



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



Elmadã Pereira Gonzaga

ECOLOGIA QUÍMICA DE *Thyrintea arnobia* (STOLL, 1782)
(LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) EM EUCALIPTO

RIO LARGO

2023

Elmadã Pereira Gonzaga

**ECOLOGIA QUÍMICA DE *Thyrinteina arnobia* (STOLL, 1782)
(LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) EM EUCALIPTO**

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): Profa. Dra. Mariana Oliveira Breda _ CECA-UFAL

Co-orientação: Prof. Antônio Euzébio Goulart Santana _ CECA-UFAL

Dr. Vanderson Barbosa Bernardo_ IQB-UFAL

RIO LARGO

2023

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

P436e Gonzaga, Elmadã Pereira
 Ecologia química de *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera:
 Geometridae) em eucalipto. / Elmadã Pereira Gonzaga – 2023.
 65 f.; il.

Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de
Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias. Rio Largo, 2023.

Orientação: Dr^a. Mariana Oliveira Breda
Coorientação: Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana

Inclui bibliografia

1. Semioquímicos. 2. Sensilas. 3. Bioatividade. I. Título.
CDU: 54

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo seu amor e cuidado;

Ao meu pai Serapião Pereira Gonzaga (“in memorian”) e a minha mãe Maria das Mercês de Jesus Gonzaga, pelo amor, incentivo e motivação. Sem vocês nada disso seria possível. Amo vocês!

A minha orientadora Mariana Oliveira Breda, pelos ensinamentos e paciência. Obrigada por me acolher! Obrigada por tanto!

Ao Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, pela oportunidade de realizar do curso;

A CAPES pela concessão da bolsa;

Aos meus familiares, que sempre me apoiou e incentivou. Amo vocês!

Ao Bruno Sousa, pelo apoio, incentivo e amor;

Ao Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal no Centro de Ciências Agrárias (CECA/UFAL);

Aos meus amigos de laboratório, em especial à Camila Alexandre, Fernanda da Silva, Matheus Barros e Lissandra Moreira, que se tornaram grandes amigos e fizeram essa jornada mais leve. Amo vocês!

Ao professor Euzébio Goulart, por abrir as portas do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN-CECA);

Ao Anderson Bruno Anacleto e ao César Gonçalves, pela paciência, ensinamentos e parceria;

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

Aos meus amigos de curso. Em especial, o Paulo Henrique e Romário Verçosa, obrigada pelo companheirismo e amizade;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

**ECOLOGIA QUÍMICA DE *Thyriniteina arnobia* (STOLL, 1782)
(LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) EM EUCALIPTO**

RESUMO

O gênero *Eucalyptus* possui cerca de 600 espécies, adaptadas aos mais variados climas e solos. No Brasil, cerca de 7,47 milhões de hectares são ocupados por povoamentos florestais de eucalipto. Com o avanço da eucaliptocultura no Brasil, a incidência de surtos populacionais de insetos vem sendo favorecida. Dentre os insetos-praga da cultura, destaca-se a lagarta desfolhadora *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), citada como o lepidóptero mais importante para a eucaliptocultura no país. No estado de Alagoas, a presença de *T. arnobia* foi constatada ocasionando danos significativos. Devido à grande extensão dos povoamentos florestais de eucalipto e à altura das árvores, o controle químico de lagartas de *T. arnobia* torna-se economicamente insustentável. Em virtude disso, novos métodos de controle vêm sendo propostos, incluindo o controle comportamental, através do estudo do feromônio sexual de *T. arnobia*. Para tanto, é necessário compreender os mecanismos envolvidos na ecologia química da espécie desde o processo de liberação do feromônio sexual, passando pela percepção desses compostos, excitação e resposta às substâncias feromonais. Assim, o presente estudo tem como objetivo geral estudar a ecologia química de *T. arnobia* e como objetivos específicos: (i) fornecer informações base e complementares do comportamento sexual de *T. arnobia*, a partir da observação do comportamento de chamamento; (ii) realizar o estudo de sensilas antenais em machos e fêmeas de *T. arnobia*, através de microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.); (iii) isolar e identificar possíveis substâncias feromonais de extratos de glândulas abdominais de fêmeas de *T. arnobia*, utilizando cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas (GC-FID); (iv) e verificar a bioatividade dos extratos, através de eletroantenografia acoplada a cromatografia gasosa (EAG-CG). Em relação ao comportamento de chamamento, a exposição da glândula ocorreu após a 2ª hora da escotofase. O comportamento de chamamento foi caracterizado pela exposição da glândula feromonal das fêmeas de *T. arnobia*, a disseminação do feromônio sexual, a percepção do feromônio pelos machos e aproximação dos machos a fonte emissora do feromônio. No total, seis tipos de sensilas foram identificadas em antenas de fêmeas e machos de *T. arnobia*, caracterizadas em tricoide, esquamiforme, caética, basicônica, celocônicas e estilocônica. As antenas de fêmeas e machos *T. arnobia* apresentam morfologia estrutural de sensilas distintas. Antenas de ambos sexos, tem a presença das cerdas de Böhm's bristles, na base do escapo. As sensilas tricoides são as mais abundantes, principalmente em antenas de machos de *T. arnobia*, indicando que as mesmas podem responder aos estímulos de substâncias químicas. No perfil cromatográfico do extrato de glândulas abdominais em fêmeas de *T. arnobia* provenientes de Alagoas, foi possível identificar previamente 19 possíveis compostos. Em relação a bioatividade das substâncias feromonais de extratos de glândulas abdominais de fêmeas de *T. arnobia*, observou-se que as respostas eletroantenográficas de antenas de machos submetidas ao extrato feromonal *T. arnobia* foram significativas quando comparadas ao estímulo do hexano (controle).

Palavras-chave: lagarta desfolhadora; semioquímicos; chamamento; sensilas; glândula feromonal; bioatividade.

**CHEMICAL ECOLOGY OF *Thyrinteina arnobia* (STOLL, 1782)
(LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) ON EUCALYPTUS**

ABSTRACT

The genus *Eucalyptus* has about 600 species, adapted to the most varied climates and soils. In Brazil, around 7.47 million hectares are occupied by eucalyptus forest stands. With the advance of eucalyptus cultivation in Brazil, the incidence of population outbreaks of insects has been favored. Among the insect pests of the crop, the defoliator caterpillar *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) stands out, cited as the most important lepidopteran for eucalyptus cultivation in the country. In the state of Alagoas, the presence of *T. arnobia* was found to cause significant damage. Due to the large extension of the eucalyptus forest stands and the height of the trees, the chemical control of *T. arnobia* becomes economically unsustainable. As a result, new control methods have been proposed, including behavioral control, through the study of the sexual pheromone of *T. arnobia*. Therefore, it is necessary to understand the mechanisms involved in the chemical ecology of the species, from the sexual pheromone release process, through the perception of these compounds, excitation and response to pheromonal substances. Thus, the present study aims to study the chemical ecology of *T. arnobia* and as specific objectives: (i) provide basic and complementary information on the sexual behavior of *T. arnobia*, based on the observation of the calling behavior; (ii) carry out the study of antennal sensilla in males and females of *T. arnobia*, through scanning electron microscopy (SEM); (iii) isolate and identify possible pheromonal substances from extracts of abdominal glands of *T. arnobia* females, using gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID); (iv) and verify the bioactivity of the extracts, through electroantennography coupled to gas chromatography (EAG-GC). Regarding calling behavior, gland exposure occurred after the 2nd hour of scotophase. The calling behavior was characterized by the exposure of the pheromone gland of the females of *T. arnobia*, the dissemination of the sexual pheromone, the perception of the pheromone by the males and the approach of the males to the emitting source of the pheromone. In total, six types of sensilla were identified in antennae of females and males of *T. arnobia*, characterized in trichoid, squamiform, caetic, basiconic, celonic and styloconic. The antennae of female and male *T. arnobia* have different structural morphology of sensilla. Antennae of both sexes have Böhm's bristles at the base of the scape. The trichoid sensilla are the most abundant, mainly in the antennae of *T. arnobia* males, indicating that they can respond to stimuli from chemical substances. In the chromatographic profile of the extract of abdominal glands in *T. arnobia* females from Alagoas, it was possible to previously identify 19 possible compounds. Regarding the bioactivity of pheromonal substances from extracts of abdominal glands of *T. arnobia* females, it was observed that the electroantennary responses of male antennae submitted to the pheromonal extract of *T. arnobia* were significant when compared to the hexane stimulus (control).

Keywords: defoliator caterpillar; semiochemicals; calling behavior; sensilla; pheromonal gland; bioactivity.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Fêmea de *Thyriniteina arnobia* Stoll (1782) (Lepidoptera: Geometridae) parada em posição de chamamento, com a glândula de feromônio evertida (porção final do abdome). 37
- Figura 2.** Etograma do comportamento de chamamento de fêmea de *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). *Thyriniteina arnobia* (lagarta-parda-do-eucalipto). (A) fêmea em posição de chamamento, com a glândula de feromônio evertida (final do abdome). (B e C)..... 38
- Figura 3.** Postura de fêmeas *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) contendo massa de ovos inférteis. 39
- Figura 4.** Dimorfismo antenal em *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). Antenas de fêmea ♀ do tipo filiforme (A). Antenas de macho ♂ do tipo bipectinada (B). 40
- Figura 5.** Segmentos antenais em *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). Antenas de fêmea ♀ do tipo filiforme (5A e 5C). Antenas de macho ♂ do tipo bipectinada (5B e 5D). 41
- Figura 6.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das antenas de fêmea ♀ de *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). (A e B) antenômeros basais e centrais da superfície dorsal; (C) superfície dorsal e ventral da região apical do flagelo; (D, E, F e G) antenômeros centrais da antena; (H) antenômero basais da antena. Es: escamas; P: presença de orifícios; S_{Ce} I, S_{Ce} II e S_{Ce} III: sensilas cétricas; ST I, ST II e ST II: sensilas tricoides; S_{Ba}: sensila basicônica; S_{Co}: sensila coleocônica. 42
- Figura 7.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das antenas de macho ♂ de *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). (A e B) antenômeros basais e centrais da superfície dorsal; (C) superfície dorsal e ventral flagelo da antena; (D e E) superfície ventral das ramificações dos antenômeros; (F e G) superfície dorsal e ventral dos antenômeros apicais; (H) sensilas estilocônica. Es: escamas; S_{Ba}: sensila basicônica; P: presença de orifícios; S_{Esq}: sensila esquamiforme; S_{Ce} I, S_{Ce} II e S_{Ce} III: sensilas cétricas; ST: sensilas tricoides; S_{Co}: sensila coleocônica; S_{Est} 1p: estilocônica unitária com um pino; S_{Est} +1p: sensilas estilocônica com mais de um pino conectado. 44

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Cromatograma do extrato de glândulas de fêmeas virgens de *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) de Alagoas.....60
- Figura 2.** Resposta eletroantenográfica de machos de *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), via método “puff”, submetidas a extrato de glândula abdominal de fêmeas e a hexano (controle).....63

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Comprimento e largura (μm) (Média \pm EP) dos diferentes tipos de sensilas em antenas de fêmeas e machos de *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae).....49

CAPÍTULO II

Tabela 1. Possíveis compostos sugeridos em glândulas abdominais de fêmeas virgens de *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) proveniente do estado de Alagoas. 60

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. O gênero <i>Eucalyptus</i>	13
2.2. Insetos-praga associados ao eucalipto no Brasil	14
2.2.1. Complexo de insetos-praga exóticos.....	15
2.2.2. Complexo de insetos-praga nativos no Brasil	15
2.3. <i>Thyrinteina arnobia</i> (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae)	16
2.4. Feromônios sexuais no Manejo Integrado de Pragas (MIP).....	18
2.4.1. Etapas para o estudo de feromônio.....	20
2.5. Comportamento sexual de <i>Thyrinteina arnobia</i>	20
2.6. Estudo de sensilas em antenas	21
2.7. Feromônio sexual de <i>Thyrinteina arnobia</i>	22
2.7.1. Bioatividade (EAG-CG).....	23
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO I – COMPORTAMENTO SEXUAL E ESTUDO DE SENSILAS EM <i>Thyrinteina arnobia</i> (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE).....	31
RESUMO.....	31
1. INTRODUÇÃO	33
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.1. Coleta e manutenção de <i>T. arnobia</i>	34
2.2. Observação do comportamento sexual de <i>T. arnobia</i> (Chamamento)	35
2.3. Preparação da antena para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 35	
2.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das antenas de <i>T. arnobia</i> ..	36
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
3.1. Observação do comportamento sexual de <i>T. arnobia</i>	36
3.2. Ultraestrutura da antena e tipos de sensilas de <i>T. arnobia</i>	39
4. CONCLUSÕES	50
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
CAPÍTULO II – ESTUDO CROMATOGRÁFICO E BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE GLÂNDULAS ABDOMINAIS DE <i>Thyrinteina arnobia</i> (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) NO ESTADO DE ALAGOAS.	54

1. INTRODUÇÃO	56
2. MATERIAL E MÉTODOS	57
2.1. Criação de <i>Thyrinteina arnobia</i>	57
2.2. Extração do feromônio sexual	58
2.3. Análise química dos extratos das glândulas abdominais	58
2.4. Bioatividade em cromatografia gasosa acoplada à eletroantenograma (CG-EAG)	59
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
3.1. Análise química dos extratos das glândulas abdominais de <i>Thyrinteina arnobia</i>	59
3.2. Estudos eletrofisiológicos	62
4. CONCLUSÕES	63
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

1. INTRODUÇÃO GERAL

De origem natural da Austrália, Papua Nova Guiné e Indonésia, o gênero *Eucalyptus* possui cerca de 600 espécies, com adaptação a diferentes condições edafoclimáticas. No Brasil, cerca de 9,55 milhões de hectares são de povoamentos florestais implantados, sendo 78% desse total ocupado por *Eucalyptus* spp. totalizando 7,47 milhões de hectares (MORA & GARCIA, 2000; AMORIM et al., 2021; IBÁ, 2021).

A expansão acelerada da eucaliptocultura em todas as regiões do Brasil se dá pelo rápido crescimento; alta produtividade e múltiplos produtos tais como celulose, móveis, papel, painéis de madeira, pisos, carvão e construção civil; gerando lucros significativos (AMORIM et al., 2021).

No estado de Alagoas, o Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (Cetene), vinculado ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), lançou em 2015 a iniciativa de implantação de unidades experimentais clonais de *Eucalyptus* spp. em diferentes regiões, com o objetivo de ampliar e proporcionar a diversificação produtiva (APIMEC, 2015).

Com o avanço da eucaliptocultura, a incidência de surtos populacionais de insetos pode ser favorecida. As perdas ocasionadas por insetos exóticos e nativos são de representativa importância para a cultura. Dentre os lepidópteros desfolhadores nativos, destaca-se a lagarta-parda-do-eucalipto, *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), classificada como praga-chave para o cultivo de *Eucalyptus* spp. no país, devido aos surtos populacionais frequentes, ocasionando danos em áreas superiores a 445.000 hectares/ano, resultando em sérios prejuízos econômicos para a cultura (MORAES & MACEDO 1975; ANJOS et al., 1987; HOLTZ et al., 2003; BARRETO & MOJENA, 2014).

A lagarta desfolhadora, *T. arnobia* tem ampla distribuição geográfica, com ocorrência desde a América Central até a Argentina (BATISTA-PEREIRA, 2007). Em Alagoas, a presença de *T. arnobia* é frequentemente constatada em plantios experimentais clonais de eucalipto, causando danos significativos (BREDA et al., 2018).

Atualmente, os principais métodos envolvidos no controle da lagarta-parda-do-eucalipto são através da pulverização de produtos químicos e a liberação de inimigos naturais. Entretanto, devido à grande extensão dos povoamentos florestais de eucalipto e à altura das árvores, o controle químico de *T. arnobia* torna-se economicamente

insustentável (WILCKEN & FILHO, 2006). Em virtude disso, novos métodos de controle vêm sendo propostos com o controle comportamental, através do uso de semioquímicos.

As substâncias químicas produzidas pelos animais e plantas que estão envolvidas na comunicação entre os organismos são denominadas semioquímicos (NORDLUND & LEWIS, 1976). Tais substâncias são muito importantes para os insetos na localização de presas, defesa, agressividade, seleção de plantas hospedeiras, locais de oviposição, corte, acasalamento e organização de atividades sociais. Pesquisas na área de ecologia química de insetos vem sendo utilizadas com sucesso para o desenvolvimento de estratégias de Manejo Integrado de Pragas (MIP), envolvendo aspectos biológicos, fisiológicos, comportamentais, bioquímicos e genéticos, principalmente através da síntese e aplicação de feromônios sexuais, facilitando a determinação da dinâmica populacional e proporcionando controle efetivo, seguro e ambientalmente sustentável (VILELA & DELLA LUCIA, 2001).

Diversos estudos utilizando feromônios sexuais com espécies da ordem Lepidoptera já foram realizados, buscando compreender os mecanismos envolvidos desde a liberação dos feromônios sexuais até a resposta do sistema nervoso central (SNC) às substâncias feromonais percebidas (ARIOLI et al., 2013).

Em estudo anterior, envolvendo a ecologia química de *T. arnobia*, o comportamento de chamamento de fêmeas foi descrito, indicando o início da exposição de glândula abdominal feromonal, de coloração esverdeada, para a 1ª hora da 1ª escotofase (BATISTA-PEREIRA et al., 2004). Entretanto, a elucidação completa do comportamento sexual de *T. arnobia*, envolvendo atração, localização, corte e cópula ainda não foi elucidada.

A percepção dos feromônios sexuais, acontecem em áreas específicas das antenas dos insetos, denominadas sensilas, que são pequenas estruturas (ultraestruturas) sensoriais, quimiorreceptoras, que desencadeiam uma série de resposta comportamental (ARIOLI et al., 2013). O estudo de sensilas em antenas de insetos só é possível através do microscópio eletrônico de varredura (MEV), instrumento imprescindível para avaliar, examinar e analisar características microestruturais de materiais sólidos. Apesar de sua importância, ainda são poucos os trabalhos que utilizam tal técnica (AZEVEDO FILHO et al., 2008). Para *T. arnobia* ainda não existe na literatura a identificação de sensilas antenais de fêmeas e machos.

