

**COMPORTAMENTO E COMUNICAÇÃO QUÍMICA DA BROCA-DA-  
MANGUEIRA (*Hypocryphalus mangiferae* Stebb 1914)  
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE - SCOLYTINAE)**

**CAROLINA ROCHA DA SILVA**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE - UENF**

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
Julho - 2006

**COMPORTAMENTO E COMUNICAÇÃO QUÍMICA DA BROCA-DA-  
MANGUEIRA (*Hypocryphalus mangiferae* Stebb 1914)  
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE - SCOLYTINAE)**

**CAROLINA ROCHA DA SILVA**

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutor em Produção Vegetal”.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. D.Sc. Ana Maria Matoso Viana-Bailez

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
Julho-2006

**COMPORTAMENTO E COMUNICAÇÃO QUÍMICA DA BROCA-DA-MANGUEIRA (*Hypocryphalus mangiferae* Stebb 1914)  
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE - SCOLYTINAE)**

**CAROLINA ROCHA DA SILVA**

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal”.

Aprovada em 20 de julho de 2006

Comissão Examinadora:

---

Prof. Omar Eduardo Bailez (D.Sc., Biologia do Comportamento)-UENF

---

Prof. Silvaldo Felipe da Silveira (D.Sc., Fitopatologia)-UENF

---

José Milton Milagres Pereira (D.Sc., Entomologia)-UFV

---

Prof<sup>a</sup>. Ana Maria Matoso Viana Bailez (D.Sc., Biologia do Comportamento)-UENF  
(Orientadora)

“Ao meu pai, Hélio Augusto da Silva, a minha mãe Maria Rocha da Silva, por seus ensinamentos e pelo amor incondicional; e a minha irmã Camila Rocha da Silva, pela amizade e incentivo; dedico”.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus

A FAPERJ-UENF pela concessão da bolsa de estudo, sem ela não seria possível a realização desse projeto.

A Prof<sup>a</sup>. Ana Maria Matoso Viana-Bailez, pela sábia orientação, e acima de tudo pela amizade no decorrer desses anos compartilhados.

Ao Prof. Omar Eduardo Bailez, pelo aconselhamento constante durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Silvaldo Felipe da Silveira, pelas valiosas sugestões e amizade no decorrer do curso.

Ao Prof. José Oscar Gomes de Lima, pela participação na defesa do Projeto.

Ao Prof. Gilberto Soares Albuquerque, pela participação na prova de Qualificação.

Ao Prof. Paulo Miranda, pela ajuda e sugestões na parte química do trabalho.

Aos demais professores do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF) que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação.

Ao Prof. Carlos Alberto Hector Flechtmann pela identificação do inseto.

Ao Prof. Norivaldo dos Anjos, pelos seus eternos ensinamentos, sua amizade e incentivo sempre.

Ao Prof. José Eduardo Serrão, pela sua disponibilidade sempre quando necessária e amizade.

A técnica Arli de Fátima, pela ajuda e pelos momentos de descontração.

Ao técnico Alexandre Almeida, pelas incansáveis viagens a São Fidélis.

Aos técnicos Vicente e Denise, pelas experiências trocadas, mas na maioria das vezes cedidas.

A secretária Rita e ao motorista Vilarinho.

Ao técnico em Agropecuária Henrique Stolla Damasceno - EMATER-RIO - São Fidelis, por abrir as portas junto aos produtores rurais para que o trabalho fosse realizado.

Aos colegas do semioquímicos, Rodolfo, Vinícius, Gilson, Leonardo, Thiago, Matheus e Guilherme.

A todos os colegas do LEF.

Aos amigos Mário, Raquel, Elaine, Inorberte, Rosa, Kelly, Claudineli e Marlon.

Aos eternos amigos Geni, Maria José, Erneida, Wellingta e Juninho, que deixaram os dias mais leves e felizes, muito obrigada.

Aos amigos distantes, mais sempre presentes, Luciana, Andréa, Daniela, Elizângela, Juliana, Ritinha e Abelardo.

Ao grande amigo e “anjo da guarda” Sr. Airton.

A todos os meus familiares sempre presentes em uma palavra amiga, em uma preocupação ou em um momento de descontração.

A minha madrinha Luzia “minha mãe” pela sua simplicidade, seu carinho e sua torcida em tudo que faço.

A minha tia Emília por sua presença constante em minha vida, por seu carinho e orações (foram muitas).

Aos meus lindos felinos Bichano e Galerinha por alegrar a casa.

A minha irmã Camila por ter seguido esta jornada junto comigo, sem ela talvez este momento não teria acontecido. Obrigada pelos conselhos, pela dedicação, pelo carinho, pela paciência, pela sua sabedoria e obrigada por existir e ser minha irmã.

Aos meus pais, por mais uma vez ter acreditado no meu sonho e sem cobrança ter ajudado ele se realizar, esta conquista é de vocês. Obrigada pela pessoa que sou hoje, sem seu amor e ensinamentos não teria ido tão longe. Obrigada Deus por eles existirem e serem meus pais, amor eterno.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. A mangueira ( <i>Mangifera indica</i> L.).....	3
2.1.1. Origem e Distribuição geográfica .....	3
2.1.2. Características Botânicas e Variedades.....	4
2.1.3. Importância Econômica.....	5
2.2. A Seca-da-mangueira.....	6
2.2.1. Ocorrência e Sintomas.....	6
2.2.2. Descrição do Fungo <i>Ceratocystis fimbriata</i> .....	8
2.3. <i>Hypocryphalus mangiferae</i> .....	9
2.3.1. Seleção do hospedeiro.....	10
2.4. Interação Inseto-Fungo.....	11
2.5. Semioquímicos.....	13
2.6. Dispositivos Olfatométricos.....	18
3. TRABALHOS.....	21
3.1. COMPORTAMENTO DE COLONIZAÇÃO DO HOSPEDEIRO DA BROCA-DA-MANGUEIRA <i>Hypocryphalus mangiferae</i> , Stebb (Coleoptera: Curculionidae – Scolytinae).....	20
3.1.1. Resumo.....	20

3.1.2. Abstract.....	21
3.1.3. Introdução.....	22
3.1.4. Material e Métodos.....	23
3.1.5. Resultados e Discussões.....	26
3.1.6. Resumos e Conclusões.....	30
3.1.7. Referências Bibliográficas.....	31
3.1.8. Anexo.....	33
3.2. Semioquímicos Envolvidos na Interação Broca-da-mangueira ( <i>Hypocryphalus mangiferae</i> , Stebb) - Fungo ( <i>Ceratocystis fimbriata</i> , Ell & Halst) - Manga ( <i>Mangifera indica</i> , L.).....	35
3.2.1. Resumo.....	35
3.2.2. Abstract.....	35
3.2.3. Introdução.....	36
3.2.4. Material e Métodos.....	38
3.2.5. Resultados e Discussões.....	41
3.2.6. Resumos e Conclusões.....	46
3.2.7. Referências Bibliográficas.....	47
3.2.8. Anexo.....	50
4. RESUMOS E CONCLUSÕES.....	51
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

## RESUMO

**SILVA, Carolina Rocha da**, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, julho de 2006. Comportamento e comunicação química da Broca-da-mangueira (*Hypocryphalus mangiferae* Stebb 1914). Professor Orientador: Ana Maria Matoso Viana-Bailez. Professores Conselheiros: Omar Eduardo Bailez e Silvaldo Felipe da Silveira.

Este trabalho teve como finalidade estabelecer o papel da comunicação química na interação entre a broca *Hypocryphalus mangiferae*, o fungo *Ceratocystis fimbriata* e a mangueira *Mangifera indica*. Foram realizados estudos do comportamento de acasalamento e do comportamento de colonização da broca-da-mangueira. Também foram realizados testes em olfatosmetro em “Y” para determinar a atratividade da broca-da-mangueira aos odores do complexo inseto-fungo-planta. No comportamento de acasalamento se verificou que a fêmea de *H. mangiferae* foi a primeira a chegar aos ramos da mangueira e a cavar sua galeria. O macho escolhe sua parceira e fica ao lado protegendo a entrada da galeria. No experimento em casa de vegetação observou-se que mudas com a doença seca-da-mangueira foram mais atacadas pelas brocas do que mudas saudáveis. Os insetos colonizam primeiro os ramos mais finos e mais novos presentes no topo das mudas, atacando preferencialmente a bifurcação dos galhos e progredindo para os ramos mais grossos e regiões próximas às raízes. A avaliação dos dados obtidos no teste de olfatosmetro em “Y” mostrou que a broca-da-mangueira tem

atração pela madeira da mangueira variedade Espada, mas a atração aumenta quando há presença do inseto e do fungo. A interação entre os componentes do complexo inseto-fungo-planta aumenta a chance da proliferação da doença seca-da-mangueira. Os machos de *H. mangiferae* na presença do isobutanol, composto químico presente no fungo *C. fimbriata*, tiveram o comportamento de rejeição. Este composto é um éster e possivelmente poderá ser usado como sinal de antiagregação dos machos, como ocorre em outros escolitídeos, no momento em que o hospedeiro já esteja com uma quantidade suficiente de insetos. As fêmeas de *H. mangiferae* foram atraídas pelo acetato de isobutila e pelo geraniol, sendo estes compostos os mais utilizados pelos besouros de casca para selecionar o hospedeiro susceptível.

## ABSTRACT

**SILVA, Carolina Rocha da**, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, July 2006. Behavioural and chemical communication studies on Borer Mango (*Hypocryphalus mangiferae*, Stebb). Advisor: Ana Maria Matoso Viana-Bailez. Committee members: Omar Eduardo Bailez and Silvaldo Felipe da Silveira.

This work had as purpose to establish the paper of the chemical communication in the interaction among the borer *Hypocryphalus mangiferae*, the fungi *Ceratocystis fimbriata* and the mango *Mangifera indica*. Studies of the mating behavior were accomplished and of the colonization behavior of mango borer. Tests were also accomplished in olfactometer in "Y" to determine the attractiveness of the mango borer to the scents of the compound insect-fungi-plant. In the mating behavior it was verified that the female of *H. mangiferae* was the first to arrive to the branches of the hose and to dig your gallery. The male chooses your partner and it is to the side protecting the entrance of the gallery. In the experiment vegetation home was observed that change with the disease drought-give-hose they were more attacked by the drills than you change healthy. The insects colonize the finest branches and newer presents first in the top of the seedlings, attacking preference the bifurcation of the branches and progressing for the thickest branches and close areas to the roots. The evaluation of the data obtained in the olfactometer test in "Y" it showed that the mango borer has attraction for the wood of the hose

variety Espada, but the attraction increases when there is presence of the insect and of the fungi. The interaction among the components of the compound insect-fungi-plant increases the chance of the proliferation of the disease drought-give-hose. The males of *H. mangiferae* in the presence of the isobutanol, present chemical composition in the fungi *C. fimbriata*, they had the repel behavior. This composition is ester and possibly it can be used as sign of anti-agregation of the males, as it happens in other scolytinae, when the host is already with an enough amount of insects. The females of *H. mangiferae* were attract for the isobutyl acetate and for the geraniol, being these composed the more used by the peel beetles to select the host susceptible.

## 1. INTRODUÇÃO

A manga ocupa o quinto lugar entre os frutos tropicais no mercado internacional. Os quatros primeiros são banana, citros, abacaxi e castanha de caju (Galan, 1993). Devido ao crescimento do comércio internacional de frutas frescas, a região Norte do Estado do Rio de Janeiro vem incentivando os produtores a trabalharem com fruticultura propiciando assim um novo ciclo de desenvolvimento para a região. A manga surgiu como uma das possibilidades de expansão no Estado, devido sua demanda no mercado interno e externo (Siqueira et al., 1999).

Na América, o primeiro país a cultivar a manga foi o Brasil. As primeiras mangueiras vieram da África no século XVI, trazidas pelos portugueses e plantadas na cidade do Rio de Janeiro, de onde se difundiram por todo o país (Simão, 1998).

A mangueira é uma das mais importantes fruteiras plantadas em países de clima tropical. A plantação comercial da manga está limitada às áreas com altitudes superiores a 650m nos trópicos e próxima ao nível do mar nos subtropicos (Silva, 1982). Sua comercialização pode ser "*in natura*", como sobremesa e para produção de sucos.

Entre as limitações da cultura da manga destacam-se praga e doenças que causam danos no desenvolvimento da planta e na produção de frutos. A principal enfermidade, seca-da-mangueira, foi detectada em fins da década de 30 e início dos anos 40, e nos dias atuais é um fator limitante para expansão desta cultura (Ribeiro, 1980).

Esta doença é causada pelo fungo *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst, 1890, tendo como vetor o inseto *Hypocryphalus mangiferae* Stebb, 1914 (Scolytinae).

O fungo *C. fimbriata* tem ampla distribuição geográfica afetando numerosas culturas de grande importância econômica, mas até o momento só é conhecida a doença “seca-da-mangueira” no Brasil (Rossetto e Ribeiro, 1990).

O coleóptero *H. mangiferae* pertence à sub-família Scolytinae. Os danos provocados por este propiciam o meio de entrada do fungo na planta dificultando a circulação da seiva, enfraquecendo a planta, e possibilitando o ataque da parte aérea por outros escolitídeos que em geral são insetos secundários que atacam plantas debilitadas (Rossetto e Medeiros, 1967).

Embora o acúmulo de conhecimento sobre biologia, danos e controle de Scolytinae remonte já ao século passado nos países do hemisfério norte, pouco se sabe sobre estes insetos nas florestas implantadas no Brasil. Em grande parte isto se deve ao fato da maioria das florestas comerciais brasileiras estarem alicerçada sobre espécies exóticas, notadamente *Pinus*, *Eucalyptus* entre outras culturas (Flechtmann et al., 1995).

As armadilhas são o principal instrumento para estudos ecológicos e de monitoramento do inseto, em alguns casos é também a única forma disponível de controle de escolitídeos (Carrano-Moreira et al., 1994).

Apesar de existirem armadilhas para o controle de várias espécies de Scolytinae, para *H. mangiferae*, não há nenhum relato na literatura sobre um sistema de armadilha que permita seu monitoramento. O controle dessa praga baseia-se no corte e queima dos galhos afetados e em casos mais drásticos o corte da árvore.

Certamente a utilização de armadilhas utilizando semioquímicos como atrativo para os insetos será um grande avanço no programa de manejo integrado do complexo da seca-da-mangueira. Sendo assim, o estudo do comportamento de colonização da broca-da-mangueira e o estudo da resposta dos insetos aos semioquímicos presentes na interação inseto-fungo-planta poderá trazer benefícios para o desenvolvimento desta cultura na região Norte Fluminense e no Brasil.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. A mangueira (*Mangifera indica* L.)

#### 2.1.1. Origem e Distribuição geográfica

A mangueira teve sua origem no noroeste da Índia e no norte de Borna, nas encostas do Himalaia e provavelmente também no Ceilão (Silva, 1982). A Índia é o principal país produtor no mundo.

A dispersão da mangueira pelo mundo não é conhecida com exatidão, havendo divergências entre os autores que tratam do assunto, em razão da dificuldade de obtenção de informações precisas. A introdução no Brasil ocorreu provavelmente no século XVI, pelos portugueses, que também foram introdutores da espécie no continente africano. Sua introdução nos demais países tropicais da América foi realizada pelos colonizadores espanhóis. Nos Estados Unidos (Flórida), a mangueira foi introduzida de Cuba em 1861 (Siqueira et al., 1999).

Devido sua propagação via semente, no Brasil originaram-se muitas outras variedades nas diversas regiões. Assim em cada Estado ou região, existem diversas variedades locais, as quais podem se cultivadas em menor ou maior grau (Simão, 1980).

### 2.1.2. Características Botânicas e Variedades

A mangueira, *Mangifera indica* L., é uma dicotiledônea pertencente à família Anacardiácea e ao gênero *Mangifera*. A árvore desta fruteira perene pode atingir até 45 m de altura. As suas folhas são lanceoladas, coriáceas, cor verde-escura nas folhas desenvolvidas e arroxeadas ou bronzeadas nas folhas em crescimento, alternadas e sem pêlos, variando o seu tamanho de 10 a 30 cm de comprimento por 2 a 10 cm de largura. A inflorescência é uma panícula, podendo ter de 100 a 17.000 flores cada, sendo que cada planta pode apresentar-se com 200 a 3.000 panículas. A coloração das flores está na dependência da variedade, podendo ser verde-clara, amarelada ou arroxeadas. Numa panícula são encontrados dois tipos de flores: as hermafroditas e as estaminadas que possuem apenas a parte masculina e, portanto não formam o fruto. O fruto da mangueira é uma drupa, ou seja, possui a polpa carnosa com apenas uma semente e esta é revestida por um tecido muito duro chamado de caroço (Couto, 1982).

