

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE LIPÍDIOS EM *Anthonomus grandis*, BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE), PELO MÉTODO "DOSAGEM DE LIPÍDIO TOTAL", NA SAFRA E ENTRESSAFRA DO ALGODOEIRO

Miriam R. Paron¹, Antonio C. Busoli², Marcos Macari³, José R. Guerreiros³ e Euclides R. Secato³

ABSTRACT

Determination of Lipid in *Anthonomus grandis*, Boh. (Coleoptera: Curculionidae), by Method of "Total Lipid Dosage" in cotton season and noncotton season

From May/1991 to April/1993, boll weevil adults *Anthonomus grandis* Boh. were captured in pheromone traps and used to determine the lipid level by method of Total Lipid Dosage. It is used to extract lipid of the animal tissue with chloroform-methanol (2:1). The extractions were realized with one grama of the boll weevil freezing in liquid nitrogen, triturated and uniformized with the solvents. The mixture was filtrated, centrifuged and dried. The amount lipid total of the boll weevil captured in cotton season was similar to boll weevil captured in noncotton season. This observation suggest the absence of diapause in the overwintering boll weevil.

KEY WORDS: Insecta, diapause, lipid extraction, pheromone traps.

RESUMO

Durante o período de maio/1991 a abril/1993, adultos de bicudo *Anthonomus grandis* Boh. foram capturados através de armadilhas com feromônios, para determinar o teor de lipídios

Recebido em 10/03/94. Aceito em 07/06/95.

¹Departamento de Entomologia, ESALQ/USP, Av. Carlos Botelho, 1025, 13416-145, Piracicaba, SP.

²Departamento de Entomologia e Nematologia, FCAVJ/UNESP, Rodo. Carlos Tonanni, Km 5, 14870-000, Jaboticabal, SP.

³Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, FCAVJ/UNESP, Rod. Carlos Tonanni, Km 5, 14870-000, Jaboticabal, SP.

pelo método "Dosagem de Lipídios Total", que consiste em extrair com clorofórmio-metanol (2:1) lipídios dos tecidos animais. As extrações foram realizadas com 1g de bicudos adultos (em média 170 indivíduos) congelados com nitrogênio líquido, triturados manualmente e homogeneizados com os solventes, sendo a seguir filtrados, centrifugados e secos. O teor de lipídios encontrado nos bicudos coletados tanto na safra como na entressafra foi semelhante, sendo este um dos indícios da ausência de diapausa de bicudos na entressafra.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, diapausa, extração de lipídios, armadilhas de feromônio.

INTRODUÇÃO

Um das características mais importantes no comportamento do *Anthonomus grandis* Boh. nos Estados Unidos da América do Norte é a diapausa, ou seja, a hibernação dos adultos durante o inverno (Lloyd 1986). Estes insetos normalmente passam a entressafra na forma adulta, sob a vegetação morta do interior de matas ou em pequenos arbustos e ervas daninhas que circundam os campos de algodão.

Brazzel Junior & Newson (1959) constataram que a diapausa do bicudo se caracteriza pela cessação da gametogênese, atrofia das gônadas, aumento do conteúdo de lipídios, diminuição da quantidade de água e da taxa respiratória. Este mecanismo permite que o bicudo sobreviva de uma safra para outra em ambientes protegidos. No início da infestação do bicudo no Brasil, alguns trabalhos relatavam a existência de diapausa, com base nas características citadas por Brazzel Junior & Newson (1959). Em 1983, foi observado a diapausa total ou parcial em 60% de adultos capturados em armadilhas na região de Campinas, SP (Gabriel et al. 1991). Campanhola & Martin (1987), verificaram a ocorrência de adultos em diapausa no Estado de São Paulo em 1983, através de coletas de amostras de solo em locais próximos às lavouras de algodão.

