

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS (PPGPP)

Camila Alexandre Cavalcante de Almeida

**Ocorrência espontânea de inimigos naturais de *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782)
(LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) em *Eucalyptus* spp. no estado de Alagoas e
Ecologia química do endoparasitoide *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**

RIO LARGO

2023

Camila Alexandre Cavalcante de Almeida

**Ocorrência espontânea de inimigos naturais de *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782)
(LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) em *Eucalyptus* spp. no estado de Alagoas e
Ecologia química do endoparasitoide *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Proteção de Plantas da
Universidade Federal de Alagoas como
requisito para obtenção do título de
doutor(a).

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Mariana Oliveira
Breda _ CECA-UFAL

Co-orientação: Prof. Dr. Antônio Euzébio
Goulart Santana_ CECA-UFAL

RIO LARGO

2023

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

A447o Almeida, Camila Alexandre Cavalcante de.

Ocorrência espontânea de inimigos naturais de *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) em *Eucalyptus* spp. no estado de Alagoas e Ecologia química do endoparasitoide *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). / Camila Alexandre Cavalcante de Almeida. – 2023.

86f.: il.

Orientador(a): Mariana Oliveira Breda.

Co-orientação: Antônio Euzébio Goulart Santana.

Tese (Doutorado em Proteção de plantas) – Programa de Pós-Graduação em Proteção de plantas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2023.

Inclui bibliografia

1. Controle conservativo. 2. Ecologia química. 3. Lagarta desfolhadora. 4. Inimigos Naturais. 5. Microscopia eletrônica de varredura. 6. Bioatividade. I. Título.

CDU: 631.523

CAMILA ALEXANDRE CAVALCANTE DE ALMEIDA

**Ocorrência espontânea de inimigos naturais de *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782)
(LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) em *Eucalyptus* spp. no estado de Alagoas e
Ecologia química do endoparasitoide *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**

Tese submetida à banca avaliadora
como requisito para conclusão de
Doutorado em Proteção de Plantas,
aprovada no dia 20 de dezembro de
2023.

Documento assinado digitalmente
 **MARIANA OLIVEIRA BREDÁ**
Data: 02/01/2025 19:47:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Mariana Oliveira Breda – Universidade Federal de Alagoas
Orientadora

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart – Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente
 **VANDERSON BARBOSA BERNARDO**
Data: 02/01/2025 19:32:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Vanderson Barbosa Bernardo – Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente
 **JAKELINE MARIA DOS SANTOS**
Data: 02/01/2025 19:09:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr.^a Jakeline Maria dos Santos - AGROSERV

RIO LARGO – AL 2023

A minha família, a minha orientadora e a todos
que foram imprescindíveis para a concretização
deste trabalho.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por toda sua proteção e cuidado.

Aos meus pais, Jair Cavalcante de Almeida e Ednês Alexandre Lima de Almeida. Meus irmãos, Caroline Alexandre Cavalcante de Almeida e César Alexandre Cavalcante de Almeida, por todo amor e incentivo. Amo vocês!

Em especial, a minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Mariana Oliveira Breda, por toda paciência, dedicação, conselhos, ensinamentos e acolhimento. Não tenho palavras para descrever o quanto sua orientação foi valiosa para mim, e tenho certeza que levarei todos os aprendizados para minha vida. Sem você, nada disso seria possível. Muito Obrigada!

A todos os professores do Programa de Pós graduação em Proteção de Plantas do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias – CECA/UFAL pelos ensinamentos e oportunidade de realizar o curso.

Aos meus amigos de laboratório Alexsandro Gonçalves Pacheco, Ester Amaral, Katiussia Figueiroa, Lissandra Moreira, Elmadã Gonzaga, Matheus Barros, Fernanda Gonçalves. A jornada se tornou mais leve com vocês. Muito Obrigada!

Aos alunos bolsistas de Iniciação Científica que me ajudaram no decorrer do doutorado.

Ao professor Euzébio Goulart, por abrir as portas do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN-CECA) e ao amigo Anderson Bruno por me ajudar nas pesquisas e sempre me auxiliar durante os trabalhos de ecologia química, sua contribuição foi muito valiosa para mim. Obrigada por tudo!

Ao Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP) e ao Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF) pela parceria e fornecimento dos parasitoides para que fosse realizados os devidos experimentos.

Ao professor Johnnatan Duarte, por auxiliar na microscopia eletrônica de varredura.

Aos amigos que sempre acreditaram e torceram por mim.

A todos que me ajudaram de forma direta ou indireta para finalização do meu doutorado.

Muito Obrigada!

OCORRÊNCIA ESPONTÂNEA DE INIMIGOS NATURAIS DE *Thyrintea arnobia* (Stoll, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) EM *Eucalyptus* spp. NO ESTADO DE ALAGOAS E ECOLOGIA QUÍMICA DO ENDOPARASITOIDE *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)

RESUMO

Dentre os insetos-praga associados à eucaliptocultura, a lagarta parda do eucalipto, *Thyrintea arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), advinda de mirtáceas nativas, como a goiabeira (*Psidium guajava* L.), é considerada a principal espécie desfolhadora do gênero *Eucalyptus* no país. Nesse sentido, diferentes métodos que se enquadrem nas premissas do Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP Floresta) vem sendo foco de pesquisas, incluindo o uso do controle biológico, através da conservação ou multiplicação e liberação de inimigos naturais. O endoparasitoide gregário *Palmistichus elaeisis* Delvare & La Salle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) é considerado um agente promissor no controle de lepidópteros desfolhadores, possuindo hábitos generalistas. Para completa elucidação das interações que permeiam a utilização de parasitoides em programas de controle biológico, o entendimento do processo de busca hospedeira é fundamental. Além disso, é através dos neurônios sensoriais olfativos localizados nas sensilas, presentes nas antenas dos insetos, que o parasitoide consegue localizar seu hospedeiro. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi realizar estudos de inimigos naturais de ocorrência espontânea de *T. arnobia* em povoamentos florestais de *Eucalyptus* spp., além da avaliação da ecologia química na utilização do endoparasitoide *P. elaeisis* e realizar o estudo de sensilas antenais em machos e fêmeas de *P. elaeisis*, através de microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.) visando o direcionamento de bases para o planejamento e implantação do controle biológico conservativo e aumentativo de *T. arnobia* no estado de Alagoas. Foi possível registrar a ocorrência espontânea dos inimigos naturais *Winthemia* sp. (Diptera: Tachinidae), *Charops* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae), *Glyptapanteles* sp. (Hymenoptera: Braconidae) e o predador *Podisus* sp. (Hemiptera: Pentatomidae) associados a *T. arnobia* em povoamentos florestais de *Eucalyptus* sp. no estado de Alagoas. Os compostos em pupas de *T. arnobia*, indicados como 4-Hexen-1-ol, acetato; 2,3,5,6-Tetrametilpirazina; 2-Nonanona e 1-Undeceno apresentam bioatividade em processos de atração do parasitoide *P. elaeisis*. As antenas de fêmeas e machos de *P. elaeisis* são caracterizadas com a presença de três subtipos de sensilas tricoides, dois subtipos de sensilas basicônicas e sensilas placoides. Apenas os machos possuem sensilas estilocônicas. Os resultados obtidos contribuem para a consolidação do Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP-Floresta).

Palavras-chave: controle conservativo; ecologia química; lagarta desfolhadora; inimigos naturais; bioatividade; microscopia eletrônica de varredura.

SPONTANEOUS OCCURRENCE OF NATURAL ENEMIES OF *Thyrintea arnobia* (Stoll, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) IN *Eucalyptus* spp. IN THE STATE OF ALAGOAS AND CHEMICAL ECOLOGY OF THE ENDOPARASITOID *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)

ABSTRACT

Among the pest insects associated with eucalyptus culture, the brown eucalyptus caterpillar, *Thyrintea arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), derived from native myrtaceous trees, such as guava (*Psidium guajava* L.), is considered the main defoliating species of the genus *Eucalyptus* in the country. In this sense, different methods that fit the premises of the Integrated Management of Forest Pests (IPM- Forest) have been the focus of research, including the use of biological control, through the conservation or multiplication and release of natural enemies. The gregarious endoparasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & La Salle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) is considered a promising agent in the control of defoliating lepidoptera, having generalist habits. For complete elucidation of the interactions that permeate the use of parasitoids in biological control programs, the understanding of the host search process is fundamental. In addition, it is through the olfactory sensory neurons located in the sensilla, present in the antennae of insects, that the parasitoid is able to locate its host. In view of the above, the objective of this study was to carry out survey studies of natural enemies of spontaneous occurrence of *T. arnobia* in forest stands of *Eucalyptus* spp., in addition to the evaluation of the chemical ecology in the use of the endoparasitoid *P. elaeisis*, and to study antennal sensilla in males and females of *P. elaeisis*, using scanning electron microscopy aiming (S.E.M) at directing the bases for the planning and implementation of the conservative and augmentative biological control of *T. arnobia* in the state of Alagoas. It was possible to register the spontaneous occurrence of the natural enemies, *Winthemia* sp. (Diptera: Tachinidae), *Charops* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae), *Glyptapanteles* sp. (Hymenoptera: Braconidae) and the predator *Podisus* sp. (Hemiptera: Pentatomidae) associated with *T. arnobia* in *Eucalyptus* sp. in the state of Alagoas. Compounds found in pupae of *T. arnobia*, indicated as 4-Hexen-1-ol, acetate; 2,3,5,6-Tetramethylpyrazine; 2-Nonanone and 1-Undecene present bioactivity in processes of attraction of the parasitoid *P. elaeisis*. The antennae of females and males of *P. elaeisis* are characterized by the presence of three subtypes of trichoid sensilla, two subtypes of basiconic sensilla and placoid sensilla. Only males possess styloconic sensillae. The results obtained contribute to the consolidation of the Integrated Management of Forest Pests (IPM- Forest).

Keywords: conservative control; chemical ecology; defoliator caterpillar; natural enemies; bioactivity; scanning electron microscopy.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Parasitoides de ocorrência natural associados a *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) em povoamentos florestais de *Eucalyptus spp.* no estado de Alagoas. A) Adulto de *Winthemia spp.* (Diptera: Tachinidae); (B) Adulto de *Charops sp.* (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae); (C) Casulo de *Charops sp.* (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae); (D) Adulto de *Glyptanpateles sp.* (Hymenoptera: Braconidae); (E) Larvas de *Glyptanpateles sp.* (Hymenoptera: Braconidae) em lagarta de *T. arnobia*; (F) Casulos de *Glyptanpateles sp.* (Hymenoptera: Braconidae) em lagarta de *T. arnobia*. Fonte: Autora, 2022.39

Figura 2. Predadores de ocorrência natural associados a *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) em povoamentos florestais de *Eucalyptus spp.* no estado de Alagoas. A) Ninfas de *Podisus sp.* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae); (B) Adulto de *Podisus sp.* . 42

CAPÍTULO II

Figura 1. Cromatograma de aeração de pupas de fêmeas de *Thyrinteina arnobia*. Fonte: Autora, 2023.53

Figura 2. Cromatograma de aeração de pupas de machos de *Thyrinteina arnobia*. Fonte: Autora, 2023. 54

Figura 3. Cromatograma de extrato cuticular de pupas de fêmeas de *Thyrinteina arnobia*. Fonte: Autora, 2023. 55

Figura 4. Cromatograma de extrato cuticular de pupas de machos de *Thyrinteina arnobia*. Fonte: Autora, 2023. 56

Figura 5. Resposta em olfatometria de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) a extratos em aeração de pupas macho e fêmea de *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae). Fonte: Autora, 2023. 57

Figura 6. Resposta em olfatometria de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) a extratos cuticulares de pupas macho e fêmea de *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae). Fonte: Autora, 2023..... 57

Figura 7. Eletroantenografia do extrato de aeração de pupas de fêmeas de *Thyriniteina arnobia* com resposta do parasitoide *Palmistichus elaeisis* para o composto com índice de kovats 1092. Fonte: Autora, 2023..... 58

Figura 8. Ionograma do extrato em cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas. *Compostos presentes na análise do solvente (hexano). Fonte: Autora, 2023. 60

Figura 9. Espectros de massas dos quatro compostos presentes no extrato que obtiveram bioatividade em CG-EAG. Análise em coluna ZB-5MS. Composição da Legenda: Número do composto – Índice de retenção – Composto indicado – Porcentagem de semelhança com biblioteca. (A) Espectro da Amostra; (B) Espectro do padrão da biblioteca.**Erro! Indicador não definido.**61

Figura 10. Cromatograma comparando extrato de aeração de pupas de machos e fêmeas de *Thyriniteina arnobia*. Fonte: Autora, 2023.....62

Figura 11. Cromatograma do extrato de aeração de pupas machos em cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas. Fonte: Autora, 2023.....63

CAPÍTULO III

Figura 1. Segmentos e dimorfismo antenal em *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) com E: escapo, P: pedicelo e Flagelo. Antenas de fêmea ♀ do tipo geniculada com A1; A2; A3 e A4: Antenômeros (A). Antenas de macho ♂ do tipo geniculada com A1; A2; A3; A4 e A5: Antenômeros (B). Fonte: Autora: 2023.....75

Figura 2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da clava terminal (C1, C2 e C3) em *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) com clava terminal de fêmea ♀ (A). Clava terminal de macho ♂ (B). Fonte: Autora, 2023.....76

Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das antenas de fêmea ♀ de *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae). Clava terminal (A e C);

Antenômero central (B e D); ST I, ST II e ST II: sensilas tricoides; SB I, SB II: sensila basicônica; SP: sensila placoide. Fonte: Autora, 2023.....78

Figura 4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das antenas de macho ♂ de *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae). Antenômero central (A e C); Clava terminal (B e D); ST I, ST II e ST II: sensilas tricoides; SB I, SB II: sensila basicônica; SP: sensila placoide; SEst1: Sensila estilocônica com um pino conectado. Fonte: Autora, 2023.....80

LISTA DE TABELAS

CAPITULO II

Tabela 1. Indicação dos compostos através da análise em cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS). Número do composto no cromatograma (Nº); Tempo de retenção (TR); Índice de Retenção (IR); Porcentagem de semelhança com biblioteca (%). ...60

Tabela 2. Indicação dos compostos através da análise em cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS). Número do composto no cromatograma (Nº); Tempo de retenção (TR); Porcentagem de semelhança com biblioteca (%).63

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 O Gênero <i>Eucalyptus</i>	17
2.2 <i>Thyriniteina arnobia</i> (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae).....	18
2.3 Manejo de <i>T. arnobia</i> em <i>Eucalyptus</i> spp.....	19
2.4 Controle Biológico de <i>T. arnobia</i> em povoamentos florestais de <i>Eucalyptus</i> sp.....	20
2.5 <i>Palmistichus elaeisis</i> Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae).....	22
2.6 Ecologia química aplicada ao controle biológico.....	23
2.7 Estudo de sensilas em antenas (MEV).....	24
REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO I – CONTROLE BIOLÓGICO CONSERVATIVO DE <i>Thyriniteina arnobia</i> (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) EM POVOAMENTOS FLORESTAIS DE EUCALIPTO NO ESTADO DE ALAGOAS.	
RESUMO	34
1. INTRODUÇÃO	36
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
2.1 Local de realização da pesquisa	37
2.3 Identificação de Inimigos Naturais.....	38
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
3.1. Registro de ocorrência natural de parasitoides associados a <i>T. arnobia</i>	38
3.2 Registro de ocorrência natural de predadores associados a <i>T. arnobia</i>	41
3.3 Registro de ocorrência natural de entomopatógenos associados a <i>T. arnobia</i>	42
4. CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS	44
CAPÍTULO II – ECOLOGIA QUÍMICA NO CONTROLE BIOLÓGICO APLICADO DE <i>Thyriniteina arnobia</i> (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE).	
RESUMO	47
1. INTRODUÇÃO	49
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	50
2.1 Local de realização da pesquisa	50
2.2. Obtenção de pupas de <i>Thyriniteina arnobia</i> (Lepidoptera: Geometridae).....	50
2.3. Obtenção do parasitoide <i>Palmistichus elaeisis</i> (Hymenoptera: Eulophidae).....	50

2.4 Obtenção de extratos de pupas de <i>T. arnobia</i> utilizando a técnica de aeração	50
2.5 Obtenção de extratos cuticulares de pupas de <i>T. arnobia</i>	51
2.6 Análise dos extratos de pupas de machos e fêmeas de <i>T. arnobia</i> em cromatógrafo gasoso em detector por ionização de chama (CG-FID).....	51
2.7 Bioensaio em Olfatômetro de dupla escolha do tipo “Y”	52
2.8 Análise de Eletroantenografia acoplada à Cromatografia Gasosa (CG-EAG)	53
2.9 Identificação dos compostos bioativos via Cromatografia Gasosa acoplada a	53
Espectrometria de Massas (CG-EM)	53
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
3.1 Análise prévia dos extratos de pupas de machos e fêmeas de <i>T. arnobia</i> em cromatógrafo gasoso acoplado a detector por ionização de chama (CG-FID)	54
3.2 Bioensaio em Olfatômetro de dupla escolha do tipo “Y”	57
3.3 Análise de Eletroantenografia acoplada à Cromatografia Gasosa (CG-EAG)	58
3.4 Identificação dos compostos bioativos via Cromatografia Gasosa acoplada a	60
Espectrometria de Massas (CG-EM)	60
4. CONCLUSÕES	65
REFERÊNCIAS	66
CAPÍTULO III- ESTUDO DE SENSILAS EM <i>Palmistichus elaeisis</i> Delvare & LaSalle (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)	
1. INTRODUÇÃO	71
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	72
2.1 Local de realização da pesquisa	72
2.2 Obtenção do parasitoide <i>Palmistichus elaeisis</i> (Hymenoptera: Eulophidae)	72
2.3 Preparação da antena para Microscopia Eletrônica de Varredura	72
2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das antenas de <i>P. elaeisis</i>	73
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
3.1 Ultraestrutura da antena e tipos de sensilas de <i>P. elaeisis</i>	73
4. CONCLUSÕES	80
REFERÊNCIAS	81

1. INTRODUÇÃO GERAL

O avanço da eucaliptocultura em todas as regiões do Brasil condiciona o gênero *Eucalyptus* como o emblema do negócio florestal brasileiro, gerando lucros significativos, devido ao seu rápido crescimento, alta produtividade e múltiplos produtos tais como celulose, móveis, papel, painéis de madeira, pisos, carvão e construção civil (FILHO, 2017; AMORIM et al., 2021). De acordo com os dados anuais da Indústria Brasileira de Árvores – IBÁ, 2022, dentre as espécies florestais implantadas no país, 75,8% da área corresponde ao cultivo do gênero *Eucalyptus*.

A fim de aumentar geração de empregos, suprir a demanda de produtos madeireiros e contribuir para o aumento da energia renovável, a eucaliptocultura no estado de Alagoas surge como alternativa promissora, num cenário em que áreas canavieiras de encostas e declives acentuados, de baixo rendimento, estão sendo gradativamente substituídas (MADEIROS, 2019). A expansão de povoamentos florestais clonais de *Eucalyptus* spp. no estado, entretanto, favorece a introdução e ocorrência de surtos populacionais de insetos praga, ocasionando perdas significativas e limitando a produção.

Dentre os insetos-praga associados à eucaliptocultura, a lagarta parda do eucalipto, *Thyrinitea arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), advinda de mirtáceas nativas, como a goiabeira (*Psidium guajava* L.), é considerada a principal espécie desfolhadora do gênero *Eucalyptus* no país, com injúrias que se caracterizam pelo intenso desfolhamento ascendente nas copas das árvores de qualquer idade, demandando frequentes medidas de controle (PAIVA, 2013). Para o manejo das populações de *T. arnobia*, pulverizações aéreas de inseticidas químicos ou bioinseticidas, de elevado custo, são as principais táticas utilizadas (BARBOSA, 2010). Nesse sentido, diferentes métodos que se enquadrem nas premissas do Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP Floresta) vem sendo foco de pesquisas, incluindo o uso do controle biológico, através da conservação ou multiplicação e liberação de inimigos naturais.

A conservação de inimigos naturais passa, necessariamente, pelo levantamento das espécies de ocorrências espontâneas mais comuns, que apresentem potencial para contribuição na regulação das populações de *T. arnobia* em povoamentos florestais. Em relação a aplicações e liberações de inimigos naturais em povoamentos florestais de *Eucalyptus* spp., o endoparasitoide gregário *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) é considerado um agente promissor no controle de lepidópteros desfolhadores, possuindo hábitos generalistas

(PEREIRA et al., 2009), com ocorrências descritas em pupas de *T. arnobia* e *Thyrintina leucoceraea* (Rindge) (Lepidoptera: Geometridae), *Anticarsia gemmatalis* (Hubner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae), *Alabama argillacea* (Hubner, 1823) (Lepidoptera: Noctuidae) e pupas de coleópteros como *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae) (PEREIRA et al., 2008). Em Alagoas, até o presente momento, não foi registrada a ocorrência natural de *P. elaeisis*, porém, liberações pontuais desse endoparasitoide para o manejo de *T. arnobia* em povoamentos florestais de *Eucalyptus* spp. foram relatadas (Informações pessoais, 2023).

Para completa elucidação das interações que permeiam a utilização de parasitoides em programas de controle biológico, o entendimento do processo de busca hospedeira é fundamental. De forma geral, os parasitoides realizam uma série de passos comportamentais sequenciais para localização, reconhecimento, aceitação e adequação hospedeira, além da localização do habitat do hospedeiro (VINSON, 1998), utilizando estímulos de naturezas física e química (semioquímicos) (GODFRAY, 1994). Os semioquímicos utilizados por parasitoides na busca hospedeira são comumente emanados tanto pelo próprio inseto hospedeiro (ovos, larvas, pré-pupas, pupas, excrementos e etc), quanto pela espécie hospedeira vegetal. Para *P. elaeisis*, *T. arnobia* e seus diferentes hospedeiros vegetais, entretanto, tais relações ainda não estão completamente elucidadas.

Além disso, é através dos neurônios sensoriais olfativos localizados nas sensilas, presentes nas antenas dos insetos, que o parasitoide consegue localizar seu hospedeiro (MAGALHÃES et al., 2020). Sensilas são ultraestruturas sensoriais capazes de desencadear uma série de respostas comportamentais (ARIOLI et al., 2013). O estudo de sensilas em antenas de insetos só é possível através do microscópio eletrônico de varredura (MEV), esta técnica visa analisar características microestruturais de materiais sólidos. Para *P. elaeisis* ainda não existe na literatura a identificação de suas sensilas antenais.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi realizar estudos de ocorrência de inimigos naturais de ocorrência espontânea de *T. arnobia* em povoamentos florestais de *Eucalyptus* spp., além da avaliação da ecologia química na utilização do endoparasitoide *P. elaeisis* e realizar o estudo de sensilas antenais em machos e fêmeas de *P. elaeisis*, através de microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.) visando o direcionamento de bases para o planejamento e implantação do controle biológico conservativo e aumentativo de *T. arnobia* no estado de Alagoas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Gênero *Eucalyptus*

O gênero *Eucalyptus*, originário da Austrália e ilhas próximas a Oceania, vem sendo utilizado de forma expressiva para implantação de povoamentos florestais, devido a suas características de rápido crescimento e alta adaptação edafoclimática (ARFLORA, 2013). Pertencente à família Myrtaceae, mesma família botânica de espécies nativas do Brasil, como a goiabeira *P. guajava* (SILVA et al, 2013), o gênero *Eucalyptus* foi introduzido no país em 1903, tendo sido desenvolvidas, ao longo do tempo, tecnologias de manejo e produção de referência na esfera global (SANTOS et. al 2012).

Só foi a partir de 1960, através da lei de incentivos fiscais concedidos pelo Governo Federal que os plantios florestais foram se estabelecendo em larga escala no território brasileiro. Cenário que tornou-se favorável para o plantio de grandes espécies florestais, dentre elas se destacam os gêneros *Corymbia*, *Pinus* e *Eucalyptus*, sendo esse último, o mais predominante em áreas plantadas (REIS et al., 2021).

