

ECOLOGY, BEHAVIOR AND BIONOMICS

Avaliação do Feromônio Sexual de *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae)

CESAR A. BADJI^{1,2}, ALVARO E. EIRAS^{1,3}, AIVLÉ CABRERA⁴ E KLAUS JAFFE⁴

¹Lab. Proteção de Plantas, CCTA, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 28045-640, Campos, RJ

²Depto. Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 3571-000, Viçosa, MG

³Depto. Parasitologia, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Belo Horizonte, MG
e-mail: alvaro@icb.ufmg.br

⁴Lab. Comportamiento, Depto. Biología de Organismos, Universidad Simón Bolívar, Apartado 89000, Caracas 1080-A, Venezuela

Neotropical Entomology 32(2):221-229 (2003)

Evaluation of Sexual Pheromone of *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae)

ABSTRACT - Four synthetic components of the sexual pheromone identified from the small tomato borer *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (BPT) were evaluated: (*E*)-11-hexadecenol (*E*11-16:OH), (*Z*)-11-hexadecenol (*Z*11-16:OH), (*E*)-11-hexadecenal (*E*11-16:Al) and (*E*)-11-hexadecenyl acetate (*E*11-16:OAc). Field tests were carried out with traps aiming at identifying the most effective component in the capture of *N. elegantalis* males, and determining the effect of different concentrations of the isomeric *Z*11-16:OH, in a mixture with the most effective component, in the capture of the males. In laboratory, electrophysiological tests were carried out with an electroantennograph to monitor the response of the antenna of *N. elegantalis* males to logarithmic concentrations of the four identified components. *E*11-16:OH, at the concentration of 100 µg, was the most effective among the tested components of the sexual pheromone of BPT. The isomer of this component, *Z*11-16:OH, was added and reduced insect capture. Physiological responses to all tested components were registered. *E*11-16:OH promoted depolarization of the antenna in straight relation with its concentration, while for the others components, the chemoreceptors have responded only to the higher concentrations.

KEY WORDS: Insect, trap, small tomato borer, EAG, monitoring

RESUMO - Foram avaliados os quatro componentes sintéticos identificados no feromônio sexual da broca-pequena-do-tomate, *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (BPT): (*E*)-11-hexadecenol (*E*11-16:OH), (*Z*)-11-hexadecenol (*Z*11-16:OH), (*E*)-11-hexadecenal (*E*11-16:Al) e (*E*)-11-Acetato de hexadecenila (*E*11-16:OAc). Testes de campo foram realizados com armadilhas objetivando identificar o composto mais eficaz na captura de machos do inseto e determinar o efeito de concentrações do isômero *Z*11-16:OH, em mistura com o componente mais eficaz na captura de machos. Em laboratório, foram realizados testes eletrofisiológicos com eletroantenógrafo para monitorar as respostas da antena de machos de *N. elegantalis* a diferentes concentrações dos componentes. *E*11-16:OH, na concentração de 100 µg foi o mais eficaz entre os componentes testados do feromônio sexual da BPT. A adição de seu isômero, *Z*11-16:OH, reduziu a captura de insetos. Obteve-se resposta fisiológica (potencial de ação) a todos os componentes testados. Para *E*11-16:OH, a intensidade de despolarização da antena aumentou em relação direta com sua concentração, no entanto, para os demais componentes, os quimiorreceptores foram sensíveis somente nas concentrações mais altas.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, armadilha, broca-pequena-do-tomate, EAG, monitoramento

A broca-pequena-do-tomateiro (BPT), *Neoleucinodes elegantalis* Guenée, destaca-se entre as principais pragas do tomateiro (Gallo *et al.* 1988). É um inseto com extensa distribuição na Região Neotropical, do México à Argentina (Leiderman & Sauer 1953). No Brasil, a primeira constatação

da existência da BPT foi feita por Costa Lima em 1922 no Nordeste (Toledo 1948), e atualmente é considerada uma das pragas principais do tomate estaqueado do País (Jordão & Nakano 2002). Na Região Noroeste Fluminense, é responsável por danos econômicos consideráveis à cultura

do tomate, pela natureza e extensão do seu ataque. O fruto atacado fica totalmente inadequado para a comercialização e a produção chega a ser seriamente prejudicada.

O comportamento biológico da BPT dificulta o seu controle. A fêmea deposita os ovos preferencialmente sob as pétalas de frutos verdes pequenos (23 mm) (Blackmer *et al.* 2001). Após cinco dias, a larva eclode e penetra no fruto, entre a primeira e a segunda hora da fotofase, e aí permanece por aproximadamente 30 dias (Blackmer *et al.* 2001). Assim, a praga fica protegida durante a fase do ciclo em que causa maiores danos. É por isso que, os produtores da região Noroeste Fluminense fazem pulverizações sistemáticas de duas a três vezes por semana desde do início do florescimento, independentemente da presença da praga. Essa prática de controle, além de aumentar os custos de produção, pode levar à ressurgência de pragas, morte de insetos benéficos, intoxicação humana, deterioração do ambiente e à resistência da praga aos inseticidas (Siqueira *et al.* 2000).

Vários compostos foram identificados a partir dos extratos da glândula sexual pela técnica de cromatografia gasosa acoplada a um eletroanténógrafo (GC-EAD). Os compostos foram: (*E*)-11-hexadecanol (*E*11-16:OH), (*Z*)-11-hexadecanol (*Z*11-16:OH), (*E*)-11-hexadecenal (*E*11-16:Al) e (*E*)-11-Acetato de hexadecenila (*E*11-16:OAc) (Cabrera *et al.* 2001). Os estudos realizados com os compostos identificados do feromônio sexual do inseto poderão ser usados no monitoramento da praga, permitindo que a aplicação de inseticida seja realizada apenas quando a praga estiver acima do nível de dano econômico e não de forma sistemática como ocorre atualmente. A adoção dessa técnica reduziria então os riscos de danos ao ambiente e de intoxicação às pessoas. Potencialmente, os compostos de feromônio sexual poderão ainda ser utilizados no controle direto desta praga, empregando-se a técnica da coleta massal dos insetos adultos em armadilhas, ou pela técnica confundimento de machos.