Moreira et al. (2013) ao realizarem um estudo do feromônio sexual de *T. arnobia*, isolando glândulas abdominais de fêmeas virgens obtiveram respostas eletroantegráficas em antenas de machos de *T. arnobia*, sugerindo a estrutura do 3,4-epoxi-6,9-eneicosadieno como componente majoritário, obtendo a síntese racêmica desse composto em 10 etapas com rendimento global de 28%. De forma geral, componentes majoritários podem apresentar síntese demorada e economicamente inviável, fazendo-se necessário o estudo de outros componentes do feromônio sexual e/ou rotas sintéticas alternativas para uso dessas substâncias no desenvolvimento de novos produtos comerciais e implantação de programas de Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP Floresta) para a eucaliptocultura local e nacional.

Atualmente, não existe comercialmente a disponibilidade de feromônio sexual para o manejo das populações de *T. arnobia* em povoamentos florestais de eucalipto. Para tanto, é necessário compreender os mecanismos envolvidos na ecologia química da espécie desde o processo de liberação do feromônio sexual, passando pela percepção desses compostos, excitação e resposta às substâncias feromonais.

Dessa maneira, o presente estudo tem como objetivo geral estudar a ecologia química de *T. arnobia* e como objetivos específicos: (i) fornecer informações base e complementares do comportamento sexual de *T. arnobia*, a partir da observação do comportamento de chamamento; (ii) realizar o estudo de sensilas antenais em machos e fêmeas de *T. arnobia*, através de microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.); (iii) isolar e identificar possíveis substâncias feromonais de extratos de glândulas abdominais de fêmeas de *T. arnobia*, utilizando cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID); (iv) e verificar a bioatividade dos extratos, através de eletroantegráfia acoplada a cromatografia gasosa (EAG-CG).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O gênero *Eucalyptus*

O eucalipto (do grego, eu (bem) + καλύπτω (kalipto = cobrir) = “verdadeira cobertura”) é a designação popular dada a várias espécies vegetais do gênero *Eucalyptus*. O gênero *Eucalyptus* é originário da Austrália, Tasmânia e outras ilhas da Oceania, pertencente à família Myrtaceae, mesma família botânica que abrange culturas nativas do Brasil, como a goiabeira, a guabiroba e a jaboticabeira (HOLTZ, 2001; VITAL, 2007; EMBRAPA, 2022; MOURA & GARCIA, 2000; COSTA et al., 2012).

Há muitas controvérsias sobre a introdução inicial do eucalipto no Brasil, entretanto, acredita-se que a introdução das primeiras mudas de eucalipto no Brasil foi no Rio Grande do Sul em 1868, no mesmo ano, alguns exemplares foram plantados na Quinta da Boa Vista, no Rio de Janeiro (MORA & GARCIA, 2000). A cultura no início era utilizada como barreiras quebra-ventos, paisagismo, e na extração de óleo vegetal mas, no final de 1930, o eucalipto começou a ser plantado em escala comercial, sendo utilizado como dormentes para construção de estradas de ferro e de casas, além de ser utilizado como combustível em siderúrgicas e em fornos domésticos (VITAL, 2007).

A partir de 1960, com a lei de incentivos fiscais concedidos pelo Governo Federal, os plantios florestais foram se estabelecendo em larga escala no território brasileiro. Configurando um cenário favorável para a implantação de grandes empreendimentos florestais, com espécies dos gêneros *Corymbia*, *Pinus* e *Eucalyptus*, sendo este último, o mais predominante em áreas plantadas (REIS et al., 2021).

Desde então, a eucaliptocultura vem sendo amplamente empregada em implantações de povoamentos florestais, visto que, apresentam um rápido crescimento, adaptam-se ao mais variados climas e solos, além de possuir uma ampla diversidade de espécies (ARFLORA, 2013). A finalidade da produção de *Eucalyptus* spp., varia de acordo com a espécie e a parte utilizada, as folhas podem ser direcionadas para a extração óleos essenciais; as flores para a comercialização de produtos apícolas; a casca para produção de taninos (colas, floculantes); a madeira é usada para a produção de móveis, na construção civil e principalmente na extração de celulose para a produção de papel (ARFLORA, 2013).

De acordo com os dados da Indústria Brasileira de produtores de Árvores (IBÁ, 2021) em 2020, a área total de árvores plantadas totalizou 9,55 milhões de hectares, um

recuo de 1,4% em relação ao dado revisado de 2019, que ficou em 9,69 milhões de hectares, sendo as mudanças climáticas um dos principais fatores que impactaram na queda de produtividade. Entre as espécies, 78% da área é composta pelo cultivo de eucalipto, com 7,47 milhões de hectares, localizados principalmente nos Estados de Minas Gerais (27,6%), São Paulo (18,1%) e Mato Grosso do Sul (15,1%). Segundo Vital (2007), mais de 700 espécies de eucalipto são reconhecidas botanicamente, sendo as espécies *E. grandis*, *E. saligna*, *E. urophila* e o híbrido *E. urograndis* (*E. grandis* X *E. urophila*) as mais cultivadas no Brasil.

No Estado de Alagoas, a implantação da eucaliptocultura ainda é recente, porém, apresenta um grande potencial para a produção de biomassa energética para cerâmicas, fábricas de gesso e usinas de cana-de-açúcar, gerando renda principalmente aos produtores do setor canavieiro (APIMEC, 2015).

As perdas ocasionadas por surtos populacionais de insetos, porém, são de representativa importância para o cultivo de *Eucalyptus* spp., sendo uma constante ameaça à produtividade e estabelecimento da eucaliptocultura nas mais diversas regiões produtoras. No Brasil, são registradas cerca de 177 espécies de insetos associados a *Eucalyptus* spp., incluindo espécies nativas e exóticas (EMBRAPA, 2017).

2.2. Insetos-praga associados ao eucalipto no Brasil

Com a crescente expansão gradativa da monocultura do eucalipto, cresce também os problemas entomológicos. No Brasil, a família Myrtaceae possui uma grande diversidade de espécies, que abrigam uma extensa entomofauna, em virtude disso, muitos insetos nativos migram e se adaptam ao eucalipto, tornando-se assim, inseto-praga da cultura. Além dos insetos-praga nativos, há uma outra grande preocupação, com a ameaça de insetos-praga exóticos, que são favorecidos por plantações monoespecíficas/monoclonais que por muitas vezes são mal manejadas em virtude da alta densidade de plantas. Além disso, devido à baixa resistência ambiental dos monocultivos, os insetos-pragas exóticos são beneficiados, uma vez que estes ambientes não fornecem abrigo e/ou alimentos para os inimigos naturais, conseqüentemente a isso, ocorre a ausência de inimigos naturais nesses ambientes onde a praga exótica foi introduzida, proporcionando assim, condições favoráveis para surtos populacionais e a dispersão do inseto exótico (IEDE, 2005; BARBOSA et al., 2021).

2.2.1. Complexo de insetos-praga exóticos

De acordo com Schühli et al (2016) 57 insetos-praga exóticos ameaçam o setor florestal brasileiro, incluindo tanto as pragas que já foram introduzidas no país, quanto as pragas ausentes que apresentam riscos de entrada. Na cultura do eucalipto, 12 espécies de insetos-pragas exóticos apresentam risco a cultura, sendo necessário o monitoramento. Dentre os insetos-praga exóticos já introduzidos no Brasil destacam-se: o gorgulho-do-eucalipto *Gonipterus platensis* Marelli, 1927 e *Gonipterus pulverulentus* Lea, 1897; a broca-do-eucalipto *Phoracantha semipunctata* Fabricius, 1775 e *Phoracantha recurva* Newman, 1842; os psilídeos-de-ponteiro *Ctenarytaina spatulata* Taylor, 1997, *Ctenarytaina eucalypti* Maskell, 1890 e *Blastopsylla accidentalis* Taylor, 1985; o psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore, 1964; o ácaro-do-eucalipto *Rhombacus eucalypti* Ghosh & Chakrabarti, 1987; a microvespa-do-citriodora *Epichrysocharis burwelli* Schauff, 2000; a vespa-da-galha *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle, 2004 e o percevejo-bronzeado *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (MUCHALAK et al., 2020; BARBOSA et al., 2021)

2.2.2. Complexo de insetos-praga nativos no Brasil

O complexo de pragas do eucalipto no Brasil compreende insetos nativos como as formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae), (SANTOS et al., 2008; COSTA & GARLET, 2016; BARBOSA et al., 2021), besouros desfolhadores como *Costalimaita ferruginea* (Fabricius, 1801) (Coleoptera: Chrysomelidae) (SANTOS et al., 2008; COSTA & GARLET, 2016; XAVIER et al., 2019) e *Sternocolaspis quatuordecimcostata* (Lefrève, 1877) (Coleoptera: Chrysomelidae) (SANTOS et al., 2008), os cupins-das-mudas, *Syntermes* spp. Holmgren, 1909 (Blattodea: Termitidae), *Cornitermes* spp. Wasmann, 1897 Blattodea: Termitidae) e *Nasutitermes* spp. Dudley, 1890 (Blattodea: Termitidae) (SANTOS et al., 2008; COSTA & GARLET, 2016), cupins do cerne, *Coptotermes* spp. Wasmann, 1896 (Blattodea: Rhinotermitidae) e *Heterotermes* spp. Froggatt, 1897 (Blattodea: Rhinotermitidae), além dos lepidópteros desfolhadores, *Eupseudosoma involuta* (Sepp, 1952) (Lepidoptera: Arctiidae) (SANTOS et al., 2008; ZACHÉ et al., 2013; COSTA & GARLET, 2016), *Sarsina violascens* (Herrich-Schaeffer, 1856) (Lepidoptera: Lymantriidae) (SANTOS et al., 2008; MORAIS et al., 2010; PEREIRA et al., 2022), destacando-se *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae).

2.3. *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae)

Também conhecida como lagarta parda do eucalipto ou lagarta-mede-palmo (MORAES & MACEDO 1975; ANJOS et al., 1987), *T. arnobia* é considerada a principal lagarta desfolhadora associada ao cultivo de *Eucalyptus* spp. no Brasil, ocasionando, após ataques sucessivos, paralisia no crescimento das árvores e perdas consideráveis na produção (GALLO et al., 1988; ZANUNCIO & PIRES, 2008).

As fêmeas de *T. arnobia*, quando adultas, são caracterizadas por asas de coloração branca com pontuações negras bem esparsas, com duas linhas escuras e sinuosas transversais nas asas anteriores, que dão continuidade nas asas posteriores, sendo essa mais externa. As fêmeas têm antenas filiformes de cor preta e envergadura média de 49 mm. Os machos adultos são menores que as fêmeas, com envergadura aproximada de 35 mm, com coloração castanha variável nas asas anteriores e antenas bipectinadas. O inseto apresenta hábito noturno. Durante o dia a fêmea fica em repouso e raramente voa, já o macho, mostra-se ser mais ativo e voa mais facilmente durante o dia. A longevidade média do adulto é de sete dias para a fêmea e três a quatro dias para o macho (SANTOS et al., 2008; OLIVEIRA, 2010; COSTA & GARLET, 2016).

A fêmea coloca, em média, 750 ovos, com período embrionário de dez dias. Os ovos apresentam uma coloração verde-acinzentados e escurecem progressivamente até a coloração preta, quando as lagartas estão perto de eclodir. As lagartas são do tipo “mede palmo” e apresentam de início, uma coloração preta, passando para castanho com manchas, e por muitas vezes são confundidas com galhos secos. Com o desenvolvimento da lagarta, forma-se uma saliência nas laterais da cabeça, em forma de cone. As lagartas possuem seis estágios, com duração média de trinta dias para fêmeas e vinte cinco dias para os machos, no final desta fase, chega a medir 50 mm de comprimento. As lagartas, ao completarem seu ciclo, passam por um período de aproximadamente 48 horas de pré-pupa, onde enrolam-se em uma ou mais folhas do eucalipto ou em vegetação rasteira. Após essa fase, passa por um período pupal de aproximadamente dez dias (SANTOS et al., 2008; OLIVEIRA, 2010; COSTA & GARLET, 2016).

A lagarta parda do eucalipto apresenta hábito polífago, com registro em plantas nativas, do sub-bosque e grande adaptação a plantas exóticas. Os maiores surtos populacionais de *T. arnobia* ocorrem em plantas pertencentes à família Myrtaceae, sendo relatados em oito espécies do gênero *Campomanesia* (gabirola), nove espécies do gênero

Eugenia (pitanga ou cagaita), seis espécies do gênero *Psidium* (goiabas e araçás) e vinte espécies do gênero *Eucalyptus* (BATISTA-PEREIRA, 2007).

As lagartas de *T. arnobia*, inicialmente, atacam a base para o ápice da copa da árvore e nas margens para o interior dos talhões. As lagartas dos quatro primeiros instares consomem em média 12,09 cm² de área foliar, já nos dois últimos instares, o consumo chega a 108,49 cm², conseqüente a isso, o ataque só é percebido quando a maioria das lagartas atingem os últimos instares, devido ao aumento do desfolhamento e pela presença notável de suas fezes nas arvores (ZANUNCIO et al., 1993; OLIVEIRA, 2010).

O primeiro registro de ocorrência de lagartas de *T. arnobia* no Brasil em *Eucalyptus* spp., foi identificado na região de Bauru, São Paulo, nas espécies *E. alba*, *E. rostrata* e *E. resinífera* (CHÁCARAS & QUINTAIS, 1949). Posteriormente, ocorrências em *Eucalyptus* spp. foram registradas nos Estados de Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Minas Gerais, Espírito Santo, Bahia, Goiás, Distrito Federal, Amazonas, Pará, Amapá e Pernambuco (ANJOS et al., 1987; ZANUNCIO & PIRES, 2008), atualmente, a *T. arnobia* foi registrada em todas as regiões, apresentando ampla distribuição geográfica no país e nas mais diversas fases de implantação de povoamentos florestais de eucalipto, sendo relatados danos em mudas de apenas um mês de idade, até em povoamentos florestais com 23 anos de idade (WILCKEN, 1996; COSTA & GARLET, 2016).

No estado de Alagoas, surtos populacionais de *T. arnobia* vem sendo relatados com frequência em diversas regiões, demandando a adoção imediata de práticas de manejo (BREDA et al., 2018). Devido ao cultivo de *Eucalyptus* spp. em monoculturas clonais, configurando áreas extensas e contíguas, de baixa variabilidade genética, além da altura dos povoamentos florestais estabelecidos, o controle químico de *T. arnobia*, através da pulverização de inseticidas químicos e/ou biológicos, torna-se de difícil implementação e alto custo (BATISTA-PEREIRA, 2007). Além disso, o controle químico provoca a redução da população de inimigos naturais, a contaminação ambiental e a resistência de insetos-praga (CAMILO et al, 2015).

Assim, métodos alternativos de controle vêm sendo propostos, incluindo o desenvolvimento de técnicas de controle comportamental, através do estudo de substâncias feromonais.

2.4. Feromônios sexuais no Manejo Integrado de Pragas (MIP)

A interação entre insetos, com o meio ambiente e outros seres vivos é intermediada principalmente pela emissão e detecção de substâncias químicas voláteis, denominadas de semioquímicos, utilizadas para diversos fins, como busca de parceiros para a cópula, alimento, presa, escolha do local de oviposição, defesa contra inimigos naturais, entre outros (ZARBIN et al., 2009).

Os semiquímicos mediadores de comunicação intraespecífica, ou seja, comunicação entre os indivíduos de uma mesma espécie, são denominados feromônios (THOMAZINI, 2009). De acordo com a resposta comportamental produzida pelos feromônios, essas substâncias podem ser classificadas em: feromônio de agregação, dispersão, alarme, territorialidade, marcação de trilha, postura e feromônios sexuais (ARIOLI et al., 2013) este último, os feromônios sexuais, são responsáveis de mediar a interação de atração de indivíduos do sexo oposto para acasalamento (ZARBIN et al., 2009).

Em 2023, completa 64 anos do primeiro trabalho publicado identificando feromônio em inseto. O estudo, foi realizado em 1959 pelo pesquisador alemão Adolf Friedrich Johann Butenandt, onde foi isolado e identificando o feromônio sexual do bicho-da-seda *Bombyx mori* Linnaeu (Lepidoptera: Bombycidae), conhecido por Bombicol. O Bombicol é um álcool de cadeia longa liberado pelas fêmeas para atrair os machos para a cópula (BUTENANDT et al., 1959).

Em 1966, sete anos mais tarde da publicação de Adolf, foram publicados resultados referentes a identificação dos feromônios sexuais de insetos-praga que também tem ocorrência no Brasil, os das mariposas *Trichoplusia ni* (Lepidoptera, Noctuidae) e *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera, Gelechiidae) (ZARBIN et al., 2009).

Estudos envolvendo feromônios sexuais para o controle e monitoramento de populações de insetos das mais diversas ordens de importância agrícola vêm sendo desenvolvidos e aplicados com sucesso, revelando-se como uma técnica efetiva e promissora para o Manejo Integrado de Pragas (MIP) (VILELA & DELLA LUCIA, 2001; PHEROLIST, 2011). Pesquisas com feromônios sexuais de Lepidopteras já foram amplamente desenvolvidas. Acredita-se que os feromônios sexuais de mais de 700 espécies de mariposas já foram identificados no mundo até hoje (ANDO & YAMAMOTO, 2020).

De acordo com Arioli et al. (2013), para a ordem Lepidoptera os feromônios sexuais são geralmente constituídos por uma combinação de compostos químicos voláteis, com funções específicas, incluindo acetatos, alcoóis e aldeídos, variando de acordo com as espécies.

De maneira geral, esses compostos são produzidos em glândulas especializadas e podem ser classificados de acordo com o tempo de ação, quando a ação se mostra lenta ou prolongada são denominados preparadores; já quando o indivíduo apresenta uma resposta imediata, são denominados desencadeadores (BATISTA-PEREIRA et al., 2004; NASCIMENTO, 2013).