Para a escolha dos cultivares de mangueira a serem plantados, deve-se considerar uma série de aspectos, tais como boa adaptação às condições ecológicas, baixa suscetibilidade a pragas e doenças, alternância de produção, qualidade dos frutos e produtividade (Siqueira et al., 1999).

As variedades consumidas ao natural no mercado interno e externo, mais plantadas no Brasil atualmente são Haden, Tommy Atkins, Keith e Van Dyke, que foram introduzidas no país a partir da década de 60 (Simão, 1980).

Segundo Botrel (1994), existe grande diversidade quanto às variedades mais cultivadas no Brasil, a depender principalmente da região. Enquanto no nordeste destacam-se as variedades Carlota, Rosa, Espada, Bourbon, Itamaracá e Coité, no Vale do São Francisco as mais cultivadas são as oriundas dos EUA, sobretudo Haden, Tommy Atkins e Keith. No estado de São Paulo pode-se destacar as variedades Bourbon, Espada, Rosinha, Coração-de-boi e Extrema. Já em Minas Gerais, o grande consumo é de Ubá, Espada, Tau, Rosa e Haden. No estado do Rio de Janeiro o maior consumo é da Espada, cujo fruto varia entre pequeno e médio. Em todo país a preferência é pela Haden que apresenta fruto grande, e pela Ubá, muito utilizada na fabricação de sucos de manga.

Dentre todas as variedades podemos considerar como sendo a base comercial da mangicultura brasileira a cultivar de origem americana "Tommy

Atkins". Esta variedade é responsável por cerca 80% da área plantada (Pinto, 1996).

### *2.1.3. Importância Econômica*

A manga é uma das frutas mais procurada no mundo, e esta demanda tem mostrado crescimento. De acordo com a EMBRAPA, a procura tem aumentado bastante tanto no mercado interno quanto no externo, o que tem refletido sobre os preços (Lirio, 2004). Segundo Siqueira et al. (1999) trata-se de uma das mais importantes espécies de fruteiras cultivadas em países de clima tropical.

Embora a mangueira esteja disseminada em todo o Brasil, devido a sua excelente adaptação às condições de clima e solo, apenas em algumas regiões esta espécie é cultivada com modernas técnicas agrícolas. As maiores áreas cultivadas no Brasil estão nos estados de São Paulo, Bahia e Minas Gerais, com área acima de 34.000ha. Nos estados da Região Nordeste, que apresentam clima semiárido, o cultivo da mangueira tem crescido de forma intensa, com ampla aplicação de tecnologias, como irrigação, podas e indução de florescimento (Siqueira et al., 1999).

O mundo produziu no ano de 2003, 26.196.090 toneladas de manga, distribuídas em cerca de 3.400 mil hectares, o que resulta em um rendimento médio de 7,7 toneladas por hectare. Os principais países produtores dessa fruta são Índia, China, Tailândia e México. O Brasil ocupa a nona colocação no mercado internacional, com produção de 542.000 toneladas (Lirio, 2004).

Segundo dados da EMBRAPA (2004), o Brasil exporta pouco mais de 20% da manga produzida no país. Os 80% restantes da produção são para comercialização e consumo no mercado interno brasileiro. A região Nordeste é a principal região produtora de manga do país com 65% da produção nacional, sendo o Vale do São Francisco, o "eldorado" brasileiro da exportação de manga.

A cultura da manga é considerada uma das mais rentáveis fruteiras. As expectativas de rendimento da cultura ficam atrás apenas da cultura da banana, do limão e da uva (considerada em duas safras anuais) (Vilas, 2003). Podemos dizer que o rendimento da manga depende de vários fatores como variedade, solo, clima, tratamentos culturais, espaçamento, pragas e doença (Simão, 1998).

No Brasil, a manga é consumida tradicionalmente, ao natural, sob a forma de sobremesa, embora recentemente seu emprego na produção de sucos e sorvetes tenha apresentado significativo incremento, podendo também ser empregada na culinária, para fabricação de pickles, molhos, geléias e etc (Siqueira et al., 1999). A qualidade do fruto é de grande importância para o consumidor. A aparência é um dos fatores de qualidade de maior relevância do ponto de vista comercial, sendo o tamanho, a forma e a cor os principais (Botrel, 1994).

Comparada com outras frutas a manga destaca-se pelo seu alto teor de vitamina A, vitamina C, vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina), sais minerais e fibras (Siqueira et al., 1999). As variedades de frutos menores são mais nutritivas que as de frutos maiores, e a riqueza em caroteno e açúcares são maiores com o amadurecimento dos frutos (Simão, 1998).

## 2.2. A Seca-da-mangueira

### 2.2.1. Ocorrência e Sintomas

A seca-da-mangueira ocorre apenas no Brasil e foi constatada pela 1ª vez em mangueiras, no Recife, em 1946 (Ribeiro, 1980). Esta doença é causada pelo fungo *Ceratocystis fimbriata*. Em variedades suscetíveis pode provocar a morte da planta em menos de dois anos em qualquer idade, trazendo sérios prejuízos à cultura (Siqueira et al., 1999). A disseminação e veiculação do patógeno estão intimamente associadas à presença da broca *Hypocryphalus mangiferae* (Martins et al., 1974).

A doença ficou até 1970, restrita aos estados de Pernambuco e São Paulo, mas atualmente está disseminada por outros estados como Minas Gerais, Rio de Janeiro, Goiás, Bahia e Ceará (Rossetto e Ribeiro, 1990).

É uma doença séria, pois quase todas as variedades de manga são suscetíveis, e as que apresentam maior tolerância são: Rosa, Sabina, Quirino, Coquinho e Espadinha (Simão, 1998). Hoje em dia o trabalho de melhoramento contra pragas e moléstias em mangueira tem como objetivo obter variedades com características favoráveis para porta-enxertos e que sejam resistentes ao fungo *C. fimbriata* (Pinto, 2004).

Os sintomas da doença são facilmente reconhecíveis, em virtude do secamento total ou parcial da copa das árvores. Como ela pode começar tanto pela parte aérea como pelas raízes da planta, essa distinção é importante para a definição das medidas de controle a serem adotadas (Cunha et al., 1993). Os galhos, troncos ou raízes, quando infectados, apresentam os tecidos sob a casca com coloração escura, contrastando com a coloração branca amarelada dos tecidos saudáveis. Sob a casca, em alguns pontos, formam-se bolsas de seiva devido à desintegração do sistema vascular da planta. Cortando-se transversalmente um ramo afetado, observam-se estrias de cor cinza azulada no lenho devido à colonização pelo patógeno (Rossetto e Ribeiro, 1983) (Figura 1).



Figura 1. Sintomas em troncos da seca-da-mangueira. A foto à esquerda mostra a descoloração do tecido e à direita a liberação de goma.

Na parte aérea, a doença ataca primeiro os galhos finos da copa, levando-os ao secamento (Figura 2A). O secamento progride para outros ramos mais grossos até atingir o tronco e finalmente toda a parte aérea da árvore termina secando. Se o porta-enxerto for resistente ao fungo, a parte aérea pode secar completamente e o porta-enxerto pode permanecer saudável, brotando da base. Neste tipo de seca-da-mangueira o fungo só se estabelece na parte aérea da mangueira se existir um ferimento, geralmente provocado pelo vetor (Rossetto e Ribeiro, 1983).

Já, pelas raízes, o fungo se estabelece provavelmente sem a intervenção de um vetor (Figura 2B). A simples irrigação do solo com suspensão aquosa de cultura pura do fungo é suficiente para matar plantas novas de mangueira de variedade suscetível. É provável que em condições de campo a doença possa ser disseminada de uma árvore doente para outras árvores saudáveis situadas ao lado, através da enxurrada. Os esporos do fungo de uma árvore doente passam para o

solo e entram em contato com as raízes das árvores sadias próximas. É possível que danos feitos às raízes por insetos ou por ferramentas possam facilitar o estabelecimento da infecção do fungo nas raízes, mas esta não é uma condição necessária, como acontece na parte aérea da árvore. Neste tipo de seca quando os sintomas são percebidos na parte aérea a doença pode estar em grau bem avançado nas raízes. Neste caso, a morte total da árvore pode ocorrer pouco tempo após o aparecimento dos primeiros sintomas na parte aérea da planta (Rossetto e Ribeiro, 1983).

A disseminação do fungo ou do inseto-vetor de uma região para outra pode ser por meio de mudas. Portanto, em regiões onde a doença ainda não ocorre, deve-se tomar o máximo de cuidado ao adquirir mudas de regiões onde a doença está presente (Siqueira et al., 1999).

A incidência da seca-da-mangueira começa por reduzir a produtividade e a qualidade dos frutos, posteriormente causa a morte da planta. Uma vez instalada no pomar, a disseminação da doença é rápida, dada a presença natural de coleobrocas, principalmente *H. mangiferae*, além da eventualidade de contaminação pelas ferramentas de poda (Cunha et al., 1993).

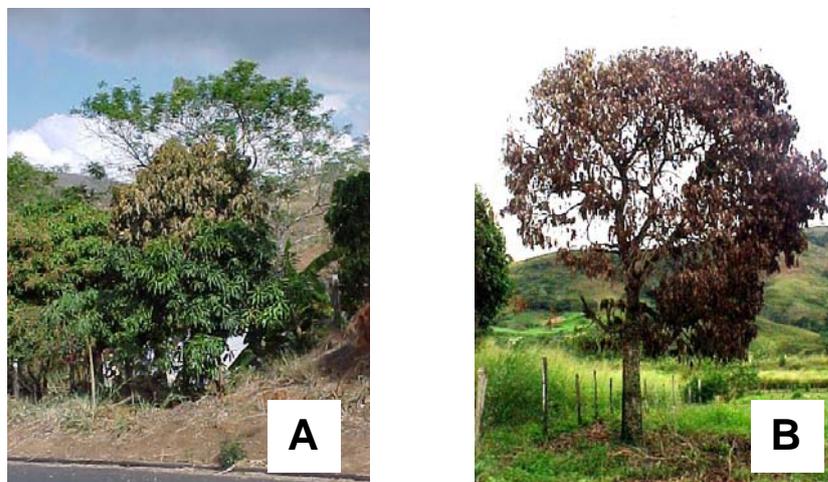


Figura 2. Tipos de seca-da-mangueira. A) Seca de ponteira e B) Seca de raiz.

### 2.2.2. Descrição do Fungo *Ceratocystis fimbriata*

O fungo *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst 1890 causador da seca-da-mangueira é um ascomiceto. Cresce facilmente em meio de extrato de malte modificado (MMEA), exalando um odor típico de fruta madura, onde forma diferentes tipos de esporos. O micélio apresenta coloração esverdeada e os

peritécios são globosos, negros, providos de um longo rostro, na extremidade do qual forma-se uma gota alaranjada constituída de uma massa de ascosporos. Estas estruturas são visíveis a olho nu (Rossetto et al., 1980).

Este fungo ataca uma série de espécies vegetais de grande importância econômica como, por exemplo, café, seringueira, fumo, crotalária, cacau, batata doce, feijão-guandu, mamona, entre outras (Cunha et al., 1993). Apesar do fungo causar doença nas plantas hospedeiras, ele pode ter um papel ecológico na regeneração natural de florestas (Alexopoulos et al., 1996).

O fungo é incapaz de penetrar diretamente através da epiderme do ramo sadio, que oferece uma forte barreira mecânica ao patógeno. Para que o mesmo se instale no interior da planta e desencadeie o processo da doença há necessidade de um ferimento. Daí a necessidade de um vetor ou ferimento para romper a epiderme e colocar o fungo no interior da planta. Seu desenvolvimento se dá na região do cambio, entre a casca e o lenho, e o caráter típico da seca-da-mangueira vem a ser o colapso dos tecidos parenquimatosos (Rossetto et al., 1980).

### 2.3. *Hypocryphalus mangiferae*

Cunha et al. (1993), consideram a mangueira como a única planta hospedeira do *Hypocryphalus mangiferae*. Ele pode ser encontrado nos mangueirais de diversas regiões do mundo. Sua origem é provavelmente na mesma região da mangueira, ou seja na Índia e regiões vizinhas. *Hypocryphalus mangiferae* Stebb 1914, pertence à sub-família Scolytinae.

Os Scolytinae são um grupo relativamente numeroso dentro de Coleoptera, sendo que desde as cinco espécies descritas por Linnaeus em 1758 este número aumentou significativamente, estimando-se atualmente em mais de 600 espécies (Wood, 1986).

Os representantes desta numerosa sub-família são de tamanho pequeno, 0,5 mm a 10 mm de comprimento. Apresentam corpo esclerotizado, geralmente cilíndrico, e a porção terminal dos élitros quase sempre truncado ou com declive acentuado. Na maioria dos representantes brasileiros a cabeça não é visível em vista dorsal, encaixando-se parcialmente no protórax, cujo pronoto se apresenta algo alongado. As tíbias apresentam pequenos dentes na margem externa, ou um

gancho robusto apenso ao ângulo apical externo. Os olhos são geralmente grandes, achatados, reniformes ou ovais, e as antenas, freqüentemente geniculadas. Nos élitros, em geral providos de estrias mais ou menos distintas, estão inseridas cerdas ou escamas (Costa Lima, 1956).

A maioria dos Scolytinae é praga secundária, somente encontrando condições favoráveis em árvores lesionadas atingidas por raio ou fogo, plantas doentes ou que sofreram ataque anterior por outros insetos, plantas com deficiência nutricional ou plantas em solos com excesso ou falta de água e árvores caídas (Flechtmann et al., 1995).

O critério mais usual para divisão desta sub-família é a preferência alimentar. Pode ser classificado em vários grupos, mas os fleófagos e os xilomicetófagos são os mais relevantes. Os fleófagos se alimentam do floema e são conhecidos como besouros de casca (“bark beetles”). São as principais pragas Florestais e neste grupo destacam-se os gêneros *Dendroctonus*, *Scolytus* e *Ips*, onde se encontra a espécie *H. mangiferae*. Já os xilomicetófagos têm como principal alimento fungos simbióticos, que introduzem e cultivam na planta hospedeira. São também conhecidos como besouros de ambrósia (“ambrosia beetles”). Para cada espécie de xilomicetófago há uma determinada espécie de fungo de ambrósia. As principais tribos são *Xyleborini*, *Xyloterini* e *Corthylini* (Castro, 1960).

A cópula de escolitídeos ocorre na câmara nupcial ou nas suas proximidades. À medida que as galerias vão sendo construídas é feita a postura de ovos. O número de ovos ovipositados por fêmeas ao longo de sua vida pode variar de 3 como em *Corthylus*, até mais de 200 como em *Dendroctonus*, e de 10 a 25 em *Xyleborinus saxeseni*. O período de eclosão é variável de acordo com a espécie sendo influenciada pelas condições de temperatura, mas em média em torno de 7 a 10 dias, sendo os extremos de 3 a 30 dias (Flechtmann et al., 1995).

As fêmeas de *H. mangiferae* põem de 3 a 11 ovos/dia e o ciclo de vida é em torno de 23 dias, podendo ter de 10 a 11 gerações anuais (Castro, 1960).

### 2.3.1. Seleção do hospedeiro

A maioria dos Scolytinae ataca em massa um recurso em resposta a caïromônios liberados pela planta hospedeira e a feromônios de agregação do

inseto. Este fenômeno beneficia os besouros na localização do hospedeiro adequado e do companheiro potencial para o acasalamento (Macías-Sámano et al., 1997).

A seleção do hospedeiro é um fator vital na compreensão do comportamento e das medidas de controle a serem aplicadas aos Scolytinae. De um modo geral, pode-se considerar que a atração ao hospedeiro costuma ser governada por dois componentes, um químico que atua a distâncias maiores, e um físico que atua a curta distância da planta hospedeira. Os componentes físicos estão relacionados com as características físicas das plantas hospedeiras, como seu tamanho, sua forma, sua inclinação, sua espessura de casca e principalmente sua cor (Flechtmann et al., 1995).