Em uma área subtropical próxima a Brownsville, Texas (EUA), Guerra & Garcia (1982) verificaram que a diapausa "clássica" ou "verdadeira" não existe durante o inverno. Guerra et al. (1984) em Chiapas no México, concluíram que os adultos se apresentavam em estado quiescente, mas permaneciam fisiologicamente ativos e reprodutivos durante a entressafra. Os bicudos completavam seu ciclo de vida no interior das maçãs no período de baixa umidade, num estado quiescente ou de repouso, limitando seu movimento, tendo alimento e baixa quantidade de lipídios no corpo. Este comportamento de permanecer no interior das maçãs pode ser uma importante alternativa de sobrevivência do bicudo para a safra seguinte.

Alguns anos após o aparecimento da praga no Brasil, Ramalho & Jesus (1988), estudaram o comportamento reprodutivo do bicudo no Estado da Paraíba em 1985/1986 e detectaram que as fêmeas capturadas nas armadilhas de feromônio estavam sexualmente ativas, copulando, armazenando esperma na espermateca e depositando ovos férteis durante a entressafra.

O objetivo da presente pesquisa foi determinar o teor de lipídios em bicudos adultos capturados, na safra e entressafra do algodoeiro, utilizando-se o "Método Dosagem de Lipídio Total".

MATERIAL E MÉTODOS

Os adultos de bicudos foram coletados em uma área aproximada de 10 ha de algodão, no período de maio de 1991 a abril de 1993 na região de Jaboticabal, SP. Foram feitas coletas semanais de adultos de *A. grandis*, através de armadilhas modelo "Hardee" da Hercon

Company, com o feromônio "glandlure" incorporados em cápsulas de polietileno. Foram utilizadas seis armadilhas, fixadas por arame em bambus de aproximadamente 2m e distribuídas em várias posições pré-estabelecidas da área de cultivo de algodão e nas matas adjacentes. Os bicudos capturados foram colocados em sacos plásticos, identificados, sendo a seguir transportados para o laboratório, onde foram contados, pesados em balança analítica e armazenados em geladeira.

Para proceder à análise da quantidade de lipídios, foi utilizado o método "Dosagem de Lipídio Total" (DLT) de Bligh & Dyer (1959), adaptado pelo Prof. Dr. Marcos Macari do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAVJ/UNESP, onde foram feitas as análises.

Foram realizadas três extrações de lipídios de adultos coletados no período de maio/1991 a abril/1992. Para as extrações utilizou-se amostras de 1g de bicudos coletados em cada mês (aproximadamente 170 indivíduos). Cada extração de lipídios foi composta de seis amostras, sendo uma amostra a testemunha e cinco amostras de bicudos coletados em cada um dos respectivos meses.

Os procedimentos técnicos utilizados para a obtenção do teor de lipídios dos bicudos foram os seguintes: preparou-se 500ml da mistura clorofórmio-metanol (2:1). Pesou-se seis placas de Petri de vidro em balança de precisão (0,0001g) e colocadas em dessecador. A seguir 1g de bicudo/mês para cinco amostras, foram contados e envolvidos em papel alumínio e cada amostra foi deixada para congelar durante 1 minuto em caixa de isopor contendo nitrogênio líquido, sendo a seguir macerada em cadinho com pistilo e homogeneizada com 10ml da mistura clorofórmio-metanol. Os homogeneizados foram transferidos em frascos graduados e completados para 20ml com a mistura, procedendo-se da mesma forma para a testemunha, sendo a seguir filtrados em provetas com papel filtro. Em um tubo de centrifuga graduado foram colocados 15ml do filtrado e completados com 3 ml de água, sendo agitados com bastão até ficar uma única fase e a seguir centrifugados por 5 minutos à 1500 rpm. Foi retirada cuidadosamente a água excedente do tubo da centrifuga com pipeta de Pasteur acoplada à uma bomba de sucção. Com uma pipeta, foram coletados 10 ml da mistura do tubo e transferidos para as placas de Petri do dessecador, sendo estas colocadas na estufa ($\pm 60^\circ$) e após 24 horas foram pesadas novamente na balança de precisão.

Baseados no método, foram feitos cálculos para obter a dosagem de lipídio total em bicudo e os resultados foram submetidos à análise de correlação linear simples com o peso dos bicudos coletados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se maior quantidade de lipídios nos bicudos capturados de maio a agosto (início da entressafra/1991), aproximadamente 250 a 350 ug/indivíduo (Fig. 1). Nos meses seguintes, outubro e novembro, a quantidade diminuiu para cerca de 170 a 200 ug/indivíduo, talvez em decorrência dos bicudos migrantes e sobreviventes da entressafra utilizarem lipídios para se manterem até o novo plantio do algodão. Por outro lado, com a presença de algodão, a quantidade de lipídios aumentou nos bicudos capturados a partir de dezembro, ficando em abril semelhante à quantidade de maio (início da entressafra/1991). Guerra *et al.* (1984) através da análise de lipídios no abdômem de bicudos coletados na safra e na entressafra, verificaram que houve uma grande quantidade de lipídios nos insetos no período de safra e que no decorrer da entressafra esta quantidade diminuiu. Freire *et al.* (1990) observaram através

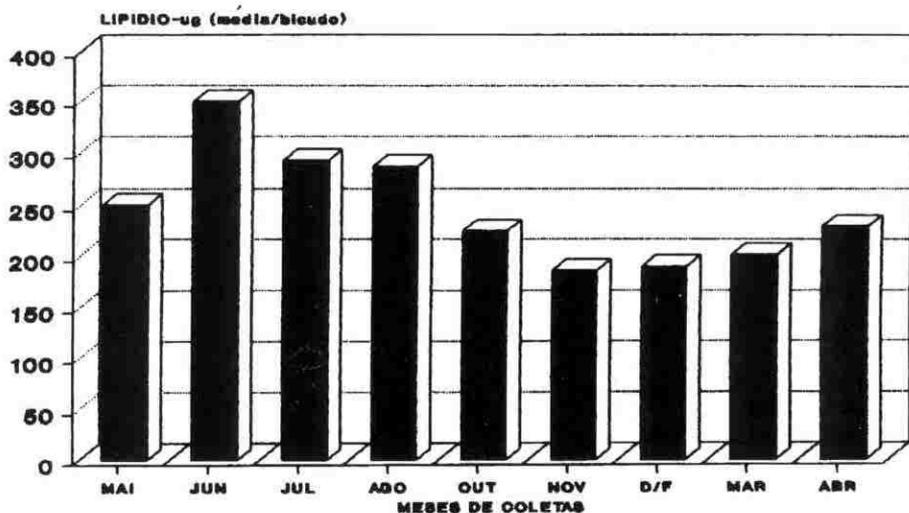


Figura 1. Quantidade de lipídios nos bicudos adultos ($\mu\text{g}/\text{bicudo}$), coletados nas armadilhas nos meses de maio/1991 a abril/1992. Jaboticabal, SP.

do teor de lipídios extraídos com clorofórmio e metanol (2:1) e do teor de proteína e carboidrato, que os resultados foram pouco alterados pelo período de safra e entressafra em que se realizaram as coletas. Por estes resultados verificaram também a questão da diapausa nestas

