

Obtenção e Manutenção de Adultos de *Conotrachelus* sp. (Broca-do-Fruto de Cupuaçu) em Condições de Laboratório



ISSN 1517-3135

Novembro, 2013

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 109

Obtenção e Manutenção de Adultos de *Conotrachelus* sp. (Broca-do-Fruto de Cupuaçu) em Condições de Laboratório

*Ana Maria Santa Rosa Pamplona
Emerson da Silva Oliveira*

Embrapa Amazônia Ocidental
Manaus, AM
2013

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM 010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

Caixa Postal 319

Fone: (92) 3303-7800

Fax: (92) 3303-7820

www.cpa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*

Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *André Luiz Atroch, Edsandra Campos Chagas, Jony Koji Dairiki, José Clério Rezende Pereira, Kátia Emídio da Silva, Lucinda Carneiro Garcia, Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa, Maria Perpétua Beleza Pereira, Rogério Perin, Ronaldo Ribeiro de Moraes e Sara de Almeida Rios.*

Revisor de texto: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Capa: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Fotos da capa: *Adauto Maurício Tavares, Ana Maria Santa Rosa Pamplona, Aparecida das Graças Claret de Souza e Neuza Campelo.*

1ª edição

1ª impressão (2013): 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Amazônia Ocidental.

Pamplona, Ana Maria Santa Rosa.

Obtenção e manutenção de adultos de *Conotrachelus* sp. (broca-do-fruto de cupuaçu) em condições de laboratório / Ana Maria Santa Rosa Pamplona e Emerson da Silva Oliveira. – Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2013.

20 p. – (Documentos / Embrapa Amazônia Ocidental, ISSN 1517- 3135; 109).

1. Praga de planta. 2. Inseto. 3. *Conotrachelus* sp. 4. Broca-do-fruto. 5. *Theobroma grandiflorum*. 6. Cupuaçu. 7. Colônia de adultos. 8. Ecologia química. I. Oliveira, Emerson da Silva. II. Título. III. Série.

Autores

Ana Maria Santa Rosa Pamplona

Engenheira agrônoma, M.Sc. em Fitotecnia,
pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental,
Manaus, AM, ana.pamplona@embrapa.br

Emerson da Silva Oliveira

Graduando de Biologia, Centro Universitário do Norte
(UniNorte), Manaus, AM.

Apresentação

O cupuaçuzeiro, planta nativa da Amazônia, é uma fruteira tropical de grande aceitação regional que apresenta excelentes possibilidades de destaque no mercado nacional. No entanto, a expansão dessa cultura na Amazônia Ocidental está ameaçada por problemas fitossanitários graves, como a vassoura-de-bruxa e a broca-do-fruto de cupuaçu.

A broca-do-fruto de cupuaçu (*Conotrachelus* sp.) é um pequeno besouro-praga que tem o seu desenvolvimento associado aos frutos do cupuaçuzeiro. Sua presença nos frutos facilita e permite a entrada de patógenos responsáveis pelo apodrecimento da polpa, inviabilizando o consumo do fruto brocado.

Este documento disponibiliza a estudantes e profissionais da área entomológica metodologia adequada de obtenção de larvas e criação de *Conotrachelus* sp. em condições controladas de laboratório. O avanço no conhecimento da biologia dessa espécie, mediante a padronização da forma de criação, visa atender diretamente estudos estratégicos de ecologia química e testes de controle com biocidas naturais, que poderão contribuir para o desenvolvimento e estabelecimento de programa de manejo integrado da broca-do-fruto de cupuaçu.