A aplicação de feromônios sexuais no Manejo Integrado de Pragas (MIP) pode ter como objetivos: 1- Monitoramento populacional, atraindo os insetos para armadilhas, contendo a fonte emissora, para determinar flutuação da população; 2- Coleta Massal, utilizando armadilhas em grande quantidade, contendo a fonte emissora, para a coleta de número significativo de indivíduos, evitando gerações futuras; 3-Disrupção sexual, “interrupção de acasalamento” ou "confusão sexual", com a inundação do ambiente com fontes emissoras, interrompendo, confundindo ou dificultando a localização do parceiro sexual; 2- Atrai e mata, atraindo os insetos armadilhas com fonte emissora, contendo a adição de substância tóxica (ARIOLI et al., 2013).

Cerca de 46 feromônios sintéticos foram registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA) para o controle de 22 espécies de insetos-praga, a maioria são feromônios sexuais, que são utilizados principalmente no monitoramento e na confusão sexual de insetos-praga. Para a ordem Lepidoptera, tem-se o registro de feromônios sintéticos para algumas espécies, como *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae), *Bonagota cranaodes* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae), *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae), *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae), *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), *Cydia pomonella* (Linnaeus) (Lepidoptera, Tortricidae), *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae), *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera, Tortricidae), *Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1844) (Lepidoptera: Gelechiidae),

Ephestia elutella (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Pyralidae) e *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813) (Lepidoptera: Pyralidae).

2.4.1. Etapas para o estudo de feromônio

Feromônios sexuais, na maioria das vezes são obtidos em quantidades extremamente reduzidas, de μg a mg , sendo moléculas orgânicas com centros quirais e/ou insaturações e ramificações, em geral, de baixo peso molecular de 60 a 220 u, o que garante a volatilidade da molécula. O que dificulta ainda mais a identificação desses compostos é que, sendo produzidos em baixa quantidade são mascarados por uma série de compostos inativos produzidos em grande quantidade, o que pode mascarar a identificação dos feromônios (THOMAZINI, 2009; ZARBIN et al., 1999).

O estudo de identificação de feromônios sexuais bioativos passa por algumas etapas. A primeira etapa é identificar o inseto-praga de interesse. A segunda etapa é desenvolver técnicas de criação para a manutenção desse inseto em laboratório. A terceira etapa é realizar estudos comportamentais em laboratório e em campo. A quarta etapa é a coleta do material com extração por solvente, com a extração direta da glândula. A quinta e última etapa é identificação de substâncias biologicamente ativas, utilizando a cromatografia gasosa, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e eletroantenograma (GOULART et al., 2015; ZARBIN et al., 1999).

2.5. Comportamento sexual de *Thyrintaina arnobia*

O feromônio sexual aumenta o sucesso do acasalamento e pode ser produzido tanto por machos quanto por fêmeas, variando de acordo com a espécie estudada. Para a maioria das mariposas, é sabido que fêmeas emitem uma combinação de substâncias voláteis, através da exposição de uma glândula especializada de feromônio localizada entre o 8º e 9º segmentos abdominais. Tal comportamento, denominado de “chamamento”, desencadeia uma série de respostas comportamentais nos indivíduos machos, que se inicia com a percepção dos voláteis, atração, localização das fêmeas, corte e cópula (NASCIMENTO, 2013; MAGALHÃES et al., 2020).

Assim, um dos primeiros passos para o estudo do feromônio sexual de uma espécie é a elucidação do comportamento sexual, utilizando-o como base para a identificação do uso de feromônios a curta e longa distância, além do isolamento e extração da glândula feromonal. Dentre os fatores que interferem no comportamento

sexual e, conseqüentemente, na liberação do feromônio, destacam-se o fotoperíodo, a temperatura (NASCIMENTO, 2013), e o alimento, podendo causar alterações na idade em que as fêmeas realizam o chamamento pela primeira vez e na sua periodicidade (BATISTA-PEREIRA et al., 2004; LIMA & DELLA LUCIA 2001).

Para *T. arnobia*, Batista-Pereira et al. (2004) estudando o comportamento de chamamento de fêmeas virgens sob o efeito de três dietas (*P. guajava*, *E. grandis* e dieta artificial) observaram que o tipo de alimento oferecido na fase jovem influenciou o início do comportamento de chamamento (pré-chamamento) e o tempo médio total de duração desse comportamento, alterando também a coloração da glândula de feromônio exposta. Em *E. grandis*, esses mesmos autores descreveram o comportamento de chamamento de fêmeas de *T. arnobia*, indicando o início da exposição de glândula abdominal, de coloração esverdeada, para a 1ª hora da 1ª escotofase.

Porém a elucidação completa do comportamento sexual de *T. arnobia*, envolvendo atração, localização, corte e cópula ainda não foi descrita na literatura.

2.6. Estudo de sensilas em antenas

De maneira geral, os feromônios são detectados pelos neurônios sensoriais olfativos localizados nas sensilas, presentes nas antenas dos insetos. As antenas são apêndices articulados e móveis que apresentam três divisões principais, o primeiro seguimento é o escapo, que geralmente é maior do que os outros artículos, conhecido também como pedúnculo basal; o segundo seguimento é o pedicelo, que quase sempre apresenta um órgão sensorial conhecido como órgão de Johnston, que é um mecanorreceptor sensível que responde ao movimento do flagelo; o resto da antena é chamado de flagelo, podendo ser filamentosos e multiarticulados, com muitos flagelômeros. Em alguns insetos as antenas dos machos são mais elaboradas que as das fêmeas, esse aumento da área da superfície das antenas dos machos facilita a detecção de feromônios sexuais da fêmea (MAGALHÃES et al., 2020).

As sensilas são órgãos sensoriais que pode ter forma de pelos, botões, fossetas ou cones, ocorrem nas antenas e funcionam como quimiorreceptores, mecanorreceptores, termorreceptores e higrorreceptores. Estudos anteriores da ultraestrutura das antenas de diversas espécies de mariposas permitiram a identificação de vários tipos de sensilas quimiorreceptivas olfatórias, tais como: sensila basicônica, sensila tricoide, sensila celocônica, sensila cética, sensila esquamiformes, sensilla estilocônica e cerdas de

Böhm's bristles. Entretanto, as sensilas tricoides são apontadas como detectoras dos feromônios sexuais. 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).

As moléculas dos feromônio ao serem liberadas atravessam os poros das sensilas olfativas, em seguida, se ligam a proteínas específicas, chamadas proteínas ligantes de odor (OBP, *odorant-binding proteins*), as moléculas de feromônios são levadas aos dendritos dos neurônios sensoriais, ocorrendo a despolarização da membrana e a ativação da resposta do receptor (MAGALHÃES et al., 2020).

Embora já se saiba que as sensilas antenais de Lepidoptera desempenham papéis importantes no seu comportamento, ainda são poucas pesquisas realizadas, principalmente em algumas espécies de insetos-praga importantes (XIANGQUN et al., 2014).

Os estudos com intuito de visualizar e identificar sensilas quimiorreceptivas olfatórias em antenas vêm sendo realizados com o microscópio eletrônico de varredura (MEV), que fornece imagens de alta resolução. O MEV é considerado uma excelente ferramenta que auxilia na busca de respostas confiáveis para a caracterização microestrutural de amostras biológicas e não biológicas. A alta resolução das imagens obtidas pelo microscópio 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).

A microscopia eletrônica de varredura é uma boa ferramenta para estudos entomológicos na caracterização microestrutural dos insetos. O seu uso tem mostrado excelentes resultados, e vem surgindo como uma metodologia auxiliar nos estudos de morfológica clássica, já que, algumas estruturas não são visíveis no microscópio óptico (SANTOS-MALLET et al, 2008; AZEVEDO FILHO et al., 2008).

2.7. Feromônio sexual de *Thyrinteina arnobia*

Moreira et al. (2013) realizaram o isolamento dos componentes feromonais de fêmeas virgens de *T. arnobia*, utilizando técnicas de extração de glândulas abdominais e

micro-extração em fase sólida (SPME). Em análises, através de cromatografia gasosa acoplada a um detector eletroantenográfico (CG-EAD), obtiveram duas repostas significativas em antenas de machos de *T. arnobia*.

Em análises por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), esses mesmos autores identificaram o componente majoritário do feromônio sexual de *T. arnobia* como o um dos estereoisômeros do 3,4-epoxi-6,9-eneicosadieno, propondo ainda a síntese racêmica desse composto em 10 etapas com rendimento global de 28% (MOREIRA et al., 2013).

A síntese química de substâncias feromonais tem por objetivo a obtenção de compostos em maior escala, de forma economicamente viável, como o objetivo de realizar bioensaios em laboratório e em campo, viabilizando o desenvolvimento de estudos e novos produtos para o controle comportamental de pragas. Atualmente, não existe comercialmente a disponibilidade de feromônio sexual para o manejo das populações de *T. arnobia* em povoamentos florestais de eucalipto.

2.7.1. Bioatividade (EAG-CG)

É sabido que os insetos possuem um olfato muito desenvolvido, devido a sensibilidade e especificidade com que suas antenas atuam para detectar e discriminar os compostos químicos presentes no ambiente. O primeiro estudo de comportamento eletrofisiológico no sistema olfativo foi realizado por Schneider (1957), com a mariposa da seda *Bombyx mori*. Através desse estudo foi possível medir e registrar a resposta da antena de um macho frente ao feromônio sexual das fêmeas de *B. mori* (NAIME et al., 2006; ZARBIN et al., 1999).

A eletroantenografia (EAG) é uma técnica que mede todas as respostas das células receptoras da antena do inseto a estímulos provenientes de um composto bioativo, como um feromônio sexual (NAIME et al., 2006; ZARBIN et al., 1999). Nessa técnica, a antena do inseto é retirada e aderida no gel condutor, logo após, a antena é posicionada entre dois microeletrodos de platina que estão conectados a um amplificador e a um registrador, em seguida, a antena recebe um “puff” de composto químico. O eletrodo registrador, conectado ao ápice da antena, detecta a resposta elétrica, a qual é amplificada e visualizada como um traço, conforme no padrão de EAG. A eletroantenografia (EAG) pode operar com substâncias químicas puras, entretanto, quando acoplada ao

cromatógrafo gasoso (CG), pode-se trabalhar com misturas mais complexas (NAIME et al., 2006; ZARBIN et al., 1999; MORAES et al., 2008).

A técnica já vem sendo empregada em diferentes ordens de insetos, como: Coleoptera, Hemiptera, Orthoptera, Hymenoptera, Trichoptera e Lepidoptera (MORAES et al., 2008). Na ordem Lepidoptera, Borges et al. (2018) identificaram três compostos do extrato da glândula feromonal de fêmeas de *Helicoverpa armigera*, sendo eles o 9Z)-hexadecenal, (Z9-16:O), (Z11)-hexadecenal (Z11-16:O) e hexadecanal (16:O), mas através da eletroantenografia, foi possível observar que somente o Z9-16:O e o Z11- 16:O mostraram atração e induziram a resposta em antenas de machos de *H. armigera*.

De acordo com Naime et al. (2006), a eletroantenografia (EAG-CG) é uma ferramenta muito útil para auxiliar o pesquisador a identificar os compostos químicos que tem bioatividade eletrofisiologicamente em uma mistura complexa de compostos.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- ANDO, T.; YAMAMOTO, M. Semiochemicals containing lepidopteran sex pheromones: Wonderland for a natural product chemist. **J. Pestic. Sci.** 45(4), p.191–205, 2020.
- 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.
- 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.
- APIMEC. 2015.** Alagoas terá projeto de eucalipto para biomassa energética. Disponível em:
http://www.apimec.com.br/apimecNE/show.aspx?id_canal=2457&id_materia=3445.
Acesso em: 21 maio. 2019.
- 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.; QUEIROZ, D. L.; NICKELE, M. A.; QUEIROZ, E.; REIS FILHO, W.; IEDE, E. T.; PENTEADO, S. R. C. **Pragas de eucaliptos. O eucalipto e a Embrapa: quatro décadas de pesquisa e desenvolvimento**. Brasília: Embrapa, 1ed., p. 751-780, 2021.
- 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, 2014.
- BATISTA-PEREIRA, L. G. **A lagarta-parda, *Thyriniteina arnobia*, principal lepidóptero desfolhador da cultura do eucalipto**. (Dossiê Técnico - SBRT), 2007.

BATISTA-PEREIRA, L. G.; WILCKEN, C. F.; PEREIRA NETO, S. D.; MARQUES, E. N. Comportamento de chamamento de *Thyriniteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae) em *Psidium guajava*, *Eucalyptus grandis* e em dieta artificial. **Neotropical Entomology**, Brasil, v. 33, n.1, p. 21-28, 2004.

BORGES, M.; MICHEREFF, M. F. F.; LAUMANN, R. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; MAGALHÃES, D. M.; PAULA-MORA, S. V.; SPECHT, A. **Identificação e avaliação do feromônio sexual de *Helicoverpa armigera* e atração cruzada entre espécies de Noctuidae representativas do Brasil**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 336. Brasília: Embrapa, 2018.

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.

BUTENANDT, A.; BECKMAN, R.; STAMM, D.; HECKER, E. Über den sexuallockstoff des seidenspinners *Bombyx mori*-reindarstellung und konstitution. **Zeitschrift für Naturforschung Part B**, 14(4): 283-284, 1959.

CAMILO, S. S.; SOARES, M. A.; ZANUNCIO, J. C.; LEITE, G. L. D.; PIRES, E. M.; CRUZ, M. C. M. Plantas hospedeiras de *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) afetam o desenvolvimento do parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Revista Árvore** (Impresso), v. 39, p. 159-166, 2015.

CHÁCARAS & QUINTAIS. **Lagartas de eucalipto**. São Paulo. 80(6):721-722. 1949.

COSTA, E. C.; GARLET, J. **Insetos-praga de ocorrência na cultura do eucalipto**. In: SCGUMACHER, M. V.; VIERA, M. (Org.). *Silvicultura do eucalipto no Brasil*. Santa Maria: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 1ed., v. 1, p. 157-185, 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: 21 maio. 2022.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; 101

- VENDRAMIM, J.D. **Manual de Entomologia Agrícola**. 2a ed. S. Paulo, Ed. Agronômica Ceres, p. 649, 1988.
- GOULART, H. F.; LIMA, M. R. F.; MORAIS, R. K. S.; BERNARDO, V. B. Pheromones: A Green Alternative for the Integrated Pest Management. **Revista Virtual de Química**, v. 7, p. 1205-1224, 2015.
- HOLTZ, A. M. **Interações tritróficas afetando os surtos de pragas em Mirtacea**. Tese (“Magister Scientiae” em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, p.199, 2001.
- HOLTZ, A. M.; OLIVEIRA, H. G.; PALLINI, A.; VENZON, M.; ZANUNCIO, J. C.; OLIVEIRA, C. L.; MARINHO, J. S.; ROSADO, M. C. Desempenho de *Thyrintaina 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.
- IBÁ** – Indústria Brasileira de produtores de Árvores. Relatório Anual IBÁ 2021. São Paulo, p.93, 2021.
- IEDE, E. T. Importância das pragas quarentenárias florestais no comércio internacional: estratégias e alternativas para o Brasil. Colombo: Embrapa Florestas, 2005. (Embrapa Florestas. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 22). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/306464>.
- 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.
- 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.
- 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.
- MORAES C., M.; LEITE, L. A. R.; CASAGRANDE, M. M.; MIELKE, O. H. H. Imaturos de *Sarsina violascens* (Herrich-Schäffer) (Lepidoptera, Noctuidae, Lymantriinae). **Revista Brasileira de Entomologia** (Impresso), v. 54, p. 571-577, 2010.

- MORAES, G. J.; MACEDO, N. As principais pragas ocorridas em povoamentos de eucaliptos. **Boletim informativo IPEF**, v. 3, n. 10, p. 34-8, 1975.
- MOREIRA, J.A.; NEPPE, T.; PAIVA, M.M.; DEOBALD, A.M., BATISTA-PEREIRA, L.G.; PAIXÃO, M.W. & CORRÊA, A.G. **Studies towards the Identification of the Sex Pheromone of *Thyriniteina arnobia***. J. Braz. Chem. Soc., v.: 24, n.: 12, p.1933-1941, 2013.
- MORA, A. L.; GARCIA, C. H. **A cultura do eucalipto no Brasil**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 2000.
- MUCHALAK, F.; COSTA JUNIOR, W. V.; LOUREIRO, E. S.; PESSOA, L. G. A.; SILVA, A. A. P. Biologia comparada de *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) em *Eucalyptus* spp. **Research, society and development**, v. 9, p. e0591210801, 2020.
- 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).
- NASCIMENTO, E. S. **Comportamento de chamamento e evidência de feromônio sexual em *Atheloca subrufella* (Hulst) (Lepidoptera: Phycitidae)**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Universidade Federal de Sergipe, 2013.
- NORDLUND, D. A; LEWIS, W. J. Terminology of chemical-releasing stimuli in intraespecific and interespecific interactions. **Journal of Chemical Ecology**. v.: 2, p. 211-220, 1976.
- OLIVEIRA, H. N.; PEDRUZZI, E. P.; PEREIRA, F. F. **Técnica de criação de *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae)**. Dourados, MS: Embrapa Agropecuária Oeste, 2010.
- PEREIRA, J. M.; SANTOS, T. T. M.; SOLIMAN, E. P.; DIAS, T. K. R.; BALDIN, E. L. L.; WILCKEN, C. F. Survival and performance of *Sarsina violascens* (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae on Eucalyptus species and hybrids. **Phytoparasitica**, v. 50, p. 13-20, 2022.
- PHEROLIST. M.** IOBC Working Group “Pheromones and Other Semiochemicals in Integrated Production”. Fornece informações sobre feromônios e outros atrativos químicos para insetos, 2011. Disponível em: <http://www.pherolist.slu.se/pherolist.php>. Acesso em: 20 maio. 2022.