Os primeiros besouros a localizarem a planta são denominados pioneiros, podem ser tanto machos quanto fêmeas, de acordo com a espécie (Flechtmann et al., 1995). Nos casos em que a espécie é polígama o macho é o pioneiro. No caso da espécie monógama as fêmeas são as pioneiras. Em cada caso o pioneiro é quem libera o feromônio de agregação, e o sinal vai ficando mais forte à medida que se aumenta a colonização do hospedeiro (Agosta, 1992).

Dessa forma o composto químico é que provoca uma atração primária, onde substâncias voláteis emanadas pela planta hospedeira atraem o Scolytinae (pioneiro), seguido em muitos casos por uma atração secundária, de intensidade muito maior, onde feromônios de agregação produzidos pelos besouros pioneiros são agora o atrativo principal (Flechtmann et al., 1995).

#### 2.4. Interação Inseto-Fungo

Os besouros de casca primários, do gênero *Dendroctonus* são parasitas obrigatórios que atacam árvores saudáveis. A morte da árvore é uma resposta a colonização em massa. Já os besouros secundários, do gênero *Ips*, *Scolytus* e *Tomicus*, não são parasitas obrigatórios, pois atacam árvores já colonizadas há semanas, estressadas ou recentemente mortas. Embora a colonização seja menos expansiva ou persistente comparando-se com os besouros de casca primários, estes costumam ser mais agressivos (Paine et al., 1997).

O besouro *H. mangiferae* é considerado um Scolytinae fleófago, pois se alimenta de tecido comparativamente muito mais nutritivo, que é a região do

floema das plantas hospedeiras, em comparação com os insetos xilófagos, que se alimenta de tecidos deficientes em vitaminas. As larvas vivem na região do câmbio e destroem os tecidos por onde circula a seiva da planta (Rossetto e Ribeiro, 1983).

Muitos microrganismos saprofíticos atuam sobre a matéria orgânica, e liberam substâncias aproveitáveis pelos insetos. Estas podem ser polipeptídeos, ácidos graxos e outros produtos voláteis que atraem dípteros, himenópteros, lepidópteros, coleópteros, etc. Os fungos são os principais microrganismos cultivados por insetos de diferentes ordens, pois além de servirem de alimento para os insetos também proporcionam um ambiente adequado para o seu desenvolvimento (Alves, 1998). Segundo Bridges (1987), o sucesso evolutivo e o poder de destruição dos besouros de casca têm sido atribuídos em parte pela associação deles com fungos.

A maioria das espécies de colebroca está associada a fungos. Esta relação varia desde um contato casual a uma simbiose mutualística. Acreditava-se que estes fungos, denominados em 1836 por Schmidberger de “ambrósia”, eram originados da seiva da árvore. Somente tiveram sua verdadeira natureza reconhecida em 1844 por Hartig. São geralmente transportados de árvore a árvore pelos Scolytinae em depósitos especiais, em forma de saco ou taça, denominados de micângias, localizados na maioria das vezes externamente ao inseto (Flechtmann et al., 1995).

O papel do fungo no ciclo de vida do besouro pode ser diferenciado de acordo com a forma em que o vetor o carrega. Os fungos levados dentro da micângias do inseto tendem a serem mutualísticos. Já os fungos levados externamente no corpo do inseto são considerados patógenos de árvores, ou manchadores de madeira (Klepzig et al., 2001).

O fungo que os besouros xilófagos inoculam na planta partindo de suas galerias, ramifica-se através de suas hifas em todas as direções, por vários centímetros no lenho. Dessa forma o fungo ajuda o inseto a absorver nutrientes de locais distantes da galeria que fazem parte da sua dieta, e também causa o enfraquecimento da madeira, facilitando a escavação das galerias (Flechtmann et al., 1995).

Os besouros fleófagos, ao colonizarem seus hospedeiros, escavam no floema e inoculam o fungo manchador de azul da madeira (“blue-staining”). Esta

combinação já foi relatada para *Dendroctonus frontalis* e o fungo *Ophiostoma minus* (= *Ceratocystis minor*), que tem a capacidade de interromper o movimento de água dentro da árvore, o que auxilia o besouro a matar mais rapidamente seu hospedeiro. Para *Scolytus multistriatus*, principal vetor da doença do olmo holandês (“dutch elm disease”), cujo fungo *Ophiostoma ulmi* (= *Ceratocystis ulmi*) produz enzimas que rompem as paredes dos vasos do floema do olmo (*Ulmus*), liberando compostos químicos que impedem a translocação de água dentro da árvore. *Ips avulsus* tem seu desenvolvimento favorecido na presença do fungo *Ophiostoma ips* (= *Ceratocystis ips*). Já *Xyleborus ferugineus* e *Hypocryphalus mangiferae* são considerados como os principais vetores da seca-do-cacaueiro (*Theobroma cacao*) e da seca-da-mangueira (*Mangifera indica*), respectivamente, causadas por *Ceratocystis fimbriata*, e provavelmente são beneficiados pela introdução do fungo no hospedeiro. Os fungos associados aos escolitídeos podem ser disseminados por micângia, por esporos aderentes ao corpo destes ou através de ácaros (Flechtmann et al., 1995).

Na associação de insetos com *Ceratocystis* podemos também citar: *Ceratocystis polonica* com *Ips typographus* e *Ceratocystis laricicola* com *Ips cembrae*. Apesar das espécies de *Ceratocystis* serem patogênicas à planta hospedeira, nem todos os besouros de casca são obrigatoriamente dependentes do fungo. Somente uma pequena porcentagem destes besouros carrega as espécies de *Ceratocystis* (Paine et al., 1997).

## 2.5. Semioquímicos

As interações entre os seres vivos são basicamente mediadas por sinais químicos denominados semioquímicos (Nordlund e Lewis, 1976). Dicke e Sabelis (1988) utilizaram o termo infoquímico, enfatizando a diferença entre as substâncias que transportam informações e as toxinas e nutrientes. Os infoquímicos em seu contexto natural fornecem informações que possibilitam a comunicação entre indivíduos. Entretanto, as toxinas e os nutrientes podem carregar informações passivamente.

Os insetos são os organismos que mais utilizam substâncias químicas do meio ambiente para sobreviverem (Vilela e Della Lucia, 2001). O olfato é fundamental na defesa, na seleção de hospedeiros, na corte e no acasalamento,

assim como na organização de atividades sociais (Dicke e Sabelis, 1988; Vilela e Della Lúcia, 2001). O conhecimento sobre o papel dos odores na interação entre insetos avançou a partir da década de 60, principalmente pelos trabalhos com semioquímicos em lepidópteros (Rochat, 1987).

Os infoquímicos, quando transportam informações entre indivíduos da mesma espécie, são denominados feromônios. Quando essa informação é utilizada por outra espécie os mediadores são denominados aleloquímicos. Em todas as interações mediadas por essas substâncias, pelo menos um dos organismos que interage é beneficiado (Dicke e Sabelis, 1988).

Segundo Karlson e Lüscher (1959), os feromônios são substâncias que quando liberadas por um indivíduo desencadeiam um comportamento no inseto receptor da mesma espécie. Desde a produção do Bombicol<sup>®</sup>, proveniente do bicho da seda *Bombix mori* (Butenandt, 1961 *apud* Passera, 1984), diversos feromônios têm sido produzidos em laboratório e estão sendo comercializados em praticamente todas as regiões do mundo para uso no controle e/ou monitoramento de pragas (Vilela e Della Lucia, 2001).

Recentemente, tem sido dada ênfase às investigações sobre os semioquímicos que promovem interações dos três níveis tróficos. Plantas, pragas e inimigos naturais estão profundamente interligados em uma complexa teia alimentar, onde podem se valer, em benefício próprio, de informações produzidas por suas interações (Vilela e Pallini, 2002).

Muitos insetos utilizam compostos aromáticos das plantas hospedeiras como indicadores de locais de agregação (Lanier, 1983, Bell, 1991). Estes aromas além de atuar como aleloquímicos, podem sinergicamente aumentar a ação de feromônios (Jaffé et al., 1993). Os insetos geralmente usam o artifício da agregação para garantir a alimentação, encontrar abrigo e favorecer a reprodução.

Quando os voláteis liberados pelos insetos provocam a concentração de ambos os sexos dos insetos, pode-se favorecer o aumento no número de acasalamentos. Estes voláteis denominam-se feromônios de agregação, e eles podem ser produzidos por um ou ambos os sexos da espécie (Borden, 1984).

Na sub-família Scolytinae foi verificada a existência de semioquímicos em distintas espécies. Podemos dizer que os besouros de casca (Scolytinae) utilizam um modelo denominado de multi-componentes feromônais para selecionar e

colonizar as árvores hospedeiras, ilustrando a diversidade e o âmbito das comunicações químicas (Birch, 1978). O conceito de multi-componentes feromônais originou dos estudos de Silverstein et al. (1966), através da identificação do feromônio de agregação de *Ips paraconfusus* como sendo uma mistura sinérgica de três componentes.

O estudo químico dessas substâncias voláteis, aliadas as observações do comportamento do inseto, possibilita um melhor entendimento sobre a comunicação química. A partir desses estudos é possível determinar quais são as substâncias bioativas e quais são os papéis destas nas comunicações intra e interespecíficas. Pesquisas básicas relacionadas a essa comunicação servem de modelo para compreensão dos mecanismos envolvidos nas diversas etapas entre a percepção do sinal químico e a seqüência de comportamentos que iniciam a partir da presença desse sinal (Sant'ana e Stein, 2001).

Segundo Hunt e Borden (1990), esta interação entre os besouros de casca, os fungos e seus hospedeiros levam a produção de compostos químicos que são utilizados como feromônios pelos insetos. Podemos citar a associação de *Ips paraconfusus* com o *Bacillus cereus*, que converte  $\alpha$ -pineno do hospedeiro no feromônio cis-verbenol (Brand et al., 1975). Da mesma forma, a associação de *Dendroctonus frontalis* com o fungo presente em sua micângia transforma *trans-verbenol* no feromônio de antiagregação verbenone (Brand et al., 1976).

Para as espécies de escolítídeos as oleoresinas e os produtos de transformação por oxidação ou polimerização são essenciais na atração primária. Das oleoresinas destacam-se os produtos terpênicos, originados da condensação de um ou mais unidades do isopreno, dando nos monoterpenos, sesquiterpenos e seus derivados, dos quais se destacam os ésteres, aldeídos, álcoois e cetonas. Os terpenos mais freqüentes em coníferas são o  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\Delta$ -3 careno (Flechtmann et al., 1995).

Destes compostos isolados das oleoresinas temos como exemplo o turpentino atraindo *Dendroctonus terebrans* e *Hylastes salebrosus*,  $\alpha$ -pineno atraindo *Dendroctonus pseudotsugae*, *Tomicus piniperda* e *Hylurgops palliatus* e a mistura de seudenol e  $\alpha$ -pineno atraindo *Dendroctonus rufipes* (Flechtmann et al., 1995).

Aparentemente, a percepção do etanol representa um mecanismo crucial na localização da planta hospedeira para muitos insetos que vivem em tecidos

sub-corticais, particularmente os besouros da ambrósia que dependem do cultivo de fungos simbióticos. Uma das primeiras referências associando o álcool como atrativo a Scolytinae remonta de 1929, com Frost e Dietrich. Estes usaram baldes contendo solução de melaço ou açúcar em fermentação, e notaram que esta isca atraiu principalmente coleópteros, dentre os quais, representantes de Scolytinae. Vários estudos após 1929 determinaram a atração de algumas espécies de Scolytinae ao etanol, entre eles podemos citar: *Dendroctonus brevicomis* (Person, 1931), *Xylosandrus germanus* (Buchnan, 1941), *Trypodendron lineatum* e *Gnathotrichus lineatum* (Graham, 1968).

Wood (1972) descreveu a seqüência de comportamento realizado por *Dendroctonus brevicomis* para selecionar seu hospedeiro. Esta seqüência tornou-se a base para os estudos de feromônio de agregação em Scolytinae.

De acordo com Wood (1972), na espécie *Dendroctonus brevicomis*, a fêmea (pioneira) inicia o ataque e começa a furar a casca liberando o feromônio para que ambos os sexos respondam e começam a colonizá-la. As fêmeas de *Dendroctonus* produzem o feromônio antes de se alimentarem e podem liberá-lo antes de chegar na árvore, tornando o ataque mais eficiente pois superam os mecanismos de resistência da árvore. Em contraste na espécie de *Ips paraconfusus*, os pioneiros são os machos e o feromônio só é liberado após o inseto alimentar e produzir o "frass" (fezes frescas juntamente com a serragem da madeira). Neste caso o besouro gasta mais tempo no hospedeiro para começar a colonização. As espécies de *Ips* são consideradas pragas secundárias, pois se alimentam apenas de árvores doentes ou mortas, diferente das espécies de *Dendroctonus* (Birch, 1978).

O feromônio de agregação de *Dendroctonus brevicomis* é o exo-7-etil-5-metil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano (exo-brevicomina) cujo efeito é acrescentado pelo mircenol liberado pela planta hospedeira. Os machos produzem o 1,5-dimetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano (frontalin). Já o feromônio de agregação de *Ips paraconfusus* vem de uma mistura de três compostos de monoterpenos que agem sinergicamente, os compostos são: (-)-2-metil-6-metileno-7-octeno-4-ol (ipsenol), (+)-2-metil-6-metileno-2,7-octadieno-4-ol (ipsdienol) e cis-verbenol. O cis-verbenol do macho de *Ips paraconfusus* é originado do enantiômero do monoterpeneo  $\alpha$ -pineno que é originado da oleoresina do hospedeiro (*Pinus* spp) (Renwick et al.,

1976) e ipsdienol e ipsenol são produzidos por machos expostos ao mirceno da planta hospedeira.

No Brasil, como em outras partes do mundo, têm-se empregado armadilhas de monitoramento, contendo como principio ativo o etanol. Há uma correlação positiva entre o número de Scolytinae coletados em armadilhas com a intensidade de ataque. Os resultados das coletas fornecem informações sobre a atividade e concentração dos besouros, podendo se antecipar aos danos (Flechtmann et al., 1995).

Segundo Carrano-Moreira et al. (1994) as armadilhas de impacto são os principais instrumentos disponíveis para controlar os escolitídeos. No trabalho realizado por eles foi testada a armadilha modelo Escolitídeo-Curitiba desenvolvida por Marques (1984), tendo como estímulo o etanol para atrair escolitídeos em plantios de pêssago.

A armadilha ESALQ-84 é uma armadilha a base de etanol que foi desenvolvida pelo Departamento de Entomologia da “Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz”, para controlar Scolytinae em plantações de *Pinus* sp na cidade de Agudos (SP). Ela pode ser utilizada para capturar Scolytinae e Platypodidae em cultura de manga. Esta armadilha também é eficiente para capturar algumas espécies de Bostrychidae, Cerambycidae e Cleridae (Berti Filho e Flechtmann, 1986). Podemos citar também outras espécies de Scolytinae que estão sendo controladas por armadilhas como: *Dendroctonus tenebrans* usando como isca terpentino (Fatzinger, 1985), *Scolytus multistriatus* (O’Callaghan, 1980), *Dendroctonus rufipennis* (Poland et al., 1998) e *Dendroctonus brevicomis* (Poland et al., 1998).

Armadilhas com estímulos visuais e olfativos também têm sido utilizadas para capturar a broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Scolytinae). Um exemplo é o trabalho realizado por Mathieu et al. (1997) onde usaram armadilha de cor vermelha ou branca contendo uma mistura 1:1 metanol-etanol, para capturar broca-do-café. A mistura metanol-etanol foi responsável por 95% de captura da broca-do-café.

## 2.6. Dispositivos Olfatométricos

Os dispositivos olfatométricos permitem medir a resposta de um indivíduo a um odor. Bioensaios com estes dispositivos são essenciais para determinar a eficiência de semioquímicos que atraem insetos. Existem diferentes tipos de dispositivos (túneis de vento, arenas e olfatômetros) que foram adaptados aos hábitos de cada espécie estudada. O formato pode variar dentro de cada categoria. Os túneis de vento podem ser grandes ou pequenos, horizontais ou verticais dependendo das características do inseto testado. Assim também uma arena pode conter uma ou quatro fontes de odor e variar na forma e no tamanho. O mesmo é observado nos olfatômetros (Cerdeira et al., 1996). O que podem ou não possuir fluxo de ar, e geralmente são utilizados para testes com insetos que caminham (Viana, 1992). Podem ser de quatro braços, vertical, de dupla, de múltipla escolha e olfatômetros em “Y”.

