

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESPOSTA COMPORTAMENTAL DA BROCA-DO-CAFÉ
Hypothenemus hampei (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE) A VOLÁTEIS
DE FRUTOS DE CAFÉ**

Hugo Leoncini Rainho

Engenheiro Agrônomo

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESPOSTA COMPORTAMENTAL DA BROCA-DO-CAFÉ
Hypothenemus hampei (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE) A VOLÁTEIS
DE FRUTOS DE CAFÉ**

Hugo Leoncini Rainho

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola)

2015

Rainho, Hugo Leoncini
R154r Resposta comportamental da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) a voláteis de frutos de café / Hugo Leoncini Rainho. -- Jaboticabal, 2015
x, 59 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015
Orientador: Antonio Carlos Busoli
Banca examinadora: Nilza Maria Martinelli, José Maurício Simões Bento
Bibliografia

1. Semioquímicos. 2. Estádios de maturação. 3. "Dust/frass". 4. Interação inseto-planta. 5. Ecologia química. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.731:633.73

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: RESPOSTA COMPORTAMENTAL DA BROCA-DO-CAFÉ *Hypothenemus hampei* (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE) A VOLÁTEIS DE FRUTOS DE CAFÉ

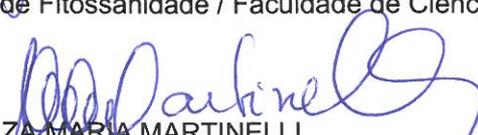
AUTOR: HUGO LEONCINI RAINHO

ORIENTADOR: Prof. Dr. ANTONIO CARLOS BUSOLI

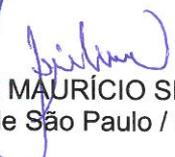
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ANTONIO CARLOS BUSOLI

Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Profa. Dra. NILZA MARIA MARTINELLI

Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. JOSÉ MAURÍCIO SIMÕES BENTO
Universidade de São Paulo / Piracicaba/SP

Data da realização: 22 de outubro de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

HUGO LEONCINI RAINHO – Nasceu em 14 de outubro de 1990 no município de Ilha Solteira, estado de São Paulo. Formou-se Engenheiro Agrônomo pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS), câmpus de Ilha Solteira, SP, em dezembro de 2012. Durante a graduação trabalhou com ecologia de besouros da subfamília Scolytinae (Coleoptera: Curculionidae) e defendeu o trabalho de conclusão de curso intitulado “Seleção hospedeira de Scolytinae (Curculionidae) a espécies arbóreas”. Em agosto de 2013 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) na Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), câmpus de Jaboticabal, SP, como bolsista da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), sob a orientação do Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli, concentrando seus estudos na área de Ecologia e Comportamento de Insetos, particularmente da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae).

“Quanto maior a dificuldade, maior a glória em superá-la. Os maiores navegadores devem sua reputação às tempestades e tormentas”.

(Epiteto)

Aos meus pais,
**Carlos Alberto Rainho e
Suzete Coelho Leoncini Rainho**

irmão,
Heitor Leoncini Rainho

e avó
Aurea Coelho Leoncini

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho de Pós-Graduação pela oportunidade de ingressar no Programa de Agronomia (Entomologia Agrícola).

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli, pela disposição na orientação, pelo conhecimento transmitido durante todo o processo e amizade.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Leandro Borges Lemos, por possibilitar a coleta de material para a pesquisa na área experimental de café do Departamento de Produção Vegetal da FCAV-UNESP.

A Dra. Vera Lucia Rodrigues Machado Benassi, pela atenção e fornecimento dos insetos necessários aos experimentos.

Ao Prof. Dr. José Carlos Barbosa, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Guilherme Duarte Rossi pelas importantes considerações e sugestões feitas em relação ao Projeto de Pesquisa que deu origem a essa Dissertação.

Aos Professores Dr. Odair Aparecido Fernandes e Dra. Nilza Maria Martinelli pelas importantes considerações e sugestões que contribuíram para a melhoria dessa Dissertação.

A todos os alunos e professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), aos colegas do Laboratório de Controle Biológico e Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Fitossanidade, em particular ao Diego Felisbino Fraga, pelo envolvimento em relação à metodologia e desenvolvimento do presente trabalho, além das discussões a ele pertinentes.

Aos meus pais, Carlos Alberto Rainho e Suzete Coelho Leoncini Rainho, e ao meu irmão Heitor Leoncini Rainho, pelo apoio e compreensão em todos os momentos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Importância da cultura do cafeeiro e da broca-do-café <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)	4
2.2 A broca-do-café, <i>Hypothenemus hampei</i>	6
2.2.1 Nomenclatura científica e posição taxonômica	6
2.2.2 Origem e distribuição	6
2.2.3 Aspectos morfológicos e biológicos	7
2.2.4 Ecologia Química, comunicação inter e intraespecífica	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 Estabelecimento da criação de <i>H. hampei</i> em laboratório	30
3.2 Bioensaios comportamentais em olfâmetro	32
3.2.1 Atratividade de <i>H. hampei</i> a voláteis de frutos de café em diferentes estádios de maturação.....	36
3.2.2 Atratividade de <i>H. hampei</i> a voláteis de frutos de café-cereja em diferentes condições	37
3.3 Delineamento experimental e análise estatística	38
4. RESULTADOS	39
4.1 Atratividade de <i>H. hampei</i> a voláteis de frutos de café em diferentes estádios de maturação	39
4.1.1 Experimento 1: café-cereja <i>versus</i> café-verde.....	39
4.1.2 Experimento 2: café-cereja <i>versus</i> café-seco	39
4.1.3 Experimento 3: café-seco <i>versus</i> café-verde.....	39
4.2 Atratividade de <i>H. hampei</i> a voláteis de frutos de café-cereja em diferentes condições	40
4.2.1 Experimento 1: frutos-infestados <i>versus</i> frutos-danificados mecanicamente	40

4.2.2 Experimento 2: frutos-infestados <i>versus</i> frutos-sadios	42
4.2.3 Experimento 3: frutos-sadios <i>versus</i> frutos-danificados mecanicamente	43
5. DISCUSSÃO	44
6. CONCLUSÕES	49
7. REFERÊNCIAS	50

**RESPOSTA COMPORTAMENTAL DA BROCA-DO-CAFÉ *Hypothenemus hampei* (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE)
A VOLÁTEIS DE FRUTOS DE CAFÉ**

RESUMO – Avaliou-se a atratividade de fêmeas colonizadoras da broca-do-café por voláteis de frutos de café em diferentes estádios de maturação (verde, cereja e seco) e condições (frutos infestados por broca, danificados mecanicamente e sadios) de *Coffea arabica* cultivar Catuaí Vermelho IAC-144, em condições de laboratório. A atratividade da broca-do-café por voláteis de frutos foi determinada utilizando-se um olfatômetro de quatro braços em testes comportamentais. A broca-do-café apresentou preferência por voláteis de frutos cereja em comparação a frutos verdes, e por frutos secos em comparação a frutos verdes; não houve diferença significativa quanto à preferência entre os estádios cereja e seco. A broca preferiu voláteis de frutos cereja infestados por broca (“dust/frass” de coloração preta e todos os estádios de vida do inseto presentes) em comparação aos provenientes de frutos cereja sadios, e por frutos infestados em comparação a frutos danificados mecanicamente; não houve diferença significativa entre frutos sadios e frutos danificados mecanicamente. A preferência de *H. hampei* por frutos de café cereja infestados indica que, além dos voláteis produzidos pelo fruto de café, provavelmente estão presentes outros semioquímicos envolvidos no processo de localização da planta de café com frutos por essa espécie, muito provavelmente associados aos resíduos alimentares e fecais produzidos pelo inseto (“dust/frass”). Os resultados foram discutidos em termos da importância de voláteis liberados por frutos cereja, secos, infestados por broca e “dust/frass”.

Palavras-chave: semioquímicos, estádios de maturação, “dust/frass”, interação inseto-planta, Ecologia Química

BEHAVIORAL RESPONSE OF THE COFFEE BERRY BORER *Hypothenemus hampei* (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE) TO THE COFFEE BERRIES VOLATILES

ABSTRACT – It was evaluated the attractiveness of colonizing females of the coffee berry borer (CBB) by coffee berries volatiles at different stages of ripeness (green, ripe and dry) and conditions (infested by CBB, mechanically damaged and healthy berry) of *Coffea arabica* Catuaí Vermelho IAC-144, under laboratory conditions. The attractiveness of CBB females by berries volatiles was determined using a four-arm olfactometer in behavioral bioassays. The CBB showed preference by ripe berries volatiles compared to the green ones, and by dry berries compared to green ones; there was no significant difference in preference between ripe and dry stages. The CBB preferred volatiles of ripe infested berries (black dust/frass and all life stages of the insect present) compared to those from healthy ripe berries, and by infested berries compared to mechanically damaged berries; there was no significant difference between healthy and mechanically damaged berries. The preference of CBB by infested ripe coffee berries indicates that in addition to volatiles produced by the ripe berry probably are present other semiochemicals involved in the process of host selection for this species, most likely associated to dust/frass. The results were discussed in terms of the importance of volatiles released by ripe, dry, infested coffee berries and dust/frass.

Keywords: semiochemicals, ripening stages, dust/frass, insect-plant interaction, Chemical Ecology

1. INTRODUÇÃO

O café é um dos mais importantes produtos de exportação para muitos países em desenvolvimento, especialmente para o Brasil, o maior produtor e exportador do grão. O café é cultivado em mais de 80 países, abrangendo uma área superior a 11 milhões de hectares. O rendimento anual da cafeicultura é estimado em mais de 70 bilhões de dólares e aproximadamente 20 milhões de famílias (equivalente a mais de 100 milhões de pessoas) em todo o mundo dependem dessa cultura para sua subsistência (VEGA; POSADA; INFANTE, 2006; VEGA et al., 2009; CONAB, 2015).

Em muitos países, a produção de café é ameaçada por uma série de insetos-praga e doenças. No Brasil, a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) é considerada o inseto-praga mais importante da cafeicultura em regiões de baixas altitudes (CANTOR; BENASSI; FANTON, 2001). A espécie originou-se na África Central e está presente em praticamente todos os países que cultivam o cafeeiro (BERGAMIN; 1943; BURBANO et al., 2011). Os prejuízos econômicos anuais causados pela broca foram estimados em 215-358 milhões apenas no Brasil (OLIVEIRA et al., 2013).

A fêmea colonizadora de *H. hampei* constrói um orifício no fruto de café, preferencialmente na região da coroa, e deposita seus ovos em uma galeria construída no endosperma da semente, de modo que tanto as larvas como os adultos causam danos consideráveis aos frutos. O dano causado pela alimentação reduz a produção, compromete a qualidade da semente e pode resultar na queda de frutos verdes imaturos. Após o acasalamento, as fêmeas abandonam o fruto de café em que se desenvolveram em busca de outro fruto para ovipositar. O hábito endofítico desse inseto-praga dificulta o seu controle, principalmente o químico, devido a curtos períodos em que o inseto se encontra fora do fruto de café (VEGA; POSADA; INFANTE, 2006; SILVA; COSTA; BENTO, 2014).

O controle químico é o principal método adotado pelos produtores para controlar a broca-do-café. Entretanto, os inseticidas registrados para o seu controle apresentam alta toxicidade e seu uso frequente e excessivo pode elevar o risco de desenvolvimento de populações resistentes (BRUN et al., 1989). Somado a isso, houve a proibição do endossulfan no Brasil pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento (MAPA) em julho de 2013, inseticida tradicionalmente usado no controle da broca-do-café desde a década de 70 (SOUZA et al., 2012). Desde então, não há nenhum inseticida registrado com eficiência de controle equivalente a do endosulfan para a broca-do-café (SOUZA et al., 2013). Para manter a eficiência de táticas de controle no manejo de pragas agrícolas, incluindo o controle químico, é essencial implementar um Programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP). No contexto de um programa de MIP, a utilização de armadilhas com semioquímicos é fundamental, não apenas para indicar o momento ideal para aplicação de métodos de controle (monitoramento), mas também como estratégia de coleta massal da praga.

Insetos fitófagos utilizam uma combinação de estímulos visuais e químicos para localizar suas plantas hospedeiras (BERNAYS; CHAPMAN, 1994). *H. hampei* utiliza tanto estímulos químicos quanto visuais para localizar seu hospedeiro, principalmente os semioquímicos liberados por frutos de café em diferentes estádios de maturação (MENDOZA-MORA, 1991; GIORDANENGO; BRUN; FRÉROT, 1993; MATHIEU et al., 2001; MENDESIL et al., 2009).

Embora alguns trabalhos tenham identificado os voláteis liberados por frutos de café em diferentes estádios de maturação (MATHIEU; MALOSSE; FRÉROT, 1998; ORTIZ et al., 2004), os semioquímicos específicos utilizados pela broca-do-café no processo de seleção hospedeira ainda não foram completamente determinados (MENDESIL et al., 2009).

Os resíduos alimentares e fecais produzidos por *H. hampei*, também denominados “dust/frass” (DAF), estão intimamente associados às atividades de larvas e de adultos da broca no interior de frutos de café. Os “dust/frass” consistem principalmente de uma mistura de fezes, partículas do fruto de café e outros resíduos produzidos por essas fases de vida do inseto (WATERHOUSE; NORRIS, 1989). Ao contrário dos semioquímicos produzidos por frutos de café, o papel dos “dust/frass” na interação química entre a broca e a planta de café é pouco conhecido. Existe uma provável relação entre os voláteis dos “dust/frass” e o comportamento de agregação do inseto em plantações de café (BAKER, 1984; ESQUINCA, 1986; MENDOZA-MORA, 1991).

A mistura de etanol-metanol vem sendo utilizada em armadilhas para captura massal de *H. hampei*, combinada ou não com óleo de café, pó de café verde, cafeína e outros compostos voláteis, com o objetivo de incrementar a captura do inseto em plantações de café, porém com resultados limitados (SILVA; VENTURA; MORALES, 2006; DUFOUR; FRÉROT, 2008; FERNANDES et al., 2014). Embora as capturas sejam consideradas elevadas, estas representam somente uma pequena porcentagem da população total do inseto, o que na maioria das vezes é insuficiente para manter as infestações da praga abaixo do nível de controle (VEGA et al., 2009; FERNANDES et al., 2014). Além disso, a baixa especificidade desses voláteis atrai e captura também outros coleópteros não-alvo (MESSING, 2012).

Uma maneira de aumentar a eficiência da captura ou controle massal é a identificação de semioquímicos que apresentem elevada especificidade à broca-do-café. Para tanto, estudos comportamentais e/ou baseados em GC-MS (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa) e GC-EAG (cromatografia gasosa acoplada ao eletroantenograma) são fundamentais.

Para ampliar o conhecimento sobre as respostas comportamentais do inseto frente à fenologia de produção de frutos de plantas de cafeeiro e aos “dust/frass” produzidos nos frutos infestados, os objetivos do presente trabalho foram: (1) avaliar a atratividade de fêmeas colonizadoras de *H. hampei* a voláteis de frutos de café em diferentes estádios de maturação; (2) avaliar a atratividade de fêmeas colonizadoras de *H. hampei* a voláteis de frutos de café cereja em diferentes condições, tais como: infestados por broca, danificados mecanicamente e sadios.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da cultura do cafeeiro e da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)

O gênero *Coffea* (Rubiaceae) compreende 124 espécies (DAVIS et al., 2011), mas apenas duas delas são exploradas economicamente: *Coffea arabica* L. e *C. canephora* Pierre ex A. Froehner. *C. arabica* é uma espécie endêmica de elevadas altitudes a sudoeste da Etiópia, sudeste do Sudão e norte do Quênia, enquanto *C. canephora* é endêmica de planícies da África tropical (DAVIS et al., 2006). A importância da cultura do cafeeiro no mundo é notável, principalmente como produto agrícola de exportação para aproximadamente 80 países em desenvolvimento, com um rendimento anual estimado em mais de 70 bilhões de dólares. A área total cultivada com café compreende mais de 11 milhões de hectares, com uma produção total de 115 milhões de sacas de café de 60 kg ao ano. Estima-se que aproximadamente 20 milhões de famílias (equivalente a aproximadamente 100 milhões de pessoas) dependam dessa cultura para sua subsistência (VEGA; POSADA; INFANTE, 2006; VEGA; INFANTE; JOHNSON, 2015).

Há controvérsias a respeito da época de introdução da cultura de café no Brasil, mas é certo que isso ocorreu no século XVIII, tornando-se uma das commodities agrícolas mais importantes do país, sendo atualmente o quinto item agrícola mais exportado. O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café e colheu, na safra 2014, mais de 45,3 milhões de sacas beneficiadas, sendo 32,3 milhões de café arábica e 13,0 milhões de café conilon. A área total plantada no país com a cultura de café compreende aproximadamente 2,26 milhões de hectares (CONAB, 2015). A cafeicultura brasileira constitui-se em uma das principais atividades agrícolas nacionais, como um fator importante de desenvolvimento regional, não só como gerador de divisas, mas também como distribuidor de riquezas, na absorção direta e indireta de mão-de-obra (CANTOR; BENASSI; FANTON, 2001).

