partes vegetais (brotos, frutos verdes e frutos maduros) de pessegueiro *Prunus persicae* (cultivar Chiripá) e de macieira, *Malus domestica*, (cultivar Gala) foram coletadas em pomares orgânicos localizados em Pinto Bandeira, RS ($29^\circ 06' \text{S}$ e $51^\circ 27' \text{W}$), em outubro/2006 e janeiro/2007 e em Antônio Prado, RS ($28^\circ 51' 30'' \text{S}$ e $51^\circ 16' 58'' \text{W}$), em fevereiro/2007, respectivamente. Em ambos os pomares não foi utilizado tratamento químico para controle de pragas ou doenças.

Foram elaborados extratos com brotos, frutos verdes e frutos maduros de pessegueiro (EBP, EPV e EPM) e de macieira (EBM, EMV e EMM), obtidos por meio da técnica de refluxo, onde os materiais foram submetidos à extração sólido-líquido com o solvente etanol (Vetec, 99% de pureza). As partes vegetais foram picadas em um liquidificador e, então, 50 g de amostra foram pesadas e transferidas para um balão volumétrico de 100 mL. Foram adicionados 20 mL de solventes sobre as amostras e estas foram submetidas a refluxo por um período de 4 horas. Os extratos obtidos repousaram por 1 hora e, então, foram filtrados. As extrações foram realizadas no período de 24 a 48 horas após a coleta do material. Os extratos foram armazenados sob refrigeração.

As técnicas eletroantegráficas utilizadas são similares às de TRIMBLE; MARSHALL (2007). Machos e fêmeas de *G. molesta* com até um dia de idade foram individualizados em recipientes plásticos (500 mL) e mantidos até que atingissem a idade estabelecida para os bioensaios, recebendo solução de mel a 15% e Nipagin® a 0,15% ou apenas água. A resposta eletroantegráfica foi capturada, amplificada e processada com um controlador de aquisição de dados (IDAC-4, Syntech®) e, posteriormente, registrada por software (EAG2000, Syntech®).

Uma alíquota de feromônio ou de extrato de planta era aplicada sobre papel filtro (1,5 X 2,5 cm) com dobras em forma de sanfona. O estímulo controle foi papel filtro impregnado com o solvente no mesmo volume da amostra testada, podendo ser etanol, hexano ou ambos.

As antenas foram submetidas a pulsos de ar, gerados por um controlador de fluxo (CS-02,

Syntech®), num volume de 2,5 mL/ 0,5 s, com os diferentes tratamentos testados. Estipulou-se o tempo de um minuto entre sucessivos estímulos. Os papéis filtro contendo os extratos e o feromônio foram renovados a cada seis antenas testadas, expondo-se os tratamentos de forma aleatória.

Foi utilizado o solvente etanol como controle nos testes relativos à percepção olfativa aos voláteis de planta e o hexano quando o feromônio era o estímulo. Todos os extratos vegetais foram testados em insetos virgens de ambos os sexos (separados sob estereomicroscópio, na fase pupal, com base no número de segmentos abdominais aparentes), alimentados e não-alimentados, com três dias de idade.

Posteriormente, avaliou-se a resposta de fêmeas alimentadas, virgens e não virgens de 4, 7, 10 e 13 dias de idade, somente ao extrato de broto de pessegueiro (EBP), devido à superioridade das respostas a este no experimento anterior. As fêmeas não virgens foram pareadas logo após a emergência com um macho de mesma idade e mantidas desta forma até o dia anterior ao experimento. Após a realização do bioensaio, as bursas copulatórias foram retiradas do abdômen das fêmeas com auxílio de estilete e examinadas sob estereomicroscópio, para certificação da cópula.

Para avaliar a interação de voláteis de partes das plantas hospedeiras e do feromônio sexual sintético na resposta eletrofisiológica de machos de *G. molesta*, indivíduos recém-emergidos e virgens foram individualizados, alimentados e mantidos nestas condições por três dias, quando foram realizados os testes.