- 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.
- SANTOS, G. P.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; PIRES, E.M. (Evaldo Martins Pires). Pragas do eucalipto. **Informe Agropecuário** (Belo Horizonte), v. 29, p. 47-70, 2008.
- 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.
- SCHÜHLI, G. S.; PENTEADO, S. C.; BARBOSA, L. R.; REIS FILHO, W.; IEDE, E. T. A review of the introduced forest pests in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** (Online), v. 51, p. 397-406, 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.
- THOMAZINI, M. J. **A Comunicação Química entre os Insetos: Obtenção e Utilização de Feromônios no Manejo de Pragas**. In: Rivaldalve 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.
- 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.
- VITAL, M. H. F. Impacto ambiental de florestas de eucalipto. **Revista do BNDES**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 28, p. 235-276, 2007.
- WILCKEN, C. F.; BERTI FILHO, E. Biologia de *Thyrintea arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae) em dieta artificial (I): Seleção das dietas e influência da posição da dieta artificial no desenvolvimento das lagartas. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 81, n.3, p. 287-300, 2006.

- WILCKEN, C. F. **Biologia de *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) espécies de *Eucalyptus* e em dieta artificial.** Piracicaba, 129p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo, 1996.
- XAVIER, M. E. V.; BRENDA, M. O.; GONZAGA, E. P.; SANTOS, D. S.; COSTA, J. G. Ocorrência e análise de injúrias de *Costalimaita ferruginea* (Fabricius, 1801) (Coleoptera: Chrysomelidae) em clones de *Eucalyptus* em Alagoas. **Ciência florestal** (ONLINE), v. 29, p. 1452-1458, 2019.
- XIANGQUN, Y.; KE, G.; FENG, Y.; YALIN, Z. Ultrastructure of antennal sensilla of four skipper butterflies in *Parnara* sp. and *Pelopidas* sp. (Lepidoptera, Hesperiiidae). **ZooKeys** 399: 17–27, 2014.
- ZANUNCIO, J. C.; PIRES, E. M. **Pragas de eucalipto. Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.29, p.242, 2008.
- ZANUNCIO, J. C.; SANTANA, D. L. Q.; NASCIMENTO, E. C.; SANTOS, G. P.; ALVES, J. B.; SARTÓRIO, R. C.; ZANUNCIO, T. V. **Manual de pragas em florestas. Descrição das lagartas desfolhadoras: Biologia, Ecologia e Controle.** IPEF/SIF, v.1, n. 1, p. 140, 1993.
- 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.
- 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.
- ZACHÉ, B.; ZACHÉ, R. R. C.; WILCKEN, C. F. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of *Epseudosoma involuta* (Lepidoptera: Arctiidae) a lepidopteran defoliator in Brazil. **Revista Chilena de História Natural** (Impresa), v. 86, p. 3-6, 2013.

CAPÍTULO I – COMPORTAMENTO SEXUAL E ESTUDO DE SENSILAS EM *Thyriniteina arnobia* (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE).

RESUMO

O desenvolvimento de estudos de controle comportamental para *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) passa pela elucidação da ecologia química da espécie, que se inicia com a observação do comportamento sexual de chamamento, através da exposição da glândula abdominal de fêmeas. Após a liberação do feromônio, a percepção das substâncias químicas é realizada nas sensilas das antenas dos machos, cuja caracterização pode ser realizada utilizando-se a microscopia eletrônica de varredura (MEV). Dessa forma, o presente capítulo teve como objetivos: (i) avaliar o comportamento de chamamento de fêmeas virgens de *T. arnobia*; e (ii) caracterizar ultraestruturalmente as sensilas antenais de machos e fêmeas de *T. arnobia*. Para o bioensaio de observação do comportamento de chamamento foram utilizados 18 fêmeas e 36 machos de *T. arnobia*. Com a emergência dos adultos, o chamamento foi avaliado durante a escotofase e em seis dias consecutivos. O comportamento foi analisado através de filmagens, observações diretas e contínuas. Como resultados, foi observado que a exposição da glândula ocorreu após a 2ª hora da 1ª escotofase. O comportamento de chamamento foi caracterizado pela exposição da glândula feromonal das fêmeas de *T. arnobia* e aproximação dos machos no sentido da fonte emissora do feromônio. Já para a caracterização da morfologia estrutural das sensilas nas antenas de fêmeas e machos de *T. arnobia* foi utilizado a microscopia eletrônica de varredura. No total, seis tipos de sensilas foram identificadas em antenas de fêmeas e machos de *T. arnobia*, caracterizadas em tricoide, esquamiforme, caética, basicônica, celocônicas e estilocônica. As antenas de fêmeas e machos *T. arnobia* apresentam morfologia estrutural de sensilas distintas. As sensilas tricoides são as mais abundantes, principalmente em antenas de machos de *T. arnobia*, indicando que as mesmas podem responder aos estímulos de substâncias químicas, já que, essas sensilas são reconhecidas por sua função receptora de feromônios sexuais. O presente estudo permite uma maior compreensão da comunicação química entre fêmea e machos de *T. arnobia*, mediada por substâncias feromonais.

Palavras-chave: lagarta desfolhadora; eucalipto; feromônio sexual; chamamento; sistema olfativo sensorial; microscopia eletrônica de varredura.

SEXUAL BEHAVIOR AND SENSILS STUDY IN *Thyriniteina arnobia* (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE)

ABSTRACT

The development of behavioral control studies for *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) involves the elucidation of the chemical ecology of the species, which begins with the observation of the sexual behavior of calling, through the exposure of females abdominal gland. After the pheromone release, the perception of the chemical substances is carried out in the sensilla of male antennae, whose characterization can be carried out using scanning electron microscopy (SEM). Thus, this chapter aimed to: (i) evaluate the calling behavior of virgin females of *T. arnobia*; and (ii) ultrastructurally characterize the antennal sensilla of males and females of *T. arnobia*. For the observation of calling behavior, 18 females and 36 males of *T. arnobia* were used. With the emergence of adults, calling behavior was evaluated during scotophase and on six consecutive days. The behavior was analyzed through filming, direct and continuous observations. As a result, it was observed that the gland exposure occurred after the 2nd hour of the 1st scotophase. The calling behavior was characterized by the exposure of the pheromone gland of the females of *T. arnobia* and the approaching of the males towards the emitting source of the pheromone. For the characterization of the structural morphology of the sensilla in the antennae of females and males of *T. arnobia*, scanning electron microscopy was used. In total, six types of sensilla were identified in antennae of females and males of *T. arnobia*, characterized in trichoid, squamiform, caetic, basiconic, celoconic and styloconic. The antennae of female and male *T. arnobia* have different structural morphology of sensilla. The trichoid sensilla are the most abundant, mainly in the antennae of *T. arnobia* males, indicating that they can respond to stimuli from chemical substances, since these sensilla are recognized for their sex pheromone receptor function. The present study allows a better understanding of the chemical communication between female and male *T. arnobia*, mediated by pheromonal substances.

Keywords: defoliator caterpillar; eucalyptus; sex pheromone; calling behavior; sensory olfactory system; scanning electron microscopy.

1. INTRODUÇÃO

A comunicação entre machos e fêmeas de insetos da mesma espécie, na maioria das vezes, é intermediada por feromônios sexuais. O feromônio sexual é um odor que estimula mudanças comportamentais do sexo oposto, levando a atração e a aproximação de machos e fêmeas para o acasalamento (GULLAN & CRANSTON, 2017; MAGALHÃES et al., 2020).

Acredita-se que a maioria, ou 66%, das pesquisas desenvolvidas com feromônios utilizam a atração sexual. O interesse por pesquisas com feromônios sexuais é principalmente pela perspectiva de uso desses compostos em táticas de controle ou monitoramento de insetos-praga em áreas agrícolas e florestais (ZARBIN et al., 2009; ANDO & YAMAMOTO, 2020).

Em Heterocera (Lepidoptera), os compostos químicos ou feromônios sexuais, são produzidos, nas mariposas, pelas fêmeas, a partir de glândulas exócrinas, também conhecida como glândulas abdominais, que geralmente estão localizadas entre o 8º e o 9º segmentos abdominais do inseto. A síntese dos compostos químicos nas glândulas feromonais pode ser contínua, mas a liberação e percepção no ambiente são controladas pela fisiologia dos insetos e por condições climáticas e ambientais (ARIOLI et al., 2013; MAGALHÃES et al., 2020).

O comportamento sexual dos insetos desencadeado pelos feromônios sexuais é inicializado com a exposição da glândula feromonal, onde a fêmea fica em posição de chamamento. Ao expor as glândulas, as fêmeas tendem a emitir o feromônio sexual que quando liberado, é dissipado pelo vento, gerando uma trilha de odor que segue a direção da corrente de ar. De forma geral, a percepção de compostos químicos acontece em áreas específicas das antenas dos insetos, denominada sensilas, que desencadeiam uma série de respostas comportamentais do receptor. As sensilas são estruturas básicas que fazem percepção dos estímulos ambientais cuja funções mecanorreceptoras, termorreceptoras, higrorreceptoras e quimiorreceptoras, variam de acordo com a morfologia da sensila (ARIOLI et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2013).

Os machos, em resposta à presença do feromônio sexual desenvolvem uma sequência de comportamentos: 1- movimentam as antenas, elevando-as; 2- Caminham movimentando as asas; 3- iniciam um voo errático em zigue-zague; 4- localizam a trilha

de odor; 5- localizam a fêmea; 6- uma serie de estímulos táteis e visuais são iniciadas; 7- a cópula (ARIOLI et al., 2013).

Para *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), Batista-Pereira et al. (2004) descreverem o comportamento de chamamento de fêmeas, indicando o início da exposição de glândula abdominal, de coloração esverdeada, para a 1ª hora da 1ª escotofase. Porém, diversos fatores podem interferir no comportamento sexual e, conseqüentemente, na liberação do feromônio, destacando-se o fotoperíodo, a temperatura (NASCIMENTO, 2013) e o alimento, causando alterações na idade em que as fêmeas realizam o chamamento pela primeira vez e na sua periodicidade (BATISTA-PEREIRA et al., 2004; LIMA & DELLA LUCIA 2001).

Em virtude disso, estudos complementares que busquem elucidar o comportamento sexual de populações de *T. arnobia* são essenciais. Além disso, devido a importância das antenas no comportamento sexual, é necessário o estudo morfológico estrutural de sensilas antenais de *T. arnobia*, material ainda não disponível na literatura.

Desta forma, a pesquisa tem como objetivos (i) avaliar o comportamento de chamamento de fêmeas virgens de *T. arnobia*; e (ii) caracterizar ultraestruturalmente as sensilas antenais de machos e fêmeas de *T. arnobia*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

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

2.1. Coleta e manutenção de *T. arnobia*

Formas biológicas (ovos, lagartas, pupas e adultos) de *T. arnobia* foram coletadas em povoamentos florestais de *E. urograndis*, variedade 1407 e 224, na Agropecuária Albuquerque, no município de Atalaia, Alagoas, com latitude de 9° 30' 27" S e longitude de 36° 1' 24" para início da criação estoque do Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal (LEAF) do CECA-UFAL.

Os ovos foram imersos em solução de sulfato de cobre a 5% durante 1 minuto, lavados com água destilada e acondicionados em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido até a eclosão das lagartas. Após a eclosão, as lagartas eram acondicionadas em gaiolas de tubos PVC com medição de 10 x 20 cm, sendo necessário revestir as aberturas com tecido tipo voile. Para alimentação, eram oferecidas folhas de *E. urograndis* em galhos, colocados em garrafas de vidro com água, até a perda de turgescência, ocorrendo assim a substituição por galhos novos. As pupas eram sexadas e acondicionadas em pares nas gaiolas de tubos de PVC, revestida internamente com papel sulfite, para emergência e oviposição dos adultos. Os adultos foram alimentados diariamente com solução de mel a 10%. Os ovos eram coletados diariamente do papel sulfite com o auxílio de tesoura e pincel (adaptado de WILCKLEN, 1996).

2.2. Observação do comportamento sexual de *T. arnobia* (Chamamento)

Nos bioensaios de observação do comportamento de chamamento foram utilizados um total de 54 insetos, 18 fêmeas e 36 machos de *T. arnobia*. Os insetos foram colocados, em estágio de pupa, em oito recipientes plásticos transparentes com capacidade para 1,8L (150 mm x 147 mm). A tampa do recipiente continha um orifício recoberto por tecido do tipo voile. Além dos recipientes, insetos foram colocados em um aquário com capacidade para 6,3L (27 cm x 12 cm x 19,5 cm) coberto com papel filme com furos. Em cada recipiente, duas fêmeas para quatro machos foram adicionadas, assim como no aquário. A lâmpada da sala de estudo foi adaptada e coberta por quatro camadas de papel celofane vermelho.

As observações do comportamento de chamamento de fêmeas de *T. arnobia* se iniciou com a emergência dos adultos que eram alimentados com solução de mel a 10%. O comportamento foi analisado através de filmagens, além de observações diretas e contínuas. As avaliações ocorreram durante a escotofase e em seis dias consecutivos.

2.3. Preparação da antena para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A preparação das antenas para microscopia foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), no município de Rio Largo, Alagoas. Foram utilizadas seis antenas de indivíduos adultos de *T. arnobia*, três de machos e três 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 *T. arnobia*

A análise foi realizada no Laboratório de Análise Instrumental do Departamento de Química do Instituto Federal de Alagoas (IFAL), Campus Maceió. Para análise, as antenas foram postas sob uma superfície de um papel sulfite para retirada do excesso de etanol, posteriormente, as antenas foram fixadas separadamente nos lados dorsal e ventral, 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 15 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. 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 Lepidoptera (AZEVEDO FILHO & PRATES JÚNIOR, 2005; SANTOS et al., 2008; XIANGQUN et al., 2014; NDOMO-MOUALEU et al., 2014; SEADA, 2015; MA et al., 2016; BAWIN et al., 2017; SILVA et al., 2019; LIMBERGER et al., 2020).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Observação do comportamento sexual de *T. arnobia*

No bioensaio de comportamento de chamamento, das 18 fêmeas de *T. arnobia* analisadas, apenas quatro foram observadas em posição de chamamento, que consiste na exposição da glândula feromonal. Duas fêmeas no recipiente plástico (1,8L) e duas em aquário (6,3L). As primeiras exposições da glândula abdominal ocorreram após a 2ª hora da 1ª escotofase.

As fêmeas observadas no recipiente plástico (1,8L), realizaram o chamamento pousando na superfície da tampa, mantendo a região posterior do abdome distante da superfície da tampa, assim como as asas, voltadas para o fundo do recipiente. As antenas

foram direcionadas para a lateral da cabeça (Figura 1). Durante o início do chamamento, a glândula feromonal era exposta e retraída durante um período até assumir a posição de chamamento, com a exposição total da glândula. Apesar da observação da exposição glândula, não foi observada respostas ativas dos machos.

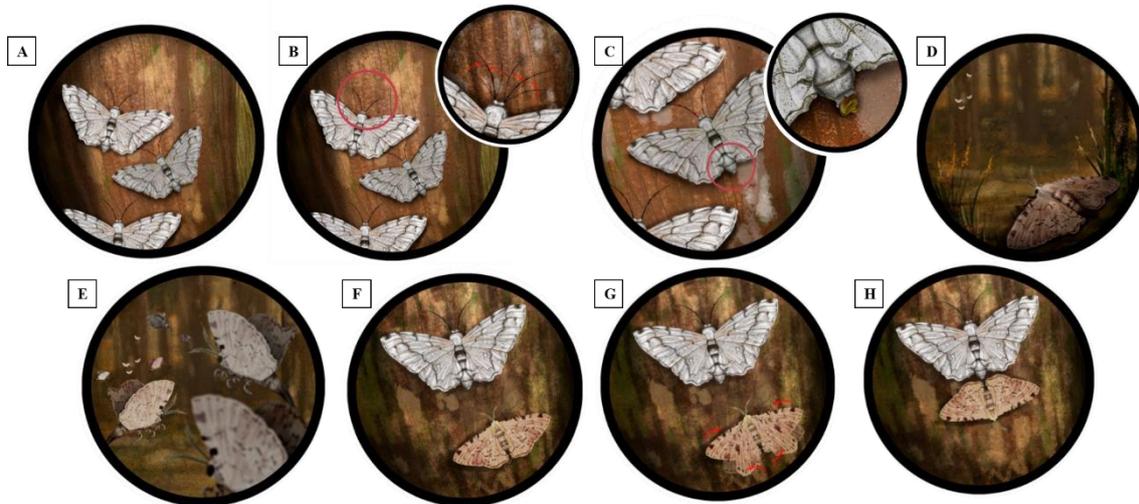
Figura 1. Fêmea de *Thyrinteina arnobia* Stoll (1782) (Lepidoptera: Geometridae) parada em posição de chamamento, com a glândula de feromônio evertida (porção final do abdome).



Fonte: Autora, 2023.

As fêmeas colocadas no aquário (6,3L), assumiram a posição de chamamento pousando na superfície lateral do aquário com a cabeça orientada para cima e com as asas abertas. As antenas das fêmeas, durante a exposição da glândula ficaram se movimentando para a frente e para a lateral da cabeça. As antenas dos machos ficaram orientadas para frente da cabeça, assim que se iniciou da exposição das glândulas das fêmeas de *T. arnobia* (Figura 2A). Os machos responderam ao chamamento, se agitando e realizando voos erráticos, em seguida, realizando alguns pulos giratórios, logo após, o macho pousa na superfície do aquário com as asas em repouso (Figura 2B), em seguida, começa a movimentar as asas e a girar o seu corpo em direção a glândula exposta da fêmea (Figura 2C), quando fica em frente a glândula o macho se manteve parado (Figura 2D).

Figura 2. Etograma do comportamento de chamamento de fêmea de *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). *Thyrinteina arnobia* (lagarta-parda-do-eucalipto). (A) fêmea em posição de chamamento, com a glândula de feromônio evertida (final do abdome). (B e C).



Fonte: Autora, 2023.

A posição adotada pela fêmea de *T. arnobia* com a extensão do ovipositor para a exposição da glândula feromonal é uma característica principal no comportamento de chamamento de lepidópteros (TURGEON & MCNEIL, 1982; PARRA-PEDRAZZOLI & LEAL, 2006; CASTREJÓN-GÓMEZ, 2010).