Com o objetivo de desenvolver novas estratégias de controle menos agressivas ao ambiente, avaliou-se no campo a atratividade dos diferentes compostos sintéticos do feromônio sexual para determinar o composto principal; o efeito do isômero *Z*11-16:OH sobre *E*11-16:OH e a longevidade no campo do composto principal sintético impregnado nos septos de borracha. Em laboratório avaliou-se a sensibilidade de machos a diferentes concentrações de compostos sintéticos identificados do feromônio sexual da BPT por meio da técnica de eletroanténografia.

Material e Métodos

Experimentos de Campo. Os experimentos foram realizados em lavouras comerciais no município de São José de Ubá e Varre-Sai (RJ), onde todos os tratamentos culturais eram realizados normalmente pelos proprietários.

*E*11-16:OH foi fornecido pelo “Research Institute for Plant Protection (IPO-DLO), Wageningen, The Netherlands”; *Z*11-16:OH foi comprado da Aldrich Chem. Co. (Milwaukee, Wisconsin, 53233); *E*11-16:OAc foi preparado a partir da acetilação de *E*11-16:OH com anidrido acético e piridina; e *E*11-16:Al foi obtido pela oxidação de *E*11-16:OH com

piridinium cloro cromato em diclorometano. As reações para obtenção de *E*11-16:OAc e de *E*11-16:Al foram conduzidas na Universidade Simom Bolívar da Venezuela.

Os insetos usados nos experimentos foram oriundos de lagartas coletadas no campo e mantidas em estufas B.O.D. a 24°C, 12h de fotofase e umidade relativa de 75%. As pupas obtidas foram separadas por sexo e mantidas em estufas B.O.D. até a emergência dos adultos, que foram alimentados com solução de mel a 10%.

As armadilhas usadas nos experimentos de campo foram produzidas na Universidade Estadual do Norte Fluminense e denominadas UENF-2. Como liberador do feromônio sexual sintético, foram usados septos de borracha previamente tratados, impregnados com os compostos do feromônio na quantidade desejada.

Os septos impregnados foram deixados por 15h a 18h sob capela de exaustão para permitir a evaporação do solvente, e colocados posteriormente em envelope de alumínio e mantidos em freezer a -20°C até a instalação do experimento em campo.

No campo, o septo impregnado foi colocado no interior da tampa da armadilha e preso por um fio de arame que passa pelo meio da tampa. Houve sempre o cuidado de não deixar o septo entrar em contato com a solução de água e detergente presente na armadilha.

Atratividade dos Componentes do Feromônio Sexual de *N. elegantalis*. Este experimento avaliou a atratividade dos diferentes componentes sintéticos do feromônio sexual. A concentração usada nas armadilhas dos quatro componentes do feromônio até então identificados foi de 1 mg por septo de borracha. Fêmeas virgens da BPT recém-emergidas foram usadas como controle.

O delineamento experimental usado foi inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento totalizando 15 armadilhas. A distância entre armadilhas foi de 30 m na direção do vento predominante e de 10 m na direção perpendicular ao vento. O número de machos capturados foi registrado duas vezes por semana e a recasualização das armadilhas foi semanal.

Efeito do Isômero *Z*11-16:OH Sobre o Componente *E*11-16:OH. Em todos os tratamentos deste experimento, visando avaliar a influência do isômero *Z*11-16:OH quando misturado com *E*11-16:OH, foi mantida a concentração do componente *E*11-16:OH nos septos de borracha em 1000 µg, exceto para o tratamento testemunha (solvente) e no tratamento em que apenas foram usados 1000 µg do isômero *Z*11-16:OH. A concentração do isômero *Z* adicionada ao isômero *E* nos demais tratamentos foi de 10 e 50 e 100 µg.

Quatro repetições foram usadas por tratamento e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado. A distância, as posições entre armadilhas, as avaliações e as recasualizações seguiram a metodologia do experimento anterior.

Concentração e Longevidade do Componente *E*11-16:OH. Para determinar a concentração do componente principal que possibilitasse a captura do maior número de

adultos machos da BPT e a longevidade de cada concentração, foi realizado um outro experimento. Foi usado com atraiante o componente sintético que proporcionou a maior captura de machos no experimento da atratividade dos componentes do feromônio.

Os septos de borracha foram impregnados com concentrações crescentes do atraente (10^{-1} , 10 , 10^2 e 10^3 μg). O delineamento experimental com três repetições por tratamento, a distância, as posições entre armadilhas, as avaliações e as recasualizações seguiram a metodologia do experimento 1.

Análises Estatísticas. Os resultados obtidos em todos os experimentos foram submetidos à análise de variância após transformação dos dados em $(x + 0,5)^{0,5}$ sendo x o número de insetos capturados. Esta transformação foi realizada para se homogeneizar as variâncias e normalizar os dados antes da análise paramétrica. O teste usado para comparar as médias foi o de Tukey a 5% de significância.

Testes Eletrofisiológicos em Laboratório. Os quatro componentes identificados foram testados em dose logarítmica (10^{-2} , 10^{-1} , 10 , 10^2 e 10^3 μg). Foram usados machos de 48h a 72h mantidos em potes plásticos e alimentados com solução açucarada a 10%.

O sistema de eletroantografia consistiu na purificação e umedecimento do ar, microeletrodos, amplificador e sistema de aquisição de dados.

O fluxo de ar foi produzido por uma bomba compressora e purificado por um filtro de carvão ativado. Em seguida, o fluxo de ar purificado foi umedecido num frasco "lavador de gases" de 500 ml.

As extremidades da antena foram cortadas e fixadas com gel nas extremidades do microeletrodo e, com uma pinça, a antena foi fixada nas duas extremidades. O microeletrodo foi conectado a um amplificador (Synthec) que por sua vez era ligado a um receptor de dados conectado a uma placa instalada no microcomputador. O ar umedecido chegava à antena do inseto por um tubo de vidro de 2,5 cm de diâmetro com um furo localizado a 3 cm de sua extremidade onde se inseria a pipeta Pasteur contendo os componentes para provocar o estímulo feromonal.