O olfatômetro de quatro braços é adequado para insetos pequenos, como parasitóides e afídeos (Noldus, 1988; Petterson, 1993). O olfatômetro funciona com vácuo, onde o ar é sugado pelo centro da arena. O estímulo é liberado por um dos braços e o controle no outro braço, mas, pode-se avaliar diferentes fontes de estímulos olfativos e combinações simultaneamente. O fluxo de ar deve ser igual para todos os braços do olfatômetro e o volume do ar depende de suas dimensões. Os insetos podem ser testados individualmente ou em grupo. As respostas são computadas pelo número de visita, ou pelo tempo gasto dos insetos em cada braço do olfatômetro.

O olfatômetro vertical opera na posição vertical. Pode ter fluxo de ar ou não. Quando não tem fluxo de ar o estímulo olfativo é difundido passivamente (Eiras et al., 1995). Este modelo de olfatômetro é mais apropriado para medir respostas olfativas à curta distância, na ausência de estímulos visuais.

Olfatômetro de dupla ou múltipla escolha consiste numa câmara de vôo, onde um grupo de insetos-teste é liberado. O estímulo é liberado num fluxo de ar horizontal ou vertical. Os insetos são capturados durante o vôo dentro de compartimentos na forma de funil colocados na trajetória da pluma de odor. É usado frequentemente para avaliar a atratividade de semioquímicos a insetos voadores como mosquitos, moscas-das-frutas e caminhadores, como o percevejo *Nezara viridula* (Borges, 1995, Lima et al., 1996).

Olfatômetro “Y” consiste em um tubo de vidro em forma de Y. Cada braço lateral do tubo é conectado a uma câmara que pode conter uma fonte odor. O odor é arrastado até o braço principal por uma bomba a vácuo conectada ao dispositivo. Este tipo tem sido utilizado principalmente para estudar insetos caminhadores, mas também foi utilizado com ácaros e larvas de lepidópteros (Dicke et al., 1990, Moura et al., 1991, Collier, 1998). O princípio básico foi desenvolvido por Barrows (Vilela e Della Lúcia, 2001) e o estímulo olfativo é colocado no final de um dos braços menores e o controle no outro. O inseto é liberado no braço principal e a resposta ocorre quando o inseto desloca-se até o final de um dos braços secundários.

O dispositivo olfatométrico mais utilizado para medir resposta olfativa dos Scolytinae é o olfatômetro em “Y”. Estudos foram realizados com este tipo de dispositivo para as seguintes espécies: *Hypocryphalus mangiferae* (Rossetto et al., 1980, Ribeiro, 1980), *Ips paraconfusus* (Byers, 1983) e *Thamnurgus euphorbiae* (Cristofaro et al., 2000).

### 3. TRABALHOS

#### 3.1. COMPORTAMENTO DE COLONIZAÇÃO DO HOSPEDEIRO DA BROCA-DA-MANGUEIRA *Hypocryphalus mangiferae*, Stebb (Coleoptera: Curculionidae - Scolytinae)

##### RESUMO

Muito pouco se sabe sobre o comportamento da broca-da-mangueira *Hypocryphalus mangiferae*. O estudo do comportamento de um inseto-praga contribui para que se estabeleçam novas técnicas para seu controle. Este trabalho teve como objetivo estudar o comportamento de colonização de *H. mangiferae*. Anteriormente ao estudo de colonização avaliou-se o comportamento de acasalamento de *H. mangiferae*. As análises foram realizadas mediante observações de imagens obtidas por filmagem com micro-câmera num período de 9 horas diárias (8:00 às 17:00h), 11 grupos foram observados. O material filmado estava em Placa de Petri contendo um ramo de mangueira de 2cm, quatro fêmeas e dois machos de *H. mangiferae*. Verificou-se o número de casais no fragmento de mangueira, a presença de furos e de insetos na placa. O comportamento de colonização foi estudado numa caixa de 3 x 3 m<sup>2</sup> coberta com tela anti-afídeo. Dentro da caixa foram colocadas 12 mudas de mangueira, sendo seis destas infectadas com o fungo *Ceratocystis fimbriata*. Fêmeas e machos de

*H. mangiferae* (n=1200) foram liberados no interior da caixa. Após 24h, 48h e 72h se contou o número de furos nas mudas, o número de insetos sobre as mudas e o número de insetos nas placas. Cada furo encontrado foi marcado com caneta pincel e registrado. As análises do comportamento de acasalamento mostraram a formação de seis casais dentro da mangueira e que as fêmeas foram sempre as primeiras a penetrar no hospedeiro e a cavar as galerias. As fêmeas sempre estão na parte mais profunda das galerias e os machos atrás, obstruindo a entrada. Os resultados do comportamento de colonização mostraram que mudas com a doença seca-da-mangueira foram mais atacadas pelas brocas do que mudas saudáveis. Os insetos colonizaram primeiro os ramos mais novos no ápice da planta, preferencialmente na bifurcação de galhos, e a infestação progrediu logo em direção aos ramos mais grossos e regiões próximas às raízes.

#### ABSTRACT

Very little is known about the behavior of the mango borer *Hypocryphalus mangiferae*. The behavior study of an insect-pest contributes to settle down new techniques for its control. This work had as objective to study the colonization behavior of *H. mangiferae*. Previously to the colonization study, the mating behavior of *H. mangiferae* was evaluated. The analyses were accomplished by means of observations of images obtained by filming with personal computer-camera in a period of 9 daily hours (from 8:00 to 17:00h), 11 groups were observed. The filmed material was in a Plate of Petri containing a branch of hose of 2cm, four females and two males of *H. mangiferae*. The number of couples in the hose fragment, the presence of holes and insects in the plate were verified. The colonization behavior was studied in a box of 3 x 3 m<sup>2</sup> covered by anti-aphid screen. Inside of the box were placed 12 cutting of hose, being six of them infected with the *Ceratocystis fimbriata* fungi. Females and males of *H. mangiferae* (n=1200) were liberated inside the box. After 24:00, 48:00 and 72:00 hours, the number of holes in the mute persons, the number of insects on the dumb and the number of insects in the plates were counted. Each found hole was marked with pen paintbrush and registered. The analyses of mating behavior showed that six couples were formed inside the hose and that females always were the first ones

to penetrate in the host and to dig the galleries. The females were always behind in the deepest part of the galleries and the males obstructed the entrance. The results of the colonization behavior showed that cuttings with the mango drought disease were more attacked by drills than healthy cuttings. The insects first colonized the newest branches in the apex of the plant, mostly in the bifurcation of branches, and soon progressed towards thickest branches and roost areas.

## INTRODUÇÃO

O entendimento do comportamento de um inseto-praga contribui para que as ações que visam ao controle de suas populações nos agroecossistemas sejam bem sucedidas (Viana e Vilela, 1996).

Grande parte do sucesso dos insetos deve-se a características de sua reprodução e de seu desenvolvimento. Conhecer o comportamento dos insetos ajuda a entender as interações com as espécies com seu entorno, em particular a alimentação, a colonização, o acasalamento e a oviposição são comportamentos essenciais para o sucesso reprodutivo (Calyecac-Cortero et al., 2004).

Muito pouco se sabe sobre o comportamento do besouro *Hypocryphalus mangiferae* conhecido como a broca-da-mangueira. Este inseto tem como único hospedeiro à mangueira (*Mangifera indica*), sendo encontrado nos mangueirais de diversas regiões do mundo. Pertence à sub-família Scolytinae e mede em torno de 1cm sendo seu corpo cilíndrico e de cor parda a preta (Borror e DeLong, 1988).

Sua incidência como praga em pomares de manga seria inexpressiva se ele não fosse o agente disseminador do fungo *Ceratocystis fimbriata*, causador da seca-da-mangueira, doença responsável por grandes prejuízos em regiões produtoras de manga no Brasil (Abrahão e Wegmüller, 1974).

O coleóptero *H. mangiferae* é classificado como sendo um inseto fleófago, vivendo exclusivamente na região do câmbio sem penetrar no cerne da árvore (Castro, 1960). O fungo necessita de um ferimento para penetrar e se instalar no interior da planta (Rossetto et al., 1980). Sendo assim o inseto é atraído pelo odor liberado pelo fungo permitindo dessa forma sua entrada na planta através de suas

galerias. As galerias interrompem a circulação da seiva levando ao enfraquecimento e posteriormente a morte da planta (Rossetto e Medeiros, 1967).

Inicialmente, como característica da invasão, aparece uma exsudação de goma e presença de pó de serragem. O ataque se inicia através dos ramos novos, onde o inseto penetra na cicatriz da inserção das folhas e não através da casca. A progressão do ataque na maioria dos casos se faz dos ramos mais finos em direção ao tronco. Uma vez instalada a doença, a disseminação pode ser rápida, dada a presença natural da colebroca, além da eventualidade de contaminação pelas ferramentas de poda (Cunha et al., 1993).

O controle dessa doença consiste na prevenção da entrada do fungo patogênico na Região visto que o inseto tem disseminação geográfica endêmica por todos os locais do Brasil, o corte e queima dos galhos infectados e o uso de porta-enxerto resistente (Rossetto e Ribeiro, 1990). Hoje a utilização de porta-enxerto resistente tem sido fundamental para dar sustentabilidade a mangicultura no Brasil (Pinto, 2004).

Novas tecnologias para controlar a doença seca-da-mangueira poderão se estabelecer, mas é necessário conhecer melhor a interação entre o inseto e o fungo. Portanto, o objetivo do trabalho é estudar o comportamento de colonização da broca-da-mangueira *H. mangiferae*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Entomologia e Fitopatologia do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias pertencente à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes - Rio de Janeiro.

### *Coleta dos Insetos*

Os insetos foram coletados em plantios de manga Espada no município de São Fidélis, localizado na região Norte do estado do Rio de Janeiro. No laboratório, os insetos foram mantidos em potes de vidros (capacidade 3.250 ml) com tampas teladas contendo estacas de mangueiras e areia úmida para evitar o

ressecamento do material (Castro, 1960). Os frascos foram mantidos em BOD a temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de (12:12h) luz-escuro.

### *Isolamento do Patógeno*

O fungo *C. fimbriata* Ell & Halst, foi isolado de galhos com sintomas de seca-da-mangueira em plantios de manga Espada no município de São Fidélis. No laboratório o fungo foi isolado através da técnica desenvolvida por Moller e DeVay em 1968 (Tainter, 1993). Pedacos do lenho lesionado (com descoloração interna) foram colocados entre duas rodela de cenoura, sendo anteriormente desinfetados em solução de hipoclorito de sódio (sanitizante comercial com 2% de cloro ativo e 5% de água) e após a cenoura foi selada com fita adesiva. Logo após, o material foi incubado em câmara úmida ( $\text{UR} \pm 100\%$ ), a temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  por quatro dias. Após seu desenvolvimento no pedaço de cenoura, o fungo foi repicado para o meio de extrato de malte (MMEA) em placas de Petri (9 X 1cm), mantidas em BOD a  $25^\circ\text{C}$  para crescimento durante cinco dias e depois colocado em geladeira para sua conservação. Para a implementação do experimento a cultura do fungo era retirada da geladeira por pelo menos um dia de antecedência, para que o mesmo esporulasse. A cultura do fungo acondicionada na geladeira era repicada uma vez por mês para renovação do material.

### *Mudas de Mangueira*

Utilizaram-se mudas sadias e mudas doentes de manga Espada. As mudas foram plantadas em vasos plásticos e colocadas em Casa de Vegetação.

As mudas doentes foram obtidas pela inoculação do fungo. A inoculação foi feita através de um ferimento no tecido da planta com um canivete contendo em sua lamina micélios e esporos obtidos através da raspagem de colônias em meio de malte. Depois de realizado o ferimento com o canivete contaminado este foi coberto por algodão umedecido com água destilada e envolvido por parafilme, após 24 horas, removeu-se o parafilme (Bostock e Middleton, 1987) (Figura1). Foram realizadas observações diárias para avaliar o desenvolvimento da doença

na ausência do ataque da broca-da-mangueira. As mudas doentes foram utilizadas 60 dias após a inoculação.

#### *Comportamento de Acasalamento de H. mangiferae*

A análise do comportamento da broca foi realizada mediante observação de imagens obtidas através de filmagem com micro-câmera dos insetos num período de 9 horas diárias (8:00 as 17:00h). O funcionamento das câmeras foi gerenciado através do programa de monitoramento de imagens “Geovision GV 600”.

As filmagens foram realizadas sobre uma Placa de Petri (35 X 10cm) contendo fragmento de mangueira de 2cm de comprimento e com quatro fêmeas e dois machos de *H. mangiferae*. As fêmeas foram marcadas no élitro com tinta branca para diferenciá-las dos machos.

Foram filmados 11 grupos de insetos e no final de cada filmagem verificou-se o número de casais no fragmento de mangueira, a presença de furos e de insetos na placa.

#### *Comportamento de Colonização do Hospedeiro*

O estudo do comportamento de colonização do hospedeiro foi realizado em uma área isolada por tela anti-afídeo na casa de vegetação. Dentro desta área foram colocados, as mudas de manga Espada e liberado a broca-da-mangueira.

A área de 3 x 3 m<sup>2</sup> foi coberta com tela anti-afídeo no teto e nas laterais. A lateral que serve de entrada foi confeccionada uma parede de organza dupla fixada por velcro permitindo assim a entrada no local (Figura 2).

Dentro da área foram distribuídas 12 mudas de manga, 6 das quais com a doença seca-da-mangueira. A distribuição foi aleatória (Quadro 1).

Um dia antes do início do experimento insetos da criação de manutenção foram separados em placas de Petri (9 X 1cm), (n = 1.200) sendo 50% fêmeas. No dia seguinte os insetos foram liberados em quatro pontos equidistantes a razão de 150 fêmeas e 150 machos por ponto (Figura 3).

Quadro 1. Distribuição das mudas de manga Espada na área experimental e os 4 pontos de liberação de *H. mangiferae*. 1D a 6D (Mudas doentes), 7S a 12S (Mudas sadias).

4D	1D	12S	6D
1		2	
3D	7S	10S	8S
3		4	
11S	9S	2D	5D

Após a liberação dos insetos foram feitas avaliações às 24h, 48h e 72h, nas que se contou o número de furos nas mudas, o número de insetos sobre as mudas e o número de insetos nas placas. Cada furo encontrado foi marcado com caneta pincel e registrado em uma tabela.

Ao finalizar as observações, as mudas foram levadas ao laboratório e foi estabelecido o número de insetos no interior das galerias e do número de casais formados (Figura 4).

#### *Análise dos Dados*

Os dados foram analisados pelo teste  $\chi^2$  e as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### *Comportamento de Acasalamento de H. mangiferae*

Foram formados seis casais totalizando 18% dos 66 insetos testados. A posição dos indivíduos na galeria foi sempre com a fêmea no interior seguida do macho. As fêmeas são as primeiras a inspecionar o material a ser colonizado. Foram observados 12 fêmeas e dois machos furando os fragmentos de

mangueira, 18% e 4% respectivamente (Figura 5). Essas observações sugerem que são as fêmeas que iniciam a escavação da galeria.

Segundo Castro (1960) as fêmeas escolhem o local em que irão construir a galeria. Nos primeiros momentos do ataque os insetos recém-chegados percorrem a superfície do ramo a colonizar. É neste momento que o macho encontra a fêmea (que esta escavando sua galeria) e se mantêm próximo a ela. A escavação da galeria é realizada apenas pela fêmea, ficando o macho esperando o momento da cópula. Abrahão e Wegmüller (1974) sugerem que são as fêmeas que escolhem o local de colonização e realizam a escavação das galerias e que são os machos que escolhem as fêmeas. Rossetto et al. (1980) relataram que *H. mangiferae* apresenta comportamento de acasalamento sobre culturas de *C. fimbriata* similar ao observado em ramos de mangueira.

Neste trabalho algumas fêmeas apareceram sozinhas em suas galerias, mas mesmo sem a presença dos machos elas desenvolveram o comportamento de localizar e preparar o ambiente para sua cópula e oviposição cavando suas galerias. O número de machos foi inferior ao número de fêmeas dentro das placas, possivelmente esta foi à razão de algumas fêmeas permanecerem sozinhas nas galerias. Trinta e dois insetos permaneceram andando na placa durante todo o tempo de avaliação, totalizando 48% dos insetos testados. Do total de insetos avaliados houve apenas oito mortos (12%) dentro da placa (Figura 5).

