

**Técnica para Avaliação da Preferência para Alimentação de
Anthonomus grandis Boh. (Coleoptera: Curculionidae)
por Genótipos de Algodoeiro**

Maria T. do R. Lopes¹ e Fernando M. Lara¹

¹Departamento de Entomologia e Nematologia, FCAV/UNESP, 14870-000,
Jaboticabal, SP.

An. Soc. Entomol. Brasil 25(3): 483-487 (1996)

Technique to Evaluate Feeding Preference of *Anthonomus grandis* Boh.
(Coleoptera: Curculionidae) to Cotton Genotypes

ABSTRACT - Feeding preference of the boll weevil *Anthonomus grandis* Boheman, was evaluated by using water extracts from cotton (*Gossypium hirsutum*) squares. Extracts were applied to marked areas of filter papers inside Petri dishes on a layer of agar. Feeding response was measured by counting the number of punctures of boll weevil. Best concentration of extracts was equivalent to one square, and the use of 12 insects/Petri dish (3 insects/test area) provided better feeding responses. Genotypes La 687FN and "Niles Frego" were less preferred for feeding in free-choice tests, while 'HG-29' was the most preferred. No-choice assay confirmed nonpreference of 'La 687 FN', and preference for 'HG-29'.

KEY WORDS: Insecta, host plant resistance, *Gossypium hirsutum*, laboratory technique, antixenosis.

RESUMO - Avaliou-se a preferência para alimentação do bicudo *Anthonomus grandis* Boheman, em condições de laboratório, utilizando-se extratos aquosos de botões florais dos seguintes genótipos de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*): IAC-20, La 687FN, "Niles Frego" e HG-29. Utilizou-se a técnica de incorporação dos extratos em papel filtro colocado sobre uma camada de ágar em placa de Petri. A resposta de alimentação foi medida pela contagem do número de orifícios nas áreas do papel. A concentração do extrato equivalente a um botão floral e a utilização de 12 insetos/placa (3 insetos/área) forneceu melhor resposta de alimentação do bicudo. Em teste com chance de escolha, os genótipos La 687FN e "Niles Frego" foram os menos preferidos, enquanto o 'HG-29' foi o mais preferido pelo bicudo. O teste sem chance de escolha confirmou a não-preferência de 'La 687 FN' e a maior preferência por 'HG-29'.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, resistência de plantas, *Gossypium hirsutum*, técnica de pesquisa, antixenose.

Para avaliação da resistência de genótipos de algodoeiro ao bicudo *Anthonomus grandis* Boheman e dos mecanismos envolvidos,

várias técnicas têm sido desenvolvidas, em condições de laboratório, objetivando uma seleção mais rápida e eficiente dos materiais.

Para determinar a preferência para alimentação desse inseto, a maioria das pesquisas têm utilizado extratos de botões florais ou de outras partes da planta (Maxwell *et al.* 1963, Jenkins *et al.* 1963, Bayley *et al.* 1969, Hedin *et al.* 1966, McKibben *et al.* 1985, 1989, Parrot *et al.* 1989).

De acordo com Lara (1991), a utilização de extratos de partes da planta facilita a instalação de experimentos em condições de laboratório, pois os diversos tipos de extratos, quando liofilizados, podem ser armazenados facilmente e por período longo.

O trabalho teve por objetivo verificar a ocorrência de não-preferência para alimentação em genótipos de algodoeiro em relação ao bicudo, utilizando extratos aquosos de botões florais, em condições de laboratório.

Material e Métodos

Os testes de não-preferência para alimentação foram realizados no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, Departamento de Entomologia e Nematologia, FCAV/UNESP, em Jaboticabal/SP, no período de abril a junho de 1994. Utilizaram-se extratos aquosos de botões florais dos seguintes genótipos de algodoeiro: IAC-20, La 687FN, "Niles Frego" e HG-29.

Botões com brácteas, de tamanho médio (7 a 9 mm de diâmetro), foram triturados em multiprocessador de alimentos até a obtenção de material homogêneo, o qual foi prensado, obtendo-se um extrato puro, sem adição de água. O extrato foi centrifugado à 2000 rpm por 15 minutos, coletando-se o líquido sobrenadante. A concentração do extrato foi calculada com base no número de botões triturados e volume de extrato obtido.

Para determinação da concentração do extrato e número de insetos que fornecem melhor discriminação dos materiais, utilizou-se extrato de botões florais do genótipo IAC-20 que foi incorporado em áreas delimitadas na periferia de um papel filtro de 12,5 cm de diâmetro, colocado sobre uma camada de ágar de 0,5 cm de espessura, em placa de Petri. Para fixar o papel sobre o ágar, evitando a formação de

ondulações, foram utilizados discos de isopor de 0,5 cm de espessura, ajustados às placas. Nesses discos, foram retirados quatro círculos de 3,8 cm de diâmetro, da periferia, delimitando quatro áreas no papel filtro. O extrato foi incorporado em três áreas do papel, utilizando-se pipetador automático de 0,01 ml de volume, nas concentrações equivalentes a um botão, meio botão e um terço do botão. Uma das áreas foi utilizada como tratamento em branco, incorporando-se apenas água. Em seguida, o papel filtro foi seco com ar quente. No centro das placas, foram liberados 8, 12 ou 16 insetos adultos não-sexados, utilizando-se 15 repetições (placas) para cada número de insetos.

