

EDILAINE DE SOUZA VIANA

**MUDANÇAS CLIMÁTICAS E FEROMÔNIO SEXUAL: NOVAS TECNOLOGIAS
PARA O MANEJO DE *ELASMOPALPUS LIGNOSELLUS* (ZELLER, 1848)
(LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) EM ÁREAS AGRÍCOLAS NO MATO GROSSO**

TANGARÁ DA SERRA/MT-BRASIL

2015

EDILAINE DE SOUZA VIANA

**MUDANÇAS CLIMÁTICAS E FEROMÔNIO SEXUAL: NOVAS TECNOLOGIAS
PARA O MANEJO DE *ELASMOPALPUS LIGNOSELLUS* (ZELLER, 1848)
(LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) EM ÁREAS AGRÍCOLAS NO MATO GROSSO**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola para a obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof. Dra. Mônica Josene Barbosa Pereira
Co-orientador: Prof. Dra. Maria Carolina Blassioli Moraes

TANGARÁ DA SERRA/MT- BRASIL

2015

EDILAINE DE SOUZA VIANA

**MUDANÇAS CLIMÁTICAS E FEROMÔNIO SEXUAL: NOVAS TECNOLOGIAS
PARA O MANEJO DE *ELASMOPALPUS LIGNOSELLUS* (ZELLER, 1848)
(LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) EM ÁREAS AGRÍCOLAS NO MATO GROSSO**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dra. Maria Carolina Blassioli Moraes
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - CENARGEN

Prof. Dr Antônio Euzébio Goulart Santana
Universidade Federal do Estado de Alagoas – UFAL

Prof. Dra. Mônica Josene Barbosa Pereira
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT
(Orientadora)

TANGARÁ DA SERRA/MT- BRASIL

2015

Walter Clayton de Oliveira CRB1/2049

Viana, Edilaine de Souza.

V614m Mudanças climáticas e feromônio sexual : novas tecnologias para o manejo de *elasmopalpus lignosellus* (zeller, 1848) (lepidoptera: pyralidae) em áreas agrícolas no Mato Grosso / Edilaine de Souza Viana. – Tangará da Serra, 2015.
64 f. ; 30 cm. il. Color. (Anexo CD-ROM)

Dissertação (Mestrado em Ambientes e Sistema de Produção Agrícola) – Universidade do Estado de Mato Grosso, 2015

Orientador: Mônica Josene Barbosa Pereira

Coorientador: Maria Carolina Blassioli Moraes

1. Cromatografia. 2. Compostos feromonais. 3. Variáveis climáticas. I. Autor. II. Título.

CDU 595.78(817.2)

FOLHA DE APROVAÇÃO

EDILAINE DE SOUZA VIANA

MUDANÇAS CLIMÁTICAS E FEROMÔNIO SEXUAL: NOVAS TECNOLOGIAS
PARA O MANEJO DE *ELASMOPALPUS LIGNOSELLUS* (ZELLER, 1848)
(LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) EM ÁREAS AGRÍCOLAS NO MATO GROSSO

Dissertação apresentada a Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2015.



Profa. Dra. Mônica Josene Barbosa Pereira
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT
(Orientador)



Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana
Universidade Federal de Alagoas - UFAL
(Membro Externo)



Prof. Dr. Rivaniildo Dallacort
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT
(Membro Interno)

DEDICATÓRIA

A minha mãe Maria (*in memoriam*), com todo
amor e admiração,

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade do Estado de Mato Grosso e ao programa de Pós-graduação em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola, pela oportunidade de realização do mestrado.

À FAPEMAT pela concessão da bolsa de estudo e ao Núcleo de Educação em Ciências *Tabebuia aurea* (NECTAR) pelo apoio financeiro.

À EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia pelo suporte técnico e financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha orientadora professora Dra. Mônica Josene Barbosa Pereira, sem a qual esse trabalho nunca seria realizado. Agradeço não só pela compreensão, mas também toda a dedicação na minha orientação que só visaram engrandecer a minha formação. Agradeço ainda, por todo o conhecimento adquirido ao longo deste mestrado.

À Dra Maria Carolina Blassioli Moraes por ter aceitado me co-orientar. Agradeço ainda a dedicação, generosidade, paciência e os preciosos ensinamentos durante o processo de orientação.

À equipe do Laboratório de Semioquímicos da Embrapa/Cenargen pela acolhida período que estive em Brasília. Principalmente aos Drs. Miguel Borges e Raul Laumann pelo apoio e sugestões. Ao Ms. Márcio Wandré Morais de Oliveira pelo auxílio no desenvolvimento deste trabalho. À Marla Juliane e Michely Aquino pelo apoio.

Ao Alexandre Bottan e a equipe de funcionários fazenda Chapada pelas coletas e disponibilidade da área para desenvolver os experimentos de campo.

À Cristina Lima pela amizade e por ter me recebido em sua casa durante o tempo que estive em Brasília.

Aos professores do PPGASP pelas aulas ministradas que de alguma forma têm participação neste trabalho, em especial ao professor Dr. Rivanildo Dallacort pelas valiosas contribuições.

Não poderia deixar de agradecer a Lucimeire Camacho (“Lulu”), por toda amizade, companheirismo e ajuda nestes dois anos de mestrado.

À equipe de funcionários da Unemat, em especial ao pessoal do setor de transporte, Divino, Rosinei, Wagner, Oacir, Marciel e Miguel.

À todos os amigos do mestrado que compartilharam comigo momentos de aprendizagem. Agradeço-lhes pela companhia, pelos dias grupo de estudo e pelas

horas de distração. Ressalto, em especial, a Patrícia Palhana por toda ajuda ao longo deste mestrado.

Aos amigos do laboratório de Entomologia da Unemat, Michael, Fabiano, Cassiano, Anderson, Douglas, Joana Ricas, Pedro El Hage, Camila Patrícia, Leandra Amorim, Thais Lorraine, Valdilene Barbosa, Joice Jardim, Ana Regina pela contribuição e por tornarem nosso ambiente de trabalho mais agradável.

Um agradecimento mais que especial, faço questão de registrar à Bruna Camila e à Leonardo Turchen que em nenhum momento deixaram de ajudar-me, em laboratório ou campo, pelas discussões e sugestões na execução deste trabalho. Mais do que colegas de laboratório vejo como praticamente co-autores desta dissertação.

Agradeço às minhas amigas do coração Angélica Massaroli, Bruna Favetti, por todas as contribuições e ensinamentos. Nesse grupo de amizade, agradeço ainda à Adriana Lima e Daiane Zaninelli pelo incentivo, por nunca esquecerem de mim nesta etapa importante da minha vida, a amizade foi fundamental.

À minha família agradeço por toda compreensão nos momentos de ausência. Agradeço o incentivo ao estudo e ao apoio na busca deste sonho. Obrigada pai, irmãos e sobrinho.

Agradeço ao meu esposo Paulo Sérgio pelo amor, incentivo e ajuda.

À minha mãe Maria (*in memoriam*) por todos os momentos lindos e felizes que passamos juntas. Agradeço ainda por todo o amor, pelo exemplo de vida e por acreditar em mim quando nem eu mesma acreditava.

À Deus por estar sempre presente na minha vida e pelo amor incondicional dedicado a mim.

O sucesso depende do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.

José de Alencar

SUMÁRIO

RESUMO.....	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO GERAL	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
ARTIGO 1: Impactos potenciais das mudanças climáticas no desenvolvimento de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> (Lepidoptera: Pyralidae) no Mato Grosso.....	21
ARTIGO 2: Feromônio sexual: tecnologia promissora para o manejo de <i>Elasmopalpus lignosellus</i> (zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) em campo	33
CONSIDERAÇÕES FINAIS	53

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar o impacto das mudanças climáticas e o uso de feromônio sexual no manejo da *Elasmopalpus lignosellus* em áreas agrícolas no Mato Grosso. Os experimentos foram desenvolvidos na Universidade do Estado do Mato Grosso e na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Para as pesquisas de mudanças climáticas foram utilizados dados de temperatura média e precipitação disponibilizados pelo INMET. A influência das mudanças climáticas no desenvolvimento da *E. lignosellus* foi estudada através da simulação do número de gerações do inseto para os municípios de Sinop, Diamantino e Rondonópolis durante os anos de 2000 a 2011 entre os meses de outubro a dezembro. Posteriormente foi estimado o número de gerações com o aumento da temperatura de 6,4°C previsto pelo IPCC. Paralelamente fez-se a relação das médias de temperatura dos municípios com a faixa ótima de desenvolvimento do inseto (27-33°C). Inicialmente, nas pesquisas com o feromônio, realizou-se bioensaios para definir o pico de chamamento das mariposas. Após, extraiu-se as glândulas de feromônio de fêmeas de 0 até 96 horas. Os extratos foram analisados através de cromatografia gasosa e espectrometria de massa. Os testes em eletroantenografia (EAG e DEA) foram realizados para conhecer as respostas eletrofisiológicas das antenas de machos aos compostos identificados. Para verificar a resposta dos machos ao feromônio, foram feitos bioensaios em túnel de vento e olfatômetro. Em seguida, foram testadas duas misturas sintéticas do feromônio sexual em uma área de soja no município de Campo Novo do Parecis-MT. A eletroantenografia pelo EAG foi estudada através do teste *Kruskal-Wallis* e o experimento de campo pela análise de *deviance* e do modelo linear generalizado (MLG). A média do número de gerações para Sinop, Diamantino e Rondonópolis foi de 2,86, 3,07 e 3,18, respectivamente, durante os anos de 2000 a 2011. Com o aumento de 6,4°C Sinop, Diamantino e Rondonópolis passaram a ter respectivamente 3,9, 4,17 e 4,27 gerações/ano. O aumento de temperatura nestes municípios poderá favorecer o desenvolvimento de *E. lignosellus*, pois estará dentro da faixa ótima deste inseto. O melhor horário para extrair a glândula da *E. lignosellus* é na 9ª hora da escotofase. Na glândula de feromônio foram identificados os compostos OH-I, OH-II, Ac-I, Ac-II, Ac-III. Os resultados da eletroantenografia por DEA demonstram que as antenas responderam eletrofisiologicamente aos compostos: Ac-I, Ac-II. Já o EAG demonstrou que as antenas reagiram aos compostos: Ac-I, Ac-II, Ac-III, OH-II. Nos bioensaios em túnel de vento foi constatado que 70% dos machos responderam a uma mistura composta por Ac-I e Ac-II. No olfatômetro os machos não responderam significativamente para nenhuma das misturas testadas. E no experimento de campo a mistura feromonal 2 capturou o maior número de machos, se comparada aos demais tratamentos. Os resultados deste trabalho indicam que o aumento de 6,4°C na temperatura poderá favorecer o desenvolvimento da *E. lignosellus* em todos os municípios estudados e que a mistura feromonal 2 apresentou potencial para atrair machos em campo.

Palavras Chave: Cromatografia, compostos feromonais, variáveis climáticas.

ABSTRACT

This study aimed to assess the impact of climate change and the use of sex pheromone in the management of *Elasmopalpus lignosellus* in agricultural areas of Mato Grosso State. The experiments were conducted at the State University State of Mato Grosso and Embrapa Genetic Resources and Biotechnology. Aiming to research the climate changing were used temperature average and precipitation data provided by INMET. The influence of climate changing in the development of *E. lignosellus* was studied by simulating the number of insect generations from the cities of Sinop, Diamantino and Rondonópolis, during the years of 2000 to 2011, during the months of October to December. After that, the number of generations was estimated increasing the temperature to 6.4 ° C, predicted by IPCC. At the same time, was possible to observe a relationship with the optimum range of insect development (27-33°C). Developing the research with the pheromone initially was held bioassays to set the peak call moths. After, female pheromone glands were taken still up to 96 hours. The extracts were analyzed by gas chromatography and mass spectrometry. Some tests were conducted in electroantennography (EAG and DEA) to meet the electrophysiological responses of antennae males the identified compounds. Checking the response of males to pheromone, bioassays were made in the wind tunnel and olfactometer. Furthermore, were tested two synthetic mixtures of sex pheromone in a soybean area in Campo Novo do Parecis-MT. The electroantennography by EAG was studied by *Kruskal-Wallis* test and field experiment was analyzed by deviance analysis and generalized linear model (GLM). The average number of generations from the cities of Sinop, Diamantino and Rondonópolis was 2,86, 3,07 and 3,18, respectively, for the years 2000 to 2011. Observing the increase of 6.4 ° C, Sinop, Diamantino and Rondonópolis would then have respectively 3.9, 4.17 and 4.27 generations/year. The temperature increase in these municipalities will encourage the growth of *E. lignosellus*, it will be in the optimum range of this insect. The best time to extract the *E. lignosellus* gland is the 9th emergence time. There were identified in pheromone gland-OH compounds I, OH II I-Ab, Ac-II, III-Ac. The results showed that DEA electroantennography by the antennae respond to electrophysiological compounds: Ab-I, Ab-II. EAG already demonstrated that the antennae respond to the compounds: Ab-I, Ab-II, III Ac-OH-II. Bioassays wind tunnel was found that 70% of males responded to a mixture composed of Ac-Ac-I and II. Olfactometer males did not respond significantly to any of the tested mixtures. In the field trial, the mixture pheromonal 2 captured the largest number of males compared to the other treatments. These results indicate that the increase of 6.4 ° C in temperature will favor the development of *E. lignosellus* in all municipalities studied and that the pheromonal mixture 2 has the potential to attract males in the field.