Os atraentes utilizados nestes bioensaios foram os solventes controle (etanol para os extratos vegetais e hexano para o feromônio), testados isolados (5 µL) ou em mistura (5 µL de cada), bem como o feromônio e o EBP isoladamente (5 µL). Quando utilizados em conjunto, o volume da mistura feromonal (MF) foi sempre 5 µL, enquanto o EBP foi empregado em dois volumes, 5 µL e 7,5 µL. A primeira proporção (5 µL MF + 5 µL EBP) visou comparar estas respostas com as dos solventes, em EAG. A segunda (5 µL MF + 7,5 µL EBP) objetivou comparar as respostas de percepção eletroantegráficas com as dos testes comportamentais, nos quais os volumes utilizados foram de 10 µL (MF) + 15 µL (EBP). Os volumes maiores usados nos testes comportamentais foram estabelecidos após experimento piloto.

Nos experimentos comportamentais com machos e fêmeas, utilizou-se somente o EBP, selecionado com base nos experimentos eletroantegráficos. O comportamento de adultos foi observado em olfatômetro "Y" de vidro de dupla escolha, com diâmetro de 4 cm, arena inicial de 22 cm, bifurcada em dois "braços" de 24 cm cada, conforme GÖKÇE *et al.* (2005), em capela com sistema de exaustão de ar, em sala climatizada (25 ± 1 °C e 60 ± 10% U.R.). O fluxo de ar, previamente filtrado com carvão ativo, foi conduzido para dentro

do sistema com um propulsor conectado a um fluxímetro, a uma taxa de 0,79 L/min. Testes com machos foram conduzidos na fotofase sob luz incandescente (60 W, luminância igual a 0,518 klx) e os com fêmeas, na escotofase, com lâmpada vermelha (70 W, luminância igual a 135 lx).

O comportamento quimiotático de machos, frente à interação EBP e feromônio, foi observado em indivíduos virgens, de cinco dias de idade e alimentados com solução de mel a 15% e Nipagin® a 0,15%. Nos testes em que se avaliou somente EBP, utilizou-se um volume de 15 µL e, naqueles em que a interação extrato e feromônio foi verificada, 15 e 10 µL, respectivamente, totalizando 25 µL. Como controle, empregou-se os solventes etanol e hexano, isoladamente ou em mistura, em volumes iguais aos dos extratos.

Considerou-se resposta positiva quando os insetos percorreram, pelo menos, 4 cm dentro dos braços contendo o tratamento teste e permaneceram nesta área por, no mínimo, 1 min, negativa, quando percorressem a mesma distância e ficassem o mesmo tempo no braço contendo o controle, e ausência de resposta, quando permaneceram apenas no braço principal do olfatômetro. Foram realizadas, no mínimo, 30 repetições para cada tratamento e cada inseto foi observado por 10 minutos.

Nos dois experimentos (EAG e olfatometria) foram calculadas médias, erros padrões e variâncias. Os resultados do EAG foram comparados por ANOVA, com 95% de confiabilidade e os dados de olfatometria pelo Teste t ou Exato de Fischer, com 95% de confiabilidade. Nas análises foram utilizados os softwares Bioestat® 4.0 e SPSS® for Windows 13.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resposta eletrofisiológica de fêmeas de *G. molesta* foi significativamente maior para o EBP (23,12 ± 2,264 mV), seguido do EBM (14,34 ± 1,198 mV) (P < 0,01). Não houve diferença entre os demais tratamentos e o etanol (P = 0,364) (F = 18,395) (Fig. 1) Resultado semelhante foi encontrado para machos, sendo as respostas eletroantegráficas ao EBP (35,24 ± 3,395 mV) e EBM (26,06 ± 2,913 mV) diferentes do controle (P < 0,01) e os demais tratamentos, estatisticamente iguais ao etanol (P = 0,250) (F = 6,938) (Fig. 2). As respostas eletrofisiológicas de machos a todos os tratamentos foram superiores às de fêmeas (P < 0,01). No entanto, não é possível associar este resultado a uma maior bioatividade desses extratos em antenas de machos, uma vez que as respostas obtidas com o tratamento controle (etanol) também foram significativamente superiores neste sexo. Assim, as diferenças nas médias de despolarização (mV) entre os sexos podem estar relacionadas à maior sensibilidade das antenas de machos ao solvente etanol.

