

**7º Simpósio de Ensino de Graduação****COMPORTAMENTO SEXUAL DE DIABROTICA SPECIOSA GERMAR****Autor(es)**

REJANE ANGÉLICA GRIGIO LUVIZOTTO

Co-Autor(es)

JOSÉ MAURICIO SIMÕES BENTO
KAYNA AGOSTIN**Orientador(es)**

CRISTIANE NARDI

1. Introdução

Para os crisomelídeos do gênero *Diabrotica*, os padrões comportamentais envolvidos com a cópula e a comunicação química já foram extensivamente estudados em espécies presentes na região Neártica, como *D. undecempunctata howardi* Barber, *D. virgifera virgifera* LeConte e *D. barberi* Smith & Laurence. Tais pesquisas permitiram o conhecimento sobre os mecanismos de acasalamento e emissão de feromônios, bem como o desenvolvimento de técnicas de manejo dessas espécies em cultivos agrícolas (SPENCER et al., 2009). Para a espécie neotropical, *D. speciosa*, Ventura et al. (2001) demonstraram que armadilhas contendo fêmeas virgens de *D. speciosa* foram atrativas aos machos, em campo. Entretanto, não existem estudos detalhados sobre o comportamento sexual desses insetos ou sobre o componente químico envolvido na atração sexual. Desse modo, informações adicionais sobre esses aspectos poderiam fornecer informações biológicas e ecológicas importantes, que podem favorecer o desenvolvimento de técnicas de manejo de *D. speciosa* em campo.

2. Objetivos

No presente trabalho, objetivou-se estudar o comportamento reprodutivo de *D. speciosa*, a fim de oferecer subsídios para o desenvolvimento de estudos sobre a ecologia química dessa espécie.

3. Desenvolvimento

Para caracterizar a idade da primeira cópula, o ritmo diário e o número de cópulas por casal de *D. speciosa*, foram formados 70 casais, utilizando-se adultos recém emergidos. As observações foram realizadas durante sete dias, em intervalos de uma hora. Em cada período de observação, o registro dos casais em cópula foi realizado caracterizando-se aqueles cujo edeago encontrava-se

completamente introduzido na fêmea.

A coleta dos voláteis emitidos pelos adultos de *D. speciosa* foi realizada pelo sistema de headspace dinâmico (MILLAR & HAYNES, 1998; ZARBIN et al., 1999); utilizando-se câmaras horizontais de vidro (20 cm comprimento x 7 cm diâmetro) com aberturas laterais para a entrada e saída de ar. No interior de cada câmara foram mantidos 30 machos ou 30 fêmeas de *D. speciosa* com 5 a 10 dias de idade, submetidos a um fluxo de ar de 800 mL/min. Na outra extremidade da câmara, foi conectada uma coluna de vidro (7.5x0.5 cm) contendo 0,150g de polímero adsorvente (Super Q® 80/100 Mesh, Alltech Assoc., IL, USA), onde os compostos emitidos ficaram retidos. Após cada coleta, os tubos com adsorvente foram retirados e os voláteis foram eluídos com 2 mL de solvente diclorometano. As amostras foram concentradas para 150 µL utilizando-se N₂ gasoso.

Para avaliar o sexo responsável pela atração e a atividade biológica dos extratos naturais de machos e fêmeas, foram realizados bioensaios em olfatômetro do tipo 'Y'. No tubo principal do olfatômetro foram liberados, individualmente, machos (N=50) ou fêmeas (N=50) virgens de *D. speciosa*, verificando-se a frequência de insetos direcionados para cada um dos seguintes tratamentos: (i) 10 fêmeas virgens vs controle (vazio); (ii) 10 machos virgens vs controle; (iii) extrato de fêmeas (15 equivalentes fêmea) vs controle; (iv) extrato de machos (15 equivalentes macho) vs controle; e (v) controle vs controle.

Para caracterizar a sequência de atividades envolvidas com o comportamento sexual em *D. speciosa*, os bioensaios foram realizados durante o horário de maior atividade sexual dos insetos, utilizando-se casais aptos a copular. Casais virgens (N=50) foram observados para caracterizar a sequência comportamental, quantificar as atividades e registrar a duração de cada uma.

Os dados referentes a idade, horário e período de duração e número de cópulas por casal, foram analisados pelo teste de χ^2 (Chi-quadrado; $\alpha=0,05$). Para proporções não homogêneas, foi utilizado o teste de comparações múltiplas de Marascuillo ($\alpha=0,1$) (MARASCUILLO, 1996; NIST/SIMANTECH, 2002). Os dados referentes aos bioensaios de olfatomia foram analisados pelo teste de χ^2 (Chi-quadrado; $\alpha=0,05$).

4. Resultado e Discussão

A primeira cópula em *D. speciosa* ocorreu entre o terceiro e sétimo dia após a emergência, sendo predominante em indivíduos de 4 dias (75%) (Figura 1). A atividade sexual foi maior entre o final da fotofase (18-20h) e a primeira metade da escotofase (20-2h), não ocorrendo cópulas entre as 4 e 8 horas (Figura 2).

Durante os sete dias de observação, a maioria dos casais copulou uma vez, embora esse comportamento tenha se repetido por 2 a 4 vezes, para cerca de 30% dos adultos.

Nos bioensaios de olfatomia, verificou-se que os machos foram altamente atraídos pelas fêmeas virgens de *D. speciosa* (85%), assim como pelos voláteis emitidos por elas (extratos) (75%) (χ^2 ; $p<0,0001$) (Figura 3a). Por sua vez, as fêmeas se direcionaram para os machos (75%) e seus extratos (75%) nas mesmas proporções que para o tratamento controle (χ^2 ; $p>0,05$) (Figura 3B).

Os resultados do presente trabalho corroboram aqueles obtidos por Ventura et al. (2001), demonstrando que as fêmeas são as responsáveis pela emissão de estímulos sexuais que atraem os machos. Além disso, a significativa atratividade dos extratos de fêmeas comprova que um feromônio é o mediador da comunicação sexual em *D. speciosa*.

Machos e fêmeas de *D. speciosa* apresentaram padrões bem definidos de pré-cópula, cópula e pós-cópula. Parte das fêmeas (52%) realizou o comportamento típico de chamamento, pela exposição de uma membrana localizada entre o sétimo e oitavo esternitos.

A pré-cópula se iniciou com a aproximação sem contato físico, caracterizada pelo caminhar ou por saltos rápidos do macho em direção a fêmea. Após aproximar-se, o macho realizava o contato exploratório, tocando as antenas e peças bucais nos segmentos terminais do abdome da fêmea (70%) ou realizava a monta imediata, sem contato prévio (30%). A cópula iniciou-se no momento em que o edeago estava completamente introduzido na bolsa copuladora. Nessa etapa, algumas fêmeas mostravam-se agitadas (56%) fazendo com que os machos repetissem os movimentos de corte. Por outro lado, as fêmeas que permaneciam paradas (44%) causavam a imobilidade também dos seus parceiros. Após a exposição parcial do edeago iniciaram-se as atividades de pós-cópula, nas quais alguns casais (28%) mantinham os corpos em direção oposta, com o edeago unindo ambos, até que se dava a separação e ambos se distanciavam. Para os demais indivíduos (72%), a retração do edeago ocorria com o macho ainda sobre a fêmea, embora fossem seguidas sequências diferenciais de comportamentos. Em 58% dos casais, o macho retraía o edeago e descia da fêmea rapidamente, sem apresentar comportamento de guarda.

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que machos e fêmeas de *D. speciosa* apresentam certa ritimicidade associada ao comportamento sexual, possivelmente relacionada com a sincronização da emissão e recepção de estímulos sexuais.

Embora algumas particularidades tenham sido evidenciadas, as atividades comportamentais de *D. speciosa* obedecem o padrão observado para outras espécies do gênero e também para outros Coleoptera (SANTOLAMAZZA & CORDERO, 1998; IBEAS et al., 2008). Lew e Ball (1979) estudaram o comportamento de pré-cópula de casais de *D. virgífera*, para a qual foram observados 10 padrões comportamentais distintos, desde o chamamento até a pós-cópula. Esses autores caracterizaram os estímulos táteis das antenas como fatores determinante da aceitação do macho pela fêmea na pré-cópula. No presente trabalho, observou-se que os machos de *D. speciosa* possuem um repertório limitado de comportamentos de corte, os quais se caracterizaram pela antenação e pelas batidas leves da cabeça do macho sobre o dorso da fêmea. Tal comportamento parece ser comum também para outros Chrysomelidae e Cerambycidae. Em *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Coleoptera: Cerambycidae), a fricção das peças bucais contra os élitros da fêmea determinava a aceitação do parceiro e acelerava o início da cópula (IBEAS et al., 2008).

5. Considerações Finais

Os resultados alcançados sobre o comportamento de *D. speciosa* como a idade, horário, duração e o número de cópula por casal ofereceram subsídios importantes para a realização dos bioensaios e identificação do sexo responsável pela atração sexual. As evidências de que as fêmeas produzem feromônios que atraem os machos abrem importantes perspectivas para estudos futuros sobre a comunicação química nessa espécie, assim como para o desenvolvimento de métodos para o manejo de populações em campo. Os resultados obtidos nas observações gerais sobre o comportamento de pré-cópula, cópula e pós cópula serão utilizados, futuramente, na elaboração de um etograma sobre o comportamento sexual nessa espécie.

Referências Bibliográficas

- IBEAS, F.; DÍEZ, J.J.; PAJARES, J.A. Olfactory Sex Attraction and Mating Behaviour in the Pine Sawyer *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Insect Behavior*, New York, v. 21, n. 3, p. 101-110, 2008.
- LEW, A. C. BALL, H.J. The mating behavior of the western corn rootworm *Diabrotica virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America*, Gainesville, v. 72, n. 3, p. 15-15, 1979.
- MARASCUILO, L. A. Large-Sample Multiple-Comparisons. *Psychological Bulletin*, 65: 280-290, 1966..
- MILLAR, J.G.; HAYNES, K.F. *Methods in Chemical Ecology*. New York: Chapman & Hall. Mead, R. 1998.
- NIST/SEMATECH. e-Handbook of Statistical Methods. Disponível em: <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/>, 2009. Acesso em: 02 março de 2009.
- SANTOLAMAZZA, C.S.; CORDERO RIVERA, A. 1998. Sperm competition, cryptic female choice and prolonged mating in the Eucalyptus Snout-Beetle, *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera, Curculionidae). *Etología*, 6: 33-40.
- SPENCER, J.L.; HIBBARD, B.E.; MOESER, J.; ONSTAD, D.W. Behaviour and ecology of the western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte). *Agricultural and Forest Entomology*, 11: 9-27, 2009.
- VENTURA, M.U.; MELLO, P.P.; OLIVEIRA, A.R.M.; SIMONELLI, F.; MARQUES, F.A.; ZARBIN, P.H.G. Males are attracted by females traps: a new perspective for management of *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) using sexual pheromone. *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 30, p. 361-364, 2001.
- ZARBIN, P. H. G.; FERREIRA, J. T. B.; LEAL, W. S. Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônios de insetos. *Química Nova*, São Paulo, 22 (2), 1999. Disponível em: . Acesso em 06 Abril 2009.

Anexos