São conhecidas no geral, 730 espécies do gênero *Eucalyptus*, entretanto, apenas 20 são utilizadas para fins comerciais ao redor do mundo, destacando-se as espécies *Eucalyptus grandis* Hill ex. Maiden, *Eucalyptus saligna* Smith, *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake, *Eucalyptus viminalis* Labill, *Eucalyptus dunnii* Maiden e *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage (SANTAROSA et al., 2014), cultivadas para os mais diversos fins, como produção de papel, celulose, lenha, carvão, serraria, óleos para indústrias farmacêuticas, mel, construção civil e ornamentação (PASSADOR et al, 2012).

Diante desse domínio sobre outras culturas florestais, devido aos seus usos múltiplos, a eucaliptocultura tornou-se a alternativa mais economicamente viável, com um potencial de crescimento em todo território brasileiro (MARANGON, 2016). Em 2021, a área plantada de eucaliptocultura alcançou valores de 7,53 milhões de hectares representando 75,8% do total de área plantada no Brasil concentrados principalmente nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul (IBÁ, 2022).

Em Alagoas, as implantações experimentais de povoamentos florestais apresentam destaque para os clones de *Eucalyptus urograndis*, sendo a espécie exótica mais cultivada, resultante do cruzamento entre *E. grandis* × *E. urophylla*, apresentando boa adaptação às condições climáticas e edáficas da região, alta produtividade e ciclos curtos, quando comparados a espécies nativas (OLIVEIRA, 2016).

Com o crescimento e a consolidação da eucaliptocultura, entretanto, alguns fatores podem limitar e ameaçar a produtividade e estabelecimento, a exemplo de perdas ocasionadas por surtos populacionais de insetos. No Brasil, são registradas cerca de 177 espécies de insetos associados a *Eucalyptus* spp., incluindo espécies nativas e exóticas (EMBRAPA, 2017). Dentre os insetos nativos, destaca-se a lagarta parda do eucalipto, *T. arnobia*.

2.2 *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae)

A lagarta parda do eucalipto, *T. arnobia*, é considerada o principal desfolhador da eucaliptocultura no país (JESUS et al., 2015; RIBEIRO et al., 2016). Trata-se de uma espécie que apresenta hábito polífago, com registro em plantas nativas, do sub-bosque e também em espécies exóticas, sendo os maiores surtos populacionais em plantas pertencentes à família Myrtaceae, com ocorrência em várias espécies do gênero *Campomanesia* (gabioba), nove espécies do gênero *Eugenia* (pitanga ou cagaita), seis espécies do gênero *Psidium* (goiabas e araçás) e vinte espécies do gênero *Eucalyptus* (PEREIRA, 2007). São mariposas de hábitos predominantemente noturnos, com machos mais ativos do que as fêmeas, porém, apresentando hábitos de voo diurno. As fêmeas passam o dia sobre troncos ou galhos. O acasalamento ocorre uma vez, durante as primeiras horas da escotofase (ZANUNCIO et al., 2021).

Em relação ao seu aspecto morfológico, na sua fase adulta, *T. arnobia* possui dimorfismo sexual bem aparente, no qual as fêmeas possuem asas de coloração branca com pontuações escuras, antenas filiformes e tamanho maior que os machos, de coloração castanho claro e antenas pectinadas. Após a cópula, a fêmea é capaz de ovipositar uma massa de aproximadamente 1.000 ovos, de coloração esverdeada, ficando mais escuros quando estão próximos a eclosão, com viabilidade média de 94,70% (OLIVEIRA, 2016; ZANUNCIO et al., 2021). Na fase larval, quando recém eclodidas, possuem coloração preta e 16 manchas brancas nas suas laterais. Com o passar dos instares, adquirem coloração castanho escuro, sendo do tipo “medo-palmo”, apresentando além dos três pares de pernas torácicas, dois pares falsos de pernas abdominais. Outra característica importante de sua fase larval é a presença de dois segmentos cônicos, separados por um sulco típico na cabeça. A pupa, de coloração pardo escura, é classificada como do tipo obtectata, sendo encontrada em campo escondida e enrolada entre as folhas ou no solo próximo aos troncos das árvores (PEREIRA, 2007).

No Brasil, *T. arnobia* atinge níveis populacionais elevados nos períodos mais secos do ano e em regiões com regimes pluviométricos menos intensos, com injúrias caracterizadas por

iniciar da base para o ápice das copas das árvores e das margens para o interior dos talhões, ficando mais perceptível quando as lagartas estão nos últimos instares, pelo súbito aumento de desfolhamento e pelo barulho da queda de seus excrementos (ZANUNCIO et al.,1993). Os danos causados por *T. arnobia* são bastante significativos, afetando o desenvolvimento das árvores, através da diminuição da área fotossintética, impedindo a produtividade primária e paralisando o crescimento. Além disso, os danos podem estar relacionados a áreas com crescimento desuniforme, bifurcação no desenvolvimento e morte de árvores (PEREIRA,2007).

Surtos populacionais de *T. arnobia* podem afetar a propriedade física, química e anatômica da madeira, reduzindo a espessura da parede celular, densidade básica, o teor de lignina insolúvel e total e o teor de cinzas em árvores de *E. urograndis* com cinco anos de implantação. O perfil radial das árvores atacadas também expressou menor densidade de ar seco quando comparadas com as não atacadas (BOBADILHA et al., 2019).

Com a expansão da eucaliptocultura, ocorrências frequentes de *T. arnobia* vêm sendo relatados nas mais diversas regiões produtoras do país, levando o setor florestal a investir no desenvolvimento de programas de Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP Floresta), visando ações integradas, utilizando métodos de controle diversos para a regulação das densidades populacionais, atenuando injúrias e danos econômicos (HORTA,2017).

Assim, a diversificação dos métodos de controle vem sendo proposta, incluindo o avanço de estudos sobre controle biológico em conjunto com o controle comportamental, através do estudo de semioquímicos.

2.3 Manejo de *T. arnobia* em *Eucalyptus* spp.

O cultivo de *Eucalyptus* spp. em monocultura clonais, configurado por áreas extensas e árvores de grande porte, torna o manejo de *T. arnobia*, através da pulverização de inseticidas químicos e/ou bioinseticidas, de difícil implementação e alto custo (PEREIRA, 2007). Além disso, o controle químico pode ocasionar a redução da população de inimigos naturais, a contaminação ambiental e a seleção de populações resistentes de insetos-praga (CAMILO et al, 2015).

Ainda assim, a pulverização de inseticidas é a tática de manejo mais utilizada pelo setor florestal. Atualmente, existem 03 ingredientes ativos registrados para o controle populacional de *T. arnobia*, sendo eles, deltametrina (piretróide), lufenurom (benzoiluréia) e tebufenozida

(diacilhidrazina) (AGROFIT, 2023). Além disso, o uso de inseticidas biológicos a base de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Eubacteriales: Bacillaceae) é uma prática amplamente adotada no setor florestal.

Ademais, outros métodos de controle são pontualmente utilizados ou estão em processo de desenvolvimento, sendo o controle mecânico-cultural, controle físico, a resistência de plantas e o controle biológico os mais citados na literatura. No controle mecânico-cultural, a utilização do sistema de gradagem ocasiona o esmagamento das pupas de *T. arnobia*, como também a exposição à altas temperaturas e condições adversas. Entretanto, devido a gradagem não atingir a área próxima aos troncos, recomenda-se colocar terra ao redor dos mesmos (ZANUNCIO et al, 1993). Pereira (2007) observou que a catação manual de posturas (ovos), lagartas, pupas e adultos de *T. arnobia*, pode contribuir para diminuir a infestação. A remoção de galhos baixos, com presença de lagartas, também pode reduzir populações da lagarta parda do eucalipto (OLIVEIRA et al., 2005). Porém, a aplicabilidade desse método é mais restrita a pequenas áreas, devido ao esforço físico e tempo requerido para aplicação.

No controle físico, o uso do fogo era bastante utilizado em infestações de *T. arnobia*, mas logo esse método foi extinto, pois o calor não era suficiente para eliminar os insetos na parte superior da copa (ZANUNCIO et al., 2021). Já o uso de armadilhas luminosas é a técnica mais utilizada para a coleta e captura de adultos para controle massal e também monitoramento. Em apenas uma armadilha usada na captura de adultos de *T. arnobia*, é possível coletar em torno de 3.000 mariposas (ALMEIDA et al, 1982; ZANUNCIO et al., 2021).

De acordo com Soliman (2014), a resistência de plantas vem sendo amplamente estudada, sendo de fácil aplicação, com alta potencialidade de mitigação das perdas em campo e baixo risco ambiental. Porém, a identificação de materiais genéticos resistentes a *T. arnobia*, que atendam as demandas de produtividade ainda são incipientes. Almeida, et al. (2021), estudou a preferência alimentar de *T. arnobia* em diferentes clones de *E. urograndis* (I 144, VE 41, I114, VCC 865) e constatou que em testes de escolha, o clone I 144 apresentou menor preferência alimentar, obtendo consumação foliar somente após 48 horas. Além disso, o consumo de folhas foi semelhante entre os clones VE 41, I114 e VCC 865.

Atualmente, um método de controle que apresenta potencial para o Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP Floresta) é o controle biológico, através da liberação ou conservação de inimigos naturais.

2.4 Controle Biológico de *T. arnobia* em povoamentos florestais de *Eucalyptus* sp.

Parra (2014) define controle biológico como um fenômeno natural com a regulação de uma população por outra, através do uso de agentes bióticos de mortalidade, os inimigos naturais. Quando há interferência antrópica, com o intuito de incrementar as interações antagônicas que ocorrem entre os seres vivos, denomina-se o Controle Biológico Aplicado, podendo ser do tipo Clássico, Aumentativo e Conservativo.

O Controle Biológico Clássico, consiste na importação e colonização de parasitoides ou predadores, visando o controle de pragas exóticas, ou eventualmente nativas (CHAGAS et al., 2016). Para o manejo de *T. arnobia*, até o momento, não foram relatadas introduções de inimigos naturais, porém, um exemplo de sucesso na eucaliptocultura nacional, é a importação do parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* Lin e Huber (Hymenoptera: Mymaridae) para o controle do percevejo bronzeado, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero e Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae), inseto exótico, cuja ocorrência no Brasil se deu em 2008. O parasitoide *C. noackae* foi introduzido em 2009 e é considerado o único potencial agente de controle biológico disponível para *T. peregrinus* (NADEL et al, 2012).

No setor florestal, o Controle Biológico Aumentativo possui destaque em povoamentos florestais, a exemplo da criação massal em laboratório e posterior liberação inundativa de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), utilizados para o controle biológico de lagartas desfolhadoras, incluindo *T. arnobia* (MORAES; LEWIS, 2000; PIRES et al, 2006).

O uso de entomopatogênicos nos plantios também é bastante empregado para o controle de *T. arnobia*, sendo feito principalmente com a bactéria *B. thuringiensis*. Esse microorganismo produz esporos que, ao serem ingeridos pelas lagartas, causam a ruptura da parede intestinal, levando-as à morte. (ZANUNCIO et al., 2014). Vírus entomopatogênicos foram relatadas em *T. arnobia* de uma colônia de laboratório com sintomas de infecção viral e que através da microscopia eletrônica constatou a presença de um novo isolado de vírus, com o nome proposto de *Thyrinteina arnobia* cypovirus 14 (TharCPV-14) (HORTA et al., 2018).

O Controle Biológico Conservativo, por sua vez, é definido por envolver medidas com a finalidade da preservação de inimigos naturais em um determinado ambiente, ou seja, populações de parasitoides ou predadores são preservados por meio da manipulação de seu ambiente de forma favorável, sendo responsáveis pela mortalidade natural no agroecossistema e mantendo o nível de equilíbrio da comunidade local de insetos (ABREU et al., 2015).

No Brasil, ocorrências naturais de *Trichospilus diatreae* (Ferriere, 1930) (Hymenoptera: Eulophidae) considerado um parasitoide polífago com preferência por insetos da ordem

Lepidoptera, em pupas de *T. arnobia* foi relatado em plantios de eucalipto no estado de Minas Gerais (PEREIRA et al, 2008). O parasitoide *T. diatraeae* foi estudado em laboratório e relatada taxa de parasitismo de $95,8 \pm 2,85\%$ em pupas de *T. arnobia*, com taxa de emergência de $89,6 \pm 5,03\%$ e média de $141,40 \pm 17,27$ indivíduos adultos emergidos por pupa (PASTORI et al., 2012). Ocorrência de parasitoide do gênero *Aximopsis* (Hymenoptera: Eurytomidae) foi relatado emergindo de pupas de *T. arnobia*, em plantios de *E. cloeziana* em Minas Gerais (TAVARES et al., 2015).

Além disso, o endoparasitoide gregário *P. elaeisis*, com relatos de parasitismo natural em pupas de *T. arnobia* e *T. leucoceraea* Rindge (Lepidoptera: Geometridae), vem sendo utilizado para implantação de estratégias de Controle Biológico Aumentativo, através da liberação inundativa ou inoculativa, após criação massal em laboratório (PEREIRA et al, 2008).

2.5 *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae)

A família Eulophidae é amplamente utilizada para controlar populações de pragas em diversas culturas (NOYES, 2019), incluindo povoamentos florestais, com destaque para a espécie *P. elaeisis*, um endoparasitoide gregário, idiobionte e generalista que parasita pupas das ordens Lepidoptera e Coleoptera (PEREIRA et al., 2008).

A primeira ocorrência de *P. elaeisis* parasitando pupas de *T. arnobia* em condições naturais foi na cidade de Viçosa, Minas Gerais, no ano de 2008 (PEREIRA et al., 2008) e, desde então, o parasitoide tem sido amplamente estudado e utilizado em programas de controle biológico de lagartas desfolhadoras em *Eucalyptus spp.* (ZANUNCIO et, al., 2021). Em Alagoas, a liberação desse inimigo natural ainda é incipiente e em caráter experimental (informações pessoais, 2022), porém estudos que envolvem a relação tritrófica entre planta-hospedeiro – inimigo natural são inexistentes.

Em relação a aspectos morfológicos e bioecológicos, *P. elaeisis* possui ovos de característica hialina e lisos. O período de incubação dura em média dois dias em pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), *Anticarsia gemmatilis* (Hubner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae), *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e *T. arnobia* (Stoll, 1782). A duração larval nesses hospedeiros é de aproximadamente 8 dias, apresentando larvas ápodas no 1º instar, com uma cutícula transparente. As larvas do 2º, 3º e 4º instares diferem das mais jovens quanto à coloração, tamanho e volume do corpo. A pré-pupa de *P. elaeisis* é branca,

com pigmentação na formação dos apêndices. Pupas de fêmeas são maiores em comprimento que as de machos. A partir do 14º dia de desenvolvimento ocorre escurecimento do tegumento e dos olhos. Nesta fase é possível verificar o dimorfismo sexual, em que ocorre escurecimento do ovipositor nas fêmeas e na placa ventral do escapo, nos machos (BITTENCOURT; BERTI FILHO, 2004).

Pereira et. al (2011) estudando o efeito das exigências térmicas e número de gerações de *P. elaeisis* em plantios de *Eucalyptus* sp., relataram que a temperatura influencia diretamente o desenvolvimento de *P. elaeisis*, apresentando duração média do ciclo variando entre 39,92 a 21 dias a 28°C e 16°C, respectivamente. Esses autores indicam ainda que em temperaturas a partir de 31°C, *P. elaeisis* não concluiu seu ciclo de vida em pupas de *T. arnobia*, fato que pode representar um entrave para a implantação de programas de controle biológico aumentativo em determinados períodos do ano no estado de Alagoas.

Além disso, diferentes hospedeiros vegetais, *P. guajava* e *E. cloeziana*, afetaram a porcentagem de pupas de *T. arnobia* parasitadas, chegando a valores de 87% e 22%, respectivamente. Do mesmo modo, a emergência e longevidade de *P. elaeisis* apresentou maiores valores em *P. guajava*, quando comparada a *E. cloeziana*, atingindo 50% e 10% de emergência, respectivamente, além de $14,28 \pm 0,19$ dias de longevidade em *P. guajava* e $9,52 \pm 0,31$ dias em *E. cloeziana* (CAMILO et al, 2015).

Em criação massal, para utilização no controle biológico aumentativo, visando liberações inundativas, *P. elaeisis* pode se desenvolver em hospedeiros alternativos da ordem Coleoptera, tais como pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), de fácil tecnologia e baixo custo de manutenção (ZANUNCIO et al., 2008).

Com isso, a estratégia de se aliar o controle biológico com a ecologia química pode se tornar um método eficaz para melhorar o manejo de pragas florestais e contribuir para preservação de inimigos naturais, manipulando o comportamento dos parasitoides através do estudo de semioquímicos.

2.6 Ecologia química aplicada ao controle biológico

A ecologia química engloba o estudo de compostos voláteis, denominados semioquímicos, envolvidos nas mais diversas interações entre os organismos. Os insetos, por meio da detecção e emissão desses compostos químicos, desenvolvem funções vitais, como o encontro de parceiros para o acasalamento e a busca de alimento, presas e/ou hospedeiros

(ZARBIN et al., 2009). No processo de busca hospedeira, as pistas químicas obtidas através dos voláteis emanados pelo próprio inseto hospedeiro (formas biológicas, excrementos e etc), além das interações tritróficas envolvendo planta-inseto-parasitoide, merecem destaque (KAROWE; SCHOONHOVEN, 1992).

Nesse sentido, as plantas, além dos insetos fitófagos, são também capazes de emitir compostos voláteis específicos para atuar na atração de inimigos naturais. Tais compostos químicos apresentam potencial para atrair, reter ou aumentar o índice de parasitismo numa determinada área, alterando a dinâmica hospedeiro/parasitoide (VET e DICKE, 1992).

O fornecimento de diferentes estímulos para manipular as ações dos parasitoides em laboratório e campo pode ser fundamental para a eficiência do controle biológico de pragas (HASSELL 2000; MILLS e WAJNBERG 2008). Em campo, esses estímulos químicos podem favorecer o aumento das taxas de parasitismo, e atrair os inimigos naturais para uma determinada área (AYELO et al., 2021), além de orientar os parasitoides à fonte do estímulo e intensificar a busca pelo hospedeiro (VILELLA e DELLA LUCIA, 2001).

Assim, a aplicação dos semioquímicos para manipulação e comportamento de insetos parasitoides oferece grandes perspectivas, podendo ser um grande aliado no desenvolvimento de programas de controle biológico (POWELL; PICKET, 2003). Entretanto, estudos aplicados ao entendimento da ecologia química nas relações parasitoide-hospedeiro e planta-inseto-parasitoide para *P. elaeisis* e *T. arnobia* não foram encontradas na literatura.

Além disso, para um bom entendimento sobre essa busca hospedeira faz-se necessário estudar as sensilas antenais, o conhecimento dessas características através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), pode ajudar a compreender os aspectos comportamentais deste inimigo natural.

2.7 Estudo de sensilas em antenas (MEV)

De modo geral, o comportamento dos insetos depende de estímulos ambientais, tais como a percepção de odor, umidade, temperatura, estímulos mecânicos, químicos (GULLAN; CRANSTON, 2012). Esses estímulos são captados por órgãos especializados que fazem parte do tegumento da antena, conhecidos como sensilas (KLEINEIDAM; TAUTZ, 1996). As sensilas possuem componentes cuticulares, neurônios sensoriais e células da bainha. Estes componentes possuem funções mecanorreceptora, olfativa, termorreceptora, higroreceptora e sensíveis a CO₂ (JORGE et al., 2019).

Em Hymenopteras, ordem a qual *P. elaeisis* pertence, as sensilas antenais podem ser longas (tricoidea); curtas e digitiformes (basicônica); planas e niveladas com a superfície do tegumento (placoidea) ou curtas em depressões da cutícula (celocônica) (GILLOTT, 2005; NAKANISHI et al., 2009). Cada sensila, tem de dois a múltiplos subtipos que divergem, de acordo com sua sensibilidade e sintonia, a diferentes substâncias químicas de comunicação (LIU et al, 2019; SILVA et al., 2019) a exemplo de sensilas tricoides que são apontadas para se detectar os feromônios sexuais.

Os estudos para identificação das sensilas quimiorreceptivas olfatórias em antenas é realizado através do microscópio eletrônico de varredura (MEV), que fornece imagens de alta resolução. A alta resolução das imagens obtidas com microscopia eletrônica de varredura é uma das grandes vantagens deste equipamento, com resolução de 10 nm nos instrumentos convencionais, podendo chegar a 1 nm, isso possibilita que as imagens sejam estereoscópicas e bem enfocadas. Outra vantagem do uso do MEV, é que a amostra pode ser inclinada e girada sob o feixe eletrônico em todas as orientações, mas para isso, é necessário que a amostra esteja bem preservada nas três dimensões (AZEVEDO FILHO et al., 2008).

Além disso, a microscopia eletrônica de varredura é uma boa ferramenta para estudos entomológicos, na caracterização microestrutural dos insetos. O seu uso surge como uma metodologia satisfatória, auxiliando nos estudos morfológicos, já que, algumas estruturas não são possíveis de visualizar no microscópio óptico (SANTOS-MALLET et al, 2008; AZEVEDO FILHO et al., 2008).

No mais, poucos estudos relacionados as sensilas da família Eulophidae são apresentados na literatura, a exemplo de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), *Trichospilus pupivorus* (Ferriere, 1930) (Hymenoptera: Eulophidae) e *Tetrastichus hagenowii* (Ratz.) (Hymenoptera: Eulophidae). Para o parasitoide *P. elaeisis* é inexistente em literatura suas análises antenais em MEV.

REFERÊNCIAS

- ABREU, J.A.S; ROVIDA, A.F.S.; CONTE, H. **Controle biológico por insetos parasitoides em culturas agrícolas no Brasil: revisão de literatura**. Revista UNINGÁ Review, v.22, n.2, p.2225, 2015.
- AGROFIT. **Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons, 2023
- ALMEIDA, A.F. **Aves observadas combatendo um foco de lepidópteros desfolhadores de eucalipto (*Thyriniteina arnobia*, *Glena* sp. e *Catoria* sp.)** em Aracruz– ES. Silvicultura, v.7, n. 23, p. 5–62, 1982.
- ALMEIDA, C. A. C; GONÇALVES, F.S; RODRIGUES, M. B.; SANTOS, J. M; BREDÁ, M. O. **Food preference of *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) on native and exotic hosts**. Revista Árvore, 45, e4511, 2021. <https://doi.org/10.1590/1806-908820210000011>
- AMORIM, V. S. S.; MONTEIRO, K. M. S.; SOUSA, G. O.; PEREIRA, J. A.; MORAES, W.S. **Os benefícios ambientais do plantio de eucalipto: revisão de literatura**. Research, Society and Development, v. 10, n. 11, 9 p., 2021.
- ARFLORA** - Associação Rondoniense de Florestas Plantadas. Catálogo: ARFLORA B2 “Aprenda a plantar Eucalipto”. Ouro Preto do Oeste – RO. p. 4, 2013.
- ARIOLI, C. J.; BOTTON, M.; MAFRA-NETO, A.; MOLINARI, F.; BORGES, R.; PASTORI, P. L. Feromônios sexuais no manejo de insetos-praga na fruticultura de clima temperado. Florianópolis: Epagri. 58p. (Epagri. **Boletim Técnico**, 159), 2013.
- AYELO, P.M; PIRK, C.W.W; YUSUF, A.A; CHAILLEUX, A; MOHAMED, S.A; DELETRE, E. **Exploring the Kairomone-Based Foraging Behaviour of Natural Enemies to Enhance Biological Control: A Review**. Front Ecol Evol 9:641–974, 2021.
- AZEVEDO FILHO, W. S.; CASTRO, L. A. S.; BOTTON, M.; NAVA, D. E. **Técnicas de Preparação de Amostras para Estudos de Insetos com Microscópio Eletrônico de Varredura**. 1. ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, v. 1. 34p., 2008.

