



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS



ELIANE DOS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS COMPOSTOS ENVOLVIDOS NA  
ATRATIVIDADE DE *Bephratelloides pomorum* (FABRICIUS, 1808)  
(HYMENOPTERA: EURYTOMYIDAE): UMA NOVA ESTRATÉGIA PARA O MIP**

Rio Largo - AL

2021

ELIANE DOS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS COMPOSTOS ENVOLVIDOS NA  
ATRATIVIDADE DE *Bephratelloides pomorum* (FABRICIUS, 1808)  
(HYMENOPTERA: EURYTOMYIDAE): UMA NOVA ESTRATÉGIA PARA O MIP**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana  
Coorientador: Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart

Rio Largo - AL

2021

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

S231c Santos, Eliane dos.

Caracterização química dos compostos envolvidos na atratividade de *Bephratelloides pomorum* (Fabricius, 1808) (Hymenoptera: Eurytomyidae): uma nova estratégia para o MIP. / Eliane dos Santos. – 2022.

45f.: il.

Orientador: Antônio Euzébio Goulart Santana.  
Coorientador: Henrique Fonseca Goulart.

Disertação (Mestrado em Proteção de Plantas.) – Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2022.

Inclui bibliografia

1. Ecologia química. 2. Broca-da-semente de anonáceas. 3. Comportamento. 4. Controle. I. Título.

CDU: 634.41:632.4

## Folha de aprovação


ELIANE DOS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS COMPOSTOS ENVOLVIDOS NA  
ATRATIVIDADE DE *Bephratelloides pomorum* (FABRICIUS, 1808)  
(HYMENOPTERA: EURYTOMYIDAE): UMA NOVA ESTRATÉGIA PARA O MIP**

Dissertação de Mestrado submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Proteção de Plantas.

Área de concentração: Entomologia


Aprovada em: 30/08/2021

Documento assinado digitalmente  
 Antonio Euzebio Goulart Santana  
Data: 17/05/2022 22:36:49-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

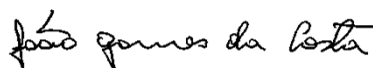
Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana  
Universidade Federal de Alagoas - Orientador

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 ROSEANE CRISTINA PREDES TRINDADE  
Data: 17/05/2022 20:03:05-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Roseane Cristina Predes Trindade - Universidade Federal de Alagoas  
(Examinador interno)



---

Prof. Dr. João Gomes da Costa - EMBRAPA  
(Examinador externo)

Rio Largo - AL

2021

*A Deus pela graça da vida; Aos meus queridos e amados pais, João Ferreira e Alice Maria, ao meu noivo Helton, ao meu sobrinho João Victor e a todos meus irmãos.*

***Dedico com muito amor e gratidão***

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela graça da vida, por seu amor e proteção a cada dia, pela saúde, força, sabedoria e companheirismo que me foi concedido.

Aos meus pais Alice Maria dos Santos e João Ferreira dos Santos por todo amor, carinho, incentivo, confiança, paciência e pela educação que ofereceram, agradeço eternamente.

Ao meu noivo, Helton Santos de Farias, por todo companheirismo, amor, carinho, ajuda, apoio e incentivo durante minha caminhada acadêmica, agradeço imensamente.

À minha família por compreender a importância dessa conquista e aceitar a minha ausência quando necessário.

Aos meus irmãos que sempre acreditaram nos meus sonhos e torceram para que tudo ocorresse bem.

Ao meu orientador Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana, agradeço grandemente, pelo conhecimento transmitido, paciência, confiança, conselhos e pela orientação.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart por toda contribuição e incentivo para o desenvolvimento da pesquisa.

A Profa. Dra. Jakeline Maria dos Santos pelo incentivo e determinação na contribuição para o desenvolvimento da pesquisa.

A minha amiga Joice Kessia por se fazer sempre presente nos momentos tristes e alegres em laboratório e pela parceria durante a minha caminhada acadêmica.

Aos meus amigos de Laboratório, Bruno Anacleto, Demétrios Albuquerque, Thyago Ribeiro, Miguel Martinez, Aldir dos Santos, Cesar Gonçalves, Analu Reis, Isis Torres, Jéssica Rocha, Larissa Cavalcante e Igor Ferreira, e a todos os membros do LPqRN, por todas as ajudas e apoio para a realização da pesquisa.

Aos meus amigos, Tamara Taís, Diego Jorge e Alverlan Araújo. Agradeço por tudo, pelas ótimas histórias vividas, pela amizade, por toda contribuição ao longo da caminhada acadêmica, pelos conhecimentos compartilhados durante a pesquisa e por ajudar a tornar a vida acadêmica muito mais divertida.

Aos parceiros, que se dispuseram a ajudar com a doação das frutas.

À Universidade Federal de Alagoas e ao Campus de Engenharias de Ciências Agrárias por me proporcionar grandes desafios e me ofertar grandes amizades durante o curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo incentivo acadêmico fornecido através da bolsa de estudos concedida, tornando-se essencial para a conclusão da pesquisa.

Agradeço a todos os professores do curso de Pós Graduação em Proteção de Plantas que contribuíram para meu aprendizado e para minha formação.

Aos componentes da banca, pela aceitação do convite e contribuição para o aperfeiçoamento da pesquisa.

E a todos que torceram e contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste sonho.