Keywords: Chromatography, pheromonal compounds, climate variables.

INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos o estado de Mato Grosso exhibe um crescimento considerável em sua economia, diferindo dos outros estados por apresentar o maior Produto Interno Bruto (PIB) graças ao desenvolvimento das suas atividades agrícolas (AZEVEDO; PASQUIS, 2007), destacando-se pela alta produtividade (FIGUEIREDO et al., 2005)

Na década de 1970 este estado dispôs de algumas características primordiais para produção de grãos, a incorporação de terras virgens e a conversão da terra de qualidade inferior em terra de qualidade superior, voltado para um sistema intensivo de produção, utilizando grandes extensões de terra para a monocultura, destacando-se a produção de soja (REZENDE, 2003).

A rápida expansão dessa cultura agrícola no estado de Mato Grosso (CAMPOS, 2014) favoreceu o desenvolvimento de um verdadeiro complexo de pragas, responsável pela redução da produção. Entre os insetos fitófagos prejudiciais desta cultura, a lagarta *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) reduz 20% das plantas do estande (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; VIANA, 2004).

Em Mato Grosso o método de controle mais utilizado no combate dessa praga são os inseticidas químicos. Entretanto por ser uma praga de solo que durante o ataque ficam abrigadas no interior da haste, isso impede seu contato com o produto, tornando-o ineficiente. Ainda devido a essa característica, muitas vezes as lagartas são percebidas quando o dano econômico já ocorreu (VIANA, 2007; VIANA, 2004). Assim o uso destes produtos torna-se cada vez maior, o que implica em uma produção agrícola onerosa.

Além de elevar os custos de produção o uso de inseticidas químicos traz diversos impactos negativos ao ambiente, como o desequilíbrio dos agroecossistemas, contaminação do solo (PORTILHO et al., 2014), das águas (DELLAMATRICE; MONTEIRO, 2014), do ar e ainda tem prejudicado a saúde humana (BELO et al. 2012; FERREIRA et al., 2014).

A *E. lignosellus* é uma praga que ataca a fase inicial da cultura da soja, entre 30 a 40 dias após a germinação. É influenciada pelas variáveis climáticas, e seu aparecimento é favorecido por altas temperaturas, veranicos, períodos de estiagem durante as chuvas de verão e baixa precipitação (VIANA, 2007; VIANA et al., 2000).

Ocorre com maior frequência nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, pois nessas áreas é frequente a ocorrência de veranicos (NAKAYAMA, 1980).

Por ser uma praga altamente influenciada pela temperatura, estudos sobre os impactos das mudanças climáticas no desenvolvimento da *E. lignosellus* são essenciais para auxiliar no monitoramento deste inseto.

Em razão do possível aumento de 6,4°C na temperatura, previsto pelo IPCC (2007) até o final deste século, poderão ocorrer modificações na incidência e severidade das pragas, favorecendo o seu desenvolvimento (GHINI; HAMADA, 2012).

Para estudos sobre os impactos das mudanças climáticas no desenvolvimento de pragas são utilizados modelos de graus-dias na previsão do número de gerações. As informações geradas nestes modelos fornecem subsídios para um melhor entendimento da dinâmica populacional dos insetos nos sistemas agrícolas, contribuindo para o planejamento e manejo destas pragas (MILANEZ, 2014; MURRAY, 2008).

Estudos com a influência das mudanças climáticas no desenvolvimento de pragas vêm sendo realizados em várias partes do mundo. No Brasil Moraes et al. (2014) em pesquisas com mosca-negra-dos-citrus (*Aleurocanthus woglumi* Ashby), verificou que o aumento de 5,8 °C na temperatura do ambiente ampliaria em até 50% o número de gerações deste inseto no estado do Pará entre os anos de 2030 e 2090.

Outra tecnologia que pode ser usada no manejo da *E. lignosellus* seria o feromônio sexual. Na agricultura, estes feromônios podem ser usados em armadilhas para o monitoramento da presença e densidade populacional da praga, visando determinar quando a população do inseto-praga atingiu o nível de controle. Esses feromônios também podem ser utilizados para o controle, através da captura massal com altas densidades de armadilhas no campo, ou por meio do confundimento que é a liberação de uma quantidade maior de feromônio sintético na área, para diminuir ou impedir os insetos de localizar seu respectivo parceiro e assim evitar o acasalamento (ZARBIN et al. 2009).

O feromônio faz parte de uma tática do manejo integrado de pragas que apresenta vantagens na sua utilização, entre elas estão à facilidade de utilização, a especificidade, um menor impacto ambiental e a preservação dos inimigos naturais (WITZGALL, 2001; MILLAR, 2005).

Em campo, para que uma mistura feromonal seja utilizada de forma eficiente é essencial uma série de pesquisas. Inicialmente são necessários estudos comportamentais para definir o melhor horário para a extração das glândulas do feromônio. A identificação dos compostos pode ser realizada através da técnica de cromatografia e espectometria de massas. Posteriormente testes em túnel de vento e olfatômetro são essenciais para a compreensão do comportamento do inseto frente ao estímulo químico, permitindo avaliar a viabilidade do uso destes semioquímicos em campo (TRIGO et al., 2000).

No Brasil, já existem registrados o feromônio sexual para algumas espécies de lepidópteros, como *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera: Gelechiidae), *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), *Ephestia cautela* (Lepidoptera: Phycitidae), *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae), *Ephestia elutella* (Lepidoptera, Pyralidae), *Plodia interpunctella* (Lepidoptera, Pyralidae), e *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Olethreutidae (ZARBIN et al., 2009),

Para o Brasil ainda é desconhecido uma formulação de feromônio sexual para atração dos machos da *E. lignosellus* em campo. Portanto, pesquisas que busquem identificar o feromônio de populações locais e testes em campo são essenciais para viabilizar uma formulação eficiente para uso.

As pesquisas sobre os impactos das mudanças climáticas no desenvolvimento da *E. lignosellus* e o uso do feromônio sexual são ferramentas promissoras para o manejo eficiente desta praga em campo.

Desta forma, a pesquisa está dividida em dois artigos, o primeiro artigo intitulado “Impactos potenciais das mudanças climáticas no desenvolvimento de *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) em áreas agrícolas no estado de Mato Grosso” com o objetivo de avaliar o impacto das mudanças climáticas no desenvolvimento de *E. lignosellus* nos municípios de Rondonópolis, Diamantino e Sinop.

O segundo artigo com o título “Feromônio sexual: tecnologia promissora para o manejo de *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) em campo” objetivou identificar os possíveis compostos feromonais de *E. lignosellus* e avaliar em campo a sua eficiência no monitoramento desta praga.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, A. A.; PASQUIS, R. Abundância do agronegócio à Caixa de Pandora ambiental: a retórica do desenvolvimento (in) sustentável do Mato Grosso (Brasil). **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, Campo Grande, v. 8, n. 2, p. 183-191, 2007.
- BELO, M. S. D. S. P. et al. Uso de agrotóxicos na produção de soja do estado do Mato Grosso: um estudo preliminar de riscos ocupacionais e ambientais. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, São Paulo, v.37, p.78-88, 2012.
- CAMPOS, I. **A sustentabilidade da agricultura na Amazônia**. Disponível em: <http://www.anppas.org.br/encontro_anual/encontro1/gt/agricultura_meio_ambiente/Indio%20Campos.pdf>. Acesso em: 01 de out. de 2014.
- DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R. Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. **Revista brasileira de Engenharia Agrícola e ambiental**, Campina Grande, v.18, p. 1296-1301, n.12, 2014.
- FERREIRA, J. V. R. et al. Pesticidas aplicados na lavoura e o risco à saúde pública: uma revisão da literatura. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, v.24, n.4, p.87-103, 2014.
- FIGUEIREDO, M. G; BARROS, A. L. M; GUILHOTO, J. J. M. Relação econômica dos setores agrícolas do Mato Grosso com os demais setores pertencentes tanto ao estado quanto ao restante do Brasil. **RER**, Rio de Janeiro, v. 43, n.3, p.557-575, 2005.
- GHINI, R.; HAMADA, E. **Impactos das mudanças climáticas globais sobre problemas fitossanitários**. 2012. Disponível em:<<http://www.macroprograma1.cnptia.embrapa.br/climapest/apresentacao>>. Acesso em: 05 de jan. de 2015.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B. et al. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja, 2000.p.70. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 30).
- IPCC, **Intergovernmental Panel on Climate Change ou Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas** (IPCC). Climate Change. Synthesis Report 2007. Disponível em< http://www.ipcc.ch/pdf/assessment_report/ar4/syr/ar4_syr.pdf>. Acesso em: 05 de jan. de 2015.
- MILANEZ, J.M. et al. **Estimativa do número de gerações de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824), ocorrente na cultura do milho, baseado no estudo de exigências térmicas**. Disponível em:<http://intranetdoc.epagri.sc.gov.br/producao_tecnico_cientifica/DOC_3722.pdf>. Acesso em: 12 de dez. de 2014.
- MILLAR, J. G. Pheromones of True Bugs. **Topics in Current Chemistry**, v. 240 p. 37–84, v.470, 2005.

MORAES, B. C. et al. Impactos das mudanças climáticas na ecoclimatologia de *Aleurocanthus woglumi ashby*, 1903 (Hemiptera: Aleyrodidae) No Estado Do Pará. **Revista Brasileira de Meteorologia**, São José dos Campos, v.29, n.1, p. 77 - 84, 2014.

MURRAY, M. S. Using degree days to time treatments for insect pests. ; IPM Project Leader. **State University Extension and Utah Plant Pest Diagnostic Laboratory**, p.05-08. 2008

NAKAYAMA, K. **Biologia e controle de *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1948) (Lepidoptera: Pyralidae) em trigo**. 1980. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1980.

PORTILHO, I. I. R. et al. Determinação de resíduos dos agrotóxicos Tiametoxam, Binfetrina e Permetrina em amostra de solo. **Pesticidas: ecotoxicologia e meio ambiente**, v.24, n.1, p.1-12, 2014.

REZENDE, G. C. **Ocupação agrícola, estrutura agrária e mercado de trabalho rural no cerrado: o papel do preço da terra, dos recursos naturais e das políticas públicas**. 2003. Disponível em:< <http://nemesis.org.br/download.php>>. Acesso em: 01 de out. de 2014.

TRIGO, J. B.; BITTRICH, V.; AMARAL, M. C. **Ecologia Química**. Chemkeys–Liberade para aprender. p.01-09, 2000

VIANA, P. A.; CRUZ, I.; WAQUIL, J. M. **Danos da lagarta-elasma à cultura do milho e medidas para o seu controle**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2000. p. (EMBRAPA-CNPMS. Comunicado Técnico, 20).

VIANA, P. A. Lagarta-elasma. In: SALVADORI, J. R., ÁVILA, C. J., SILVA, M. T. B. **Pragas de solo no Brasil**. Passo Fundo: Embrapa Trigo; Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz Alta: Fundacep Fecotrig, 2004. p. 379-408.

VIANA, P. A. **Manejo da lagarta-elasma em grandes culturas: gargalos da pesquisa**. In: Reunião Sul-brasileira sobre pragas de solo, 10, 2007, Dourados. Anais e ata. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2007. p. 67-77. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 88).

WITZGALL, P. Pheromones-future techniques for insect control? **IOBC wprs Bulletin** V. 24, n.2, p. 114-122, 2001.

ZARBIN, P. H. G. et al. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p.722-731, 2009.

Impactos potenciais das mudanças climáticas no desenvolvimento da Broca do colo no Mato Grosso

[Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira]

Edilaine de Souza Viana ⁽¹⁾, Patrícia Simone Palhana Moreira ⁽¹⁾, Mônica Josene Barbosa Pereira ⁽²⁾ e Rivanildo Dallacort ⁽²⁾.

⁽¹⁾ Programa de Pós-graduação em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola, Universidade do Estado de Mato Grosso, 78300-000-Tangará da Serra MT, Brasil. edilaine.sv@hotmail.com.

⁽²⁾ Departamento de Agronomia, Universidade do Estado de Mato Grosso, 78300-000-Tangará da Serra MT, Brasil.