A percepção química aos voláteis de planta, de modo geral, é realizada por machos e fêmeas. No entanto, supõe-se que, em *G. molesta*, os sexos utilizem esta percepção para desempenhar, principalmente, duas funções biológicas distintas. Para machos e fêmeas, os voláteis secundários teriam o objetivo de orientar os parceiros sexuais para plantas hospedeiras preferidas e, posteriormente, sítios de cópula. Já as fêmeas, utilizariam este recurso para localizar sítios de oviposição relacionados a hospedeiros palatáveis para sua prole (METCALF; METCALF, 1992).

A seleção do hospedeiro por insetos fitófagos é mediada por uma série complexa de fatores evolutivos que envolvem mecanismos de atratividade e defesa. Segundo METCALF; METCALF (1992), órgãos distintos de uma mesma planta, como flores, folhas e frutos, em diferentes estádios de maturação, podem apresentar variações na produção e liberação de substâncias químicas voláteis. Em *Cydia pomonella* já foram constatados diferentes níveis de atratividade aos voláteis emitidos por distintas partes da planta hospedeira e estádios de desenvolvimento (HORVAT; CHAPMAN, 1990; CASADO *et al.*, 2006). PIÑERO; DORN (2007), avaliando o efeito sinérgico de dez compostos químicos sintéticos, presentes em broto de pessegueiro, na atratividade de fêmeas não virgens de *Cydia* (= *Grapholita*) *molesta*, em olfatômetro de dupla escolha, concluíram que a mistura de cinco substâncias foi tão atrativa quanto o broto de pessegueiro *in natura*, sendo a mistura composta por (Z)-3-acetato de hexenila, (Z)-3-hexenol, benzaldeído, (E)-2-hexanal e benzonitrila. Segundo os autores, a presença de benzaldeído e benzonitrila na mistura é fundamental na atratividade de fêmeas. No entanto, quando estes foram testados de forma isolada, não desencadearam comportamento de atratividade ou de repelência. Os autores observaram que o benzaldeído foi o composto majoritário nas amostras de broto de pessegueiro, não sendo observado em extratos do fruto. Desta forma, assim como foi observado por PIÑERO; DORN (2007), a presença do benzaldeído no extrato da planta parece ser importante para o aumento da percepção aos voláteis do pessegueiro.

Em macieira, os compostos predominantes são o (Z)-3-acetato de hexenila, (Z)-3-hexenol, (E,E)- α -farneseno, acetato de hexenila, hexanoato de hexenila

e germacreno (ANSEBO *et al.*, 2004; CASADO *et al.*, 2006). Entretanto, não foi feita análise cromatográfica comparativa entre os extratos de macieira utilizados nesse bioensaio para justificar quimicamente o resultado superior apresentado pelo broto de macieira.

Apesar das variações entre o tipo e a concentração de voláteis em determinadas partes e/ou fases de desenvolvimento da planta, NATALE *et al.* (2003), em olfatômetro, não encontraram diferenças na percepção quimiotática de fêmeas de *C. pomonella* a brotos de pessegueiro e de macieira. Em *C. molesta* (= *G. molesta*) foi observado comportamento semelhante, ou seja, tanto voláteis emitidos por pêssego como por maçã, verdes e maduros, foram atrativos a fêmeas não virgens (NATALE *et al.*, 2004).

As médias das respostas eletroantenográficas periféricas de fêmeas virgens e copuladas de 4, 7 e 13 dias de idade não diferiram significativamente entre si quando estimuladas com o EBP ($P > 0,05$, $F = 4,076$). No entanto, fêmeas copuladas de sete a dez dias foram mais responsivas a esta fonte de estímulo do que as fêmeas virgens ($P < 0,05$, $F = 5,423$) (Tabela 1).

MASANTE-ROCA *et al.* (2002) concluíram que as respostas de machos e fêmeas de *Lobesia botrana* (Denis e Schiffermüller) (Lep.: Tortricidae) a 13 voláteis presentes em videiras não diferiram, independente do sexo e do *status* de cópula. Entretanto, constataram uma tendência de respostas maiores em fêmeas copuladas, em detrimento das de machos copulados e de fêmeas virgens.