BARBOSA, L. R.; SANTOS, F.; BARDDAL, H. P. O.; MACHADO, B. O.; WILCKEN, C. F.; SOLIMAN, E. P. **Predação de *Thaumastocoris peregrinus* por *Chrysoperla externa***. Colombo: Embrapa. (Comunicado Técnico, 257) 4 p, 2010.

BITTENCOURT, M.A.L.; BERTI FILHO, E. **Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de *Lepidoptera***. Revista Brasileira de Entomologia, v.48, p.65-68, 2004.

BOBADILHA, G.S.; VIDAURRE, G.B.; CÂMARA, A.P.; NETO, H.F.; OLIVEIRA, J.T.S.; SOLIMAN, E.P.; LOPES, D.J.V.; ZANUNCIO, J.C. **Efect of defoliator insect on growth and wood properties of eucalypt trees**. European Journal of Wood and Wood Products, v. 77, p. 861-868, 2019.

CAMILO, S. S; MARCUS, A; ZANUNCIO, J. C; LEITE, G. L; DEMOLIN, P; EVALDO, M; CRUZ, M. C. M. **Plantas hospedeiras de *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) afetam o desenvolvimento do parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae)**. Rev. Árvore, Viçosa, v. 39, n. 1, p. 159-166, 2015.

CHAGAS et. al. **Controle biológico em sistema orgânico de produção por agricultores da cidade de Maringá (Paraná, Brasil)**. Ciência e Natura, Santa Maria v.38 n.2, Mai.- Ago. p. 637 – 647, 2016.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Projeto: Diagnóstico e controle de insetos-praga e fitopatógenos de plantios de eucalipto no Pará e Maranhão. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/209333/diagnostico-e-controle-de-insetos-praga-e-fitopatogenos-de-plantios-de-eucalipto-no-para-e-maranhao>. Acesso em: 18 de maio, 2023.

FILHO, M. A. A. **Resistência de genótipos de Eucalipto a *Thyriniteina arnobia* e *Thaumastocoris peregrinus***. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha. Diamantina- MG, 2017.

GILLOTT, C. **Entomology 3ed**. Netherlands: Springer, 783 p, 2005.

GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Waage J.K., Greathead D. (eds.) Insect Parasitoids. Academic Press, p.488, 1994.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os insetos: um resumo de entomologia**. 4 ed. São Paulo: Roca. 480p, 2012.

HASSELL, M. P. **The spatial and temporal dynamics of host-parasitoid interactions**. Oxford: Oxford University, 2000.

HORTA, A. B. **Uso de vírus e *Bacillus thuringiensis* Berliner no controle de *Thyriniteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae)**. Tese - Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu - SP, 2017.

HORTA, A.B.; ARDISSON-ARAÚJO, D.M.P.; SILVA, L.A.; MELO, F.L.; MORGADO, F.S.; LEMOS, M.V.F.; RIBEIRO, Z.A.; JUNIOR, A.L.B.; WILCKEN, C.F.; RIBEIRO, B.M. **Genomic analysis of a cypovirus isolated from the eucalyptus brown looper, *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae)**. Virus Research, v. 253, p. 62-67, 2018.

IBÁ. Relatório 2022: Ano base 2021. São Paulo: Ibá, 2022.

JESUS, F. G. et al. **Resistance of *Eucalyptus* spp. genotypes to eucalyptus brown looper *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae)**. Australian Journal Of Crop Science, v. 11, n. 9, p.1016-1021, 2015.

JORGE, A.; POLIDORI, C.; NIEVES-ALDREY, J. L. **Antennal sensilla in male gallwasps (Hymenoptera: Cynipidae) and insights on the evolution of sexual dimorphism in cynipoid sensory equipment**. Zoologischer Anzeiger, v. 283, p. 213-230, 2019.

KAROWE, D. N.; L. M. SCHOONHOVEN. **Interaction among three trophic levels: the influence of host plant on performance of *Pieris brassicae* and its parasitoid, *Cotesia glomerata***. Entomol. Exp. Appl, v. 62, p. 241-251, 1992.

KLEINEIDAM, C.; TAUTZ, J. **Perception of carbon dioxide and other “air-condition” parameters in the leaf cutting ant *Atta cephalotes***. Naturwissenschaften, v. 83, p. 566-568, 1996.

LIU, F.; LI, F.; ZHANG, S.; KONG, X.; ZHANG, Z. **Ultrastructure of antennal sensilla of *Erannis ankeraria* Staudinger (Lepidoptera: Geometridae)**. Microsc Res Tech. 2:1903–1910, 2019.

MADEIROS, S. F. **A cultura do eucalipto no estado de Alagoas: histórico, perspectivas e características dos plantios**. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Mestrado Profissional em Energia da Biomassa, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2019.

MAGALHÃES, D. M.; MICHEREFF, MIRIAN F. F.; HASSEMER, MARLA J.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; BORGES, M. **Semioquímicos no controle de pragas**. In: Eliana Maria Gouveia Fontes; Maria Cleria Valadares-Inglis. (Org.). Controle biológico de pragas da agricultura. 1ed.Brasília: Embrapa, v. 1, p. 1-510, 2020.

MARANGON, G. P.; PINTO, A. V. F. AYRES, M. F.; ROMEIRO, A. L. M.; CAVALCANTE, P. H. M. **Índice de sítio para plantios da espécie *Eucalyptus grandis* em duas mesorregiões do estado do Rio Grande do Sul**. In: V congresso Nordestino de Engenharia Florestal, VI Semana Acadêmica de Engenharia Florestal "Manejo Florestal Sustentável: Potencial do Nordeste para Florestas de Produção". 2016.

MILLS, N.; WAJNBERG, E. **Optimal foraging behavior and efficient biological control methods**. In: WAJNBERG, E.; BERNSTEIN, C.; VAN ALPHEN, J. J. M. (Ed.). Behavioral ecology of insect parasitoids: from theoretical approaches to field applications. Oxford: Blackwell Publishing, 2008.

MORAES C.M.; LEWIS, W.J. **Examining plant-parasitoid interactions in tritrophic systems**. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil. v.29, p.189-203, 2000.

NADEL, RL; WINGFIELD MJ; SCHOLLES MC; LAWSON AS; NOACK AE; NESER S; CHINELOS B. **Diversidade de DNA mitocondrial de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae): um potencial agente de controle biológico para *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae)**. BioControl 57, 397– 404, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9409-z>.

NAKANISHI, A.; NISHINO, H.; WATANABE, H.; YOKOHARI, F.; NISHIKAWA, M. **Sex-specific antennal sensory system in the ant *Camponotus japonicus*: structure and distribution of sensilla on the flagellum**. Cell and Tissue Research, v. 338, p. 79-97, 2009.

NOYES, J. S. **Universal Chalcidoidea Database**. 2019.

OLIVEIRA, A. C. **Avaliação do crescimento de clones de *Eucalyptus* spp. em duas regiões do estado de Mato Grosso**. Monografia – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá-MT, 2016.

OLIVEIRA, H.N.; ZANUNCIO, J.C.; PEDRUZZI, E.P.; ESPINDULA, M.C. **Rearing of *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) on guava and *Eucalyptus* in laboratory**. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 48, n.5, p. 801–806, 2005.

PAIVA, M. M. **Síntese assimétrica dos componentes do feromônio sexual da lagartaparda, *Thyriniteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae)**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2013.

PARRA, J. R. P. **Biological control in Brazil: an overview**. Scientia Agricola, v. 71, n. 5, p. 420-429, 2014.

PASSADOR, M. M.; LIMA, P. R.; DE PIERI, C.; HARAKAVA, R.; FURTADO, E.L. ***Teratosphaeria nubilosa* em plantações comerciais de *Eucalyptus globulus* nas regiões Sul e Sudeste do Brasil**. Summa Phytopathologica, v.38, n.1, p.11-16, 2012.

PASTORI, P.L.; PEREIRA, F.F.; ANDRADE, G.S.; SILVA, R.O.; ZANUNCIO, J.C.; PEREIRA, A.I.A. **Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt**. Revista Colombiana de Entomología, v. 38, p. 91-93, 2012.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; OLIVEIRA, H.N.; FAVERO, K.; GRANCE, E.L.V. **Progeny of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) of different ages**. Neotropical Entomology, v.38, p.660-66, 2009.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, T.V.; ZANUNCIO, J.C.; PRATISSOLI, D.; TAVARES, M.T. **Species of Lepidoptera defoliators of Eucalyptus as new host for the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae)**. Brazilian Archives of Biology and Technology, v.51 p.259-262, 2008.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, T.V.; ZANUNCIO, J.C.; PRATISSOLI, D.; TAVARES, M.T. **Species of Lepidoptera defoliators of Eucalyptus as new host for the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae)**. Brazilian Archives of Biology and Technology, v.51 p.259-262, 2008.

PEREIRA, F.F; ZANUNCIO, J.C; OLIVEIRA, H.N; GRANCE, E.L.V; PASTORI, P.L; GAVA-OLIVEIRA, M.D. **Thermal requirements and estimate number of generations of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) in different *Eucalyptus* plantations regions.** Braz. J. Biol., São Carlos, v. 71, n. 2, p. 431-436, 2011.

PEREIRA, L. G. B. **A Lagarta-Parda, *Thyrinteina arnobia*, principal lepidóptero desfolhador da cultura do eucalipto.** Dossiê Técnico, Fundação Centro Tecnológico de Minas-CETEC/MG. 28p, 2007.

PIRES, EM; PINTO R; LACERDA, MC; ZANUNCIO, JC; FIALHO MCQ. **Potencial reprodutivo horário do predador de lagartas desfolhadoras do eucalipto: *Podisus nigrispinus* (Heteroptera:Pentatomidae).** Rev. Árvore vol.30 no.6 Viçosa Nov./Dec. 2006.

POWEL, W.A; PICKET, J.A. **Manipulation of parasitoids for aphid pest management: progress and prospects.** Pest Management Science. 59: 149-155, 2003.

REIS, C. A. F.; SANTOS, A. M.; PACHECO, A. R.; MORAES-RANGEL, A. C. **Contribuições das pesquisas com eucaliptos para a expansão de fronteiras das florestas plantadas brasileiras.** In: OLIVEIRA, E. B. de; PINTO JUNIOR, J. E. (Ed.). O eucalipto e a Embrapa: quatro décadas de pesquisa e desenvolvimento. Brasília, DF: Embrapa, cap. 9, p. 395-494, 2021.

RIBEIRO, G. T. et al. **Constancy, Distribution, and Frequency of Lepidoptera Defoliators of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* (Myrtaceae) in Four Brazilian Regions.** Neotropical Entomology, [s.l.], v. 45, n. 6, p.629-636, 2 jun. 2016.

SANTAROSA, E.; PENTEADO JÚNIOR, J. F.; GOULART, I. C. G. R. **Transferência de tecnologia florestal: cultivo de eucalipto em propriedades rurais: diversificação da produção e renda.** Embrapa, Brasília, DF: 1 ed, 11p, 2014.

SANTOS, L. C.; CARVALHO, A.M.L; PEREIRA, B.L.; OLIVEIRA, A.C.; CARNEIRO, C.O.; TRUGILHO, P.F. **Propriedades da madeira e estimativas de massa, carbono e energia de clones de *Eucalyptus* plantados em diferentes locais.** Rev. Árvore vol.36 no.5 Viçosa, 2012.

SANTOS-MALLET, J. R.; ALMEIDA, M. A. R. C.; Novo, S. P. C.; GONÇALVES, T. C. M. **Morfologia Externa de *Triatoma carcavallo* Jurberg, Rocha & Lent (Hemiptera:**

Reduviidae: Triatominae), Através da Microscopia Ótica e Microscopia Eletrônica de Varredura. EntomoBrasilis (Vassouras), v. 1, p. 21-26, 2008.

SILVA, K. B.; SILVA, C. B.; RIBEIRO, K. A. L.; FREITAS, J. M. D.; FREITAS, J. D.; SANCHEZ CHIA, G.; TINÔCO, R. S.; COSTA, J. G.; GOULART, H. F.; SANTANA, A. E. **S. Morphology and distribution of antennal sensilla of *Automeris liberia* (Lepidoptera: Saturniidae).** Micron, v. 123, p. 102682, 2019.

SILVA, P. H. M.; MIRANDA, A. C.; MORAES, M. L. T.; FURTADO, E. L.; STAPE, J. L.; ALVARES, C. A.; SENTELHAS, P. C.; MORI, E. S.; SEBBENN, A. M. **Selecting for rust (*Puccinia psidii*) resistance in *Eucalyptus grandis* in São Paulo State, Brazil.** Forest Ecology and Management, v.303, n.1, p.91-97, 2013.

SOLIMAN, E. P. **Sanidade Florestal e a busca pela sustentabilidade da produção.** VIII Simpósio Sobre Técnicas de Plantio e Manejo de Eucalipto para Uso Múltiplos Piracicaba. 2014.

TAVARES, W.S.; WILCKEN, C.F.; RAMALHO, F.D.; SOARES, M.A.; FERNANDES, F.L.; SERRAO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. **Discovery of the Aximopsis (Hymenoptera: Eurytomidae) parasitoid of Lepidoptera in Brazil and notes on its biology.** Florida Entomologist, v. 98, p. 1077-1080, 2015.

VET, L. E. M.; M. DICKE. **Ecology of infochemical used by natural enemies in a tritrophic context.** Annu. Rev. Entomol., v.37, p.141-72, 1992.

VILELA, E. F.; DELLA LÚCIA, T. M. C. Introdução aos semioquímicos e terminologia. In: VILELA, E. F.; DELLA LÚCIA, T. M. C. (Eds.). **Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas.** Ribeirão Preto: Holos. pp.9-12, 2001.

VINSON, S.B.; BARBOSA, P. **Interrelationships of nutritional ecology of parasitoids.** In: SLANSKY JR., F.; RODRIGUES, J.G. (Ed.) Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates. New York: John Wiley, cap.21, p.673-695, 1998.

ZANUNCIO, J. C.; SANTANA, D. L.; NASCIMENTO, E. C.; SANTOS, G. P.; ALVES, J. B.; SARTÓRIO, R. C.; ZANUNCIO, T. V. **Manual de pragas em florestas. Lepidoptera desfolhadores de eucalipto: biologia, ecologia e controle.** Viçosa: Folha de Viçosa, 140 p, 1993

ZANUNCIO, J. C; PLATA, A; LEMES, P. G; BRÜGGER, B. P. **Novo manual de pragas florestais brasileiras**, 2021.

ZANUNCIO, J.C., PEREIRA, F. F., JACQUES, G. C., TAVARES, M. T., SERRÃO, J. E. ***Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle (Hymenoptera: Eulophidae)**. The Coleopterists Bulletin, v. 62, p. 64-66, 2008.

ZANUNCIO, J.C.; PEREIRA, A.I.A.; ZANUNCIO, T.V.; SERRÃO, J.E.; PEREIRA, J.M.M.; PINTO, R. **Entomologia Florestal Aplicada: Lepidoptera desfolhadores de eucalipto**. UFSM, v. 1, n. 1, p. 101–121, 2014.

ZARBIN, P. H. G; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. **Feromônios de insetos: tecnologias e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil**. Química Nova, v. 32, p. 722-731, 2009.

CAPÍTULO I – CONTROLE BIOLÓGICO CONSERVATIVO DE *Thyriniteina arnobia* (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) EM POVOAMENTOS FLORESTAIS DE EUCALIPTO NO ESTADO DE ALAGOAS.

RESUMO

A lagarta parda do eucalipto, *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), se destaca por ser o principal inseto desfolhador de *Eucalyptus* sp. no país. Nesse sentido, diversas táticas de manejo são empregadas para minimizar os efeitos danosos ocasionados por *T. arnobia*, em destaque, temos o uso do controle biológico. Com isso, o objetivo do trabalho foi registrar a ocorrência espontânea de inimigos naturais de *T. arnobia* em povoamentos florestais de *Eucalyptus* sp. no estado de Alagoas. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal (LEAF) do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA-UFAL), e em povoamentos florestais de eucalipto com ocorrência de surtos populacionais de *T. arnobia* no estado de Alagoas. Os levantamentos da presença espontânea de inimigos naturais (predadores e parasitoides) foram realizadas no período de agosto de 2020 até abril de 2022 em povoamentos florestais de *E. urograndis* no estado de Alagoas. A identificação foi realizada através de chaves dicotômicas, quando foi necessário, as amostras eram enviadas a taxonomistas especialistas. Registra-se a ocorrência espontânea dos inimigos naturais, *Winthemia* sp. (Diptera: Tachinidae), *Charops* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae), *Glyptapanteles* sp. (Hymenoptera: Braconidae) e o predador *Podisus* sp. (Hemiptera: Pentatomidae) associados a *T. arnobia* em povoamentos florestais de *Eucalyptus* sp. no estado de Alagoas. No geral, estes são os primeiros registros de ocorrência natural de agentes de controle biológico em *T. arnobia* no estado de Alagoas, informações essenciais para o desenvolvimento do manejo integrado de pragas florestais (MIP- Florestas) para a eucaliptocultura na região.

Palavras-chave: Pragas Florestais; Inimigos Naturais; Lagarta Parda do Eucalipto; MIP Florestal.

CHAPTER I – CONSERVATIVE BIOLOGICAL CONTROL OF *Thyriniteina arnobia* (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) IN FOREST STANDS OF EUCALYPTUS IN THE STATE OF ALAGOAS.

ABSTRACT

The eucalyptus brown caterpillar, *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), stands out as the main defoliator insect of *Eucalyptus* sp. in the country. In this sense, several management tactics are employed to minimize the harmful effects caused by *T. arnobia*, in particular, we have the use of biological control. Thus, the objective of this work was to record the spontaneous occurrence of natural enemies of *T. arnobia* in forest stands of *Eucalyptus* sp. in the state of Alagoas. The research was conducted at the Laboratory of Agricultural and Forest Entomology (LEAF) of the Campus of Engineering and Agricultural Sciences (CECA-UFAL), and in eucalyptus forest stands with occurrence of population outbreaks of *T. arnobia* in the state of Alagoas. Surveys of the spontaneous presence of natural enemies (predators and parasitoids) were carried out from August 2020 to April 2022 in forest stands of *E. urograndis* in the state of Alagoas. For identification was using dichotomous keys. When necessary, samples were sent to specialist taxonomists. The spontaneous occurrence of natural enemies, *Winthemia* sp. (Diptera: Tachinidae), *Charops* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae), *Glyptapanteles* sp. (Hymenoptera: Braconidae) and the predator *Podisus* sp. (Hemiptera: Pentatomidae) associated with *T. arnobia* in *Eucalyptus* sp. in the state of Alagoas. In general, these are the first records of the natural occurrence of biological control agents in *T. arnobia* in the state of Alagoas, essential information for the development of integrated forest pest management (IPM- Forest) for eucalyptus cultivation in the region.

Keywords: Forest Pests; Natural Enemies; Eucalyptus Brown Caterpillar; Forest IPM.

1. INTRODUÇÃO

O controle biológico conservativo refere-se ao uso de predadores e parasitoides nativos, de ocorrência natural, geralmente envolvidos no manejo de insetos praga também nativos. Diversas medidas podem ser consideradas essenciais para o incremento da abundância e atividade espontânea de inimigos naturais, incluindo a manipulação do microclima, refúgios, viabilidade de presas e hospedeiros alternativos e o fornecimento de recursos alimentares essenciais, tais como fontes de néctar (GURR et al. 2000).

Em povoamentos florestais de *Eucalyptus* spp. a habilidade de inimigos naturais atuarem de maneira espontânea, porém, é desafiada principalmente por dois aspectos no desenvolvimento de programas de controle biológico: (i) o manejo é frequentemente requerido para insetos herbívoros ocupando habitats simplificados em diversidade e estrutura; (ii) a teia inimigo natural $\times$ herbívoro $\times$ planta hospedeira é frequentemente composta por espécies exóticas que compartilham poucos traços evolutivos com a biota natural, simplificando a teia de ação desses agentes de controle biológico natural.

A lagarta parda do eucalipto, *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), configura-se como um inseto nativo, proveniente de Myrtáceas nativas como a goiaba (*Psidium guajava* L.), e destaca-se por ser o principal inseto desfolhador de *Eucalyptus* spp. no país (PAIVA, 2013). Em Alagoas, surtos populacionais de *T. arnobia* são frequentemente relatados em povoamentos florestais clonais, causando danos significativos, requerendo a adoção repetida de medidas de controle (BREDA et al., 2018).

Nesse sentido, o estudo e levantamento de espécies de inimigos naturais, com ocorrência espontânea, é fundamental para elucidar bases de implantação de um programa de controle biológico de *T. arnobia*, que inclua a possibilidade da ação de organismos agentes de controle biológico conservativo, diretamente relacionada ao monitoramento e detecção do nível de controle para a região (CELLI, 2017; VIEIRA et al., 2018; JUNIOR et al., 2018).

Com isso, o objetivo do trabalho foi registrar a ocorrência espontânea de inimigos naturais de *T. arnobia*, em caráter qualitativo, para povoamentos florestais de *Eucalyptus* spp. no estado de Alagoas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de realização da pesquisa

A pesquisa foi conduzida em povoamentos florestais de *Eucalyptus* spp. com ocorrência de surtos populacionais de *T. arnobia* no estado de Alagoas, localizados nos municípios de Rio Largo, Atalaia e Maceió; e no Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal (LEAF) do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA-UFAL).

2.2. Levantamento qualitativo de Inimigos Naturais de ocorrência espontânea

Para o registro da ocorrência do controle biológico conservativo de *T. arnobia* em povoamentos florestais de *Eucalyptus* spp. no estado de Alagoas, levantamentos da presença espontânea de inimigos naturais foram realizadas de forma aleatória entre agosto de 2020 a abril de 2022 durante surtos populacionais da espécie, que eram avisados pelos pragueiros dos plantios, em períodos de estiagem do ano.

Para o levantamento das espécies de parasitoides e entomopatógenos, diferentes formas biológicas (ovos, lagartas, pré-pupas e pupas) de *T. arnobia* foram coletadas manualmente, armazenadas em baldes plásticos (20 litros), com orifícios laterais e na tampa, recobertos por tecido do tipo voile e transportadas para o Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal (LEAF).

As formas biológicas eram mantidas em ramos de *E. urograndis*, renovados sempre que necessário e observadas diariamente, para verificação da ocorrência de parasitismo e/ou parasitoidismo. Em caso de sinais de parasitoidismo, o parasitoide era observado até atingir a fase adulta, sendo posteriormente acondicionado em pote plástico e conservado em álcool 70% até a futura identificação.

Para o levantamento de predadores, observações *in situ* foram realizadas. A coleta dos insetos consistiu na inspeção visual dos ramos das plantas, e quando necessário, redes entomológicas foram utilizadas na captura ativa de insetos em vôo ou pousados nas plantas. As formas biológicas de ocorrência foram coletadas e transportadas para o Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal (LEAF).