Resumo - Este trabalho objetivou avaliar o impacto das mudanças climáticas no desenvolvimento de *E. lignosellus*, utilizando dados de temperatura média do ar e precipitação disponibilizados pelo INMET. Para isto realizou-se a simulação do número de gerações do inseto para os municípios de Sinop, Diamantino e Rondonópolis, durante os anos de 2000 a 2011 entre os meses de outubro a dezembro. Posteriormente foi estimado o número de gerações segundo o acréscimo de 6,4°C previsto pelo IPCC. Paralelamente fez-se a relação da temperatura média de cada município, com a faixa ótima (27-33°C) de desenvolvimento do inseto, além de quantificar o número de dias secos e chuvosos para relacionar à ocorrência de veranicos. A média do número de gerações foi de 2,86, 3,07 e 3,18, para Sinop, Diamantino e Rondonópolis, respectivamente. Com o acréscimo de 6,4°C, estes passarão a ter 3,9, 4,17 e 4,27 gerações. A média do número de dias secos foi maior para Rondonópolis, com 71,08, portanto este possui maior possibilidade de ocorrência de veranico. Estes resultados indicam que o acréscimo na temperatura dos municípios, favorecerá o desenvolvimento da *E. lignosellus* com o aumentando do número de gerações.

Termos para indexação: temperatura, graus-dias, faixa ótima.

Potential impacts of climate change in developing Lesser cornstalk borer in Mato Grosso

Abstract - The objective of this study was to evaluate the impact of climate changing in developing *E. lignosellus*. For this work air temperature data were used and precipitation provided by INMET. Evaluating the influence of climate changing in the development of *E. lignosellus*, was made the simulation of the insect generations number to municipalities during the years of 2000 to 2011 between october and december of each year. It was a period that coincides with soybean planting in the state, later the number of generations, for each site, was estimated to increase 6.4 °C, temperature predicted by the IPCC. At the same time, was possible to observe a relationship with the optimum range of insect development (27-33°C) and quantified the dry and wet days number to a relationship with the occurrence of dry spells. It was considered day dry precipitation values less than or equal to 5.0 mm and rainy precipitation less than 5.1 mm. The average number of generations was 2.86, 3.07 and 3.18, respectively from the cities of Sinop, Diamantino and Rondonópolis. Observing the increase of 6.4 °C, Sinop, Diamantino and Rondonópolis would have respectively 3.9, 4.17 and 4.27, and number of generations would show ideal temperature average for the development of pest, according to 27-33°C range, however these last two municipalities in the upper end of this range with 33 °C. The average number of dry days for Sinop, Diamantino and Rondonópolis was 62.16, 62.41 and 71.08 respectively. These results indicate that the 6.4 °C increase in temperature will favor the development of *E. lignosellus* with an increased number of generations, and the temperature of the cities within the optimum range of insect development.

Index terms: temperature, degree-days, optimum range.

Introdução

Elasmopalpus lignosellus (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) é uma praga polífaga que, no estado de Mato Grosso, ataca principalmente a cultura da soja, 30 a 40 dias após a germinação (Quintela & Silva, 2007). A faixa ótima para o desenvolvimento desta praga está entre 27 a 33°C (Sandhu et al., 2010a).

Ocorre em quase todas as regiões produtoras de grãos, porém com maior frequência no Cerrado brasileiro, nos estados de Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul em razão da constante ocorrência de veranicos (Nakayama, 1980).

Por ser uma praga altamente influenciada pela temperatura, estudos sobre os impactos das mudanças climáticas no desenvolvimento da *E. lignosellus* são essenciais para auxiliar no monitoramento desta praga, pois segundo Parry et al. (1990), com o aquecimento global haverá um aumento na taxa de desenvolvimento dos insetos de forma geral, aumentando o número de gerações e densidade populacional das pragas, além de influenciar na distribuição geográfica de algumas espécies.

Segundo Ghini & Hamada (2012) o ambiente determina a ocorrência de pragas e uma possível alteração na temperatura pode causar modificações na incidência do inseto, favorecendo ou não o seu desenvolvimento.

Para estudos sobre os impactos das mudanças climáticas no desenvolvimento de pragas são utilizados modelos de graus-dias para previsão do número de gerações do inseto. Segundo Cividanes & Figueiredo (1997) estes modelos são utilizados na agricultura em programas de manejo, orientando a época mais adequada para a implementação das medidas de controle.

Pellegrino et al. (2011), em seu trabalho, sobre os impactos das mudanças climáticas na agricultura do Brasil, destacam que as alterações de temperatura na atmosfera afetará a dinâmica populacional das pragas, podendo favorecer ou prejudicar o desenvolvimento.

Ainda há pouco conhecimento sobre os impactos das mudanças climáticas no desenvolvimento dos insetos-pragas, no entanto, estes estudos tornam-se cada vez mais necessários. As informações geradas a partir destas pesquisas poderão auxiliar no monitoramento e controle da *E. lignosellus* em municípios produtores de soja no estado do Mato Grosso, indicando a época e o local mais propício ao seu desenvolvimento.

Diante disto, este artigo teve como objetivo avaliar o impacto das mudanças climáticas no desenvolvimento de *E. lignosellus* nos municípios de Sinop, Diamantino e Rondonópolis.

Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Meteorologia, localizado no Centro de Pesquisas Agro-Ambientais CPEDA, na Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, *campus* de Tangará da Serra.

Os dados diários de temperatura média do ar e precipitação pluviométrica foram obtidos das estações do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) dos municípios de Sinop, Diamantino e Rondonópolis, localizados no estado de Mato Grosso. As séries temporais utilizadas foram de 12 anos para todos os locais estudados, compreendendo de 2000 a 2011, entre os meses de outubro a dezembro, período que coincide com o plantio da soja no Estado.

Para o cálculo de soma térmica (graus-dia) foram utilizados os valores de temperatura média e temperatura base do inseto (T_b), que é 9,3 °C, e como referencial os valores de 543,48 graus dias (GDA) necessários para o inseto completar uma geração em condições de laboratório (Sandhu et al., 2010b), segundo a seguinte fórmula:

$$\mathbf{GD = Tmed - Tbase}$$

Foram simulados, para cada município, o número de gerações do inseto para os anos de 2000 a 2011. Posteriormente aos valores de T_{med} foram somados diariamente 6,4 °C, simulando o aquecimento do ar com a elevação de temperatura, previsto para ocorrer até o final do século XXI, em consequência de mudanças climáticas globais (IPCC, 2007). Os novos valores de T_{med} foram aplicados à equação GD para a simulação do número de gerações.

A quantificação do número de dias secos e chuvosos, para a relação com a ocorrência de veranicos, foi realizada com base na metodologia proposta por Sans e Santana (2002), sendo considerados como secos os dias em que a precipitação for igual ou inferior a 5 mm, e chuvosos quando a precipitação for igual ou superior a 5,1 mm. Para verificar a influência da temperatura média, no número de gerações para cada município, foi feito uma análise de correlação usando o software estatístico R-CoreTeam (2014).

Resultados e Discussão

Nas condições de temperatura apresentadas durante os anos de 2000 a 2011 a *E. lignosellus* atingiu uma média de 2,86, 3,07, 3,18 gerações respectivamente para Sinop, Diamantino e Rondonópolis (Tabela 1).

A média geral de temperatura foi superior para Rondonópolis e Diamantino do que para Sinop em função da temperatura mais elevada nos dois primeiros locais (Figura 1). Segundo Murray (2008), para insetos de forma geral, o aumento da temperatura do ar influencia no seu desenvolvimento com o acréscimo na taxa reprodução e a aceleração do ciclo de vida, consequentemente ampliando o número de gerações.

Essa variação no número de gerações em função da temperatura também foi observada por Bavaresco et al. (2005), nos estudos com *H. andremona* (Lepidoptera: Noctuidae), em diferentes regiões produtoras de caqui no Brasil, corroborando com os dados deste trabalho, em que constatou-se maior número de gerações anuais em Jundiaí (SP) 7,1, do que para Vacaria (RS) 2,9, em razão da média anual ser mais elevada no primeiro local.

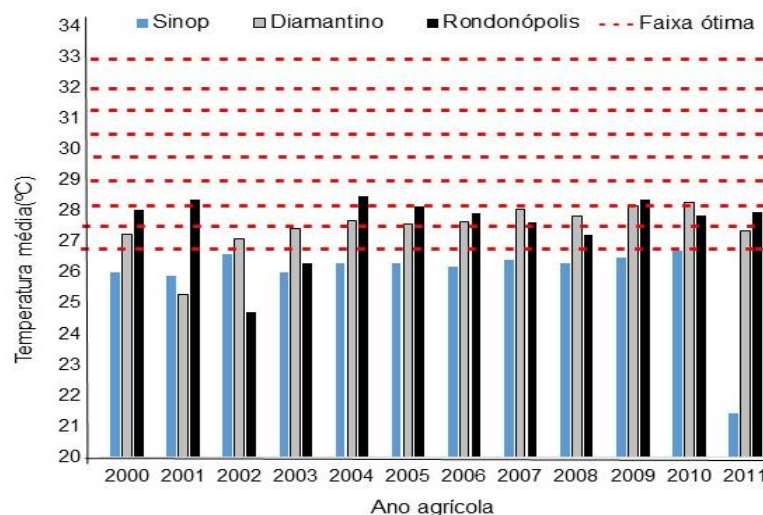


Figura 1. Média anual de temperatura para os municípios de Sinop, Diamantino e Rondonópolis em relação à faixa ótima para o desenvolvimento de *E. lignosellus*.

A influência da temperatura no desenvolvimento da *E. lignosellus*, destacado neste trabalho, foi verificado também por Mack et al. (1987) em estudos com modelo

matemático sobre a dinâmica populacional do inseto, constatando que a temperatura do ar atua decisivamente no desenvolvimento da *E. lignosellus* influenciando seu número de gerações.

Rondonópolis e Diamantino, durante os anos estudados, foram os locais que mais favoreceram o desenvolvimento e reprodução da *E. lignosellus*, pois a temperatura média nestes municípios estavam enquadradas na faixa ótima de desenvolvimento da praga, entre 27-33°C (Sandhu et al., 2010a) na maioria dos anos estudados (Figura 1). Essa faixa, segundo Viana (2007), é ideal para o acasalamento e oviposição do inseto, nestas condições, as fêmeas expressam seu máximo potencial reprodutivo. Dessa forma, Rondonópolis e Diamantino possivelmente tiveram uma maior densidade populacional do inseto durante os anos estudados e, como consequência, mais prejuízos ocasionados pela praga.

No município de Sinop os valores de temperatura ficaram abaixo da faixa ótima de desenvolvimento do inseto (Figura 1), indicando que nesse município a *E. lignosellus* não expressou seu máximo potencial reprodutivo.

O incremento de 6,4°C na temperatura média dos municípios estudados acarretará redução do ciclo de vida e aumento do número de geração de *E. lignosellus*. Desta forma, Sinop, Diamantino e Rondonópolis passariam a ter 3,9, 4,17 e 4,27 gerações, respectivamente, durante os meses que compreendem o plantio da soja (Figura 2).

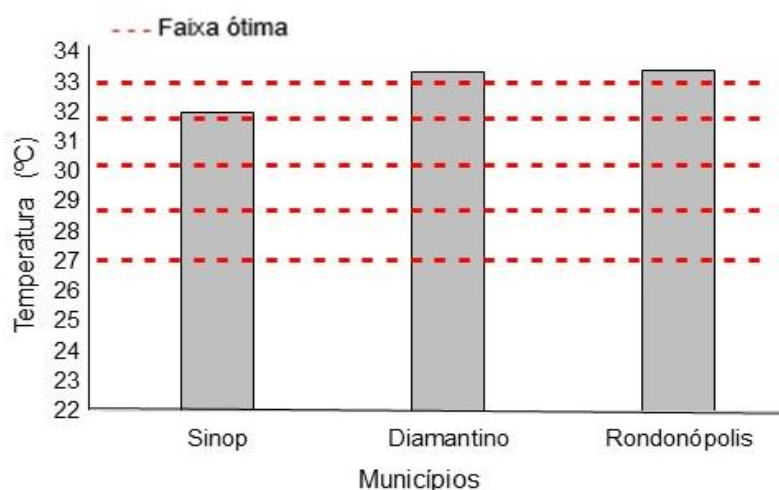


Figura 2. Temperatura média nos municípios de Sinop, Diamantino e Rondonópolis para o final do século XXI, com o aumento previsto de 6,4°C.

Assim como verificado neste trabalho, Moares et al., (2014), estudando a influência das mudanças climáticas no desenvolvimento de *Euschistus heros*

constatou que as potenciais mudanças do cenário A2 e B1, projetado pelo IPCC (2007) irá favorecer o estabelecimento e desenvolvimento deste inseto.