O fluxo de ar foi calibrado usando fluxos de 1,5; 3 e 6 L/min. A calibração foi feita usando: o ar produzido pela bomba sem nenhum estímulo; o ar contido dentro de uma pipeta Pasteur dentro da qual foi colocado apenas um papel de filtro; o ar contido dentro de uma pipeta Pasteur dentro da qual foi colocado um papel de filtro impregnado com o solvente e o ar contido dentro de uma pipeta Pasteur dentro da qual foi colocado um papel filtro com 100 μl do *E11-16:OH* usado como padrão para todos os testes realizados. A escolha do padrão foi feita com base nos experimentos de campo. Foi escolhida a menor dose que propiciou a maior captura.

Estímulos. Os compostos em várias concentrações foram diluídos em 50 ml de solvente (diclorometano) e impregnados em papel filtro que foram introduzidos dentro de uma pipeta Pasteur. A pipeta Pasteur que tinha acoplada à sua extremidade uma borracha do tipo conta gota foi introduzida dentro do orifício do tubo de vidro (por onde o ar purificado

e umedecido passava antes de entrar em contato com a antena). Por meio de pressão na borracha conta gota, o ar contido no interior da pipeta foi insuflado dentro do fluxo de ar que chegava à antena do inseto fixada aos microeletrodos. Antes do teste de cada concentração de um composto feromonal, testava-se primeiro a resposta da antena ao ar purificado, ao ar contido dentro da pipeta Pasteur, ao solvente, ao padrão e, finalmente, testava-se a concentração. Este procedimento foi repetido durante todos os testes realizados. Cinco insetos machos foram usados durante os testes. Dez repetições foram feitas para cada concentração testada de determinado componente.

Análise das Respostas da Antena. As despolarizações registradas foram analisadas pelo IDAC (placa da Synthec) reproduzidas na tela do microcomputador. Para cada concentração calculou-se a média e o erro padrão. Todos os resultados obtidos foram comparados com a resposta do padrão (que levava à despolarização da antena de cerca de 14 mV); isso porque no decorrer dos experimentos a antena sofre os efeitos do tempo e as respostas vão se diferenciando das iniciais. Cada antena foi usada por um período máximo de 60 min. Porém, as antenas eram trocadas imediatamente se a despolarização obtida em resposta ao estímulo do padrão fosse abaixo de 11 mV. As respostas foram avaliadas em mV.

Resultados e Discussão

Atratividade dos Compostos do Feromônio Sexual da *N. elegantalis*. O composto *E11-16:OH* capturou um número significativamente maior de machos da BPT comparativamente aos demais compostos sendo portanto o mais atrativo (Fig. 1). Não houve diferença significativa entre as médias do número de capturas nas armadilhas iscadas com septos impregnados com *Z11-16:OH*, *E11-16:Al*, *E11-16:OAc* e fêmeas virgens

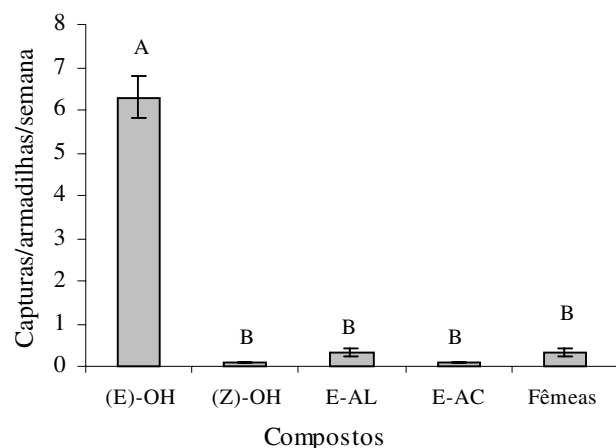


Figura 1. Número médio de machos de *N. elegantalis* (média \pm erro padrão) capturados por semana e por armadilha iscada com 1 mg de cada composto sintético identificado do feromônio sexual (*E11*)-hexadecenol [(E)-OH], (*Z11*)-hexadecenol [(Z)-OH], (*E11*)-hexadecenal [(E)-Al] e (*E11*)-Acetato de hexadecenila [(E)-Ac]. Histogramas seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

(Fig. 1). O número reduzido de capturas nas armadilhas iscadas com as fêmeas virgens, ocorreu devido à morte destas pelas freqüentes aplicações de inseticidas pois, as armadilhas eram avaliadas duas vezes por semana nos dias em que não se fazia aplicação de inseticidas no campo. Geralmente, nos dias seguintes à avaliação, aplicações de inseticidas eram feitas pelos produtores, seguindo o modelo de produção usual na região.

Os compostos identificados a partir da análise do extrato da glândula de feromônio sexual da BPT apresentaram respostas diferentes quando presentes em outros lepidópteros, comprovando a especificidade da resposta ao estímulo feromonal em cada espécie. O componente do feromônio sexual *E11-16:OH* tem sido identificado em baixas concentrações em mariposas de outras famílias. No entanto, o composto somente atrai machos nas espécies *Diaphania hyalinata* L. e *Diaphania nitidalis* Stoll que são Pyralidae da subfamília Pyraustinae. Nas espécies *Leucinodes orbonalis* Guenée e *Sceliodes cordalis* Doubleday da mesma subfamília, *E11-16:OH* foi também encontrado, porém não foi constatada a sua atratividade sobre os machos das espécies (Arn 1998).

Z11-16:OH foi identificado nas glândulas do feromônio sexual das mariposas de Pyralidae e Noctuidae. Na família Pyralidae, o composto foi identificado nas espécies *Chilo partellus* Swinhoe, *C. suppressalis* Walker, *C. infuscatellus* Snellen e *C. zacconius* Bleszynski. Nas duas últimas espécies, *Z11-16:OH* é atrativo para os machos (Arn 1998) enquanto que para a BPT ele não teve poder atrativo sobre os machos.

E11-16:Al está presente no feromônio das famílias Gracillariidae (*Caloptilia theivora* Walsingham), Sphingidae (*Deilephila elpenor* L. e *Manduca sexta* L.) e Pyralidae (*D. hyalinata*, *D. nitidalis*, *Palpita unionalis* Hübner e *Cryptoblabes gnidiella* Millière) (Arn 1998). Em todas essas famílias, várias espécies de machos são atraídas pelo composto, contrariamente ao que acontece com a BPT.

Apesar de se encontrarem todos esses compostos identificados no feromônio sexual da BPT em diversas espécies de lepidópteros (Arn 1998), não foram encontrados os mesmos quatro compostos identificados na BPT em nenhuma espécie.