Luiz Marcelo Brum Rossi
Chefe-Geral

Sumário

| | |
|--|-----------|
| Obtenção e Manutenção de Adultos de <i>Conotrachelus</i> sp. (Broca-do-Fruto de Cupuaçu) em Condições de Laboratório..... | 9 |
| Introdução..... | 9 |
| Material e Métodos..... | 11 |
| Resultados e Discussão..... | 14 |
| Conclusão..... | 17 |
| Referências..... | 18 |

Obtenção e Manutenção de Adultos de *Conotrachelus* sp. (Broca-do-Fruto de Cupuaçu) em Condições de Laboratório

Ana Maria Santa Rosa Pamplona

Emerson da Silva Oliveira

Introdução

Na Amazônia Ocidental, a produção de frutos do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Schum) tem decrescido na última década, passando de 2.705 frutos/ha em 1996 para 1.856 frutos/ha em 2006 (SOUZA et al., 2007). Vários fatores são responsáveis por essa redução, entre eles se destaca a broca-do-fruto. Presente em quase todos os estados da região, tem provocado danos significativos, chegando a inviabilizar o cultivo a partir do terceiro ano, com perda de 100% dos frutos (GARCIA et al., 1997; AGUILAR; GASPAROTTO, 1999).

O inseto é uma colebroca de cor marrom-escura de \pm 8 mm de tamanho, conhecido como *Conotrachelus* sp. (Coleoptera:Curculionidae) (TAVARES et al., 2002). A fêmea desse curculionídeo oviposita de forma endofítica no fruto, e as larvas recém-nascidas caminham para o centro, onde permanecem até o quarto instar larval, chegando ou não a danificar as sementes. Em seguida migram em direção à casca e nesta escavam um orifício de aproximadamente 2,0 mm, lançando-se ao solo, onde passam pelas fases de pré-pupa, pupa e finalmente fase adulta.

O número de furos no fruto é proporcional ao número de larvas projetadas para o solo, visto que cada larva sai por um orifício (AGUILAR; GASPAROTTO, 1999), que serve como porta de entrada para patógenos, responsáveis pelo apodrecimento da polpa.

Em lavouras infestadas, os frutos são atacados nas diversas fases fenológicas; e, se verdes, geralmente não chegam à fase de amadurecimento, pois caem com a polpa destruída pela ação das larvas (THOMAZINI, 2000, 2002; OLIVEIRA, 2003). Segundo Tavares et al. (2002), as fêmeas tem preferência para oviposição em frutos mais velhos, chegando ao índice de 90% de infestação em frutos com idade de 94 dias. Observou-se que mesmo aqueles que completam o crescimento e chegam ao amadurecimento não são aproveitados (GARCIA et al., 1997; THOMAZINI, 2000), pois uma larva é suficiente para inviabilizar a polpa do fruto.

O hábito noturno do inseto dificulta a observação desse indivíduo no seu habitat natural, e suas fases de desenvolvimento (primeiro no interior do fruto e posteriormente no solo) tem retardado o estudo do ciclo biológico do coleoptera e conseqüentemente o avanço do conhecimento em busca de alternativas de controle. Nesse caso, somente com uma população adequada, que possa ser manejada em condições controladas, é possível estudar o comportamento da praga, como, por exemplo, no que se refere à dieta artificial para larvas e adultos e à reprodução sexual.

Neste trabalho, relatam-se a obtenção de indivíduos a partir de larvas de frutos de cupuaçuzeiro, as principais dificuldades e a conservação da colônia de adultos de *Conotrachelus* sp. em condições de laboratório, visando atender, entre outras atividades, o estudo de ecologia química (BORGES et al., 2006) e testes de controle com biocidas naturais.