Para *Leucoptera coffeella* foi constatado que as mudanças de temperatura também influenciam no desenvolvimento desta praga, pois um possível aumento da temperatura do planeta, previsto pelo IPCC (2007) de 4°C até 2100, acarretará um aumento da classe de 1,5 a 2,0 gerações mensais de *L. coffeella* (Marçal, 2012).

Um aumento de 5,8°C na temperatura do ar segundo o relatório do IPCC, para *S. frugiperda*, aumentará de 9 a 14 gerações/ano desta praga no estado Rio Grande do Sul (Afonso et al., 2009).

Apesar de cada local ter avançado basicamente uma geração, este acréscimo na temperatura indica, principalmente, que os municípios passarão a se enquadrar dentro da faixa ótima de desenvolvimento do inseto. Como consequência haverá o aumento na taxa reprodutiva da praga, acréscimo no número de ovos e maior fertilidade, o que eleva a densidade populacional do inseto (Sandhu et al. 2010a), portanto as áreas de produção de soja no estado de Mato Grosso poderão ser amplamente afetadas pelo ataque desta praga.

O acréscimo de temperatura irá influenciar a dinâmica populacional da *E. lignosellus*, pois segundo Parry et al. (1990) os insetos de forma geral, serão favorecidos com o aumento da temperatura, produzindo um maior número de gerações por ano, e ainda o estabelecimento mais cedo das populações de pragas.

O impacto da mudança climática no desenvolvimento de pragas é uma questão crescente que vem despertando o interesse em pesquisadores no mundo todo.

A análise de correlação demonstrou que a temperatura média do ar, apresentada pelos municípios durante os anos deste estudo, influenciou positivamente o número de gerações da *E. lignosellus*, com um coeficiente de correlação equivalente a 0,99 para Sinop ($p=0,007$), 0,90 para Diamantino ($p<0,05$) e 0,83 para Rondonópolis ($p<0,05$).

Além da temperatura, outros fatores podem afetar a evolução populacional da *E. lignosellus*, tais como a precipitação e os períodos de estiagem (Andrade, 2013). Desse modo, foram contabilizados o número de dias secos e dias chuvosos, e verificou-se que a média do número de dias chuvosos foi maior em Sinop com 29,50 e Diamantino com 29,25 dias, já Rondonópolis a média de dias chuvosos foi inferior, apresentando 20,91 dias (Tabela 2).

Diamantino e Sinop apresentaram aproximadamente 32,4% de dias chuvosos, já Rondonópolis apresentou 23,5% dos dias com chuva. Dependendo da distribuição destas chuvas, durante o período de estudo, o município de Rondonópolis apresenta características para um maior número de veranicos, o que proporcionará melhores condições de desenvolvimento da *E. lignosellus*, já que esta é uma praga que têm sua ocorrência condicionada por períodos de estiagem (Viana, 2007).

Em contrapartida, em Rondonópolis o número de dias secos foi maior, 71,08 (Tabela 2), apresentando maior possibilidade da ocorrência de veranicos e consequentemente favorecendo o desenvolvimento da *E. lignosellus* (Viana, 2007).

Apesar dos estudos sobre os impactos das mudanças climáticas no desenvolvimento de pragas, pouco se conhece sobre a influência destas mudanças na faixa ótima de desenvolvimento dos insetos. Muitas vezes apesar das simulações mostrarem aumento no número de gerações, um potencial acréscimo de temperatura pode ser deletério para algumas espécies, com a diminuição na taxa reprodutiva e controle natural das pragas.

O aumento de 6,4°C até o final do século, para a *E. lignosellus*, favorecerá o desenvolvimento desta praga, porém se a temperatura continuar subindo nos próximos anos poderá diminuir a incidência da praga nos municípios estudados, visto que temperaturas superiores a 33°C poderão afetar tanto a reprodução quanto a viabilidade dos ovos (Sandhu et al. 2010a; Andrade 2013).

Conclusões

O acréscimo de 6,4°C na temperatura média do ar, nas regiões em estudo, até o final deste século proporcionará condições térmicas na faixa ideal de desenvolvimento da *E. lignosellus*, uma vez que todos os municípios estudados apresentarão temperatura média dentro da faixa ótima de desenvolvimento do inseto e proporcionará também um aumento no número de gerações em todos os locais estudados. As chuvas no município de Rondonópolis apresentam características de um maior número de veranicos, proporcionando melhores condições de ocorrência e desenvolvimento *E. lignosellus*.

Referências

AFONSO, A.P.S.; WREGGE, M.; MARTINS, J.F. S.; NAVA, D. E. Simulação do zoneamento ecológico da lagarta-do-cartucho no Rio Grande Do Sul com o aumento de temperatura. **Arq. Inst. Biol.**, v.76, n.4, p.607-612, 2009.

ANDRADE, R. S. **Criação de *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) em dieta artificial em diferentes temperaturas e seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para seu controle em arroz.** 2013. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Escola Superior “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

BAVARESCO, A.; GARCIA, M.S.; BOTTON, M.; NONDILLO, A. Biologia, exigências térmicas e estimativa do número anual de gerações de *Hypocala andremona* (Stol, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do caquizeiro. **Arq. Inst. Biol.**, v.72, p.505-510, 2005.

CIVIDANES, F. J.; FIGUEIREDO J. G. Previsão de ocorrência de picos populacionais de percevejos pragas da soja em condições de campo. **An. Soc. Entomol. Brasil**, v.26, p.517-525, 1997.

GHINI, R.; HAMADA, E. **Impactos das mudanças climáticas globais sobre problemas fitossanitários.** 2012. Disponível em: <<http://www.macroprograma1.cnptia.embrapa.br/climapest/apresentacao>>. Acesso em: 05 de jan. de 2015.

IPCC - Intergovernmental Painel on Climate Change (IPCC). **Climate Change. Synthesis Report.** 2007. Disponível em < http://www.ipcc.ch/pdf/assessment_report/ar4/syr/ar4_syr.pdf>. Acesso em: 05 de jan. de 2015.

MARÇAL, G. G.; HAMADA, E.; GHINI, R. Impactos potenciais das mudanças climáticas sobre a distribuição geográfica do número de gerações do bicho-mineiro-do-cafeeiro (*Leucoptera coffeella*) no Brasil. In: CLIMAPEST. WORKSHOP SOBRE MUDANÇAS CLIMÁTICAS E PROBLEMAS FITOSSANITÁRIOS. **Anais eletrônicos...**Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, São Paulo. 2012.

MACK, T. P.; SMITH JÚNIOR, J. W.; REED, R. B. Mathematical model of the population dynamics of the lesser cornstalk borer, *Elasmopalpus lignosellus*. **Ecological Modelling**, v. 39, p.269-286, 1987

MURRAY, M. S. Using degree days to time treatments for insect pests. IPM Project Leader. **State University Extension and Utah Plant Pest Diagnostic Laboratory**, p.05-8, 2008.

NAKAYAMA, K. **Biologia e controle de *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1948) (Lepidoptera: Pyralidae) em trigo.** 1980. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo, Escola Superior “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

PARRY, M. L.; PORTER, J. H; CARTER, T. R. Agriculture: Climatic and its Implications Change. **TREE**, v. 5, p.318-322, 1990.

PELLEGRINO, A. C. Influência da pressão atmosférica bo comportamento sexual dos insetos. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2011

QUINTELA, E. D.; SILVA, J. F. A. **Efeito do Orthene 750 BR em Tratamento de Sementes no Controle da Lagarta *Elasmopalpus lignosellus* no Feijoeiro e Algodoeiro.** Comunicado técnico 146. GO, 2007.

R CORE TEAM (2014). **R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.** Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 12 de Agosto de 2014.

SANDHU, H. S.; NUSSLY, G. S.; WEBB, S. E.; CHERRY, R. H.; GILBERT, R. A. Life Table Studies of *Elasmopalpus lignosellus* (Lepidoptera: Pyralidae) on Sugarcane. **Environmental Entomology**, v.39, p: 2025-2032. 2010a.

SANDHU, H. S.; NUSSLY, G. S.; WEBB, S. E.; CHERRY, R. H.; GILBERT, R. A. Temperature-dependent development of lesser cornstalk borer, *Elasmopalpus lignosellus* (Lepidoptera: Pyralidae) on sugarcane under laboratory conditions. **Environmental Entomology**. v. 39, p. 1012-1020. 2010b.

SANS, L. M. A.; SANTANA, D. P. **Cultivo do milho:** clima e solo. Sete Lagoas, EMBRAPA-CNPMS. 4p. (EMBRAPA-CNPMS. Comunicado Técnico, 38), 2002.

VIANA, P. A. Manejo da lagarta-elasma em grandes culturas: gargalos da pesquisa. In: REUNIÃO SUL-BRASILEIRA SOBRE PRAGAS DE SOLO, 10., 2007, Dourados. **Anais e ata....** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2007. p. 67-77. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 88).

Tabelas

Tabela 1. Número provável de gerações anuais de *E. lignosellus*, considerando uma temperatura base de 9,3°C e 543,48 graus-dia para completar um ciclo de vida.

Ano	Sinop	Diamantino	Rondonópolis
2000	2,83	2,70	3,20
2001	2,82	3,01	3,22
2002	2,93	3,06	3,22
2003	2,83	3,11	2,87
2004	2,88	3,09	3,24
2005	2,89	3,10	3,18
2006	2,86	3,17	3,15
2007	2,90	3,13	3,24
2008	2,87	3,19	3,23
2009	2,90	3,21	3,22
2010	2,94	3,05	3,13
2011	2,61	3,07	3,31
Média	2,86	3,07	3,18

Tabela 2. Número de dias secos e chuvosos para os municípios de Sinop, Diamantino e Rondonópolis.

Ano Agrícola	Diamantino		Sinop		Rondonópolis	
	Dias Secos	Dias Chuvosos	Dias Secos	Dias Chuvosos	Dias Secos	Dias Chuvosos
2000	63	29	63	29	79	13
2001	61	31	61	31	72	20
2002	58	34	55	37	74	18
2003	56	36	65	27	66	26
2004	64	28	62	30	70	22
2005	62	30	61	31	68	24
2006	61	31	61	31	73	19
2007	61	31	61	31	66	26
2008	57	35	61	31	70	22
2009	69	23	69	23	63	29
2010	70	22	70	22	76	16
2011	64	28	60	32	76	16
Média	62,16	29,5	62,41	29,25	71,08	20,91

Feromônio sexual: Tecnologia Promissora Para o Manejo da Broca do colo em Campo

[Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira]

Edilaine de S. Viana^{a,*}, Bruna C. G. Bersani^b, Mônica J. B. Pereira^c, Maria C. Blassioli-Moraes^d, Raul A. Laumann^d, Miguel Borges^d.

^{a,c} Programa de Pós-graduação em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola, Universidade do Estado de Mato Grosso, 78300-000-Tangará da Serra MT, Brasil. e-mail: edilaine.sv@hotmail.com.

^c Departamento de Biologia, Universidade do Estado de Mato Grosso, 78300-000-Tangará da Serra MT, Brasil.

^d Laboratório de Semioquímicos Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 70.770-917 - Brasília – DF, Brasil.

Os nomes dos compostos e as proporções das misturas para captura de machos de *E. lignosellus* não serão apresentados, pois este trabalho foi encaminhado para o pedido de patente.

Resumo - Esta pesquisa buscou identificar o feromônio sexual da *E. lignosellus* e avaliar em campo a sua eficiência no monitoramento desta praga. Os compostos foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Posteriormente, foram realizados testes em eletroantenografia, túnel de vento e em olfatômetro para verificar as respostas das antenas e dos machos às misturas. O experimento a campo para testar duas misturas sintéticas do feromônio sexual de *E. lignosellus* foi realizado em área comercial de soja, com delineamento aleatorizado. Para isso utilizou-se os tratamentos: mistura 1, mistura 2, fêmeas virgens e hexano. A melhor hora para a extração do feromônio sexual é a 9ª hora. Foram identificados os seguintes compostos feromonais na espécie: OH-II, OH-II, Ac-I, Ac-II, Ac-III. Na eletroantenografia por DEA as antenas responderam aos compostos: Ac-I, Ac-II. Já no EAG as antenas responderam a quatro compostos. Nos bioensaios em túnel de vento, 70% dos machos responderam a mistura sintética OH-II e Ac-III. Em olfatometria os machos responderam apenas a fêmeas virgens em chamamento. Em campo a mistura feromonal 2 atraiu, significativamente, maior número de machos quando comparado aos demais tratamentos. Estes resultados indicam que esta mistura pode ser utilizada no monitoramento de *E. lignosellus* em campo.

Termos para indexação: Composto feromonal, eletroantenografia, armadilhas.