Esta tendência também foi observada neste trabalho em bioensaios comportamentais, no qual o *status* de cópula parece ter influenciado a percepção de fêmeas aos voláteis presentes neste extrato, já que sete fêmeas copuladas foram atraídas pelos voláteis do broto de pessegueiro, em contraste com apenas uma virgem (Fig. 3). Resultado semelhante, em olfatometria, foi observado para *C. molesta* por NATALE *et al.* (2004), onde fêmeas virgens não responderam aos voláteis de pêssego e maçã, verdes e maduros, enquanto as copuladas foram atraídas por todos, não diferindo no comportamento quimiotático, independente da fonte de estímulo. Em túnel-de-vento, YAN *et al.* (1999) constataram que fêmeas virgens e copuladas de *C. pomonella* foram mais ativas na presença de voláteis de maçã do que na ausência destes, no entanto, somente as copuladas alçaram voo em direção à fonte de odor.

Tabela 1 - Médias das respostas eletrofisiológicas (\pm erro padrão), em milivolts (mV), de fêmeas virgens e não virgens de *Grapholita molesta* de diferentes idades aos voláteis emitidos pelo extrato etanólico de broto de pessegueiro (n = 10).

Status de cópula	Idade (dias)			
	4	7	10	13
Virgens	9,60 \pm 2,209 Ba	13,95 \pm 1,942 Aa	12,35 \pm 1,921 ABb	5,35 \pm 2,222 Ba
Não virgens	21,95 \pm 2,523 Ba	31,20 \pm 3,963 Aa	29,80 \pm 3,979 Aa	18,35 \pm 4,519 Ba

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas, nas linhas, e minúsculas, nas colunas, diferem entre si ($P < 0,05$).

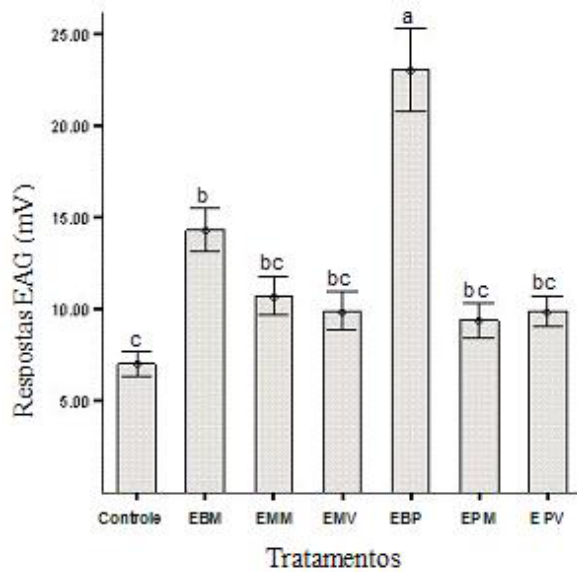


Fig. 1 - Médias das respostas eletrofisiológicas (\pm erro padrão), em milivolts (mV), de fêmeas de *Grapholita molesta* (n = 15) a voláteis de diferentes extratos etanólicos de plantas hospedeiras: EBM= broto de macieira; EMM= maçã madura; EMV = maçã verde; EBP = broto de pessegueiro; EPM pêssego maduro; EPV = pêssego verde. Barras seguidas de letras distintas diferem entre si (P < 0,05).

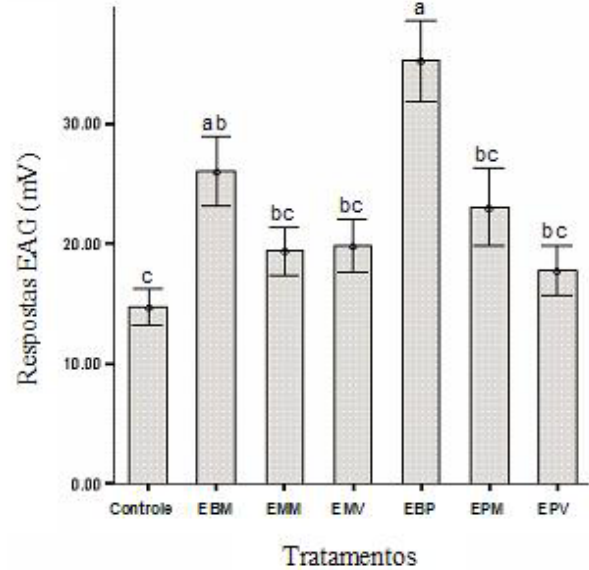


Fig. 2 - Médias das respostas eletrofisiológicas (\pm erro padrão), em milivolts (mV), de machos de *Grapholita molesta* (n = 15) a voláteis de diferentes extratos etanólicos de plantas hospedeiras: EBM= broto de macieira; EMM= maçã madura; EMV = maçã verde; EBP = broto de pessegueiro; EPM pêssego maduro; EPV = pêssego verde. Barras seguidas de letras distintas diferem entre si (P < 0,05).