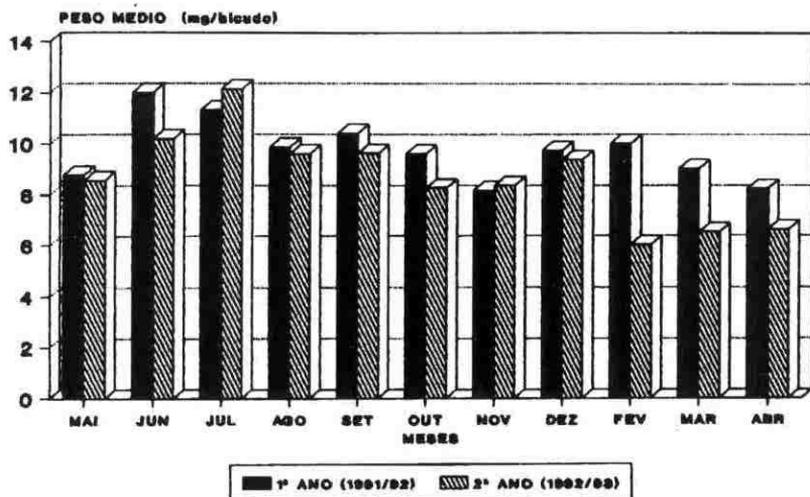


Figura 2. Peso médio de bicudos adultos coletados de maio/1991 a abril/1992. Jaboticabal, SP.

regiões tropicais, pois o clima e disponibilidade de alimento nestas regiões, fazem com que o bicudo se alimente periodicamente e armazene pouco lipídio. Gabriel *et al.* (1991) em pesquisa realizada na região de Campinas, SP, verificaram que os bicudos coletados na entressafra apresentaram alimento no aparelho digestivo e somente em três indivíduos foi observado gordura no abdômem.

Pelos resultados do teste de coeficiente de correlação linear simples entre o peso (Fig. 2) e a quantidade de lipídios total obtida dos bicudos capturados de maio/1991 a abril/1992 (Fig. 1), verifica-se que não houve correlação significativa entre os dois fatores. Os bicudos acumulam mais carboidratos e lipídios no final da safra, o que acarreta maior peso nos primeiros meses da entressafra, entretanto o peso e o teor de lipídios são reduzidos com o decorrer da entressafra, devido ao dispêndio de energia gasta pelo inseto e devido à pouca disponibilidade de alimento.

O teor de lipídios determinado pela técnica DLT nos bicudos adultos coletados na entressafra e na safra foi semelhante neste trabalho. A não incidência de altos teores de lipídios na entressafra pode ser um indício da não diapausa no bicudo da região estudada.

LITERATURA CITADA

- Bligh, E.G. & W.J. Dyer. 1959.** A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917.
- Brazzel Junior, J.R. & L.D. Newson. 1959.** Diapause in *Anthonomus grandis* Boheman. *J. Econ. Entomol.* 52: 603-611.
- Freire, R.M.M., F.S. Ramalho & J.W. Santos. 1990.** Estudos físico-químicos do bicudo do algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. VI Reunião Nacional do Algodão, Campina Grande, PB, EMBRAPA, p.50.
- Campanhola, C. & D.F. Martin. 1987.** Observação de adultos de bicudo em hibernação. *Com. Téc.* 1, EMBRAPA/CNPDA, 1-3.
- Gabriel, D., R.S. Tancini, M.P.M. Luporini, A.F. Ferreira & V.A. Coelho. 1991.** Levantamentos de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), utilizando-se amostragem da cobertura do solo para estudos de hibernação. *An. Soc. Ent. Brasil* 20: 89-97.
- Guerra, A.A. & R.D. Garcia. 1982.** Seasonal patterns of boll weevil response to glandlure-baited traps in the subtropical Rio Grande Valley of Texas. *Southwest. Entomol.* 7: 216-220.
- Guerra, A.A., R.F. Garcia, V.P.R. Bodegas & F.M.E. Coss. 1984.** The quiescent physiological status of boll weevils (Coleoptera: Curculionidae) during the non cotton season in the tropical zone of Soconusco in Chiapas, Mexico. *J. Econ. Entomol.* 77: 595-598.
- Lloyd, E.P. 1986.** Ecologia do bicudo do algodoeiro, p. 135-144. In *O bicudo do algodoeiro*. EMBRAPA, Documentos, 4.

Ramalho, F.S. & F.M.M. Jesus. 1988. Atividades fisiológicas do bicudo do algodoeiro. Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa do Algodão 1985-1986.