Sex pheromone: promising technology for the management Lesser cornstalk borer (Lepidoptera: Pyralidae) in field

Abstract - This research aimed to identify the sex pheromone of *E. lignosellus* and evaluate their efficiency in field monitoring this pest. Initially it was held call bioassay, to verify the best time of extraction of the pheromone glands. After extraction of the glands, the pheromonal compounds were identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry. Subsequently, tests were conducted in electroantennography (EAG and DEA) to meet the biological activity of the antennae male identified compounds. Wind tunnel tests were performed and olfactometer to verify the responses of males pheromonal mixtures. The field experiment to test two synthetic mixtures of *E. lignosellus* sex pheromone was performed in a commercial area of soybeans in completely randomized design. Aiming to perform it, were used four treatments: 1 mixture, blend 2, virgin females and hexane. It was observed that the best time to extract the pheromone glands *E. lignosellus* is the 9th time of emergence. At this moment, five compounds of the sex pheromone of this species were identified: OH-II OH-II, Ac-I, II-Ac, Ac-III. The results show that DEA electroantennography by the antennae respond to electrophysiological compounds: Ab-I, Ab-II. EAG already demonstrated that the antennae responded significantly to the compounds: Ab-I, Ab-II, III Ac-OH-II. Through bioassays tunnel, 70% of males responded to synthetic mixture Ac-Ac-I and II. In olfactometry males responded significantly only in virgin females. In the field experiment, it was observed that the pheromonal mixture 2 significantly attracted a greater number of males compared to the other treatments. These results indicated that the pheromonal mixture 2 has the potential to be used in the monitoring of *E. lignosellus* field.

Index terms : pheromonal compound electroantennography traps.

Introdução

A *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) é uma praga polífaga, registrada em mais de 60 espécies vegetais, algumas de importância econômica, como a soja, milho, algodão, sorgo, arroz e cana-de-açúcar. No Brasil pode ser encontrada na maioria das regiões produtoras de grãos, apresentando maior frequência no cerrado brasileiro (Viana, 2004).

O comportamento biológico da *E. lignosellus* têm dificultado seu controle, pois durante o ataque ao hospedeiro, as lagartas ficam protegidas no interior da haste da planta alimentando-se dos tecidos, o que impossibilita contato com o produto. Essa característica tem obstruído seu monitoramento, pois muitas vezes as lagartas são percebidas apenas quando o dano econômico já ocorreu (Viana, 2004). Por essa razão, métodos alternativos estão sendo estudados para o desenvolvimento de um sistema seguro do manejo desta praga em campo, incluindo o uso do feromônio sexual.

O uso de armadilhas com feromônio, para a *E. lignosellus*, é uma tecnologia promissora no monitoramento de populações de adultos (Pires et al. 1992; Viana, 2011) permite estimar a densidade populacional e auxilia na tomada de decisão sobre o manejo desta praga (Baker, 1989).

Por ser específico o feromônio não é prejudicial ao ambiente e ainda contribui para a diminuição do uso de inseticidas por estimar o momento ideal em que a praga está ocorrendo na lavoura (Sosa-Gomez et al., 2001).

O feromônio sexual deste inseto foi isolado e identificado pela primeira vez em 1984 em Tifton, nos Estados Unidos. Foram identificados dez compostos presentes nas glândulas das fêmeas, sendo estes: acetato de tetradecila, (*Z*)-9-hexadecenila, acetato hexadecila, (*Z*)-7-tetradecenol (*Z*)-9-hexadecenol, (*Z*)-11-hexadecenol, acetato de (*Z*)-7-tetradecenila, acetato de (*Z*)-9-tetradecenila, acetato de (*Z*)-9-tetradecenol e acetato de (*Z*)-11-hexadecenila (Lynch et al. 1984).

A mistura destes quatro últimos compostos foi responsável pela atração de machos no campo em Tifton, Estados Unidos (Lynch et al., 1984). Assim esta mistura passou a ser utilizada no monitoramento da *E. lignosellus* no México (Funderburk et al. 1985) e na Flórida (Loera & Lynch, 1987).

Entretanto, quando testada no Brasil, a mistura não atraiu os machos desta espécie (Pires et al., 1992). A partir de então foram desenvolvidas pesquisas com duas populações de *E. lignosellus*, uma em Minas Gerais e outra em Goiás, os

estudos mostraram que a mistura feromonal das populações eram diferentes entre si e entre a população americana de *E. lignosellus*. Foram encontrados os seguintes compostos na população de Goiás: acetato de (*E*)-8-hexadecenila ou acetato de (*E*)-9-hexadecenila, acetato de (*Z*)-9-hexadecenila e acetato (*Z*)-11-hexadecenila e em Minas Gerais: acetato de hexadecenila, acetato (*E*)-8-hexadecenila ou (*E*)-9-hexadecenila, (*Z*)-9-tetradecenila e (*Z*)-11-hexadecenila (Jham et al., 2005, 2007).

Pelo exposto, ainda não se conhece uma mistura feromonal eficiente na atração dos machos em campo para populações brasileiras, desta forma, estudos que visem refinar e confirmar o feromônio sexual de *E. lignosellus* são necessários para desenvolver uma mistura feromonal sintética eficiente para uso comercial. Diante desse contexto, esta pesquisa propôs identificar o feromônio sexual da *E. lignosellus* e avaliar em campo a sua eficiência no monitoramento da praga.

Material e Métodos

Os trabalhos referentes à criação de *E. lignosellus*, bioensaios de chamamento e olfatométrica foram desenvolvidos no Centro de Pesquisa, Ensino e Desenvolvimento Agro-ambiental (CPEDA) no laboratório de Entomologia da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), *campus* de Tangará da Serra. A extração e identificação do feromônio foram realizadas no Laboratório de Semioquímicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CENARGEN/Brasília. O experimento de campo foi conduzido na Fazenda Chapada situada à margem da Rodovia MT 235, Km 32, no município de Campo Novo do Parecis, Estado de Mato Grosso, entre as coordenadas geográficas 13°47'28.62"LS e 57° 33'21.86"LO

Obtenção e Criação de *E. lignosellus*

Os ovos de *E. lignosellus* foram adquiridos de uma empresa especializada em criação de insetos, com origem da população inicial nas lavouras de soja do estado do Paraná.

Todas as fases da *E. lignosellus* foram mantidas em estufa do tipo BOD a $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa (UR) de $70\pm 10\%$. As lagartas, após a eclosão, eram mantidas por dez dias em um recipiente plástico de 145mL, contendo a dieta artificial, a base de feijão e vitaminas (Greene et al. 1976) e uma fina camada de vermiculita, previamente esterilizada em estufa a 120°C , por 30 min (Meneguim et al. 1997). Posteriormente, as lagartas foram individualizadas em copos plásticos de 50mL,

tampados com papel alumínio, contendo a mesma dieta e vermiculita, e permaneceram até atingirem a fase de pupa.

Neste estágio os insetos foram sexados com o auxílio de lupa, com base nas diferenças da porção final do abdômen (Stone, 1968). Em seguida, foram acondicionadas separadamente em recipientes plásticos revestidos com papel toalha até os adultos emergirem.

Após emergir, as mariposas foram colocadas em gaiola cilíndrica de PVC (10 cm x 20 cm), dois casais por gaiola, revestidas internamente com papel toalha como substrato de oviposição e a abertura superior fechada com tecido tipo *voil*, preso por um elástico e, na extremidade inferior, por uma placa de Petri, contendo papel filtro e um recipiente com algodão umedecido em solução de mel a 10% e o outro com água, os quais eram trocados três vezes por semana.

Os adultos destinados aos experimentos foram criados separadamente, por idade e sexo, em potes plásticos (17cm x 14cm diâmetro), contendo solução de mel a 10%, ciclo de fotoperíodo invertido (10L:14E) em estufa do tipo BOD com temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa (UR) de $70\pm 10\%$.

Bioensaio para avaliar o período de chamamento

A condução deste bioensaio foi adaptado a partir da metodologia já descrita na literatura (Pires et al. 1994). Foram separadas 104 fêmeas em estágio de pupa, e mantidas individualmente em copos plásticos transparentes, em ambiente a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa (UR) de $70\pm 10\%$ e fotoperíodo de 14L:10E, ciclo invertido. Desde emergência até a morte, as fêmeas foram observadas a cada 5 minutos, durante a escotofase, com o auxílio de uma lanterna coberta com 4 camadas de papel celofane vermelho.

O chamamento de *E. lignosellus* foi avaliado ao longo de seis dias e caracterizado pelas fêmeas que apresentavam abdômen curvado e ovipositor estendido. Se a fêmea estava chamando somente em uma observação considerou-se que a chamada durou 5 minutos. Entretanto, se a fêmea estivesse em posição de chamamento durante duas observações consecutivas anota-se que ela estava chamando por 10 minutos e assim sucessivamente. Foram avaliadas as seguintes variáveis: início, duração, pico do chamamento e a influência da idade das mariposas no chamamento.

Extração das glândulas e análise química

O abdômen das mariposas foi levemente pressionado, para excisão das glândulas, até a extrusão dos segmentos terminais onde localiza-se a glândula de feromônio. Após a excisão, as glândulas foram imersas em *vials* de 2mL contendo 500 μ L de hexano destilado para a extração dos compostos. Após 30 minutos, a suspensão foi filtrada em lã de vidro e empacotada em uma pipeta de Pasteur, para remoção dos resíduos sólidos. Cabe ressaltar que todos os extratos foram armazenados a -20 °C até o uso.

Para este procedimento foram utilizadas fêmeas virgens, em chamamento com idade de até 72 horas, e adquiridos 20 extratos contendo entre uma a cinco glândulas cada um.

Para quantificar os compostos feromonais, presentes nos extratos das glândulas das fêmeas, foram submetidos a análise por cromatografia gasosa acoplada a um detector de ionização de chamas (CG-FID) (Shimadzu - 17A, Tóquio, Japão) e injetado manualmente 2 μ L de cada amostra no modo *splitless*. A análise foi conduzida, utilizando o Hélio como gás de arraste, em uma coluna capilar apolar DBS-5MS (30m x diâmetro interno 0,25mm x espessura do filme 0,25 μ m, Agilent Technologies, USA).

O programa de temperatura utilizado foi de 50°C por 2 minutos com um aumento gradual de 5°C/min até 180°C (0.1 min), seguido de um segundo aumento gradual de 10°C/min até 250°C (20 min). A temperatura do detector foi de 270°C e do injetor de 250°C, a proporção entre os componentes foi calculada através das áreas dos picos obtidas no cromatograma.

Para a análise qualitativa dos compostos, os extratos selecionados foram explorados por cromatografia gasosa (Agilent 5975MSD) acoplada a um espectrômetro de massas, equipado com analisador quadrupolar (CG-MS) (5975MSD-Agilent, USA). Foram injetados manualmente 2 μ L de cada extrato em modo *splitless* usando o Hélio como gás de arraste. A ionização conduzida foi por impacto de elétrons (70 e V, temperatura da fonte de íons 150°C). O programa de temperatura e a coluna foram idênticos aos utilizados no CG-FID. O padrão de fragmentação dos compostos foi comparado aos dados da biblioteca do espectro de massas (NIST-Wiley-database, 2008) e aos espectros obtidos da análise de padrões autênticos, adquiridos da Beudokian (USA).

Para auxiliar a confirmação da identificação um extrato de glândulas, contendo todos os cinco compostos, foi injetado em uma coluna polar, DB-WAX (30 cm x diâmetro interno 0,25 mm x espessura do filme 0,25 µm, Agilent Technologies), usando o mesmo programa de temperatura descrito acima.

O índice de retenção dos compostos foi calculado na coluna polar e apolar para a confirmação final do padrão de fragmentação e os índices de retenção nas duas colunas foram comparados aos dos padrões sintéticos e conduzidos a co-injecção do extrato com uma mistura sintética contendo os padrões.

Para o cálculo do índice de retenção foi usada a fórmula para programa de temperatura: $Ki = 100n + 100 (N-n) \left(\frac{trx - trz}{Tr(Z+1) - Trz} \right)$ (Xavier 2010). Foi utilizada uma mistura de padrões de alcanos (C9 a C26) para o cálculo do índice de retenção, sendo 1 µL da solução injetado no CG-FID nas mesmas condições cromatográficas descritas anteriormente.

Eletoantenografia (EAG) e eletroantenografia acoplada à cromatografia gasosa (CG-DEA)

Estudos de EAG foram conduzidos com as antenas de machos, para auxiliar a identificação de quais compostos presentes no extrato da glândula da *E. lignosellus* poderiam ter efeito feromonal. As antenas dos insetos foram usadas com biossensor para a detecção dos compostos eletrofisiologicamente ativos. A secção das antenas dos machos foi efetuada na região do escapo, sendo a extremidade basal colocada em contato com o eletrodo de referência, e a apical, onde se concentram o maior número de sensilas, no eletrodo de trabalho. O contato elétrico foi feito usando gel condutor (Spectra 360, Parker®). O eletrodo é conectado a um amplificador e a um conversor AC/DC (IDAC II da Syntech (Holanda)).