Material e Métodos

Na safra 2011/2012 foram coletadas amostras de frutos de cupuaçu recém-caídos, recolhidos aleatoriamente sob a copa das árvores, na área experimental do Nagibão, pertencente à Embrapa Amazônia Ocidental. Os frutos foram transportados e processados no laboratório da Unidade, e as larvas foram contadas, separadas por tamanho e cor, mantidas em recipiente de plástico transparente protegido por tampa finamente perfurada, contendo solo procedente do local de cultivo da fruteira. Somente os insetos com características do quarto instar larval (Figuras 1A, B e C) foram utilizados. O solo em umidade natural de campo foi pesado, com peso inicial devidamente registrado na tampa dos respectivos recipientes plásticos que serviram de criatório. Registraram-se também a data do confinamento, o número de larvas e o número da caixa criatório (Figura 2). Os recipientes ficaram acondicionados em câmara climatizada do tipo BOD à temperatura de $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,0\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $80\% \pm 10\%$ e 10h e 12h de fotofase (MENDES, 1996; AGUILAR; GASPAROTTO, 1999). A avaliação da umidade do substrato foi realizada diariamente, de forma indireta, por meio de pesagem do solo, e em caso de necessidade acrescentou-se água, por pulverizações, até alcançar o peso inicial registrado na tampa do respectivo recipiente.

A verificação para coleta de adultos foi diária e os insetos recém-emergidos do solo (Figuras 3A, B e C) foram recolhidos, sexados (SILVA; ALFAIA, 2004) e mantidos individualizados em placas de petri de 90 mm, devidamente etiquetadas com o número sequencial de emergência do solo/recipiente, o número do recipiente de procedência e a data da emergência.

Foto (A): Rodrigo Fascin Benin.



Fotos (B e C): Ana Maria Santa Rosa Pamplona.



Figura 1. A e B) Detalhes das larvas de 4º instar ao serem recolhidas do fruto; C) larva penetrando no solo.

Figura 2. Detalhe das informações nos recipientes de incubação das larvas.



Foto: Ana Maria Santa Rosa Pamplona.

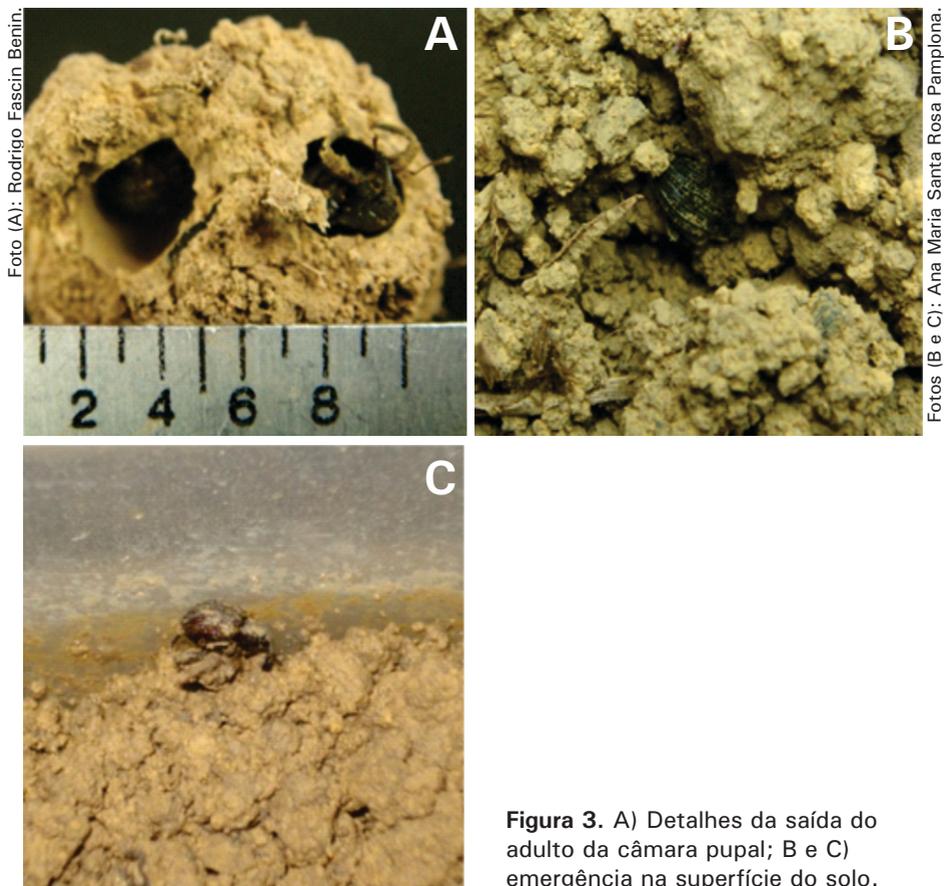


Figura 3. A) Detalhes da saída do adulto da câmara pupal; B e C) emergência na superfície do solo.