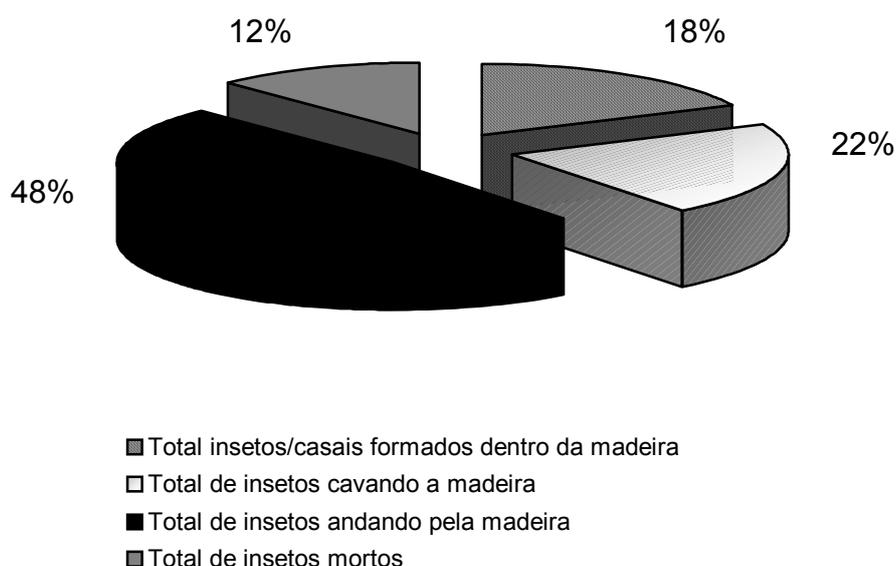


Figura 5. Porcentagem dos comportamentos realizados por *H. mangiferae* durante as observações do acasalamento, em laboratório.

### Comportamento de Colonização de *H. mangiferae* em *Mangifera indica*

As avaliações do comportamento de colonização mostraram que as mudas doentes são mais atacadas do que as mudas saudias. As médias de furos foram de  $10,3 \pm 8,6$  e de  $0,6 \pm 1,68$  respectivamente, totalizando 94% dos ataques nas mudas doentes e 6% nas mudas saudias. Através do teste  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ) verificou-se que as mudas doentes são significativamente mais preferidas do que as mudas saudias. Apesar do número de ataque diminuir com o passar dos dias (24h, 48h e 72h) a significância permaneceu entre os tratamentos (Figura 6).

A taxa de mortalidade da broca-da-mangueira foi de 52% para os machos e de 48% para as fêmeas. A mortalidade das brocas no decorrer dos três dias de avaliações foi proporcional ao número de ataques as mudas. Com a morte dos insetos ocorreu uma queda no número de insetos que procuraram a planta hospedeira para colonizá-la.

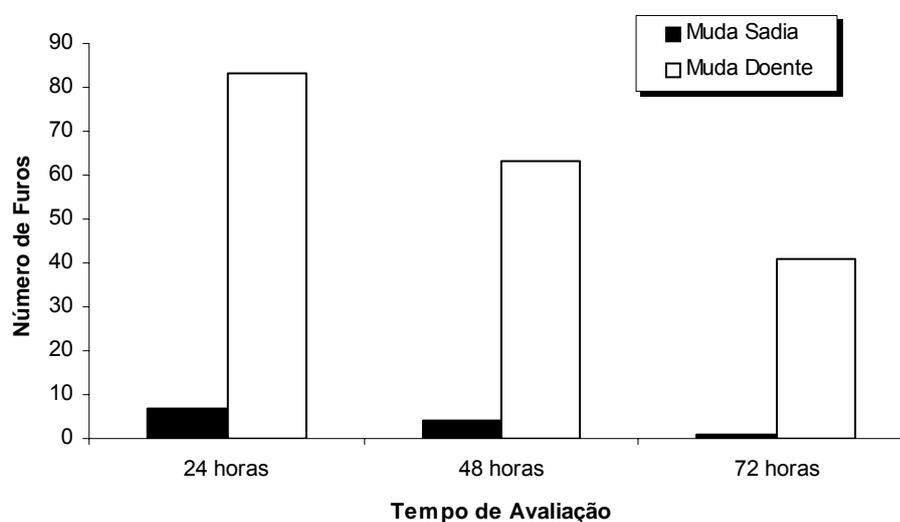


Figura 6. Total de furos feitos por *H. mangiferae* em mudas de manga Espada saudias ou atacadas pelo fungo *C. fimbriata*, em três dias de observação em casa de vegetação.

O número de insetos retirados das mudas doentes foi maior do que das mudas saudias, condizendo com o número de furos citados anteriormente. Foram retirados 65 insetos das mudas doentes (97%) e dois insetos das mudas saudias (3%).

Nas mudas doentes, dos 65 insetos retirados, 44 estavam vivos e 21 estavam mortos. Foram encontrados cinco casais, sendo que quatro desses estavam na muda que mais ataque sofreu. Do total de insetos retirados 36 eram fêmeas e 29 eram machos.

Nas mudas sadias os dois insetos encontrados eram fêmeas e estavam mortos.

Tanto nas mudas doentes quanto nas mudas sadias o número de fêmeas encontradas foram superior ao número de machos, mostrando que primeiramente são atraídas as fêmeas sendo este o sexo pioneiro uma característica de insetos monógamos como o *H. mangiferae*. Estes resultados são similares aos resultados observados no teste de acasalamento, onde as fêmeas foram as primeiras a colonizarem a planta hospedeira.

Na maioria das mudas atacadas o número de furos foi bem expressivo no ápice da planta, ou seja, nos ramos mais finos e mais novos, entre as bifurcações dos galhos (Figura 7A e B).

Após o ataque dos ramos mais finos ocorre a colonização dos ramos mais grossos (Figura 8A). Na base das plantas também foram observados alguns furos bem próximos às raízes (Figura 8B). Segundo Rossetto e Ribeiro (1983) a seca de raiz estabelece sem a intervenção de um vetor, mas segundo os levantamentos realizados possivelmente o inseto *H. mangiferae* pode estar sendo um dos vetores da seca de raiz como ocorre no caso da seca de ponteira. A preferência do inseto pelo ápice da planta não impede que o mesmo colonize suas raízes.

A presença do fungo na planta estimulou o ataque da broca-da-mangueira. As plantas sadias foram também atacadas, mas em menor intensidade e frequência. De acordo com Cunha et al. (1993), o fungo estimula o inseto a abrir galerias na planta e isso facilita seu desenvolvimento na entrecasca dos ramos.

Abrahão e Wegmüller (1974) relataram que os machos morreram mais durante o experimento do que as fêmeas, e que a maioria dos insetos encontrados na mangueira são fêmeas.

Castro (1960) relatou que a broca em contato com a planta entra imediatamente em atividade, percorrendo rapidamente a superfície dos ramos finos e só depois começam a atacar ramos mais grossos.

No trabalho realizado por Martins et al. (1974) com *H. mangiferae* também é relatado essa ocorrência, onde os insetos fazem seu ferimento nos ramos mais jovens progredindo para as demais partes da planta. Ribeiro (1980) relata que nas árvores sadias é comum observar o inseto e sua galeria entre a casca e o lenho, em pequenos ramos decadentes. Ribeiro (1980) e Rossetto et al. (1980) observaram que em plantas doentes o inseto predomina nos ramos mais finos, mas estando presentes desde os ponteiros até o tronco.

Cunha et al. (1993) mostraram que o adulto de *H. mangiferae* penetra nos ramos da mangueira preferindo os galhos mais finos (1 a 6 cm de diâmetro), principalmente na cicatriz da inserção das folhas. Logo após a sua colonização ocorre à exsudação de goma, uma característica do ataque de *H. mangiferae*.

## RESUMOS E CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como objetivo estudar o comportamento de colonização da broca-da-mangueira *Hypocryphalus mangiferae* (Coleoptera: Curculionidae - Scolytinae) em seu hospedeiro *Mangifera indica* visando estabelecer novas técnicas de controle desta praga no campo.

Para iniciar as avaliações foi necessário realizado o estudo de comportamento de acasalamento em laboratório para melhor entender as ações da broca em casa de vegetação. No comportamento de acasalamento verificou que a fêmea de *H. mangiferae* foi a primeira a chegar nos ramos de mangueira e a cavar sua galeria. O macho escolhe sua parceira e fica ao lado protegendo a entrada da galeria. A cópula possivelmente ocorre após a fêmea construir a galeria para a oviposição, uma vez que não se conseguiu observar tal comportamento. A fêmea é atraída primeiro para o hospedeiro e só após o macho é atraído, possivelmente pela presença da fêmea.

Os estudos realizados sobre o comportamento de colonização foram realizados em casa de vegetação e pode-se concluir que mudas doentes de *M. indica* contendo o fungo *C. fimbriata* são mais atrativas para a broca-da-mangueira *H. mangiferae* do que mudas sadias. Os insetos colonizam primeiro os ramos mais finos e mais novos presentes no topo das mudas, atacando

preferencialmente a bifurcação dos galhos progredindo para os ramos mais grossos e regiões próximas às raízes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahão, J., Wegmüller, O. (1974). Atividades do casal de *Hypocryphalus mangiferae* (Stebbing) na construção da célula de oviposição. *O Biológico*, 40(2): 57-58.
- Borror, D.J., DeLong, D.M. (1988). *Introdução ao estudo dos insetos*. Editora Edgard Blücher Ltda, São Paulo. 653p.
- Bostock, R.M., Middleton, G.E. (1987). Relationship of wound periderm formation to resistance to *Ceratocystis fimbriata* in almond bark. *Phytopathology*, 77(8): 1174-1180.
- Castro, R.S. (1960). Contribuição ao estudo do “*Hypocryphalus mangiferae* (Stebbing, 1914)” (Coleoptera – Scolytidae) – Ciclo biológico e etologia. *Tese (Concurso de Professor Livre) - Recife - PE - Universidade Rural de Pernambuco - URP*, 54p.
- Cunha, M.M., Coutinho, C.C., Junqueira, N.T.V., Ferreira, F.R. (1993). Manga para exportação: aspectos fitossanitários. *Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais*, Brasília: EMBRAPA-SPI, 104p.
- Calyecac-Cortero, H.G., Cibrián-Tovar, J., Bautista-Martínez, N. e López-Collado, J. (2004). Comportamiento de alimentación, cortejo, cópula y oviposición de *Trichobaris championi* Barber (Coleoptera: Curculionidae). *Agrociencia*, 38(3): 365-373.

- Martins, E.M.F., Santos, R.R., Moraes, W.B.C. (1974). Aspectos bioquímicos do mecanismo de resistência de mangueiras (*Mangifera indica* L.) a *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Hals. *Arquivo do Instituto Biológico*, 41(4): 175-183.
- Pinto, A.C.Q. (2004). Melhoramento genético da manga (*Mangifera indica* L.) no Brasil. In: Rozane, D.E., Darezzo, R.J., Aguiar, R.L., Aguilera, G.H.A. & Zambolin, L. *Manga - produção integrada, industrialização e comercialização*. Viçosa: UFV, p: 17-78.
- Ribeiro, I.J.A. (1980). Seca da mangueira – Agentes causais e estudo da moléstia. *Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Mangueira*, p: 123-130.
- Rossetto, C.J., Medeiros, J.W.A. (1967). Seca da mangueira. II. Existência do complexo, artrópodos do solo – *Ceratocystis fimbriata* Scolytidae, no Estado de São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia*, 1: 19-32.
- Rossetto, C.J., Ribeiro, I.J.A., Igue, T. (1980). III – Comportamento de variedades de mangueira, espécies de coleobrocas e comportamento de *Hypocryphalus mangiferae*. *Circular do Instituto Agrônomo*, Campinas, 106, 44p.
- Rossetto, C.J., Ribeiro, I.J.A. (1983). Seca da mangueira VI. Uma revisão do problema. *Ciência e Cultura*, 35(10): 1411-1415.
- Rossetto, C.J., Ribeiro, I.J.A. (1990). Seca da mangueira. XII. Recomendações de controle. *Revista de Agricultura*, Piracicaba, 65 (2): 173-180.
- Tainter, F.H. (1993). *Ceratocystis*. In: Singleton, L.L., Mihail, J.D., Rush, C.M. *Methods for research on Soilborne phytopathogenic fungi*. Minnesota, 2<sup>a</sup> ed., p: 55-59.
- Viana, A.M.M. e Vilela, E.F. (1996). Comportamento de Corte e Acasalamento de *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 25(2): 347-350.

## ANEXO



Figura 1. Técnica de inoculação do fungo *C. fimbriata* nas mudas sadias de manga Espada em casa de vegetação.



Figura 2. Vista da área isolada dentro da casa de vegetação utilizada no experimento do comportamento de colonização de *H. mangiferae*.



Figura 3. Vista parcial da área experimental mostrando a distribuição das mudas de manga Espada e os pontos de liberação da broca-da-mangueira (círculos brancos).



Figura 4. Coleta das mudas saudáveis e doentes na casa de vegetação para avaliações no laboratório após o término do experimento.



A



B

Figura 7. (A) Ataque de *H. mangiferae* na bifurcação de ramos mais finos, (B) *H. mangiferae* na galeria localizada na bifurcação do galho.



A



B

Figura 8. (A) O inseto *H. mangiferae* atacando galhos mais grossos de *M. indica*, (B) *H. mangiferae* atacando a base da muda de *M. indica* próximo às raízes.

**3.2. SEMIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS NA INTERAÇÃO BROCA-DA-MANGUEIRA (*Hypocryphalus mangiferae*, Stebb) - FUNGO (*Ceratocystis fimbriata*, Ell & Halst) - MANGA (*Mangifera indica*, L.)**

**RESUMO**

A susceptibilidade da manga (*Mangifera indica*) à broca-da-mangueira tem sido o grande entrave para a mangicultura. Pouco se sabe sobre técnicas de controle desta doença, sendo utilizada apenas a queima dos galhos infectados. Para o controle de alguns besouros de casca utilizam-se semioquímicos. Este trabalho tem como objetivo verificar a existência de semioquímicos que atuem na interação inseto-fungo-planta. Para se verificar a atratividade de odores do complexo inseto-fungo-planta, foram realizados testes de resposta olfativa da broca-da-mangueira *H. mangiferae* num olfatômetro em "Y". Como estímulos olfativos foram utilizados fragmentos de ramos de mangueiras sadias e de mangueiras atacadas pelo fungo *Ceratocystis fimbriata* e pela doença seca-da-mangueira, brocas-da-mangueira machos e fêmeas, massas de fungo *C. fimbriata* cultivado *in vitro* e compostos identificados no perfil químico do fungo *C. fimbriata*. Em testes preliminares foram utilizados como estímulo olfativo fragmentos de planta atacada pela doença seca-da-mangueira e determinou-se que o melhor horário para realizar os testes foi às 10 horas da manhã. As fêmeas e machos da broca-da-mangueira foram atraídos pelos odores de: massas de fungo *C. fimbriata*, ramos de mangueiras sadias, ramos de mangueiras inoculadas com o fungo *C. fimbriata* e ramos de mangueira atacados pela doença seca-da-mangueira junto com brocas-da-mangueira. Quando as substâncias químicas pertencentes ao perfil químico do fungo *C. fimbriata* foram testadas, as fêmeas foram atraídas pelo Geraniol e pelo Acetato de Isobutila, e os machos apresentaram rejeição ao Isobutanol.

**ABSTRACT**

The susceptibilities of mango (*Mangifera indica*) to the drill-give-hose has been the great problem for mangoculture. Little is known about techniques to control this

disease, just the burned of the infected branches has been used. For the control of some borer mango semiochemicals are used. This work has as objective to verify the semiochemicals existence acting in the interaction insect-fungi-plant. To verify the attraction of scents of the complex insect-fungi-plant tests of smell answer of the borer mango *H. mangiferae* were accomplished in an "Y" olfactometer. As olfactive incentives were used fragments of healthy hoses branches, fragments of hoses attacked by the *Ceratocystis fimbriata* fungi and by the mango drought disease, males and females mango borers, masses of *C. fimbriata* fungi cultivated in vitro and composed identified in the chemical profile of the fungi *C. fimbriata*. In preliminary tests it was used as odors stimuli plant fragments attacked by the disease mango drought and it was determined that the best schedule to accomplish the tests were at 10 in the morning. The females and males of mango borers were attracted by odors of: *C. fimbriata* fungi masses, branches of healthy hoses, branches of hoses inoculated with the fungi *C. fimbriata* and branches of hose wholesales by the disease mango drought with borer mango. When chemistries belonging to the chemical profile of the fungi *C. fimbriata* were tested, females were attracted by geraniol and by isobutyl acetate, and males presented repel to isobuthanol.