A produção de café tem aumentado nas últimas décadas devido ao uso de variedades altamente produtivas, fertilizantes e altas densidades de cultivo.

Entretanto, em muitos países a produção de café é ameaçada por uma série de pragas e doenças (JARAMILLO; BORGEMEISTER; BAKER, 2006). Os insetos constituem o grupo mais numeroso de pragas do cafeeiro, sendo catalogadas 850 espécies de insetos associadas à cultura em todo o mundo. Dessas espécies, aproximadamente 200 (23,5%) têm sido reportadas em áreas tropicais e subtropicais do continente americano. Cerca de 30 espécies de insetos-praga, a maioria endêmica das Américas, causam prejuízos considerados importantes (BARRERA, 2008). Os prejuízos econômicos causados por insetos-praga à cultura do cafeeiro foram estimados em aproximadamente 900 milhões de dólares ao ano (OLIVEIRA et al., 2013).

A broca-do-café, *H. hampei* é considerada praga-chave da cultura do cafeeiro e definitivamente uma das mais importantes no mundo, sobretudo no Brasil. Em algumas regiões do país, a broca-do-café é um dos principais problemas fitossanitários da cultura; em outras é o principal, como ocorre nos cultivos de *C. canephora* (CANTOR; BENASSI; FANTON, 2001).

A broca-do-café é um pequeno coleóptero que ataca os frutos de cafeeiro em todos os estádios de maturação, de modo que tanto o adulto quanto as larvas alimentam-se dos tecidos das sementes (DAMON, 2000). Os danos podem ser diretos, provocados por meio da destruição parcial ou total das sementes, resultando na perda de peso, na queda de frutos verdes pequenos (chumbinhos) e comprometendo a classificação do café por tipo; e indiretos, pela contaminação do fruto por fungos que causam o seu apodrecimento, alterando a qualidade e o sabor da bebida (CANTOR; BENASSI; FANTON, 2001).

As infestações não controladas de *H. hampei* podem reduzir a produção de café em até 80% (CEJA-NAVARRO et al., 2015). Os prejuízos causados pela broca-do-café anualmente foram estimados em 500 milhões de dólares em todo o mundo (VEGA; FRANQUI; BENAVIDES, 2002). No Brasil, esses prejuízos foram estimados entre 215 a 358 milhões de dólares ao ano, reforçando a importância econômica desse inseto-praga para a cafeicultura nacional (OLIVEIRA et al., 2013).

2.2 A broca-do-café, *Hypothenemus hampei*

2.2.1 Nomenclatura científica e posição taxonômica

A broca-do-café foi descrita originalmente como *Cryphalus hampei* por Ferrari em 1867, a partir de amostras de café provenientes de Uganda (BERGAMIN, 1943; GIORDANEGO; BRUN; FRÉROT, 1993). A espécie foi então transferida para o gênero *Stephanoderes* por Eichhoff em 1871. Em 1910, Hagedorn considerou-a como uma nova espécie, denominando-a *Stephanoderes coffea* (TICHELER, 1961). Posteriormente, e após alguma controvérsia, *Stephanoderes* e *Hypothenemus* foram unificados em *Hypothenemus* por Browne em 1963. Outros nomes atribuídos à espécie foram *Xyleborus coffeivorus* Van der Weele, 1910 e *Xyleborus coffeicola* Campos Novaes, 1922 (LE PELLEY, 1973; JOHANNESON; MANSINGH, 1984). O nome científico utilizado para a broca-do-café é *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), pertencente à ordem Coleoptera, família Curculionidae, subfamília Scolytinae, tribo Cryphalini (VEGA; INFANTE; JOHNSON, 2015).

2.2.2 Origem e distribuição

A broca-do-café é uma espécie endêmica da África Central (BERGAMIN, 1943). Sua relação com o gênero *Coffea* deve ter se originado na África Central a partir de *C. canephora*, já que *C. arabica* se originou em territórios da Etiópia em altitudes desfavoráveis à broca (BAKER, 1984). A maioria dos autores considera o centro de origem da broca o mesmo do café, Uganda, porque foi o primeiro local onde se constatou a broca como praga importante, em 1908, e porque lá ocorriam seus parasitoides (CANTOR; BENASSI; FANTON, 2001). Na América do Sul, o primeiro país no qual se constatou a presença da praga foi o Brasil, no ano de 1913. Provavelmente, o inseto foi introduzido no município de Campinas por meio de amostras de sementes infestadas de café provenientes do Congo Belga ou de Java (BERTHET, 1913).

Entretanto, o registro oficial da praga no país ocorreu somente em 1924, quando a região infestada nos municípios paulistas já era considerável e os

prejuízos econômicos eram expressivos (BERGAMIN, 1945). Desde então, a broca-do-café espalhou-se por todo o país, estando presente em todas as regiões cafeeiras (CANTOR; BENASSI; FANTON, 2001).

A espécie pode ser encontrada em todos os países onde se cultiva o cafeeiro, com exceção ao Nepal e Papua Nova Guiné (BURBANO et al., 2011). Nesse último caso, a broca atingiu Oksibil em Papua (Indonésia), cerca de 50 km da fronteira com Papua Nova Guiné, de modo que sua introdução poderá ocorrer em breve. O Nepal possui apenas uma pequena quantidade de plantações de cafeeiros e está livre do inseto (EPPO, 2014). O registro da presença do inseto em Porto Rico por Le Pelley (1968) foi baseado em um erro, de modo que buscas realizadas nas principais regiões cafeeiras do país em 1998 e 2002 confirmaram que a praga não estava presente (VEGA; FRANQUI; BENAVIDES, 2002). A presença de *H. hampei* em Porto Rico foi oficialmente constatada em 2007 (NAPPO, 2007) e atualmente o inseto está amplamente distribuído nas regiões montanhosas do país e causa perdas significativas à cafeicultura. Até em ilhas como o Havaí, houve a introdução de *H. hampei*, a qual ocorreu em agosto de 2010, ao sul do distrito de Kona (BURBANO et al., 2011; MESSING, 2012).

2.2.3 Aspectos morfológicos e biológicos

A broca-do-café possui desenvolvimento holometábolo, apresentando os estádios de ovo, larva, pupa e adulto. Essa espécie possui hábito endofítico, permanecendo a maior parte do seu ciclo de vida no interior do fruto de café (BERGAMIN, 1943; MATHIEU et al., 2001). Além disso, o ciclo desse inseto é multivoltino com sobreposição de gerações, o que resulta na presença de indivíduos de diferentes idades e estádios de desenvolvimento dentro do mesmo fruto (MATHIEU et al., 2001). Durante todo o período de desenvolvimento de frutos, podem ocorrer entre três e quatro gerações da broca nas condições climáticas brasileiras (BERGAMIN, 1943; CURE et al., 1998).

2.2.3.1 Fase adulta

O adulto de *H. hampei* é um pequeno besouro de coloração preta lustrosa, de corpo cilíndrico, ligeiramente recurvado na região posterior e coberto por cerdas filiformes. O pronoto apresenta forma semicircular e superfície lisa. Visto dorsalmente, o pronoto recobre completamente a cabeça, é inclinado na região posterior e contém uma grande quantidade de asperezas simétricas em espiral, as quais apresentam cerdas grandes, cilíndricas e filiformes. Os élitros possuem superfície lisa e brilhante, apresentando 11 interestrias e 10 estrias dispostas longitudinalmente (BERGAMIN, 1943; CONSTANTINO et al., 2011). Há um par de espiráculos no mesotórax, localizados ventrolateralmente na membrana intersegmental entre o protórax e o mesotórax; esses espiráculos contêm um grande número de cerdas em sua abertura, provavelmente envolvidas com a redução de perda de água e retenção de material particulado (VEGA et al. 2015a).

As mandíbulas são estruturas fortemente esclerotizadas, articuladas dorsolateralmente, situadas na região anterior da cabeça e possuem forma triangular; na região ventral das mandíbulas são observados três incisivos desenvolvidos para cortar e na região dorsal um molar amplo que facilita a trituração do material alimentar. A antena é do tipo genículo-capitada, apresentando flagelo composto por oito flagelômeros fundidos entre si, sendo que os quatro primeiros e o pedicelo formam o funículo e os quatro remanescentes na região distal formam uma clava ovalada, que apresenta uma série de cerdas ao longo das suturas que unem os flagelômeros. A tibia é recoberta por cerdas e possui na região anterior uma série de seis a sete espinhos; a presença de espinhos na tibia auxilia em atividades como a abertura das galerias nos frutos de café. Em posição ventral, é possível observar cinco esternitos bem diferenciados no abdômen, além de diversas cerdas (BERGAMIN, 1943; CONSTANTINO et al., 2011).

O adulto recém-emergido apresenta uma coloração amarelo-palha e tem consistência muito frágil, permanecendo na câmara em que emergiu dentro do fruto ao lado da exúvia pupal por três ou quatro dias. Após esse período, o corpo já está esclerotizado e a cutícula completamente melanizada e tem início a atividade sexual. As fêmeas são maiores do que os machos, apresentando comprimento médio de

1,65 mm e asas membranasas bem desenvolvidas e funcionais. Os machos, por sua vez, são diminutos, apresentando comprimento médio de 1,18 mm e asas membranasas vestigiais, sendo incapazes de voar (BERGAMIN, 1943; CONSTANTINO et al., 2011).

Os olhos compostos de fêmeas apresentam em média de 115 (CONSTANTINO et al., 2011) a 127,5 omatídeos (VEGA et al., 2014). Os machos, por sua vez, apresentam em média somente 19,1 omatídeos (VEGA et al., 2014). Um espinho pode ser observado na parte basal das asas membranasas de machos, embora essa estrutura não esteja presente em todos os machos. As fêmeas, por sua vez, não apresentam esse espinho. Embora a importância biológica desse espinho permaneça desconhecida, acredita-se que ele possua uma função estridulatória na comunicação acústica da espécie (VEGA et al., 2015b). Os machos vivem em média 40 dias, entretanto sua longevidade pode variar de 78 a 103 dias, enquanto as fêmeas vivem em média 156,6 dias (BERGAMIN, 1943).

2.2.3.2 Fase de ovo

Os ovos apresentam forma elíptica ou levemente ovóide, são branco-hialinos e brilhantes, com dimensão média dos eixos maior e menor de 0,599 mm e 0,314 mm, respectivamente. Normalmente não há posturas em frutos secos, mas quando isso ocorre, os ovos são mais compridos do que os normais, fazendo com que apresentem forma cilindroide, com cutícula leitosa e brilhante (BERGAMIN, 1943; CONSTANTINO et al., 2011).

2.2.3.3 Fase de larva

As larvas apresentam coloração branco-creme, são do tipo curculioniforme, ápodas, possuem cerdas esparsas, não muito alongadas e dirigidas para trás, além de mandíbulas bem desenvolvidas. As larvas recém-eclodidas apresentam cápsula cefálica pouco mais larga do que o resto do corpo, de coloração amarelo-palha e bem distinta do resto do corpo, com bordos levemente recurvados; o corpo é mais largo na região do tórax, afinando-se para a extremidade posterior e possui

comprimento médio de 0,79 mm e largura média da cápsula cefálica de 0,24 mm. Quando completamente desenvolvidas, as larvas atingem comprimento médio de 2,12 mm; nessa etapa, a larva prepara a câmara pupal, isolada do resto da galeria onde se desenvolveu, expele todo o conteúdo do tubo digestivo e se transforma em pré-pupa. As larvas que originam fêmeas passam por dois ínstaes e as que originam machos passam por apenas um (BERGAMIN, 1943; CONSTANTINO et al., 2011; GÓMEZ et al., 2015).

2.2.3.4 Fases de pré-pupa e pupa

As pré-pupas apresentam cápsula cefálica semelhante às das larvas, coloração branco-leitosa e comprimento médio de 2,05 mm para as fêmeas e de 1,4 mm para os machos. O estágio de pré-pupa compõe parte do segundo ínstar larval (dado existente para fêmeas), uma vez que não ocorre ecdise entre essas duas fases (BERGAMIN, 1943; GÓMEZ et al., 2015).

As pupas são do tipo exarada e possuem coloração branca entre os três ou quatro primeiros dias, havendo uma mudança gradual de coloração após esse período; todos os apêndices, inclusive os olhos, tornam-se castanho-claros. Na cabeça, que é encoberta pelo pronoto, notam-se livres e distintas as antenas e as peças bucais. No tórax, na parte tergal, são vistos os élitros, com sua aparência sulcada. Na parte ventral, encontram-se as pernas do inseto bem arranjadas. No último segmento abdominal das pupas, tanto masculinas quanto femininas, notam-se dois cercos afilados, recurvados e pontiagudos, absolutamente ausentes nas larvas e nos adultos. O comprimento das pupas é variável entre os sexos, sendo em média 1,84 mm para as fêmeas e 1,35 mm para os machos. Normalmente, a pupa permanece imóvel na câmara construída no endosperma da semente, porém, quando molestada, executa movimentos em todos os sentidos, com a parte posterior do abdômen (BERGAMIN, 1943; CONSTANTINO et al., 2011).

2.2.3.5 Ciclo biológico

Cantor, Benassi e Fanton (2001) relacionaram diversos estudos feitos por vários autores sobre o ciclo biológico da broca, apresentando grandes variações entre os resultados. A duração do ciclo de vida de *H. hampei* é influenciada principalmente pela temperatura. A faixa de tolerância térmica de *H. hampei* situa-se entre 20 e 30 °C, de modo que o ciclo (ovo a adulto) só se completa dentro desse intervalo. A duração média do ciclo do inseto varia de 23,3 a 53,7 dias, nas temperaturas médias de 30 e 20 °C, respectivamente. A duração média do ciclo a temperatura média de 25 °C é de 26,6 dias. O período de incubação dos ovos é de 5,3 dias; a duração das larvas de primeiro e segundo ínstares é de 2,8 e 5,8 dias, respectivamente, totalizando 8,6 dias; as fases de pré-pupa e pupa têm duração de 6 e 6,3 dias, respectivamente. Todos esses dados são valores médios obtidos à temperatura média de 25 °C (JARAMILLO et al., 2009b).

2.2.3.6 Comportamento reprodutivo

H. hampei é uma espécie que se reproduz sob condições de competição local por cópula. Nesse sistema, os machos são menores em tamanho e em número de indivíduos e apresentam asas atrofiadas, sendo obrigados a acasalarem com suas irmãs (BORSA; KJELLBERG, 1996).

Em espécies que apresentam acasalamentos entre irmãos, a haplodiploidia funcional é tida como o modo de determinação sexual, mas no caso de *H. hampei* ocorre a pseudoarrenotoquia (BORSA; KJELLBERG, 1996). Nesse caso, tanto os machos quanto as fêmeas são diploides (BORSA; KJELLBERG, 1996) e se desenvolvem a partir de ovos fertilizados, sendo que dos ovos não fertilizados não eclodem larvas (BERGAMIN, 1943; BARRERA; GÓMEZ; ALAUZET, 1995; CONSTANTINO et al., 2011). A proporção sexual fêmea:macho em uma população é de 10:1 (BERGAMIN, 1943). Em outra linha de pesquisa, foi proposto que essa proporção provavelmente é regulada pela bactéria simbiote *Wolbachia* (VEGA et al., 2002).

Os primeiros indivíduos a emergir em uma prole em geral são os machos, que completam antes o seu desenvolvimento para que as fêmeas, logo que se tornem sexualmente maduras, possam ser fecundadas. Portanto, a única função do macho é fecundar um determinado número de fêmeas, podendo um único macho acasalar com cerca de 30 fêmeas, permanecendo durante toda a sua vida no interior do fruto de café em que nasceu (BERGAMIN, 1943; LE PELLEY, 1973). A atividade sexual de *H. hampei* ocorre poucas horas após a emergência dos adultos, de modo que as cópulas ocorrem em qualquer horário do dia. Embora em menor frequência, 60% dos casais com menos de um dia de idade realizam a primeira cópula dentro das primeiras 24 horas, chegando a 100% dos casais nas demais idades. A maior atividade sexual é encontrada em casais mais maduros, entre dois e quatro dias de idade. Isso sugere que tanto os machos quanto as fêmeas levam menos de dois dias para atingir a maturidade sexual. Durante esse período, a esclerotização dos órgãos sexuais ocorre em ambos os sexos (SILVA et al., 2012). A sequência de acasalamento de *H. hampei* está detalhadamente descrita em Silva et al. (2012).