Dos compostos identificados a partir da análise da glândula do feromônio sexual dos insetos, nem todos apresentam a capacidade de atração quando testados em armadilhas como foi demonstrado para a BPT. Alguns compostos podem ser inativos, não atraindo ou repelindo os insetos machos em armadilhas quando testados individualmente (Gries et al. 1994b). Tumlinson et al. (1990) demonstraram em estudos realizados com *Spodoptera exigua* Hübner que somente dois dentre 12 compostos identificados no feromônio sexual da fêmea foram essenciais na atração dos machos. Eiras et al. (1999) também demonstraram que apenas dois compostos (3*E*,5*Z*-acetato de dodecadienila e 9*Z*-acetato de hexadecenila), entre nove identificados, foram eficientes para a atração da lagarta-enroladeira, *Bonagota cranaodes* Meyrick (Lepidoptera: Tortricidae). Estes trabalhos demonstram que nem sempre todos os compostos identificados no extrato de feromônio são indispensáveis para a captura de machos em armadilhas, reforçando o resultado

obtido no presente estudo, onde apenas um composto foi necessário para a captura dos machos. Resultados de avaliações em armadilhas de campo realizados com a BPT no estado de Aragua (Venezuela) também demonstraram que apenas o composto *E11-16:OH* entre os quatro aqui estudados foi eficiente na captura de machos, em armadilhas no campo (Cabrera et al. 2001). Essa semelhança nos resultados, levando a pressupor que as duas populações são da mesma linhagem nem sempre acontece, pois trabalhos realizados com populações geograficamente diferentes da mesma espécie relataram a possibilidade de haver diferenças na composição ou formulação do feromônio sexual liberado pelas fêmeas para atrair os machos (Tóth et al. 1992, DuRant et al. 1995, Zhu et al. 1995, Subchev et al. 1996).

Efeito do Isômero *Z11-16:OH* Sobre o *E11-16:OH* na Captura de Machos da *N. elegantalis*. Os resultados mostraram um efeito antagônico da combinação dos isômeros *E11-16:OH* e *Z11-16:OH* na captura de machos. O aumento da concentração do isômero *Z11-16:OH* nas formulações, reduziu as capturas da BPT (Fig. 2). A adição de 1% e 5% do isômero reduziu o número de insetos capturados em relação ao número capturado nas armadilhas iscadas com o *E11-16:OH*, fato também observado em experimento de campo realizados na Venezuela (Cabrera et al. 2001).

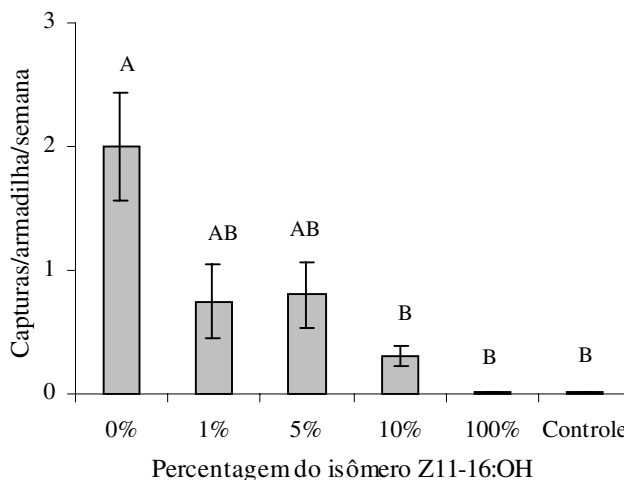


Figura 2. Número médio de machos de *N. elegantalis* (média ± erro padrão) capturados por semana em armadilhas iscadas com 1 mg de (*E11*)-hexadecenol acrescido de uma percentagem variável de (*Z11*)-hexadecenol. Histogramas seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A possibilidade de inibição de um composto pelo seu isômero foi constatada no feromônio de agregação de *Carpophilus freemani* Dobson (Coleoptera: Nitidulidae) (Petroski & Weisleder 1997) como também foi observado com a BPT. Em *Cydia nigricana* Fabricius (Lepidoptera: Tortricidae) (Witzgall et al. 1993) e *Epiphyas postvittana* Walker (Lepidoptera: Tortricidae) (Rumbo et al. 1993) também foi observada a inibição das capturas resultantes do aumento da concentração do isômero do feromônio. Além

de ser inibidor, existe a possibilidade de o isômero de um componente de feromônio ser sinergista (Glover *et al.* 1987) ou não interferir na captura dos insetos machos, como no caso de *Acleris variana* Fernald (Lepidoptera: Tortricidae) com a adição do isômero de (Z)-11,13-tetradecadienal ao (E)-11,13-tetradecadienal (Gries *et al.* 1994a). Resultados semelhantes foram obtidos por Bartels *et al.* (1997), que apesar de observarem redução na captura de *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae), quando a porcentagem do isômero E na mistura dos dois compostos era elevada, mostraram que em pequena quantidade que varia de 1% a 3%, a mistura do isômero E proporcionou respostas melhores comparativamente às do composto principal sozinho. Apesar de não se saber ao certo a função biológica do isômero Z presente no feromônio da BPT, baseando-se nos resultados obtidos no presente trabalho, sugere-se que não se deve usá-lo nas formulações do feromônio sexual, pois este composto revelou-se um inibidor da ação do isômero E, reduzindo a captura de machos da BPT.

Concentração e Longevidade do Composto Principal. No experimento realizado, as médias de capturas foram semelhantes para as concentrações de $10^2 \mu\text{g}$ e $10^3 \mu\text{g}$ as quais propiciaram capturas significativamente maiores do que nas demais concentrações e no controle (Fig. 3).