## INTRODUÇÃO

Um dos grandes entraves da produção de manga é a susceptibilidade da planta a doença seca-da-mangueira. Esta doença foi constatada pela primeira vez no Recife em 1946 (Chaves-Batista, 1947) é causada pelo fungo *Ceratocystis fimbriata* Ell & Halst 1890 que ao provocar gradativamente a seca dos ramos reduz a produtividade até causar a morte da planta. A veiculação e disseminação do fungo estão intimamente associadas à broca-da-mangueira *Hypocryphalus mangiferae* Stebb 1914 (Martins et al., 1974, Ribeiro, 1980, Rossetto e Ribeiro, 1983).

O principal sintoma da doença é a seca dos ramos (Rossetto e Ribeiro, 1983). A doença começa geralmente pelos ramos da copa, mas pode também ter início nas raízes. Neste último caso a planta pode morrer sem apresentar sintomas na parte aérea (Cunha et al., 1993).

A forma como o inseto seleciona a planta hospedeira pode ser um ponto chave no controle da doença. De modo geral, pode-se considerar que a atração do inseto estaria governada por dois fatores. O químico representado por odores ou semioquímicos da planta hospedeira que atuam a grandes distâncias e o físico atuando a curta distância da planta hospedeira representado pela cor, tamanho, forma e espessura da casca (Flechtmann et al., 1995).

Os principais estudos sobre a interação *C. fimbriata* e *H. mangiferae* foram feitos por Rossetto e Medeiros (1967), Abrahão e Wegmüller (1974), Ribeiro (1980), Rossetto et al. (1980) e Rossetto e Ribeiro (1983). No trabalho realizado por Ribeiro (1980) foi utilizada cultura do fungo *C. fimbriata* em placas de petri como estímulo para testes em olfatômetro. Ele concluiu que o fungo *C. fimbriata* é um atraente para o inseto *H. mangiferae*, e que o inseto se alimentava e fazia câmara de oviposição na massa fúngica. Neste mesmo trabalho foram criadas larvas de *H. mangiferae* em cultura de fungo até a fase adulta. Estes resultados deram suporte a Ribeiro (1980) para considerar o inseto como o agente vetor do fungo nos mangueirais. Rossetto et al. (1980) relataram que *H. mangiferae* era atraído pela presença do fungo *C. fimbriata* e que as fêmeas se alimentam e reproduzem neste meio. Adultos de *H. mangiferae* foram observados comendo esporos do fungo e fêmeas fazendo galerias. No trabalho realizado por Cunha et al. (1993) foi relatado que a broca-da-mangueira é estimulada pelo odor do fungo a alimentar-se dele e a abrir galerias na entrecasca dos ramos da planta hospedeira.

A detecção de semioquímicos envolvidos na interação inseto-fungo-planta pode ser estabelecida através da constatação de resposta olfativa aos odores do complexo broca-fungo-mangueira em dispositivos apropriados (Bailez, 1996). Estudos de orientação em coleópteros têm sido feitos utilizando olfatômetros em Y, câmaras de escolha ou arenas onde o inseto tem duas ou mais fontes de odor como opção (Vilela e Della Lucia, 2001).

O uso de semioquímicos em armadilhas de captura permitiria monitorar a presença da broca-da-mangueira na cultura, para implementar o controle no início de um ataque ou o controle do inseto através de captura massal.

Neste contexto, este trabalho foi realizado com a finalidade de verificar a existência de semioquímicos que atuam na interação entre adultos de *H. mangiferae*, o fungo *C. fimbriata* e a mangueira *M. indica* que possam ser usados

como atraentes em armadilhas de captura para monitorar ou controlar a broca-da-mangueira.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Entomologia e Fitopatologia do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias em parceria com o Laboratório de Ciências Químicas do Centro de Ciências e Tecnologias, ambos pertencentes à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes - Rio de Janeiro.

### *Coleta dos Insetos*

Os insetos foram coletados em plantios de manga Espada no município de São Fidélis, localizado na região Norte do estado do Rio de Janeiro. No laboratório, os insetos foram mantidos em potes de vidros (capacidade 3.250 ml) com tampas teladas contendo estacas de mangueiras e areia úmida para evitar o ressecamento do material (Castro, 1960). Os frascos foram mantidos em BOD a temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de (12:12h) luz-escuro.

### *Isolamento do Patógeno*

O fungo *C. fimbriata* Ell & Halst, foi isolado de galhos com sintomas de seca-da-mangueira em plantios de manga Espada no município de São Fidélis. No laboratório o fungo foi isolado através da técnica desenvolvida por Moller e DeVay em 1968 (Tainter, 1993). Pedacos do lenho lesionado (com descoloração interna) foram colocados entre duas rodela de cenoura, sendo anteriormente desinfetados em solução de hipoclorito de sódio (sanitizante comercial com 2% de cloro ativo e 5% de água) e após a cenoura foi selada com fita adesiva. Logo após, o material foi incubado em câmara úmida ( $\text{UR} \pm 100\%$ ), a temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  por quatro dias. Após seu desenvolvimento no pedaço de cenoura, o fungo foi repicado para o meio de extrato de malte (MMEA) em placas de Petri (9 X 1cm), mantidas em BOD a  $25^\circ\text{C}$  para crescimento durante cinco dias e depois

colocado em geladeira para sua conservação. Para a implementação do experimento a cultura do fungo era retirada da geladeira por pelo menos um dia de antecedência, para que o mesmo esporulasse. A cultura do fungo acondicionada na geladeira era repicada uma vez por mês para renovação do material.

### *Material Vegetal*

Mudas de manga da variedade Espada foram preparadas em vasos plásticos (5 L) em casa de vegetação. Quando as plantas alcançaram 90cm de altura uma parte delas foram inoculadas com o fungo *C. fimbriata* obtido da cultura em meio de extrato de malte em laboratório. A inoculação foi feita através de um ferimento no tecido da planta com um canivete contendo em sua lamina micélios e esporos obtidos através da raspagem de colônias em meio de malte. Depois de realizado o ferimento com o canivete contaminado este foi coberto por algodão umedecido com água destilada e envolvido por parafilme, após 24 horas, removeu-se o parafilme (Bostock e Middleton, 1987) (Figura1).

### *Dispositivo Experimental*

O dispositivo utilizado foi um olfatômetro em “Y” feito em vidro de 4 cm de diâmetro e 30 cm de comprimento. No interior do tubo foi colocada uma passarela de PVC de 3 cm de largura acompanhando a forma de “Y” sobre a qual eram liberados os insetos (Figura 2). O arraste de odores no olfatômetro foi provocado por um compressor. O ar de arraste foi filtrado através de carvão ativado contido num cartucho posicionado na entrada de ar ao circuito e umedecido ao passar por um lavador de gases (1.000 ml) contendo 500 mililitros de água destilada. A velocidade do ar utilizada nos testes foi regulada com fluxômetro em 3,5m/s.

Cada braço do olfatômetro foi conectado a uma câmara (cilindro em PVC de 10 cm de comprimento e 4,0 cm de diâmetro) na qual se colocava o estímulo olfativo ou se mantinha vazia como controle. Após os teste com cada estímulo olfativo as partes do olfatômetro eram substituídas por outras limpas.

## Estímulos

Os estímulos olfativos utilizados no experimento foram insetos machos e fêmeas, culturas do fungo *C. fimbriata* cultivadas em meio de extrato de malte, ramos de mangueira sadia ou com seca-da-mangueira ou somente atacadas pelo fungo inoculado em casa de vegetação. Também foram utilizados compostos descritos por Wingfield et al. (1993) como voláteis produzidos pelo fungo *C. fimbriata*. As quantidades utilizadas de cada estímulo estão descritas no Quadro 1. As substâncias foram diluídas 1:10 em pentano.

Quadro 1. Fontes de estímulos utilizados nos testes olfatométricos.

Fonte de Estímulos	Quantidade de estímulos
<b>Material Biológico</b>	
Controle (C)	Vazia
Fêmea (F)	5 insetos
Macho (M)	5 insetos
Massa de Fungo (MF)	5 cm <sup>2</sup> (0,5g) de cultura <i>in vitro</i>
Mangueira Fungo e Inseto/Fêmea (MFI/F)	2,5 g + 5 insetos
Mangueira Fungo e Inseto/Macho (MFI/M)	2,5 g + 5 insetos
Mangueira Inoculada com <i>C. fimbriata</i> (MI)	2,5 g
Mangueira Sadia (MS)	2,5 g
<b>Material Químico</b>	
Etanol + Metanol	1 µl
Etanol	1 µl
Isopentanol	1 µl
Isobutanol	1 µl
Geraniol	1 µl
Propanol	1 µl
Acetato de Isobutila	1 µl
Acetato de Propila	1 µl
Acetato de Isopentila	1 µl

### *Bioensaios*

A avaliação de resposta olfativa foi realizada em sala a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $75 \pm 5\%$  de umidade relativa e luminosidade de 250-300 lux . Nos testes, um inseto era liberado no braço principal do olfatômetro com a ajuda de um pincel. Foi considerado que houve escolha quando o inseto alcançava o extremo de um dos braços antes de 3 min. Assim, o tempo gasto e a escolha de cada inseto foram registrados. Quando após 3 min do início do teste um inseto permanecia no braço principal considerava-se teste sem escolha. Realizaram-se testes até obter 40 insetos de cada sexo que efetuaram escolha. A cada 20 insetos testados as posições do olfatômetro e as câmaras eram invertidas.

Para estabelecer o melhor momento para a realização dos testes, insetos machos e fêmeas foram submetidos a testes de resposta olfativa no olfatômetro em distintos horários do dia: 8:00h, 10:00h, 12:00h, 14:00h e as 16:00h. Como estímulo olfativo usou-se fragmentos de 2,5 g de ramos de mangueira com sintomas da seca-da-mangueira e de ataques do escolitídeo. Os testes foram realizados durante 8 dias a razão de 20 insetos de cada sexo por dia. Cada inseto foi submetido a um teste de escolha em olfatômetro com a opção odor em um braço e controle no outro.

### *Análise dos dados*

A proporção de respostas ao estímulo e ao controle foi analisada pelo teste de proporções de  $\chi^2$ . Os tempos de resposta foram analisados mediante Anova e as médias comparadas pelo teste Tukey.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

No teste que avaliou o melhor horário de resposta olfativa observou-se que machos e fêmeas não apresentam diferenças na taxa de resposta olfativa nem no tempo gasto para alcançar o extremo do braço do olfatômetro. A taxa de resposta olfativa da broca-da-mangueira flutuou ao longo do dia entre 70 e 80 % nas fêmeas e 65 e 75 % nos machos. As brocas gastaram  $51,9 \pm 1,16\text{s}$  (ep) para

responderem aos estímulos em olfatômetro (n=1600). Ao considerar a velocidade de resposta ao longo do dia verificou-se que quando comparado com os horários da tarde o tempo gasto para responder foi menor as 10:00 hs, ( $F_{4,1560} = 5,48$ ,  $p < 0,01$ ) (Tabela 1). Com base a este resultado os testes com os distintos estímulos olfativos foram iniciados sempre as 10:00 h.

Tabela 1. Tempo médio de resposta a odores de mangueira em distintas horas do dia.

Hora	8:00	10:00	12:00	14:00	16:00
Tempo de resposta (seg)	50,6 ab	45,3 a	52,3 ab	54,8 b	56,2 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,01$ ).

Pouco se sabe sobre o ritmo de atividade de *H. mangiferae*, Castro (1960), relatou que estes insetos como outras espécies de escolitídeos parecem mais ativos à luz do sol e que o vôo é mais freqüente ao escurecer.

Fêmeas e machos de *H. mangiferae* responderam diferentemente em relação aos estímulos apresentados, mas ambos foram atraídos pelos estímulos que apresentavam o fungo *C. fimbriata* (Tabela 2). As fêmeas mostraram atração quando estavam na presença dos estímulos massa de fungo (MF) ( $\chi^2 = 14,4$ ;  $p < 0,05$ ), mangueira com fungo e inseto/fêmea (MFI/F) ( $\chi^2 = 22,5$ ;  $p < 0,05$ ), mangueira inoculada (MI) ( $\chi^2 = 4,9$ ;  $p < 0,05$ ) e mangueira sadia (MS) ( $\chi^2 = 8,1$ ;  $p < 0,05$ ). Os machos foram atraídos pelos estímulos massa de fungo (MF) ( $\chi^2 = 4,9$ ;  $p < 0,05$ ), mangueira com fungo inseto/macho (MFI/M) ( $\chi^2 = 19,6$ ;  $p < 0,05$ ), mangueira inoculada (MI) ( $\chi^2 = 12,1$ ;  $p < 0,05$ ) e mangueira sadia (MS) ( $\chi^2 = 8,1$ ;  $p < 0,05$ ) (Tabela 2).

Tabela 2. Número de *H. mangiferae* que responderam a odores do complexo broca-fungo-manga.

Estímulo	Fêmea		Macho	
	Controle	Odor	Controle	Odor
<b>Controle (C)</b>	21	19	20	20
<b>Fêmea (F)</b>	16	24	18	22
<b>Macho (M)</b>	18	22	15	25
<b>Massa de Fungo (MF)</b>	8	32*	13	27*
<b>Mangueira Fungo e Inseto/Fêmea (MFI/F)</b>	5	35*	21	19
<b>Mangueira Fungo e Inseto/Macho (MFI/M)</b>	18	22	6	34*
<b>Mangueira Inoculada (MI)</b>	13	27*	9	31*
<b>Mangueira Sadia (MS)</b>	11	29*	11	29*

- Diferença significativa pelo teste  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ).

Os resultados mostram que a diferença de resposta entre fêmeas e machos está relacionada ao estímulo que contém ao mesmo tempo mangueira, fungo e inseto, sendo que fêmea atraiu fêmea e macho atraiu macho. Quando comparamos o número de insetos que escolheram este estímulo com os demais testes, podemos dizer que foi o estímulo com maior número de respostas positivas para ambos os sexos. Não foi observada atração quando o estímulo foi somente insetos, tanto do mesmo quanto do outro sexo. Dessa forma a presença de odores da planta hospedeira e/ou do fungo parece essencial na atração de adultos de *H. mangiferae*.

Segundo Flechtmann et al. (1995) os escolitídeos selecionam seus hospedeiros através de substâncias químicas liberadas pelos hospedeiros ou por eles próprios e são estas substâncias que irão governar seu comportamento de localização e colonização. No trabalho realizado por Ribeiro (1980), em que foram testados os odores do fungo, não foi avaliada a atratividade dos odores liberados pela planta hospedeira. Neste trabalho observamos que odores de mangueira sadia atraem tanto fêmeas quanto machos de *H. mangiferae*. Os odores da planta são importantes na localização e seleção do hospedeiro. Os resultados encontrados neste trabalho corroboram com os de Martins et al. (1974), Ribeiro (1980), Rossetto e Ribeiro (1980) e Rossetto e Ribeiro (1990) demonstrando o importante papel do fungo *C. fimbriata* como atraente de *H. mangiferae*. Alguns

autores relataram *H. mangiferae* como sendo vetor de *C. fimbriata*, explicando em parte a atratividade dos insetos aos odores deste fungo.

A partir desses resultados verificamos a atratividade de substâncias que formam parte do perfil químico do fungo *C. fimbriata*. A resposta da broca-da-mangueira às diferentes substâncias químicas do fungo é apresentada na Tabela 3. A resposta de machos de *H. mangiferae* foi diferente das fêmeas. Os machos apresentaram rejeição ao Isobutanol ( $\chi^2 = 16,9$ ,  $p < 0,05$ ) e não foram atraídos pelas outras (Figura 03). As fêmeas de *H. mangiferae* foram atraídas por duas substâncias o Geraniol ( $\chi^2 = 4,9$ ,  $p < 0,05$ ) e o Acetato de Isobutila ( $\chi^2 = 8,1$ ,  $p < 0,05$ ).

Tabela 3. Resposta da broca-da-mangueira *H. mangiferae* a diferentes compostos presentes no perfil químico de *C. fimbriata*.