2.2.3.7 Comportamento de abandono do fruto nativo pelas fêmeas

As fêmeas de *H. hampei* que abandonam o fruto em que se desenvolveram para realizar a oviposição em outro fruto são denominadas fêmeas colonizadoras (MATHIEU et al., 2001). Esse comportamento de abandono é estimulado por fatores abióticos, tais como temperatura, umidade relativa do ar (BAKER; BARRERA; RIVAS, 1992), intensidade luminosa (MATHIEU; BRUN; FRÉROT, 1997) e o estágio fisiológico da fêmea (MATHIEU et al., 2001; SILVA; COSTA; BENTO, 2014).

O estágio fisiológico da fêmea exerce influência preponderante sobre o comportamento de abandono. Somente fêmeas acasaladas abandonam os frutos em que se desenvolveram, enquanto as fêmeas virgens nunca exibem esse comportamento (MATHIEU; BRUN; FRÉROT, 1997; MATHIEU et al., 2001; SILVA; COSTA; BENTO, 2014). Após a cópula, ocorre uma inversão do fototropismo do inseto, de modo que fêmeas virgens fototrópicas negativas tornam-se fototrópicas positivas (GIORDANENGO, 1992; SILVA; COSTA; BENTO, 2014). Entretanto, fêmeas acasaladas que iniciam a oviposição no próprio fruto em que se

desenvolveram perdem o comportamento de abandono, não sendo consideradas fêmeas colonizadoras (MATHIEU; BRUN; FRÉROT, 1997; MATHIEU et al., 2001). Após o início da oviposição, a musculatura alar das fêmeas degenera impedindo, dessa forma, que uma mesma fêmea colonize mais de um fruto (TICHELER, 1961; LÓPEZ-GUILLÉN et al., 2011).

No momento em que abandonam o fruto, as fêmeas colonizadoras apresentam em média 15 dias de idade, são capazes de voar e colocar ovos viáveis (SILVA; COSTA; BENTO, 2014). Na natureza, esse é um processo crítico, pois apenas fêmeas de *H. hampei* são responsáveis pela colonização de frutos de café, somado ao fato de que não ocorre partenogênese nessa espécie (BERGAMIN, 1943; BARRERA; GÓMEZ; ALAUZET, 1995; CONSTANTINO et al., 2011). Entretanto, fêmeas acasaladas só abandonam o fruto após a completa melanização da cutícula. Durante o período compreendido entre o acasalamento e o abandono do fruto não ocorre apenas a melanização da cutícula, mas também o desenvolvimento da musculatura alar, uma vez que fêmeas de 3-5 dias de idade possuem músculos alares pouco desenvolvidos e são incapazes de voar (LÓPEZ-GUILLÉN et al., 2011; SILVA; COSTA; BENTO, 2014).

A alimentação a partir do endosperma de café pode ser crítica durante o período de pré-abandono. Pelo fato de *H. hampei* se tratar de uma espécie sinovigênica, as fêmeas precisam se alimentar do endosperma de café para sustentar a produção de ovos (GIORDANENGO, 1992). O pico da atividade de abandono de fêmeas colonizadoras ocorre durante o período de maior intensidade luminosa do dia, entre as 14 e 16 horas (SILVA; COSTA; BENTO, 2014), coincidindo também com o período de maior atividade de voo do inseto na cultura de cafeeiro (BORBÓN, 2007).

2.2.3.8 Oviposição

As fêmeas pós-copuladas de *H. hampei* podem ovipositar no fruto nativo e permanecer durante toda a vida juntamente à sua progênie ou tornar-se colonizadoras, abandonando o fruto em busca de outro para ovipositar (MATHIEU; BRUN; FRÉROT, 1997; MATHIEU et al., 2001; SILVA; COSTA; BENTO, 2014).

Nesse último caso, as fêmeas voam em busca de frutos de café, orientadas por semioquímicos produzidos pelos mesmos (GIORDANENGO; BRUN; FRÉROT, 1993).

Geralmente, cada fruto de café é colonizado por uma única fêmea (VEGA et al., 2009), entretanto infestações múltiplas também podem ser observadas em lavouras de cafeeiro. O conteúdo de matéria seca do endosperma da semente é o fator crucial relacionado ao início e à velocidade de penetração da fêmea no fruto de café. Sementes com menos de 20% de matéria seca são abandonadas após a perfuração inicial ou a fêmea aguarda em um túnel construído no epicarpo até que o endosperma acumule conteúdo suficiente de matéria seca para o desenvolvimento de sua progênie (ALONZO, 1984 apud JARAMILLO; BORGEMEISTER; BAKER, 2006). O tempo de penetração até que a fêmea atinja o endosperma da semente é variável de acordo com o estágio de desenvolvimento do fruto, mas em condições ótimas, dura cerca de oito horas (SPONAGEL, 1994 apud DAMON, 2000).

Após encontrar um fruto em condições adequadas, a fêmea colonizadora abre um orifício preferencialmente na região da coroa do fruto, a partir do qual começa a construir uma galeria até atingir o endosperma de uma das sementes. No interior da semente, a fêmea abre uma galeria, transformando-a em uma câmara, na qual realiza a oviposição (BERGAMIN, 1943; COSTA; FARIA, 2001). Em condições ótimas de temperatura e umidade, a fêmea é capaz de colocar dois a três ovos por dia, sendo a oviposição regular até 15 ou 20 dias após seu início, diminuindo de intensidade após esse período (BERGAMIN, 1943). Uma fêmea é capaz de colocar entre 31 e 119 ovos ao longo de sua vida em um único fruto de café em estágio adequado de maturação (BARRERA, 1994 apud DAMON, 2000), ou 74,1 ovos em média (BERGAMIN, 1943), entretanto já foram relatados até 300 ovos em um único fruto de café (JARAMILLO et al., 2009a).

2.2.4 Ecologia Química, comunicação inter e intraespecífica

2.2.4.1 Voláteis de frutos de café

Insetos fitófagos utilizam fundamentalmente estímulos químicos durante o processo de localização de suas plantas hospedeiras (BERNAYS; CHAPMAN, 1994). Os semioquímicos específicos utilizados por *H. hampei* para localizar os frutos de café não foram completamente determinados (MENDESIL et al., 2009). Além disso, as análises em relação aos estímulos responsáveis pela atratividade do inseto por frutos de café têm produzido resultados conflitantes.

Prates (1969) realizou o primeiro estudo sobre a atração da broca a estímulos químicos produzidos por sua planta hospedeira. Segundo esse autor, as fêmeas foram atraídas a extratos aquosos de frutos cereja, mas não a extratos de folhas ou flores de café. Gutiérrez-Martínez e Ondarza (1996) também observaram que fêmeas de *H. hampei* (10-25 dias de idade) foram menos atraídas por extratos de cloreto de metileno de flores de *C. canephora* em comparação a extratos de frutos em diferentes estádios de maturação. Por outro lado, Silva (2014) observou que as fêmeas colonizadoras de *H. hampei* foram atraídas por voláteis de flores de *C. arabica* var. Tupi. Dos 50 compostos encontrados nos voláteis de flores de café, sete foram eletrofisiologicamente ativos às fêmeas colonizadoras de *H. hampei*. Destes sete, somente metil salicilato, neral e geranial puderam ser identificados, e a mistura de seus padrões sintéticos foi a mais atrativa nos bioensaios olfatométricos.

Mendoza-Mora (1991) reportou a preferência de fêmeas de *H. hampei* por frutos vermelhos e pretos em comparação a frutos verdes e amarelos, tanto em frutos naturais de café (*C. arabica* cv. Catuaí Vermelho) quanto em artificiais (esferas de poliestireno). Esses resultados indicam que além do uso de semioquímicos, a espécie é capaz de distinguir frutos em diferentes estádios de maturação pela visão. Em olfatômetro, as fêmeas apresentaram maior resposta por voláteis de frutos cereja, sadios ou infestados pelo inseto, em comparação a voláteis de frutos verdes, sadios ou infestados. Houve uma resposta substancial de fêmeas a voláteis de frutos infestados (78,02% de 91 fêmeas para frutos cereja e 37,35% de 117 para frutos verdes) em comparação a frutos sadios (72,50% de 120 fêmeas para frutos cereja e

14,65% de 116 para frutos verdes), principalmente para os frutos verdes, para os quais essa diferença foi significativa. Esse autor relatou pela primeira vez o sinergismo entre etanol e metanol na atratividade e captura de fêmeas de *H. hampei* em armadilhas, não tendo observado diferença na captura em função das proporções de etanol-metanol nas misturas (1:1, 1:3 e 3:1).

Giordanengo, Brun e Frérot (1993) conduziram testes de escolha em placas de Petri com fêmeas assumidamente fecundadas de *H. hampei*. Os testes revelaram que as fêmeas são capazes de discriminar frutos de café em diferentes estádios de maturação. As fêmeas apresentaram preferência por frutos verdes maduros (endosperma vitrificado) em comparação a frutos verdes imaturos, por frutos cereja comparados a frutos verdes maduros, imaturos e secos, e por frutos secos em comparação a frutos verdes imaturos. As fêmeas foram mais atraídas por voláteis de frutos cereja em comparação ao controle (ar puro) e a voláteis de frutos verdes, além de terem sido mais atraídas por voláteis de um extrato acetônico de frutos verdes em comparação ao controle (ar puro) em olfatômetro. Aproximadamente 30% do total de fêmeas avaliadas não responderam a voláteis em olfatômetro. Essas fêmeas permaneceram escondidas e aparentemente não respondiam positivamente à luz. Essas informações permitem presumir que estas eram fêmeas virgens, as quais são fototrópicas negativas e não respondem aos voláteis de frutos de café (MATHIEU et al., 2001; SILVA; COSTA; BENTO, 2014).

Lopez (1993, apud DAMON, 2000) constatou que as fêmeas de *H. hampei* foram igualmente atraídas por frutos verdes e frutos cereja e os voláteis de frutos infestados e sadios de café cereja produziram respostas em apenas 20% das fêmeas avaliadas. A utilização de fêmeas virgens parece ter gerado esses resultados, de modo que a resposta das fêmeas pode ter sido aleatória, conforme citado anteriormente. Nesses experimentos, as fêmeas foram repelidas pela cafeína a 450 ppm e não responderam às concentrações de 100 e 250 ppm.

Velasco-Pascual, Llaven-Gómez e Velázquez-Velázquez (1997, apud VEGA et al., 2009) obtiveram extratos de frutos cereja em etanol e metanol a partir de três variedades diferentes de cafeeiro e conduziram testes em campo em que estes extratos foram utilizados em armadilhas. Os resultados foram interessantes, pois mostraram diferenças significativas na captura do inseto em função da variedade de

café utilizada. Esses resultados indicam além das diferenças genéticas relacionadas à produção de voláteis, a presença de certos voláteis do fruto que atraem o inseto além do etanol e metanol e da mistura entre eles.

Gutiérrez-Martínez e Ondarza (1996) utilizaram diferentes solventes para obter extratos de diferentes partes de plantas de *C. canephora* e avaliaram esses extratos no campo e no laboratório. Nos testes em placas de Petri, observaram que extratos de cloreto de metileno e acetona de frutos cereja foram os mais atrativos às fêmeas de *H. hampei*. As fêmeas foram significativamente mais atraídas por extratos de cloreto de metileno de: frutos secos, semente de frutos secos, semente de frutos cereja, epicarpo de frutos secos, epicarpo de fruto cereja, semente de frutos verdes, frutos cereja, epicarpo de frutos verdes. O conteúdo de cafeína variou nos extratos de cloreto de metileno obtidos de diferentes partes da planta de café (e.g. flores, folhas, raízes, galhos), bem como entre diferentes estádios de maturação de frutos. Em campo, o maior número de fêmeas capturadas ocorreu em armadilhas em que foi utilizado extrato de frutos cereja com uma mistura de cloreto de metileno e etanol. Os autores sugeriram que a cafeína desempenha uma importante função na atratividade de *H. hampei*, porém os resultados foram inconclusivos e é provável que os solventes à base de etanol e metanol presentes nos extratos tenham sido os responsáveis pela atratividade das fêmeas, uma vez que a cafeína não é um composto volátil (DAMON, 2000).

Guerreiro-Filho e Mazzafera (2003) relataram que não houve correlação entre o conteúdo de cafeína (2-17 mg g⁻¹) em sementes de 12 espécies de *Coffea* e a resistência a *H. hampei*, sugerindo que o inseto possui mecanismos para degradar ou excretar eficientemente a cafeína, permitindo-lhe suportar os seus efeitos tóxicos. Adicionalmente, os autores observaram que a atratividade dos insetos não estava relacionada com o conteúdo de cafeína de frutos maduros de café. Posteriormente, Ceja-Navarro et al. (2015) demonstraram que a cafeína é degradada no intestino de *H. hampei* por bactérias simbiotes, principalmente por espécies de *Pseudomonas*. Das 850 espécies de insetos que podem se alimentar de diversas partes da planta de café (BARRERA, 2008), apenas algumas delas se alimentam ocasionalmente da semente de café, mas somente *H. hampei* desenvolveu a habilidade de se alimentar e completar o seu ciclo inteiramente na semente.

Silva, Ventura e Morales (2006) compararam a atratividade de *H. hampei* a armadilhas com etanol, metanol, óleo de café e a mistura entre eles. O etanol, metanol e o óleo de café isoladamente capturaram uma quantidade de fêmeas equivalente ao controle (água) e uma quantidade muito menor do que as misturas de etanol-metanol. As misturas de etanol-metanol em diferentes proporções (1:1, 1:2 e 1:3) capturaram quantidades equivalentes de fêmeas. Portanto, existe um sinergismo entre os dois álcoois, independente das proporções utilizadas, conforme relatado por Mendoza-Mora (1991). A adição de óleo de café à mistura de etanol-metanol não aumentou as capturas em relação às misturas sem óleo.

Dufour e Frérot (2008) realizaram experimentos em campo com armadilhas contendo diferentes fontes de voláteis para comparar a atratividade de *H. hampei*. Os resultados mostraram que a adição de cafeína pura ou pó de sementes de café verde à mistura de etanol-metanol não aumentou as capturas de fêmeas. Segundo os autores, a cafeína é um metabólito secundário que possui baixa volatilidade e não foi identificada entre os voláteis emitidos por frutos de café até o momento (WARTHEN et al.; 1997; MATHIEU; MALOSSE; FRÉROT, 1998; ORTIZ et al., 2004). A adição de extratos de frutos despulpados de café cereja ou de fêmeas trituradas de *H. hampei* à mistura de etanol-metanol também não incrementou as capturas.

Todos esses resultados indicam que a mistura de etanol-metanol é a mais eficiente quanto à atratividade e captura de *H. hampei* até o momento. Embora as capturas sejam consideradas elevadas com a mistura desses álcoois, estas representam somente uma pequena porcentagem da população total do inseto nas plantações de café, o que na maioria das vezes é insuficiente para manter as infestações da praga abaixo do nível de controle (VEGA et al., 2009; FERNANDES et al., 2014). Além disso, a baixa especificidade desses voláteis atrai e captura outras espécies de besouros além de *H. hampei*. Os resultados mostram que as proporções de 1:1 e 1:3 de etanol-metanol capturaram quantidades equivalentes de insetos não-alvo em cultivo de cafeeiro, predominantemente outros escolitíneos, tais como *Hypothenemus obscurus* (Fabricius, 1801) e *Xylosandrus compactus* (Eichhoff, 1875) (MESSING, 2012).

Grande parte do custo de manutenção de armadilhas é atribuída à separação das centenas de milhares de besouros capturados em cada armadilha, a cada semana, seguida da identificação de quais indivíduos são *H. hampei* e quais são outros besouros não-alvo. Essa discriminação exige que cada besouro seja examinado individualmente sob um microscópio, o que pode ser uma tarefa longa e árdua. Por essas razões, semioquímicos mais específicos à *H. hampei* são preferíveis à mistura padrão de etanol-metanol, mesmo se as capturas da broca forem quantitativamente equivalentes (MESSING, 2012).

Alguns estudos têm examinado direta ou indiretamente a composição de voláteis produzidos pelos frutos de café de diferentes espécies, variedades e estádios de maturação. Análises da composição química de voláteis produzidos por fruto de café foram realizadas por Mathieu et al. (1996), Warthen et al. (1997), Mathieu, Malosse e Frérot (1998), Gomes de Lima et al. (2004, apud ROJAS, 2005), Ortiz et al. (2004), Mendesil et al. (2009) e Román-Ruíz et al. (2012). Esses estudos identificaram diversos voláteis que deveriam ser testados devido a sua possível eficiência na atratividade de *H. hampei*, podendo inclusive aumentar a captura do inseto em armadilhas em comparação à mistura de etanol-metanol (VEGA et al., 2009).

Mathieu et al. (1996) realizaram pela primeira vez a identificação de compostos voláteis liberados por frutos cereja de oito variedades de café, tendo identificado 28 compostos no total.