As placas de petri foram mantidas em BOD a $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Figura 4) contendo pequenos discos de cana-de-açúcar de 0,3 cm de espessura, previamente tratadas com hipoclorito de sódio a 2%. O tratamento consistiu de imersão do alimento em solução de hipoclorito por dez minutos. Esse cuidado teve a finalidade de higienizar a cana, minimizando a ocorrência de fungos no alimento. Decorrido o tempo previsto, os discos foram retirados da solução e deixados para escorrer por cinco minutos em peneira fina. Antes da troca do alimento as placas de petri contendo os adultos foram previamente higienizadas com álcool a 50% e secas em seguida, efetuando-se a reposição do alimento a cada dois dias.



Fotos: Ana Maria Santa Rosa Pamplona.

Figura 4. Placas de petri com insetos adultos em câmara climatizada.

Resultados e Discussão

Nos frutos processados no período de 30/11/11 a 13/04/12, foram coletadas 3.138 larvas, com características visuais da fase do quarto instar, a saber: tamanho aproximado de 2,0 mm, cabeça castanho-avermelhada, corpo cilíndrico e de cor amarelada. As larvas foram acondicionadas em solo natural, sendo distribuídas em média $44,82 \pm 3,71$ larvas/ recipiente. Do total de larvas incubadas, somente 42,7% (1.340) emergiram. Houve mortalidade acentuada (57,3%), que teve, entre outros motivos, a ação de controladores de população, como fungos e bactérias existentes no solo. Fato igualmente relatado por Mendes et al. (1997), que, estudando a evolução do *C. humeropictus* em cacau, constataram a contaminação de larvas no solo pelos fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*; enquanto Garcia et al. (1997), citado por Aguilar et al. (1999), obtiveram mortalidade de 70% das larvas de *Conotrachelus* sp. por patógenos de solo.

Neste trabalho, ao ser realizada a prospecção do solo dos recipientes de incubação das larvas, constatou-se a existência de inimigos naturais, pois foram colhidas larvas de cupuaçu recobertas por fungo e outras com o corpo deteriorado por bactéria (Figura 5). Esse resultado pode ser considerado normal, levando em conta a procedência do substrato sem nenhum pré-tratamento, que foi a área de plantio da fruteira.

Normalmente os solos são ricos em organismos patogênicos, e as larvas de *Conotrachelus* sp., ao ficarem em contato com o solo, podem ser contaminadas por organismos diversos ou mesmo atacadas por formigas. O baixo número de sobrevivência de adultos (1.154 indivíduos), que corresponde a 31,81%, leva a inferir que provavelmente em condições de campo o número de adultos sobreviventes é pequeno em comparação ao total de larvas que se lançam do fruto para o solo. Assim sendo, é possível que os altos índices de frutos infestados nos campos de produção dessa fruteira sejam decorrentes do abandono dos frutos atacados nas áreas agrícolas, nas sucessivas safras, os quais servem como fonte de reinfestação da praga (AGUILAR et al., 1999; GARCIA et al., 1997; TAVARES et al., 2002).



Foto: Ana Maria Santa Rosa Pamplona.

Figura 5. Solo contaminado.

Outros fatores desconhecidos também provocaram a mortalidade dos insetos. No processamento do solo constatou-se que alguns espécimes, mesmo chegando à fase adulta, não tiveram vigor para seguir em direção à superfície e morreram na câmara pupal (Figuras 6).