O ensaio foi mantido em estufa incubadora para B.O.D. ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 5\%$, sem luminosidade). Após 18 horas, avaliou-se o número de orifícios feitos pelos insetos em cada área teste. O delineamento experimental foi blocos ao acaso, num arranjo fatorial 3×3 (três concentrações do extrato e três números de insetos). O tratamento em branco foi eliminado da análise estatística pois não foram verificados furos na área correspondente.

De acordo com os resultados obtidos nesse ensaio, foram realizados testes com e sem chance de escolha com extratos dos genótipos utilizando-se a concentração equivalente a um botão floral e 12 insetos (3 insetos/área teste) por placa. Nos testes com chance de escolha, o delineamento experimental foi blocos ao acaso com 20 repetições (placas). Nos testes sem chance, utilizou-se extrato de apenas um genótipo por placa, incorporado em duas áreas do papel filtro, liberando-se 6 insetos por placa. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 20 repetições.

As médias de número de orifícios feitos pelo bicudo em cada área tratada, analisadas pelo teste F, foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 5\%$). A transformação utilizada foi $\ln(x+1)$.

Resultados e Discussão

Na concentração equivalente a um botão

floral ocorreu a maior média de número de orifícios feitos pelos insetos (2,65), diferindo estatisticamente das concentrações equivalentes a meio botão e um terço do botão (Tabela 1). A utilização de 16 e 12 insetos por placa os resultados foram semelhantes. Com 8 insetos/placa, a média foi menor (1,36) que nos demais tratamentos (1,83 a 1,85). Desse modo, pode se considerar que a concentração do extrato equivalente a um botão floral e a utilização de 12 insetos/placa (3 insetos/área

(2,22), seguido pelo genótipo IAC-20 (1,82).

A resistência dos genótipos com bráctea frego tem sido atribuída à característica morfológica de formato das brácteas, que atua negativamente no comportamento alimentar e de oviposição do inseto (Mitchell *et al.* 1973, Jones *et al.* 1986). No entanto, os resultados obtidos neste ensaio sugerem a existência de outros fatores, provavelmente químicos, que interferem na alimentação do bicudo, já que os botões florais foram

Tabela 1. Média (\pm EP) do número de orifícios em papel filtro impregnado com concentrações de extrato de botões florais do genótipo IAC-20 de algodoeiro, usando-se diferentes quantidades de adultos de *Anthonomus grandis*/placa, em teste de preferência para alimentação.

Tratamentos	Número de orifícios ¹ nas áreas tratadas do papel filtro
Concentrações	
1 botão	2,65 \pm 0,10 a
1/2 botão	1,38 \pm 0,13 b
1/3 botão	1,01 \pm 0,12 c
Número insetos/placa	
16	1,85 \pm 0,15 a
12	1,83 \pm 0,13 a
08	1,36 \pm 0,15 b
F (Concentrações)	63,62*
F (N° insetos/placa)	6,61*
F (Interação)	0,47ns
CV (%)	43,06

¹Dados transformados em $\ln(x+1)$. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

teste), proporcionaram melhor resposta de alimentação do bicudo.

Nos testes com chance de escolha (Tabela 2), os genótipos com bráctea frego (La 687FN e "Niles Frego") foram menos preferidos pelo bicudo para alimentação. O genótipo HG-29 foi o mais preferido, apresentando a maior média de número de orifícios de alimentação

oferecidos em forma de extrato.

O genótipo HG-29 (com alto teor de gossipol) foi o mais preferido para alimentação, superando a testemunha suscetível ("IAC-20"). Maxwell *et al.* (1966) observaram maior alimentação do bicudo em genótipos "glanded" (com glândulas de gossipol) do que em genótipos "glandless" (sem glândulas de

Tabela 2. Média (\pm EP) do número de orifícios efetuados por *Anthonomus grandis* em papel filtro impregnado com extrato de botões florais de genótipos de algodoeiro, em testes de preferência para alimentação, com e sem chance de escolha.