Warthen et al. (1997) identificaram 28 compostos voláteis liberados por frutos cereja escuros (estádio “passa”) de *C. arabica* var. Blue Mountain. Entre os compostos, foram identificados 10 álcoois, nove aldeídos, cinco cetonas e quatro terpenos. Os compostos mais abundantes liberados por frutos cereja em ordem decrescente foram hexanal, 2-(E)-hexenal, 3-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanal e 1-hexanol. Os terpenos identificados nesse estudo foram α -terpinoleno, linalool, α -isomentona e pulegona.

Mathieu, Malosse e Frérot (1998) identificaram 45 voláteis produzidos por frutos de *C. arabica* e *C. canephora* em todos os estádios de maturação. Esses autores observaram que frutos verdes de café produziram poucos voláteis, enquanto frutos cereja foram caracterizados por altos níveis de terpenos para *C. arabica* e

tanto terpenos quanto sesquiterpenos para *C. canephora*. Em frutos secos, os níveis de terpenos e/ou sesquiterpenos reduziram e compostos oxigenados tornaram-se mais abundantes (principalmente cetonas e aldeídos em *C. canephora* e álcoois em *C. arabica*). Os frutos secos produziram quantitativamente e qualitativamente mais voláteis, seguidos por frutos cereja e verdes, nessa ordem. Em *C. arabica*, foi identificado um composto em frutos verdes, 10 em frutos cereja e 14 em frutos secos. Os principais voláteis liberados por frutos cereja de *C. arabica* foram limoneno e linalool e por frutos secos foram 2-pentanol, isopentanol e 2-heptanol. Em *C. canephora*, foram identificados oito compostos em frutos verdes, 19 em frutos cereja e 29 em frutos secos. Os principais voláteis liberados por frutos cereja dessa espécie foram α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, cariofileno, humuleno e por frutos secos foram 3-pentanona, 2-pentanona, hexanal, 2-pentil acetato, hexanol e salicilato de metila. Em frutos cereja, somente α -pineno, β -pineno, limoneno e mirceno foram compartilhados por ambas as espécies.

Inicialmente os estudos de identificação de voláteis de frutos de café não tiveram sucesso em detectar a presença de etanol e metanol (MATHIEU et al., 1996; WARTHEN et al., 1997; MATHIEU; MALOSSE; FRÉROT, 1998), mas posteriormente o etanol foi identificado entre os voláteis emitidos por frutos de café verde, verde-cana, cereja e seco (ORTIZ et al., 2004). O metanol, por sua vez, não foi detectado na emissão dos frutos de café, mas isso não quer dizer que não seja liberado. Devido à alta volatilidade do metanol, é possível que os métodos de detecção utilizados não tenham sido adequados para identificar o composto (ROJAS, 2005).

Ortiz et al. (2004) identificaram 68 voláteis produzidos por frutos de *C. arabica* var. Colombia em todos os estádios de maturação. Os autores encontraram predominantemente álcoois entre os compostos voláteis emitidos por frutos de café, principalmente etanol, em todos os estádios de maturação em comparação a outros voláteis. Foram identificados 27 compostos em frutos verdes, 34 em frutos verde-cana, 41 em frutos cereja e 68 em frutos secos (“overripe”). Os menores níveis de compostos encontrados foram de terpenos (β -mirceno, 1-felandreno, α -terpineno, β -ocimeno e (+)-2-careno), ao contrário dos resultados obtidos por Mathieu, Malosse e Frérot (1998). A presença de etanol e outros álcoois na composição de voláteis de

frutos de café pode explicar a eficiência de misturas de etanol-metanol na detecção e captura de *H. hampei*.

A grande maioria dos compostos voláteis foi comum a todos os estádios de maturação de frutos, porém em diferentes intensidades. Os frutos secos apresentaram o maior número e quantidades de voláteis detectados (principalmente ésteres e álcoois, seguidos de cetonas e aldeídos), seguidos por frutos cereja e verdes, nessa ordem. A composição de voláteis em todos os estádios de maturação foi dominada por altos níveis de etanol, aumentando vertiginosamente do estágio verde ao verde-cana e, depois, aumentando lentamente do estágio cereja ao seco. Entretanto, nesse último estágio, o etanol não foi o maior componente, ocorrendo em quantidades inferiores às quantidades de ácido acético e éster etílico (ORTIZ et al., 2004).

Gomes de Lima et al. (2004, apud ROJAS, 2005) identificaram 31 compostos voláteis de frutos de *C. arabica* var. Mundo Novo e *C. canephora* var. Conillon. Em ensaios em olfátometro para avaliar alguns dos componentes identificados, o benzaldeído, o salicilato de metila e o etil de 2-heptanona foram os mais atrativos a *H. hampei*, mas apenas quando foram combinados a uma mistura de etanol-metanol.

Mathieu, Malosse e Frérot (1998) identificaram o salicilato de metila como o volátil liberado em maior quantidade por frutos secos de *C. canephora*. Coral, Bacca e Dias (2012) relataram que a presença de salicilato de metila em armadilhas adesivas pode ter influenciado a captura de *H. hampei* em cultivos de *C. arabica*. Román-Ruíz et al. (2012) constataram a presença de salicilato de metila entre os voláteis de frutos cereja sadios de *C. canephora* e nos “dust/frass” de *H. hampei*. Silva (2014) identificou o salicilato de metila como um dos voláteis de flores de *C. arabica* eletrofisiologicamente ativos a *H. hampei*.

O fato do salicilato de metila ter sido encontrado entre os voláteis de flores e frutos de diferentes espécies de café permite concluir que esse composto não é específico a *C. canephora*, conforme proposto por Mathieu, Malosse e Frérot (1998). Diante desse conjunto de informações, o salicilato de metila se apresenta como um semioquímico de grande potencial em relação à atratividade de *H. hampei*, que deveria ser avaliado criteriosamente em estudos futuros.

Román-Ruíz et al. (2012) determinou que os principais voláteis de frutos cereja sadios de *C. canephora* foram terpenos, tais como salicilato de metila, ocimeno, α -copaeno, β -elemeno, longifoleno, β -cariofileno, α -cariofileno, γ -muuroleno, δ -cadineno, humuleno e kaureno. Os “dust/frass” produzidos por *H. hampei* também emitiram principalmente terpenos, como α -pineno, limoneno, linalool, isopulegol, salicilato de metila, longifoleno, β -cariofileno, α -curcumeno, δ -cadineno e kaureno.

Rojas (2005) analisou os voláteis emitidos por frutos cereja sadios, danificados mecanicamente e infestados de *C. arabica*. No total, foram identificados 33 compostos voláteis nos três tipos de frutos, principalmente terpenos. Os frutos infestados liberaram uma maior quantidade de α -pineno em comparação a frutos danificados mecanicamente e frutos sadios. Por outro lado, os frutos danificados emitiram uma maior quantidade de etanol e acetato de etila.

O sinergismo entre etanol e monoterpenos é bastante conhecido em espécies de Scolytinae (BYERS, 1995). Embora os terpenos α -pineno, β -pineno, limoneno e mirceno tenham sido identificados entre os voláteis de frutos de *C. arabica* e *C. canephora* e nos “dust/frass” de *H. hampei* (MATHIEU; MALOSSE; FRÉROT, 1998; ORTIZ et al., 2004; ROMÁN-RUÍZ et al., 2012), os resultados em relação à atratividade de *H. hampei* a esses terpenos têm sido contrastantes.

González e Dufour (2000, apud ROJAS, 2005) reportaram que armadilhas iscadas com etanol-metanol+ α -pineno-limoneno capturaram 51% do total de fêmeas de *H. hampei* em comparação com armadilhas iscadas somente com etanol-metanol, as quais capturaram 35%. Barrera e Cruz-López (dados não publicados apud ROJAS, 2005) não observaram atratividade de *H. hampei* a armadilhas iscadas com septos de borracha impregnados com α -pineno, β -pineno, mirceno e limoneno. Borbón (2007) não constatou diferenças na captura de fêmeas de *H. hampei* em armadilhas que iscadas com etanol-metanol em comparação a etanol-metanol+ α -pineno. Gumier (2002) realizou um experimento em olfatômetro e relatou uma forte atratividade de β -pineno a fêmeas de *H. hampei*. O β -pineno mostrou-se mais atrativo do que o controle (hexano), α -pineno e limoneno. Para o α -pineno não houve qualquer efeito de atratividade ou repelência. O limoneno, por sua vez, apresentou sinais de repelência às fêmeas. Mendesil et al. (2009), por outro lado,

não observou qualquer atratividade ou repelência de limoneno às fêmeas presumidamente acasaladas de *H. hampei*.

Borbón (2007) conduziu um estudo para avaliar possíveis efeitos repelentes de voláteis de folhas verdes (“green leaf volatiles” ou GLV) para *H. hampei*. Os voláteis avaliados nesse estudo foram os seguintes: (E)-hex-3-en-1-ol, (Z)-hex-3-en-1-ol, (E)-hex-2-en-1-ol, (Z)-hex-2-en-1-ol, (E)-hex-3-en-1-al, (Z)-hex-3-en-1-al, (E)-hex-2-en-1-al, (Z)-hex-2-en-1-al; também foi avaliado o efeito de α -pineno. No primeiro ensaio, a captura de fêmeas de *H. hampei* foi inferior em armadilhas contendo uma mistura dos oito voláteis de folhas verdes em comparação a armadilhas contendo uma mistura de etanol-metanol e etanol-metanol+ α -pineno, as quais não apresentaram diferença entre si. No segundo ensaio, observou-se que tanto os aldeídos, como os álcoois que compunham os GLV utilizados separados (armadilhas contendo os quatro álcoois e outras contendo os quatro aldeídos) e em conjunto (armadilhas contendo quatro álcoois+quatro aldeídos), resultaram em menores capturas de fêmeas em comparação à mistura de etanol-metanol, não diferindo significativamente entre si. No terceiro e último ensaio, comparou-se a atratividade da mistura dos oito GLV, dos quatro álcoois separados, verbenona, 3-metilciclohex-2-en-1 e a mistura de etanol-metanol (controle). Nesse ensaio constatou-se que os álcoois isolados apresentaram o mesmo efeito de repelência (medida pelo número de fêmeas capturadas) que a mistura dos oito GLV. O 3-metilciclohex-2-en-1 e a verbenona, feromônios de antiagregação de Scolytinae, foram menos eficientes como repelentes em comparação aos álcoois e à mistura dos oito GLV.

Os álcoois que apresentaram o maior efeito de repelência sobre *H. hampei*, (Z)-hex-3-en-1-ol, (E)-hex-2-en-1-ol, também apresentam a mais alta repelência documentada entre os GLV a outros escolitíneos (BORDEN et al., 1996; WILSON et al., 1997 apud BORBÓN, 2007). O uso de voláteis repelentes pode ser uma excelente ferramenta em estratégias de controle baseadas em “push-pull” contra *H. hampei*. O trabalho de Borbón (2007) foi o único encontrado em relação a voláteis repelentes a *H. hampei*.

2.2.4.2 Voláteis do “dust/frass” e outros semioquímicos

Os “dust/frass” consistem principalmente de uma mistura de fezes, partículas do fruto de café infestado e outros resíduos produzidos por larvas e adultos de *H. hampei* se desenvolvendo no interior de frutos de café (WATERHOUSE; NORRIS, 1989). Tipicamente, os “dust/frass” de 10 dias de idade consistem principalmente de fragmentos de material expelido do orifício do fruto pela broca que o colonizou. Por outro lado, os DAF de coloração preta, os quais apresentam maior idade, contêm as fezes produzidas pela população inteira da broca no interior do fruto (ROJAS; CASTILLO; VIRGEN, 2006). Ao contrário dos semioquímicos produzidos por frutos de café, o papel dos “dust/frass” na interação química entre a broca e a planta de café é pouco conhecido.

Em um estudo realizado por Esquinca (1986) baseado em testes de dupla escolha em olfatômetro, os seguintes resultados foram obtidos: (1) as brocas foram mais atraídas por frutos sadios de café que ao controle (ar); (2) exibiram preferência por voláteis de frutos infestados por voláteis de frutos sadios; (3) foram mais atraídas aos voláteis dos “dust/frass” que aos voláteis de frutos sadios; (4) exibiram preferência por voláteis provenientes de frutos infestados que aqueles oriundos dos “dust/frass”. Esses resultados indicam que há um complexo de voláteis particularmente importantes na seleção hospedeira de *H. hampei* em frutos infestados de café. Nesse tipo de fruto estão presentes os estádios imaturos e adultos de *H. hampei*, seus resíduos alimentares e fecais ou “dust/frass” e fungos.

Mendoza-Mora (1991) observou uma resposta substancial de fêmeas *H. hampei* a voláteis de frutos infestados de café cereja e verde em olfatômetro. Entretanto, o olfatômetro utilizado nesse trabalho e a metodologia adotada não permitiram comparar a atratividade de fêmeas a voláteis de frutos na condição de infestados ou sadios, de modo que as respostas foram determinadas somente como positivas ou negativas e não envolveram a preferência do inseto.

Os resultados obtidos por Esquinca (1986) sugerem a existência de feromônios de agregação nos “dust/frass”. A presença de feromônios de agregação nesse tipo de resíduo foi documentada em várias espécies da subfamília Scolytinae (BIRCH, 1984). Nestas espécies, os feromônios de agregação orientam ataques

massais que são necessários para superar as defesas e colonizar árvores sadias (MOORE; ABRAHAM; MILLS, 1990). Embora esse tipo de ataque não ocorra em espécies de Scolytinae que se alimentam de frutos (espermófagas), tais como *H. hampei*, aparentemente existe uma tendência dessa espécie em agregar-se, formando focos de infestação em uma mesma planta de cafeeiro e a partir daí podendo se estender a várias plantas próximas (BAKER, 1984; BAKER; BARRERA; VALENZUELA, 1989). Esse comportamento de agregação de *H. hampei* é um aspecto muito importante do comportamento desse inseto-praga, porém pouco estudado (DAMON, 2000). Apesar de ter sido sugerido há algum tempo que o comportamento de agregação de *H. hampei* é mediado por um feromônio (BAKER, 1985 apud ROJAS, 2005), isso ainda não foi comprovado.

Rojas (2005) observou que frutos infestados de *C. arabica* liberaram uma maior quantidade de voláteis em comparação a frutos danificados mecanicamente e frutos sadios, principalmente terpenos.

Rojas e Cruz-López (dados não publicados apud ROJAS; VIRGEN, 2006) analisaram os voláteis produzidos pelos “dust/frass” de coloração preta de *H. hampei* e identificaram voláteis comuns aos emitidos por frutos sadios de café, tais como limoneno e 3-octanona (MATHIEU; MALOSSE; FRÉROT, 1998; ORTIZ et al. 2004) e voláteis não encontrados no “headspace” de frutos, entre eles verbenona, geraniol e guaiacol.

Román-Ruíz et al. (2012) identificaram 18 voláteis dos “dust/frass” de *H. hampei* e 20 de frutos cereja sadios de *C. canephora*. Entre os voláteis presentes nos “dust/frass”, cinco foram encontrados em frutos cereja sadios, entre os quais salicilato de metila, longifoleno, β -cariofileno, δ -cadineno e kaureno.

Essas análises químicas dos “dust/frass” mostram a presença de compostos voláteis diferentes daqueles produzidos por frutos sadios de café. Barrera e Rojas (dados não publicados apud ROJAS, 2005), entretanto, não observaram uma atratividade significativa de *H. hampei* aos “dust/frass” isolados ou misturados a etanol-metanol em campo. Portanto, são necessários mais estudos sobre a natureza dos compostos responsáveis pela atratividade de *H. hampei* presentes nos “dust/frass”.

Acreditava-se que devido à biologia de *H. hampei* seria pouco provável a existência de um feromônio sexual, uma vez que os machos copulam com suas irmãs no interior do fruto do café, já que não possuem asas funcionais para encontrar as fêmeas fora do fruto (VEGA et al., 2009). Porém, um estudo realizado por Silva (2009) sobre o comportamento sexual de *H. hampei* apresentou resultados que contrariam essa hipótese. Nos bioensaios em olfatômetro, as fêmeas permaneceram mais tempo na câmara de exposição contendo odores dos machos em relação ao controle (ar puro). Entretanto, quando as fêmeas foram expostas aos voláteis do hospedeiro (endosperma de café) juntamente com dos machos, a fêmea não apresentou atividade. A mesma resposta foi observada quando somente o hospedeiro era a fonte de voláteis. No caso dos machos, os mesmos responderam aos voláteis das fêmeas junto com o hospedeiro (endosperma de café). Por outro lado, não houve resposta quando foi testado somente o hospedeiro ou fêmeas como fonte de voláteis.

Os resultados desse trabalho indicaram um efeito de sinergismo entre a presença da fêmea e do hospedeiro (endosperma) sobre a receptividade dos machos, o que era esperado, considerando-se que os mesmos estão continuamente sob a influência do hospedeiro. Esses dados estão de acordo com Giordanengo (1992). Gutiérrez-Martínez e Ondarza (1996) observaram que poucos machos de *H. hampei* foram atraídos por um extrato de cloreto de metileno de frutos cereja de café (2 de 25 ou 8%) e por um extrato de cafeína dissolvida em etanol (2 de 25 ou 8%). Por outro lado, o endosperma do fruto a princípio não exerceu influência sobre a resposta da fêmea ao feromônio do macho, o que provavelmente se deve à utilização de fêmeas virgens de *H. hampei* no estudo, as quais não respondem a voláteis de frutos de café (MATHIEU et al., 2001). Com isso, um aspecto que deve ser explorado em estudos futuros, refere-se ao comportamento sexual de fêmeas acasaladas (SILVA, 2009), pois de acordo com Mathieu et al. (2001) e Silva, Costa e Bento (2014) somente essas abandonam o fruto nativo e são capazes de responder positivamente aos voláteis de frutos de café.

A atratividade de fêmeas virgens de *H. hampei* por machos indicou a presença de um semioquímico mediando o acasalamento (SILVA, 2009). Durante o acasalamento, o macho toca o pronoto e os élitros da fêmea com suas antenas e

rosto durante a fase pré-copulatória (SILVA et al., 2012). Alguns coleópteros utilizam esse comportamento para reconhecer seus parceiros sexuais a curtas distâncias. Substâncias presentes na cutícula de fêmeas, tais como feromônios de contato, são responsáveis por mediar tal reconhecimento (MUTIS et al., 2009). O pronoto e os élitros de fêmeas de *H. hampei* apresentam numerosas cerdas (CARRIÓN; BONET, 2004; CONSTANTINO et al., 2011), possivelmente associadas com a produção de algum feromônio de contato. Sinais químicos de curta distância são esperados em *H. hampei*, pois os adultos emergem no interior de um espaço pequeno e confinado no fruto de café (SILVA et al., 2012).

Aparentemente, essa resposta poderia estar envolvida no encontro da fêmea com seu parceiro no interior do fruto de café. Esse fato pode ser sustentado por diversas características biológicas e reprodutivas de *H. hampei* (SILVA, 2009). Nessa espécie os machos ocorrem em menor número na população e emergem primeiro, enquanto as fêmeas estão presentes em maior número e apresentam um padrão de emergência assincrônico (BERGAMIN, 1943; GIORDANENGO, 1992). Essa atratividade seria um mecanismo adaptativo importante para os machos (SILVA, 2009), uma vez que os mesmos ocorrem em menor número e são incapazes de voar (BERGAMIN, 1943; CONSTANTINO et al., 2011), o que os impediria de ir ao encontro de fêmeas em outros frutos para acasalar. Portanto, atraindo as fêmeas logo após sua emergência, estes machos garantem o seu sucesso reprodutivo antes que as mesmas abandonem os frutos (SILVA, 2009).

2.2.4.3 Comunicação acústica

Existe a possibilidade da existência de outros fatores, além dos citados, interagindo na comunicação de *H. hampei* como, por exemplo, a produção de som. Em certas espécies a produção de som por um dos sexos é de extrema importância para estimular o/a parceiro (a) à produção de feromônio. Esse fenômeno foi observado em outros escolitíneos como *Dendroctonus psedotsugae* Hopkins, 1905 e *D. brevicomis* LeConte, 1876, onde estímulos sonoros produzidos pelas fêmeas induzem a liberação de feromônio pelos machos (RUDINSKY et al., 1976 apud SILVA, 2009).

Vega et al. (2015b) encontraram um espinho localizado na parte basal da asa membranosa de machos de *H. hampei*. Curiosamente, esse espinho não foi observado em todos os machos analisados e esteve completamente ausente nas asas membranosas de fêmeas. Os autores acreditam que esse espinho deve ter sido utilizado em algum momento para estridulação e comunicação acústica e que durante a evolução do inseto foi desaparecendo, o que pode explicar o porquê dessa estrutura não estar presente em todos os machos. A hipótese é de que o desaparecimento desse espinho se deva à biologia do inseto no interior do fruto de café. Os machos são os descendentes de uma fêmea colonizadora que perfura o fruto de café e deposita seus ovos dentro de galerias construídas no endosperma. Devido à proximidade de machos e fêmeas confinados no fruto de café, o uso do espinho para estridulação e para revelar a posição dos machos escassos na população tornou-se desnecessário.

2.2.4.4 Estádio fisiológico de fêmeas e a resposta aos voláteis de frutos de café

O estágio fisiológico de fêmeas de *H. hampei* determina sua resposta aos voláteis de frutos de café. Somente as fêmeas acasaladas (colonizadoras) são atraídas por voláteis de frutos. As fêmeas virgens não respondem aos voláteis, inclusive fêmeas virgens com mais de 15 dias de idade são repelidas por voláteis de frutos de café (MATHIEU et al., 2001).

López-Guillén et al. (2011) estudaram as alterações que ocorrem na estrutura dos músculos responsáveis pelo voo em fêmeas de *H. hampei*. Fêmeas em oviposição apresentaram modificações nos músculos alares em função da sua idade e do número de ovos depositados. Fêmeas que não realizaram oviposição apresentaram músculos completamente desenvolvidos, enquanto fêmeas que ovipositaram tiveram seus músculos degenerados após a primeira postura. A área superficial dos músculos alares em fêmeas de 15-100 dias de idade é maior do que em fêmeas jovens. Fêmeas de 3-5 dias de idade possuíam músculos frágeis, parcialmente desenvolvidos e cobertos por abundante tecido adiposo. Conseqüentemente, fêmeas jovens não estão aptas a voar. Por outro lado, fêmeas de 15-100 dias tinham músculos fortes, bem desenvolvidos e funcionais.

Portanto, apenas fêmeas colonizadoras apresentam músculos alares completamente desenvolvidos, sendo capazes de voar e colonizar frutos de café. Após terem iniciado a oviposição no fruto de café, essas fêmeas perdem a habilidade de explorar e colonizar outros frutos, uma vez que seus músculos alares se degeneram total ou parcialmente e não podem ser regenerados. Os músculos alares tornam-se inúteis em fêmeas que iniciaram a oviposição e as proteínas são utilizadas pelo organismo para o desenvolvimento de ovários (TICHELER, 1961; LÓPEZ-GUILLÉN et al., 2011).

As fêmeas de *H. hampei* que respondem a voláteis de frutos de café apresentam as seguintes características: 15 dias de idade, acasaladas, cutícula completamente melanizada, fototropismo positivo e musculatura alar completamente desenvolvida (MATHIEU et al., 2001; LÓPEZ-GUILLÉN et al. 2011; SILVA; COSTA; BENTO, 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico e Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV-UNESP, Jaboticabal-SP. Os experimentos foram realizados durante a fase de frutificação do cafeeiro, de fevereiro a maio de 2015. Todos os frutos necessários aos experimentos foram coletados de plantas de *Coffea arabica* cultivar Catuaí Vermelho, linhagem IAC-144, em uma área experimental de café do Departamento de Produção Vegetal da FCAV-UNESP.

3.1 Estabelecimento da criação de *H. hampei* em laboratório

A criação da broca foi iniciada a partir de frutos infestados de café coletados em campo (Fig. 1).



Figura 1. Área experimental de cultivo de cafeeiro, câmpus da FCAV-UNESP, Jaboticabal-SP, 2015.

No laboratório, para evitar a contaminação por fungos, realizou-se a assepsia dos frutos coletados utilizando uma solução de água contendo detergente neutro (15%) e hipoclorito de sódio (5%). Os frutos ficaram submersos na solução por 10 minutos e depois foram lavados com água destilada e submetidos à secagem à temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida, os frutos foram acondicionados em

camada única em recipientes plásticos revestidos com papel de filtro e cobertos com tecido “voile” para permitir a aeração. A criação foi mantida em uma sala em condições controladas (temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $60\pm 5\%$ e 24 horas de escotofase).

Visando à manutenção da criação, fêmeas da broca que abandonaram naturalmente os frutos infestados (fêmeas colonizadoras) (SILVA; COSTA; BENTO, 2014) foram coletadas e colocadas em recipientes contendo frutos cereja sadios para realizarem novas posturas e infestações. Após cinco dias do início da infestação, esses frutos foram transferidos para tubos de PVC (25 cm de comprimento x $\varnothing 10$ cm), que possibilitaram a coleta e separação de fêmeas colonizadoras da broca para os bioensaios (Fig. 2), conforme a técnica descrita em Hirose e Neves (2002).



Figura 2. Tubo de PVC utilizado para coleta de fêmeas colonizadoras da broca-do-café, segundo a metodologia de Hirose e Neves (2002).

3.2 Bioensaios comportamentais em olfatômetro

Para os bioensaios em olfatômetro, foram utilizados somente frutos recém-coletados do campo para evitar, tanto quanto possível, variações nas respostas dos insetos em relação às características olfatórias dos frutos. Os frutos foram coletados manualmente com luva cirúrgica (de modo a manter o pedúnculo e não produzir nenhum ferimento no fruto) (Fig. 3) e acondicionados por tipo de fruto em potes plásticos de 0,5 L (Fig. 4). Para o primeiro bioensaio, coletou-se frutos em diferentes estádios de maturação (classificados em verdes, cereja e secos). Para o segundo, foram coletados somente frutos cereja. Os frutos coletados para os bioensaios não foram esterilizados em solução de hipoclorito de sódio anteriormente aos experimentos.

Amostras de 200 g de frutos foram transferidas para sacos de poliéster de 41 x 33 cm. Posteriormente, esses sacos foram anexados à arena central do olfatômetro por meio de tubos de politetrafluoretileno (Teflon®) (Fig. 5).



Figura 3. Frutos de *C. arabica* cv. Catuai Vermelho coletados manualmente.



Figura 4. Frutos de café acondicionados em potes plásticos por tipo de fruto.

Os bioensaios foram realizados em um olfatômetro de quatro braços (arena de 12 x 12 cm) (Fig. 5), iluminado na parte superior por uma luz uniforme, cuja medição determinada por um luxímetro digital foi de 150 lux (150 lúmens m⁻²). Os ensaios foram realizados sob 25±1 °C e UR 65±5%, sendo essas condições monitoradas por um termohigrômetro. O fluxo de ar mantido dos quatro braços para o centro por meio de sucção foi de 2 L min⁻¹ (o fluxo de ar para cada braço individual foi de 500 mL min⁻¹). A uniformidade da vazão foi regulada por meio de um fluxômetro anexado ao sistema de sucção de ar. A sucção do ar dos tratamentos para a arena do olfatômetro foi feita por meio de uma mangueira de silicone conectada ao orifício da área central e inferior da arena e a uma bomba de vácuo.

Para estes bioensaios foram utilizadas fêmeas colonizadoras recém-emergidas de frutos, com cutículas completamente melanizadas (\cong 15 dias de idade), atraídas pela luz e capturadas. De acordo com Mathieu et al. (2001) e Silva, Costa e Bento (2014), fêmeas colonizadoras de *H. hampei* são aquelas que abandonam naturalmente o fruto em que se desenvolveram, respondendo positivamente à luz. Nesse estágio fisiológico, as fêmeas estão acasaladas e respondem aos voláteis de frutos de café. Essas fêmeas foram individualizadas em tubos Eppendorf de 2,0 mL (Fig. 6) e mantidas em jejum por no mínimo 12 horas antes da realização dos experimentos.

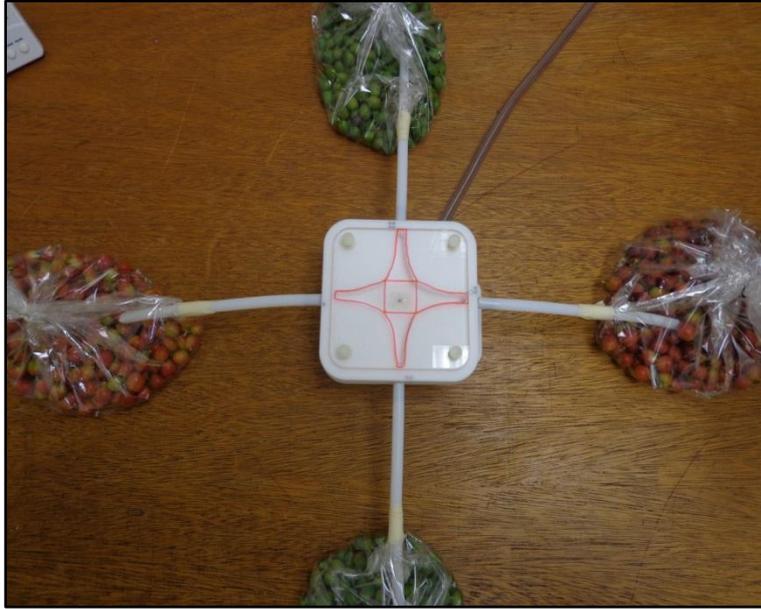


Figura 5. Amostras de frutos acondicionadas em sacos de poliéster, anexados por tubos de politetrafluoretileno (Teflon®) à arena do olfatômetro de quatro braços.



Figura 6. Fêmea colonizadora da broca-do-café individualizada em um tubo de Eppendorf.

Uma única fêmea colonizadora de *H. hampei* foi introduzida por vez na câmara central do olfatômetro com o auxílio de um pincel macio, observando-se o seu comportamento e movimentação (Fig. 7). A tampa de vidro do olfatômetro era colocada imediatamente após a introdução da fêmea. Registrou-se o tempo de permanência e o número de entradas em cada braço do olfatômetro por meio de observação visual e cronômetro por um turno de 10 minutos. A passagem da fêmea por um limite definido entre a arena central e um dos braços do olfatômetro era considerada como uma escolha (ou entrada). A contagem do tempo de permanência em um braço do olfatômetro era feita a partir da escolha daquele braço pela fêmea avaliada; quando a fêmea retornava do braço para a arena central, a contagem do tempo era encerrada. Para isso eram utilizados dois cronômetros, um que registrava o tempo total do turno (10 min) e outro que registrava o tempo de permanência da fêmea em cada um dos braços do olfatômetro.

A cada cinco fêmeas avaliadas, o aparato de olfatometria e seus componentes eram limpos/lavados por uma solução de hexano (98,5% de pureza); nesse mesmo intervalo, a arena do olfatômetro era rotacionada em $\frac{1}{4}$ em sentido horário para evitar possíveis efeitos de posição que pudessem interferir na resposta dos insetos. Fêmeas da broca que permaneceram imóveis por 3 minutos consecutivos foram consideradas inativas e excluídas das análises; nesse caso, uma nova repetição era feita com uma nova fêmea. Os ensaios foram realizados entre as 14 e 18 horas, compreendendo o período de maior de atividade e voo do inseto (BORBÓN, 2007; SILVA; COSTA; BENTO, 2014).

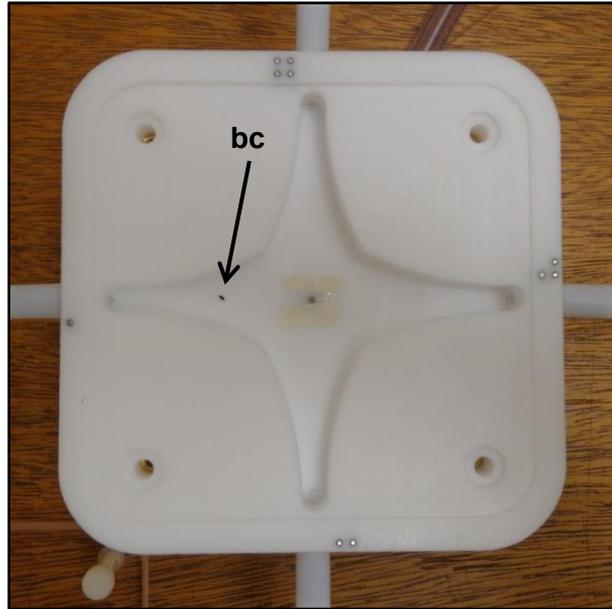


Figura 7. Fêmea da broca-do-café deslocando-se por um dos braços do olfatômetro. **bc** (fêmea da broca-do-café).

3.2.1 Atratividade de *H. hampei* a voláteis de frutos de café em diferentes estádios de maturação

O primeiro bioensaio comparou a atratividade de fêmeas colonizadoras da broca-do-café a voláteis de frutos de café em diferentes estádios de maturação em testes com dupla chance de escolha realizados em olfatômetro de quatro braços (Fig. 8). Foram utilizados somente frutos saudáveis, ou seja, sem nenhum dano mecânico e/ou ataque de pragas. Os experimentos foram os seguintes: (1) café-cereja *versus* café-verde; (2) café-cereja *versus* café-seco; e (3) café-verde *versus* café-seco.



Figura 8. Bioensaio em olfatômetro comparando frutos-cereja *versus* frutos-verdes.

3.2.2 Atratividade de *H. hampei* a voláteis de frutos de café-cereja em diferentes condições

Os resultados do primeiro bioensaio conduziram ao segundo. Nesse bioensaio, comparou-se a atratividade de fêmeas colonizadoras da broca-do-café a voláteis de frutos de café-cereja em diferentes condições: infestados por broca, danificados mecanicamente e sadios.

Os frutos-infestados consistiram de frutos de café-cereja infestados por broca coletados a campo; esses frutos foram escolhidos com base na presença e coloração dos DAF, observados ao redor do orifício de entrada feito pela fêmea da broca no fruto. Foram escolhidos apenas frutos que apresentavam DAF de coloração preta, o qual indica a presença de estádios imaturos da broca se alimentando e desenvolvendo no endosperma da semente. Tipicamente, os DAF de 10 dias de idade consistem principalmente de fragmentos de material expelido do fruto pela fêmea da broca que o colonizou. Por outro lado, os DAF de coloração preta contêm as fezes produzidas pela população inteira da broca no interior do fruto infestado (ROJAS; CASTILLO; VIRGEN, 2006).

Os frutos-danificados mecanicamente consistiram de frutos de café-cereja não atacados por pragas perfurados na região da coroa por um alfinete nº 29 imediatamente antes da realização dos testes no olfatômetro.

Os frutos-sadios foram frutos de café-cereja sem qualquer dano mecânico ou ataque de pragas. Os experimentos realizados foram os seguintes:

(1) frutos-infestados *versus* frutos-danificados mecanicamente: ar puro (dois braços) x frutos infestados (um braço) x frutos danificados mecanicamente (um braço);

(2) frutos-infestados *versus* frutos-sadios: ar puro (dois braços) x frutos infestados (um braço) x frutos sadios (um braço);

(3) frutos-danificados mecanicamente (dois braços) *versus* frutos-sadios (dois braços).

3.3 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com análise de variância (ANOVA) aplicada para a variável tempo de permanência (segundos). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. As análises foram realizadas no software estatístico AgroEstat – sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agrônomico, versão 1.1.0.711 (BARBOSA; MALDONADO JR., 2014).

Cada turno de 10 minutos, composto por um teste com uma única fêmea da broca, consistiu em um bloco ou repetição. Foram realizadas 30 repetições para cada experimento, totalizando 18000 segundos de observação por experimento.

4. RESULTADOS

4.1 Atratividade de *H. hampei* a voláteis de frutos de café em diferentes estádios de maturação

4.1.1 Experimento 1: café-cereja versus café-verde

A broca-do-café apresentou preferência significativa ($F = 7,58$; $P = 0,0101$) por voláteis de frutos-cereja em relação aos de frutos-verdes (Fig. 9), cujo tempo de permanência das fêmeas (transformado em %) foi de 69,3% para frutos-cereja, sendo esse valor superior ao dobro dos frutos-verdes, que foi de 30,7%. As fêmeas da broca realizaram 49 entradas em braços do olfatômetro correspondentes a frutos-cereja e 25 entradas em braços de frutos-verdes, novamente sendo quase o dobro do valor.

4.1.2 Experimento 2: café-cereja versus café-seco

Não houve diferença significativa ($F = 1,31$; $P = 0,2617$) em relação à preferência da broca por voláteis de frutos-cereja em comparação aos de frutos-secos (Fig. 9), sendo o tempo de permanência igual a 58,5% para frutos-cereja e 41,5% para frutos-secos. As fêmeas da broca realizaram 55 entradas em braços do olfatômetro correspondentes a frutos-cereja e 43 entradas em braços de frutos-secos.

4.1.3 Experimento 3: café-seco versus café-verde

A broca-do-café apresentou preferência significativa ($F = 4,32$; $P = 0,0466$) por voláteis de frutos-secos em relação aos de frutos-verdes (Fig. 9), cujo tempo de permanência das fêmeas foi de 63,7% para frutos-secos e 37,3% para frutos-verdes. As fêmeas da broca realizaram 53 entradas em braços do olfatômetro correspondentes a frutos-secos e 38 entradas em braços de frutos-verdes.

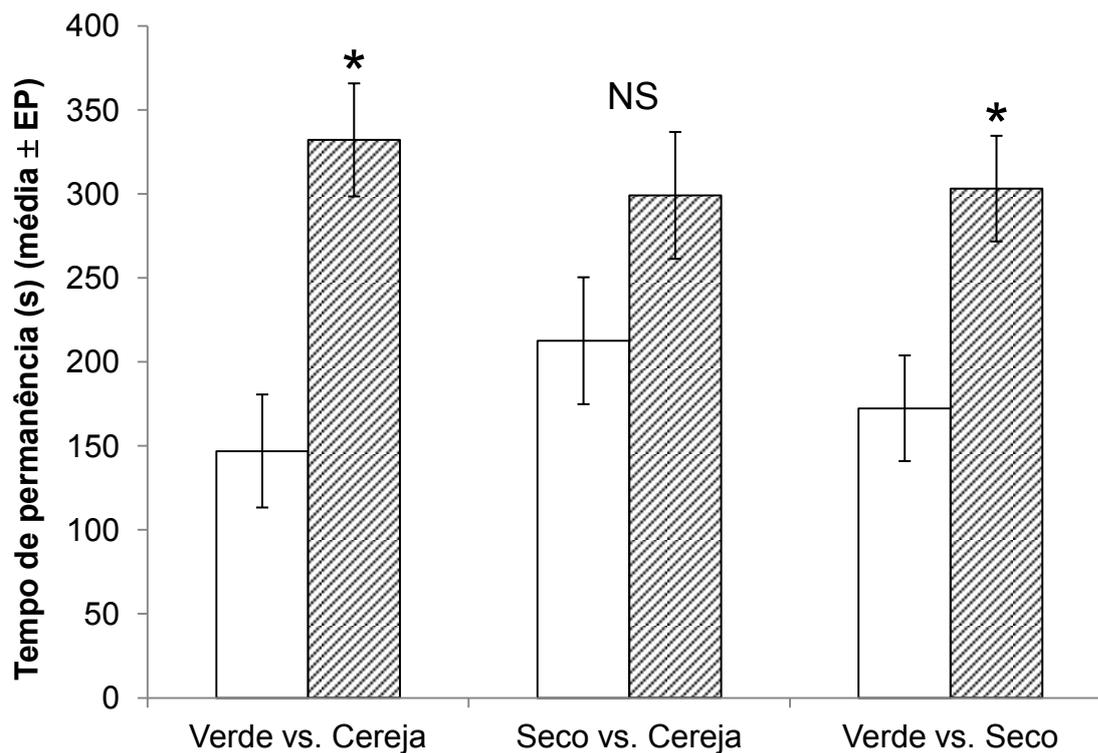


Figura 9. Resposta comportamental de fêmeas colonizadoras de *H. hampei* a voláteis de frutos de *C. arabica* em diferentes estádios de maturação em olfatômetro de quatro braços. Cereja (frutos-cereja); Verde (frutos-verdes); Seco (frutos-secos); s (segundos); EP (erro padrão); vs, *versus*. * $P < 0,05$; NS, não significativo, de acordo com o teste de Tukey.

4.2 Atratividade de *H. hampei* a voláteis de frutos de café-cereja em diferentes condições

4.2.1 Experimento 1: frutos-infestados *versus* frutos-danificados mecanicamente

A broca-do-café apresentou preferência significativa ($F = 13,66$; $P < 0,0001$) por voláteis de frutos-infestados em comparação aos voláteis de frutos-danificados mecanicamente e aos controles (Ar1 e Ar2), os quais não apresentaram diferença significativa entre si (Fig. 10). O fato de não ter ocorrido diferença entre frutos-danificados mecanicamente e o controle (ar puro) provavelmente se deve ao deslocamento frequente e permanência das fêmeas no braço do olfatômetro correspondente aos frutos-infestados, reduzindo o tempo de permanência nos braços restantes. O tempo de permanência das fêmeas foi de 57,9% para frutos-

infestados, 26,3% para frutos-danificados mecanicamente e 9,8% e 6,1% para os controles Ar1 e Ar2, respectivamente. As fêmeas da broca realizaram 28 entradas em braços do olfatômetro correspondentes a frutos-infestados, 18 entradas em braços de frutos-danificados mecanicamente e 11 e 12 para os controles Ar1 e Ar2, respectivamente.

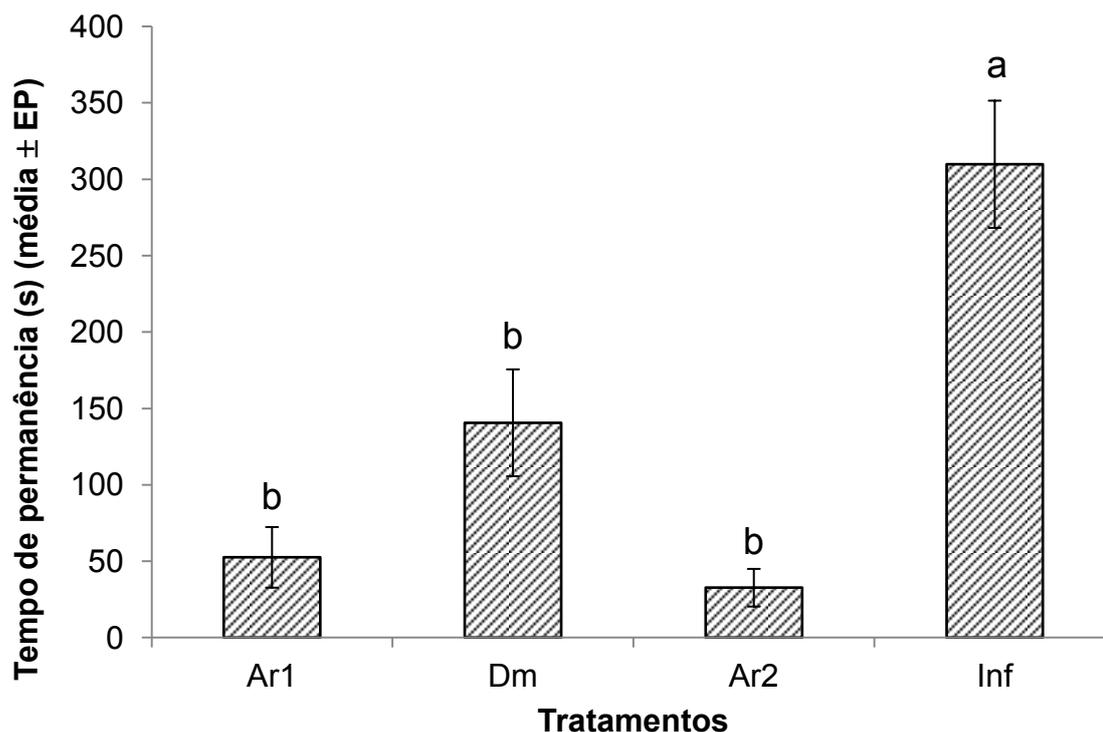


Figura 10. Resposta comportamental de fêmeas colonizadoras de *H. hampei* a voláteis de frutos-infestados (Inf), de frutos-danificados mecanicamente (Dm) e aos braços-controle (Ar1 e Ar2). Médias que possuem a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). s (segundos); EP (erro padrão).

4.2.2 Experimento 2: frutos-infestados versus frutos-sadios

A broca-do-café apresentou preferência significativa ($F = 15,09$; $P < 0,0001$) por voláteis de frutos-infestados em comparação aos voláteis de frutos-sadios e aos controles (Ar1 e Ar2), os quais não apresentaram diferença significativa entre si (Fig. 11). Nesse caso, o fato de não haver diferença entre frutos-sadios e o controle obedece ao mesmo argumento apresentado anteriormente (vide item 4.2.1). O tempo de permanência das fêmeas foi de 59,6% para frutos-infestados, 16,8% para frutos-sadios e 12,2% e 11,4% para Ar1 e Ar2, respectivamente. As fêmeas da broca realizaram 44 entradas em braços do olfatômetro correspondentes a frutos-infestados, 19 entradas em braços de frutos sadios e 18 e 20 para os controles Ar1 e Ar2, respectivamente.

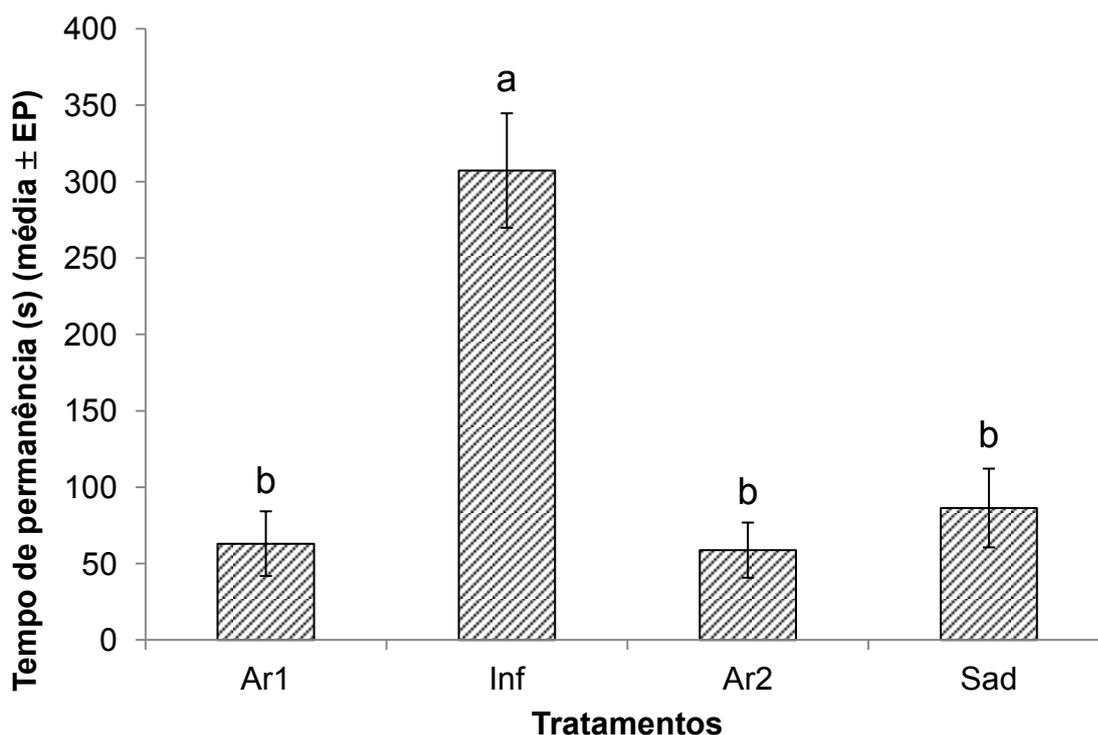


Figura 11. Resposta comportamental de fêmeas colonizadoras de *H. hampei* a voláteis de frutos-infestados (Inf), de frutos-sadios (Sad) e aos braços-controle (Ar1 e Ar2). Médias que possuem a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). s (segundos); EP (erro padrão).

4.2.3 Experimento 3: frutos-sadios *versus* frutos-danificados mecanicamente

Não houve diferença significativa ($F = 0,35$; $P = 0,5598$) em relação à preferência da broca por voláteis de frutos-sadios comparada a frutos-danificados mecanicamente (Fig. 12), embora o tempo de permanência das fêmeas tenha sido ligeiramente superior nos braços correspondentes aos frutos-danificados, sendo igual a 54,5% para frutos-danificados mecanicamente e 45,5% para frutos-sadios. As fêmeas da broca realizaram 44 entradas em braços do olfatômetro correspondentes a frutos-sadios e 43 entradas em braços de frutos-danificados mecanicamente.