Considerando a homogeneidade do solo e a umidade oferecida a todas as larvas, e levando em conta que todos os adultos do gênero *Conotrachelus* passaram pela fase do chamado adulto teneral, que é o período de repouso que propicia o endurecimento e escurecimento da quitina do inseto, o que ocorre ainda na câmara pupal e leva um período médio de 4,56 dias para o *C. humeropictus* (MENDES et al., 1997), seria de esperar um número maior de emergência na superfície. No entanto, do total de indivíduos emergidos (42,7%), observou-se que 10,89% dos adultos morreram antes de completar 24 horas de vida pós-emergência.

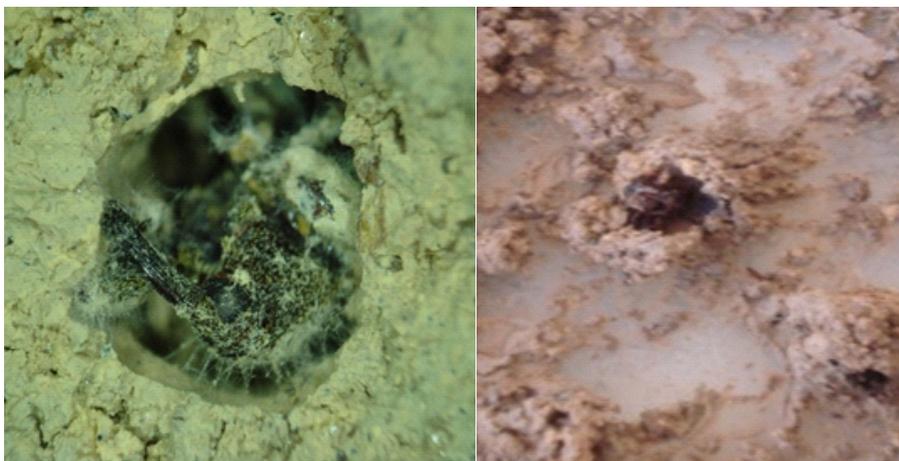


Foto: Ana Maria Santa Rosa Pamplona.

Figura 6. Adultos mortos na câmara pupal.

O tempo médio de incubação das larvas no solo foi de $56,03 \pm 3,67$ dias (variando entre 7 e 103 dias) (Tabela 1), sendo observada diferença acentuada entre o tempo máximo e o mínimo de incubação das larvas. Essa elasticidade do período também foi verificada por Ferreira et al. (2010), um período de 65 a 137 dias para *Conotrachelus* sp. em cupuaçuzeiro. Enquanto para *C. humeropictus*, Mendes et al. (1997) obtiveram tempo médio de incubação de 20,25 dias, variando de 15 a 25 dias para larvas intensamente manuseadas. Esses resultados contrastantes mostram que esse é um parâmetro que necessita ser mais estudado.

Tabela 1. Dados das larvas de *Conotrachelus* sp. em condições de laboratório, no período de 2011-1012.

| Descrição | Total | Média ± DP | Porcentagem (%) |
|-----------------------------------|--------|--------------|-----------------|
| Nº de Recipientes | 70 | - | - |
| Nº total /larvas/solo/recipientes | 3.138 | 44,82 ± 3,71 | - |
| Tempo/permanência/solo (dias) | | | |
| nº = 1.194 adultos | 66.902 | 56,03 ± 3,67 | - |
| Nº de adultos com morte prematura | 146 | - | 10,89 |
| Nº de adultos não emergidos | 1.798 | - | 57,3 |
| Nº de adultos emergidos | 1.340 | - | 42,7 |
| Nº de fêmeas emergidas | 665 | - | 49,58 |
| Nº de machos emergidos | 675 | - | 50,36 |

Fonte: Embrapa Amazônia Ocidental.