As maiores respostas quimiotáticas das fêmeas copuladas, em bioensaios comportamentais, corroboram a ideia de METCALF; METCALF (1992), de que a maior sensibilidade odorífera aos voláteis da planta hospedeira decorre da necessidade de orientação rápida e seletiva para melhores sítios de oviposição, promovendo a sobrevivência da prole.

As respostas de fêmeas virgens de sete dias de idade foram significativamente maiores que as de quatro e as de 13 dias (P < 0,05), não diferindo estatisticamente das de dez dias (P = 0,0631) (F = 3,747). Fêmeas copuladas de dez dias desencadearam maiores respostas eletrofisiológicas, diferindo estatisticamente das de quatro (P < 0,05) e 13 dias (P < 0,01) e igualando com as de sete dias (P = 0,6305) (F = 5,554) (Tabela 1).

Assim, não somente o *status* de cópula influencia a percepção de fêmeas aos voláteis da planta hospedeira; a idade pode interferir na resposta eletroantegráfica. A maior percepção foi observada na faixa de sete a dez dias de idade, no entanto, fêmeas copuladas de dez dias foram mais responsivas que as virgens. O fato das fêmeas de *G. molesta* serem mais perceptivas nas idades intermediárias pode estar relacionado a ser este o período de maior atividade reprodutiva, em busca de sítios de cópula ou oviposição. A cópula, nas fêmeas de dez dias, parece desencadear mecanismos biossintéticos que promovem uma otimização da capacidade perceptiva na

identificação e localização do hospedeiro para oviposição.

Considerando-se que a longevidade média de fêmeas é de 16,28 dias (ALFONSO; MARÍN, 2004), pode-se supor que no período de sete a dez dias a sensibilidade olfativa relacionada à localização do hospedeiro esteja no ápice, já que nesta fase a maioria dos indivíduos já copulou.

A percepção eletrofisiológica de fêmeas e machos aos voláteis dos hospedeiros, em função da condição alimentar, não apresentou diferenças significativas (P > 0,05). Segundo DICKENS (1997), os açúcares não participam diretamente das rotas biossintéticas de substâncias envolvidas na percepção química, sendo as proteínas, aminas e hormônios, os principais responsáveis por esta função.

Observou-se efeito aditivo, porém não significativo (Fig. 2), nas respostas eletrofisiológicas de antenas de machos de *G. molesta* quando elas foram estimuladas com a mistura do feromônio sexual e o EBP. Esta interação só foi significativamente diferente do feromônio, quando o volume de extrato adicionado a este foi de 7,5 μ L (47,93 mV \pm 2,896) (P < 0,01, F = 27,234).

Os bioensaios comportamentais não corroboraram o observado nos testes com EAG, ou seja, não foram constatados efeitos aditivos e/ou sinérgicos entre o feromônio e o EBP (P = 0,281, F = 8,245) (Fig. 4).