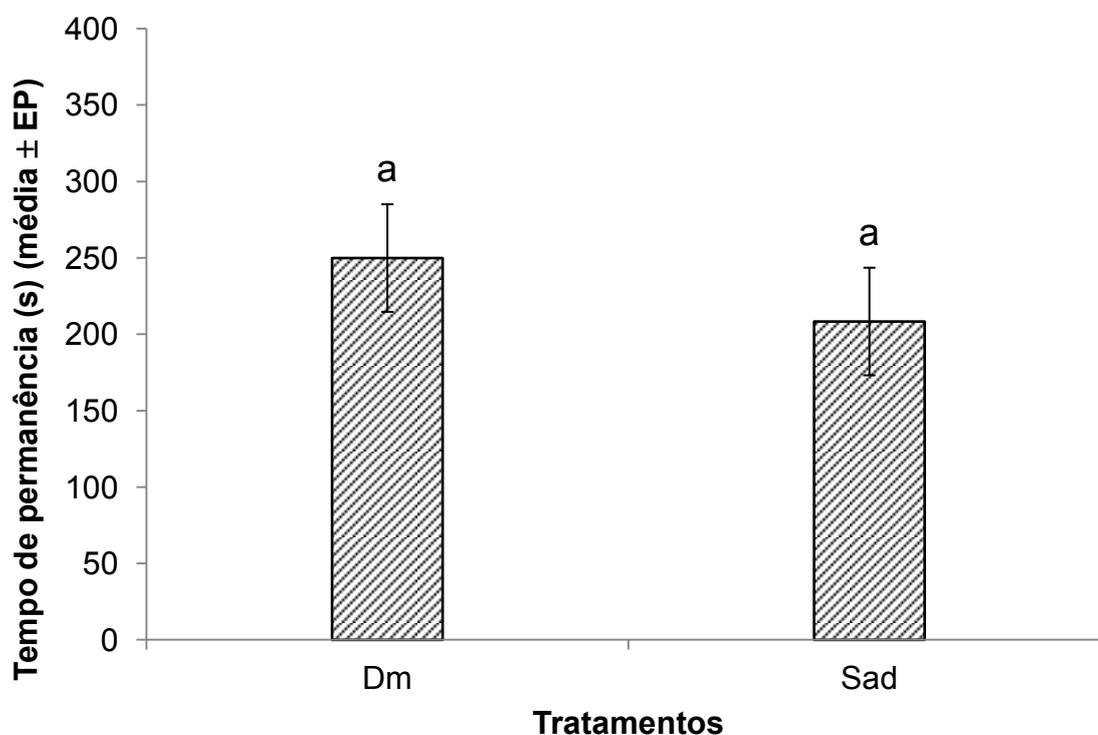


Figura 12. Resposta comportamental de fêmeas colonizadoras de *H. hampei* a voláteis de frutos-sadios (Sad) e de frutos-danificados mecanicamente (Dm). Médias que possuem a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). s (segundos); EP (erro padrão).

5. DISCUSSÃO

As fêmeas colonizadoras de *H. hampei* foram significativamente mais atraídas por voláteis de frutos de *C. arabica* nos estádios de maturação cereja e seco. Os resultados obtidos nesse trabalho concordam com relatos anteriores que indicam a preferência da broca-do-café por frutos cereja ou seco em comparação aos frutos verdes (MENDOZA-MORA, 1991; GIORDANENGO; BRUN; FRÉROT, 1993; MENDESIL et al., 2009).

Há diferenças evidentes nos complexos de voláteis liberados por frutos de café em diferentes estádios de maturação. Mathieu, Malosse e Frérot (1998), Ortiz et al. (2004) e Mendesil et al. (2009) relataram que frutos cereja e secos de *C. arabica* produzem quantitativamente e qualitativamente mais voláteis comparados aos frutos verdes, o que pode explicar a preferência da broca-do-café por esses estádios de maturação.

Ortiz et al. (2004) observou que praticamente os mesmos compostos voláteis podem ser produzidos por frutos de *C. arabica* em todos os estádios de maturação, porém em diferentes quantidades. Aparentemente, a preferência de fêmeas colonizadoras de *H. hampei* por diferentes estádios de maturação de frutos de café, tais como frutos nos estádios cereja e seco, está relacionada com variações quantitativas de poucos compostos voláteis comuns a todos os estádios de maturação.

Não houve diferença significativa em relação à atratividade de *H. hampei* por voláteis de frutos cereja e secos, sugerindo uma provável semelhança na utilização de aleloquímicos liberados por esses estádios de maturação pelas fêmeas colonizadoras. Entretanto, esse resultado foi bastante intrigante, uma vez que a broca-do-café geralmente não oviposita em frutos secos, os quais são inadequados ao desenvolvimento do inseto, principalmente devido aos baixos níveis de umidade destes frutos (BERGAMIN, 1943).

A atratividade de fêmeas de *H. hampei* por frutos secos de café seria um importante mecanismo adaptativo de sobrevivência da espécie, principalmente em virtude de seus hábitos monófagos (JOHANNESON; MANSIGH, 1984). Após o início do período de entressafra do cafeeiro, a broca-do-café interrompe a busca por frutos

de café para oviposição e a reprodução. Nesse período as fêmeas formam numerosos grupos no interior de frutos secos de café, sem perder sua movimentação ou atividade (BARRERA et al., 2007).

Esse estágio fisiológico de fêmeas é denominado diapausa reprodutiva e aumenta as chances de sobrevivência às condições adversas durante o período de entressafra, tais como baixos níveis de umidade e escassez de alimento. Ao se agregar em frutos secos e reduzir sua atividade, essas fêmeas podem reduzir sua perda de água e economizar energia para o voo e busca do hospedeiro na safra seguinte (BARRERA et al., 2007). Portanto, as fêmeas colonizadoras da última geração do ano provavelmente atacam frutos secos para utilizá-los como abrigo, quando não há frutos cereja no campo, o que pode explicar sua forte atratividade por voláteis de frutos secos. A importância destas fêmeas é notável, pois são estas as responsáveis por infestar os frutos da safra do ano seguinte, iniciando novos ciclos de reprodução do inseto.

Esses resultados permitem concluir que frutos de café nos estádios cereja e seco são ideais para estudos que envolvem a análise de voláteis responsáveis pela seleção hospedeira de *H. hampei*. Apesar de um grande número de voláteis de frutos de café ter sido identificado, a avaliação comportamental da broca a todos eles exige grandes esforços. Diante dessa perspectiva, a melhor opção disponível é a técnica de cromatografia gasosa acoplada ao eletroantenograma (GC-EAG). Essa técnica evita a identificação e avaliação de um grande número de compostos que não possuem atividade eletrofisiológica (ROJAS, 2005).

Insetos fitófagos são capazes de reconhecer sinais químicos específicos para encontrar seus hospedeiros em meio ao “ruído olfatório” causado pela sobreposição de voláteis liberados no ambiente por diversas espécies de plantas. Essa especificidade do sinal olfatório é tipicamente definida pela sua quantidade e/ou qualidade, que por sua vez é governada pelas proporções relativas dos componentes presentes no sinal (BRUCE; WADHAMS; WOODCOCK, 2005).

Mendesil et al. (2009) acreditam que *H. hampei* utiliza uma mistura de compostos para reconhecer o seu hospedeiro. O uso de uma mistura pode permitir o reconhecimento do hospedeiro pelas proporções específicas de compostos voláteis

onipresentes ao invés de compostos voláteis específicos do hospedeiro (VISSER, 1986; BRUCE; WADHAMS; WOODCOCK, 2005).

A composição aleloquímica de frutos de café pode variar consideravelmente de uma espécie/variedade para outra, independente dos estádios de maturação de frutos (MATHIEU et al., 1996; WARTHEN et al., 1997; MATHIEU; MALOSSE; FRÉROT, 1998; ORTIZ et al., 2004; MENDESIL et al., 2009; ROMÁN-RUIZ et al., 2012). Portanto, são necessários outros estudos comportamentais comparando a atratividade de *H. hampei* a voláteis produzidos por frutos nos estádios cereja e seco de diferentes genótipos de café.

As fêmeas colonizadoras de *H. hampei* foram significativamente mais atraídas por voláteis de frutos infestados naturalmente em comparação aos de frutos sadios e danificados mecanicamente. Verificando a literatura, são raros os trabalhos que relatam a atratividade da broca-do-café por voláteis de frutos infestados (ESQUINCA, 1986; MENDOZA-MORA, 1991).

Esquinca (1986) observou que fêmeas de *H. hampei* foram significativamente mais atraídas por voláteis de frutos infestados em comparação a voláteis de frutos sadios. Mendoza-Mora (1991) relatou que grande parte de fêmeas de *H. hampei* responderam positivamente a voláteis de frutos infestados de *C. arabica* nos estádios cereja e verde. Os resultados obtidos no presente trabalho concordam com os resultados obtidos por Esquinca (1986) e Mendoza-Mora (1991), indicando que há um complexo de semioquímicos particularmente importante mediando a atratividade de *H. hampei* a frutos infestados de café.

A atratividade da broca-do-café por frutos infestados parece estar substancialmente relacionada a voláteis presentes no “dust/frass”. Os resultados de Esquinca (1986) sugerem a existência de feromônios de agregação nos “dust/frass”. Mendoza-Mora (1991) propôs que o dano provocado pela alimentação da broca nos frutos de café aumentaria a liberação de voláteis pelo fruto ou uma mistura de voláteis produzidos pelo fruto e pelos estádios de vida do inseto aumentaria a atratividade para seus conspecíficos. Existe uma provável relação entre os voláteis dos “dust/frass” e o comportamento de agregação do inseto em plantações de café (BAKER, 1984; ESQUINCA, 1986; MENDOZA-MORA, 1991).

Rojas (2005) observou que frutos infestados liberam uma quantidade significativamente maior de voláteis (e.g. terpenos) comparados aos frutos sadios e danificados mecanicamente; observou também que frutos infestados liberam uma quantidade de etanol semelhante à liberada por frutos sadios. Dado que frutos infestados liberam uma quantidade de etanol semelhante à liberada por frutos sadios e que os frutos infestados são mais atrativos à *H. hampei*, é muito provável que além do etanol estejam presentes outros compostos responsáveis pela atratividade do inseto a estes frutos, principalmente nos “dust/frass”.

Uma análise química dos “dust/frass” de coloração preta detectou a presença de alguns voláteis (e.g. limoneno e 3-octanona) identificados entre os voláteis emitidos por frutos sadios de café (MATHIEU; MALOSSE; FRÉROT, 1998; ORTIZ et al., 2004), mas esses resíduos também produziram compostos como verbenona, geraniol e guaiacol, os quais não foram detectados entre os voláteis produzidos por frutos de café (ROJAS; VIRGEN, 2006). Alguns desses compostos podem ser metabolitos larvais de precursores de plantas (RAMACHANDRAN et al., 1991) ou produzidos por microrganismos presentes nos “dust/frass” (PREMA; BHATTACHARYYA, 1962; FAROOQ; RAHMAN; CHOUDHARY, 2004).

Román-Ruíz et al. (2012) observaram que somente cinco dos 18 compostos voláteis identificados nos “dust/frass” de *H. hampei* foram encontrados também entre os voláteis de frutos cereja sadios de *C. canephora*.

Essas análises químicas revelaram que os “dust/frass” contêm alguns compostos voláteis não encontrados entre as emissões de frutos de café. Uma vez que frutos infestados são mais atrativos à *H. hampei* do que os “dust/frass” (ESQUINCA, 1986), provavelmente há um sinergismo entre os voláteis do fruto de café e os voláteis dos “dust/frass” no processo de seleção hospedeira desse inseto. Em outras espécies de Scolytinae é bem conhecido o fenômeno de que os voláteis provenientes da planta hospedeira sinergizam a atratividade aos feromônios de agregação (BIRCH, 1984).

Os microrganismos presentes no “dust/frass” são outra possível fonte de voláteis atrativos a *H. hampei*. Mais de 50 espécies de fungos estão associadas a *H. hampei* e presentes em suas galerias nos frutos (PÉREZ et al., 2003; CARRIÓN; BONET, 2004). Um dos principais voláteis do “dust/frass” é o 3-octanona, o qual é

produzido por duas espécies de fungos isolados do “dust/frass” de *H. hampei*, *Fusarium solani* (Martius, 1842) e *Penicillium crustosum* Thom, 1930. Foram identificados 25 compostos voláteis produzidos por *F. solani* (ROMÁN-RUIZ et al., 2012). Curiosamente, uma associação e uma possível simbiose entre *F. solani* e *H. hampei* foram constatadas (ROJAS; MORALES-RAMOS; HARRINGTON, 1999; MORALES-RAMOS et al., 2000).

Uma análise química indicou que os frutos danificados mecanicamente liberam quantitativamente mais voláteis do que os frutos sadios, principalmente etanol (ROJAS, 2005). De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, essa diferença na liberação de voláteis (e.g. etanol) entre frutos danificados e sadios não foi suficiente para produzir uma atratividade significativa da broca pelos primeiros, embora o tempo de permanência de fêmeas nos braços do olfatômetro correspondentes aos frutos danificados tenha sido ligeiramente superior.

Há a possibilidade de plantas de cafeeiro estressadas por fatores bióticos e/ou abióticos liberarem maiores quantidades de etanol comparadas com plantas sadias. O efeito combinado de liberação de etanol por várias plantas de cafeeiro estressadas pode resultar em maiores infestações da broca, assim como ocorre em espécies florestais de Scolytinae, para as quais a liberação de etanol representa um sinal que indica às brocas quais árvores são mais suscetíveis ao ataque (BYERS, 1995).

Recomenda-se que estudos futuros busquem identificar e comparar os voláteis de frutos infestados, dos “dust/frass” e de frutos sadios de café. Devem ser realizados estudos baseados em GC-EAG e testes envolvendo a resposta de fêmeas colonizadoras de *H. hampei* a voláteis eletrofisiologicamente ativos dessas diferentes fontes de semioquímicos. A descoberta de semioquímicos de elevada especificidade pode resultar no aumento da eficiência do controle massal e do monitoramento por armadilhas desse importante inseto-praga.

6. CONCLUSÕES

Fêmeas colonizadoras de *H. hampei* são mais atraídas por voláteis de frutos cereja e secos do que por voláteis de frutos verdes e por voláteis de frutos infestados do que por voláteis de frutos danificados mecanicamente e frutos sadios de café cereja.

A preferência de fêmeas colonizadoras *H. hampei* por frutos infestados indica que além dos voláteis liberados por frutos cereja, provavelmente outros semioquímicos estão envolvidos no processo de seleção hospedeira dessa espécie, podendo ser feromônios de agregação e/ou aleloquímicos presentes nos “dust/frass”, voláteis induzidos pelo ataque do inseto e/ou voláteis produzidos por fungos.

Frutos de café nos estádios cereja e seco, bem como frutos infestados (“dust/frass” de coloração preta), são ideais para estudos que envolvem a análise de semioquímicos responsáveis pela atratividade de fêmeas colonizadoras de *H. hampei*.

7. REFERÊNCIAS

BAKER, P. S. Some aspects of the behavior of the coffee berry borer in relation to its control in southern Mexico (Coleoptera, Scolytidae). **Folia Entomológica Mexicana**, Xalapa, v. 61, p. 9-24, 1984.

BAKER, P. S.; BARRERA, J. F.; VALENZUELA, J. E. The distribution of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Southern Mexico: a survey for a biocontrol project. **Tropical Pest Management**, Basingstoke, v. 35, n. 2, p. 163-168, 1989.

BAKER, P. S.; BARRERA, J. F.; RIVAS, A. Life-history studies of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*, Scolytidae) on coffee trees in southern Mexico. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 29, n. 3, p. 656-662, 1992.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JR., W. AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agrônomicos. Versão 1.1.0.711, 2014.

BARRERA, J. F. Coffee pests and their management. In: CAPINERA, J. L. (Ed.). **Encyclopedia of Entomology**. 2nd ed. Dordrecht: Springer, 2008. p. 961-998.

BARRERA, J.; VILLACORTA, A.; HERRERA, J.; GARCÍA, H.; CRUZ, L. Aplicación de trampas para el monitoreo de la broca del café. In: HOHMANN, C. L. (Org.). **Manejo da broca-do-café: workshop internacional**. Londrina: IAPAR, 2007. p. 95-112.

BERGAMIN, J. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Col. Ipidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 14, p. 31-72, 1943.

BERGAMIN, J. Broca-do-café. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 20, n. 9-12, p. 427-430, 1945.

BERNAYS, E. A.; CHAPMAN, R. F. **Host-plant selection by phytophagous insects**. Contemporary Topics in Entomology 2. New York: Chapman & Hall, 1994. p. 14-54.

BERTHET, J. A. Caruncho do café. **Boletim Agrícola**, São Paulo, v. 14, n. 5, p. 312-313, 1913.

BIRCH, M. C. Aggregation in bark beetles. In: BELL, W. J.; CARDÉ, R. T. (Eds.). **Chemical Ecology of Insects**. New York: Chapman & Hall, 1984. p. 331-353.

BORBÓN, O. M. Eficacia de las trampas de vasos para el monitoreo y control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) en Costa Rica y Nicaragua. In: HOHMANN, C. L. (Org.). **Manejo da broca-do-café: workshop internacional**. Londrina: IAPAR, 2007. p. 113-135.

BORSA, P.; KJELLBERG, F. Experimental evidence for pseudo-arrhenotoky in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Heredity**, London, v. 76, p. 130-135, 1996.

BRUCE, T. J. A.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. Insect host location: a volatile situation. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 10, n. 6, p. 269-274, 2005.

BRUN, L. O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V.; SUCKLING, D. M. Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 82, n. 5, p. 1311-1316, 1989.

BURBANO, E.; WRIGHT, M.; BRIGHT, D. E.; VEGA, F. E. New record for the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Hawaii. **Journal of Insect Science**, Oxford, v. 11, n. 117, p. 1-3, 2011.

BYERS, J. A. Host-tree chemistry affecting colonization of bark beetles. In: CARDÉ, R. T.; BELL, W. J. (Eds.). **Chemical Ecology of Insects 2**. New York: Chapman & Hall, 1995. p. 154-286.

CANTOR, F.; BENASSI, V. L. R. M.; FANTON, C. J. Broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. (Eds.). **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 99-103.