Outra possibilidade para essa mortalidade e aparente debilidade do inseto é a existência de antibiose, que é a interferência de algum composto existente na planta sobre alguma parte da biologia do inseto. O cupuaçuzeiro é uma fruteira em domesticação e de grande variabilidade genética, portanto é possível que alguns materiais sejam constituídos de alguma substância que interfere na biologia da referida praga, o que causaria a mortalidade dos insetos.

Quanto à razão sexual, esta foi de aproximadamente 1:1, corroborando o verificado por Aguilar e Gasparotto (1999).

Conclusão

A obtenção de adultos de *Conotrachelus* sp. e a manutenção destes em condições de laboratório mostraram-se eficazes por mantê-los perfeitamente viáveis para atender as necessidades do projeto de "Bioecologia e estratégias de controle da broca-do-cupuaçu *Conotrachelus* sp. (Coleoptera: Curculionidae) na Amazônia".

Referências

AGUILAR, J. A. D.; GASPAROTTO, L. **Alguns aspectos sobre a biologia, comportamento, infestação e perdas causadas pela broca-do-fruto (*Conotrachelus* sp.) do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum.), em Manaus-AM.** Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 1999. 19 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Boletim de Pesquisa, 4).

BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; SILVA, C. C. A. da; MORAES, M. C. B.; SANTOS, H. M. dos; RIBEIRO, D. T. **Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejos da soja (Hemíptera: Pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 18 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 182).

FERREIRA, I. A.; BARBOSA, M. L. L.; LIMA, M. da P. **Aspectos biológicos da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro *Conotrachelus humeropictus* fielder (coleoptera: curculionidae) em condições de laboratório utilizando dietas naturais.** Trabalho apresentado na XIX Jornada de Iniciação Científica PIBIC INPA - CNPq/FAPEAM. Manaus/AM, 2010. 4 p.

GARCIA, M. V. B.; PAMPLONA, A. M. S. R.; MORAES, L. A. C. **Pragas do cupuaçuzeiro: I – A broca-do-fruto**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 1997. 2 p.

MENDES, A. C. de B. **Biologia e controle microbiano de *Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae)**. 1996. 101 f. Tese (Doutorado) - UFPA/Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, PA, 1996.

MENDES, A. C. de B.; MAGALHÃES, B. P.; OHASHI, O. S. *Biologia de Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae), praga do cacauzeiro e do cupuaçuzeiro na Amazônia Brasileira. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 27, p. 135-144, 1997.

OLIVEIRA, S. P. de. *Dispersão horizontal da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) em sistemas agroflorestais de Nova Califórnia, Rondônia. 2003. 79 f. Dissertação (Mestrado) - UFAM/FCA, Manaus, 2003.

SILVA, N. M.; ALFAIA, S. S. **Manejo integrado da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro (Coleoptera: Curculionidae) em sistemas agroflorestais**. Manaus: INPA, 2004. 16 p. (Coleção Cartilhas Técnicas).

SOUZA, A. das G. C. de (Ed.). **Boas práticas agrícolas da cultura do cupuaçuzeiro**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2007. 56 p.

TAVARES, A. M.; SOUZA, A. das G. C. de; NUNES, A. B. **Controle mecânico da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro, *Conotrachelus* sp. (Coleoptera: Curculionidae)**. Manaus: Embrapa-CPAA, 2002. 2 p. (Embrapa-CPAA. Comunicado Técnico, 15).

THOMAZINI, M. J. **A broca dos frutos do cupuaçuzeiro, *Conotrachelus humeropictus* Fiedler**. Rio Branco, AC: EMBRAPA-CPAF-AC, 2000. 4 p. (EMBRAPA-CPAF-AC. Comunicado Técnico, 113).

THOMAZINI, M. J. Flutuação populacional e intensidade de infestação da broca-dos-frutos em cupuaçu. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 463-468, 2002.

Embrapa

Amazônia Ocidental

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

G O V E R N O F E D E R A L
BRASIL
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA