



AMPUTAÇÃO DE ÓRGÃOS SENSORIAIS AFETANDO O COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO EM *NEOLEUCINODES ELEGANTALIS* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

H. D. Araújo

W. T. Pontes; E. R. Lima; J. N. Curtinhas

Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Biologia Animal, Av. Peter Henry Rolfs s/n, Campus Universitário, CEP: 36570 000, Viçosa, MG hernaneda@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Nos últimos 20 anos, pesquisas envolvendo interação inseto - planta têm incluído experimentos de reposta de oviposição de fêmeas grávidas a seus hospedeiros. Essa relação é crucial na maioria das interações inseto - planta (Reed *et al.*, 1988). A oviposição em insetos é, com frequência, associada a comportamentos como cavar ou sondar um local de oviposição. Geralmente os ovos são depositados sobre ou próximo do alimento requerido pela prole no momento da eclosão (Gullan & Cranston, 2007).

Todos os estágios da procura de hospedeiro para a oviposição dependem de uma gama de pistas sensoriais, químicas ou físicas (Renwick & Chew, 1994). Em lepidópteros, receptores sensoriais envolvidos na oviposição podem estar presentes nos tarsos, antenas, probóscide e ovipositor (Renwick & Chew, 1994). Segundo Pontes (dados não publicados), antes da oviposição, fêmeas de *Neoleucinodes elegantalis* tocam o substrato com a ponta das antenas, a ponta da probóscide e o ovipositor. Com base nesse comportamento, acredita-se que hajam químico e mecânico - receptores presentes nessas estruturas, que podem ser responsáveis pela escolha do local adequado para oviposição de *N. elegantalis*.

Apesar de sua importância ecológica, atuando como polinizadores, o estudo de Lepidoptera também é importante do ponto de vista econômico, já que várias espécies são pragas de lavouras. A Broca - pequena - do - tomateiro, *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) é uma praga - chave do tomateiro. Ocorre desde o sul do México até o norte da Argentina, passando por Cuba e Porto Rico (Capps, 1948). Além do tomate, *N. elegantalis* ataca outras solanáceas, como berinjela e pimentão (Marcano, 1991). As fêmeas grávidas ovipositam no cálice ou no próprio fruto, e após a eclosão as larvas entram rapidamente no fruto, onde crescem (Toledo, 1948). Mesmo sendo uma praga de grande importância, muito pouco se conhece sobre sua biologia e comportamento.

OBJETIVOS

Os objetivos desse trabalho foram determinar quais órgãos sensoriais são utilizados por *N. elegantalis* na escolha de um sítio de oviposição e analisar seu comportamento de oviposição na ausência de certos órgãos sensoriais.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de fêmeas copuladas

Foram utilizados insetos provenientes de criação em sala climatizada (Fotoperíodo: 12h Luz/12h Escuro, Temp.: 24 ± 1 °C, UR: $65 \pm 2\%$). Para a obtenção de fêmeas de *N. elegantalis* acasaladas, inicialmente pupas foram sexadas e separadas em gaiolas experimentais de madeira e organza (50x50x50 cm). Após eclosão, as fêmeas de 48 horas de idade foram colocadas em contato com machos virgens 4 horas após o início da escotofase. Os adultos foram alimentados com mel a 10%. Observações foram feitas no pico de acasalamento, entre a 5^a e 9^a hora da escotofase (Eiras, 2000), com auxílio de uma lanterna de luz vermelha. Casais foram individualizados e mantidos em frascos plásticos até o final da cópula.

Experimentos de oviposição com fêmeas amputadas

As fêmeas acasaladas foram agrupadas em cinco tratamentos distintos: 1) Fêmeas com a probóscide amputada; 2) fêmeas com as antenas amputadas; 3) fêmeas com as antenas e a probóscide amputadas; 4) fêmeas com um par de patas amputado; 5) fêmeas sem amputações (controle).