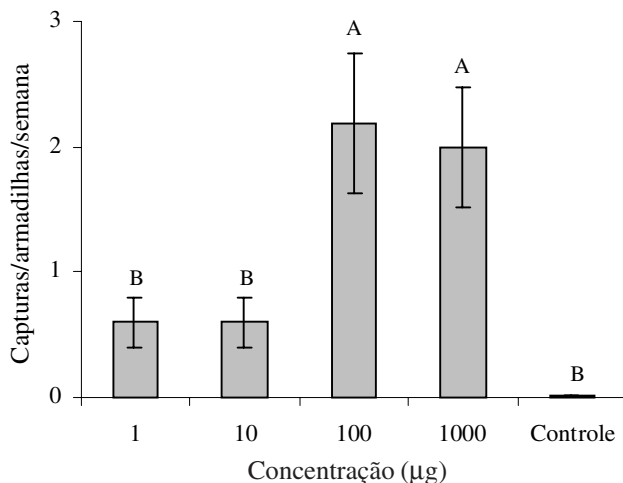


Figura 3. Número médio de machos de *N. elegantalis* (média \pm erro padrão) capturados por semana em armadilhas iscadas com diferentes concentrações de (E11)-hexadecenol. Histogramas seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Em condições de baixa infestação, como as encontradas no local do experimento, onde as infestações foram em torno de 8%, o número de insetos que têm contato com a pluma de odor liberada nas armadilhas com maiores concentrações do feromônio é provavelmente bem maior do que o número de insetos que entram no espaço ativo das armadilhas com menores concentrações de feromônio. Isso ocorre porque as maiores concentrações liberam maiores quantidades do composto no ambiente. Da mesma forma, quando a infestação é maior, há maior número de insetos voando e também as

chances são maiores de machos encontrarem as demais plumas (de concentração menores) de feromônio na lavoura. Isto explicaria a baixa captura de insetos nas doses menores.

A dose ótima de composto principal do feromônio sexual a ser usado em armadilhas no campo varia em função da espécie e das condições ambientais. Em algumas espécies, como *Panolis flammea* Denis & Schiffermüller (Lepidoptera: Noctuidae), ocorre aumento linear do número de insetos capturados com o aumento da concentração do composto principal de $1 \mu\text{g}$ para $5 \mu\text{g}$ (Bradshaw *et al.* 1983). Já em outras espécies como *Agrotis segetum* Denis & Schiffermüller (Lepidoptera: Noctuidae), doses de $0,5 \mu\text{g}$ chegam a provocar repelência (Roelofs 1978). Em *A. variana* quantidades de $0,01 \mu\text{g}$ a $10 \mu\text{g}$ do composto principal aumentaram as capturas de machos em armadilhas, enquanto que quantidades acima de $100 \mu\text{g}$ reduziram proporcionalmente as capturas (Gries *et al.* 1994a). Evenden *et al.* (1995) testando diferentes doses ($10 \mu\text{g}$ a $10 \mu\text{g}$) do feromônio sexual de *Lambdina fiscelaria lugubrosa* Hulst (Lepidoptera: Geometridae) verificaram que as capturas dos machos aumentavam com o aumento da dose, sendo que as doses mais altas ($1 \mu\text{g}$ e $10 \mu\text{g}$) foram significativamente mais eficazes que as demais.

O conhecimento da dose ótima de composto a ser usado permite maximizar as capturas de insetos em armadilhas. No presente trabalho, contrariamente ao que foi determinado em algumas espécies, não se observou a dose do composto principal que levasse à redução significativa nas capturas de machos da BPT.

Quanto à longevidade, as doses de $10^2 \mu\text{g}$ e $10^3 \mu\text{g}$ do composto principal demonstraram ser atrativas por até 50 dias, quando se fez a última avaliação (Fig. 4). As capturas nas armadilhas com $1 \mu\text{g}$ e $10 \mu\text{g}$ aumentaram a partir da terceira semana de avaliação, o que pode ser atribuído ao aumento na população da praga presente na lavoura ou ao início de liberação maior de feromônio pelo septo de borracha. Evenden *et al.* (1995), num experimento com *L. fiscelaria*

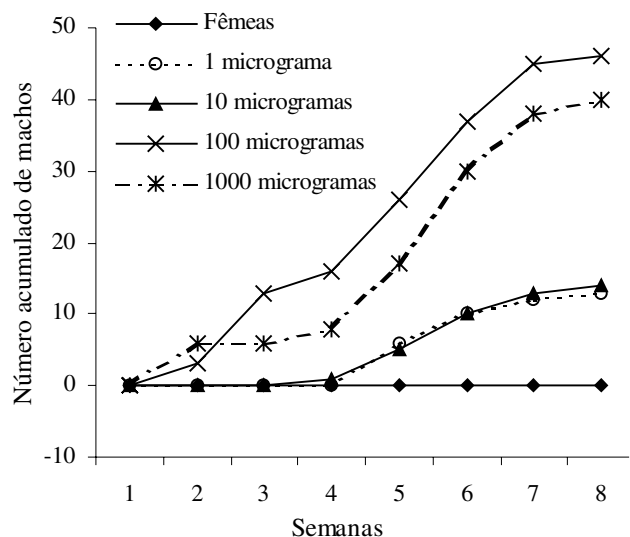


Figura 4. Longevidade das diferentes concentrações do composto principal (E11)-hexadecenol do feromônio sexual de *N. elegantalis* medida ao longo das semanas.

lugubrosa mostraram que os liberadores mantiveram sua atratividade por três meses e que, em alguns casos, as armadilhas com os liberadores mais velhos capturaram mais insetos do que as armadilhas em que foram colocadas novas fontes de odor. Youm e Beevor (1995) relatam num estudo realizado com *Coniesta ignefusalis* Hampson (Lepidoptera: Pyralidae), que quanto maior o tempo de exposição do feromônio no liberador, menores as capturas de insetos.

No presente trabalho, as capturas após seis semanas de teste foram ascendentes, sugerindo que o septo ainda continua ativo e que pode permanecer todo esse tempo no campo sem ser trocado. Para um programa de monitoramento, quanto maior o tempo de permanência do septo no campo, melhor aceitação terá a técnica perante os produtores. Diante da igualdade estatística nas capturas de machos da BPT e da semelhança das curvas de longevidade, sugere-se o uso de $10^2 \mu\text{g}$ ou $10^3 \mu\text{g}$ em futuros programas de monitoramento. Kehat et al. (1994) recomendaram o uso da maior dose quando mostraram que doses de 0,7 mg e 7 mg tinham o mesmo poder atrativo em armadilhas, pois essa dose possibilita a liberação do feromônio no campo por um período maior. A escolha da maior dose se justifica pela razão de ela liberar o feromônio por mais tempo aumentando o tempo necessário para a troca dos liberadores de feromônio. Outra justificativa é que as maiores concentrações, por liberarem maior quantidade de composto (Ferrara et al. 2001), sofrem menos influência das condições

adversas do ambiente como a turbulência do ar.