Para avaliar o efeito dos compostos na resposta da antena, “puffs” contendo os compostos foram gerados usando soluções sintéticas, dos cinco compostos OH-I, Ac-I, OH-II, Ac-III e Ac-III nas concentrações de: 0,007mg/mL; 0,07mg/mL; 1,3mg/mL diluídos em n-hexano, sendo este o controle. Uma alíquota de 5 µL, da solução testada, foi adicionada em um pedaço de papel filtro (2,0 x 0,5 cm), esperou-se um minuto para a evaporação do solvente e posteriormente o papel filtro foi inserido em uma pipeta Pasteur. A pipeta era conectada ao sistema gerador de pulsos (Stimulus Controller, Type CS-55, Syntech), programado para gerar um “puff” a 5 mL/min, durante 0,3s. Uma antena recebeu todos os compostos nas diferentes concentrações

e o tratamento controle, dessa forma a mesma solução era testada sequencialmente três vezes e depois passava para a próxima solução. Um novo “puff” só era iniciado após a despolarização da antena.

Na eletroantenografia por CG-DEA foram utilizados os mesmos procedimentos descritos no item EAG para a montagem da antena no eletrodo. Mas desta vez um fluxo de ar umificado é mantido continuamente sobre o eletrodo com a antena, para evitar a rápida desidratação.

Na detecção por GC-EAD o eletrodo é posicionado na saída do fluxo do GC-EAD e o “puff” que antena irá receber virá do fluxo da análise cromatográfica. Para a análise foi injetado 2 μ L de uma amostra de glândula, esta percorre toda extensão da coluna cromatográfica, ao fim o fluxo que sai da coluna é dividido, uma parte vai para o DIC, conseqüentemente traçando o cromatograma, e a outra parte vai para o EAD, para a resposta da antena. Em função de ambas serem simultâneas, é possível saber se o composto registrado pelo DIC é ou não eletrofisiologicamente ativo na antena do inseto.

Bioensaios em túnel de vento com fêmeas virgens e misturas sintéticas

Este bioensaio foi conduzido para avaliar a resposta de machos às fêmeas em chamamento e às soluções preparadas com padrões sintéticos. Para isso, utilizou-se um túnel de vento que possui 1,0m de comprimento e 15,0 centímetros de diâmetro. A corrente de ar ajustada para 0,22m/s, gerada por uma ventoinha ligada a uma fonte de computador. O macho foi colocado na extremidade final do túnel, contra a corrente de ar e na outra extremidade foram colocados os estímulos.

Foram utilizados seis tratamentos e dez repetições, sendo o tratamento 1: cinco fêmeas virgens com idade de até 72 horas, colocadas em uma gaiola cilíndrica de arame (15,0cm de comprimento e 5,0cm de diâmetro); o tratamento 2, denominado de mistura 1 composta por: OH-I, Ac-I, Ac-II, OH-II e Ac-III; o tratamento 3, mistura 2 composta por: OH-I, Ac-I, Ac-II, OH-II; o tratamento 4, mistura 3 composta por: Ac-I, OH-II e Ac-III; o tratamento 5, mistura 4 composta por: OH-II, Ac-III; o tratamento 6, gaiolas vazias como controle. Uma alíquota de 5 μ L de cada mistura foi colocada em um papel filtro (2,0 x 0,5cm) e este depositado dentro da gaiola como fonte de odor.

Os insetos que responderam ao estímulo foram considerados aqueles que chegavam até a fonte de odor e os que não emitiram nenhum comportamento foram denominados sem resposta. O comportamento do inseto e o tempo de chegada à

gaiola foram observados durante 10 minutos para cada indivíduo testado. Foram avaliadas as seguintes variáveis: chegada a fonte de odor, excitação do inseto, isto é, vibração das antenas, a exposição da genitália e a chegada à fonte do feromônio.

Olfatometria

Nestes bioensaios foram avaliadas as respostas comportamentais de machos virgens, com até 72h de idade, a soluções sintéticas preparadas de acordo com os compostos identificados na glândula abdominal das fêmeas virgens e das fêmeas virgens em chamamento. Os testes foram conduzidos em sala climatizada ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $60 \pm 10\%$ UR) na escotofase (14L:10E), com auxílio de uma luz vermelha (26W). Antes do início dos experimentos, os insetos foram aclimatados por 40 minutos na sala de testes. Foram realizadas de 12 a 20 repetições para cada tratamento e cada inseto observado por 10 minutos.

Os bioensaios foram realizados em olfatômetro de dupla escolha, do tipo Y de vidro com diâmetro de 2,5cm, arena inicial de 13cm bifurcada em dois braços laterais de 12 cm cada. O fluxo de ar, previamente filtrado em carvão ativo e umidificado através de um borbulhador contendo água destilada, foi conduzido para dentro do sistema com auxílio de uma bomba de aquário a uma taxa de 1,0 L/min para cada braço do olfatômetro.

Após a aclimatação, os insetos foram liberados individualmente na extremidade do braço principal do olfatômetro e submetidos à escolha, posicionados na extremidade de cada braço entre os dois tratamentos. Foram utilizados 10 μL dos seguintes tratamentos, T1- denominado de mistura 1: OH-I, Ac-I, Ac-II, OH-II e Ac-III (0,02; 0,012; 0,1; 1,0; 0,2 mg/mL respectivamente); T2, mistura 2: OH-I, Ac-I, Ac-II, OH-II (0,02, 0; 0,12, 0,1, 1 mg/mL respectivamente); T3- mistura 3: Ac-I, AC-II e OH-II (0,012; 0,1; 1 mg/mL respectivamente); T4- mistura 4: Ac-I, OH-II (0,012; 1 mg/mL respectivamente); T5- mistura 5: OH-I, Ac-II, (0,02; 0,1 mg/mL); T6- mistura 6: Ac-I e OH-II (1; 1 mg/mL respectivamente) e T7- mistura 7: Ac-I e OH-II (0,1; 1 mg/mL). Os quais foram pipetados em papel filtro, previamente esterilizado e posicionado em uma das extremidades do olfatômetro, e na outra havia o mesmo volume de solvente (hexano).

A cada duas repetições o odor foi renovado e a cada seis, o olfatômetro foi lavado com sabão neutro, água destilada, álcool 70% e esterilizado em estufa de

esterilização a 80°C. Após este procedimento, os tratamentos foram trocados de posição.

Alternadamente foram efetuados os bioensaios de fêmeas virgens com idade de até 48h. Nestes bioensaios o protocolo experimental foi semelhante ao descrito para as misturas sintéticas. As fêmeas foram colocadas em seringa plástica (transparente, com 11cm de comprimento e 2,5cm de diâmetro) acoplada às entradas de ar do olfatômetro. As mariposas eram colocadas uma hora antes de começar os bioensaios para a ambientação ao espaço e como controle foi utilizado uma seringa plástica vazia.

Para análise considerou-se a permanência dos insetos no braço do olfatômetro. Os insetos que permaneceram somente na área central deste ou por menos de 30 segundos nos braços foram considerados não responsivos e, portanto, desconsiderados na análise estatística.

A variável mensurada foi denominada “escolha inicial”, ou seja, o primeiro braço do olfatômetro por onde o inseto entra, em mais da metade do seu comprimento, e permanece por mais de 30 segundos (Lopes et al., 2012). Após o tempo previsto de 10 minutos foi registrado como não escolha quando os insetos não apresentaram decisão para os braços do olfatômetro. Os insetos que permaneceram somente na área central deste ou por menos de 30 segundos nos braços foram considerados não responsivos e, portanto, desconsiderados na análise estatística.

Avaliação de campo

Neste experimento avaliou-se a atratividade de duas formulações sintéticas do feromônio sexual da *E. lignosellus*, preparadas e impregnadas em septos de borracha na Embrapa-Cenargen, em Brasília/DF.

O experimento foi conduzido em delineamento totalmente aleatorizado, durante o período de novembro a dezembro de 2014, em cultivar convencional de soja TMG 4182 de ciclo precoce. As armadilhas foram instaladas no estádio V2 e permaneceram na área até completarem um mês. Foram utilizados 4 tratamentos e 5 repetições, sendo estes: T1 (Mistura 1) e T2 (Mistura 2) constituído por compostos comuns a outras espécies de lepidópteros, T3 com fêmeas virgens com idade até 48h (5 fêmeas por armadilha) e T4 com hexano como controle.

Para a captura dos insetos, foram utilizadas armadilhas Delta, de cor branca, formato triangular medindo 15x10x28cm, obtidas comercialmente da Isca tecnologia®.

As armadilhas foram dispostas a 100m da bordadura, distanciadas uma da outra a 50m. Inicialmente estas foram instaladas a 0,5m do solo e regulada conforme o desenvolvimento fenológico da cultura. As avaliações eram feitas uma a duas vezes por semana, os tapetes trocados e as armadilhas redistribuídas na área.

Análise estatística

As respostas das antenas dos machos em eletroantenografia (EAG) foram analisados através do teste de *Kruskal-Wallis* a 5% e os dados obtidos no experimento de campo, foram submetidos a análise de variância, análise de *deviance* e do modelo linear generalizado (MLG), ajustado para a distribuição de erros de *Poisson*, usando o pacote 'agricolae' no R-CoreTeam (2014).

Resultados e Discussão

Bioensaio de Chamamento

O pico de chamamento das fêmeas de *E. lignosellus* ocorreu na 9^a hora da noite (84,82% de fêmeas chamando), mas há uma faixa entre a 7 a 12^o hora da noite, caracterizado pelo maior número de mariposas em atividade de chamamento. Esta faixa de horário poderia ser usada como o melhor período para extração das glândulas de feromônio.

Observou-se que o número de fêmeas em chamamento aumentou com o passar da escotofase, até atingir a 9^a hora, a partir de então houve uma redução gradativa até o final da noite. No entanto, na 14^a hora da noite, 41,96% das fêmeas ainda continuavam chamando.

Resultados próximos ao encontrados em nossa pesquisa foram observados para *Ectomyeloides ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae), cuja maior atividade de chamamento ocorreu na 8^a hora da noite, com 76,8% em chamamento (Soufbaf et al., 2013).

As fêmeas de *E. lignosellus*, durante o período de chamamento, permaneciam com o abdômen curvado para cima das asas e do resto do corpo, num ângulo aproximadamente de 90^o, protraindo os segmentos finais do abdômen, em que encontram-se as glândulas de feromônio sexual. Essa posição também foi relatada em estudos com uma população de *E. lignosellus* proveniente estado de Minas Gerais (Pires et al., 1994), sendo comum também para outros insetos da família Pyralidae (Soufbaf et al, 2013), Phycitidae (Nascimento, 2013) e Noctuidae (Lima, 1998).

Durante as seis noites observadas, constatou-se que o início do chamamento ocorreu entre a 2ª e a 5ª hora da escotofase, se estendendo até o final da noite.

Estudos anteriores, realizados com população de *E. lignosellus* de Minas Gerais, mostraram resultados diferentes dos encontrados nessa pesquisa, com a atividade de chamamento iniciando após a 5ª hora de escuro em todas as noites observadas (Pires et al., 1994).

Pode-se constatar um maior percentual de chamamento em fêmeas mais velhas, 98% das mariposas, na faixa de 48-72 e 96-120 horas, estavam chamando, entretanto esse percentual foi menor, em fêmeas de 0-24 horas, 51%. Encontram-se resultados semelhantes para a espécie *Zamiragiria dixolophella* (Lepidoptera: Pyralidae), com 100% de fêmeas em chamamento na idade de 48-72 horas (Gómez & Rojas, 2006).

Identificação dos compostos feromonais de *E. lignosellus*

A partir das análises cromatográficas foram detectados cinco compostos feromonais presentes nas glândulas abdominais de fêmeas *E. lignosellus* (Figura 1), destes, três compostos são acetatos, dois com uma única insaturação, cadeia linear com 14 ou 16 carbonos, um acetato sem insaturação e os outros dois compostos são álcoois.

Para auxiliar na identificação foi feita a comparação de uma amostra do extrato hexânico da glândula com os padrões autênticos OH-I, Ac-I, OH-II, Ac-II, Ac-III, observando um tempo de retenção semelhante entre as substâncias analisadas (Figura 2).

Através das análises, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), foi possível conhecer a estrutura química dos cinco compostos do feromônio da *E. lignosellus*. A confirmação destes compostos foi feita através da co-injeção de uma amostra do extrato hexânico da glândula com os padrões OH-I, Ac-I, OH-II, Ac-II, Ac-III.

O feromônio sexual identificado neste trabalho, apresenta uma mistura diferente dos que foram identificados na população de Tifton (Lynch et al., 1984), e nas populações de Minas Gerais e Goiás (Jham et al. 2005, 2007).