CARRIÓN, G.; BONET, A. Mycobiota associated with the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) and its galleries in fruit. **Annals of the Entomological Society of America**, Maryland, v. 97, n. 3, p. 492-499, 2004.

CEJA-NAVARRO, J. A.; VEGA, F. E.; KARAOZ, U.; HAO, Z.; JENKINS, S.; LIM, H. C.; KOSINA, P.; INFANTE, F.; NORTHERN, T. R.; BRODIE, E. L.. Gut microbiota mediate caffeine detoxification in the primary insect pest of coffee. **Nature Communications**, v. 6, n. 7618, p. 1-9, 2015.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). **Acompanhamento da safra brasileira de café, safra 2015, primeiro levantamento, janeiro/2015**. v.1, n.3, Brasília: Conab, 2014. p. 1-41.

CONSTANTINO, L. M.; NAVARRO, L.; BERRIO, A.; ACEVEDO, F. R.; RUBIO, D.; BENAVIDES, P. Aspectos biológicos, morfológicos y genéticos de *Hypothenemus obscurus* e *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Revista Colombiana de Entomologia**, Bogotá, v. 37, n. 2, p. 173-182, 2011.

CORAL, F. G.; BACCA, T.; DIAS, L. G. Efecto atractivo de los volatiles de un terpenoide a insectos asociados a *Coffea arabica* L. (Rubiaceae). **Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural**, Caldas, v. 16, n. 2, p. 78-86, 2012.

COSTA, F. G.; FARIA, C. A. Por que fêmeas da broca do café perfuram preferencialmente a coroa dos frutos? **Academia Insecta**, Viçosa, v. 1, n. 1, p. 1-4, 2001.

COSTA, F. G. **Avaliação de semioquímicos do café para seu emprego em programas de monitoramento e controle da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae)**. 2002. 23 f. Monografia (Estágio Supervisionado em Biologia Animal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

CURE, J. R.; SANTOS, H. S.; MORAES, J. C. VILELA, E. F.; GUTIERREZ, A. P. Phenology and population dynamics of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferr.) in relation to the phenological states of the berry. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 27, n. 3, p. 325-336, 1998.

DAMON, A. A. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 90, n. 6, p. 453-465, 2000.

DAVIS, A. P.; GOVAERTS, R.; BRIDSON, D. M.; STOFFELEN, P. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 152, n. 4, p. 465-512, 2006.

DAVIS, A. P.; TOSH, J.; RUCH, N.; FAY, M. F. Growing coffee: *Psilanthus* (Rubiaceae) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 167, n. 4, p. 357-377, 2011.

DE BOER, J. G.; DICKE, M. Information use by the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae), a specialized natural enemy of herbivorous spider mites. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 40, n. 1, p. 1-12, 2005.

DUFOUR, B. P.; FRÉROT, B. Optimization of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Col., Scolytidae), mass trapping with an attractant mixture. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 132, n. 7, p. 591-600, 2008.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). **PQR – EPPO Plant Quarantine Data Retrieval system**, 2015. Disponível em: <<http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>>. Acesso em: 1 set. 2015.

ESQUINCA, A. H. **Búsqueda de semioquímicos en la interacción cafeto *Coffea* spp. broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) mediante bioensayos olfatométricos**. 1986. Tesis (Licenciatura) – Universidad Autónoma de Chiapas, México, 1986.

FAROOQ, A.; RAHMAN, U. A.; CHOUDHARY, M. I. Fungal transformation of monoterpenes. **Current Organic Chemistry**, Sharjah, v. 8, n. 4, p. 353-366, 2004.

FERNANDES, F. L.; PICANÇO, M. C.; SILVA, R. S.; SILVA, I. W.; FERNANDES, M. E. S.; RIBEIRO, L. H. Controle massal da broca-do-café com armadilhas de garrafa Pet vermelha em cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 8, p. 587-594, 2014.

GIORDANENGO, P. **Biologie, éco-éthologie et dynamique des populations du scolyte des grains de café, *Hypothenemus hampei* Ferr. (Coleoptera, Scolytidae), em Nouvelle-Calédonie**. 1992. 110 f. These (Docteur dans Sciences Biologiques) – L'Université de Rennes I, Paris, 1992.

GIORDANENGO, P.; BRUN, L. O.; FRÉROT, B. Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, by coffee berries. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 19, n. 4, p. 763-769, 1993.

GÓMEZ, J.; CHÁVEZ, B. Y.; CASTILLO, A.; VALLE, F. J.; VEGA, F. E. The coffee berry borer (Coleoptera: Curculionidae): how many instars are there? **Annals of the Entomological Society of America**, Maryland, v. 108, n. 3, p. 311-315, 2015.

GUERREIRO-FILHO; O.; MAZZAFERA, P. Caffeine and resistance of coffee to the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 24, p. 6987-6991, 2003.

GUTIÉRREZ-MARTÍNEZ, A.; ONDARZA, R. N. Kairomone effect of extracts from *Coffea canephora* over *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Environmental Entomology**, Maryland, v. 25, n. 1, p. 96-100, 1996.

HIROSE, E.; NEVES, P. M. O. J. Técnica para criação e manutenção da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), em laboratório. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 161-164, 2002.

JARAMILLO, J.; BORGEMEISTER, C.; BAKER, P. Coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae): searching for sustainable control strategies. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 96, p.223-233, 2006.

JARAMILLO, J.; CHABI-OLAYE, A.; POEHLING, H. -M.; KAMONJO, C.; BORGEMEISTER, C. Development of an improved laboratory production technique for the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*, using fresh coffee berries. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 130, n. 3, p. 275-281, 2009a.

JARAMILLO, J.; CHABI-OLAYE, A.; KAMONJO, C.; JARAMILLO, A.; VEGA, F. E.; POEHLONG, H. -M.; BORGEMEISTER, C. Thermal tolerance of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*: predications of climate change impact on a tropical insect pest. **Plos One**, San Francisco, v. 4, n. 8, p. 1-11, 2009b.

JOHANNESON, N. E.; MANSINGH, A. Host pest relationship of the genus, *Hypothenemus* (Scolytidae: Coleoptera) with special reference to the coffee berry borer, *H. hampei*. **Journal of Coffee Research**, Chikmagalur, v. 14, n. 2, p. 43-56, 1984.

LE PELLEY, R. H. **Las plagas del café**. Barcelona: Labor, 1973. p. 139-170.

LÓPEZ-GUILLÉN, G.; CARRASCO, J. V.; CRUZ-LÓPEZ, L.; BARRERA, J. F.; MALO, E. A.; ROJAS, J. C. Morphology and structural changes in flight muscles of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) females. **Environmental Entomology**, Maryland, v. 40, n. 2, p. 441-448, 2011.

MATHIEU, F.; MALOSSE, C.; CAIN, A. -H.; FRÉROT, B. Comparative headspace analysis of fresh red coffee berries from different cultivated varieties of coffee trees. **Journal of High Resolution Chromatography**, Weinheim, v. 19, n. 5, p. 298-300, 1996.

MATHIEU, F.; BRUN, L. O.; FRÉROT, B. Factors related to native host abandonment by the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Col., Scolytidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 121, n. 3, p. 175-180, 1997.

MATHIEU, F.; MALOSSE, C.; FRÉROT, B. Identification of the volatile components released by fresh coffee berries at different stages of ripeness. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 3, p. 1106-1110, 1998.

MATHIEU, F.; GAUDICHON, V.; BRUN, L. O.; FRÉROT, B. Effect of physiological status on olfactory and visual responses of female *Hypothenemus hampei* during host plant colonization. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 26, n. 3, p. 189-193, 2001.

MENDESIL, E.; BRUCE, T. J. A.; WOODCOCK, C. M.; CAULFIELD, J. C.; SEYOUM, E.; PICKETT, J. A. Semiochemicals used in host location by coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 35, n. 8, p. 944-950, 2009.

MENDOZA-MORA, J. R. **Resposta da broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, a estímulos visuais e semioquímicos**. 1991. 44 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

MESSING, R. H. The coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) invades Hawaii: preliminary investigations on trap responses and alternate hosts. **Insects**, Basel, v. 3, p. 640-652, 2012.

MOORE, D.; ABRAHAM, Y. J.; MILLS, N. J. Effects of competition in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col., Scolytidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 109, n. 1-5, p. 64-70, 1990.

MORALES-RAMOS, J. A.; ROJAS, M. G.; SITTERTZ-BHATKAR, H.; SALDAÑA, G. Symbiotic relationship between *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) and *Fusarium solani* (Moniliales: Tuberculariaceae). **Annals of the Entomological Society of America**, Maryland, v. 93, n. 3, p. 541-547, 2000.

MUTIS, A.; PARRA, L.; PALMA, R.; PARDO, F.; PERICH, F.; QUIROZ, A. Evidence of contact pheromone use in mating behavior of the raspberry weevil (Coleoptera: Curculionidae). **Environmental Entomology**, Maryland, v. 38, n. 1, p. 192-197, 2009.

NAPPO (North American Plant Protection Organization's). **Detections of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Puerto Rico - United States**. North American Plant Protection Organization's Phytosanitary Alert System, 2007. Disponível em: <<http://www.pestalert.org/oprDetail.cfm?oprID=281>>. Acesso em: 01 set. 2015.

OLIVEIRA, C. M.; AUAD, A. M.; MENDES, S. M.; FRIZZAS, M. R. Economic impact of exotic insect pests in Brazilian agriculture. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 137, n. 1-2, p. 1-15, 2013.

ORTIZ, A.; ORTIZ, A.; VEGA, F. E.; POSADA, F. Volatile composition of coffee berries at different stages of ripeness and their possible attraction to the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 19, p. 5914-5918, 2004.

PÉREZ, J.; INFANTE, F.; VEGA, F. E.; HOLGUÍN, F.; MACÍAS, J.; VALLE, J.; NIETO, G.; PETERSON, S. W.; KURTZMAN, C. P. Mycobiota associated with the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Mexico. **Mycological research**, Manchester, v. 107, n. 7, p. 879-887, 2003.

PRATES, H. S. Observações preliminares da atração da broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), a extratos de frutos do cafeeiro (cereja e verde). **O Solo**, Piracicaba, v. 61, p. 13-14, 1969.

PREMA, B. R.; BHATTACHARYYA, P. K. Microbiological transformation of terpenes II.. Transformations of α -pinene. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, v. 10, n. 6, p. 524-528, 1962.

RAMACHANDRAN, R.; NORRIS, D. M.; PHILLIPS, J. K.; PHILLIPS, T. W. Volatiles mediating plant-herbivore-natural enemy interactions: soybean looper frass volatiles, 3-octanone and guaiacol, as kairomones for the parasitoid *Microplitis demolitor*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 39, n. 12, p. 2310-2317, 1991.

ROJAS, J. C. Ecología química de la broca del café y sus parasitoides. In: BARRERA, J. F. (Ed.). **Simposio sobre situación actual y perspectivas de la investigación y manejo de la broca del café em Costa Rica, Cuba, Guatemala y México**. Tapachula: Sociedad Mexicana de Entomología y El Colegio de la Frontera Sur, 2005. p. 12-21.

ROJAS, J. C.; CASTILLO, A.; VIRGEN, A. Chemical cues used in host location by *Phymastichus coffea*, a parasitoid of coffee berry borer adults, *Hypothenemus hampei*. **Biological Control**, Orlando, v. 37, n. 2, p. 141-147, 2006.

ROJAS, M. G.; MORALES-RAMOS, J. A.; HARRINGTON, T. C. Association between *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) and *Fusarium solani* (Moniliales: Tuberculariaceae). **Annals of the Entomological Society of America**, Maryland, v. 92, n. 1: 98-100, 1999.

ROMÁN-RUÍZ, A. K.; MALO, E. A.; HUERTA, G.; CASTILLO, A.; BARRERA, J. F.; ROJAS, J. C. Identification and origin oh host-associated volatiles attractive to *Prorops nasuta*, a parasitoid of the coffee berry borer. **Arthropod-Plant Interactions**, Germany, v. 6, n. 4, p. 611-620, 2012.

RUDINSKY, J. A.; RYKER, L. C.; MICHAEL, R. R.; LIBBEY, L. M.; MORGAN, M. E. Sound production in Scolytidae: female sonic stimulus of male pheromone release in two *Dendroctonus* beetles. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 22, n. 12, p. 1675-1681, 1976.

SILVA, F. C.; VENTURA; M. U.; MORALES, L. Capture of *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera, Scolytidae) in response to trap characteristics. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 63, n. 6, p. 567-571, 2006.

SILVA, W. D. **Comportamento sexual da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)**. 2009. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

SILVA, W. D. **Idade de fêmeas colonizadoras de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) e sua resposta aos voláteis de flores de café, *Coffea arabica* L.** 2014. 15 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

SILVA, W. D.; MASCARIN, G. M.; ROMAGNOLI, E. M.; BENTO, J. M. S. Mating behaviour of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 25, n. 4, p. 408-417, 2012.

SILVA, W. D.; COSTA, C. M.; BENTO, J. M. S. How old are colonizing *Hypothenemus hampei* (Ferrari) females when they leave the native coffee fruit? **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 27, n. 6, p. 729-735, 2014.

SOUZA, J. C.; SILVA, R. A.; REIS, P. R.; CARVALHO, T. A. F.; PEREIRA, A. B. **Cafeicultor: saiba como proceder com a broca-do-café sem o inseticida endossulfan.** Belo Horizonte: EPAMIG, 2012. 2 p. (Circular Técnica, 165).

SOUZA, J. C.; SILVA, R. A.; REIS, P. R.; MARTINS, C. P.; TOLEDO, M. A.; MARAFELLI, P. P.; ALVES, J. P. **Broca-do-café e controle químico.** Belo Horizonte: EPAMIG, 2013. 5 p. (Circular Técnica, 185).

TICHELER, J.H.G. Étude analytique de l'épidémiologie du scolyte des graines de café, *Stephanoderes hampei* Ferr., en Côte d'Ivoire. **Mededelingen Landbouwhogeschool**, Wageningen, v. 11, n. 61, p. 1-49, 1961.

TOOKER, J. F.; CRUMRIN, A. L.; HANKS, L. M. Plant volatiles are behavioral cues for adult females of the gall wasp *Antistrophus rufus*. **Chemoecology**, Germany, v. 15, n. 2, p. 85-88, 2005.

VEGA F. E.; FRANQUI, R. A.; BENAVIDES, P. The presence of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Puerto Rico: fact or fiction? **Journal of Insect Science**, Oxford, v. 2, n. 13, p. 1-3. 2002.

VEGA, F. E.; BENAVIDES, P.; STUART, J. A.; O'NEILL, S. L. *Wolbachia* infection in the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Maryland, v. 95, n. 3, 374-378, 2002.

VEGA, F. E.; POSADA, F.; INFANTE, F. Coffee insects: ecology and control. In: PIMENTEL, D. (Ed.). **Encyclopedia of Pest Management, Volume II**. Flórida: CRC Press, 2006. p. 95-98.

VEGA, F. E.; INFANTE, F.; CASTILLO, A.; JARAMILLO, J. The coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae): a short review, with recent findings and future research directions. **Terrestrial Arthropod Reviews**, Washington, v. 2, p.129-147, 2009.

VEGA, F. E.; SIMPKINS, A.; BAUCHAN, G.; INFANTE, F.; KRAMER, M.; LAND, M. F. On the eyes of male coffee berry borers as rudimentary organs. **Plos One**, San Francisco, v. 9, n. 1, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0085860>>.

VEGA, F. E.; BAUCHAN, G.; INFANTE, F.; VALDÉZ-CARRASCO, J. M.; BEAVER, R. Visualizing the mesothoracic spiracles in a bark beetle: *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Maryland, v. 108, n. 3, p. 446-448, 2015a.

VEGA, F. E.; SIMPKINS, A.; BAUCHAN, G.; VALDÉZ-CARRASCO, J. M.; CASTILLO, A.; INFANTE, F. A mysterious wing spine in male coffee berry borers (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 98, n. 1, p. 352-353, 2015b.

VEGA, F. E.; INFANTE, F.; JOHNSON, A. J. The genus *Hypothenemus*, with emphasis on *H. hampei*, the coffee berry borer. In: VEGA, F. E.; HOFSTETTER, R. W. (Eds.). **Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species**. San Diego: Academic Press, 2015. p. 427-494.

VISSER, J. H. Host odor perception in phytophagous insects. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 31, n. 1, 121-144, 1986.

WARTHEN, J. D.; LEE, C. J.; JANG, E. B.; LANCE, D. R.; MCLINNIS, D. O. Volatile, potential attractants from ripe coffee fruit for female mediterranean fruit fly. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 23, n. 7, p. 1981-1900, 1997.

WATERHOUSE, D. F.; NORRIS, K. R. *Hypothenemus hampei*, coffee berry borer. **Biological control: Pacific prospects – Supplement 1**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1989. p. 56-75.