Cada tratamento teve 8 repetições, contendo três fêmeas por repetição (n=24). As amputações foram realizadas com uma tesoura especializada. As fêmeas foram gentilmente manipuladas de forma a se extirpar os referidos órgãos, o mais próximo possível da base. Após a amputação, somente as fêmeas que apresentaram comportamento de vôo normal foram utilizadas no experimento, realizado em sala climatizada. Cada grupo foi mantido em gaiola experimental, sem alimentação. Cada gaiola possuía um fruto verde de tomate pendurado, que serviu como sítio de oviposição. Somente os

ovos encontrados nesses frutos foram utilizados para análise. Após 48 horas, foi contado o número de ovos de cada tratamento, com o auxílio de uma lupa estereoscópica. O número de insetos mortos foi contado diariamente.

Observação do comportamento de oviposição de fêmeas amputadas

Foi observado o comportamento de fêmeas acasaladas de cada tratamento, nas mesmas condições do experimento anterior, para verificar se os órgãos extirpados afetam a capacidade do inseto de detectar o sítio de oviposição. Os insetos foram observados individualmente ou em grupos de 3 e possuíam a mesma idade. Essas observações ocorreram durante a montagem do experimento de oviposição e também foram utilizados insetos especialmente para esse fim. Os insetos permaneceram individualizados em frascos plásticos até o momento da observação, que ocorreu a partir da 4ª hora da escotofase. As observações foram feitas com o auxílio de uma lanterna de luz vermelha.

Análise de Dados

Os dados foram analisados com o Sistema Estatístico R (R Development Core Team, 2006), usando Modelo Linear Generalizado (GLM). Para analisar a relação entre oviposição e os diferentes tratamentos de fêmeas amputadas, utilizou-se uma ANOVA com distribuição de erros Poisson. Subsequentemente adotou-se distribuição de erros Quasi - poisson ao se constatar a sobredispersão dos dados. A adoção da distribuição de erros Poisson se deve ao fato dela ser mais adequada na análise de dados de contagem (Crawley, 2005). Análise de resíduo foi feita para verificar diferenças significativas entre os tratamentos. A análise da relação entre sobrevivência e dia foi feita utilizando uma ANOVA simples com distribuição Normal, de forma a se determinar se a mortalidade dos insetos explica o número de ovos por tratamento e se os tratamentos afetaram a sobrevivência desses animais.

RESULTADOS

999 ovos foram ovipositados por fêmeas sem amputações (controle), 673 por fêmeas sem probóscide, 492 por fêmeas sem tarso, 255 por fêmeas sem antena e 99 por fêmeas sem antena e probóscide. Não houve diferença na postura de ovos entre fêmeas sem probóscide e fêmeas sem tarso ($p = 0,8$); e entre fêmeas sem antena e fêmeas sem antena e probóscide ($p = 0,4$). A postura das fêmeas normais diferiram de todas as outras ($p = 0,03766$). O número de ovos foi afetado pela mortalidade, ou seja, quanto maior o número de mortos, menor o número de ovos ($p = 0,0231$). No entanto, o fato de se amputar as fêmeas não afetou a sobrevivência dos insetos ($p = 0,8907$).

O comportamento dos insetos mediante extirpação de estruturas foi o seguinte:

Fêmeas normais ($n = 13$) As fêmeas sobrevoam o tomate algumas vezes antes do pouso. O inseto caminha sobre o fruto, arrastando o ovipositor e a ponta da probóscide sobre o sítio de oviposição, com intensa movimentação das antenas, de acordo com o que foi observado por Pontes (dados não publicados). Alguns insetos ovipositaram na tela da gaiola, apresentando movimentação apenas do ovipositor e das antenas.

Fêmeas sem probóscide ($n = 6$) - O comportamento geral não diferiu do observado para fêmeas normais, exceto pelo movimento da probóscide. No entanto, um dos indivíduos foi visto com um inclinação acentuada do corpo tocando o tomate com a base da probóscide que não foi extirpada.

Fêmeas sem tarso ($n = 5$) - Não foi observada movimentação em torno e sobre o tomate. Observou-se movimentos com a antena em todos os animais e movimentos de arraste do ovipositor na lateral da gaiola em um deles. A falta de um par de tarsos não atrapalha sua movimentação, dado que não tinham problemas em se fixar na gaiola e andavam relativamente bem.