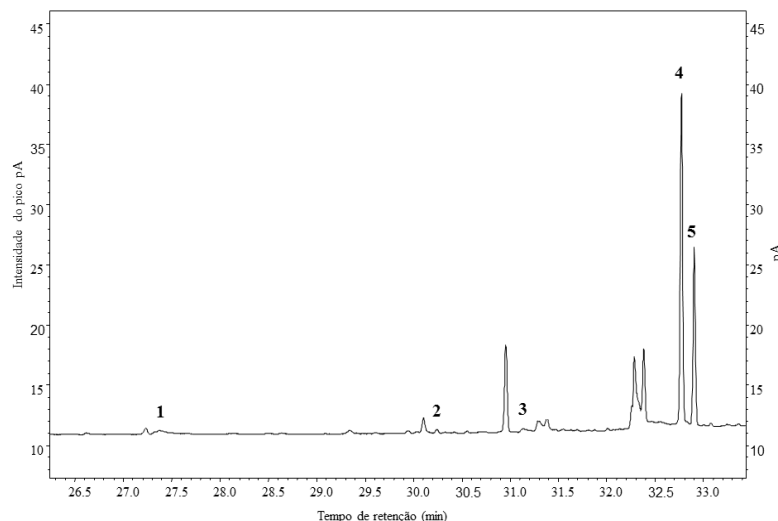


Figura 1. Cromatograma em coluna apolar DB-5MS do extrato de uma glândula de fêmea de *E. lignosellus*. Os números indicam os compostos identificados por 1) OH-I, 2) Ac-I, 3) OH-II, 4) Ac-II, 5) Ac-III.

Assim verifica-se que há uma variação na constituição do feromônio da *E. lignosellus*, pois as populações deste inseto, em diferentes regiões, apresentam uma constituição feromonal diversificada e essas diferenças encontradas na composição do feromônio do inseto podem ser um indício de diferentes sub-espécies (Jham et al. 2005; Pires et al., 1992).

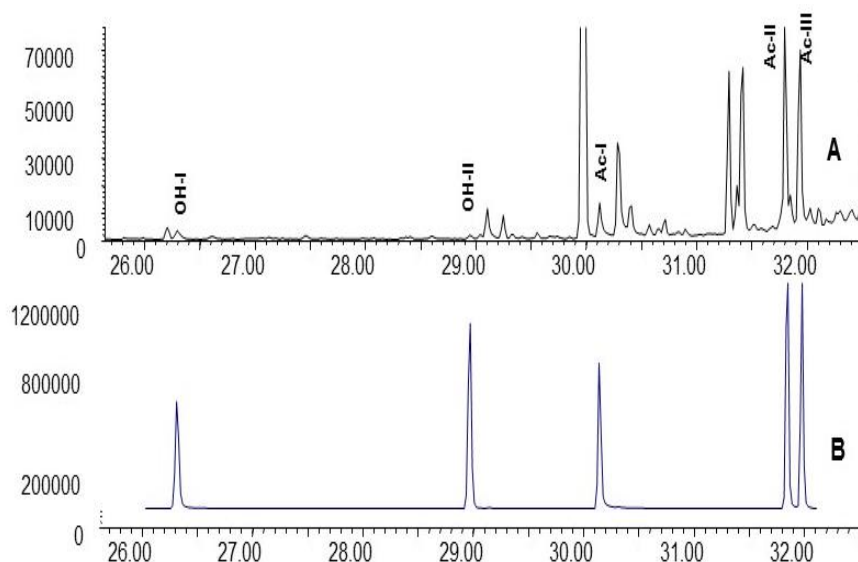


Figura 2. Perfil cromatográfico do extrato de glândulas de fêmeas de *E. lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) (A), e dos padrões sintéticos (B).

Na composição identificada neste trabalho, três dos componentes são novos, para a população brasileira de *E. lignosellus*, representando, portanto, um avanço para os estudos com feromônio desta espécie local.

A análise dos extratos combinados com 21 glândulas de *E. lignosellus*, feitas por cromatografia gasosa, permitiu a elaboração do cálculo da área do pico, que indicou a seguinte composição do feromônio: 5,56% de OH-I, 0,031% de Ac-I, 0,098% de OH-II, 68,36% de Ac-II e 25,05% de Ac-III.

Eletroantenografia

Utilizando a técnica eletroantenografia (CG-DEA) foi possível verificar atividade biológica para dois acetatos o Ac-I e o Ac-II na antena do macho (Figura 3 A). Quando foi testado o extrato da glândula de fêmeas, a antena respondeu somente para o Ac-II (Figura 3 B), a falta de resposta ao Ac-I provavelmente é devido a baixa quantidade que chegou na antena e não foi suficiente para induzir a resposta eletrofisiológica. Uma vez que há divisão do fluxo dentro do equipamento, e o Ac-I é o composto produzido pela mariposa em menor quantidade, corresponde a somente 0.03% da mistura feromonal.

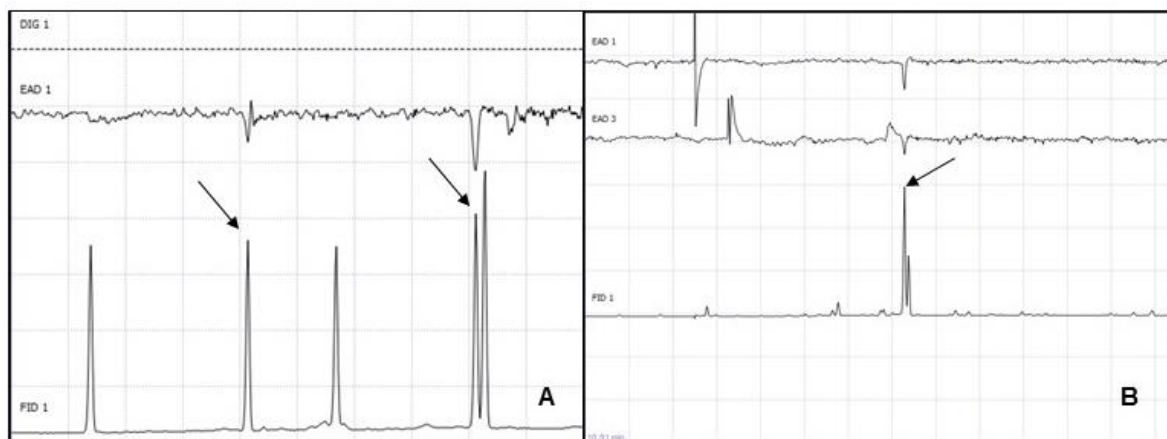


Figura 3. Cromatograma e resposta de EAD da antena de *E. lignosellus* (A) (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae), resposta da antena de machos à solução dos padrões autênticos com detecção simultânea por DIC (inferior) e DEA (superior) utilizando uma antena de macho (B). Resposta da antena de machos ao extrato de fêmeas.

Os resultados dos estudos de EAD, usando concentrações bem maiores de compostos, mostraram que a antena de *E. lignosellus* tem receptor para quatro dos cinco compostos identificados. Para os compostos Ac-I, Ac-II, Ac-III e OH-II observou-se diferença estatística na resposta eletrofisiológica das antenas de machos e para as soluções sintéticas dos compostos nas concentrações 0,007mg/mL (Figura 4A),

0,07mg/mL (Figura 4B) e 1,3mg/mL (Figura 4C) quando comparado à resposta ao solvente n-hexano.

As antenas não responderam ao Ac-II na concentração de 0,007mg/mL (Figura 4A) a mais baixa testada. A resposta foi diferente apenas do controle nas concentrações 0,07mg/mL (Figura 4B), 1,3mg/mL (Figura 4C). Como foi usado uma alíquota de 5 μ L destas soluções, as quantidades testadas foram de 35ng, 350ng e 6500ng de cada composto. Os resultados demonstram que a resposta da antena de *E. lignosellus* é dose dependente, e que o composto Ac-II, o majoritário na mistura feromonal, induz a resposta da antena somente em doses maiores. Sendo assim, para posteriores testes comportamentais deve-se preparar uma formulação contendo o Ac-II em uma concentração superior a 0,007 mg/mL, para que os machos possam responder, ou próxima do que é liberado pelas fêmeas.

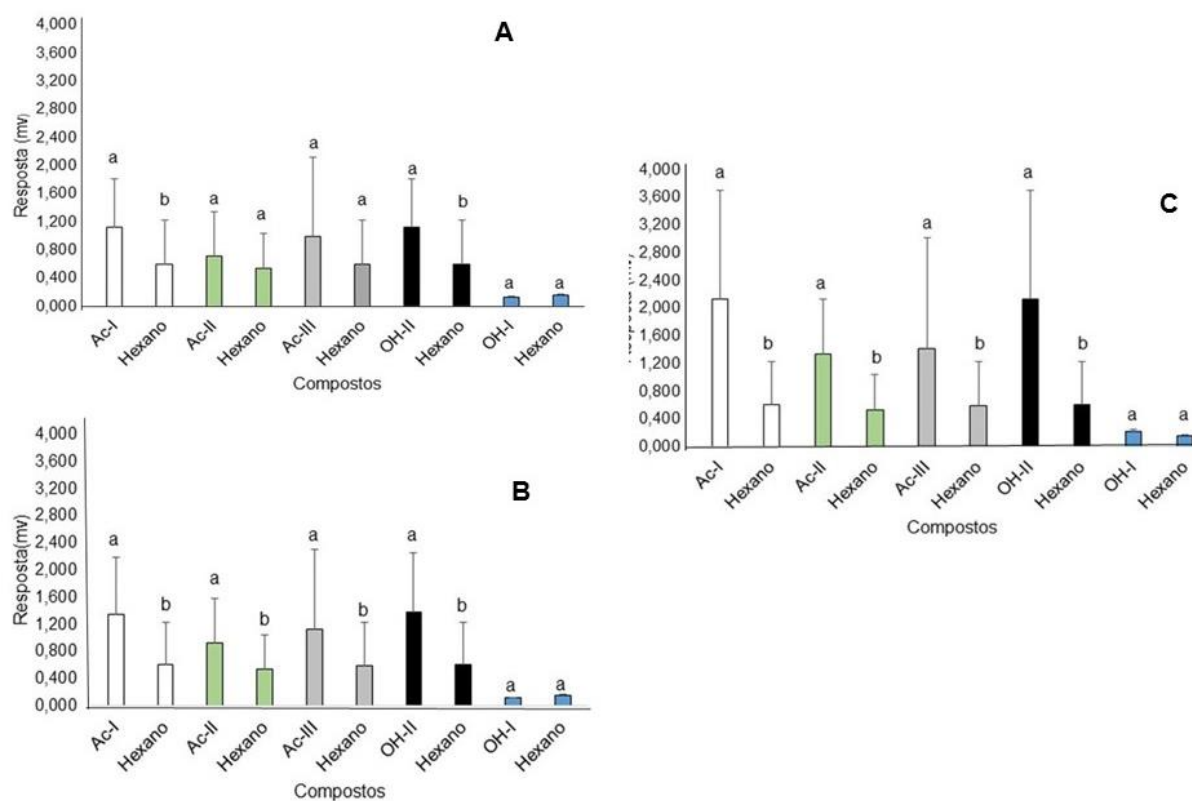


Figura 4. Média das respostas (\pm desvio padrão) das antenas de machos *E. lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) a soluções 0,007 mg/mL (A), 0,07 mg/mL (B) e 0,7 mg/mL (C) e dos padrões sintéticos. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas da mesma cor não são diferentes estatisticamente ($p > 0,05$) segundo o Teste *Kruskal-Wallis* a 5%.

A resposta das antenas ao composto OH-I foi igual ao Hexano em todas as concentrações, podendo não ser um composto importante para atrair os machos de *E. lignosellus*.

As respostas eletrofisiológicas sugerem que os compostos sintéticos Ac-I, Ac-II, Ac-III e OH-II do feromônio sexual de *E. lignosellus* podem ter potencial para atração de machos em campo.

Túnel de vento

Nestes bioensaios foram observados que 70% dos machos testados responderam para a mistura 4 contendo o Ac-I e o Ac-II (1.30: 0.28). Para a mistura 1, 2 e 3 houve uma resposta de apenas 30% dos machos testados para cada tratamento. Já para as fêmeas virgens em chamamento, 100% dos machos testados responderam a essa fonte de estímulo

Os resultados dos bioensaios corroboram os resultados obtidos no EAD, onde as antenas responderam para os mesmos acetatos, mostrando que estes compostos podem ser essenciais para atração dos machos. O AC-III provavelmente é desnecessário, pois quando testado em uma mistura com os compostos AC-I e AC-II, os machos não responderam, e também não responderam para a mistura total. O que indica que há uma resposta eletrofisiológica, mas não uma resposta comportamental para estes compostos. Novos bioensaios, usando outras combinações dos acetatos Ac-I e Ac-II com os álcoois, serão conduzidos para avaliar a importância dos álcoois na atração dos machos. Uma mistura que contemple o Ac-I, Ac-II e OH-II pois para este último obteve uma boa resposta eletrofisiológica das antenas no EAG.