Batista-Pereira et al. (2004) que também estudaram o comportamento de chamamento fêmeas virgens de *T. arnobia* sobre o efeito de três dietas: *P. guajava*, *E. grandis* e dieta artificial, observaram que a maioria das fêmeas virgens iniciou o chamamento na 1ª hora da 1ª escotofase, divergindo com o presente estudo. As fêmeas estudadas por Batista-Pereira et al. (2004) apresentaram duas posições diferentes de chamamento. Algumas das fêmeas estudadas pelos autores, pousaram na superfície lateral da gaiola com a cabeça orientada para cima, com as asas ligeiramente abertas, semelhante às asas da posição de repouso absoluto, posição semelhante observada no presente trabalho quando as fêmeas foram observadas no aquário, já a posição de menor ocorrência observada pelos autores, foi caracterizada pela elevação das asas acima do abdome. As antenas, em ambas as posições, eram direcionadas lateralmente e paralelas ao bordo costal das asas. As pernas ficaram estendidas, posicionado o abdome afastado do substrato. Nas duas posições de chamamento observadas pelos autores, os dois últimos segmentos

abdominais eram totalmente protraídos até o aparecimento da glândula, mas, no início do chamamento eram protraídos de forma incompleta. Fazendo assim, que a glândula não fosse evertida.

Durante o comportamento de *T. arnobia*, foi possível observar que, após a exposição total da glândula, a fêmea ao perceber a ausência de cópula, realiza uma postura de massa de ovos inférteis (Figura 3). Esse tipo de comportamento é comum em algumas espécies de insetos. Quando as fêmeas não encontram um macho para o acasalamento elas tendem a realizar postura de ovos inférteis, por não possuírem mecanismos para reabsorvê-los (LESPASPI & O'NEIL 1993, TORRES et al. 1997).

Figura 3. Postura de fêmeas *Thyrintaina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) contendo massa de ovos inférteis.



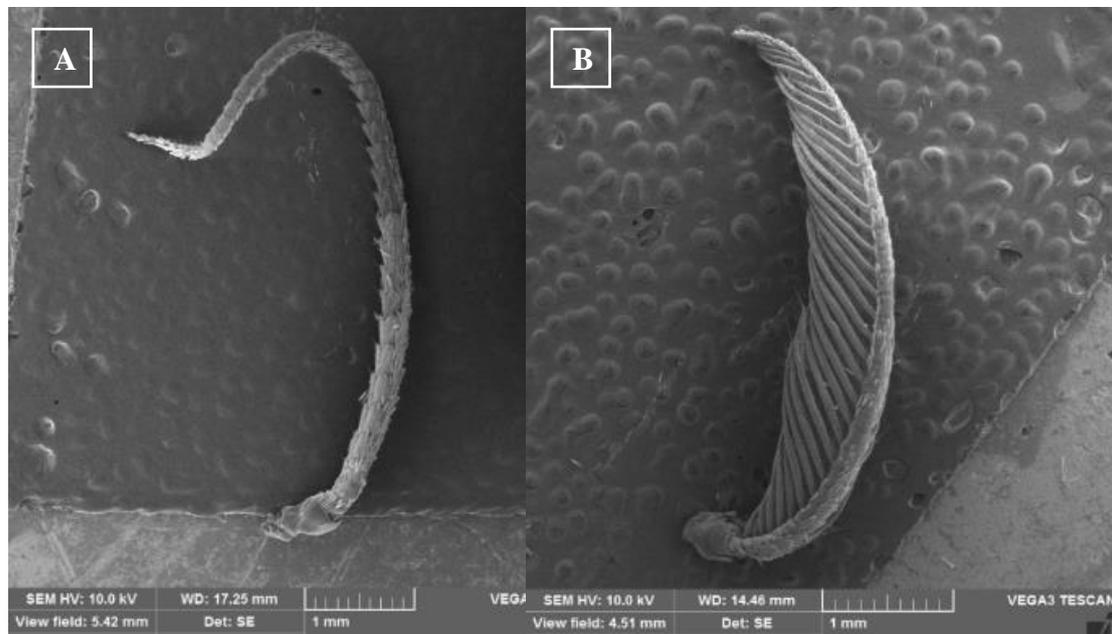
Fonte: Autora, 2023.

3.2. Ultraestrutura da antena e tipos de sensilas de *T. arnobia*

A morfologia das antenas de fêmeas e de machos de *T. arnobia* são estruturalmente distintas, havendo dimorfismo antenal. A antena da fêmea é filiforme (Figura 4A). A antena do macho é bipectinada (Figura 4B e 5D). A antena filiforme é caracterizada como uma estrutura linear semelhante a um fio ou filamento, onde, os artículos possuem o mesmo diâmetro em toda a extensão da antena, já a antena bipectinada possui um filamento central com projeções laterais longas, assemelhando-se a escama de peixe, uma pena ou a um pente. Esse dimorfismo antenal, é comum em algumas espécies de mariposas e já foi observado em: *Automeris liberia* (Cramer, 1780) (Lepidoptera: Saturniidae), *Stenalcidia grosica* Schaus (Lepidoptera: Geometridae),

Psorocampa denticulata Schaus (Lepidoptera: Notodontidae), *Glena unipennaria unipennaria* (Guenée, 1857) (Lepidoptera: Geometridae), dentre outras espécies de importância econômica florestal. Estudos anteriores apontam que antenas bipectinadas de machos da ordem lepidóptera dispõem de uma área maior, permitindo assim, ter uma maior quantidade de estruturas olfativas, quando comparada a área das antenas filiformes das fêmeas (SILVA et al., 2019; AZEVEDO FILHO & PRATES JÚNIOR, 2005; SANTOS et al., 2008).

Figura 4. Dimorfismo antenal em *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). Antenas de fêmea ♀ do tipo filiforme (A). Antenas de macho ♂ do tipo bipectinada (B).

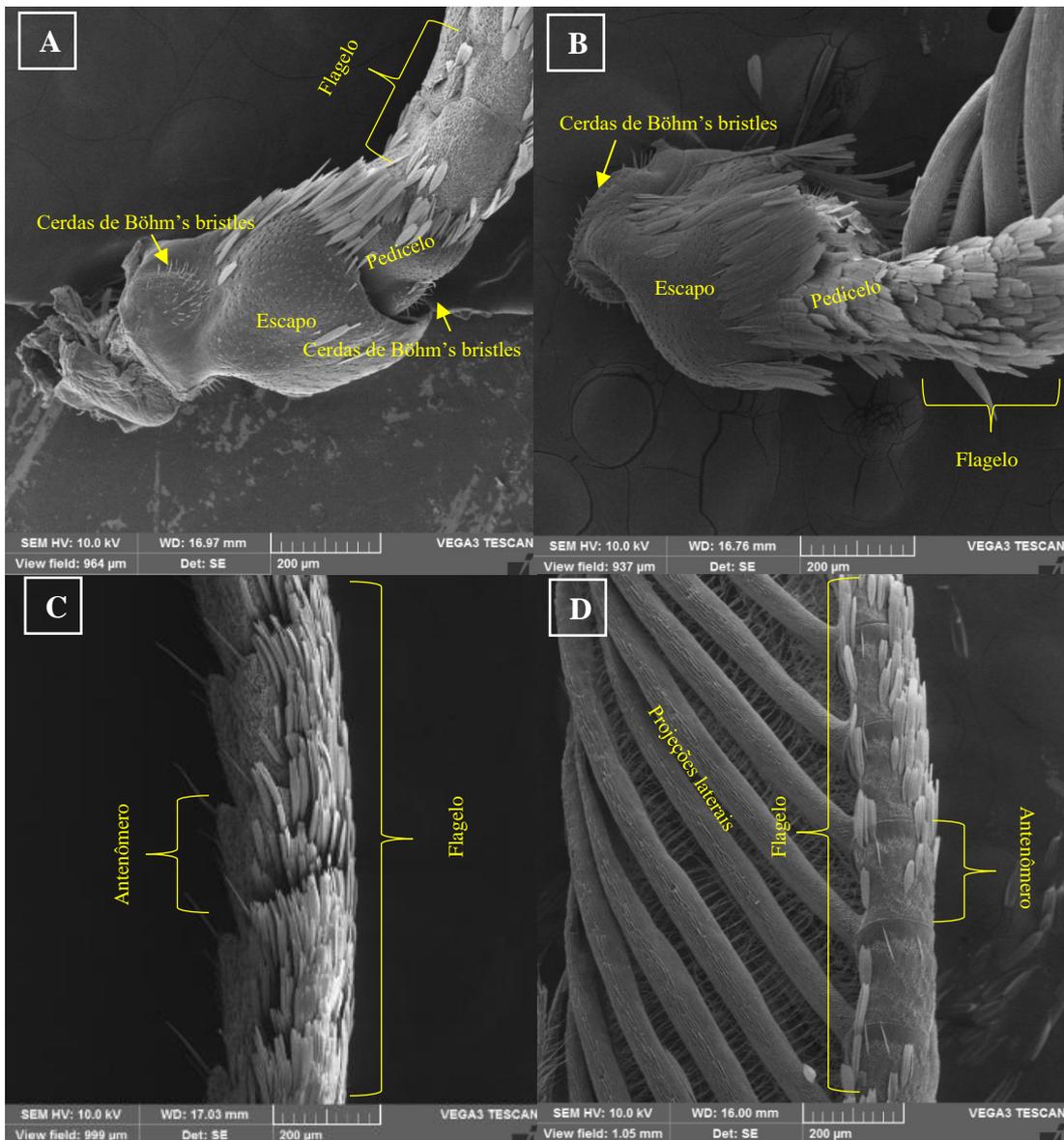


Fonte: Autora, 2023.

A antena de fêmeas e machos de *T. arnobia* é dividida, como para Insecta, 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, possuindo aparência arredondada. Na base do escapo das antenas de fêmeas e de machos notou-se a presença das cerdas de Böhm's bristles. Em antenas de fêmeas, além do escapo, as cerdas estão presentes no pedicelo. O pedicelo é o segundo segmento, mais curto quando comparado aos demais, sendo responsável por ligar o escapo ao flagelo (Figura 5A e 5B). O terceiro e último segmento é o flagelo, constituído por muitos subsegmentos denominados de antenômeros (Figura

5C e 5D). Nos antenômeros da antena de machos de *T. arnobia* é possível visualizar projeções laterais que saem a partir do ramo principal (Figura 5D).

Figura 5. Segmentos antenais em *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). Antenas de fêmea ♀ do tipo filiforme (5A e 5C). Antenas de macho ♂ do tipo bipectinada (5B e 5D).



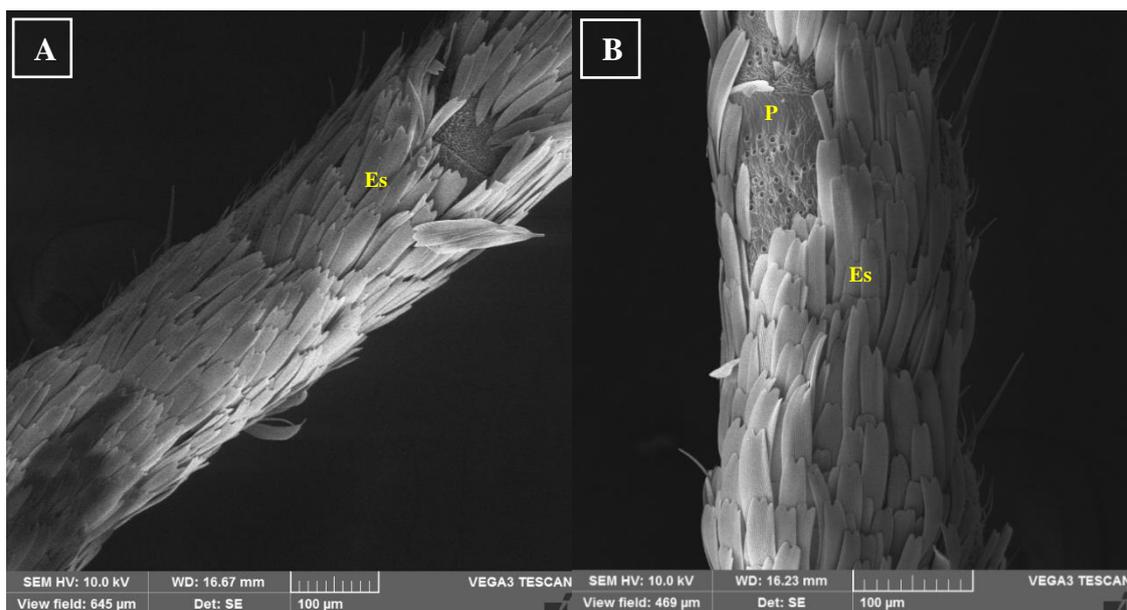
Fonte: Autora, 2023.

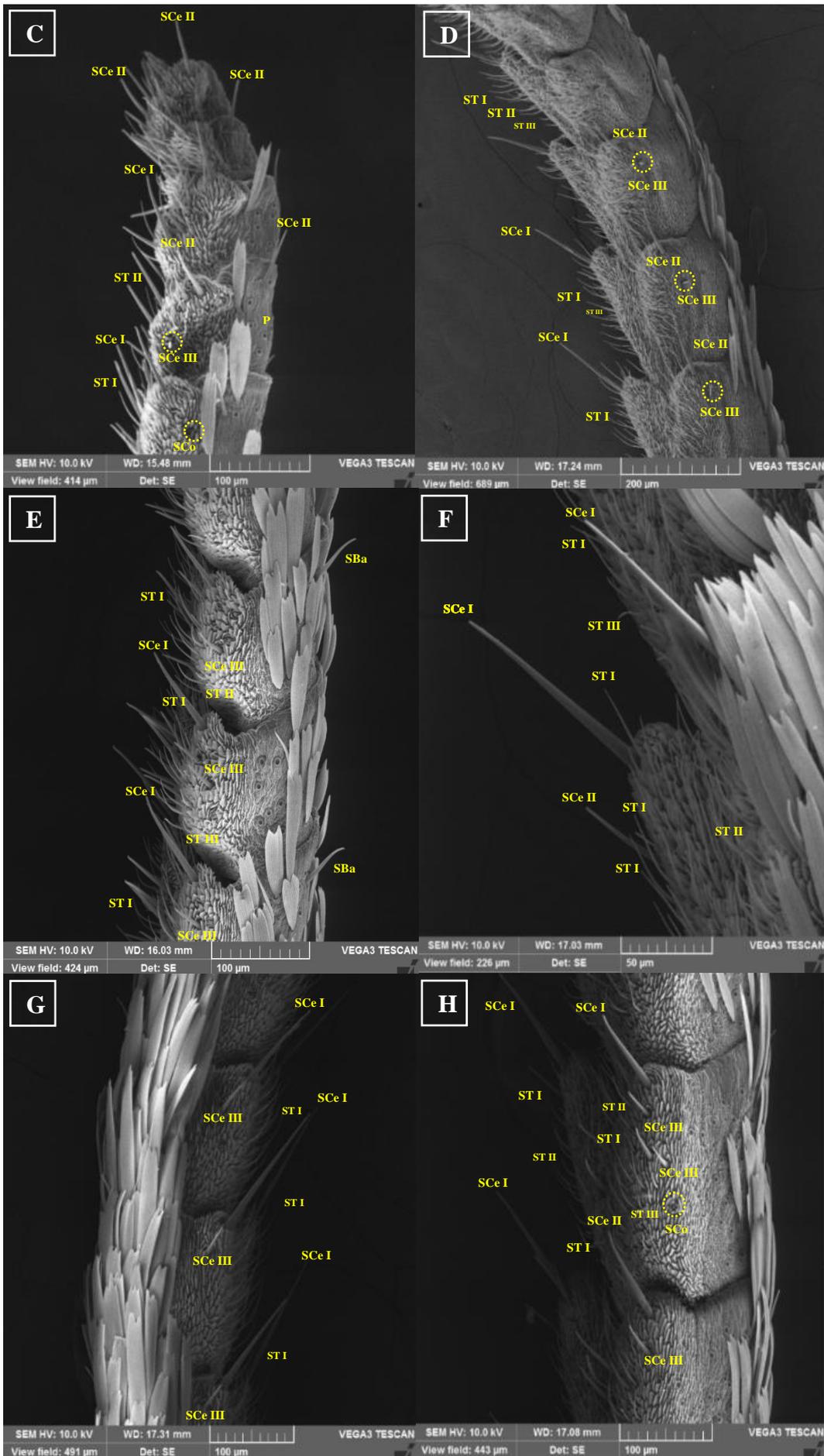
No total, seis tipos de sensilas foram observadas nas antenas de fêmeas e machos de *T. arnobia*, caracterizadas em: (i) tricoide (ST); (ii) esquamiforme (SEsq); (iii) cética (SC); (iv) basicônica (SBa); (v) coleocônicas (SCo); e (vi) estilocônica (SEst) (Figura 6C até 6H). As sensilas céticas e tricoides foram divididas em três subtipos. Os subtipos foram classificados como longo (I), médio (II) e curto (III), considerando os comprimentos de cada estrutura sensorial. As sensilas estilocônica foram divididas em dois subtipos, de

acordo com a sua quantidade de pino região apical da sensila, sendo a estilocônica unitária com um pino (SEst 1p) e as sensilas estilocônica com mais de um pino conectado (SEst +1p).

As sensilas encontradas nas antenas de fêmeas de *T. arnobia* são caracterizadas em quatro tipos, tricoide (I, II e III), cética (I, II e III), coleocônicas e basicônica, distribuídas na extensão antena. Na superfície dorsal da antena de fêmea de *T. arnobia*, os antenômeros basais e centrais são cobertos por escamas, entretanto, constatou-se a ausência de sensilas nessa região (Figura 6A e 6B). Na região apical do flagelo da antena de fêmea de *T. arnobia* foi observado a presença de sensilas tricoides (I e II), céticas (I, II e III) e coleocônica, sendo as céticas as mais abundantes nessa região, encontradas tanto na superfície dorsal quanto a ventral (Figura 6C). Nos antenômeros centrais da antena, na superfície ventral, observou-se a diminuição de sensilas céticas (I, II e III), uma maior frequência de sensilas tricoides (I, II e III) (Figura 6D até 6G) e a presença de sensilas basicônica (Figura 6E). Conforme foi se aproximando da base do flagelo, na superfície ventral, notou-se novamente o aumento das sensilas céticas (I, II e III) e a presença da sensila coleocônica (Figuras 6H).