2.3 Identificação de Inimigos Naturais

A identificação dos inimigos naturais foi realizada através de chaves dicotômicas, em literaturas a exemplo de “Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia” (RAFAEL et al., 2012) e “Insetos de importância econômica: guia ilustrado para identificação de famílias” (FUJIHARA et al., 2011). Quando necessário, as amostras foram enviadas a taxonomistas especialistas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Registro de ocorrência natural de parasitoides associados a *T. arnobia*

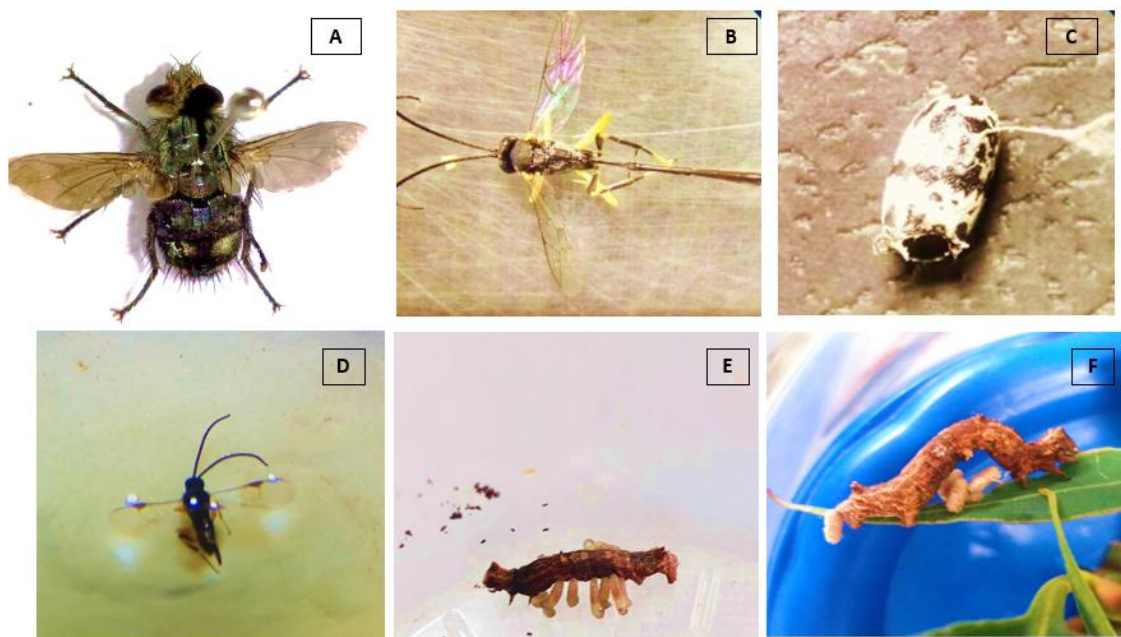
Em agosto de 2020, durante o período de realizações das coletas em povoamentos florestais de *Eucalyptus spp.* em Alagoas, foi possível observar a ocorrência frequente de pupas e adultos de Diptera, identificados posteriormente como o gênero *Winthemia* (Diptera: Tachinidae) (Figura 1A), a partir de pupas de *T. arnobia*, chegando a apresentar taxas de parasitismo acima de 60% nos espécimes coletados durante esse período.

Além disso, em maio de 2021, a presença de adultos (Figura 1B) e casulos (Figura 1C) de parasitoide da subfamília Campopleginae (Hymenoptera: Ichneumonidae) em quatro lagartas de *T. arnobia* foi observada, identificados com o auxílio do pesquisador Dr. Daniel Fernandes, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), como *Charops sp.* (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae).

Após duas coletas, em abril de 2022, ainda em larvas de *T. arnobia*, foi observada a ocorrência do parasitismo pelo gênero *Glyptanpateles* (Hymenoptera: Braconidae) (Figura 1C). De aproximadamente 100 lagartas coletadas em campo, um total de 27 Lagartas de *T. arnobia*, observadas diariamente em laboratório exibiram a eclosão de larvas de parasitoides (Figura 1D) e consequentemente a formação de 262 casulos anexados ao corpo dos insetos (Figura 1E), ou presos entre os galhos e folhas em ramos de *E. urograndis*.

Após a eclosão das larvas do parasitoide *Glyptanpateles sp.* (Hymenoptera: Braconidae), as lagartas de *T. arnobia* permaneceram vivas, porém apresentaram deterrência alimentar significativa e comportamento agressivo, quando se sentiam ameaçadas, com o intuito de proteger os casulos, morrendo após a emergência do adulto do parasitoide, totalizando 213 adultos emergidos de *Glyptanpateles sp.*

Figura 1. Parasitoides de ocorrência natural associados a *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) em povoamentos florestais de *Eucalyptus* spp. no estado de Alagoas. A) Adulto de *Winthemia* spp. (Diptera: Tachinidae); (B) Adulto de *Charops* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae); (C) Casulo de *Charops* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae); (D) Adulto de *Glyptanpateles* sp. (Hymenoptera: Braconidae); (E) Larvas de *Glyptanpateles* sp. (Hymenoptera: Braconidae) em lagarta de *T. arnobia*; (F) Casulos de *Glyptanpateles* sp. (Hymenoptera: Braconidae) em lagarta de *T. arnobia*.



Fonte: Autora (2022).

A família Tachinidae é conhecida como uma das mais diversificadas dentre as famílias que compõem a ordem Diptera, sua importância se dá ao fato de que são considerados agentes promissores para o controle de diversas pragas da ordem Lepidoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Hemiptera e Orthoptera contribuindo para o controle biológico natural e conservativo de diversas espécies (IRWING et al., 2003; STIREMAN et al., 2006).

Em relação ao gênero *Winthemia*, sua ocorrência é amplamente distribuída, apresentando registros nas maiores regiões biográficas do mundo, incluindo a América do Sul (O'HARA, 2012). Todas as suas espécies são caracterizadas por parasitar lagartas de lepidópteros e se tem registro de parasitismos entre as famílias Nymphalidae, Noctuidae e Geometridae, família a qual *T. arnobia* pertence (JANZEN & HALLWACHS, 2009).

Marconato et. al (2008), realizando levantamento de espécies de Geometridae em *Erythroxylum microphyllum* St.- Hilaire (Erythroxylaceae) constataram a ocorrência do parasitoidismo do gênero *Winthemia* sp. em *Cyclomia mopsaria* Guenée (Lepidoptera: Geometridae).

Marciano et. al (2009) relataram a ocorrência de parasitoidismo por *Winthemia analis* (Macquart) como parasitóide larva-pupa em *Brassolis sophorae laurentii* Stichel (Lepidoptera: Nymphalidae: Brassolinae) no estado de Alagoas.

A família Ichneumonidae pode se caracterizar por estar presente em praticamente todos os habitats terrestres, possuindo aproximadamente 25 mil espécies, dentre estes números, 986 espécies são conhecidas no Brasil (FERNANDES et al., 2019). Em levantamento entomofaunístico em área experimental de *E. urograndis*, localizado no município de Rio Largo- AL espécies de Hymenopteras da família Ichneumonidae, foram relatados por Gonzaga (2019).

Os Campopleginae constituem por ser uma subfamília de Ichneumonidae, amplamente distribuída possuindo como características por serem coinobiontes solitários de larvas e outros insetos que possuem holometabolismo, a maioria parasita lagartas de lepidópteros, mas parasitam também larvas de Symphyta e Coleoptera, possuindo assim importância como agentes de controle biológico natural (ONODY,2005).

Marconato et. al (2008), realizando levantamento de espécies de Geometridae em *E. microphyllum* constataram a ocorrência do parasitoidismo de *Charops sp.* (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae) em *C. mopsaria*, *Glena sp.* (Lepidoptera: Geometridae) e *Iridopsis fulvitincta* (Warren, 1897) (Lepidoptera: Geometridae).

Pesquisas e relatos de ocorrência sobre o gênero *Glyptapanteles* ainda são poucos conhecidos, no Brasil, este endoparasitóide gregário já foi relatado por Gassen (1986) como um dos principais agentes naturais de controle de *Pseudaletia sequax* Franclemont (Lepidoptera: Noctuidae), inseto polífago responsável por prejuízos em cereais como trigo, cevada e aveia, além de pastagens.

No levantamento realizado em *E. microphyllum* sobre parasitismo de lagartas da família Geometridae foi relatada a ocorrência de *Glyptapanteles sp.* parasitando as espécies *Cyclomia mopsaria* Guenée (Lepidoptera, Geometridae), *Glena sp.* (Lepidoptera: Geometridae) e *Physocleora sp.* (Lepidoptera: Geometridae) (MARCONATO et. al, 2008).

Em relação ao parasitismo do gênero *Thyriniteina* apenas se tem relato da ocorrência de *Glyptapanteles sp.* parasitando a espécie *Thyriniteina leucocerae* (Rindge) (Lepidoptera: Geometridae), em eucalipto. Grosman et. al, (2008) aborda sobre a ocorrência desse inseto em Minas Gerais e a capacidade do parasitoide *Glyptapanteles sp.* de manipular o comportamento da lagarta *T. leucocerae*. Segundo o autor, as lagartas parasitadas continuam se desenvolvendo e se alimentando até o 4º ou 5º ínstar, quando as larvas parasitóides saem do hospedeiro e ocorre

a formação dos casulos. Nessa fase, o hospedeiro passa por uma série de mudanças comportamentais, incluindo cessação da alimentação, além de mudança no comportamento, com o aumento de balanços de cabeça das lagartas quando intimidadas, que poderiam servir como uma defesa das pupas parasitóides contra predação ou hiperparasitismo (GROSMAN et. al, 2008).

Não há registros de ocorrência da espécie *T. leucocerae* em implantações florestais de *Eucalyptus* spp. na região Nordeste, porém, o comportamento descrito para a espécie corrobora com o observado em lagartas de *T. arnobia* parasitadas por *Glyptapanteles* sp. coletadas em plantios de eucalipto em Alagoas.

De forma geral, poucos são os relatos de ocorrência espontânea de inimigos naturais parasitando lepidópteros no estado de Alagoas, em especial para família Geometridae, sendo esses os primeiros registros de ocorrência do parasitismo natural de *Winthemia* sp., *Charops* sp. e *Glyptapantele* sp. parasitando *T. arnobia* em plantios de *Eucalyptus* spp. para a região.

3.2 Registro de ocorrência natural de predadores associados a *T. arnobia*

Em relação ao controle biológico natural de *T. arnobia* através de organismos predadores em povoamentos florestais de *Eucalyptus* spp. no estado de Alagoas, foi observada a ocorrência *in situ* de ninfas (Figura 2A) e adultos (Figura 2B) de percevejos do gênero *Podisus* sp. (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) alimentando-se dos fluidos de lagartas em campo.

Figura 2. Predadores de ocorrência natural associados a *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) em povoamentos florestais de *Eucalyptus* spp. no estado de Alagoas. A) Ninfas de *Podisus* sp. (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae); (B) Adulto de *Podisus* sp.



Fonte: Autora (2023).

Percevejos do gênero *Podisus* possuem registros de ocorrência em várias culturas, incluindo o eucalipto (MORAES et al., 1976; ZANUNCIO et al., 1993), possuem o hábito generalista e são encontrados frequentemente associados a lepidópteros-praga, como a família Geometridae (MC PHERSON, 1980).

Desde a década de 90, a produção massal de *Podisus* spp. em laboratórios e sua posterior liberação em povoamento florestais para o manejo de lagartas desfolhadoras é estabelecida, incluindo *T. arnobia*, a exemplo de empresas reflorestadoras brasileiras como a CAF Florestal Ltda, Champion Celulose, Mannesmann Florestal Ltda, Pains Florestal S.A. e Reflorestadora do Alto Jequitinhonha (Refloralje) (ZANUNCIO et al., 1991).

Cavalcanti et al. (2000) relatam que quanto maior a herbivoria provocada por *T. arnobia* em eucalipto, maior o número de visitas de *Podisus* sp., provavelmente mediadas por pistas químicas, como cairomônios.

Dessa forma, a ocorrência natural de *Podisus* sp. na predação ativa de lagartas de *T. arnobia* no estado de Alagoas, indica a possibilidade do desenvolvimento de programas de controle biológico aplicado para a espécie.

3.3 Registro de ocorrência natural de entomopatógenos associados a *T. arnobia*

Não foram, porém, registradas as presenças de infecção por entomopatógenos nas formas biológicas coletadas durante o período de desenvolvimento do presente estudo.

4. CONCLUSÕES

Registra-se as primeiras ocorrências espontâneas dos inimigos naturais, *Winthemia* sp. (Diptera: Tachinidae), *Charops* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae, Campopleginae), *Glyptapanteles* sp. (Hymenoptera: Braconidae) e do predador *Podisus* sp. (Hemiptera: Pentatomidae) associados a *T. arnobia* em povoamentos florestais de *Eucalyptus* sp. no estado de Alagoas.

REFERÊNCIAS

- BREDA, M. O.; XAVIER, M. E. V.; GONZAGA, E. P.; ALMEIDA, C. A. C.; SANTOS, J. M. **Ocorrência de *Thyriniteina arnobia* e *Oxydia vesulia* (Lepidoptera: Geometridae) em plantios de eucalipto no estado de Alagoas.** In: XXVII Congresso Brasileiro de Entomologia e X Congresso Latino-Americano de Entomologia. XXVII Congresso Brasileiro de Entomologia e X Congresso Latino-Americano de Entomologia. **Anais...** Gramado-RS: SEB. p. 844, 2018.
- CAVALVANTI, M. G.; VILELA, E. F.; EIRAS, A. E.; ZANUNCIO, J. C.; PICANÇO, M. C. **Interação tritrófica entre *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), *Eucalyptus* e lagartas de *Thyriniteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae): I visitação.** Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Londrina, v. 29, n. 4, p. 697- 703, 2000.
- CELLI, Nathália. **Coccinellidae (Coleoptera) Do Sul Do Brasil: Espécies Potencialmente Importantes No Controle Biológico.** Dissertação, Mestre em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.
- FERNANDES, D.R.R; SANTOS, J.J.M.; LARA, R.I.R.; SILVA JUNIOR, J.C; FERREIRA, H.A; PERIOTO, N.W. **Fauna de Ichneumonidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) em áreas de Caatinga do Sudoeste da Bahia, Brasil.** *EntomoBrasilis*.126–131.,2019.
- FUJIHARA, R. T.; FORTI, L. C.; ALMEIDA, M. C.; BALDIN, E. L. L. **Insetos de importância econômica: guia ilustrado para identificação de famílias.** Botucatu: FEPAF, 391p, 2011.
- GASSEN, D. N. **Parasitos, patógenos e predadores de insetos associados à cultura do trigo.** Passo Fundo, Embrapa-CNPT. 86p. (Circular Técnica, 1), 1986.
- GONZAGA, E. **Levantamento e Caracterização da Entomofauna Associada ao Cultivo de Eucalipto no Estado de Alagoas.** Dissertação Mestrado em Proteção de Plantas, Universidade Federal de Alagoas Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, 2019.
- GROSMAN, A.H; JANSSEN, A. B. E. F; CORDEIRO, E.G; COLARES, F. et al. **Parasitoid Increases Survival of Its Pupae by Inducing Hosts to Fight Predators.** PLoS ONE 3(6): e2276. doi:10.1371/journal.pone.0002276, 2008.

GURR, G. M., WRATTEN, S. D. & BARBOSA, P. **Success in conservation biological control of arthropods**. In Measures of success in biological control (eds G. Gurr & S. Wratten), pp. 105–132. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000.

IRWIN, M. E; SCHLINGER, E. I; F. C. THOMPSON. **Diptera, true flies**. p. 692-702. In: S. M. Goodman & J. P. Benstead (eds.). The Natural History of Madagascar. Chicago/ London, University of Chicago Press, 1728 p, 2003.

JANZEN, D. H; W. HALLWACHS. **Dynamic database for an inventory of the macrocaterpillar fauna, and its food plants and parasitoids, of Area de Conservacion Guanacaste (ACG), northwestern Costa Rica (nn-SRNP-nnnnnn voucher codes)**, 2009.

JUNIOR, J. et al. **Manejo Agroecológico De Pragas: Alternativas Para Uma Agricultura Sustentável**. Revista Científica Intellecto. Venda Nova do Imigrante, vol.3, nº 3, 2018.

MARCICANO, M. D. L; NIHEI, S. S; LIMA, I. M.M. **First host record for *Winthemia analis* (Macquart) (Diptera: Tachinidae: Exoristinae) in Brazil: *Brassolis sophorae laurentii* Stichel (Lepidoptera: Nymphalidae: Brassolinae)**. Neotropical Entomology, v. 38, p. 550-552, 2009.

MARCONATO, G; DIAS, M. M; PENTEADO-DIAS, A. M. **Larvas de Geometridae (Lepidoptera) e seus parasitóides, associadas a *Erythroxylum microphyllum* St.-Hilaire (Erythroxylaceae)**. Revista Brasileira de Entomologia, v. 52, p. 296-299, 2008.

MC PHERSON, J. E. **A list of the prey species of *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae)**. Great Lakes Entomologist, East Lansing, v. 13, p. 17-24, 1980.

MORAES, G. J.; MACEDO, N.; SAGLIETTI, J. F. A. **Biologia de *Podisus* sp. (Pentatomidae, Asopinae)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 3, Maceió. Resumos... Maceió: Sociedade Entomológica do Brasil, p. 43-44, 1976.

O'HARA, J. E. **World genera of the Tachinidae (Diptera) and their regional occurrence**. Version 7.0, 2012.

ONODY, H. C. **Estudo dos Campopleginae (Hymenoptera, Ichneumonidae) neotropicais com ênfase na fauna da Mata Atlântica, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.

PAIVA, M. M. **Síntese assimétrica dos componentes do feromônio sexual da lagartaparda, *Thyrintina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae).** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2013.

RAFAEL, J.A.; MELO, G.A.R.; CARVALHO, C.J.B.; CASARI, S.A.; CONSTANTINO, R. (eds.). **Insetos do Brasil, Diversidade e Taxonomia.** Ribeirão Preto, Holos Editora, xiv+810 p., 2012.

STIREMAN, J. O. III; O'HARA, J. E; D. M. WOOD. **Tachinidae: Evolution, Behavior, and Ecology.** Annual Review of Entomology 51: 525-555, 2006.

VIEIRA, R. et al. **Ocorrência de *Glycaspis brimblecombei* sobre *Eucalyptus* em Chapadão do Sul, Mato Grosso do Sul.** Revista de Agricultura Neotropical. CassilândiaMS, v. 5, n. 1, jan./mar., 2018.

ZANUNCIO, T. V.; BATALHA, V. C.; ZANUNCIO, J. C.; SANTOS, G. P. **Parâmetros biológicos de *Podisus connexivus* (Hemiptera: Pentatomidae) em alimentação alternada com lagartas de *Bombyx mori* e larvas de *Musca domestica*.** Revista Árvore, Viçosa, v. 15, n. 3, p. 308-315, 1991.

ZANUNCIO, T. V.; ZANUNCIO, Z. C.; BATALHA, V. C.; SANTOS, G. P. **Efeito da alimentação com lagartas de *Bombyx mori* e larvas de *Musca domestica* no desenvolvimento de *Podisus nigrolimbatus* (Hemiptera: Pentatomidae).** Revista Brasileira de Entomologia, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 273-277. 1993.

CAPÍTULO II – ECOLOGIA QUÍMICA NO CONTROLE BIOLÓGICO APLICADO DE *Thyrintina arnobia* (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE).

RESUMO

A lagarta-parda-do-eucalipto, *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), é classificada como praga-chave para o cultivo de *Eucalyptus* sp. no país. *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae), é uma espécie de parasitoide que se destaca por se ter potencial para se desenvolver em pupas de lepidópteros, incluindo *T. arnobia*. A manipulação do comportamento de parasitoides utilizando os semioquímicos oferece grandes perspectivas e pode ser uma ferramenta aliada ao controle biológico. Estes semioquímicos podem ter diversas funções para aumentar as táticas de controle de pragas em campo, os compostos envolvidos entre essas interações podem atrair ou reter os parasitoides em uma determinada área ou aumentar os índices de parasitismo. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi elucidar o papel dos semioquímicos extraídos de pupas de *T. arnobia* advindos de clones de *E. urograndis* na atração do endoparasitoide *P. elaeisis*. Para isso, extratos de pupas de fêmeas e machos de *T. arnobia* foram submetidos às técnicas de extração por aeração e cuticular. Seguidamente foram estudados e analisados via técnica cromatografia gasosa acoplada a detector por ionização de chama (CG-FID), os estudos comportamentais de fêmeas de *P. elaeisis* foram submetidos a olfatometria de dupla escolha em “Y”, além de ser estudados antenas de fêmeas de *P. elaeisis* frente a extrato de aeração de pupas fêmeas de *T. arnobia* através da eletroantenografia acoplada a cromatografia gasosa (EAG-CG) e seguidamente o extrato foi analisado via Cromatografia Gasosa acoplada a espectometria de Massas (CG-EM). Os compostos encontrados em pupas de *T. arnobia*, indicados como 4-Hexen-1-ol, acetato; 2,3,5,6-Tetrametilpirazina; 2-Nonanona e 1-Undeceno são encontrados em processos de atração do parasitoide *P. elaeisis*. Os resultados obtidos contribuem para a consolidação do Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP-Floresta).

Palavras- chave: Cairomônios; Praga-Florestal; Parasitoides; MIP.

CHAPTER II – CHEMICAL ECOLOGY IN THE APPLIED BIOLOGICAL CONTROL OF *Thyriniteina arnobia* (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE).

ABSTRACT

The eucalyptus brown caterpillar, *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), is classified as a key pest for the cultivation of *Eucalyptus* sp. in the country. *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae), is a parasitoid species that stands out for having the potential to develop in lepidoptera pupae, including *T. arnobia*. The manipulation of parasitoid behavior using semiochemicals offers great perspectives and can be a tool allied to biological control. These semiochemicals can have several functions to increase pest control tactics in the field, the compounds involved between these interactions can attract or retain parasitoids in a given area or increase parasitism rates. In this context, the objective of this work was to elucidate the role of semiochemicals extracted from pupae of *T. arnobia* from clones of *E. urograndis* in the attraction of the endoparasitoid *P. elaeisis*. For this, extracts of pupae of females and males of *T. arnobia* were submitted to aeration and cuticular technique. Subsequently, they were studied and analyzed by gas chromatography technique coupled to flame ionization detector (GC-FID), the behavioral studies of *P. elaeisis* females were submitted to double choice olfactometry in "Y", besides being studied antennas of *P. elaeisis* females against the aeration extract of female pupae of *T. arnobia* through electroantennography coupled to gas chromatography (EAG-CG) and then the extract was analyzed via Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS). Compounds found in pupae of *T. arnobia*, indicated as 4-Hexen-1-ol, acetate; 2,3,5,6-Tetramethylpyrazine; 2-Nonanone and 1-Undecene present bioactivity in processes of attraction of the parasitoid *P. elaeisis*. The results obtained contribute to the consolidation of the Integrated Management of Forest Pests (IPM- Forest).

Keywords: Cairomonians; Pest-Forest; Parasitoids; MIP.

1. INTRODUÇÃO

O estudo da ecologia química aplicada ao controle biológico de insetos passa necessariamente pelo entendimento de processos de busca e aceitação hospedeira, através da utilização de semioquímicos comumente implícitos na estratégia comportamental de reconhecimento e forrageamento (VET e DICKE, 1992). Nesses processos de localização de habitat e do hospedeiro, os semioquímicos percebidos pelos inimigos naturais, destacando-se os parasitoides, possuem diversas funções, podendo modificar a movimentação e direcionamento de busca e gerando respostas de orientação, permanência ou deslocamento (VINSON, 1998).

Palmistichus elaeisis Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário de ocorrência natural e espontânea em pupas de coleópteros e lepidópteros, incluindo *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), classificada como praga-chave para o cultivo de *Eucalyptus* spp. no país, devido aos surtos populacionais frequentes, demandando repetida utilização de métodos de controle (MORAES & MACEDO 1975; ANJOS et al., 1987; HOLTZ et al., 2003; BARRETO & MOJENA, 2007).

A criação massal em laboratório e liberação inundativa em campo de *P. elaeisis* para o manejo de *T. arnobia* já é estabelecida em vários estados do Brasil, configurando-se como um agente de controle biológico aplicado de *T. arnobia*, para além do controle biológico conservativo, em plantios de *Eucalyptus* spp. (PEREIRA et al., 2008). Em Alagoas, porém, sua utilização aplicada ainda é incipiente e em caráter experimental (informações pessoais, 2022).

Em campo, a manipulação do comportamento de parasitoides utilizando semioquímicos pode oferecer grandes perspectivas, apresentando-se como uma ferramenta aliada ao controle biológico, atraindo, retendo, direcionando e conseqüentemente, aumentando os índices de parasitismo (LEWIS e MARTIN 1990, POWELL e PICKETT 2003). Estudos sobre a ecologia química, entretanto, abordando o comportamento e os semioquímicos envolvidos na busca hospedeira de *P. elaeisis* por pupas de *T. arnobia* são inexistentes.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi elucidar o papel dos semioquímicos extraídos de pupas de *T. arnobia* na atração do endoparasitoide *P. elaeisis*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de realização da pesquisa

O estudo foi conduzido no Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal (LEAF) do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) e no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) do Instituto de Química e Biotecnologia, na Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

2.2. Obtenção de pupas de *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae)

Pupas de *T. arnobia* foram coletadas manualmente em povoamentos florestais de *E. urograndis*, no município de Maceió, Alagoas, e transportadas para o Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal (LEAF).

2.3. Obtenção do parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae)

Os parasitoides foram fornecidos pelo Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), em Botucatu. Os insetos vieram através de pupas parasitadas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) e após emergência foram mantidos em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de comprimento) vedados com tecido tipo “voil” e alimentados com mel puro, até realização dos experimentos.

2.4 Obtenção de extratos de pupas de *T. arnobia* utilizando a técnica de aeração

Para a coleta dos extratos por meio do processo de aeração, foram utilizadas câmaras de vidro, de tamanho adequado ao volume dos materiais, sendo eles: (I) Pupas fêmeas de *T. arnobia* e (II) Pupas machos de *T. arnobia*, com aproximadamente 24h de idade.

Em seguida, um fluxo contínuo a 1L/min de ar, umidificado e pré-filtrado por carvão ativado, foi passado pelas câmaras, carreando os compostos voláteis liberados pelas pupas de *T. arnobia*, retendo-os em um “trap” contendo polímero adsorvente (0,06g Porapak Q), inserido na extremidade de saída da câmara.

O período de aeração foi de 24h, sendo em seguida realizada a dessorção dos compostos liberados, utilizando hexano grau HPLC como solvente. As amostras foram mantidas em

recipientes de vidro do tipo “vial” (2mL) e conservadas em freezer (-20°C), no intuito de evitar perda de material, e garantir posteriores análises.

2.5 Obtenção de extratos cuticulares de pupas de *T. arnobia*

Para extração dos hidrocarbonetos cuticulares de pupas de *T. arnobia* utilizou-se como solvente o hexano grau HPLC (bidestilado). As amostras realizadas foram: (I) Pupas fêmeas de *T. arnobia* e (II) Pupas machos de *T. arnobia*.

Para cada amostra foram utilizadas cinco pupas de fêmeas e cinco pupas de machos que foram imersas em tubos de vidros contendo 500 microlitros de solvente hexano. Após o período de 20 min, o sobrenadante foi filtrado em uma coluna de lã de vidro, preparada em uma pipeta de Pasteur de vidro, e transferidos para um vial com capacidade de 2 mL, e conservados em refrigeração (-20 °C) para posterior análise.

2.6 Análise dos extratos de pupas de machos e fêmeas de *T. arnobia* em cromatógrafo gasoso em detector por ionização de chama (CG-FID).

As análises prévias dos extratos das pupas de *T. arnobia* ocorreram por meio de cromatógrafo gasoso em detector de ionização em chama (CG-FID). Uma alíquota de 1 µL das amostras foram analisadas no cromatógrafo em coluna capilar NST 05 (30 m, 0,25 mm d.i.; Restek, Bellefonte, PA, USA). O método utilizado para a separação dos componentes foi inicialmente de 50 °C, aumentando 10 °C por minuto até atingir 280 °C, mantida por 10 minutos e após esse período aquecida até 300 °C com aumento de 10 °C por minuto. O gás hidrogênio foi empregado como gás de arraste, sendo esse responsável pelo transporte das amostras por meio da coluna de cromatografia gasosa.

Com a análises obtidas, foi realizada a observação dos cromatogramas para identificação de compostos específicos, e com a obtenção do tempo de retenção de cada composto na amostra, foi possível calcular o Índice de Retenção (IR), em que foi necessário analisar o padrão de n-alcanos de 7 a 30 átomos de carbono (SIGMA-ALDRICH) no mesmo equipamento e método usado nos extratos em modo “split”. Com isso, através dos tempos de retenção dos compostos das amostras e do padrão de alcanos foi realizado os cálculos do IR de cada composto com base na equação abaixo:

$$IR = 100y + 100 (z - y) * (tr_x - tr_y) \div (tr_z - tr_y)$$

Em que: tr_x = tempo de retenção dos compostos de interesse; y = número de carbonos do hidrocarboneto que elui antes do composto x ; z = número de carbonos do hidrocarboneto que elui depois do composto x .

2.7 Bioensaio em Olfatômetro de dupla escolha do tipo “Y”

A resposta comportamental de fêmeas de *P. elaeisis* aos extratos coletados foram observadas através do olfatômetro de dupla escolha do tipo “Y”, operado com um fluxo de ar contínuo de 0,8 L/min, previamente umidificado e filtrado com carvão ativado. O olfatômetro consiste de um tubo de vidro em forma de Y, com o tubo principal e dois braços de 10 cm de comprimento cada.

A fonte de odor utilizada foi um pedaço de papel de filtro (1 cm²) impregnado com 10 µL do extrato escolhido e hexano (testemunha) que foi colocado na base de cada braço do olfatômetro. Uma fêmea de *P. elaeisis* era introduzida na base do tubo principal do olfatômetro e seu comportamento foi observado durante cinco minutos.

A resposta era registrada quando o parasitoide sobrevoava contra o fluxo de ar até o final do braço escolhido que contém a fonte de odor. Era considerado como não-resposta quando o parasitoide não sobrevoava contra o fluxo de ar ou não escolhia nenhuma das fontes de odor durante os cinco minutos observados. Após dez repetições, a posição dos braços do olfatômetro era invertida, realizando mais dez repetições seguidamente, afim de evitar qualquer interferência externa.

Os bioensaios desenvolvidos com os extratos foram: (I) Extrato de aeração de pupas de fêmeas de *T. arnobia*; (II) Extrato de aeração de pupas de machos de *T. arnobia*; (III) Extrato cuticular de pupas de fêmeas de *T. arnobia*; (IV) Extrato cuticular de pupas de machos de *T. arnobia*; (V) Extrato de fezes de *T. arnobia*.

2.7.1 Análise estatística

Para cada experimento foram testadas 20 fêmeas de *P. elaeisis*, com cada indivíduo perfazendo uma repetição. Cada inseto foi testado apenas uma vez. Os dados da resposta das fêmeas para os diferentes tratamentos em olfatômetro foram analisados utilizando-se o teste de frequência não-paramétrico de Chi-quadrado (χ^2) a 5% de probabilidade no programa SAS (SAS INSTITUTE, 2001). Os gráficos foram elaborados no Software SigmaPlot (SYSTAT SOFTWARE INC., 2006).

2.8 Análise de Eletroantenografia acoplada à Cromatografia Gasosa (CG-EAG)

A resposta eletroantenográfica de fêmeas de *P. elaeisis* aos extratos obtidos foram analisadas através do cromatógrafo a gás acoplado ao detector por ionização de chamas modelo Shimadzu QP-2010, operado no modo “splitless”, com coluna capilar RTX-5 (30 m, 0,25 mm d. i., 0,25 µm; Restek®), onde o efluente da coluna foi dividido em duas linhas, uma levando ao detector FID e a outra ao EAG, o gás de arraste utilizado foi o nitrogênio. Fêmeas de *P. elaeisis* foram selecionadas e em seguida, com uso de pinça entomológica, as antenas eram removidas cuidadosamente e fixada no eletrodo do sistema CG-EAG. Um gel condutor de eletricidade era utilizado para cobrir as extremidades da antena no eletrodo, afim de permitir a passagem da corrente elétrica (Signa gel, Parker Labs, EUA).

Foi testada nessa fase do trabalho a antena de *P. elaeisis* frente ao extrato de aeração de pupas de fêmeas de *T. Arnobia*. Os sinais das antenas foram registrados através do amplificador de alta impedância (IDAC4, Syntech 2004), sendo que as respostas do EAG e a análise do FID foram registradas simultaneamente pelo software Autopike32, Syntech 2008. Na análise das respostas do CG-EAG, foram observadas a relação entre o sinal do EAG absoluto e os ruídos da linha base e os picos correspondentes dos compostos presentes na amostra registrados pela CG-FID.

2.9 Identificação dos compostos bioativos via Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM)

O extrato que apresentou bioatividade, foi analisado em Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM), para auxílio na identificação do composto que apresentou resposta em Eletroantenografia acoplada a Cromatografia Gasosa (EAG-CG), para isso foi utilizado um espectrometro de massas (SHIMADZU, QB 2010 Ultra) acoplado à cromatógrafo gasoso (CG-MS), equipado com coluna capilar DB-5 de 30m (0.25um di, 0.25mm Restek®), quadrupolo com impacto de elétrons a 70eV, com fase estacionária (5% - fenil) – metilpolisiloxano. O volume de injeção dos extratos foi de 1 µl no modo “splitless”. Foi utilizado o gás hélio para arraste, no mesmo método empregado para o CG/FID.

Os compostos foram identificados por meio das análises de fragmentação, índice de retenção e comparações com as bibliotecas NIST, WILEY e FFNSC do espectrômetro.

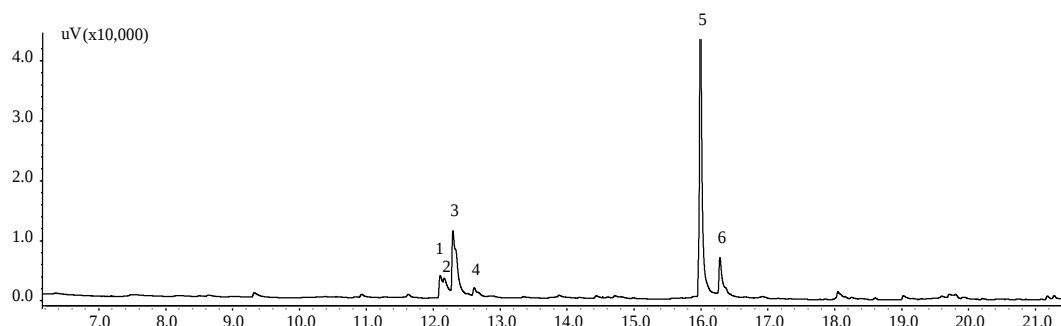
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise prévia dos extratos de pupas de machos e fêmeas de *T. arnobia* em cromatógrafo gasoso acoplado a detector por ionização de chama (CG-FID)

Através da cromatografia gasosa acoplada a detector por ionização de chama (CG-FID) dos extratos de pupas, foi possível identificar uma quantidade significativa de compostos específicos. No geral, estes compostos orgânicos identificados são basicamente pertencentes a classe dos alcanos, álcoois, aldeídos, ésteres, ácidos carboxílicos, alguns já presentes e envolvidos na comunicação química entre insetos de diversas ordens.

Em perfil cromatográfico do extrato de aeração de pupas de fêmeas de *T. arnobia* foi possível detectar um total de seis picos (Figura 1).

Figura 1. Cromatograma de aeração de pupas de fêmeas de *Thyriniteina arnobia*.

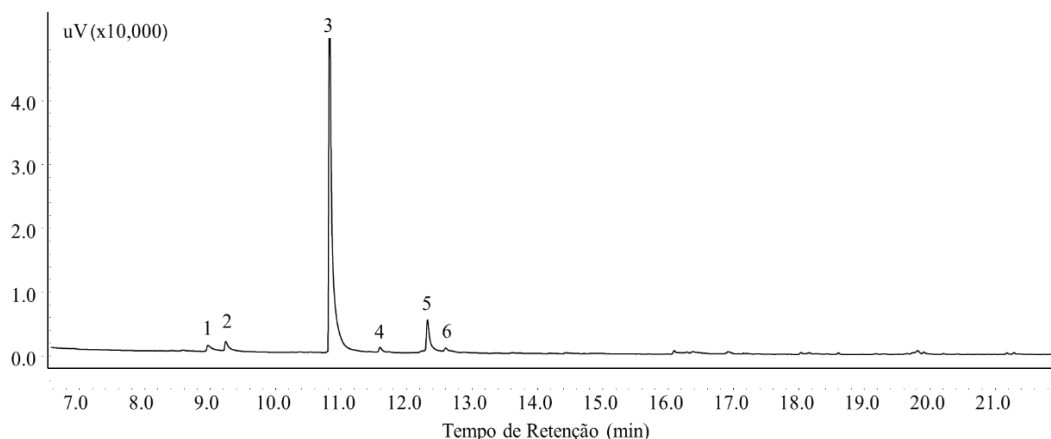


Fonte: Autora (2023).

De acordo com o banco de dados Pherobase (2023), alguns compostos químicos encontrados no pico majoritário (IR=1277) são utilizados por espécies de coleópteros em seu sistema de comunicação química, a exemplo do composto (E)-3,7-Dimetil-2,6-octadien-1-ol (geraniol), encontrado como molécula constituinte do feromônio de *Pieris melete* Ménéttriès, 1857 (Lepidoptera: Pieridae), além de atuar como cairomônio para *Pieris sp.* (Lepidoptera: Pieridae) (MORAIS, 2017).

Para o perfil cromatográfico do extrato de aeração de pupas de machos de *T. arnobia*, seis picos foram encontrados (Figura 2).

Figura 2. Cromatograma de aeração de pupas de machos de *Thyriniteina arnobia*.



Fonte: Autora (2023)

Ao comparar os perfis cromatográficos de pupas fêmeas e machos de *T. arnobia*, foi identificado apenas um índice de retenção em comum entre os dois extratos (IR= 1106), sendo os possíveis compostos para esse índice sugerido como: (1S,4R,5R)-1-Isopropil-4-metilbíciclo[3.1.0]hexan-3-ona; 3-Aminopiridina; (E)-2-Isopropil-5-metil-2-hexenal; 2-Acetil-2-tiazolina; 2,2-dietoxipropanoato de etilo; 3-metilbutanoato de isopentila; 2,6-Dimetil-2,7-octadien-6-ol; 2-(1-Propanonil)-tiazol; 3-metilbutanoato de 2-metilbutila.

Foi notável a presença do 2,6-Dimetil-2,7-octadien-6-ol (linalol) entre os compostos em comum, sendo considerado um monoterpeno alcoólico terciário acíclico, que podem ser extraídos de várias plantas da flora brasileira, principalmente das regiões Norte e Nordeste, como o pau-rosa (*Aniba rosae-odora*), a tangerina (*Citrus reticulata*), o jasmim (*Jasminum auriculatum*), lavanda (*Lavandula dentata*) (CAMARGO; VASCONCELOS, 2014).

É sabido que vários compostos podem ser induzidos pela alimentação de insetos nas plantas, gerando efeitos comportamentais de repelência ou permanência. O linalol já foi citado como um dos compostos induzidos em *Eucalyptus* spp. através das injúrias de alimentação de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) (Carpintero & Dellapé, 2006), principalmente em genótipos suscetíveis (ÁVILA et. al, 2022).

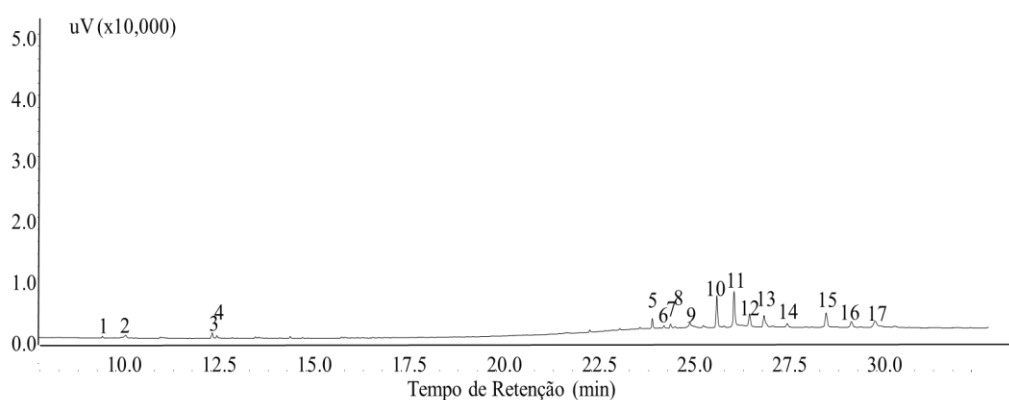
Batista-Pereira et. al (2006), avaliando a interação de óleos essenciais de sete espécies do gênero *Eucalyptus*, frente às antenas de fêmeas e de machos de *T. arnobia*, identificou 28 compostos voláteis bioativos, dentre esses o monoterpeno 2,6-Dimetil-2,7-octadien-6-ol (linalol), sugerido em nosso trabalho como um dos compostos possíveis para o IR 1106, encontrado no perfil cromatográfico de pupas fêmeas e machos de *T. arnobia*.

Análises mais refinadas em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas fazem-se necessárias para a total elucidação da identificação dos compostos voláteis sugeridos.

Em relação às análises dos cromatogramas de extrato cuticular, foi possível observar um número maior de picos ativos, com diferenças significativas entre os extratos de pupas machos e fêmeas de *T. arnobia*.

Para o extrato cuticular de pupas fêmeas, foi possível identificar um total de 17 picos (Figura 3).

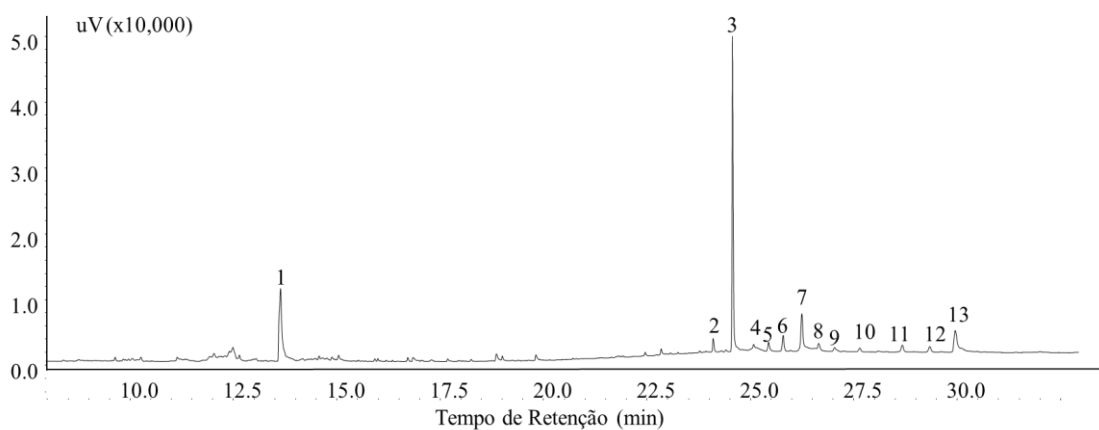
Figura 3. Cromatograma de extrato cuticular de pupas de fêmeas de *Thyriniteina arnobia*.



Fonte: Autora (2023).

Já para o extrato cuticular de pupas machos, foram identificados 13 picos (Figura 4).

Figura 4. Cromatograma de extrato cuticular de pupas de machos de *Thyriniteina arnobia*.



Fonte: Autora (2023).

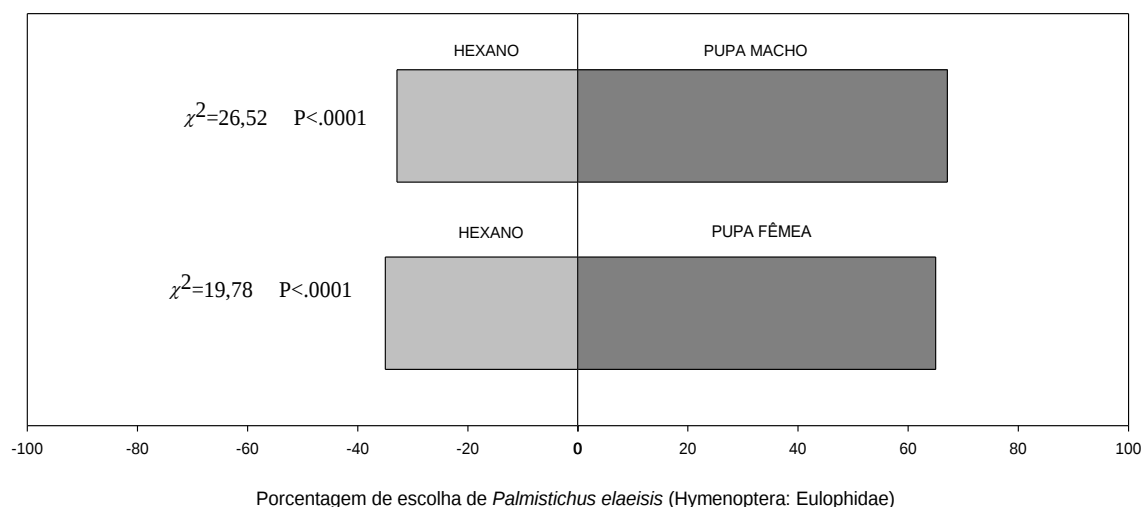
Ao comparar os perfis cromatográficos de pupas macho e fêmea de *T. arnobia*, é possível observar de forma comum entre ambos os picos ativos associados ao IR= 2746 (Figuras 3 e 4), sendo esse mais expressivo na cromatografia de extrato cuticular de machos, apresentando-se como composto majoritário. Os seguintes compostos sugeridos para sua identificação são: 1,2,6,8-Tetrabromodibenzofurano e 1,2,3,4,6,8-Hexaclorodibenzo-p-dioxina.

Além disso, os picos associados ao IR=2898 foi semelhante nos dois perfis cromatográficos, com possíveis compostos sugeridos como: 1-Oleoil-2,3-diacetil-glicerol e 2,6-Dibromo-1,4,8,9-tetraclorodibenzo-p-dioxina.

3.2 Bioensaio em Olfatômetro de dupla escolha do tipo “Y”

A resposta de fêmeas de *P. elaeisis* para o extrato de areação de pupas de fêmeas ($\chi^2=19,78$; $P<0,0001$) e machos ($\chi^2=26,52$; $P<0,0001$) de *T. arnobia* indica comportamento de atração, quando comparado com a testemunha (hexano) (Figura 5). A partir desses resultados, podemos sugerir a associação de compostos voláteis por *P. elaeisis* em processos de busca hospedeira.

Figura 5. Resposta em olfatometria de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) a extratos em aeração de pupas macho e fêmea de *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae).

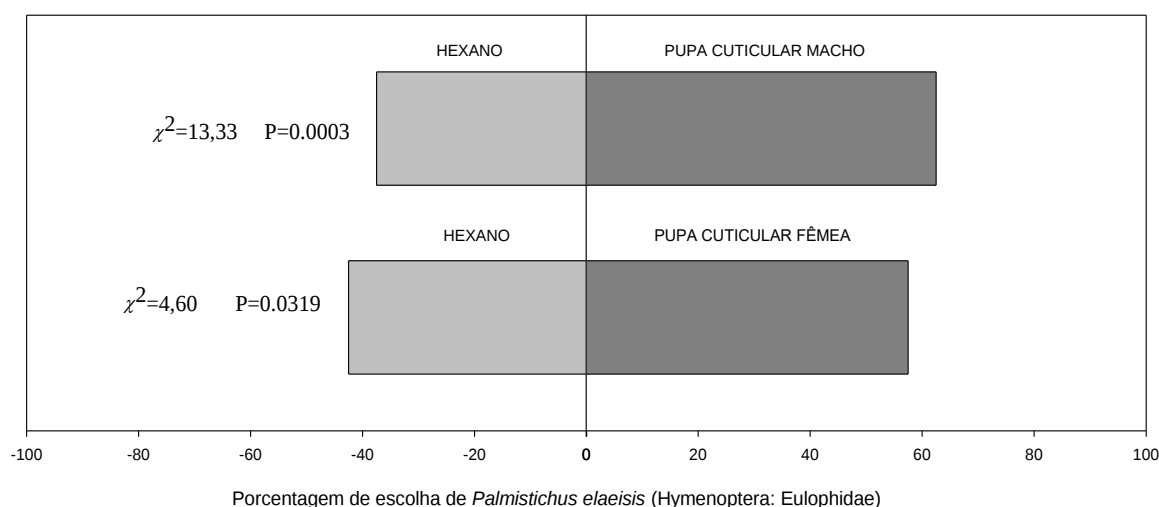


Fonte: Autora (2023).

Além disso, fêmeas de *P. elaeisis* também demonstraram resposta de comportamento de atração para extratos cuticulares de pupas de machos ($\chi^2=13,33$; $P=0,0003$) e fêmeas ($\chi^2=$

4, 60; $P=0.0319$) de *T. arnobia*, quando comparados ao solvente hexano (testemunha) (Figura 6). Nesse sentido, podemos indicar que *P. elaeisis* pode utilizar pistas químicas de compostos voláteis para o reconhecimento do hospedeiro a curta distância.

Figura 6. Resposta em olfatometria de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) a extratos cuticulares de pupas macho e fêmea de *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae).



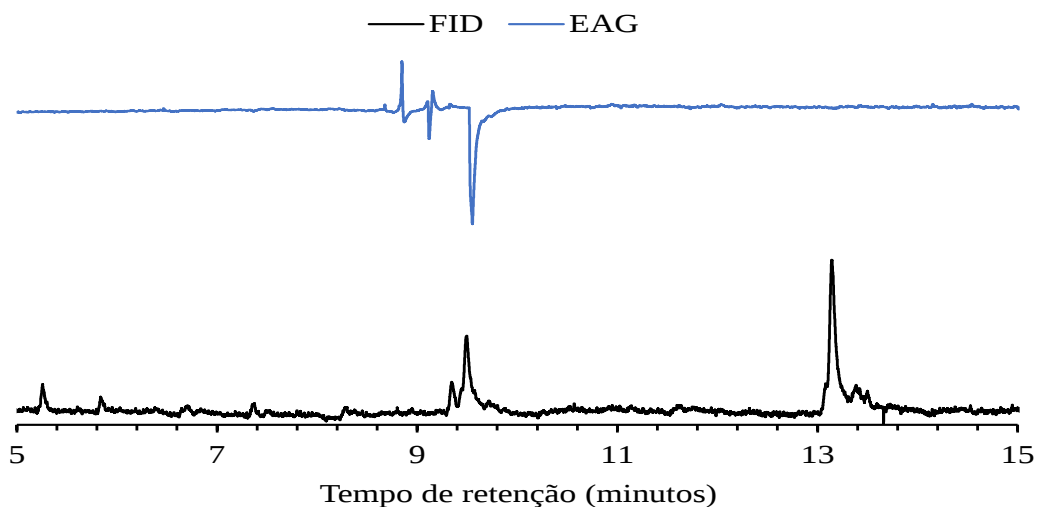
Fonte: Autora (2023).

Desse modo, com base na premissa de que compostos orgânicos voláteis emitidos pelo hospedeiro são fundamentais no comportamento de forrageamento e escolha da oviposição de parasitoides (VET e DICKE, 1992), podemos inferir que o parasitoide *P. elaeisis* utiliza tais compostos em sua busca e forrageamento por *T. arnobia*, à longa e à curta distância, ao responder significativamente para extratos de pupas em aeração e aos extratos cuticulares, respectivamente.

3.3 Análise de Eletroantenografia acoplada à Cromatografia Gasosa (CG-EAG)

Na análise de eletroantenografia acoplada à cromatografia gasosa com antena de fêmea de *P. elaeisis* frente a extrato de aeração de pupas de fêmeas de *T. arnobia*, foi observada resposta correspondente para o composto voláteis de IR=1092 (Figura 7).

Figura 7. Eletroantenografia do extrato de aeração de pupas de fêmeas de *Thyriniteina arnobia* com resposta do parasitoide *Palmistichus elaeisis* para o composto com índice de Kovats 1092.



Fonte: Autora (2023).

Observa-se, porém, que apesar de haver um pico majoritário de IR=1277 no extrato de aeração de pupas fêmeas de *T. arnobia* (Figura 1), as respostas eletroantenográficas das antenas de fêmeas de *P. elaeisis* foram significativas para compostos de concentrações minoritárias no extrato. Segundo Qadir et al. (2021), as respostas eletroanetnográficas em antenas de insetos não ocorrem necessariamente de forma dependente à concentração dos compostos indicados em perfis cromatográficos, corroborando com os resultados obtidos no presente trabalho e ratificando a importância de estudos mais sensíveis que investiguem o papel bioativo dessas substâncias.

Segundo Thomazini (2009), a eletroantenografia permite aos pesquisadores identificar se os compostos presentes nos extratos geram ou não respostas eletrofisiológicas, e se existe uma resposta, provavelmente, terá algum papel no comportamento de um determinado organismo, incluindo os parasitoides de pupas.

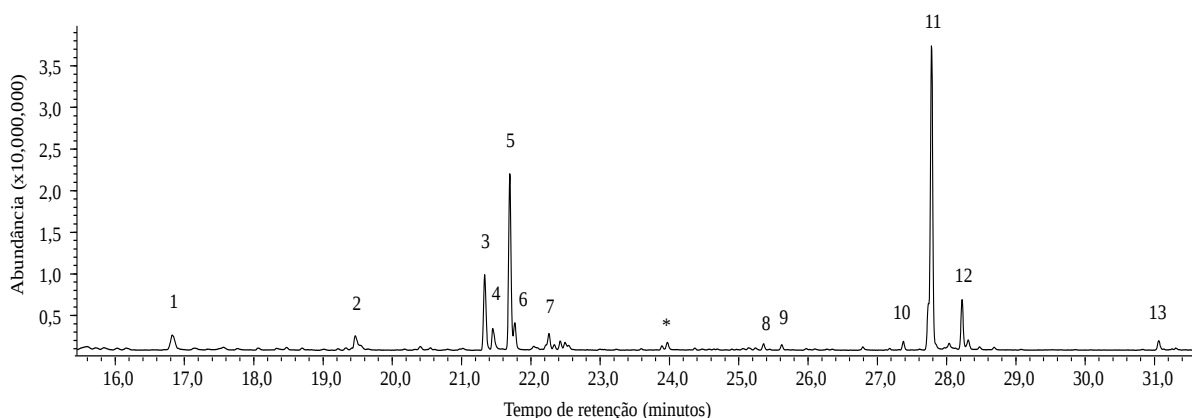
A partir desses resultados, associados aos resultados obtidos nos bioensaios de olfatometria, que determinaram a atração de *P. elaeisis* pelo extrato utilizado em CG-EAG, podemos indicar que o parasitoide utiliza os compostos associados ao IR 1092 presente no extrato emitido por pupas fêmeas de *T. arnobia* em seu comportamento de forrageamento.

Dentre os compostos sugeridos como bioativos para *P. elaeisis*, o alceno 1- Undecene, é considerado um metabolito que pode servir como moléculas de defesa ou sinalização (HMDB, 2023).

3.4 Identificação dos compostos bioativos via Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM)

Para se obter uma identificação mais precisa dos possíveis compostos em CG-FID que foram bioativos na eletroantenografia, o extrato de aeração de pupas de fêmeas de *T. arnobia* foi analisado em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), onde foi possível observar 13 compostos orgânicos voláteis de acordo com o cromatograma (Figura 8) e suas respectivas indicações na Tabela 1.

Figura 8. Cromatograma do extrato de aeração de pupas de fêmeas em cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas. *Compostos presentes na análise do solvente (hexano).



Fonte: Autora (2023).

Tabela 1. Indicação dos compostos através da análise em cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS). Número do composto no cromatograma (N°); Tempo de retenção (TR); Índice de Retenção (IR); Porcentagem de semelhança com biblioteca (%).

N°	TR	IR	%	Indicação
1	16,822	971	90	Trissulfeto de metila
2	19,466	1033	93	Metil 2-piridil cetona
3	21,332	1081	90	4-Hexen-1-ol, acetato
4	21,451	1084	94	2,3,5,6-Tetrametilpirazina
5	21,696	1090	96	2-Nonanona
6	21,766	1092	94	1-Undeceno
7	22,261	1106	96	Éster 3-metilbutílico
8	25,356	1197	93	Isobutirato de fenila
9	25,618	1206	95	Decanal
10	27,375	1264	92	3,4-Dimetilacetofenona
11	27,782	1277	87	acetato de trans-octa-2,4-dienila
12	28,223	1292	90	2-Undecanona
13	31,061	1393	88	Ácido hexadecanóico, éster etílico

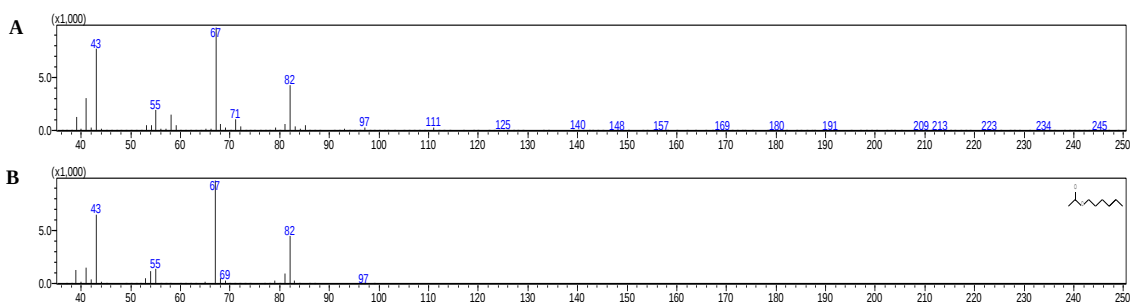
Fonte: Autora (2023).

Em relação aos compostos orgânicos voláteis em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), foram observadas respostas mais sensíveis para os índices de retenção correspondentes no bioensaio de eletroantenografia (CG-EAG) (IR=1092), separando-os em quatro compostos, entre os índices de retenção 1081 a 1092, sendo eles os indicados: 4-Hexen-1-ol, acetato; 2,3,5,6-Tetrametilpirazina; 2-Nonanona e 1-Undeceno.

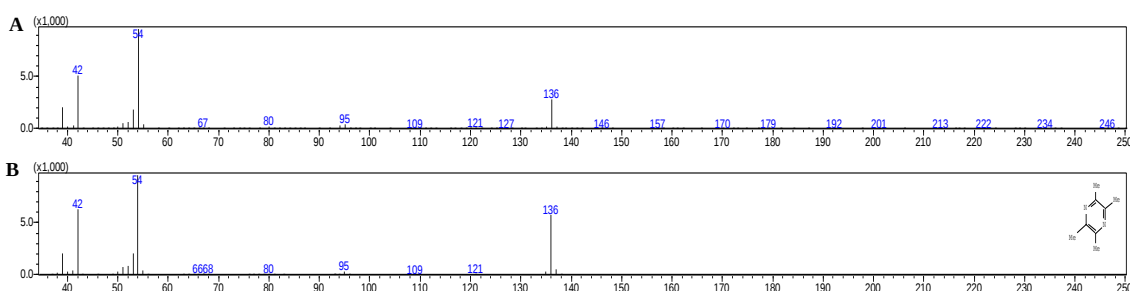
A proposta de identificação dos compostos bioativos do extrato de pupas de fêmeas de *T. arnobia* foi obtida a partir da análise do perfil de fragmentação dos espectros de massas (Figura 9) e através da determinação dos índices de retenção calculados, para fins de comparação com dados da literatura.

Figura 9. Espectros de massas dos quatro compostos presentes no extrato que obtiveram bioatividade em CG-EAG. Análise em coluna ZB-5MS. Composição da Legenda: Número do composto – Índice de retenção – Composto indicado – Porcentagem de semelhança com biblioteca. (A) Espectro da Amostra; (B) Espectro do padrão da biblioteca.

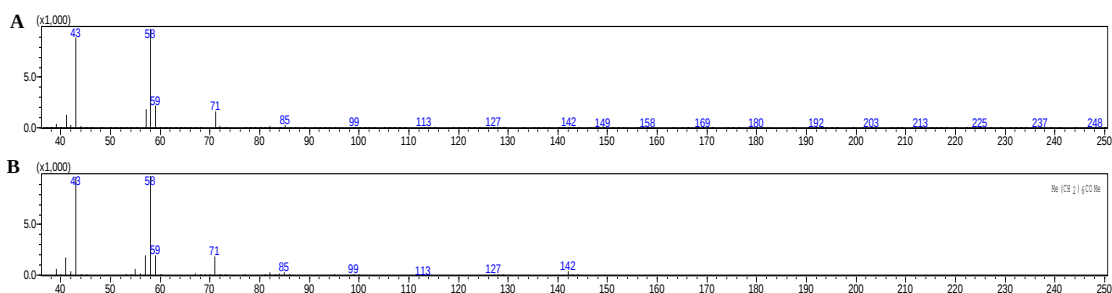
3 – 1081 - 4-Hexen-1-ol, acetate – 90%



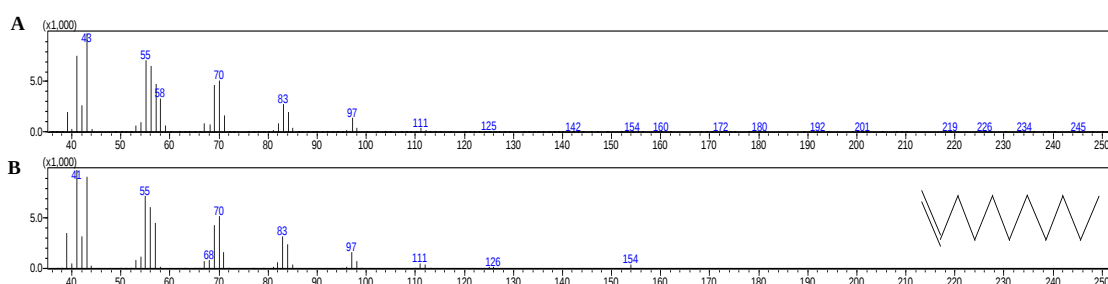
4 – 1084 - 2,3,5,6-Tetramethylpyrazine – 94%



5 – 1090 - 2-Nonanone – 96%



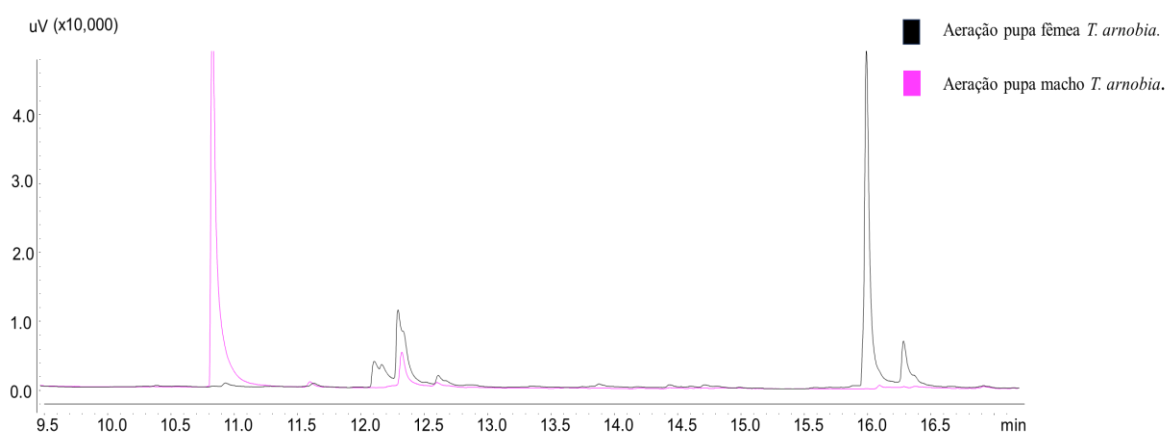
6 – 1092 - 1-Undecene – 94%



Fonte: Autora (2023).

Para uma análise mais acurada de qual composto químico se faz mais presente, fez-se necessário analisar em cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-MS) o extrato de aeração de pupas de machos, visto que, analisando em cromatografia gasosa acoplada a detector por ionização de chama (CG-FID) há picos que se igualam ao extrato de aeração de pupas macho e fêmeas, com índice de retenção de número 1106, como pode ser observado na figura 10.

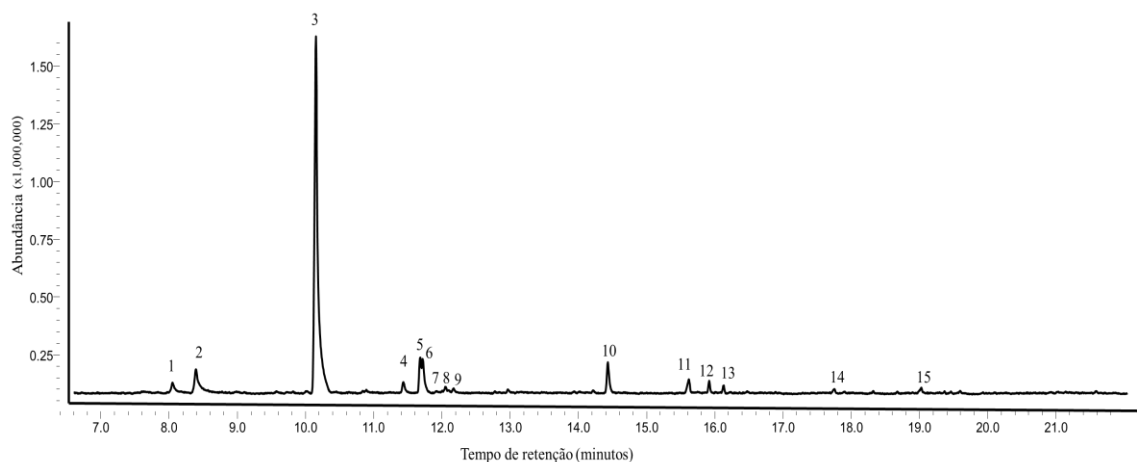
Figura 10. Cromatograma comparando extrato de aeração de pupas de machos e fêmeas de *Thyrinteina arnobia*.



Fonte: Autora (2023).

O extrato de aeração de pupas de machos de *T. arnobia* foi analisado em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), sendo possível observar 15 compostos orgânicos voláteis de acordo com o cromatograma (Figura 11).

Figura 11. Cromatograma do extrato de aeração de pupas machos em cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas.



Fonte: Autora (2023).

Na tabela 2, é possível observar as indicações propostas pela biblioteca do programa de cromatografia acoplada a cromatografia gasosa de massas, ao comparar com a tabela 1, em indicações do extrato de pupas fêmeas, os compostos 2-Nonanona e 4-Hexen-1-ol acetato aparecem em comum nas amostras, podendo inferir que em relação as indicações de atratividade de *P. elaeisis* a seu hospedeiro, estes compostos podem-se ter mais chances de serem bioativos, sendo necessário testes para sua confirmação.

Tabela 2. Indicação dos compostos através da análise em cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS). Número do composto no cromatograma (N°); Tempo de retenção (TR); Porcentagem de semelhança com biblioteca (%).

N°	TR	%	Indicação
1	7,843	96	2-Etilhexanal
2	8,186	96	Trissulfeto de dimetila
3	9,945	98	2-etil-1-hexanol
4	11,228	90	4-Hexen-1-ol, acetato
5	11,474	93	2-Nonanona
6	11,512	91	Ciclooctano, 1,4-dimetil-, cis-
7	11,700	72	Nonano, 3-metil-5-propil-
8	11,842	93	Ácido butanóico, éster 3-metil-, 3-metilbutílico

9	11,964	75	Ácido acético, éster heptílico
10	14,225	94	Tetrassulfeto, dimetil
11	15,412	86	1-Norbornanemetanol, acetato
12	15,710	86	2-Undecanona
13	15,923	91	Ciclohexasiloxano, dodecametil-
14	17,545	84	Ácido docosanóico, éster etílico
15	18,819	87	3-Isopropoxi-1,1,1,7,7,7-hexametil-3,5,5-tris(trimetilsiloxi)tetrassiloxano

Fonte: Autora (2023).

Já é citado em literatura que voláteis de plantas, além dos voláteis emitidos pelo próprio hospedeiro, são essenciais para o sucesso de busca e forrageamento de inimigos naturais, expandindo a sua habilidade em encontrar seus hospedeiros. Estes voláteis de plantas, na maioria das vezes, são uma mistura de aldeídos, álcoois e seus acetatos, com monoterpenos, sesquiterpenos e compostos aromáticos. A emissão destes compostos voláteis pode aumentar em resposta ao ataque de herbívoros, de modo a serem detectados e reconhecidos por inimigos naturais, configurando interações tri-tróficas (VET; DICKE, 1992; DICKE; van LOON, 2000; WENKE; KAI; PIECHULLA, 2010; RODRIGUEZ; BOS, 2012).

Alguns destes voláteis foram encontrados entre os compostos bioativos para *P. elaeisis* em eletroantografia no extrato de aeração de pupas fêmeas de *T. arnobia*, a exemplo do 4-Hexen-1-ol, acetato, isso pode se dar ao fato de que os insetos, incluindo *T. arnobia*, durante seu processo de alimentação, podem sequestrar compostos químicos dos hospedeiros, utilizando-os como mecanismos de defesa contra a ação de inimigos naturais.

Em relação ao composto indicado como 2,3,5,6-Tetrametilpirazina, a literatura o indica como um dos componentes do feromônio da espécie *Bactrocera cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae) (PHEROBASE, 2023). Além disso, esse composto está enquadrado na classe de uma amina livre, que possui papel crucial no mecanismo de defesa das plantas contra patógenos e de resistência aos insetos, nos processos de crescimento e desenvolvimento de plantas e como agentes antioxidantes (GLÓRIA & VIEIRA, 2007; SILVEIRA 2008).

Dentre os compostos indicados em extratos de aeração de pupas machos e fêmeas, o 2-Nonanona, são pertencentes à classe de compostos orgânicos conhecidos como cetonas. As cetonas estão envolvidas nos lipídios encontrados na cutícula do hospedeiro, nesse caso encontrados nas pupas de *T. arnobia*, que de certa forma protegem o inseto de dessecação (KHACHATOURIANS, 1996; WÖSTEN, 2001).

Os parasitoides também respondem a voláteis emitidos por seus hospedeiros (PRICE et al., 2011). Estes voláteis podem atuar como caioromônios, ou seja, apenas irão favorecer o receptor, e podem ser obtidos através de fezes, secreções glandulares, escamas, feromônios e etc (VET; DICKE, 1992). Nesse caso, pela busca do banco de dados Pherobase (2023), já se há

registros do composto 2-Nonanona atuando como cairomônios em espécies como o besouro *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) e a mosca *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae). Fator importante a ser considerado nessa pesquisa que envolve interação entre parasitoide- hospedeiro.

Em relação ao composto 1 – Undeceno que se inclui na classe dos alcenos, é notável a escassez de relatos na literatura desse composto sendo produzido por insetos da ordem Lepidoptera, contudo, foi identificado por Gonçalves (2005) o alceno 1-Octeno em extratos de aeração dos machos de mosca-das-frutas, *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae), em chamamento, indicando a participação dessa substância como composto feromonal.

De forma geral, a partir dos resultados obtidos em eletroantenografia acoplada a cromatografia gasosa (CG-EAG) e comportamentais na olfatometria em “y” indicaram a bioatividade de compostos de pupas de fêmeas e machos de *T. arnobia* para *P. elaeisis*, em processos de busca e forrageamento.

Para maior entendimento da ecologia química envolvendo *P. elaeisis* e *T. arnobia*, são necessários bioensaios com os quatro compostos bioativos sintéticos sugeridos em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) no presente estudo, com a finalidade de identificar possíveis estímulos e incremento de parasitismo, com aplicações práticas no Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP Floresta).

4. CONCLUSÕES

Os compostos encontrados em pupas de *T. arnobia*, indicados como 4-Hexen-1-ol, acetato; 2,3,5,6-Tetrametilpirazina; 2-Nonanona e 1-Undeceno estão envolvidos em processos de atração do parasitoide *P. elaeisis*.

REFERÊNCIAS

- ANJOS, N.; SANTOS, G.P.; ZANÚNCIO, J.C. **A lagarta parda, *Thyriniteina arnobia* Stoll, 1782 (Lepidoptera: Geometridae) desfolhadora de eucaliptos.** Boletim técnico. EPAMIG, n. 25, p. 1-56, 1987.
- AVILA, R. C.; ALMEIDA, L. H; LEITE, J. P; SOUSA, T. T. C; MENEZES, F. S. R; GRAEL, C. F. F; SIMÕES, V; GONÇALVES, J. F; MARINO, L. L; MARQUES, A; LAIA, M. L. **Compostos presentes em óleo essencial de folhas de eucalipto podem ter relação com a resistência/suscetibilidade ao percevejo bronzeado (*Thaumastocoris peregrinus*).** Scientia Forestalis, 50, e3912, 2012.
- BARRETO, M. R.; MOJENA, P. A. **La Aparición de *Thyriniteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae) de Eucalyptus y su Depredación por *Zelus armillatus* (Lepeletier y Serville) (Reduviidae: Harpactorinae).** EntomoBrasilis, 7 (1): 69-71, 2007.
- BATISTA-PEREIRA, L.G; FERNANDES, J.B; CORRÊA, A.G; DA SILVA, M.F.G.F; VIEIRA, P.C. **Electrophysiological responses of eucalyptus brown looper *Thyriniteina arnobia* to essential oils of seven Eucalyptus species.** J. Braz. Chem. Soc. 17:555-561, 2006.
- CAMARGO, S. B; VASCONCELOS, D. F. S. A. **Atividades biológicas de linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpeno.** Rev. Ciênc. Méd. Biol., Salvador, v. 13, n. 3 – especial, p. 381-387, set./dez. 2014.
- DICKE, M., J. J. A. VAN LOON. **Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context.** Entomologia Experimentalis Et Applicata 97:237–249, 2000.
- GLÓRIA, M.B.A.; VIEIRA, S.M. **Technological and toxicological significance of bioactive amines in grapes and wines.** Food, v.1, p. 258-270, 2007.
- GONÇALVES, G.B. **Identificação de constituintes voláteis das glândulas salivares de machos de *Ceratitis capitata* e *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) e de seu hospedeiro *Averrhoa carambola* L.** Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2005.
- HOLTZ, A. M.; OLIVEIRA, H. G.; PALLINI, A.; VENZON, M.; ZANUNCIO, J. C.; OLIVEIRA, C. L.; MARINHO, J. S.; ROSADO, M. C. **Desempenho de *Thyriniteina arnobia***

Stoll (Lepidoptera: Geometridae) em Eucalipto e Goiaba: o Hospedeiro Nativo Não é Um Bom Hospedeiro? Neotropical Entomology, Londrina - PR, v. 32, n.3, p. 427-431, 2003.

KHACHATOURIANS, G. G. **Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. In: Human and animal relationships.** Springer, Berlin, Heidelberg, 331p, 1996.

LEWIS, W. J., MARTIN, W. R. **Semiochemicals for use with parasitoids: status and future.** Journal of Chemical Ecology. 16: 306-309, 1990.

MORAES, G. J.; MACEDO, N. **As principais pragas ocorridas em povoamentos de eucaliptos.** Boletim informativo IPEF, v. 3, n. 10, p. 34-8, 1975.

MORAES, M. C. B.; LAUMANN, R. A.; PAREJA, M. F.; Pires, D.P.; CAVALCANTE, C.; VIEIRA, H. G.; BORGES, M. **Eletroantenografia-a antena do inseto como um biosensor.** (Circular Técnica). Brasília: Embrapa, 2008.

MORAIS, R. K. S. **Síntese do feromônio do Bicudo-do Algodoeiro.** Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2017.

NAIME, J. M.; MORAES, M. C. B.; LAUMANN, R. A.; BORGES, M. **Eletroantenograma para estudo comportamental de insetos.** São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2006 (Comunicado Técnico).

PEREIRA F. F., ZANUNCIO T. V., ZANUNCIO J. C., PRATISSOLI D., TAVARES M. T. **Species of Lepidoptera defoliators of eucalypt as new hosts for the polyphagous parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae).** Brazilian Archives of Biology and Technology, 51: 259-262. 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132008000200004>.

POWELL, W. A.; PICKETT, J. A. **Manipulation of parasitoids for aphid pest management: progress and prospects.** Pest Management Science. 59: 149-155, 2003.

PRICE, P. W.; DENNO, R. F.; EUBANKS, M. D.; FINKE, D. L.; KAPLAN, I. **Insect ecology: behavior, populations and communities.** Cambridge: Cambridge University. 884 p, 2011;

QADIR, I. et al. **Cuticular hydrocarbons C14-C36 are potential contact pheromonal elements modulating some behaviors in *Zygogramma bicolorata* (Coleoptera: Chrysomelidae).** Biologia, v. 76, p. 123-132, mai., 2021. DOI 10.2478/s11756-020-00515-w

RODRIGUEZ, P. A., J. I. B. BOS. **Toward understanding the role of aphid effectors in plant infestation.** *Molecular Plant-Microbe Interactions* 26:25–30, 2012.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User's guide, version 9.0, TS level 2MO.** SAS Institute Inc., Cary, NC. 2011.

SILVEIRA, T.M.L. **Aminas bioativas livres e conjugadas no café solúvel: metodologia de análise e influência do processamento.** Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da UFMG. 179 p. (Tese, Doutorado em Ciência de Alimentos), 2008.

The Human Metabolome Database (HMDB). Disponível em: <https://hmdb.ca/>. Acesso em: 15 de junho de 2023.

The Pherobase: Database of Pheromones and Semiochemicals. Disponível em: <https://www.pherobase.com>, Acesso em: 07 de Junho de 2023.

THOMAZINI, M. J. **A Comunicação Química entre os Insetos: Obtenção e Utilização de Feromônios no Manejo de Pragas.** In: Rivadalve Coelho Gonçalves; Luís Cláudio de Oliveira. (Org.). Embrapa Acre: ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável do sudoeste da Amazônia. 1ed.Rio Branco: Embrapa Acre, v., p.339-354, 2009.

VET, L. E. M.; DICKE, M. **Ecology of infochemical use by natural enemies in a tri- trophic context.** *Annual Review of Entomology*. 47: 141-172, 1992.

VINSON, S. B. **The general host selection behaviour of parasitoid Hymenoptera and a Biological Control.** comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. 11: 79-96, 1998.

WENKE, K., M. KAI, B. PIECHULLA. **Belowground volatiles facilitate interactions between plant roots and soil organisms.** *Planta* 231:499–506, 2010.

WÖSTEN, H. A. B. **Hydrophobins: multipurpose proteins.** *Annual Reviews in Microbiology*, v. 55, n. 1, p. 625-646, 2001.

ZARBIN, P. H. G.; FERREIRA, J. T. B.; LEAL, W. S. **Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônios de insetos.** *Química Nova*, Brasil, v. 22, n.2, p. 263-268, 1999.

CAPÍTULO III- ESTUDO DE SENSILAS EM *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)

RESUMO

Palmistichus elaeisis Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) se destaca por ser um endoparasitoide de pupas generalista e com alto potencial para o controle biológico de lepidópteros na eucaliptocultura. A eficiência reprodutiva dos parasitoides é relativo à sua capacidade de busca de parceiros para cópula e localização de hospedeiros para oviposição. E nesse processo, os semioquímicos entram como fator principal, e esta percepção dos semioquímicos nos insetos ocorrem em áreas especializadas denominada como sensila, que se encontram nas antenas de parasitoides. As sensilas, são órgãos sensoriais que pode ter forma de pelos, botões, fossetas ou cones, e atuam como quimiorreceptores, mecanorreceptores, termorreceptores e higrorreceptores. Estas sensilas possuem funções específicas importantes nos parasitoides a exemplo da seleção, localização e aceitação de um hospedeiro. As sensilas antenais de parasitoides são caracterizadas por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (M.E.V). Sendo assim, o conhecimento das identificações de sensilas do *P. elaeisis* pode ajudar na melhor compreensão comportamental em sua busca hospedeira, sendo um fator importante para desenvolvimento do controle biológico em povoamentos florestais. Com isso, o objetivo do trabalho é fornecer a primeira caracterização ultraestutural das sensilas antenais de machos e fêmeas do parasitoide *P. elaeisis*. Para isso, foram utilizadas 20 antenas de indivíduos adultos de *P. elaeisis*, 10 de machos e 10 de fêmeas. As antenas foram analisadas usando um microscópio eletrônico de varredura a (INCAx-act SN:63149/ Modelo 51-ADD0007) obtendo as imagens a 20 kV. As sensilas foram medidas através do programa Pixel Pro e a identificação das sensilas observadas nas análises foram realizadas por meio de comparação com as descrições na literatura sobre sensilas de insetos, principalmente para Ordem Hymenoptera e família Eulophidae. Antenas de fêmeas e machos de *P. elaeisis* apresentam um dimorfismo morfológico antenal. As antenas de fêmeas e machos de *P. elaeisis* são caracterizadas com a presença de três subtipos de sensilas tricoides, dois subtipos de sensilas basicônicas e sensilas placoides. Apenas os machos possuem sensilas estilocônicas. No geral, este estudo fornece as primeiras informações básicas que poderá ajudar na compreensão da resposta comportamental do parasitoide aos semioquímicos utilizados na busca hospedeira.

Palavras- chave: Parasitoide; eucaliptocultura; controle biológico; dimorfismo antenal; microscopia eletrônica de varredura.

CHAPTER III- STUDY OF SENSILLA IN *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)

ABSTRACT

Palmistichus elaeisis Delvare and LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) stands out for being a generalist pupal endoparasitoid with high potential for the biological control of lepidoptera in eucalyptus crop. The reproductive efficiency of parasitoids is related to their ability to search for mates for copulation and locate hosts for oviposition. And in this process, semiochemicals come in as the main factor, and this perception of semiochemicals in insects occurs in specialized areas called sensilla, which are found in the antennae of parasitoids. Sensilla are sensory organs that can be shaped like hairs, buttons, pits or cones, and act as chemoreceptors, mechanoreceptors, thermoreceptors and hygroreceptors. These sensilla have specific important functions in parasitoids, such as the selection, localization and acceptance of a host. The antennal sensilla of parasitoids are characterized by scanning electron microscopy (SEM). Thus, the knowledge of *P. elaeisis* sensilla identifications can help in a better behavioral understanding in its host search, being an important factor for the development of biological control in forest stands. Thus, the objective of this work is to provide the first ultrastructural characterization of the antennal sensilla of males and females of the parasitoid *P. elaeisis*. For this, 20 antennae of adult individuals of *P. elaeisis*, 10 of males and 10 of females were used. The antennae were analyzed using a scanning electron microscope (INCAx-act SN:63149/Model 51-ADD0007) obtaining the images at 20 kV. The sensilla were measured using the Pixel Pro program and the identification of the sensilla observed in the analyses was performed by comparison with the descriptions in the literature about insect sensilla, mainly for Order Hymenoptera and family Eulophidae. Antennae of females and males of *P. elaeisis* exhibit an antennal morphological dimorphism. The antennae of females and males of *P. elaeisis* are characterized by the presence of three subtypes of trichoid sensilla, two subtypes of basiconic sensilla and placoid sensilla. Only males possess styloconic sensillae. Overall, this study provides the first basic information that may help in understanding the behavioral response of the parasitoid to the semiochemicals used in the search for a host.

Keywords: Parasitoid; eucalyptus crop; biological control; antennal dimorphism; scanning electron microscopy.

1. INTRODUÇÃO

Em destaque para ordem Hymenoptera, a família Eulophidae compreende entre 297 gêneros e aproximadamente 4.472 espécies em todo o mundo (PEREIRA et al., 2010). Dentre as espécies, o *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) se destaca por ser um endoparasitoide de pupas generalista e com alto potencial para o controle biológico de lepidópteros na eucaliptocultura (PEREIRA et al., 2009).

Este parasitoide já foi registrado no Brasil nos hospedeiros *Eupelesopterus involuta* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Euselasia eucerus* (Lepidoptera: Riodinidae), *Sabulodes* sp. (Lepidoptera: Geometridae), *Thyriniteina arnobia* (Stoll) e *Thyriniteina leucoceraea* (Rindge) (Lepidoptera: Geometridae) (Lepidoptera: Geometridae) (PEREIRA et al. 2009), além de pupas de coleópteros como *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Tenebrionidae) (PEREIRA et al., 2008). Atualmente, sua produção massal e posterior liberação em campo já é realidade em vários estados do Brasil produtores de eucalipto.

A eficiência reprodutiva dos parasitoides é relativo à sua capacidade de busca de parceiros para cópula e localização de hospedeiros para oviposição. E nesse processo, os semioquímicos entram como fator principal, e esta percepção dos semioquímicos nos insetos ocorrem em áreas especializadas denominadas sensilas, que se encontram nas antenas de parasitoides (VINSON et al. 1986; ISIDORO et al. 1996).

As sensilas, são órgãos sensoriais que pode ter forma de pelos, botões, fossetas ou cones, e atuam como quimiorreceptores, mecanorreceptores, termorreceptores e higrorreceptores. Cada sensila, tem de dois a múltiplos subtipos que divergem, de acordo com sua sensibilidade e sintonia, a diferentes substâncias químicas de comunicação (LIU et al, 2019; SILVA et al., 2019). Estas sensilas possuem funções específicas importantes nos parasitoides a exemplo da seleção, localização e aceitação de um hospedeiro (KEIL, 1997; ZHANG et al., 2014).

As sensilas antenais de parasitoides são caracterizadas por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (M.E.V), sua alta resolução possibilita que as imagens sejam estereoscópicas e bem enfocadas, auxiliando na busca de respostas confiáveis para a caracterização microestrutural das amostras (AZEVEDO FILHO et al., 2008).

De acordo com Onagbola et. al (2009) alguns autores relataram considerável dimorfismo sexual na estrutura e nos tipos de sensilas antenais de himenópteros, enquanto

outros relataram pouca ou nenhuma diferença sexual distinta. Para a espécie *P. elaeisis*, o estudo morfológico estrutural de sensilas antenais ainda não está disponível na literatura.

Sendo assim, o conhecimento das identificações de sensilas do *P. elaeisis* pode ajudar na melhor compreensão comportamental em sua busca hospedeira, sendo um fator importante para desenvolvimento do controle biológico em povoamentos florestais. Com isso, o objetivo do trabalho é fornecer a primeira caracterização ultraestrutural das sensilas antenais de machos e fêmeas do parasitoide.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de realização da pesquisa

O estudo foi conduzido no Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal (LEAF) do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA), no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB), na Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e no Laboratório de Análise Instrumental do Departamento de Química do Instituto Federal de Alagoas (IFAL), Campus Maceió.

2.2 Obtenção do parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae)

Os parasitoides foram fornecidos pelo Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), em Botucatu. Os insetos vieram através de pupas parasitadas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) e após emergência foram mantidos em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de comprimento) vedados com tecido tipo “voil” e alimentados com mel puro, até a realização dos experimentos.

2.3 Preparação da antena para Microscopia Eletrônica de Varredura

Para a preparação das antenas para microscopia, foram utilizadas 20 antenas de indivíduos adultos de *P. elaeisis*, 10 de machos e 10 de fêmeas. As antenas foram retiradas com o auxílio de micro-tesoura de Jacobson e fixadas em solução de glutaraldeído a 2% em tampão fosfato (0,1 M PH 7) por 2 minutos, em seguida, foram desidratadas sendo imersas numa série de soluções de etanol diluído em água destilada com gradiente de 50%, 70%, 80%, 90% e 99%

por 30 segundos em cada solução, e logo após, as antenas foram acondicionadas em um tubo de ensaio de plástico contendo etanol P.A.

2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das antenas de *P. elaeisis*

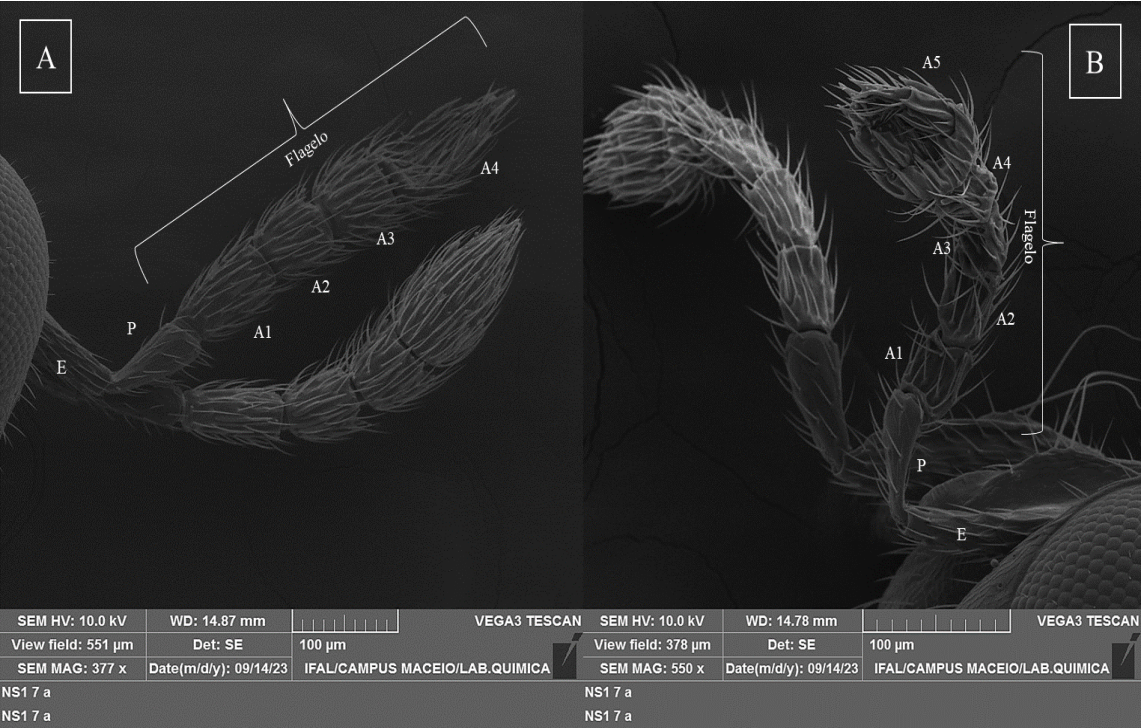
Para análise, as antenas foram postas sob uma superfície de papel sulfite para retirada do excesso de etanol, posteriormente, as antenas foram fixadas separadamente por sexo, com auxílio de pinças em base de metal sobre fita dupla face adesiva elétrica de sulfito de carbono, em seguida, a amostra recebeu um banho metálico em metalizador (Q150R ES, Quoron®) com revestimento de ouro a 45 mV, durante 20 minutos. As antenas foram analisadas usando um microscópio eletrônico de varredura a (INCAx-act SN:63149/ Modelo 51-ADD0007) obtendo as imagens a 20 kV. As sensilas foram medidas através do programa Pixel Pro e a identificação das sensilas observadas nas análises foram realizadas por meio de comparação com as descrições na literatura sobre sensilas de insetos, principalmente para Ordem Hymenoptera e família Eulophidae.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ultraestrutura da antena e tipos de sensilas de *P. elaeisis*

No geral, em Insecta, a antena é dividida em três segmentos principais: o escapo, o pedicelo e o flagelo. O escapo e o pedicelo são os dois primeiros segmentos. O escapo é responsável por ligar a antena à cabeça do inseto, sendo maior quando comparado ao pedicelo. O flagelo é o terceiro e último segmento sendo constituído por muitos subsegmentos denominados de antenômeros (GULLAN & CRANSTON, 2007). Assim, foi possível observar algumas diferenças estruturais significativas na morfologia das antenas de machos e fêmeas de *P. elaeisis*. As antenas foram localizadas frontalmente na cabeça entre os olhos compostos e são antenas do tipo geniculadas, ou seja, possuem como característica principal o escapo longo e o pedicelo e o flagelo dobram-se formando um ângulo, dando-lhe aspecto de um joelho. Em machos e fêmeas é notável na microscopia o aparecimento do escapo, pedicelo e flagelo divididos em antenômeros, sendo este possuindo números diferenciados entre os sexos, a fêmea possui quatro antenômeros (Figura 1A) enquanto o macho possui cinco antenômeros (Figura 1B).

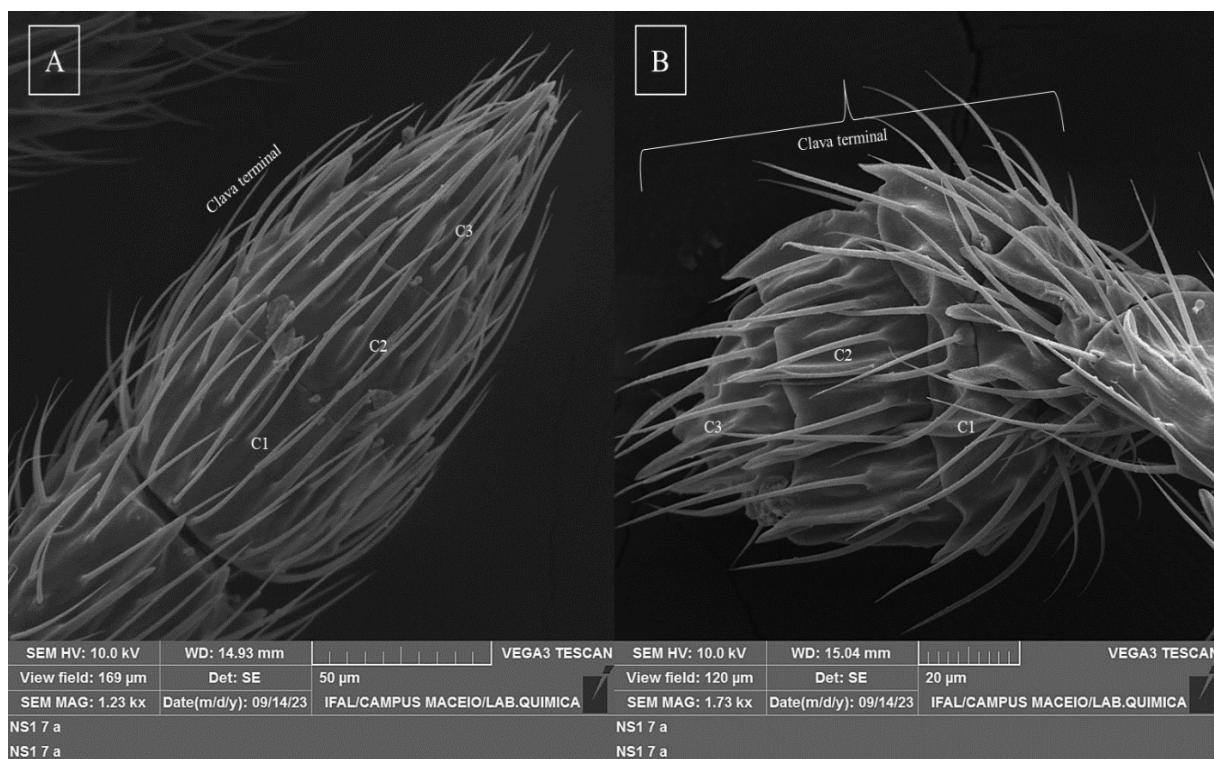
Figura 1. Segmentos e dimorfismo antenal em *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) com E: escapo, P: pedicelo e Flagelo. Antenas de fêmea ♀ do tipo geniculada com A1; A2; A3 e A4: Antenômeros (A). Antenas de macho ♂ do tipo geniculada com A1; A2; A3; A4 e A5: Antenômeros (B).



Fonte: Autora (2023).

Além disso, em imagem mais ampliada, é perceptível o dimorfismo antenal no último antenômero, denominado de clava terminal, com três segmentos (C1, C2 e C3). É observado morfológicamente que em fêmeas, a clava terminal é mais pontiaguda na extremidade (Figura 2A) enquanto que a do macho é mais arredondada (Figura 2B).

Figura 2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da clava terminal (C1, C2 e C3) em *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) com clava terminal de fêmea ♀ (A). Clava terminal de macho ♂ (B).



Fonte: Autora (2023).

Os himenopteros em seu aspecto geral podem possuir antenas geniculadas, possuem um longo escapo, uma radícula basal, um pedicelo e um longo flagelo que se separa em um funículo com pequenos segmentos denominados antenômeros finalizando com uma clava. Neste trabalho, foi possível observar as mesmas características citadas.