Genótipos	Número médio de orifícios ¹ nas áreas tratadas do papel filtro	
	Teste com chance de escolha	Teste sem chance de escolha
HG-29	2,22 \pm 0,10 a	2,55 \pm 0,12 a
IAC-20	1,82 \pm 0,09 b	2,35 \pm 0,10 ab
La 687FN	1,35 \pm 0,12 c	1,94 \pm 0,13 b
“Niles Frego”	1,25 \pm 0,12 c	2,40 \pm 0,14 ab
F	22,79*	4,49*
C.V.(%)	25,94	23,99

¹Dados transformados em $\ln(x+1)$. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

gossipol). Maxwell *et al.* (1967) também verificaram aumento na alimentação de bicudos adultos com a incorporação de gossipol à dieta, obtendo alimentação superior com a utilização de gossipol nas concentrações de 1,65 e 2,65%.

No entanto, Singh & Weaver Jr. (1972), realizando testes em condições de campo, em gaiolas e em laboratório, verificaram que os bicudos preferiram se alimentar e ovipositar em genótipos “glandless” ou “normal-glanded” a genótipos com alto teor de gossipol.

Os resultados obtidos no teste sem chance de escolha (Tabela 2) confirmam a não-preferência para alimentação no genótipo La 687FN e a maior preferência pelo genótipo HG-29, observadas no teste com chance de escolha. O genótipo “Niles Frego”, que também apresentou não-preferência no teste com chance de escolha, não diferiu dos demais.

A metodologia utilizada, adaptada de McKibben *et al.* (1985), foi eficiente para avaliação de respostas de alimentação do bicudo. Ressalta-se que a utilização de discos de isopor para fixar o papel filtro sobre o ágar e delimitar as áreas a serem impregnadas com extrato, contribuiu para o aumento da

eficiência da metodologia, uma vez que diminuiu as ondulações no papel, evitando a preferência dos insetos por áreas em que o papel está mais próximo do ágar.

Agradecimentos

Os autores expressam seus agradecimentos ao CNPq pelo auxílio concedido e bolsa de Pesquisa e à CAPES/MEC pela bolsa de mestrado.

Literatura Citada

- Bayley, W.T., F.G. Maxwell & J.N. Jenkins. 1969. Influence of change in the cotton plant during the season on the feeding, oviposition, and development of the boll weevil. *J. Econ. Entomol.* 62: 239-242.
- Hedin, P.A., A.C. Thompson & J.P. Minyard. 1966. Constituents of the cotton bud. III. factors that stimulate feeding by the boll weevil. *J. Econ. Entomol.* 59: 181-185.
- Jenkins, J.N., F.G. Maxwell, J.C. Keller & W.L. Parrot. 1963. Investigations of

- the water extracts of *Gossypium*, *Abelmoschus*, *Cucumis*, and *Phaseolus* for an arrestant and feeding stimulants for *Anthonomus grandis* Boh. Crop Sci. 3: 215-219.
- Jones, J.E., J.B. Weaver Jr. & M.F. Schuster. 1986.** Plantas resistentes ao bicudo, p.221-249. In S. Barbosa, M.J. Lukefahr & R. Braga Sobrinho (eds.), O bicudo do algodoeiro. Brasília, EM-BRAPA/DDT.
- Lara, F.M. 1991.** Princípios de resistência de plantas a insetos. São Paulo, Ícone, 336p.
- Maxwell, F.G., J.N. Jenkins & J.C. Keller. 1963.** A boll weevil repellent from the volatile substance of cotton. J. Econ. Entomol. 56: 894-895.
- Maxwell, F.G., H.N. Lafever & J.N. Jenkins. 1966.** Influence of the glandless genes in cotton on feeding, oviposition and development of the boll weevil in the laboratory. J. Econ. Entomol. 59:585-588.
- Maxwell, F.G., J.N. Jenkins, W.L. Parrot. 1967.** Influence of constituents of the cotton plant on feeding, oviposition, and development of the boll weevil. J. Econ. Entomol. 60:1294-1297.
- McKibben, G.H., W.L. Parrot & J.W. Smith. 1989.** Feeding response of boll weevils to ester extracts of various cotton plant parts. Southwest. Entomol. 14: 261-264.
- McKibben, G.H., M.J. Thompson, W.L. Parrot, A.C. Thompson & W.R. Lusby. 1985.** Identification of feeding stimulants for boll weevil from cotton buds and anthers. J. Chem. Ecol. 11: 1229-1238.
- Mitchell, H.C., W.H. Cross, W.L. McGovern & E.M. Dawson. 1973.** Behavior of the boll weevil on frego bract cotton. J. Econ. Entomol. 66: 677-680.
- Parrot, W.L., G.H. McKibben & J.T. Robbins. 1989.** Feeding response of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) to ester extracts of host plants. J. Econ. Entomol. 8: 449-453.
- Singh, I.D. & J.B. Weaver Jr. 1972.** Growth and infestation of boll weevils on normal-glanded, glandless, and high-gossypol strains of cotton. J. Econ. Entomol. 65: 821-824.

Recebido em 25/10/95. Aceito em 08/11/96.