Figura 6. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das antenas de fêmea ♀ de *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). (A e B) antenômeros basais e centrais da superfície dorsal; (C) superfície dorsal e ventral da região apical do flagelo; (D, E, F e G) antenômeros centrais da antena; (H) antenômero basais da antena. Es: escamas; P: presença de orifícios; S Ce I, S Ce II e S Ce III: sensilas céticas; ST I, ST II e ST III: sensilas tricoides; SBa: sensila basicônica; SCo: sensila coleocônica.

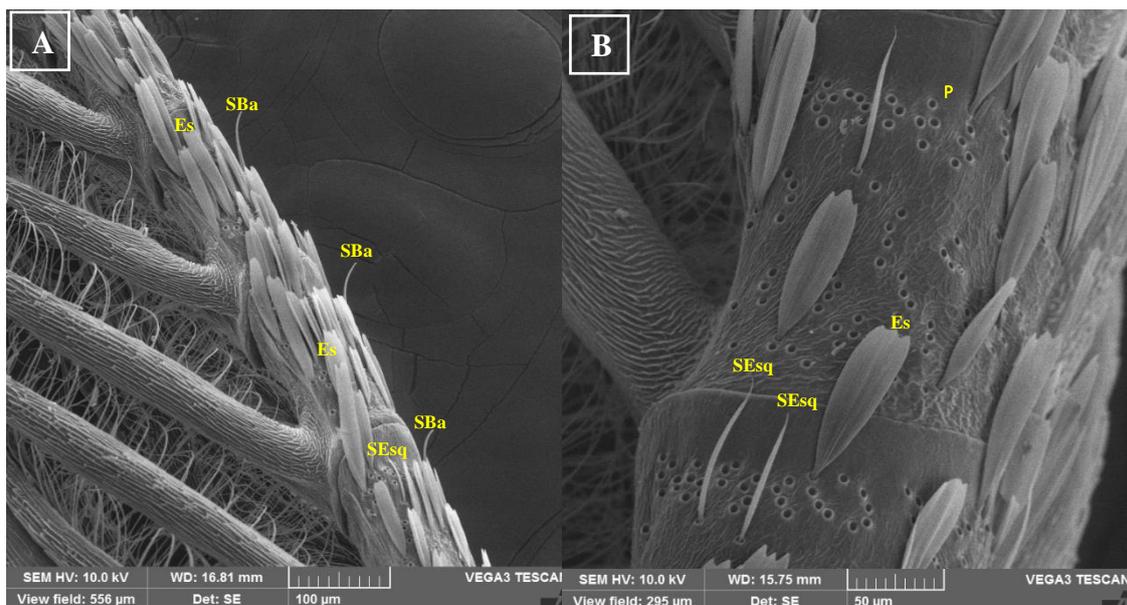


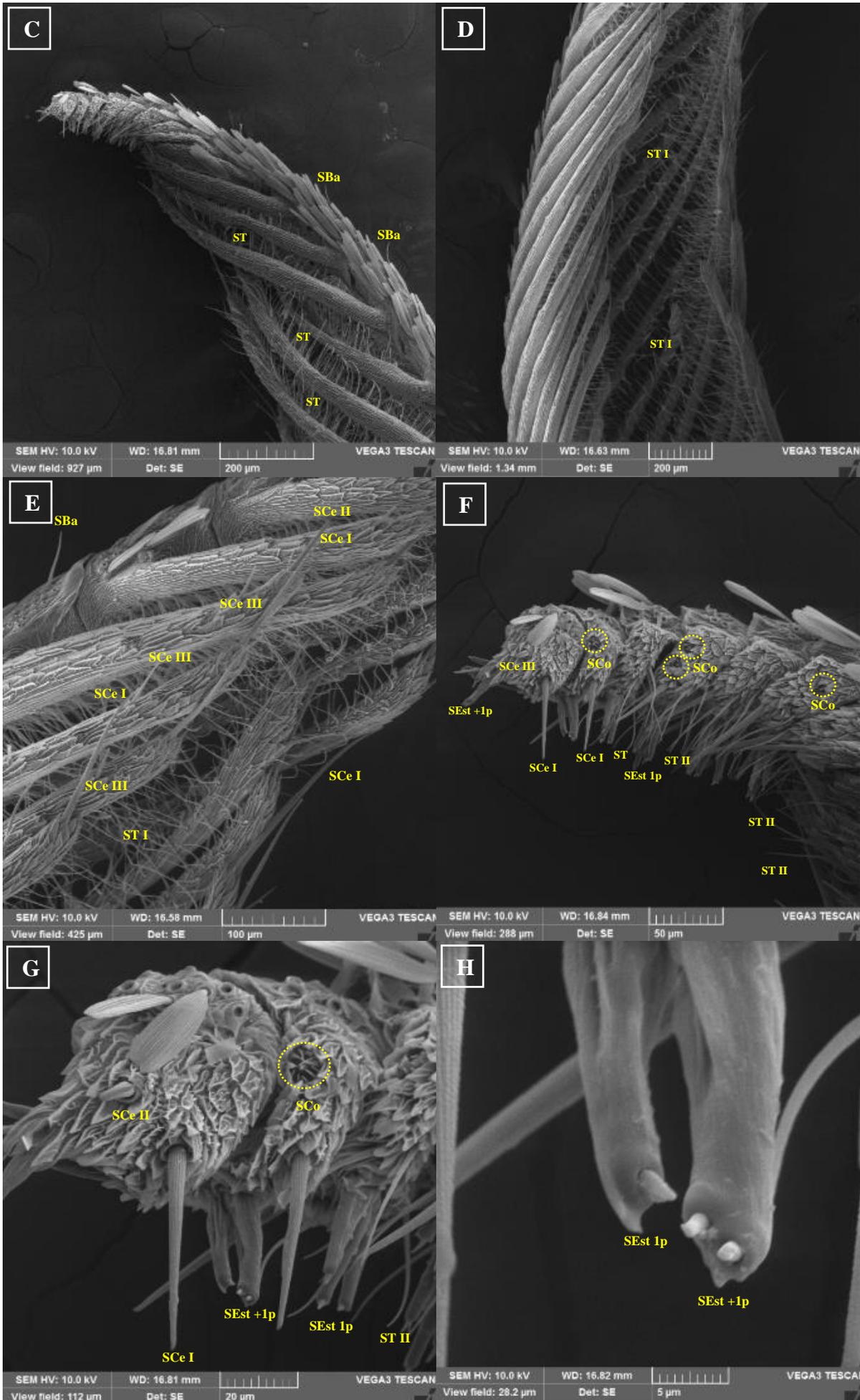


Fonte: Autora, 2023.

As sensilas encontradas nas antenas de macho de *T. arnobia* são caracterizadas em seis tipos, sensilas tricoides (I e II), esquamiformes, basicônica, céticas (I, II e III), coleocônicas e estilocônicas, distribuídas na extensão antena. A superfície dorsal do flagelo, o ramo principal é coberto por escamas e tem a presença das sensilas esquamiforme e basicônica (Figura 7A até 7C). Nas projeções laterais dos antenômeros foi possível observar tanto na superfície dorsal quanto na ventral uma grande quantidade de sensilas tricoides (Figura 7C e 7D). Nas pontas das projeções laterais das antenas de macho, observou-se a presença além de sensilas tricoides I, a presença de sensilas céticas (I, II e III) (Figura 7E). Nos últimos oito antenômeros da antena de macho de *T. arnobia*, as projeções laterais torna-se ausentes, logo, diminui-se a quantidade de sensilas tricoides, sendo II observada nessa região, entretanto, observou-se a presença de sensilas céticas (I e III), sensilas coleocônicas, sensilas estilocônicas com apenas um pino e das sensilas estilocônica com mais de um pino conectado (Figura 7F até 7H) sendo as sensilas céticas I e as sensilas estilocônicas com um ou mais pino, mais frequente nessa região.

Figura 7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das antenas de macho ♂ de *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). (A e B) antenômeros basais e centrais da superfície dorsal; (C) superfície dorsal e ventral flagelo da antena; (D e E) superfície ventral das ramificações dos antenômeros; (F e G) superfície dorsal e ventral dos antenômeros apicais; (H) sensilas estilocônica. Es: escamas; SBa: sensila basicônica; P: presença de orifícios; SEsq: sensila esquamiforme; SCe I, SCe II e SCe III: sensilas céticas; ST: sensilas tricoides; SCo: sensila coleocônica; SEst 1p: estilocônica unitária com um pino; SEst +1p: sensilas estilocônica com mais de um pino conectado.





Fonte: Autora, 2023.

As cerdas Böhm's bristles, foram observadas na região basal do escapo da antena de fêmea e macho de *T. arnobia*. São estruturas comuns, encontradas em algumas espécies de mariposas como em *Automeris liberia* (Cramer, 1780) (Lepidoptera: Saturniidae), *Ectropis obliqua* Prout 1915 (Lepidoptera: Geometridae), *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), *Sitotroga cerealella* Oliver, 1789 (Lepidoptera: Gelechiidae), *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Plutellidae) e algumas espécies de borboletas como *Parnara guttata* (Bremer & Grey), *Parnara bada* (Moore), *Pelopidas mathias* (Fabrício) e *Pelopidas agna* (Moore) (Lepidoptera, Hesperiiidae). As cerdas de Böhm's bristles são caracterizadas como estruturas que se assemelham a espinhos, com superfícies lisas e sempre estão agrupadas nas regiões basais do escapo ou do pedicelo (Figura 5A e B) (SILVA et al., 2019; XIANGQUN et al., 2014; MA et al., 2016). São ainda, apontadas como mecanorreceptoras, responsáveis por mediar o movimento e o posicionamento da antena, através da atividade desempenhada pelos músculos da antena em conjunto como o estímulo sensorial (SILVA et al., 2019).

As sensilas tricóides foram as mais abundantes, observadas em antenas de ambos os sexos de *T. arnobia*. Nas fêmeas, três subtipos de sensilas tricóides foram encontradas na extensão 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 (Figura 6D). Já na antena do macho de *T. arnobia* tem a presença de dois subtipos de sensilas tricóides (I e II), a tipo ST I foram encontradas, principalmente nas projeções laterais da antena bipectinada, em grandes quantidades (Figura 7C-E), já a ST II, se encontraram nos antenômeros apicais da antena (Figura 7F e G). As sensilas tricóides já foram observadas em diversas espécies da ordem lepidoptera tais como *A. liberia*, *E. obliqua*, *T. absoluta*, *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813) (Lepidoptera: Pyralidae), *Ascia monuste* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pieridae) e *Spodoptera littoralis* (Boisd) (Lepidoptera: Noctuidae) (SILVA et al., 2019; MA et al., 2016; NDOMO-MOUALEU et al., 2014; BAWIN et al., 2017; LIMBERGER et al., 2020; SEADA, 2015) sendo também, apontadas como as mais numerosas quando comparada as demais sensilas antenais.

As sensilas tricóides são caracterizadas como estruturas que se assemelha à um pelo ou a um cabelo, que afunila-se apicalmente (Figura 6E e 7E). Estudos anteriores relatam que as sensilas tricóides tem a função quimiorreceptora, podendo realizar a quimiorrecepção de contato (ou gustativa) e quimiorrecepção distante (ou olfatória). São

estruturas multiporadas, associadas principalmente na detecção de feromônios sexuais (XIANGQUN et al., 2014; SEADA, 2015; SILVA et al., 2019).

Jing et al (2019) realizaram um estudo para verificar o mecanismo de detecção de feromônios sexuais feminino através de sensilas tricoides de antenas machos de *Ectropis grisescens* Warren 1894 (Lepidoptera: Geometridae) e *E. obliqua* (Lepidoptera: Geometridae). As sensilas tricoides das duas espécies foram subdivididas em três tipos, de acordo com suas respostas aos feromônios sexuais. Segundo os autores, as sensilas tricoides de ambas as espécies responderam de forma semelhante a todos componentes de feromonas sexuais. O tipo de sensila tricoide I respondeu especificamente a Z3,epo6,Z9-18:H. O tipo de sensila tricoide II respondeu a Z3,epo6,Z9-18:H e Z3,Z6,Z9-18:H e o tipo de sensila tricoide III respondeu a Z3,epo6,Z9-18:H.

As sensilas céticas observadas nas antenas de fêmea de *T. arnobia* encontraram-se distribuídas principalmente no último seguimento apical do flagelo, característica também observada em antenas de fêmeas de *S. littoralis* e *A. liberia* (SEADA, 2015; SILVA et al., 2019) além disso, as sensilas céticas foram encontradas na região basal do flagelo de antenas de fêmeas de *T. arnobia*, já em antenas de machos, as sensilas céticas são encontradas nas pontas das ramificações laterais do flagelo e na região apical do flagelo, corroborando com o que foi observado em *A. liberia* (SILVA et al., 2019).

As sensilas céticas são caracterizadas morfológicamente por terem uma cavidade na base, base larga, serem retas, pontiagudas na extremidade distal, por possuir sulcos longitudinais ao longo da sua superfície e ter tamanhos variáveis (Figuras 6G-H e 7G). De maneira geral, os estudos relatam que as sensilas céticas estão relacionadas a funções mecanorreceptoras, entretanto, alguns estudos apontam que essas sensilas podem também, ter funções quimiorreceptoras, quando se tem a presença de poros (SEADA, 2015; SILVA et al., 2019).

As sensilas basicônicas (SBa) foram observadas tanto em antenas feminina quanto nas masculina, na superfície dorsal da antena entre as escamas (Figura 6E e 7A). A SBa é relatada em antenas de diversas espécies da ordem lepidoptera, como por exemplo em antenas de machos e fêmeas de *A. liberia* e em antenas de fêmeas de *S. littoralis*. Morfológicamente, as SBa se assemelham as sensilas céticas, entretanto, não apresentam uma cavidade basal e sua extremidade distal é curvada. Alguns estudos apontam 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 substâncias feromonais (SEADA, 2015; SILVA et al., 2019).

As sensilas coleocônica (SCo) foram identificadas na antena de ambos os sexos de *T. arnobia*, sendo em maior quantidade nas antenas de macho, encontradas apenas na superfície ventral da antena. Na antena da fêmea de *T. arnobia* foi observada em apenas em dois antenômeros a presença da sensila coleocônica, na região distal e proximal do flagelo, já em machos, as SCo foram observadas na região distal do flagelo, já em machos, as SCo foram observadas na região distal do flagelo. Em antenas de *E. obliqua*, as SCo ocorreram na superfície ventral dos antenômeros de ambos os sexos (MA et al., 2016), assim como em *T. arnobia*. Em *A. liberia*, as sensilas coleocônica foram observadas na superfície dorsal e ventral das antenas masculina e feminina, geralmente dispersas nos antenômeros até a parte final da antena (SILVA et al., 2019) diferindo da distribuição das sensilas coleocônicas em *T. arnobia*.

As sensilas coleocônicas são curtas, retas, e estão localizadas de uma cavidade rodeada por escamas, que se assemelha a uma flor (Figura 7G). As sensilas coleocônicas tem função olfativas, cuja as moléculas odoríferas penetram a sua superfície cuticular enrugada, estão associadas também, a função de termorrecepção e detecção de voláteis de plantas hospedeiras para servir de local de ovoposição (SILVA et al., 2019; SEADA, 2015).

As sensilas esquamiformes (SEsq) foram encontradas na apenas na superfície dorsal do ramo principal das antenas de machos de *T. arnobia* (Figura 7A). As sensilas esquamiformes são comuns em lepidópteras, já foram observadas em *S. littoralis*, *A. liberia*, *Erannis ankeraria* Staudinger (Lepidoptera: Geometridae), *P. guttata*, *P. bada*, *P. Mathias*, *P. agna* e *E. obliqua* (SEADA, 2015; SILVA et al., 2019; LIU et al., 2019; XIANGQUN et al., 2014; MA et al., 2016). As sensilas esquamiformes se assemelham com as escamas mas são alongadas, estreitas, planas, com ranhuras longitudinais em sua superfície e afunilada na extremidade distal (Figura 7B) (SILVA et al., 2019; XIANGQUN et al., 2014). Para Seada (2015) estas sensilas estão associadas a função mecanorreceptora nos insetos.

As sensilas estilocônica (SEst) foram observadas na região apical do flagelo de machos de *T. arnobia* (Figura 7C, F e G) na superfície ventral da antena. As sensilas estilocônica já foram descritas nas antenas de alguns lepidópteros, estando presentes nas antenas de machos e fêmeas de *A. liberia* e *E. obliqua*. Em *S. littoralis*, contatou-se a

presença de SEst em antenas de fêmeas (SILVA et al., 2019; MA et al., 2016; 2019; SEADA, 2015). As sensilas estilocônica são caracterizadas como estruturas robustas, lisas com extremidade cônica apresentando um único pino ou dois pinos na mesma estrutura (Figura 7H). Estudos anteriores, apontam que as SEst podem desempenhar funções termorreceptora e hidrorreceptora, nos quais o dendrito não ramificado presente no interior da sensila é sensível à umidade fazendo com que a mesma seja capaz de detectar mudanças de umidade, já o dendrito lamelado, é capaz de captar às variações de temperatura do ambiente (SILVA et al., 2019; MA et al., 2016).

De maneira geral, as funções das sensilas antenais de insetos variam de acordo com a sua estrutura e conforme as suas respostas fisiológicas/comportamentais (SEADA, 2015).

Em relação ao comprimento e largura (μm) dos diferentes tipos de sensilas de machos e fêmeas de *T. arnobia*, não foram observadas diferenças estatísticas para nenhum tipo de sensilas presentes em ambos os sexos. Porém para o comprimento de diferentes sensilas em fêmea, as sensilas cétricas I foram consideradas as de maior comprimento, seguidas por cétricas II, tricoides I e basicônicas. Para o comprimento de diferentes sensilas para machos as sensilas cétricas I foram as mais compridas diferindo com as demais. Para os ambos sexos as cerdas de Bohm's bristles apresentaram-se entre as sensilas mais curtas. Em relação a largura de diferentes sensilas em fêmea, as sensilas cétricas I foram consideradas as mais largas seguidas de sensilas basicônicas e cétricas II. Para a largura de diferentes sensilas para machos as sensilas estilicônicas +1p foram consideradas as sensilas mais largas, seguidas das sensilas cétricas I (Tabela 1).