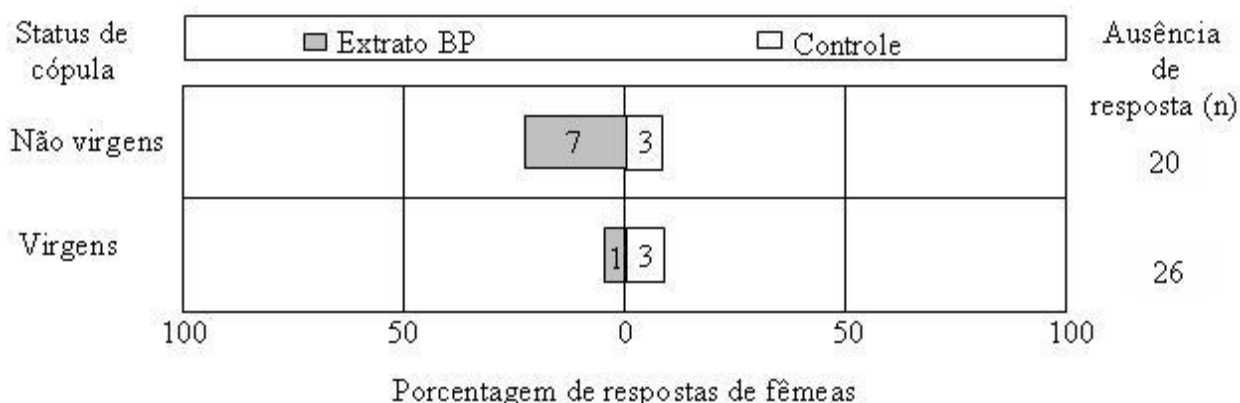


Fig. 3 - Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de fêmeas de *Grapholita molesta*, não virgens (n = 30) e virgens (n = 30), ao extrato etanólico de broto de pessegueiro (EBP) em olfâmetro "Y". Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.

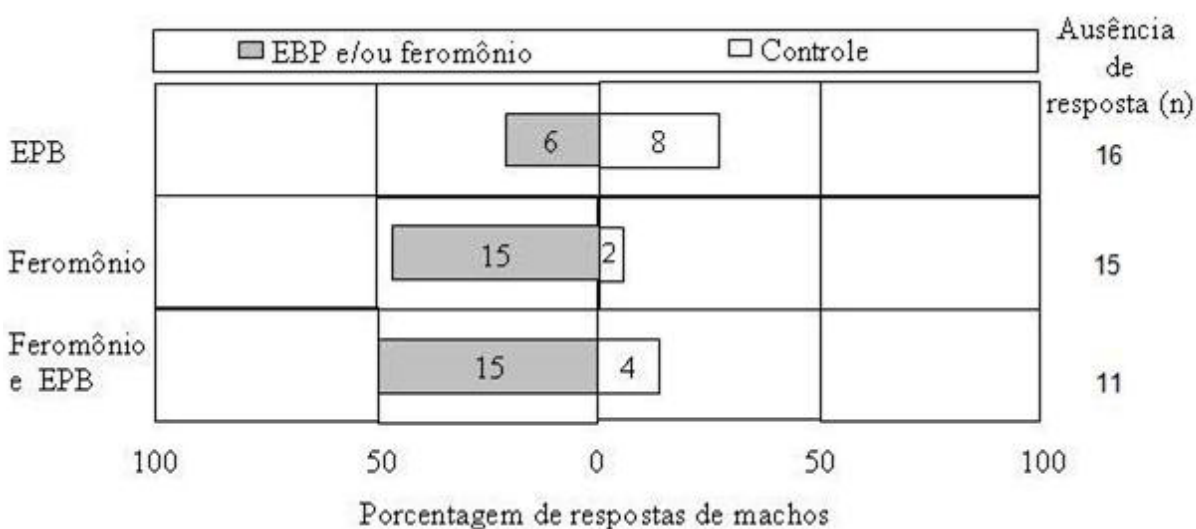


Fig. 4 - Proporções e porcentagens de respostas comportamentais de Machos de *Grapholita molesta*, ao extrato etanólico de broto de pessegueiro (EBP) (n = 30), ao fenômeno sexual (n = 30) e a interação destes dois (n = 30) em olfâmetro "Y". Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos que responderam aos tratamentos.

Os resultados evidenciaram que a percepção das antenas de machos de *G. molesta* aumenta com a adição de voláteis de planta ao feromônio sintético. YANG *et al.* (2004) contataram que, entre diversos voláteis de maçã, apenas farneseno, em altas concentrações, foi capaz de estimular o comportamento de vôo de *C. pomonella*. Estes autores observaram que há um efeito sinérgico, em túnel-de-vento, entre o feromônio sexual de *C. pomonella* (*E,E*-8,10-dodecadienol), em mistura com três voláteis secundários de maçã: linalol, (*E*)-*b*-farneseno, (*Z*)-3-hexenol. De acordo com LIGHT *et al.* (1993), a captura de machos de *C. pomonella*, em bioensaios de campo, foi incrementada com a adição de voláteis de plantas às armadilhas de feromônio. OCHIENG *et al.* (2002) observaram que neurônios receptores de estímulos químicos em antenas de machos de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae) são mais

responsivos quando estimulados com a mistura de feromônio sexual e voláteis de planta, tais como linalol e (*Z*)-3-hexenol, do que quando submetidos a estes infoquímicos isoladamente.