Essa variação de tamanho de antena é observada em alguns trabalhos relacionados aos estudos morfológicos antenais de vespas da família Eulophidae, a exemplo de Silva et. al (2016) que analisou as antenas em microscopia eletrônica de varredura (MEV) do endoparasitoide *Trichospilus pupivorus* (Ferriere, 1930) (Hymenoptera: Eulophidae) e confirmou diferenças no tamanho das antenas, na qual, antenas de *T. pupivorus* eram mais longas em fêmeas ($473 \pm 6,39 \mu\text{m}$) do que nos machos ($338 \pm 6,26 \mu\text{m}$). Além disso o tamanho da clava terminal e dos antenômeros também foi maior nas fêmeas.

Corroborando com o trabalho, em *Rhopalicus tutela* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) e *Cotesia glomerata* (Marshall) (Hymenoptera: Braconidae), foi observado que as antenas nos machos eram mais longas do que nas fêmeas (PETTERSSON et al., 2001; BLEEKER et al., 2004).

Em relação ao número de antenômeros, os classificadores de *P. elaeisis* confirmam e relatam que há maior quantidade de subsegmentos nos machos do que nas fêmeas (DELVARE & LASALLE, 1993), o trabalho também corroborou com *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) com a maior quantidade de antenômeros em parasitoides machos (ONAGBOLA et al., 2009).

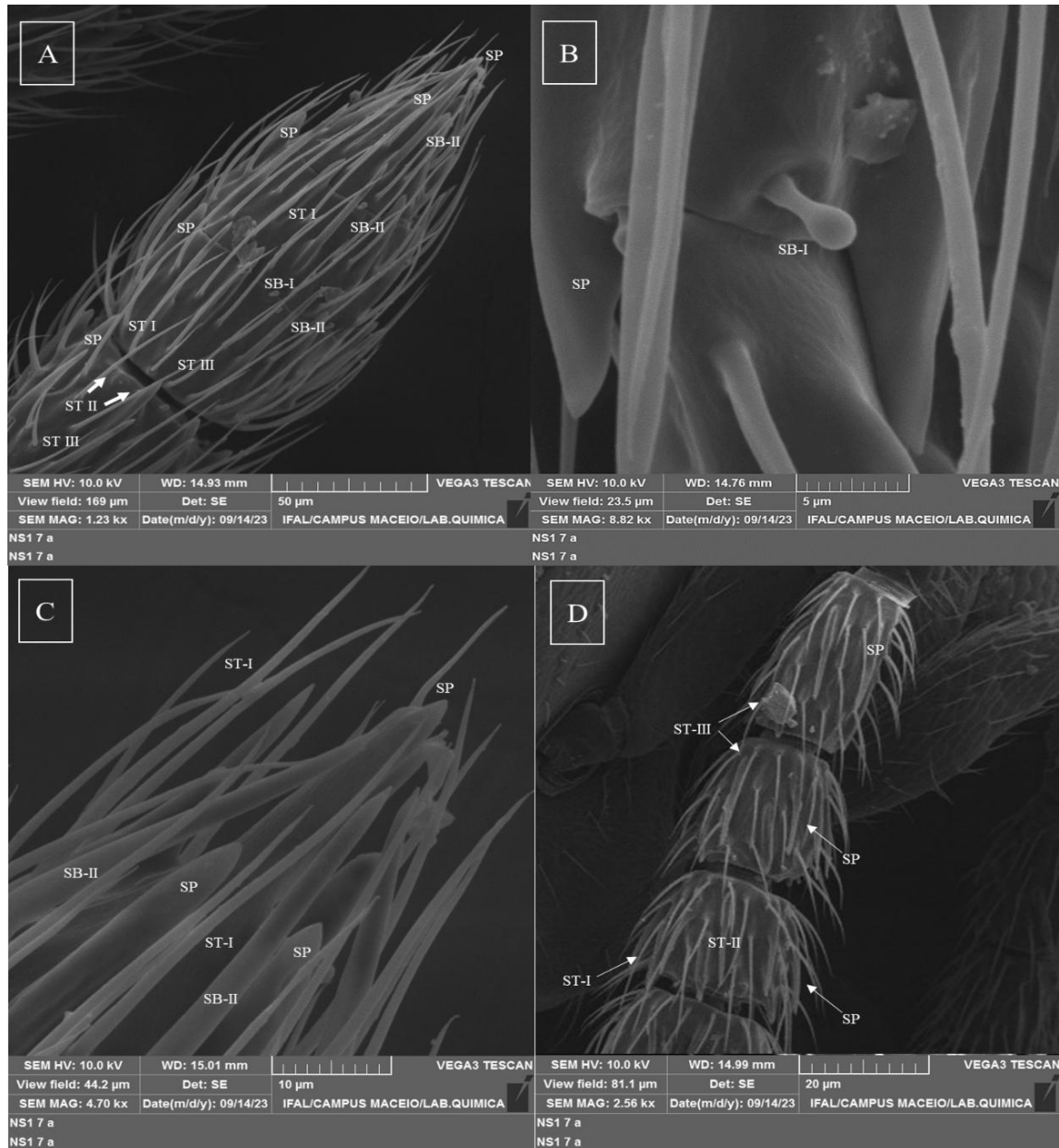
A função deste dimorfismo não é bastante clara na literatura, mas Delvare & Lasalle (1993), afirmam que pode estar relacionado à complexidade funcional das antenas, a exemplo do tamanho do segmento funicular em *P. elaeisis* coletados em diferentes países da América do Sul, inferindo que o tamanho de antenas pode variar de acordo com a localização geográfica em populações da mesma espécie, o que pode mostrar que o tamanho da antena pode estar diretamente ligado ao número e tamanho das sensilas para aumentar sua capacidade receptora.

No total, quatro tipos de sensilas foram observadas nas antenas de fêmeas e machos de *P. elaeisis*, caracterizadas em: (i) tricoide (ST); (ii) placóide (SP); (iii) basicônica (SB) e (iv) estilocônica (SEst). As sensilas basicônicas e tricoides foram divididas em subtipos. Os subtipos das sensilas tricoides foram classificados como longo (I), médio (II) e curto (III), considerando os comprimentos de cada estrutura sensorial. As sensilas basicônicas, foram divididas em tamanho mais curto e em forma de pino com uma cabeça distinta, estriada em forma de bulbo (I) e de tamanho mais longo com ponta levemente curva (II). A sensila estilocônica foi classificada, de acordo com a sua quantidade de pino na região apical da sensila, sendo a estilocônica unitária com um pino (SEst1).

As sensilas encontradas nas antenas de fêmeas de *P. elaeisis* foram caracterizadas em tricoides (I, II e III), basicônicas (I e II) e placóides. Todas distribuídas na extensão da antena. Na extremidade da antena, na clava terminal é possível notar que há abundância de sensilas basicônicas e placóides (Figura 3A), em imagem mais ampliada, é observável na superfície da clava uma maior distribuição de sensilas basicônicas (II) comparados a sensilas placóides e menor distribuição de sensilas tricoides (I, II e III) (Figura 3C). A figura 3B mostra em mais detalhes a sensila basicônica I (SB-I), esta é distribuída em torno de todos os segmentos antenais. Porém, na distribuição total dos segmentos (escapo, pedicelo e flagelo), as sensilas tricoides (I, II e III) foram as mais encontradas, caracterizadas com pontas mais longas, médias e curtas com pontas afiadas, diminuindo no último segmento (Figura D).

Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das antenas de fêmea ♀ de *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae). Clava terminal (A e C);

Antenômero central (B e D); ST I, ST II e ST III: sensilas tricoides; SB I, SB II: sensila basicônica; SP: sensila placóide.

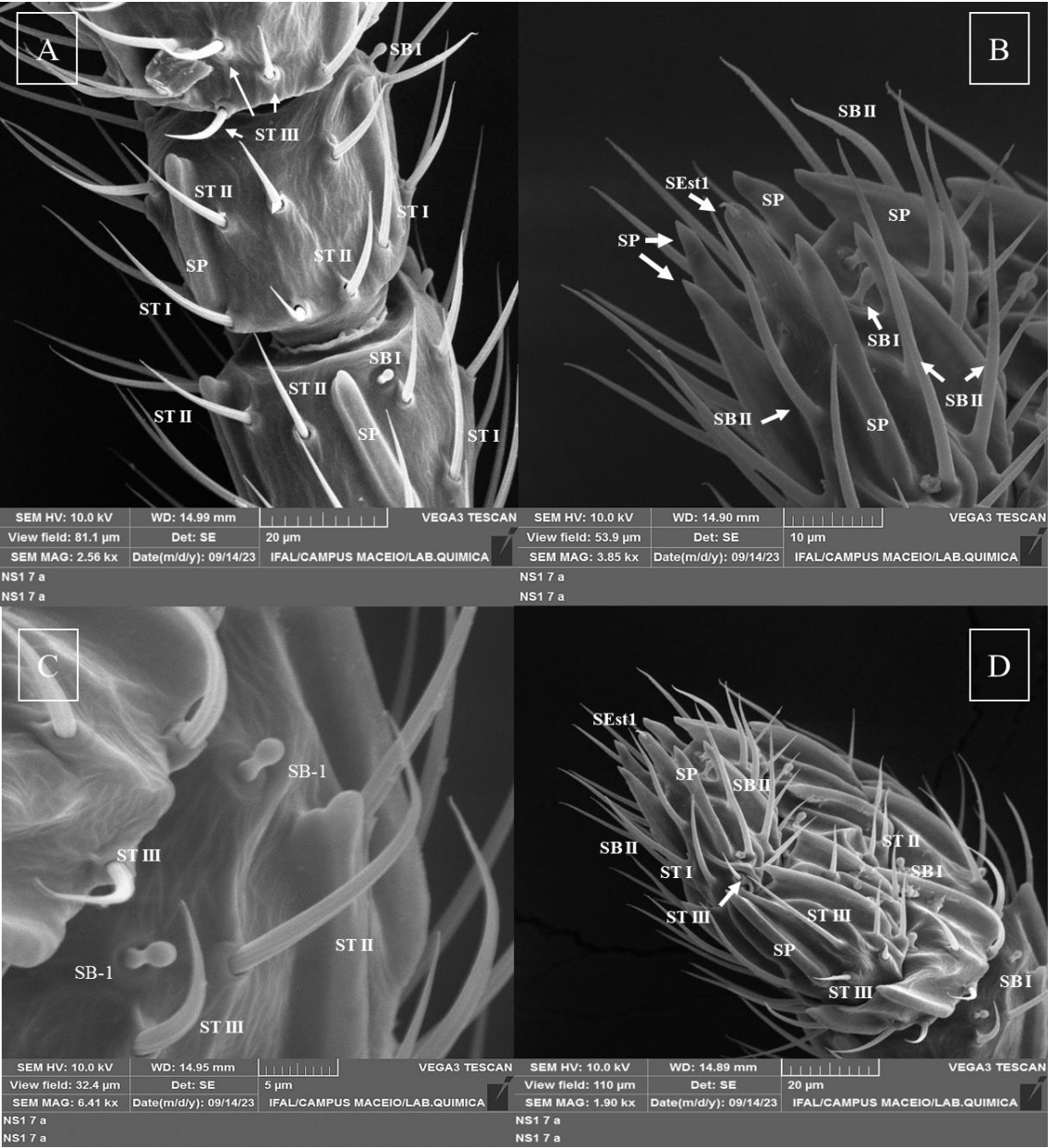


Fonte: Autora (2023).

Quatro tipos de sensilas foram encontradas nas antenas de machos de *P. elaeisis*, estas foram caracterizadas de sensilas tricoides (I, II e III), basicônicas (I e II), placóides e estilocônica. Nos antenômeros centrais, há maior predominância das sensilas tricoides (I, II e III) com presença de algumas sensilas placóides nas projeções laterais e sensila basicônica I (SB I), sensilas basicônicas mais longas com pontas levemente curtas (SB II) são ausentes no centro do flagelo sendo apenas perceptível a presença na extremidade da clava terminal (Figuras 4A e 4C). No ápice da antena, nota-se além da diminuição de sensilas tricoides, uma maior

quantidade de sensilas placoides e basicônicas (I e II), e foi observada a presença da sensila estilocônica com apenas um pino conectado no ápice da antena, fator diferencial na característica morfológica, sendo esta sensila ausente e não identificada em fêmeas de *P. elaeisis* (Figuras 4B e 4D).

Figura 4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das antenas de macho ♂ de *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae). Antenômero central (A e C); Clava terminal (B e D); ST I, ST II e ST III: sensilas tricoides; SB I, SB II: sensila basicônica; SP: sensila placóide; SEst1: Sensila estilocônica com um pino conectado.



Fonte: Autora (2023).

As sensilas tricoides foram as mais abundantes encontradas em machos e fêmeas de *P. elaeisis*. Estas foram caracterizadas por tamanho, sendo observadas ao longo do flagelo, sensila tricoide I (ST I) com comprimento mais longo, sensila tricoide II (ST II) com o comprimento médio e a sensila tricoide III (ST III) que apresentavam o comprimento mais curto.

Estas sensilas possuem como principal característica a sua extremidade afilada, com sulcos longitudinais em formato de espiral e se assemelham à um pelo ou um cabelo (FIALHO et al. 2014). Hansson (1995) relata que as sensilas tricoides estão envolvidas na percepção de feromônio sexual e na detecção de odor do hospedeiro, fator a ser considerado na escolha de oviposição do inseto. Resumidamente, as sensilas tricoides tem a função quimiorreceptora, podendo realizar a quimiorrecepção de contato (ou gustativa) e quimiorrecepção distante (ou olfatória). (XIANGQUN et al., 2014; SILVA et al., 2019).

Sensilas tricoides também foram mais abundantes e encontradas em torno de todos os segmentos antenais de ambos os sexos de *Trichospilus pupivorus* (Ferriere, 1930) (Hymenoptera: Eulophidae) (SILVA et al. 2016).

Em parasitoides, estas sensilas podem desempenhar diversas funções, como por exemplo a detecção de correntes de ar e vibração, em machos, importantes para busca de cópula. Em fêmeas esses mecanorreceptores podem desempenhar um papel importante antes e durante a oviposição, pois eles são usados por fêmeas ao sondar a superfície do hospedeiro (VAN BAAREN et al., 2007; ONAGBOLA & FADAMIRO, 2008; ONAGBOLA et al., 2009).

As sensilas placoides foram encontradas em todo o flagelo da antena em ambos os sexos, exceto no escapo e pedicelo. Spaethe (2007) e Matiello (2008) afirmam que as sensilas placoides são quimiorreceptores (atuam na função olfativa) e possuem aparência de discos ou placas olfativas sendo presentes em todos os insetos.

Como já abordado, foi notável um aumento de sensilas placoides (SP) na aproximação do ápice da clava terminal em machos e fêmeas de *P. elaeisis*, e esse elevado número de sensilas placoides na clava está diretamente ligado à sua função olfativa, afim de permitir a detecção de volatéis necessários para sua busca hospedeira, onde a alta concentração dessas sensilas no ápice da antena poderia facilitar a percepção de estímulos (BARLIN & VINSON, 1981; GAO et al., 2007; ONAGBOLA & FADAMIRO, 2008).

As sensilas basicônicas encontradas em *P. elaeisis* foram divididas em dois subtipos. O primeiro possui aparência e tamanho mais curto, lembrando a forma de pino com uma cabeça distinta, estriada em forma de bulbo (SBI) e de tamanho mais longo com ponta levemente curva

(SBII). Foi observado em ambos os sexos que SBI, se distribuíam ao longo do flagelo até a clava terminal, assim como relatado por Silva et. al (2016) e Onagloba (2009) em *Trichospilus pupivorus* (Ferriere, 1930) (Hymenoptera: Eulophidae) e *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) respectivamente.

Já SBII está presente em maior quantidade e distribuição na clava antenal de machos e fêmeas de *P. elaeisis*, no geral, estudos relatam que as sensilas basicônicas podem apresentar função olfativa, entretanto, outros trabalhos as descrevem como sensilas que apresentam poros que permitem a entrada de odores, podendo estar relacionadas a reconhecer semioquímicos que podem permitir a influência da escolha de oviposição de hospedeiro (SEADA, 2015; SILVA et al., 2019).

Em relação a sensila estilocônica, esta apenas é encontrada no ápice da clava antenal do macho. Sendo caracterizada como sendo sensila estilocônica com um pino conectado (SEst1). Estas possuem formas robustas, lisas com a extremidade cônica, apresentando pinos na sua estrutura. Além disso, desempenham funções termorreceptora e hidrorreceptora, nos quais, a sensila é sensível à umidade fazendo com que a mesma seja capaz de detectar mudanças de umidade, além de captar às variações de temperatura do ambiente (SILVA et al. 2016, MA et al., 2016).

No geral, as sensilas apresentam características morfológicas diferentes, porém, as suas funções podem ser equivalentes ou variar de acordo com a sua estrutura conforme as suas respostas fisiológicas e comportamentais (SEADA, 2015). Este estudo base do dimorfismo antenal de *P. elaeisis* pode permitir o entendimento de como o parasitoide compreende os mecanismos associados às respostas comportamentais aos semioquímicos utilizados para identificação do hospedeiro.

4. CONCLUSÕES

Antenas de fêmeas e machos de *P. elaeisis* apresentam um dimorfismo morfológico antenal. As antenas de fêmeas e machos de *P. elaeisis* são caracterizadas com a presença de três subtipos de sensilas tricoides, dois subtipos de sensilas basicônicas e sensilas placoides. Apenas os machos possuem sensilas estilocônicas.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO FILHO, W. S.; CASTRO, L. A. S.; BOTTON, M.; NAVA, D. E. **Técnicas de Preparação de Amostras para Estudos de Insetos com Microscópio Eletrônico de Varredura**. 1. ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, v. 1. 34p., 2008.
- BARLIN, M.R; VINSON, S.B. **Multiporous plate sensilla in antennae of Chalcidoidea (Hymenoptera)**. Insect Morphol Embryol 10, 29–42, 1981.
- BLEEKER, M.A.K; SMID, H.M; VAN AELST, A.C; VAN LOON, J.J; VET, L.E. **Antennal sensilla of two parasitoid wasps: A comparative scanning electron microscopy study**. Microsc Res Tech 63, 266–273, 2004.
- DELVARE, G. & LASALLE, J.A. **New genus of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) from the neotropical region, with the description of a new species parasitica on key pests of oil palm**. J Nat Hist 27, 435–444, 1993.
- FIALHO, M. C. Q.; MATIELL, C. P. G.; ZANUNCIO, J. C; CAMPOS, L. A. O.; SERRÃO, J. E. **A comparative study of the antennal sensilla in corbiculate bees**. Journal os Apicultural Research. 53(3). p 392-403, 2014.
- GAO, Y; LUO, L.Z; HAMMOND, A. **Antennal morphology, structure and sensilla distribution in *Microplitis pallidipes* (Hymenoptera: Braconidae)**. Micron 38, 684–693, 2007.
- GULLAN, P. J; CRASTON, P. S. **Os insetos: Um resumo de Entomologia**. In: **Anatomia Externa**. Roca. 3 ed. São Paulo, 2007.
- HANSSON, B. S. **Olfaction in Lepidoptera**. Experientia, v. 51, n. 11, p. 1003-1027, nov, 1995.
- ISIDORO, N., F; COLAZZA, S; VINSON, S. B. **Morphology of antennal gustatory sensilla and glands in some parasitoid hymenoptera with hypothesis on their role in sex and host recognition**. J. Hymenopt. Res ,1996.
- KEIL, T.A. **Comparative morphogenesis of sensilla: A review**. Int J Insect Morphol Embryol 26, 151–160, 1997.

LIU, F.; LI, F.; ZHANG, S.; KONG, X.; ZHANG, Z. **Ultrastructure of antennal sensilla of *Erannis ankeraria* Staudinger (Lepidoptera: Geometridae).** Microsc Res Tech. 2:1903–1910, 2019.

MA, L.; BIAN, L.; LI, Z.-Q.; CAI, X.-M.; LUO, Z.-X.; CHEN, Z.-M. **Ultrastructure of Chemosensilla on Antennae and Tarsi of *Ectropis obliqua* (Lepidoptera: Geometridae).** Anais da Sociedade Entomológica da América, 109(4):574-584, 2016.

MATIELLO, C. P. G. **Estudo comparado das sensilas nas antenas de abelhas.** 58 f. Dissertação (Mestrado em Magister Scientiae) – Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais. 2008.

ONAGBOLA, E.O; BOINA, D.R; HERMANN, S.L; STELINSKI, L.L. **Antennal sensilla of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae).** Ann Entomol Soc Am 102, 523–531, 2009.

ONAGBOLA, E.O; FADAMIRO, H.Y. **Scanning electron microscopy studies of antennal sensilla of *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae).** Micron 39, 526–535, 2008

PEREIRA, F. F., ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. **The density of females of the *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae).** Anais da Acadadêmia Brasileira de Ciências, v. 81, p. 323-331, 2010.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E.; OLIVEIRA, H.N.; FAVERO, K.; GRANCE, E.L.V. **Progeny of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) of different ages.** Neotropical Entomology, v.38, p.660-66, 2009.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, T.V.; ZANUNCIO, J.C.; PRATISSOLI, D.; TAVARES, M.T. **Species of Lepidoptera defoliators of *Eucalyptus* as new host for the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae).** Brazilian Archives of Biology and Technology, v.51 p.259-262, 2008.

PETTERSSON, E.M; HALLBERG, E; BIGERSSON, G. **Evidence for the importance of odour-perception in the parasitoid *Rhopalicus tutela* (Walker) (Hym., Pteromalidae).** J Appl Entomol 125, 293–301, 2001.

SEADA, M. A. **Antennal morphology and sensillum distribution of female cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae).** The Journal of Basic & Applied Zoology, 68, 10–18, 2015.

SILVA, I.M; PEREIRA, K.S; SPRANGHERS, T.; ZANUNCIO, J. C; SERRÃO, J. E. **Antennal Sensilla and Sexual Dimorphism of the Parasitoid *Trichospilus pupivorus* (Hymenoptera: Eulophidae).** Microsc. Microanal. 22, 913–921, 2016.

SILVA, K. B.; SILVA, C. B.; RIBEIRO, K. A. L.; FREITAS, J. M. D.; FREITAS, J. D.; SANCHEZ CHIA, G.; TINÔCO, R. S.; COSTA, J. G.; GOULART, H. F.; SANTANA, A. E. **S. Morphology and distribution of antennal sensilla of *Automeris liberia* (Lepidoptera: Saturniidae).** Micron, v. 123, p. 102682, 2019.

SPAETHE, J.; BROCKMANN, A.; HALBING C; TAUTZ, J. **Size determines antennal sensitivity and behavioral threshold to odors in bumblebee workers.** Naturwissenschaften 97: 733-739, 2007.

VAN BAAREN, J; BOIVIN, G; BOURDAIS, D; ROUX, O. **Antennal sensilla of hymenopteran parasitic wasps: Variations linked to host exploitation behaviour.** In Modern Research and Educational Topics in Microscopy, Méndez-Vilas A. & Díaz J. (Eds.), pp. 345–352. Badajoz, Spain: Formatex, 2007.

VINSON, S. B; M. R. STRAND. **The role of the antennae and host factors in host selection behavior of *Trissolcus basalis* (Wall.) (Hymenoptera: Scelionidae).** Les Colloq. de-IÕINRA, 1986.

XIANGQUN, Y.; KE, G.; FENG, Y.; YALIN, Z. **Ultrastructure of antennal sensilla of four skipper butterflies in *Parnara* sp. and *Pelopidas* sp. (Lepidoptera, Hesperidae).** ZooKeys 399: 17–27, 2014.

ZHANG, L.; FENG, Y.-Q; REN, L. L; LUO, Y.Q; WANG, F; ZONG, S.X. **Sensilla on antenna, ovipositor and leg of *Eriborus applicitus* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a**

parasitoid wasp of *Holcocerus insularis* staudinger (Lepidoptera: Cossidae). Acta Zool 96, 253–263, 2014.