Tabela 1. Comprimento e largura (μm) (Média \pm EP) dos diferentes tipos de sensilas em antenas de fêmeas e machos de *Thyrntina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae).

Sensilas	Comprimento (μm)		Largura (μm)	
	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho
Basicônica	54,59 \pm 3,08 aB	55,24 \pm 7,73 aBC	6,82 \pm 0,28 aB	4,47 \pm 0,77 aBCD
Cerdas de Bohm's Bristles	20,53 \pm 3,20 aC	16,12 \pm 2,88 aD	3,37 \pm 0,19 aC	3,38 \pm 0,43 aCD
Céticas I	126,09 \pm 15,00 aA	111,02 \pm 15,06 aA	9,71 \pm 0,72 aA	6,96 \pm 1,45 aAB
Céticas II	58,88 \pm 4,35 aB	50,52 \pm 1,82 aBC	5,97 \pm 0,78 aB	5,53 \pm 0,22 aBC
Céticas III	23,29 \pm 6,21 aC	24,73 \pm 5,42 aCD	4,22 \pm 0,44 aC	3,57 \pm 0,45 aCD

Tricóides I	61,10±7,10 aB	55,05±2,37BC	3,25±0,51 aC	2,13±0,25 aD
Tricóides II	28,37±3,48 aC	32,69±2,39 aCD	2,63±0,14 aC	1,85±0,15 aD
Tricóides III	15,24±1,09 C	-	2,27±0,52 C	-
Esquamiforme	-	68,00±5,91B	-	3,06±0,31CD
Estilocônica 1p	-	32,20±5,43CD	-	5,40±0,22BC
Estilocônica +1p	-	34,79±3,12CD	-	8,62±1,16 A

Médias±EP seguidas de letras iguais minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas não apresentam diferença estatística seguindo o teste de Tukey a 5%. **Fonte:** Autora, 2023.

4. CONCLUSÕES

Fêmeas de *T. arnobia* provenientes do estado de Alagoas iniciam o comportamento de chamamento a partir da segunda hora da primeira escotofase.

Antenas de fêmeas e machos *T. arnobia* além de apresentarem um dimorfismo antenal, apresentam uma morfologia estrutural de sensilas distintas.

As antenas de fêmeas de *T. arnobia* são caracterizadas com a presença de três subtipos de sensilas tricoides, três subtipos de cétricas, sensilas coleocônicas, sensilas basicônicas e de cerdas de Böhm's bristles.

As antenas de machos são caracterizadas com a presença de dois subtipos de sensilas tricoides, três subtipos de sensilas cétricas, sensilas coleocônicas, sensilas basicônicas, sensilas esquamiformes, estilocônicas e de cerdas de Böhm's bristles.

As sensilas tricoides III foram presentes apenas em antenas de fêmeas de *T. arnobia*, já as sensilas esquamiformes e estilocônicas foram encontradas apenas em antenas de machos de *T. arnobia*.

As sensilas tricoides são as mais abundantes, principalmente nas ramificações laterais das antenas de machos, indicando que as mesmas podem responder aos estímulos de substâncias químicas, já que, essas sensilas são reconhecidas por sua função receptora de feromônios sexuais.

A caracterização do comportamento de chamamento e da morfologia ultraestrutural de sensilas antenais de *T. arnobia* realizada neste estudo permite uma maior compreensão da comunicação química entre fêmea e machos de *T. arnobia*, mediada por substâncias feromonais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDO, T.; YAMAMOTO, M. Semiochemicals containing lepidopteran sex pheromones: Wonderland for a natural product chemist. **J. Pestic. Sci.** 45(4), p.191–205, 2020.
- 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.
- AZEVEDO FILHO, W. S.; PRATES JÚNIOR, P. H. S. Técnicas de coleta e identificação de insetos. Porto Alegre: **Edipucrs**, 2. ed. v. 1. 97p, 2005.
- BATISTA-PEREIRA, L. G.; WILCKEN, C. F.; PEREIRA NETO, S. D.; MARQUES, E. N. Comportamento de chamamento de *Thyrinteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae) em *Psidium guajava*, *Eucalyptus grandis* e em dieta artificial. **Neotropical Entomology**, Brasil, v. 33, n.1, p.21-28, 2004.
- BAWIN, T.; COLLARD, F.; BACKER, L.; BARTHÉLÉMY, B.; COMPÈRE, P.; FRANCIS, F.; VERHEGGEN, J. Structure and distribution of the sensilla on the antennae of *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae). **Micron** 96, 16–28, 2017.
- CASTREJÓN-GÓMEZ, V. R. Evidence of a Sex Pheromone and Daily Calling Pattern of Females of *Zamagiria dixolophella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Florida Entomologist**, 93 (2), 147-152, 2010.
- GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Insetos: Fundamentos da Entomologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda, 82, 83, p., 2017.
- JING, L.; ZHAOQUN, L.; ZONGXIU, L.; XIAOMING, C.; LEI, B.; ZHAOJUN, X.; CHEN, Z. Comparison of male antennal morphology and sensilla physiology for sex pheromone olfactory sensing between sibling moth species: *Ectropis grisescens* and *Ectropis obliqua* (Geometridae). **Arch Insect Biochem Physiol**, 101(1):e21545, 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.
- MAGALHÃES, D M; MICHEREFF, M. F. F.; HASSEMER, M. 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.

- NASCIMENTO, M. A.; SALOMÃO, T. M. F.; MARTINS, G. F. Estudo Comparativo das Sensilas Antenais de Operárias de *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae) de Diferentes Altitudes. *EntomoBrasilis*, 6(1): 64-67, 2013.
- NDOMO-MOUALEU, F.; ULRICHS, C.; RADEK, R.; ADLER, C. Structure and distribution of antennal sensilla in the Indianmeal moth , *Plodia interpunctella* (Hübner , 1813) (Lepidoptera : Pyralidae). **J. Stored Prod. Res.** 59, 66–75, 2014.
- LEGASPI, J. C.; O'NEIL, R. J. Life history of *Podisus maculiventris* (Say) under low number of *Epilachna varivestis* (Mulsant) as prey. **Environmental Entomology**, 22: 1192-1200, 1993.
- LIMA, E. R.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Biodinâmica dos feromônios**. In VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M.C. (eds.), Feromônios de insetos. Ribeirão Preto, Holos, p.13-26, 2001.
- LIMBERGER, G. M.; BRUGNERA, R.; FONSECA, D. B. Antennal morphology and sensilla ultrastructure of *Ascia monuste* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pieridae). **Micron**, v. 142, p. 103000, 2020.
- 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.
- TORRES, J. B.; ZANUNCIO, J. C.; OLIVEIRA, M. C. **Mating frequency and its effect on female reproductive output in the stinkbug predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae)**. Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent, 62: 491-498, 1997.
- TURGEON, J.; MCNEIL, J. Calling behaviour of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta*. **Entomol Exp Appl** 31:402–408, 1982.
- PARRA-PEDRAZZOLI, A. L.; LEAL, W. S. Sexual Behavior of the Navel Orangeworm, *Amyelois transitella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, v. 35, p. 769-774, 2006.
- 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, 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.

WILCKLEN, C. F. **Biologia de *Thyrinteina arnobia* (Stoll,1782) (Lepidoptera: Geometridae) espécies de *Eucalyptus* e em dieta artificial.** Tese de doutorado, ESALQ-USP, Piracicaba 129p, 1996.

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**, v. 399, p. 17-27, 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 II – ESTUDO CROMATOGRÁFICO E BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE GLÂNDULAS ABDOMINAIS DE *Thyriniteina arnobia* (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) NO ESTADO DE ALAGOAS.

RESUMO

A lagarta desfolhadora *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) é citada como o lepidóptero mais importante para a eucaliptocultura no país, sendo frequentemente relatada por ocasionar danos em povoamentos florestais, evidenciando a importância do estudo de métodos de manejo e monitoramento, a exemplo do controle comportamental, através do uso de feromônios. Portanto, os objetivos desse capítulo foram: (i) isolar e identificar possíveis substâncias feromonais de extratos de glândulas abdominais de fêmeas virgens de *T. arnobia* coletadas em povoamentos florestais de eucalipto no estado de Alagoas; e (ii) verificar a atividade biológica das substâncias feromonais de extratos de glândulas abdominais de *T. arnobia*, através de eletroantografia acoplada a cromatografia gasosa (CG-EAG). Para o preparo dos extratos de glândulas abdominais, foram utilizadas 10 fêmeas virgens provenientes de Alagoas com 24-48h de idade. As glândulas foram isoladas e retiradas com auxílio de tesoura de dissecação e imersas em 1 mL de solvente hexano por 20min, em seguida os extratos foram filtrados com lã de vidro, colocados em um *vial* e acondicionados em freezer (-20°C) até a utilização. As amostras dos extratos de glândulas abdominais de fêmeas de *T. arnobia* foram analisadas por cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas (GC-FID), utilizando a coluna capilar NST-05. Os extratos de glândulas abdominais de fêmeas virgens de *T. arnobia* foram analisados, comprovando sua bioatividade, utilizando Cromatografia Gasosa acoplada a Eletroantograma (CG-EAG) via o método “puff”. Através dos dados obtidos pelo GC-FID dos extratos foi possível identificar uma quantidade significativa de possíveis compostos. No perfil cromatográfico do extrato de glândulas abdominais em fêmeas de *T. arnobia* provenientes de Alagoas, foi detectado um total de 23 picos, contudo, foi possível identificar 19 possíveis compostos. Em relação a bioatividade das substâncias feromonais de extratos de glândulas abdominais de fêmeas de *T. arnobia*, observou-se que as respostas eletroantográficas de antenas de machos submetidas ao extrato feromonal *T. arnobia* foram significativamente melhores quando comparado ao estímulo do hexano (controle). A bioatividade do extrato de glândulas feromonais de *T. arnobia* sobre antenas de machos coespecíficos, sugere que o mesmo pode ser utilizado para o desenvolvimento de táticas de controle comportamental em estudos futuros.

Palavras-chave: lagarta desfolhadora; eucalipto; feromônio sexual; Manejo Integrado de Pragas.

CHROMATOGRAPHICAL STUDY AND BIOACTIVITY OF EXTRACTS FROM ABDOMINAL GLANDS OF *Thyrinteina arnobia* (STOLL, 1782) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) IN THE STATE OF ALAGOAS.

ABSTRACT

The defoliating caterpillar *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) is cited as the most important lepidopteran for eucalyptus crops in the country, being frequently reported to damage forest stands, highlighting the importance of management and monitoring methods, e.g., the behavioral control, using pheromones. Therefore, the objectives of this chapter were: (i) to isolate and identify possible pheromonal substances from extracts of abdominal glands of virgin females of *T. arnobia* collected in eucalyptus forest stands in the state of Alagoas; and (ii) verify the biological activity of pheromonal substances from extracts of abdominal glands of *T. arnobia*, through electroantennography coupled to gas chromatography (GC-EAG). For the preparation of abdominal gland extracts, 10 virgin females from Alagoas with 24-48 hours of age were used. The glands were isolated and removed using dissecting scissors and immersed in 1 mL of hexane solvent for 20 minutes, then the extracts were filtered with glass wool, placed in a vial and stored in a freezer (-20°C) until use. Samples of extracts from abdominal glands of *T. arnobia* females were analyzed by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID), using capillary column NST-05. The extracts of abdominal glands from virgin females of *T. arnobia* were analyzed, proving their bioactivity, using Gas Chromatography coupled to Electroantennogram (GC-EAG) via the “puff” method. Through the data obtained by the GC-FID of the extracts, it was possible to identify a significant number of possible compounds. In the chromatographic profile of the extract of abdominal glands in *T. arnobia* females from Alagoas, a total of 23 peaks were detected, however, it was possible to identify 19 possible compounds. Regarding the bioactivity of pheromonal substances from extracts of abdominal glands of *T. arnobia* females, it was observed that the electroantennographic responses of male antennae submitted to the pheromonal extract of *T. arnobia* were significantly better when compared to the hexane stimulus (control). The bioactivity of the extract of *T. arnobia* pheromonal glands on the antennae of conspecific males suggests that it can be used for the development of behavioral control tactics in future studies.

Keywords: defoliator caterpillar; eucalyptus; sex fermone; Integrated Pest Management; biological activity.

1. INTRODUÇÃO

O aumento do consumo de produtos florestais tem impulsionado o crescimento dos programas de reflorestamento e implantação de povoamentos florestais no Brasil com espécies de alta produtividade e ciclo de corte relativamente curto. Dentro desse contexto, as espécies do gênero *Eucalyptus* se destacam como as mais cultivadas no país por apresentarem grande importância comercial, em razão aos diversos produtos obtidos (CALDEIRA et al., 2015; GONÇALVES et al., 2015).

Com a expansão gradativa das áreas cultivadas com espécies do gênero *Eucalyptus* no Brasil, constata-se também um aumento expressivo de problemas fitossanitários entomológicos, devido, certamente, às condições propícias apresentadas pelos monocultivos no processo de estabelecimento de surtos populacionais de insetos. Atualmente, um dos principais problemas entomológicos encontrados na eucaliptocultura diz respeito particularmente à adaptação de espécies nativas a esses novos habitats que apresentam uma grande disponibilidade de fonte alimentar. Um dos insetos que se destaca como o principal lepidóptero desfolhador do eucalipto é *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) também conhecida como lagarta-parda do eucalipto. No processo de desfolha, *T. arnobia* afeta o desenvolvimento da cultura reduzindo a área fotossintetizante (COSTA & GARLET, 2015).

Devido à grande extensão dos plantios e à altura das árvores, o controle das lagartas desfolhadoras em florestas de eucalipto torna-se complexo. Atualmente, os métodos empregados para o manejo de lagartas e pupas de *T. arnobia* são: (i) o controle mecânico, através da catação manual; (ii) o controle biológico natural, com as espécies da família Tachinidae; (iii) o controle biológico aplicado, através da liberação de percevejos predadores da família Pentatomidae, do endoparasitoide exótico de pupas *Tetrastichus howardi* Olliff (Hymenoptera: Eulophidae), e dos parasitoides *Trichospilus diatraeae* (Cherian & Margabandhu, 1942) (Hymenoptera: Eulophidae), *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae), além da pulverização da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Dipel); e (iv) controle químico, com o uso dos inseticidas químicos Decis 25 CE (deltametrina) e Tebufenozida (diacilhidrazina: acelerador de ecdise) (BATISTA-PEREIRA, 2007; COSTA & GARLET, 2015, AGROFIT, 2022). Porém, para o manejo de adultos de *T. arnobia*, as táticas utilizadas são limitadas ao controle mecânico-físico, realizado através da instalação de armadilhas luminosas providas de luz negra para atração de adultos.

Em razão da importância econômica de *T. arnobia* para eucalipticultura, novas táticas de controle e monitoramento estão sendo propostas, a exemplo do controle comportamental, através do uso de feromônios sexuais. Em estudos anteriores, Moreira et al. (2013) isolando glândulas abdominais de fêmeas virgens obtiveram respostas eletroantegráficas em antenas de machos de *T. arnobia*, sugerindo a estrutura do 3,4-epoxi-6,9-eneicosadieno como componente majoritário do feromônio sexual. Porém, para a proposição de futuras formulações comerciais, a verificação e confirmação da bioatividade de componentes feromonais devem ser realizadas. De forma geral, componentes majoritários podem apresentar síntese demorada e economicamente inviável, fazendo-se necessário o estudo de outros componentes do feromônio sexual e/ou rotas sintéticas alternativas.

Portanto, os objetivos desse capítulo foram: (i) isolar e identificar possíveis substâncias feromonais de extratos de glândulas abdominais de fêmeas virgens de *T. arnobia* coletadas em povoamentos florestais de eucalipto no estado de Alagoas; e (ii) verificar a atividade biológica das substâncias feromonais de extratos de glândulas abdominais de *T. arnobia*, através de eletroantegráfia acoplada a cromatografia gasosa (CG-EAG).

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal (LEAF) e no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), no município de Rio Largo, Alagoas.

2.1. Criação de *Thyrintina arnobia*

Foram coletadas formas biológicas (ovos, lagartas, pupas e/ou adultos) de *T. arnobia* em plantios de *Eucalyptus urograndis*, variedades 1407 e 224, na Agropecuária Albuquerque, no município de Atalaia, Alagoas, 9° 30' 27" S e 36° 1' 24" W, sendo essas transportadas para o Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal (LEAF). Os ovos *T. arnobia* foram imersos em solução de cobre (CuSO₄) durante 10 segundos, posteriormente lavados com água destilada (para evitar contaminações) e acondicionados em placas de Petri, contendo papel de filtro umedecido até a eclosão das lagartas. Após a

eclosão, as lagartas eram acondicionadas em gaiolas de tubos PVC com medição de 10 x 20 cm, sendo necessário revestir as aberturas com tecido tipo voile. Para alimentação, eram oferecidas folhas de *E. urograndis* em galhos, colocados em garrafas de vidro com água, até a perda de turgescência, ocorrendo assim a substituição por galhos novos. As pupas eram sexadas e acondicionadas em pares nas gaiolas de tubos de PVC, revestida internamente com papel sulfite, para emergência e oviposição dos adultos. Os adultos foram alimentados diariamente com solução de mel a 10%. Os ovos eram coletados diariamente do papel sulfite com o auxílio de tesoura e pincel.