Em termos co-evolutivos, a interação entre voláteis de planta e feromônio de insetos fitófagos pode representar um importante indicador químico utilizado por estes para discriminar suas plantas hospedeiras e ali se agregarem para atividades de cópula, oviposição e de desenvolvimento das formas imaturas. YANG *et al.* (2004) verificaram que alguns voláteis de maçã, como o (*E*)-*b*-farneseno, podem amplificar a atividade de machos de *C. pomonella* quando a concentração de feromônio no ambiente é baixa.

Sendo assim, interação inseto-planta pode ser um fator relevante para a sobrevivência das espécies. WITZGALL *et al.* (1991) observaram que fêmeas de

Spilonota ocellana (Denis & Schiffermüller) e *S. laricana* (Heinemann) (Lep.: Tortricidae) compartilham o mesmo feromônio sexual. No entanto, a captura de machos de cada uma das espécies em armadilhas de campo é diretamente influenciada pelo tipo de hospedeiro onde a armadilha é colocada, ou seja, machos de *S. ocellana* são atraídos em armadilhas colocadas em macieiras, enquanto que os de *S. laricana*, naquelas situadas em pinheiro.

Os resultados permitem concluir que o extrato etanólico de broto de pessegueiro (EBP) desencadeia as maiores respostas eletroantegráficas em ambos os sexos de *G. molesta*, independentemente da condição alimentar e do status de cópula, em fêmeas. A percepção eletroantegráfica de fêmeas ao EBP varia com a idade. Os voláteis de broto de pessegueiro provocam um efeito aditivo na percepção eletroantegráfica de machos ao feromônio e a interação EBP-feromônio não interfere no comportamento quimiotático de machos.

O fato de ambos os sexos serem mais seletivos ao EBP e este ter efeito aditivo na percepção eletroantegráfica, quando em combinação com o feromônio, sugere que substâncias bioativas presentes neste extrato, como o benzaldeído, descrito por HORVAT; CHAPMAN (1990) como um dos principais compostos aromáticos presentes no pessegueiro, possam ser empregadas em armadilhas de campo, possibilitando a captura de ambos os sexos, o que potencializaria o uso desta ferramenta no controle de *G. molesta* em agroecossistemas.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Luiz A.M. Fontoura e Fabrício Naciuk, do Laboratório de Química da CIENTEC – Fundação de Ciência e Tecnologia (Cachoeirinha, RS), pela elaboração dos extratos de planta e diluições feromonais; ao Dr. Marcos Botton, da EMBRAPA Uva e Vinho (Bento Gonçalves), pelo fornecimento de *G. molesta*: à Isca Tecnologias Ltda., pelo feromônio sintético e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas ao primeiro, terceiro e quarto autores.

REFERÊNCIAS

ALFONSO, A. M.; MARÍN, M. S. *Grapholita molesta* em condiciones de laboratorio: evaluación de la relación de sexos. *Revista de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales*, v.36, n.2, p.23-29, 2004.

ANSEBO, L.; CORACINI, M.D.A.; BENGTTSSON, M.; LIBLIKAS, I.; RAMÍREZ, M.; BORG-KARLSON, A.K.; TASIN, M.; WITZGALL, P. Antennal and behavioural

response of codling moth *Cydia pomonella* to plant volatiles. *Journal of Applied Entomology*, v.128, n.7, p.488-493, 2004.

ARIOLI, C. J.; MOLINARI, F.; BOTTON, M.; GARCIA, M. S. Técnica de criação de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em laboratório utilizando dieta artificial para a produção de insetos visando estudos de comportamento e controle. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Embrapa Uva e Vinho*, n.13, 2007.

BOTTON, M. F.; KULCHESKI, V.D.; COLLETTA, C.J.; ARIOLI, C.J.; PASTORI, P.L. Avaliação do uso do feromônio de confundimento no controle de *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) em pomares de pessegueiro. *Idesia*, v.23, p.43-50, 2005.

CASADO, D.; GEMENO, C.; AVILLA, J.; RIBA, M. Day-night and phenological variation of apple tree volatiles and electroantennogram responses in *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, v.35, n.2, p.258-267, 2006.

DENG, J.Y.; WEI, H.Y.; HUANG, Y.P.; DU, J.W. Enhancement of attraction to sex pheromones of *Spodoptera exigua* by volatile compounds produced by host plants. *Journal of Chemical Ecology*, v.30, p.2037-2045, 2004.