Testes Eletrofisiológicos. Os resultados da calibração do fluxo de ar com 1,5; 3 e 6 L/ min. não demonstraram diferenças nos valores das despolarizações obtidas. Os desvios padrões obtidos quando se estimulou a antena com o solvente foram os menores quando se usou o primeiro fluxo. Por esta razão, para a realização dos testes eletrofisiológicos, foi escolhido o fluxo de ar com 1,5 L/ min.

A Fig. 5 mostra a despolarização da antena quando submetida a diferentes estímulos dos componentes testados. As despolarizações foram quantificadas e apresentadas na forma de histogramas. De modo geral a despolarização das antenas foi maior a medida que se aumentou a concentração do composto E11-16:OH. A despolarização observada foi maior para todas as concentrações testadas do que aquelas provocadas pelos tratamentos “ar”, “pipeta Pasteur + papel de filtro” e “solvente”, que foram inferiores a 5 mV. Os resultados obtidos no presente trabalho reforçam a constatação de Mayer et al. (1987): “o potencial de ação elicitado pelo neurônio olfativo receptor é freqüentemente proporcional à concentração do estímulo”. O aumento da despolarização foi linear até a concentração de $10^2 \mu\text{g}$ do composto. Os resultados obtidos pelas concentrações de 10^2 , 10^1 e $1 \mu\text{g}$ praticamente não diferiram entre si e foram todos superiores às despolarizações registradas quando se estimulou as antenas pelos controles. Os resultados sugerem boa sensibilidade das células receptoras

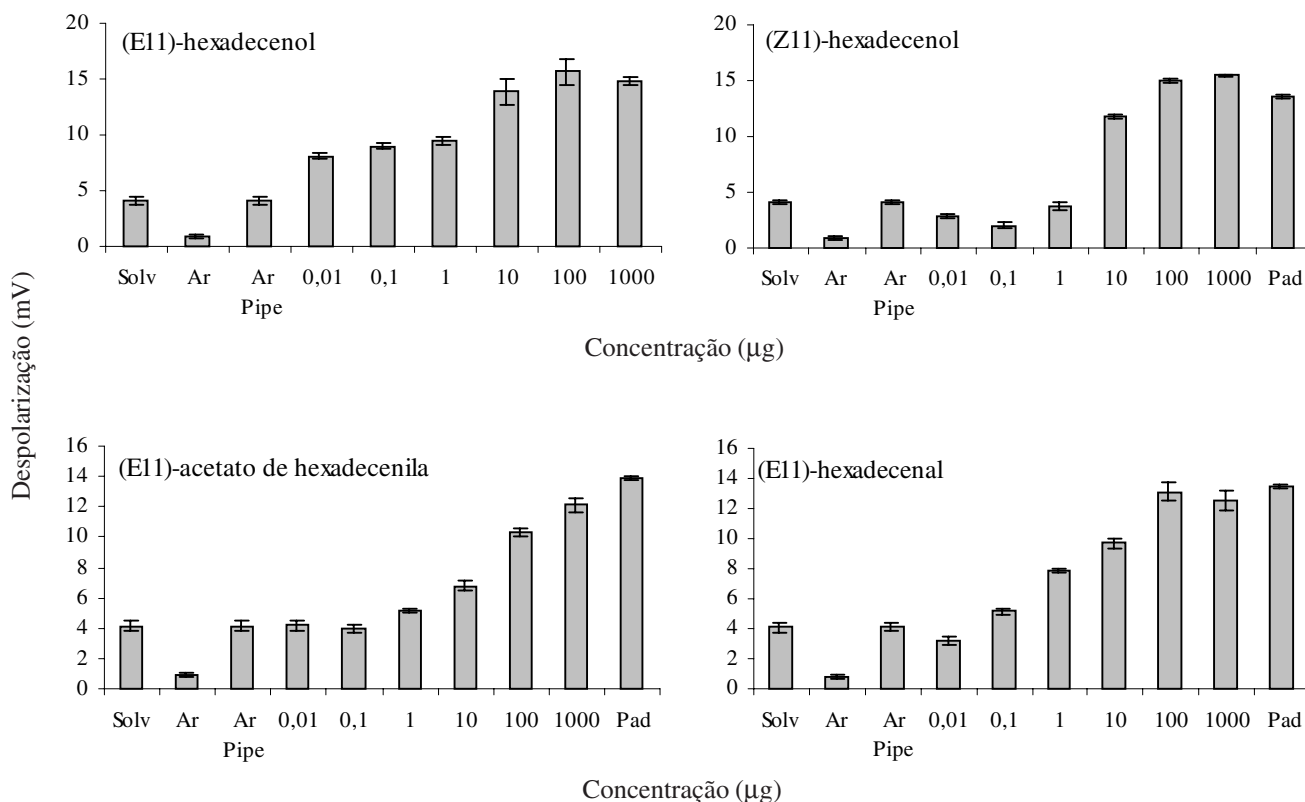


Figura 5. Despolarização (mV) da antena de machos de *N. elegantalis* (média \pm erro padrão) em resposta a diferentes concentrações dos compostos analisados e aos estímulos solvente (SOLV); ar puro (AR); ar contido dentro de uma pipeta pasteur (AR PIPE).

de *E11-16:OH* em baixa concentração do estímulo, sendo que a resposta aumentou com o aumento da concentração. A tendência de aumento da resposta já foi observada em teste de armadilhamento de campo quando as capturas de machos nas armadilhas com $10^2 \mu\text{g}$ e $10^3 \mu\text{g}$ foram nitidamente superiores àquelas feitas em armadilhas com menor concentração do composto (Fig. 3). As concentrações de $1 \mu\text{g}$ e $10 \mu\text{g}$, que no campo praticamente não atraíram os machos, provocaram despolarizações das antenas em torno de 8 mV e 9 mV, respectivamente. No entanto, a proporção das despolarizações obtidas por essas concentrações em relação à maior despolarização obtida é diferente da proporção observada com as capturas de machos nos testes de campo. Como nos testes eletrofisiológicos, os compostos foram diretamente postos em contato com as antenas, a relação entre a maior e a menor despolarização da antena era menor. Nos testes de armadilhamento de campo a menor captura de machos com as menores concentrações pode ser explicada pelo menor espaço ativo das armadilhas que as contêm.