Fêmeas sem antena ($n = 9$) - Os insetos não se movimentaram perto do tomate. Alguns insetos voaram para as laterais da gaiola onde ovipositaram. Movimentos de probóscide e ovipositor foram observados. Uma fêmea tateou a superfície da gaiola com a parte não extirpada da antena.

Fêmeas sem antena e probóscide ($n = 3$) - Dos insetos observados, apenas dois estavam completamente saudáveis. Também não foi observada movimentação em torno e sobre o tomate. Os insetos apresentaram movimentos das bases não extirpadas da antena e probóscide apenas, sem oviposição fora do tomate.

Em um dos insetos notou-se um movimento de tateamento pelos tarsos anteriores diferente do observado nos outros pares de tarso. Esse movimento não ocorreu ou não foi percebido em outros insetos.

Os resultados demonstram que há um efeito do tratamento sobre o número de ovos postos. O fato de indivíduos sem antena ovipositarem menos no tomate pode estar relacionado com a diminuição da capacidade de encontro do fruto, o que foi corroborado pela não observação de oviposição em fêmeas sem este órgão. O olfato é um sentido de grande importância na localização do hospedeiro, e sua percepção se dá principalmente por sensilas da antena (Ramaswamy, 1988). Além disso, também pode-se encontrar quimio - receptores de contato nas antenas que exerçam um papel na seleção de um hospedeiro (Ramaswamy, 1988).

Não é possível afirmar que a probóscide e o tarso são órgãos necessários à oviposição. A queda no número de ovos pode estar relacionado com a injúria causada pela amputação, que não afetou a sobrevivência dos insetos, mas pode ter diminuído seu vigor. O comportamento de arraste da probóscide no hospedeiro pode estar relacionado com seu comportamento alimentar. Tingle & Mitchell (1992) observaram que em machos e fêmeas de *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae), virgens e acasalados, ocorre extensão da probóscide na presença de extratos de algodão. Stadler & Seabrook (1975) determinaram que as sensilas da probóscide de *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae) são sensíveis a açúcares, estando envolvidas no comportamento alimentar, mas não com os sinais químicos do hospedeiro que auxiliam a oviposição. Pelo movimento da base não extirpada da probóscide sobre o hospedeiro, supõe-se que as sensilas não estejam presentes apenas em sua extremidade.

Os tarsos também podem possuir quimio - receptores de contato (Ramaswamy, 1988). Muitas vezes esses receptores

estão associados ao comportamento de *drumming*, um movimento rigoroso das pernas anteriores através do substrato. Durante esse comportamento, as garras tarsais provavelmente arranham a superfície do hospedeiro, liberando compostos que são detectados subsequentemente pelos quimio-receptores adequados (Wallace *et al.*, 004). Esse comportamento tem maior ocorrência em borboletas (Ramswamy, 1988), mas já há relatos dessa movimentação em mariposa. Wallace *et al.*, (2004) descreveu esse comportamento em *C. fumiferana*. Em uma das observações de *N. elegantalis*, foi visto um movimento nos tarsos anteriores semelhante ao comportamento de *drumming*. No entanto, mais observações são necessárias para afirmar que tal comportamento ocorreu de fato. É importante frisar que nos experimentos o par de tarsos extirpado foi o posterior, o que, a princípio, não afetaria a seleção do hospedeiro. Não se pode afirmar que sem o par de tarsos o inseto não reconhece o hospedeiro. Nas observações individuais não foi visto oviposição no hospedeiro, no entanto o experimento de oviposição demonstrou que ocorre postura no tomate. O ovipositor é peça chave no processo de oviposição, e suas sensilas podem ter papel no reconhecimento do hospedeiro. Em mariposas, a qualidade da textura superficial provavelmente é determinada por mecano-receptores presentes no ovipositor (Ramswamy *et al.*, 1987). O ovipositor de *N. elegantalis* possui papilas anais em sua extremidade que podem estar relacionados com mecano-recepção. O movimento de arraste do ovipositor é executado de forma que as papilas entrem em contato com a superfície que pode servir como um sítio de oviposição. Por outro lado, a quimio-recepção de contato é a modalidade sensorial principal e mais comum envolvida na aceitação do hospedeiro (Ramswamy, 1988). Ramswamy & Hanson (1990) também observou que antes da oviposição de *H. virescens* há um comportamento de arraste do ovipositor sobre o hospedeiro. Assim, além de mecano-receptores, receptores de contato no ovipositor devem estar envolvidos no processo de avaliação do hospedeiro. Em todos os tratamentos, exceto o controle, foi observado a presença de ovos nos frascos plásticos onde as fêmeas estavam individualizadas. Isso indica que mesmo em uma superfície quimicamente neutra ocorre a oviposição. Araújo (dados não publicados) comparou o número de ovos postos por fêmeas normais e por fêmeas sem antena em potes plástico neutros e verificou que não houve diferença na quantidade encontrada de ovos.