Estímulo	Fêmea		Macho	
	Controle	Odor	Controle	Odor
<b>Etanol + Metanol</b>	15	25	15	25
<b>Etanol</b>	17	23	20	20
<b>Isopentanol</b>	22	18	15	25
<b>Isobutanol</b>	16	24	33*	7
<b>Geraniol</b>	13	27*	23	17
<b>Propanol</b>	21	19	22	18
<b>Acetato de Isobutila</b>	11	29*	19	21
<b>Acetato de Propila</b>	18	22	19	21
<b>Acetato de Isopentila</b>	19	21	20	20

\* Diferença significativa pelo teste  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ).

Ésteres e álcoois são produzidos nos tecidos injuriados da planta. Os ésteres também estão presentes na colônia de *C. fimbriata*. Sabe-se também que alguns ésteres são substâncias tóxicas para os besouros de casca (Wallin e Raffa, 2002).

Segundo DeVay et al. (1968) em pomares onde inoculou *C. fimbriata* pode-se perceber seu odor 3 dias depois de ocorrido a sua infecção e estes voláteis são atrativos aos insetos vetores podendo contribuir para a disseminação do fungo nos pomares. Dentre os ésteres presentes nas espécies de *Ceratocystis*

podemos citar o isobutanol. Esta substância é derivada do metabolismo de aminoácidos e têm como precursores a valina e o acetato de isobutila (Hanssen, 1993). O isobutanol desencadeou o comportamento de rejeição nos machos de *H. mangiferae*, possivelmente esta substância utilizada isoladamente pode estar funcionando como um sinal de antiagregação para estes insetos, exercendo a toxicidade que alguns ésteres expressa no besouro de casca. O acetato de isobutila diferentemente do isobutanol mostrou ser atrativo para as fêmeas de *H. mangiferae*, possivelmente exercendo o papel de atraente primário na localização do hospedeiro susceptível.

Os monoterpenos e sesquiterpenos por sua vez são formados via isoprenoides. Nos isolados de *C. fimbriata* foram encontrados álcoois como linalol, geraniol, citronelol entre outros (Hanssen, 1993). Dentre estes monoterpenos testamos o geraniol que mostrou ser atrativo para as fêmeas de *H. mangiferae*. Este composto pode estar agindo sinergisticamente com o acetato de isobutila para atrair a broca-da-mangueira. O etanol que é liberado por microorganismos presentes nos tecidos lenhosos de plantas estressadas ou deterioradas, atrai um grande número de coleópteros em florestas. Similarmente vários monoterpenos ( $\alpha$ -pineno, myrceno e  $\beta$ -pineno), turpentinóis e o sinergismo entre etanol e monoterpenos agem atraindo um grande número de insetos. Todos estes compostos para os besouros de casca são importantes não apenas para a atração primária da planta hospedeira, mas também para aumentar a resposta ao feromônio de agregação (Byers, 1992).

Vários voláteis (monoterpenos, como o geraniol) presentes na cultura de *Ceratocystis* são também descritos como substâncias químicas de plantas, exercendo para os insetos o papel de caïromônios. Segundo Upadhyay (1981), citado por Hanssen (1993) o que causa a atração do besouro de casca à seiva da planta são os odores de frutas liberados pelo *Ceratocystis*. Outros voláteis como os terpenos, agem como feromônios de insetos (Hanssen, 1993). Muitas espécies de fungos do gênero *Ceratocystis* produzem odores característicos em suas colônias. Estes odores foram descritos por Hunt (1956) como sendo similares a frutas, adocicados e ligeiramente ácidos.

Segundo Byers *et al.* (1989) os besouros de casca secundários que atacam plantas já colonizadas em estado de decomposição usam com menor frequência o feromônio de agregação, sendo mais atraídos pelos voláteis do hospedeiro,

ocorrendo diferentemente com os besouros de casca considerados primários que utilizam mais os feromônios de agregação. Dessa forma a broca-da-mangueira *H. mangiferae*, um inseto secundário, utiliza os compostos químicos do próprio hospedeiro para localizá-lo, sendo as fêmeas as primeiras a chegarem na planta hospedeira atraída pelo acetato de isobutila e pelo geraniol que são considerados os principais compostos que atraem primariamente os besouros de casca, antes mesmo dos feromônios de agregação.

## RESUMOS E CONCLUSÕES

A doença seca-da-mangueira apareceu pela primeira vez em Recife em 1946. Desde então a técnica utilizada para o controle da doença é o corte e queima dos galhos infectados pelo fungo *C. fimbriata*. O inseto *H. mangiferae*, broca-da-mangueira, é considerado o vetor da doença. Uma forma possível de controlar a doença seria o controle do inseto no campo e a maneira como o inseto seleciona a planta hospedeira pode ser o ponto chave este controle. O objetivo do trabalho foi verificar a existência de semioquímicos que atuam na interação entre adultos de *H. mangiferae*, o fungo *C. fimbriata* e a mangueira *M. indica* para que possam ser usados como atraentes em armadilhas de captura para monitorar ou controlar a broca-da-mangueira.

Para estabelecer o melhor momento para a realização dos testes, machos e fêmeas de *H. mangiferae* foram submetidos a testes de resposta olfativa no olfatômetro em distintos horários do dia: 8:00h, 10:00h, 12:00h, 14:00h e as 16:00h. A maior atividade dos insetos foi na parte da manhã às 10:00.

Na avaliação dos dados obtidos no teste de olfatômetro mostrou que a broca-da-mangueira tem atração pela madeira da mangueira variedade Espada, mas a atração aumenta quando há presença do inseto e do fungo. A interação entre os componentes do complexo inseto-fungo-planta aumenta a chance da proliferação da doença seca-da-mangueira. Os machos de *H. mangiferae* na presença do isobutanol, composto químico presente no fungo *C. fimbriata*, teve o comportamento de rejeição. Este composto é um éster e possivelmente poderá ser usado como sinal de antiagregação dos machos como ocorre em outros escolitídeos no momento em que o hospedeiro já esteja com uma quantidade

suficiente de insetos. As fêmeas de *H. mangiferae* foram atraídas pelo acetato de isobutila e pelo geraniol, sendo estes compostos os mais utilizados pelos besouros de casca para selecionar o hospedeiro susceptível.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahão, J., Wegmüller, O. (1974). Atividades do casal de *Hypocryphalus mangiferae* (Stebbing) na construção da célula de oviposição. *O Biológico*, 40(2): 57-58.
- Bailez, O.E., Pham-Delangue, M.H. (1996) Analyse du comportement de butinage de l'abeille sur colza. *Actes des Colloques Insectes Sociaux*. 10: 153-156.
- Bostock, R.M., Middleton, G.E. (1987). Relationship of wound periderm formation to resistance to *Ceratocystis fimbriata* in almond bark. *Phytopathology*, 77(8): 1174-1180.
- Byers, J.A. (1992). Attraction of bark beetles, *Tomicus piniperda*, *Hylurgops palliatus*, and *Trypodendron domesticum* and other insects to short-chain alcohols and monoterpenes. *Journal of Chemical Ecology*, 18(12): 2385-2402.
- Byers, J.A., Lanne, B.S., Löfqvist, J. (1989). Host-tree unsuitability recognized by pine shoot beetles in flight. *Experientia*, 45: 489-492.
- Castro, R.S. (1960). Contribuição ao estudo do "*Hypocryphalus mangiferae* (Stebbing, 1914)" (Coleoptera – Scolytidae) – Ciclo biológico e etologia. *Tese (Concurso de Professor Livre) - Recife - PE - Universidade Rural de Pernambuco - URP*, 54p.
- Chaves-Batista, A. (1947). "Mal do Recife (Grave doença da Mangueira)". *Escola Superior de Agricultura de Pernambuco, Recife*, p: 1-106.

- Cunha, M.M., Coutinho, C.C., Junqueira, N.T.V., Ferreira, F.R. (1993). Manga para exportação: aspectos fitossanitários. *Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais*, Brasília: EMBRAPA-SPI, 104p.
- DeVay, J.E., Lukezic, F.L., English, H., Trujillo, E.E., Moller, W.J. (1968). Ceratocystis canker of deciduous fruit trees. *Phytopathology*, 58: 949-954.
- Flechtmann, C.A.H., Couto, H.T.Z., Gaspareto, C.L., Berti Filho, E. (1995). *Scolytidae em reflorestamento com pinheiros tropicais*. Piracicaba, IPEF, 201p.
- Hanssen, H.P.(1993). Volatile metabolites produced by species of *Ophiostoma* and *Ceratocystis*. In: Wingfield, M.J., Seifert, K.A., Webber, J.F. *Ceratocystis and Ophiostoma. Biology, Taxonomy and Ecology*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota, USA. ISBN, p: 117-125.
- Hunt, J. (1956). Taxonomy of the genus *Ceratocystis*. *Lloydia*, 19: 1-58.
- Martins, E.M.F., Santos, R.R., Moraes, W.B.C. (1974). Aspectos bioquímicos do mecanismo de resistência de mangueiras (*Mangifera indica* L.) a *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Hals. *Arquivo do Instituto Biológico*, 41(4): 175-183.
- Ribeiro, I.J.A. (1980). Seca da mangueira – Agentes causais e estudo da moléstia. *Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Mangueira*. P: 123-130.
- Rossetto, C.J., Ribeiro, I.J.A., Igue, T. (1980). III – Comportamento de variedades de mangueira, espécies de coleobrocas e comportamento de *Hypocryphalus mangiferae*. *Circular do Instituto Agrônomo*, Campinas, 106, 44p.
- Rossetto, C.J., Ribeiro, I.J.A. (1983). Seca da mangueira VI. Uma revisão do problema. *Ciência e Cultura*, 35(10): 1411-1415.

- Rossetto, C.J., Medeiros, J.W.A. (1967). Seca da mangueira. II. Existência do complexo, artrópodos do solo – *Ceratocystis fimbriata* Scolytidae, no Estado de São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia*, 1: 19-32.
- Rossetto, C.J., Ribeiro, I.J.A. (1990). Seca da mangueira. XII. Recomendações de controle. *Revista de Agricultura*, 65(2): 173-180.
- Tainter, F.H. (1993). *Ceratocystis*. In: Singleton, L.L., Mihail, J.D., Rush, C.M. *Methods for research on Soilborne phytopathogenic fungi*. Minnesota, 2<sup>a</sup> ed. p: 55-59.
- Vilela, E.F., Della Lucia, T.M.C. (2001) *Feromônios de Insetos: biologia, química e aplicação*. Ed 2<sup>a</sup>, Holos Editora – Ribeirão Preto, 206p.
- Wallin, K.F., Raffa, K.F. (2002). Prior encounters modulate subsequent choices in host acceptance behavior by the bark beetle *Ips pini*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 103: 205-218.
- Wingfield, M.J., Seifert, K.A., Webber, J.F. (1993) *Ceratocystis and Ophiostoma. Biology, Taxonomy and Ecology*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota, U.S.A. ISBN 0-89054-156-6.

## ANEXO



Figura 1. Técnica de inoculação do fungo *C. fimbriata* nas mudas sadias de manga Espada em casa de vegetação.

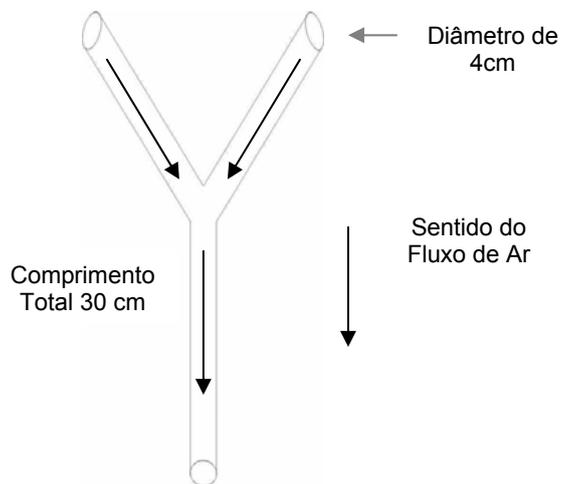


Figura 2. Esquema do tubo do olfatômetro de duas vias, modelo em "Y" (Esq.). Foto do dispositivo olfatométrico (Dir.).

#### 4. RESUMOS E CONCLUSÕES

A manga ocupa o quinto lugar entre os frutos tropicais no mercado internacional e tem surgido como uma das possibilidades de expansão no Estado, devido sua demanda no mercado interno e externo. Entretanto, pragas e as doenças estão limitando os investimentos na mangicultura. A principal enfermidade desta cultura é a seca-da-mangueira detectada no fim da década de 30 e início dos anos 40. Esta doença é causada pelo fungo *C. fimbriata* Ell. & Halst, 1890, tendo como vetor o inseto *H. mangiferae* Stebb, 1914.

O presente trabalho teve como objetivo estudar o comportamento de colonização da broca-da-mangueira *H. mangiferae* em seu hospedeiro *M. indica* e verificar a existência de semioquímicos que atuam na interação entre adultos de *H. mangiferae*, o fungo *C. fimbriata* e a mangueira *M. indica* visando estabelecer novas técnicas de controle desta praga no campo.

Para iniciar as avaliações do comportamento de *H. mangiferae* foi necessário realizar o estudo de comportamento de acasalamento, que ocorreu em laboratório. Após a avaliação do comportamento de acasalamento foram feitas as avaliações do comportamento de colonização em casa de vegetação.

Anteriormente ao estudo de semioquímicos foi realizado um experimento para estabelecer o melhor momento para realização das avaliações.

No comportamento de acasalamento verificou que a fêmea de *H. mangiferae* foi a primeira a chegar nos ramos de mangueira e a cavar sua galeria. O macho escolhe sua parceira e fica ao lado protegendo a entrada da galeria. A cópula possivelmente ocorre após a fêmea construir a galeria para a oviposição,

uma vez que não se conseguiu observar tal comportamento. A fêmea é atraída primeiro para o hospedeiro e só após o macho é atraído, possivelmente pela presença da fêmea.

Através dos estudos do comportamento de colonização pode-se concluir que mudas doentes de *M. indica* contendo o fungo *C. fimbriata* são mais atrativas para a broca-da-mangueira *H. mangiferae* do que mudas saudáveis. Os insetos colonizam primeiro os ramos mais finos e mais novos presentes no topo das mudas, atacando preferencialmente a bifurcação dos galhos progredindo para os ramos mais grossos e regiões próximas às raízes.

A maior atividade dos insetos foi na parte da manhã às 10:00, sendo assim todos os testes com semioquímicos foram realizados entre 8:00 e 12:00 horas.

Na avaliação dos dados obtidos no teste de olfatômetro verificou-se que a broca-da-mangueira tem atração pela madeira da mangueira variedade Espada, mas a atração aumenta quando há presença do inseto e do fungo. A interação entre os componentes do complexo inseto-fungo-planta aumenta a chance da proliferação da doença seca-da-mangueira. Os machos de *H. mangiferae* na presença do isobutanol, composto químico presente no fungo *C. fimbriata*, teve o comportamento de rejeição. Este composto é um éster e possivelmente poderá ser usado como sinal de antiagregação dos machos como ocorre em outros escolitídeos no momento em que o hospedeiro já esteja com uma quantidade suficiente de insetos. As fêmeas de *H. mangiferae* foram atraídas pelo acetato de isobutila e pelo geraniol, sendo estes compostos também utilizados pelos besouros de casca para selecionar o hospedeiro susceptível.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahão, J., Wegmüller, O. (1974). Atividades do casal de *Hypocryphalus mangiferae* (Stebbing) na construção da célula de oviposição. *O Biológico*, 40(2): 57-58.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology*. 4th ed. 869p.
- Alves, S.B. (1998). Microrganismos associados a insetos. In: ALVES, S.B. *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, p: 75-96.
- Agosta, W. C. (1992). *Chemical communication: the language of pheromones*. Scientific American Library, New York, 180p.
- Bailez, O.E., Pham-Delangue, M.H. (1996) Analyse du comportement de butinage de l'abeille sur colza. *Actes des Colloques Insectes Sociaux*, 10: 153-156.
- Bell, J. (1991) Searching behaviour: The behavioural ecology of finding resources. *Behavior Analysis Series*, Londres. Chapman and Hall, 354p.
- Bertl Filho, E., Flechtmann, C.A.H. (1986). *A model of ethanol trap to collect Scolytidae and Platypodidae (Insecta, Coleoptera)*. IPEF, (34): 53-56.