Em lepidópteros, estudos comparativos dos sistemas olfativos receptores de odor revelaram que as espécies têm de três a seis tipos de células receptoras especializadas (Priesner 1986). A percepção do sinal de odor envolve então vários tipos de neurônios olfativos receptores, presentes nas células das sensilas, cada qual especializado em um dos componentes do feromônio. O número de sensilas contendo cada grupo de células especializadas e sua sensibilidade são bastante variáveis (Van Der Pers & Löfstedt 1986). Em estímulos concentrados (níveis bem acima dos níveis geralmente liberados pela fêmea), as células especializadas que apenas são estimuladas por determinados compostos perdem sua seletividade e respondem a todos os compostos testados. A falta de seletividade dos especialistas em altas concentrações provavelmente se reflete nas respostas de EAG (Mayer 1993).

A Fig. 5 representando as despolarizações induzidas pelos compostos *Z11-16:OH*, *E11-16:OAc* e *E11-16:Al*, mostra de forma clara a falta de sensibilidade das células receptoras em baixas concentrações dos compostos. Para *Z11-16:OH*, as respostas do EAG correspondendo às concentrações de $10^{-2} \mu\text{g}$, $10^{-1} \mu\text{g}$ e $1 \mu\text{g}$ foram inferiores às do controle solvente e do ar da pipeta. A sensibilidade da antena a esse composto manifesta-se a partir da concentração de $10 \mu\text{g}$.

As concentrações de $10^{-1} \mu\text{g}$ e $1 \mu\text{g}$ de *E11-16:Al* proporcionaram despolarizações superiores às observadas pelas mesmas concentrações em *Z11-16:OH*, porém inferiores às observadas quando se estimularam as antenas com $10^{-1} \mu\text{g}$ e $1 \mu\text{g}$ de *E11-16:OH* (Fig. 5). A despolarização obtida por *Z11-16:OH* demonstra a existência de células receptoras desse composto nas antenas dos machos da BPT. A intensidade das despolarizações obtidas nas maiores concentrações de *Z11-16:OH* (superiores ao padrão para as duas concentrações mais altas) mostra a sensibilidade das células receptoras de feromônio ao composto. Essa sensibilidade, junto com a inibição das capturas em armadilhas de campo (quando se faz a mistura dos dois isômeros nas formulações dos septos de borracha), indica que o composto tem provavelmente um papel na escolha da fêmea pelo macho no momento do acasalamento.

Baseado nos testes realizados, pode-se pressupor que o

número e/ou a sensibilidade das sensilas contendo células especializadas em *E11-16:OH* é bem maior do que o número e/ou a sensibilidade das células especializadas nos demais compostos testados. Isso por ser este composto o único que apresentou sensibilidade diferenciada para as diferentes concentrações e que não apresentou indícios de saturação das células receptoras por excesso de estímulo.

Os resultados obtidos permitem concluir que o composto do feromônio sexual da BPT *E11-16:OH* foi o mais atraente entre os avaliados. A adição de *Z11-16:OH* inibiu a captura de machos nas armadilhas portanto, este último composto não deve ser usado nas formulações visando a captura de machos. A concentração do composto principal a ser usada em testes de armadilhamento é de $10^3 \mu\text{g}$ por liberar o feromônio por mais tempo, possibilitando que as iscas sejam usadas por mais tempo no campo. Incrementos na concentração de *E11-16:OH* aumentaram a intensidade das despolarizações entre as extremidades da antena, até a concentração de $100 \mu\text{g}$, a partir da qual houve tendência de estabilização das despolarizações. Para os demais compostos, não se registraram despolarizações nas baixas concentrações, mostrando a sensibilidade da antena apenas nas concentrações mais altas.

Agradecimentos

Ao Programa PEC-PG da CAPES e a FENORTE pelas bolsas concedidas e pelo apoio financeiro. A Mirko Rojas Cortez pelo valioso auxílio na condução dos experimentos de campo, Ao Dr. Daniel B. Fragoso e Dr. Berghem M. Ribeiro pelas sugestões e revisões no manuscrito.

Literatura Citada

- Arn, H. 1998.** The pherolist: List of sex pheromones of Lepidoptera All lepidopteran compounds. <http://www.nysaes.cornell.edu/fst/faculty/acree/pheronet/cpds.html>. Página mantida pela Cornell University. (consultada em 09/1998).
- Bartels, D.W., W.D. Hutchison & S. Udayagiri. 1997.** Pheromone trap monitoring of Z-strain european corn borer (Lepidoptera: Pyralidae): Optimum pheromone blend, comparison with blacklight traps, and trap number requirements. *J. Econ. Entomol.* 90: 449-457.
- Blackmer, J.L., A.E. Eiras & C.L.M. Souza. 2001.** Oviposition preference of *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae), and rates of parasitism by *Trichogramma pretiosum* (Riley) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Lycopersicon esculentum* in São José de Ubá, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 30: 89-95.
- Bradshaw, J.W.S., R. Baker, C. Longhurst, J.C. Edwards & J. Lisk. 1983.** Optimization of a monitoring system for the pine beauty moth, *Panolis flammea* (Denis & Schiffermuller), using sex attractants. *Crop Protection* 2: 63-73.