CONCLUSÃO

Houve diferença na oviposição nos diferentes tratamentos. A identificação das sensilas presentes em cada órgão por meio de microscopia eletrônica de varredura irá esclarecer melhor o papel de cada órgão na escolha de um hospedeiro adequado. A etapa da oviposição é particularmente crucial para os lepidópteros, pois quando a larva é relativamente imóvel, dependerá da escolha da planta hospedeira pela fêmea adulta para sobreviver (Renwick & Chew, 1994). Dessa forma, o estudo dos mecanismos relacionados com a interação ecológica entre insetos e plantas fornece bases para a compreensão da dinâmica entre as duas populações.

Agradecimentos: À Fapemig, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Capps, H.W. 1948.** Status of the pyraustid moths of the genus *Leucinodes* in the world, with descriptions of new genera and species. Proceeding of the United States National Museum 98:69 - 83.
- Crawley, M.J. 2005.** Statistics: an introduction using R. Chichester: John Wiley and Sons.
- Eiras, A.E. 2000.** Calling behaviour and evaluation of sex pheromone glands extract of *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) in wind tunnel. An. Soc. Entomol. Bras., Londrina, v. 29, n. 3, Sept.
- Gullan, P.J.; Cranston, P.S. 2007.** Os insetos: um resumo de entomologia. São Paulo: Roca, 3ª ed.
- Marcano, R. 1991.** Ciclo biológico del perforador del fruto del tomate *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae), usando berenjena (*Solanum melongena*) como alimento. Bol. Entomol. Venesolana 6: 135 - 141.
- R Development Core Team. 2006.** R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: <http://www.R-project.org>, accessed 10 / 8 / 2007.
- Ramswamy, S.B. 1988.** Host finding by moths: sensory modalities and behaviours. Journal of Insect Physiology, Vol. 34, n°3, 235 - 249.
- Ramswamy, S.B; Hanson, F.E. 1990.** Electrophysiological responses of tarsal chemoreceptors of *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae). Symp. Biol. Hung. 39:111 - 17.
- Ramswamy, S.B., Ma, W.K., Baker, G.T. 1987.** Sensory cues and receptors for oviposition by *Heliothis virescens*. Entomologia Experimentalis et Applicata 43, 159 - 168.
- Reed, D.K.; Mikolajczak, K.L.; Krause, C.R. 1988.** Ovipositional Behavior of Lesser Peachtree Borer in Presence of Host - plant Volatiles. Journal of Chemical Ecology, Vol. 14, N° 1: 237 - 252.
- Renwick, J.A.; Chew, F.S. 1994.** Oviposition behavior in Lepidoptera. Annu. Rev. Entomol. 39:377 - 400.
- Stadler, E.; Seabrook, W.D. 1975.** Chemoreceptors on the Proboscis of the Female Eastern Spruce Budworm: Electrophysiological Study. Entomol. Exp. Appl. 18: 153 - 160.
- Tingle, F.C.; Mitchell, E.R. 1992.** Attraction of *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) to volatiles from extracts of cotton flowers. Journal of Chemical Ecology, Vol. 18, n° 6: 907 - 914.
- Toledo, A.A. 1948.** Contribuição para o estudo da *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée, 1854), praga do tomate. Biológico 14: 103 - 108.
- Wallace, E.K.; Albert, P.J.; McNeil, J.N. 2004.** Oviposition Behavior of the Eastern Spruce Budworm *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae). Journal of Insect Behavior, Vol. 17, No. 2: 145 - 154.