Bioensaios em olfatômetro

Os resultados obtidos nos bioensaios em olfatômetro indicaram que os machos de *E. lignosellus*, não emitiram respostas significativas para as misturas sintéticas e que estes responderam preferencialmente aos odores liberados pelas fêmeas virgens em chamamento ($X^2 = 21,16$, $df = 1$, $p < 0.001$) (Figura 5), caracterizando que estavam liberando o feromônio sexual na concentração e proporção adequada para atrair os machos para o acasalamento.

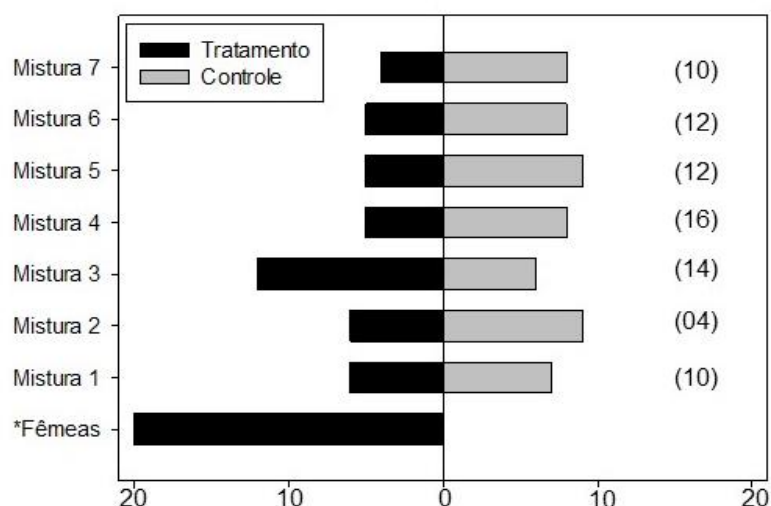


Figura 5. Resposta da primeira escolha de machos de *E. lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) a fêmeas virgens em chamamento e a misturas. Asterisco indica diferenças significativa entre os tratamentos pelo teste de Qui-quadrado (χ^2), onde * $0,05 > p$. Número entre parênteses representam os bioensaios com insetos que não responderam aos estímulos odoríferos.

Nesses bioensaios não se obteve resposta nem para a mistura 4, 6 e 7 que contém os dois acetatos, Ac-I e AC-II, que atraíram os machos quando testados no túnel de vento. Nos bioensaios em túnel de vento essa solução foi testada na concentração 0.28:1.30mg/mL. Nos bioensaios e olfatométrie foram testadas três diferentes concentrações 0.01:1.0mg/mL, 0.1:1.0mg/mL e 1.0:1.0mg/mL, assim podemos sugerir que os machos não responderam a esses compostos nos bioensaios em olfátômetro em razão das diferentes proporções usadas.

Tanto os resultados de olfatométrie como os de túnel de vento mostraram que os machos respondem para as fêmeas em chamamento, demonstrando que as fêmeas estavam sadias e liberando feromônio. A falta de resposta para as misturas sintéticas nos bioensaios comportamentais, provavelmente deve-se que a composição testada nestas soluções não estava correta para a atração de machos, e não representa o que o inseto estava liberando.

Assim, novas composições e análises poderão ser conduzidas para refinar melhor a mistura feromonal identificada até o momento.

Armadilhas de feromônio em campo

Os tratamentos atraíram diferentemente os machos de *E. lignosellus* (ANODEV, $\chi^2 = 21.623$; $P < 0.001$). A análise de contraste mostrou que os machos

foram capturados em maior número no tratamento contendo a mistura feromonal 2, se comparado com o controle n-hexano ($t = 4,22$; $df = 96$; $P < 0.001$) e com a mistura feromonal 1 ($t = 2,59$; $df = 96$; $P = 0.01$). Não houve diferença estatística entre o número de machos de *E. lignosellus* capturados nas armadilhas com fêmeas virgens comparado com a mistura feromonal 2 ($t = 1,70$; $df = 96$; $P = 0.09$) e com a armadilha contendo a mistura 1 ($t = 0.93$; $df = 96$; $P = 0.34$) (Figura 6).

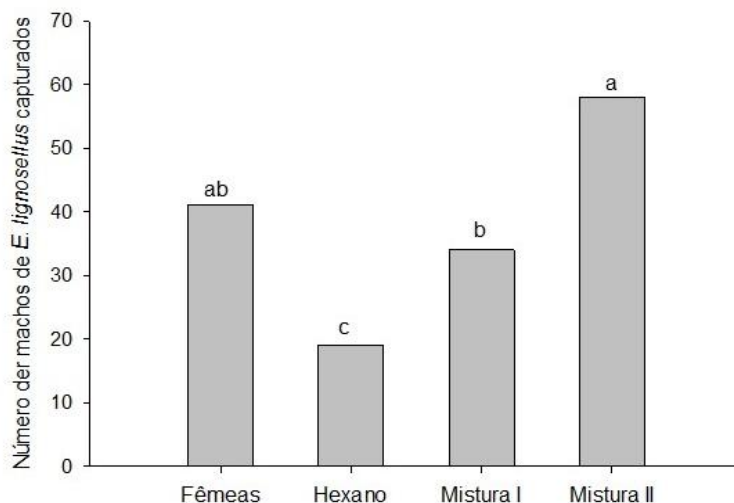


Figura 6. Número de machos de *E. lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) capturados em armadilhas iscadas contendo diferentes fontes de odor, em que Mistura 1 e Mistura 2 são constituídas de acetatos comuns em lepidópteros.

Uma mistura feromonal, com compostos e proporções diferentes da encontrada neste estudo, foi proposta para a população de Tifton para a captura de machos de *E. lignosellus*. Para isso foi feita a combinação dos compostos (Z)-9 tetradecenila, (Z)-7 tetradecenila, (Z)-9 tetradecenol e (Z)-11 hexadecenila, passou a ser utilizada no México e na Flórida para o monitoramento desta espécie. Porém, quando testada em campo no Brasil, esta formulação não foi eficiente para atração de machos (Pires et al., 1994).

No Brasil ainda é desconhecida uma mistura feromonal eficiente na atração de machos em campo. Desta forma, esta pesquisa representa um avanço em estudos com o feromônio sexual de *E. lignosellus*, pois foi a primeira que encontrou uma formulação que tem potencial para a captura de machos. Este resultado demonstra que os compostos da mistura 2 estão em proporção e quantidade corretas para a atração de machos, podendo ser produzida comercialmente e utilizada em programas de manejo da *E. lignosellus*.

Conclusão

Diante dos resultados obtidos nessa pesquisa foi constatado que uma mistura feromonal (2) tem potencial para atrair machos de *E. lignosellus* em campo, e pode ser utilizada em programas de manejo desta praga.

Referências

- BAKER, T. C. Sex pheromone communication in the Lepidoptera: New research progress. **Experientia**, v.45, p. 248-262, 1989.
- CERUTI, F. C. Interações entre feromônios de insetos e semioquímicos de plantas. **Rev. Acad.** v. 5, p. 73-82, 2007
- FUNDERBURK, J.E.; HERZOG, D.C.; MACK, T.P.; LYNCH, R.E. Sampling lesser cornstalk borer (Lepidoptera: Pyralidae) adults in several crops with reference to adult dispersion patterns. **Environmental Entomology**, v. 14, p.453-458, 1985.
- GÓMEZ, V. R.; ROJAS, J. Calling Behavior of *Zamagiria dixolophella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Florida Entomologist**, v.89, 2006.
- GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 69, p. 487-488, 1976.
- JHAM, G. N.; SILVA, A. A.; LIMA, E. R.; VIANA, P. A. Identification (GC and GC-MS) of unsaturated acetates in *Elasmopalpus lignosellus* and their biological activity (GC-EAD and EAG). **J. Sep. Sci.**, v. 28, p.281–285, 2005,
- JHAM, G. N.; SILVA, A. A.; LIMA, E. R.; VIANA, P. A. Identification of acetates in *Elasmopalpus lignosellus* pheromone glands using a newly created mass spectral and Kávats retention índices. **Química Nova**, v.30, n. 4, p.916-919, 2007.
- LIMA, E. R.; VILELA, E F.; SANCHEZ, G. R. Avaliação do Comportamento Reprodutivo e do Feromônio Sexual Sintético de *Mocis latipes* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais Sociedade Entomológica Brasil**, v. 27, p.9-20 , 1998.
- LOPES, A. P. S.; DINIZ, I. R.; Moraes, M. C. B.; Borges, M.; Laumann, R. A. Defesas induzidas por herbivoria e interações específicas no sistema tritrófico soja-percevejos-parasitoides de ovos **Pesquisa agropecuária Brasileira**, v. 47, p.875-878, 2012.
- LOERA, J.; LYNCH, R.E. Evaluation rofheromonetraps for monitoring lesser cornstalk boreradults in beans. **South western Entomologist**, v.12, p.51-56, 1987.
- LYNCH, R. E.; KLUN, J. A.; LEONHARDT, B. A.; SCHWARL, M.; GARNER, J. W. Female sex pheromone of the lesser cornstalk borer, *Elasmopalpus lignosellus*. **Environ. Entomol.**, v.13, p.121-126, 1984.
- MENEGUIM, A. M.; PARRA, J. R. P.; HADDAD, M.; Comparação de Dietas Artificiais, Contendo Diferentes Fontes de Ácidos Graxos, para Criação de *Elasmopalpus*

lignosellus (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). **Anais Sociedade Entomológica Brasil**, v. 26, p-35-43, 1997.

NASCIMENTO, E. S. Comportamento de chamamento e evidência de feromônio sexual em *Atheloca subrufella* (Hulst) (Lepidoptera:Phycitidae). 2013. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Sergipe.

PIRES, C. S. S.; VILELA, E. F.; VIANA, P. A. Comportamento de fêmeas de *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) associado à liberação de feromônio sexual. **Anais Sociedade Entomológica Brasil** . v.23, p.1-12, 1994.

PIRES, C.S.S.; VILELA, E.F.; VIANA, P.A.; FERREIRA, J.T.B. Avaliação no campo do feromônio sexual sintético de, *Elasmopalpus lignosellus* (Lepidoptera: Pyralidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.21, p. 59-68, 1992.

R CORE TEAM (2014). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 12 de agosto de 2014.

SOUFBAF, M.; GHANBALANI, G. N.; GOLDANSAZ, H.; ASGHARI-ZAKARI, R. Calling behavior of the female carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) under cycling and constant temperatures in laboratory. **J. Crop Prot.**,v. 2, p. 219-228, 2013.

SOUZA, R. M. **Sinais envolvidos na comunicação de *amerrhinus ynca* Sahlberg, 1823 (coleoptera: curculionidae)**. 2006. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes. 2006.

SOSA-GOMEZ, D. R.; CORSO, I. C.; MORALES, L. Insecticide Resistance to Endosulfan, Monocrotophos and Metamidophos in the Neotropical Brown Stink Bug, *Euschistus heros* (F.). **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 317-320, 2001.

STONE, K. J. **Reproductive biology of the Lesser Cornstalk Borer, *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller) (Lepidoptera:Phycitidae)**. 1968. Dissertação (Doutor em filosofia) - Universidade da Flórida.

VIANA, P. A.; MENDES, S. M. **Lagarta-Elasmo**. In: VIANA, P. A. Principais Pragas Subterrâneas do Milho No Brasil. Embrapa 2011, Sete Lagoas, documentos 129 63p.

VIANA, P. A. Lagarta-elasmo. In: SALVADORI, J. R., ÁVILA, C. J., SILVA, M. T. B. **Pragas de solo no Brasil**. Passo Fundo: Embrapa Trigo; Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz Alta: Fundacep Fecotrigo, 2004. p. 379-408.

XAVIER, L. M. S.; **Ecologia química de *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller): Comunicação química durante o comportamento reprodutivo e interação trófica envolvendo milho e o parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley**. 2010. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos com novas tecnologias para o manejo de pragas vêm sendo realizados no intuito de buscar uma agricultura sustentável. Os resultados obtidos neste trabalho permite constatar que o uso de modelos de graus-dia para estimar o número de gerações é uma ferramenta que pode ser utilizada em programas de monitoramento da *E. lignosellus*, uma vez que na simulação constatou-se que o aumento da temperatura do ar terá um impacto positivo no desenvolvimento dessa lagarta, portanto serve de alerta aos produtores de soja no município de Sinop, Diamantino e Rondonópolis. O feromônio sexual é uma tecnologia promissora para o controle desta espécie, uma vez que no experimento em Campo Novo do Parecis-MT, houve a maior captura de machos em uma mistura feromonal sintética quando comparado com fêmeas virgens. Portanto essas tecnologias atendem aos propósitos de uma agricultura mais sustentável.