DICKENS, J. Neurobiology of pheromonal signal processing in insects. In: CARDÉ, R.T.; MINKS, A.K. (Ed.) *Insect pheromone research: new directions*. New York: Chapman & Hall, 1997. p.210-217.

GÖKÇE, A.; STELINSKI, L.L.; WHALON, M.E. Behavioural and electrophysiological responses of leafroller moths to selected plants extracts. *Environmental Entomology*, v.34, p.1426-1432, 2005.

HORVAT, R.J.; CHAPMAN, G.W. Comparison of volatile compounds from peach fruit and leaves (cv. Monroe) during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.38, p.1442-1444, 1990.

LIGHT, D.M.; FLATH, R.A.; BUTTERY, R.G.; ZALOM, F.G.; RICE, R.E.; DICKENS, J.C.; JANG, E.B. Host-plant green-leaf volatiles synergize the synthetic sex pheromones of the corn earworm and codling moth (Lepidoptera). *Chemoecology*, v.4, p.145-152, 1993.

MASANTE-ROCA, I.; GADENNE, C.; ANTON, S. Plant odour processing in the antennal lobe of male and female grapevine moths, *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Insect Physiology*, v.48, p.1111-1121, 2002.

METCALF, R.L.; METCALF, E.R. *Plant kairomones in insect ecology and control: contemporary topics in entomology 1*. London: Chapman & Hall, 1992. 168p.

- MONTEIRO, L.B.; SOUZA, A.; BELLI, E.L. Confusão sexual para o controle de *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae), em pomares de macieira, em Fraiburgo (SC) Brasil. *Bragantia*, v.67, p.191-196, 2008.
- NATALE, D.; MATTIACCI, L.; HERN, A.; PASQUALINI, E.; DORN, S. Response of female *Cydia molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) to plant derived volatiles. *Bulletin of Entomological Research*, v.93, p.335-342, 2003.
- NATALE, D.; MATTIACCI, L.; HERN, A.; PASQUALINI, E.; DORN, S. Apple and peach fruit volatiles and the apple constituent butyl hexanoate attract female oriental fruit moth, *Cydia molesta*, in the laboratory. *Journal of Applied Entomology*, v.128, p.22-27, 2004.
- OCHIENG, S.A.; PARK, K.C.; BAKER, T.C. Host plant volatiles synergize responses of sex pheromone-specific olfactory receptor neurons in male *Helicoverpa zea*. *Journal of Comparative Physiology*, v.188, p.325-333, 2002.
- PIÑERO, J.C.; DORN, S. Synergism between aromatic compounds and green leaf volatiles derived from the host plant underlies female attraction in the oriental fruit moth. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v.125, n.2, p.185-194, 2007.
- SALLES, L.A. Mariposa-oriental, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). In: VILELLA, E.F.; ZUCCHI, R.A.; CANTOR, F. (Ed.). *Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil*. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p.42-45.
- STELINSKI, L.L.; MILLER, J.R.; RESSA, N.E.; GUT, L.G. Increased EAG responses of tortricid moths after prolonged exposure to plant volatiles: Evidence for octopamine-mediated sensitization. *Journal of Insect Physiology*, v.49, p.845-856, 2003.
- TRIMBLE, R.M.; MARSHALL, D.B. Quantitative method for pheromone delivery in studies of sensory of moth antennae. *Physiological Entomology*, v.32, p.388-393, 2007.
- YAN, F.; BENGSTON, M.; WITZGALL, P. Behavioral Response of Female Codling Moths, *Cydia pomonella*, to Apple Volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, v.25, n.6, p.1343-1351, 1999.
- YANG, Z.; BENGSTON, M.; WITZGALL, P. Host plant volatiles synergize response to sex pheromone in codling moth, *Cydia pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*. v.30, n.3, p.619-629, 2004.
- WITZGALL, P.B.; BENGTTSSON, M.; BUSER, H.R.; CHAMBON, P.J.; PRIESNER, E.; WILDBOLZ, T.; ARN, H. Sex pheromones of *Spilonota ocellana* and *Spilonota laricana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v.60, p.219-223, 1991.

Recebido em 5/6/08

Aceito em 24/7/09