- Birch, M.C. (1978). Chemical communication in pine bark beetles - The interactions among pine bark beetles, their host trees, microorganisms, and associated insects form a system superbly suited for studying the subtlety and diversity of olfactory communication. *American Scientist*, 66: 409-419.
- Bostock, R.M., Middleton, G.E. (1987). Relationship of wound periderm formation to resistance to *Ceratocystis fimbriata* in almond bark. *Phytopathology*, 77(8): 1174-1180.
- Botrel, N. (1994). Manga: Variedade, qualidade e tecnologia pós-colheita. *Informe Agropecuário*, 17(179): 55-60.
- Borden, J.H. (1984) Aggregation Pheromones in the Scolytidae. In: Birch, M. C. (1984) *Pheromones*. London, North-Holland publishing Company, p: 135-160.
- Borges, M. (1995) Attractant compounds of the Southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 24: 215-225.
- Borror, D.J., DeLong, D.M. (1988). *Introdução ao estudo dos insetos*. Editora Edgard Blücher Ltda, São Paulo. 653p.
- Brand, J.M., Bracke, J.W., Markovetz, A.J., Wood, D.L., Browne, L.E. (1975). Production of verbenol pheromone by a bacterium isolated from bark beetles. *Nature*, 254: 136-137.
- Brand, J.M., Bracke, J.W., Britton, L.N., Markovetz, A.J., Barras, S.J. (1976). Bark beetle pheromones: Production of verbenone by a mycangial fungus of *Dendroctonus frontalis*. *Journal of Chemical Ecology*, 2: 195-199.
- Bridges, J.R. (1987). Effects of terpenoid compounds on growth of symbiotic fungi associated with the southern pine beetle. *Phytopathology*, 77(1): 83-85.

- Buchanan, W.D. (1941). Experiments with an ambrosia beetle, *Xylosandrus germanus* (Blfd). *Journal of Economic Entomology*, 34(3): 367-9.
- Byers, J.A. (1983). Sex-specific responses to aggregation pheromone: regulation of colonization density in the bark beetle *Ips paraconfusus*. *Journal of Chemical Ecology*, 9: 129-142.
- Byers, J.A., Lanne, B.S., Löfqvist, J. (1989). Host-tree unsuitability recognized by pine shoot beetles in flight. *Experintia*, 45: 489-492.
- Byers, J.A. (1992). Attraction of bark beetles, *Tomicus piniperda*, *Hylurgops palliatus*, and *Trypodendron domesticum* and other insects to short-chain alcohols and monoterpenes. *Journal of Chemical Ecology*, 18(12): 2385-2402.
- Castro, R.S. (1960). Contribuição ao estudo do "*Hypocryphalus mangiferae* (Stebbing, 1914)" (Coleoptera – Scolytidae) – Ciclo biológico e etologia. *Tese (Concurso de Professor Livre) - Recife - PE - Universidade Rural de Pernambuco - URP*, 54p.
- Carrano-Moreira, A.F., Marques, E.N., Pedrosa-Macedo, J.H. (1994). Eficiência de dois modelos de armadilhas de impacto e influência da altura de instalação na coleta de Scolytidae (Coleoptera). *Revista Árvore*, 18(3): 256-264.
- Chaves-Batista, A. (1947). "Mal do Recife (Grave doença da Mangueira)". *Escola Superior de Agricultura de Pernambuco, Recife*, p: 1-106.
- Calyecac-Cortero, H.G., Cibrián-Tovar, J., Bautista-Martínez, N. e López-Collado, J. (2004). Comportamiento de alimentación, cortejo, cópula y oviposición de *Trichobaris championi* Barber (Coleoptera: Curculionidae). *Agrociencia*, 38(3): 365-373.
- Cerda, H., Fernández, G., López, A., Vargas, J. (1996) Estudio de la atracción del gorgojo rayado *Metamasius hemipterus* (Coleoptera: Curculionidae), olores de

su planta huésped, su feromona de agregación. *Revista Caña de Azúcar*. 14(2): 50-70.

Collier, K.F.S. (1998). Interações tritróficas entre *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae), plantas hospedeiras e ácaros fitófagos e comparação da capacidade de predação. *Tese de Mestrado*. Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ.

Costa Lima, A. (1956). *Insetos do Brasil*. Escola Nacional de Agronomia. Tomo 10, Cap. 29: Coleópteros. Série Didática 12.

Couto, F.A.A. (1982). Melhoramento da mangueira. *Informe Agropecuário*, 8(86): 9-11.

Cristofaro, M., Lecce, F., Campobasso, G., Terragitti, G., Spencer, N.R., Mann, K.D. (2000). Insect-plant relationships and behavioral observations of the stem-feeding beetle *Thamnurgus euphorbiae* Küster (Coleoptera: Scolytidae), a new biocontrol agent from Italy to control leafy spurge in the U.S. *Proceedings of the X International Symposium on Biological Control of Weeds 4-14 July 1999, Montana State University, Bozeman, Montana, USA*. Neal R. Spencer [ed.], p: 615-619.

Cunha. M.M., Coutinho, C.C., Junqueira, N.T.V., Ferreira, F.R. (1993). Manga para exportação: aspectos fitossanitários. *Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais*, Brasília: EMBRAPA-SPI, 104p.

DeVay, J.E., Lukezic, F.L., English, H., Trujillo, E.E., Moller, W.J. (1968). Ceratocystis canker of deciduous fruit trees. *Phytopathology*, 58: 949-954.

Dicke, M., Sabelis, M.W. (1988) Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? *Functional Ecology*, 2: 131-139.

Dicke, M., Van Beek, T.A., Posthumus, M.A., Ben Dom, N., Van Bokhoven, H. E., Groot, A.E. (1990) Isolation and identification of volatiles kairomone that's affects acarine predator-py interactions: involvement of host plant in its production. *Journal of Chemical Ecology*, 16: 381-396.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.  
www.cnpmf.embrapa.br (Acesso em outubro de 2004).

Eiras, A.E., Cavalcanti, M.C., Mendonça, F.A., Vilela, E.F. (1995) Modelo de olfatômetro para avaliar o comportamento de insetos que caminham para a fonte de estímulo. *Livro de resumos, XV Congresso Brasileiro de Entomologia*, Caxambu, p: 204.

Fatzinger, C.W. (1985). Attraction of the black turpentine beetle (Coleoptera: Scolytidae) and other forest coleoptera to turpentine-baited traps. *Environmental Entomology*, 14(6): 768-775.

Flechtmann, C.A.H., Couto, H.T.Z., Gaspareto, C.L., Berti Filho, E. (1995). *Scolytidae em reflorestamento com pinheiros tropicais*. IPEF, 201p.

Galan, V. (1993). The situations of mango culture in the world. *Acta Horticulure*, 241: 31-41.

Graham, K. (1968). Anaerobic induction of primary chemical attractancy for ambrosia beetles. *Canadian Journal of Zoology*, 46(5): 905-8.

Hanssen, H.P.(1993). Volatile metabolites produced by species of *Ophiostoma* and *Ceratocystis*. In: Wingfield, M.J., Seifert, K.A., Webber, J.F. *Ceratocystis and Ophiostoma. Biology, Taxonomy and Ecology*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota, USA. ISBN, p: 117-125.

Hunt, J. (1956). Taxonomy of the genus *Ceratocystis*. *Lloydia*, 19: 1-58.

- Hunt, D.W.A., Borden, J.H. (1990). Conversion of verbenols to verbenone by yeasts isolated from *Dentroctonus ponderosae* (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Chemical Ecology*, 16(4): 1385-1397.
- Jaffé, K., Sanchez, P., Cerda, H., Urdaneta, N.; Hernandez, J.V., Jaffé, R., Martinez, R., Miras, B. (1993) Chemical ecology of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae): Attraction to host plants and to male produce aggregation pheromone. *Journal of Chemical Ecology*, 19(8): 1703-1720.
- Karlson, P., Lüscher, M. (1959) Pheromones, a new term for class of biologically active substances. *Nature*, 183: 55-56.
- Klepzig, K.D., Moser, J.C., Lombardero, M.J., Ayres, M.P., Hofstetter, R.W., Walkinshaw, C.J. (2001). Mutualism and antagonism – Ecological interactions among bark beetles, mites and fungi. *Biotic in plantpathogen associations* (eds. M.J. Jeger and N.J. Spencer) CAB International, p: 237-267.
- Lanier, G.N. (1983) Integration of visual stimuli host odorants, and pheromone by bark beetles and weevils in locating and colonizing host trees. *In: Herbivorous insect*. New York, Academic Press, p: 161-171.
- Lírio, V.S. (2004). Panorama econômico da cultura e comercialização da manga. In: Rozane, D.E., Darezzo, R.J., Aguiar, R.L., Aguilera, G.H.A., Zambolin, L. *Manga - produção integrada, industrialização e comercialização*. Viçosa: UFV. p: 1-15.
- Lima, I.S., Howse, P.E., Stevens, I.D.R. (1996) Volatile components from the salivary glands of calling males of the South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus*: Partial identification and behavioural activity, p.107-113. In: MCPheron, B.A., Steck, G.J. (eds) (1996). *Fruit fly pests: a world assessment of their biology and management*. St. Lucie Press, St. Lucie. 616p.

- Martins, E.M.F., Santos, R.R., Moraes, W.B.C. (1974). Aspectos bioquímicos do mecanismo de resistência de mangueiras (*Mangifera indica* L.) a *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Hals. *Arquivo do Instituto Biológico*, 41(4): 175-183.
- Macías-Sámamo, J.E., Borden, J.H., Pierce, H.D., Gries, JR.R., Gries, G. (1997). Aggregation pheromone of *Pityokteines elegans*. *Journal of Chemical Ecology*, 23(5): 1333-1347.
- Mathieu, F., Brun, L.O., Marchillaud, C., Ferot, B. (1997). Trapping of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* Ferr. (Col., Scolytidae) within a mesh-enclosed environment: interaction of olfactory and visual stimuli. *Journal of Applied Entomology*, 121: 181-186.
- Moura, J.I.L., Vilela, E.F., Silva, N.A., Thiebaut, J.T.L. (1991) Olfatômetro em "Y" adaptado para avaliar a orientação olfativa de lagartas de *Thyrineina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 20: 395-401.
- Noldus, L.P.J.J. (1988) Response of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* to the sex pheromone of its host *Heliothis zea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 48: 293-300.
- Nordlund, D.A., Lewis, J.W. (1976) Terminology of chemical-releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 2: 211-220.
- O'Callaghan, D.P., Gallagher, E.M., Lanier, G.N. (1980). Field evaluation of pheromone-baited trap trees to control elm bark beetles, vectores of dutch elm disease. *Entomological Society of America*, 9(2): 181-185.
- Paine, T.D., Raffa, K.F., Harrington, T.C. (1997). Interactions among Scolytidae bark beetles, their associated fungi, and live host conifers. *Annual Review of Entomology*, 42: 179-206.

- Passera, L. (1984) Aspects Comportementaux de la communication chimique dans les sociétés animales. *Bulletin Societe d'Histoire Naturelle*, 120: 163-174.
- Petterson, J. (1993) Odour stimuli affecting autumn migration of *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Homoptera). *Annals of Applied Biology*, 122: 417-425.
- Person, H.L. (1931). Theory in explanation the selection of certain trees by the western pine beetle. *Journal of Forestry*, 29(5): 696-9.
- Pinto, A.C.Q. (2004). Melhoramento genético da manga (*Mangifera indica* L.) no Brasil. In: Rozane, D.E., Darezzo, R.J., Aguiar, R.L., Aguilera, G.H.A., Zambolin, L. *Manga - produção integrada, industrialização e comercialização*. Viçosa: UFV. p: 17-78.
- Pinto, A.C.Q. (1996). Melhoramento da mangueira (*Mangifera indica* L.) no ecossistema dos Cerrados do Brasil Central por meio da hibridação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 30(3): 369-374.
- Poland, T.M., Borden, J.H. (1998). Disruption of secondary attraction of the spruce beetle, *Dendroctonus rufipennis*, by pheromones of two sympatric species. *Journal of Chemical Ecology*, 24(1): 151-166.
- Renwick, J.A.A., Hughes, P.R., Pitman, G.B., Vite, J.P. (1976). Oxidation products of terpenes identified from *Dendroctonus* and *Ips* bark beetles. *Journal of Insect Physiology*, 22: 725-727.
- Ribeiro, I.J.A. (1980). Seca da mangueira – Agentes causais e estudo da moléstia. *Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Mangueira*, p: 123-130.
- Rossetto, C.J., Medeiros, J.W.A. (1967). Seca da mangueira. II. Existência do complexo, artrópodos do solo – *Ceratocystis fimbriata* Scolytidae, no Estado de São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia*, 1: 19-32.

- Rossetto, C.J., Ribeiro, I.J.A., Igue, T. (1980). III – Comportamento de variedades de mangueira, espécies de coleobrocas e comportamento de *Hypocryphalus mangiferae*. *Circular do Instituto Agrônomo*, 106, 44p.
- Rossetto, C.J., Ribeiro, I.J.A. (1983). Seca da mangueira VI. Uma revisão do problema. *Ciência e Cultura*, 35(10): 1411-1415.
- Rossetto, C.J., Ribeiro, I.J.A. (1990). Seca da mangueira. XII. Recomendações de controle. *Revista de Agricultura*, 65(2): 173-180.
- Rochat, D. (1987) *Estude de la Communication Chimiques Chez un Coleoptere Curculionidae: Rhynchophorus palmarum L. (Coleoptera: Curculionidae)*. Mariversite Paris VI Institute Nacional Agronomique. Paris-Grinon (Dissertação de Mestrado).
- Sant'ana, J., Stein, K. ( 2001). Extração e identificação de substâncias bioativas de insetos. In: Ferreira, J.T.B., Correia, A.G., Vieira, P.C. "*Produtos naturais no controle de insetos*". Série textos da Escola de Verão em Química, número 3. Editora da UFSCAR, São Carlos, p: 47-74.
- Silva, W.J. (1982). Aptidão climática da cultura da mangueira. *Informe Agropecuário*, 8(86): 4-8.
- Simão, S. (1980). Situação da cultura da mangueira no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGUEIRA, 1, 1980, Jaboticabal. *Anais...* Jaboticabal: UNESP, 1980. p: 3-12.
- Simão, S. (1998). *Tratado de Fruticultura*, Piracicaba, FEALQ, 760p.
- Siquiera, D.L., Motoike, S.Y., Salomão, L.C.C. (1999). *Cultura da Mangueira*. (Caderno didático, 50), Editora UFV, Viçosa, 47p.
- Silverstein, R.M, Rodin, J.O., Wood, D.L. (1966). Sex attraction in frass produced by male *Ips confusus* in poderosa pine. *Science*, 154: 509-510.

- Tainter, F.H. (1993). Ceratocystis. In: Singleton, L.L., Mihail, J.D., Rush, C.M. *Methods for research on Soilborne phytopathogenic fungi*. Minnesota, 2<sup>a</sup> ed. p: 55-59.
- Viana, A.M.M. (1992) Comportamento de Agregação e Acasalamento de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae), Mediado por Semioquímicos, Em Olfatômetro. *Dissertação de Mestrado*, apresentado à Universidade Federal de Viçosa, UFV. Abril/92 75p.
- Viana, A.M.M. e Vilela, E.F. (1996). Comportamento de Corte e Acasalamento de *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 25(2): 347-350.
- Vilas, AT. (2003). Panorama do agronegócio da fruta no Brasil e no mundo. (sem referência).
- Vilela, E.F., Della Lucia, T.M.C. (2001) *Feromônios de Insetos: biologia, química e aplicação*. Ed 2<sup>a</sup>, Holos Editora – Ribeirão Preto, 206p.
- Vilela, E.F., Pallini, A. (2002). Uso dos semioquímicos no controle biológico de pragas. In: Parra, J.R.P., Botelho, P.S.M., Corrêa-Ferreira, B.S.C., Bento, J.M.S. *Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores*. São Paulo: Manole, p.: 529-542.
- Wallin, K.F., Raffa, K.F. (2002). Prior encounters modulate subsequent choices in host acceptance behavior by the bark beetle *Ips pini*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 103: 205-218.
- Wingfield, M.J., Seifert, K.A., Webber, J.F. (1993) *Ceratocystis and Ophiostoma*. Biology, Taxonomy and Ecology. *American Phytopathological Society Press*, p: 156-6.

- Wood, D.L. (1972). Selection and colonisation of ponderosapine by bark beetles.  
In: *Insect/Plant Relationships*. Ed.: H. F. van Emden. *Symposia of the Royal Entomological Society of London*, 6: 101-117.
- Wood, S.L. (1986). A reclassification of the genera of Scolytidae (Coleoptera).  
*Great Basin Naturalist Memoirs*, 10: 1-126.