2.2. Extração do feromônio sexual

Para o estudo químico de substâncias feromonais de *T. arnobia*, especificamente para preparo de extratos de glândulas abdominais, foram utilizadas 10 fêmeas virgens com 24-48h de idade. A extração foi realizada em uma sala com fotoperíodo invertido, priorizando as primeiras horas do comportamento de chamamento de *T. arnobia*, no período inicial de escotofase (BATISTA-PEREIRA et al., 2004). As glândulas das fêmeas foram retiradas com auxílio de tesoura de dissecação e, em seguida, imersas em 1 mL de solvente hexano por 20min. Após esse processo, os extratos foram filtrados com lã de vidro, utilizando uma pipeta de pasteur de vidro no procedimento, onde foram acondicionados em um *vial* e armazenados em freezer (-20°C) até a utilização.

2.3. Análise química dos extratos das glândulas abdominais

Os extratos obtidos foram analisados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas (GC-FID), utilizando a coluna capilar NST-05. Para a análise dos extratos foi necessário, inicialmente, realizar o aquecimento do equipamento em uma temperatura de 50°C durante 5 minutos, a 8°C/min, até atingir 280°C (mantido nesta temperatura por 10 minutos). O volume de injeção dos extratos foi de 3 µL, onde o gás hélio foi empregado como gás de arraste, sendo esse responsável pelo transporte das amostras por meio da coluna de cromatografia gasosa. Todos os picos foram observados e comparados com padrões de alcanos C13 e C7-C30, com essa comparação foi possível calcular os respectivos Índices de Kovats (IKs) e identificar, através do banco de dados do Pherobase, os possíveis compostos de glândulas abdominais de fêmeas virgens de *T. arnobia*.

2.4. Bioatividade em cromatografia gasosa acoplada à eletroantenograma (CG-EAG)

Os extratos de glândulas abdominais de fêmeas virgens de *T. arnobia* foram analisados, comprovando sua bioatividade, utilizando Cromatografia Gasosa acoplada a Eletroantenograma (CG-EAG). Com o auxílio de uma pinça entomológica, antenas de machos foram cuidadosamente retiradas. A extremidade da antena foi fixada sobre um eletrodo de platina contendo uma fina camada de gel condutor (Signa gel, Parker Laboratories, Inc., Fairfield, EUA), a fim de permitir a passagem da corrente elétrica.

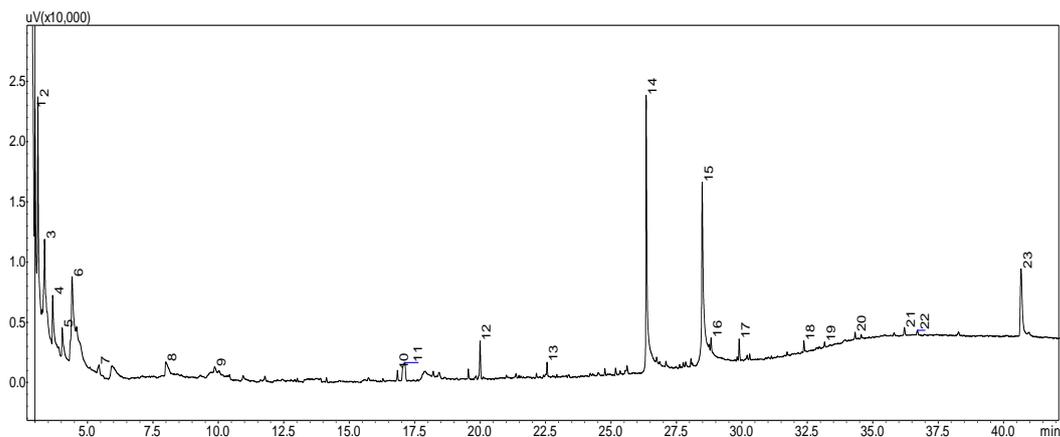
Em seguida, as antenas dos machos receberam pulsos de ar contendo hexano, como forma de controle. Foi injetado 10µL da amostra de glândulas abdominais de *T. arnobia* testadas sobre um papel de filtro (2,0 cm x 1,0 cm) inserido em uma pipeta de pasteur de vidro e conectado ao sistema gerador de pulsos (“Puff”) (StimulusController, Type CS-55, Syntech). No total, 12 antenas foram testadas, recebendo estímulos dos tratamentos hexano e extrato, sequencialmente. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e médias foram comparadas pelo teste t a 5 % de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise química dos extratos das glândulas abdominais de *Thyrintaina arnobia*

Através dos dados sugeridos pelo GC-FID dos extratos obtidos de fêmeas virgens de *T. arnobia* foi possível identificar uma quantidade significativa de possíveis compostos em glândulas abdominais de fêmeas virgens coletadas em Alagoas. No perfil cromatográfico do extrato de glândulas abdominais em fêmeas de *T. arnobia* provenientes de Alagoas, foi detectado um total de 23 picos, contudo, foi possível sugerir 19 possíveis compostos (Figura 1 e Tabela 1).

Figura 1. Cromatograma do extrato de glândulas de fêmeas virgens de *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) de Alagoas.



Fonte: Autora, 2023.

Os extratos de glândulas de fêmeas virgens de *T. arnobia* são basicamente constituídos por substâncias pertencentes a classe dos alcanos, álcoois, aldeídos, ácidos carboxílicos, esteroides, entre outros (Tabela 1). Na ordem Lepidoptera, os feromônios sexuais apresentam estruturas químicas variadas, reflexo da diversidade dessa ordem. Além da variação estrutural, a diversidade de feromônios sexuais da ordem Lepidoptera é gerada pela mistura ou um blend de compostos químicos, misturas essas, fundamentais e únicas para cada espécie, com funções específicas. O blend dessas substâncias químicas é composto basicamente por acetatos, álcoois e aldeídos, variando entre as espécies. Porém, as misturas dos feromônios não são apenas baseadas em combinações de diferentes compostos, mas também das proporções desses compostos na mistura (LIMA & DELLA LUCIA, 2001; ANDO et al., 2004; ANDO & YAMAMOTO, 2020).

Tabela 1. Possíveis compostos sugeridos em glândulas abdominais de fêmeas virgens de *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) proveniente do estado de Alagoas.

IK* Cal.	Compostos orgânicos voláteis (COV's)
768	Pentan-1-ol
770	Toluene
776	Paraldehyde
783	(Z)-2-Penten-1-ol
800	(Z)-3-Hexenal
917	2,3-Dimethylpyrazine
984	endo-Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol
984	Methoxymethyl-benzene
984	Octan-3-one

986	1-Isopropyl-4-methyl-1-cyclohexene
986	1-Methylpiperidine
1314	2-Methyl-5-(1-methylethyl)-phenol
1330	Hexyl 2-methyl-2-butenolate
1503	1,2,3,5,6,7,8,8alpha-Octahydro-1,8alpha-dimethyl-7-(prop-1-en-2-yl)-naphthalene
1675	1,2,5,7-Tetramethylnaphthalene
1675	Hexyl 2-hydroxybenzoate
1960	Pimara-8(14),15-diene
2139	2,3,8-Trichlorodibenzofuran
2169	Phenyl-3-nitrophenylacetic acid methyl ester
2265	1,3,4,6-Tetrachlorodibenzofuran
2502	1,2,4,6,9-Pentachlorodibenzofuran
2583	1,2,3,8,9-Pentachlorodibenzofuran
2702	8,9-Benzofluoranthene
2903	Silafluofen

*Índices de Kovats (IK) para coluna NST-05. Fonte: Autora, 2023.

Através das análises dos extratos de glândulas abdominais de fêmeas virgens de *T. anobia* de Alagoas não foi possível identificar o estereoisômero do 3,4-epoxi-6,9-eneicosadieno, componente majoritário do feromônio sexual da população de *T. anobia* de São Paulo citado por Moreira et al. (2013). Alguns estudos apontam que pode ocorrer diferenças na composição do feromônio de insetos da mesma espécie, principalmente em mariposas, quando as populações estudadas são de regiões geograficamente distintas.

Batista-Pereira et al. (2006) encontraram essas diferenças em populações de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) do Brasil, da Europa e da América do Norte. Explicando o porquê de iscas de feromônios sexuais provenientes de outras regiões não serem eficazes no controle de populações de *S. frugiperda* brasileiras.

O feromônio sexual da lagarta-elasmó *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae), inseto-praga já registrado em mais de 60 espécies vegetais foi isolado e identificado pela primeira vez em 1984 em Tifton, nos Estados Unidos. Foram identificados dez compostos presentes nas glândulas feromonais das fêmeas, sendo apenas quatro compostos responsáveis pela atração de machos no campo. A partir do sucesso do controle da lagarta a mistura desses compostos passou a ser utilizada no monitoramento da *E. lignosellus* no México e na Flórida. Entretanto, ao ser testada no Brasil, a mistura não atraiu os machos desta espécie. Diante disso, pesquisas com duas populações de *E. lignosellus* foram desenvolvidas, uma em Minas Gerais e outra em Goiás, os estudos comprovaram que a mistura feromonal das populações eram diferentes entre si e entre a população americana de *E. lignosellus* (LYNCH et al., 1984;

FUNDERBURK et al. 1985; LOERA & LYNCH, 1987; PIRES et al., 1992; JHAM et al., 2005, 2007). Em virtude disso, Jham et al. (2007) sugeriram que as diferenças feromonais na mesma espécie em populações diferentes podem ter ocorrido devido ao polimorfismo ou o surgimento de uma subespécie do inseto estudado.

Vale ressaltar, que estes estudos são fundamentais para a descoberta das variações desses compostos sobre diferentes populações, fazendo com que os feromônios sexuais sejam utilizados de maneira correta nos Programas de Manejo Integrado (MIP). Ainda são poucos os trabalhos desenvolvidos relacionados as variações dos compostos de inseto-pragas no Brasil, sendo necessário serem investigados para a sua elucidação.

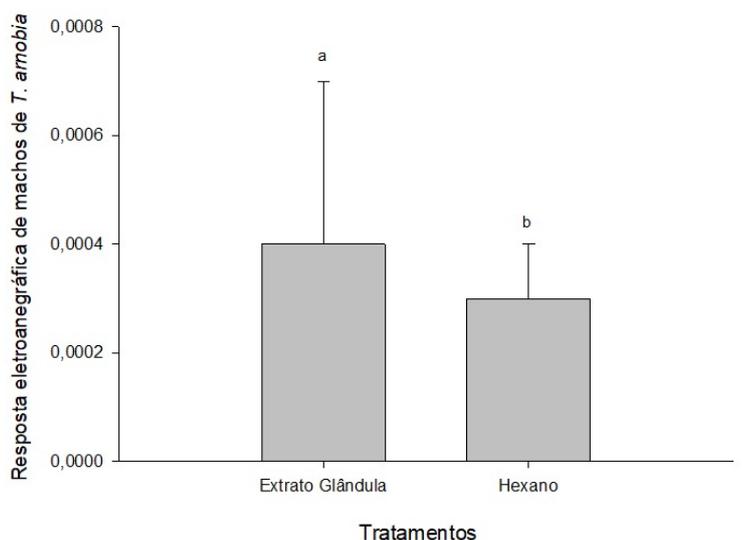
A partir das análises dos extratos do presente trabalho foi possível sugerir possíveis compostos químicos em glândulas abdominais de fêmeas virgens de *T. arnobia* de Alagoas, entretanto, não há informações ou relatos na literatura destes sendo produzidos por insetos da ordem Lepidoptera ou de qualquer outra ordem.

Os resultados obtidos são iniciais e fundamentais para o melhor entendimento de uma possível variação na composição química dos feromônios sexuais de *T. arnobia*, com a perspectiva de desenvolver novas ferramentas e produtos para o controle comportamental de *T. arnobia* em povoamentos de *Eucalyptus spp.* e, conseqüentemente, a consolidação do Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP Floresta).

3.2. Estudos eletrofisiológicos

No estudo eletroantenográfico do tipo “puff” realizado com extratos de glândulas abdominais de fêmeas virgens frente as antenas de machos de *T. arnobia*, demonstraram que as antenas dos machos apresentaram respostas de atratividade mais significativas ao extrato das glândulas abdominais de fêmeas, quando comparado ao estímulo do hexano (o controle) (Figura 2).

Figura 2. Resposta eletroantegráfica de machos de *Thyrntaina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), via método “puff”, submetidas a extrato de glândula abdominal de fêmeas e a hexano (controle).



Fonte: Autora, 2023.

A bioatividade do extrato de glândulas feromonais de *T. arnobia* sobre antenas de machos coespecíficos, sugere que o mesmo pode ser utilizado, em estudos futuros. Segundo Thomazini (2009), a eletroantegráfia permite aos pesquisadores identificar se os compostos presentes nos extratos geram ou não respostas eletrofisiológicas, e se tem uma resposta, provavelmente, terá algum papel no comportamento de um determinado organismo. Entretanto, o autor afirma que por meio dessa técnica, não é possível discernir qual o papel o composto desempenha, sendo assim, necessário conduzir bioensaios em laboratório e/ou campo. A partir dos bioensaios realizados, é possível verificar se o feromônio sexual pode ser usado como ferramenta para o controle comportamental do inseto-praga.

4. CONCLUSÕES

Os possíveis compostos químicos identificados em glândulas abdominais de fêmeas virgens de *T. arnobia* de Alagoas difere dos compostos químicos previamente identificados em estudos anteriores.

A análise eletroantegráfica (EAG) indicou bioatividade dos extratos de glândulas abdominais de fêmea de *T. arnobia* de Alagoas sobre machos da mesma população.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT** - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. PORTARIA N° 524, 2022.
- ANDO, T.; INOMATA, S.; YAMAMOTO, M. **Lepidopteran Sex Pheromones**. Topics in Current Chemistry, v. 239, p.51-96, 2004.
- ANDO, T.; YAMAMOTO, M. Semiochemicals containing lepidopteran sex pheromones: Wonderland for a natural product chemist. **J. Pestic. Sci.** 45(4), p.191–205, 2020.
- BATISTA-PEREIRA, L. G. **A lagarta-parda, *Thyriniteina arnobia*, principal lepidóptero desfolhador da cultura do eucalipto**. (Dossiê Técnico - SBRT), 2007.
- BATISTA-PEREIRA, L. G.; STEIN, K.; DE PAULA, F. A.; MOREIRA, A. J. CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; PERRI, J. JR.; CORRÊA, J. G. Isolation, Identification, Synthesis, and Field Evaluation of the Sex Pheromone of the Brazilian Population of *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 32, n. 5, p.1085-1099, 2006.
- BATISTA-PEREIRA, L. G.; WILCKEN, C. F.; PEREIRA NETO, S. D.; MARQUES, E. N. Comportamento de chamamento de *Thyriniteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae) em *Psidium guajava*, *Eucalyptus grandis* e em dieta artificial. **Neotropical Entomology**, Brasil, v. 33, n.1, p.21-28, 2004.
- CALDEIRA, M. V. W.; GONÇALVES, E. O.; WENDLING, I.; MARTINS, R. C. C. **Produção de mudas**. In: Schumacher, M. V.; Viera, M. (Org.). *Silvicultura do eucalipto no Brasil*. 1ed.Santa Maria, RS: Editora da UFSM, v. 1, p. 49-82, 2015.
- COSTA, E. C.; GARLET, J. **Insetos-Praga de ocorrência na cultura do eucalipto**. In: Schumacher, M. V.; Viera, M. (Org.). *Silvicultura do Eucalipto no Brasil*. 1ed.Santa Maria: Editora UFSM, 2015, v.1, p.157-186, 2015.
- FUNDERBURK, J.E.; HERZOG, D.C.; MACK, T.P.; LYNCH, R.E. Sampling lesser cornstalk borer (Lepidoptera: Pyralidae) adults in several crops with reference to adult dispersion patterns. **Environmental Entomology**, v. 14, p.453-458, 1985.
- GONÇALVES, J. L. M.; ALVARES, C. A.; HUBNER, A.; ARTHUR JUNIOR, J. C. **Caracterização edafoclimática e manejo de solos das áreas com plantações de eucalipto**. In: Schumacher, M. V.; Viera, M. (Org.). *Silvicultura do Eucalipto no Brasil*. 1ed.Santa Maria-RS: UFSM, 2015, v.1, p.113-156, 2015.

- JHAM, G. N.; SILVA, A. A.; LIMA, E. R.; VIANA, P. A. Identification (GC and GC-MS) of unsaturated acetates in *Elasmopalpus lignosellus* and their biological activity (GC-EAD and EAG). **J. Sep. Sci.**, v. 28, p.281–285, 2005.
- JHAM, G. N.; SILVA, A. A.; LIMA, E. R.; VIANA, P. A. Identification of acetates in *Elasmopalpus lignosellus* pheromone glands using a newly created mass spectral and Kárvats retention índices. **Química Nova**, v.30, n. 4, p.916-919, 2007.
- LIMA, E. R.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Biodinâmica dos feromônios**. In VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M.C. (eds.), Feromônios de insetos. Ribeirão Preto, Holos, p.13-26, 2001.
- LOERA, J.; LYNCH, R.E. Evaluation of pheromone traps for monitoring lesser cornstalk borer adults in beans. **The Southwestern entomologist (USA)**, v. 12, p.51-56, 1987.
- LYNCH, R. E.; KLUN, J. A.; LEONHARDT, B. A.; SEHWARZ, M.; GARNER, J. W. Female sex pheromone of the lesser cornstalk borer, *Elasmopalpus lignosellus* (Lepidoptera: Pyralidae). **Environmental Entomology**, v. 13, P.121–126, 1984.
- MOREIRA, J.A.; NEPPE, T.; PAIVA, M.M.; DEOBALD, A.M., BATISTA-PEREIRA, L.G.; PAIXÃO, M.W. & CORRÊA, A.G. Studies towards the Identification of the Sex Pheromone of *Thyrinteina arnobia*. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.:24, n.12, p.1933-1941, 2013.
- PIRES, C. S. S.; VILELA, E. F.; VIANA, P. A.; FERREIRA, J. T. B. Avaliação no campo do feromônio sexual sintético de *Elasmopalpus lignosellus* (Lepidoptera: Pyralidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.21, p. 59-68, 1992.
- THOMAZINI, M. J. **A comunicação química entre os insetos: obtenção e utilização de feromônios no manejo de pragas**. In: GONCALVES, R. C.; OLIVEIRA, L. C. de (Ed.). Embrapa Acre: ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável do Sudoeste da Amazônia. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, cap. 17, p. 338-354, 2009.