- Cabrera, A., A. Eiras, G. Gries, R. Gries, N. Urdaneta,, B. Mirás, C. Badji, & K. Jaffé. 2001.** Sex pheromone of tomato fruit borer *Neoleucinodes elegantalis*. J. Chem. Ecol. 27: 2097-2107.
- DuRant, J.A., H.W. Fescemyer, C.E. Manson & S. Udayagiri. 1995.** Effectiveness of four blends of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) sex pheromone isomers at three locations in South Carolina. J. Agric. Entomol. 12: 241-253.
- Eiras, A.E., A. Kovaleski, E.F. Vilela, J.P. Chambon, C.R. Unelius, A.K. Borg-Karlson, I. Liblikas, R. Mozuraitis, M Bengtsson & P. Witzgall. 1999.** Sex pheromone of the Brazilian apple leafroller, *Bonagota cranodes* Meyrick (Lepidoptera: Tortricidae). Z. Naturforsch. 54c: 595-601.
- Evenden, M.L., J.H. Borden, G.A. Van Sickle & A. Gries. 1995.** Development of a pheromone-based monitoring system for western hemlock looper (Lepidoptera: Geometridae): effect of pheromone dose, lure age, and trap type. Environ. Entomol. 24: 923-932.
- Ferrara, F.A.A., E.F. Vilela, G.N. Jham, A.E. Eiras, M.C. Picanço, A.B. Attygalle, A. Svatos, R.T.S. Frighetto & J. Meinwald. 2001.** Evaluation of the synthetic major component of the sex pheromone of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). J. Chem. Ecol. 27: 907-917.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi,, S.B. Alves & J.D.Vendramim. 1988.** Manual de entomologia agrícola, 2ª edição, São Paulo, Ed. Agronômica Ceres. 649p.
- Glover, T.J., X.H. Tang & W.L. Roelofs. 1987.** Sex pheromone blend discrimination by male moths from *E* and *Z* strains of european corn borer. J. Chem. Ecol. 13: 143-151.
- Gries, G., J. Li, R. Gries, W.W. Bowers, R.J. West, P.D.C. Winalaratne, G. Khaskin, G.G.S. King & K.N. Slessor. 1994a.** (E)-11, 13-tetradecadienal: major sex pheromone component of the eastern blackheaded budworm, *Acleris variana* (Fern.) (Lepidoptera: Tortricidae). J. Chem. Ecol. 20: 1-8.
- Gries, R., G. Gries, J. Li, C.T. Maier, C.R. Lemmon & K.N. Slessor. 1994b.** Sex pheromone components of the spring hemlock looper, *Lambdina athasaria* (Walker) (Lepidoptera: Geometridae). J. Chem. Ecol. 20:2501-2511.
- Kehat, M., L. Anshelevich, E. Dunkelblum, & S. Greenberg. 1994.** Sex pheromone traps for monitoring the peach twig borer, *Anarsia lineatella* Zeller: Effect of pheromone components, pheromone dose, field aging of dispenser, and type of trap on male captures. Phytoparasitica 22: 291-298.
- Leiderman, L. & H.F.G. Sauer. 1953.** A broca pequena do fruto do tomateiro *Neoleucinodes elegantalis* (Guenee, 1854). Biológico 19: 182-186.
- Mayer, M.S. 1993.** Responses of three antennal specialist neurons of male *Trichoplusia ni* (Hübner) to sex pheromone components at and above naturally emitted levels. J. Insect Physiol. 39: 410-412.
- Mayer, M.S., R.W. Mankin & A.J. Grant. 1987.** Quantitative comparison of behavioral and neurophysiological responses of insects to odorants: Inferences about Central Nervous System Processes. J. Chem. Ecol. 13: 509-531.
- Petroski, R.J. & D. Weisleder. 1997.** Inhibition of *Carpophilus freemani* Dobson (Coleoptera: Nitidulidae) aggregation pheromone response by a *Z*-double-bond pheromone analog. J. Agric. Food Chem. 45: 943-945.
- Priesner, E. 1986.** Correlating sensory and behavioral responses in multichemical pheromone systems of Lepidoptera, p. 225-233. In T.L. Payne, M. Birch & C.J.E. Kennedy (eds.), Mechanisms in insect olfaction. Oxford, 364p.
- Roelofs, W.L. 1978.** Threshold hypothesis for pheromone perception. J. Chem. Ecol. 4: 685-699.
- Rumbo, E.R, S.M. Deacon, & L.P. Regan. 1993.** Spatial discrimination between sources of pheromone and inhibitor by the light-brown apple moth *Epiphyas posvittana* (Walker) (Lepidoptera: Tortricidae) J. Chem. Ecol. 19: 953-962.
- Siqueira, H.A.A., R.N.C. Guedes, M.C. Picanço. 2000.** Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Agric. For. Entomol. 2: 147-153.
- Subchev, M., M. Toth, G. Szocs, G. Stan & A. Botar. 1996.** Evidence for geographical differences in pheromonal responses of male *Amathes c-nigrum* L. (Lep., Noctuidae). J. Appl. Entomol. 120: 615-617.
- Toledo, A.A. 1948.** Contribuição para o estudo da *Leucinodes elegantalis* Guén., praga do tomate. Biológico 5: 103-109.
- Tóth, M., C. Lofstedt, B.W. Blair, T. Cabello, A.I. Farag, B.S. Hansson, B.G. Kovalev, S. Maini, E.A. Nesterov, I. Pajor, A.P. Sazonov, I.V. Shamshev, M. Subchev & G. Szocs. 1992.** Attraction of male turnip moths *Agrotis segetum* (Lepidoptera: Noctuidae) to sex pheromone components and their mixtures at 11 sites in Europe, Asia, and Africa. J. Chem. Ecol. 18: 1337-1347.

- Tumlinson, J.H., E.R. Mitchell & H.S. Yu. 1990.** Analysis and field evaluation of volatile blend emitted by calling virgin females of beet army worm *Spodoptera exigua* (Hubner). J. Chem. Ecol. 16: 3411-3423.
- Van der Pers, J.N.C. & C. Lofstedt. 1986.** Signal-response relationship in sex pheromone communication, p. 235-241. In T.L. Payne, M. Birch & C.J.E. Kennedy (eds.), Mechanisms in insect olfaction. Oxford, 364p.
- Witzgall, P., M. Bengtsson, C.R. Unelius & J. Lofqvist. 1993.** Attraction of pea moth, *Cydia nigricana* F. (Lep., Tortricidae) to female sex pheromone (E,E)-8,10-dodecadien-1-yl acetate, is inhibited by geometric isomers E,Z,Z,E and Z,Z. J. Chem. Ecol. 22: 191-206.
- Youm, O. & P.S. Beevor. 1995.** Field evaluation of pheromone-baited traps for *Coniesta ignefusalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in Niger. J. Econ. Entomol. 88: 65-69.
- Zhu, J.W., C.H. Zhao, F. Lu, M. Bengtsson & C. Lofstedt. 1996.** Reductase specificity and the ratio regulation of E/Z isomers in pheromone biosynthesis of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Insect Biochem. Molec. Biol. 26: 171-176.

Received 04/06/02. Accepted 12/02/03.