*“Aquele que habita no abrigo do Altíssimo e descansa à sombra do Todo-poderoso pode dizer ao Senhor: Tu és o meu refúgio e a minha fortaleza, o meu Deus, em quem confio”.*

**(Salmo, 91)**



## RESUMO

A gravioleira, *Annona muricata* L., é uma anonácea tropical, com origem na América Central e norte da América do Sul. Devido ao crescimento do cultivo de graviola, problemas com pragas que infestam diferentes estruturas da planta podem ocasionar grandes danos a cultura. Dentre estas pragas destaca-se a broca-da-semente, *Bephratelloides pomorum* (Hymenoptera: Eurytomidae), que se tornou uma das espécies mais importantes na cultura da graviola devido à severidade do dano que pode provocar. Por ser multivoltino e endofítico esse inseto-praga é de difícil controle. Na busca de desenvolver um controle eficiente, houve a necessidade de estudar os semioquímicos na expectativa de criar uma estratégia para monitorar e controlar essa praga nos pomares de gravioleiras. O objetivo do presente estudo foi determinar substâncias envolvidas na atratividade entre os indivíduos da espécie *B. pomorum*. Os insetos foram coletados de frutos de graviola infestados obtidos em pomares comerciais nos municípios de Limoeiro de Anadia, Arapiraca e Maragogi do estado de Alagoas. Os frutos foram encaminhados para o Laboratório de Pesquisas em Recursos Naturais (LPqRN) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e mantidos em gaiolas de PVC, circundada com tela e sexados quando adultos. A coleta dos voláteis dos insetos adultos de *B. pomorum* foi realizada pelos métodos de extração por solvente da superfície do corpo dos insetos, extração por maceração do abdome e extração por *head space* dinâmico dos insetos. A análise dos extratos por CG-DIC, CG-EAG e CG-EM levou a identificação dos compostos presentes. A análise do extrato obtido por *head space* dinâmico de fêmeas de *B. pomorum* levou a identificação de 12 compostos. O teste de eletroantenografia indicou que os compostos 2,4-terc-butilfenol, 1-hexadeceno e 2,6,10,14-tetrametilhexadecano, conhecido como Fitanoforam eletrofisiologicamente ativos para machos de *B. pomorum*. As análises cromatográficas indicaram a presença de 12 compostos nos extratos de “*head space*” dinâmico de fêmeas de *B. pomorum*, e os compostos, Fitol e 2,6,10,14-tetrametilexadecano foram confirmados pelo uso de padrões.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ecologia química; broca-da-semente de anonáceas; comportamento; controle.

## ABSTRACT

The soursop, *Annona muricata* L. is a tropical annonacea, originating in Central America and northern South America. Due to the growth of soursop cultivation, problems with pests that infest different plant structures can cause great damage to the crop. Among these pests stands out the seed borer, *Bephratelloides pomorum* (Hymenoptera: Eurytomyidae), which has become one of the most important species in the soursop crop due to the severity of the damage it can cause. Being multivoltino and endophytic, this insect pest is difficult to control. In the search for an efficient control of this pest and the need to develop an efficient control, the interest of studying semiochemicals in the hope of creating an efficient strategy to monitor and control this pest in soursop orchards. The aim of this study was to determine substances involved in attractiveness among individuals of the species *B. pomorum*. Insects were collected from infested soursop fruits. These fruits were obtained from commercial orchards in the municipalities of Limoeiro de Anadia, Arapiraca and Maragogi in the state of Alagoas. The fruits were sent to the Laboratory of Research in Natural Resources (LPqRN) of the Federal University of Alagoas (UFAL) and kept in PVC cages, surrounded by a screen and sexed as adults. The collection of volatiles from the adult insects of *B. pomorum* was carried out using the methods of solvent extraction from the surface of the insect's body, extraction by maceration of the abdomen and extraction by dynamic head space of the insects. The analysis of the extracts by GC-DIC, GC-EAG and GC-EM led to the identification of the present compounds. The analysis of the extract obtained by dynamic headspace of females of *B. pomorum* led to the identification of 12 compounds. The electroantennography test indicated that the compounds 2,4-tert-butylphenol, 1-hexadecene and 2,6,10,14-tetramethylhexadecane were electrophysiologically active for males of *B. pomorum*. The chromatographic analyzes indicated the presence of 12 compounds in the dynamic head space extracts of females of *B. pomorum*, the compounds, Phytol and 2,6,10,14-tetramethylhexadecane were confirmed by the use of standards and electroantennographic studies showed that males of *B. pomorum* showed positive responses to the compound 2,6,10,14-tetramethylhexadecane present in the extracts.

**KEYWORDS:** Chemical ecology; Annonaceae seed borer; behavior; control.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Estudo experimental utilizando fêmeas virgens de <i>B. pomorum</i> para a captura de machos adultos da mesma espécie. ....	14
<b>Figura 2</b> - Fruto de graviola e gravioleira.....	17
<b>Figura 3</b> - Fêmea de <i>B. pomorum</i> forrageando a superfície do fruto de graviola.....	18
<b>Figura 4</b> - A) fêmea de <i>B. pomorum</i> ; B) macho de <i>B. pomorum</i> .....	20
<b>Figura 5</b> - Injúrias provocadas pelo ataque de <i>B. pomorum</i> em graviola.....	21
<b>Figura 6</b> - Injúrias provocadas pelo ataque de <i>B. pomorum</i> . A e D) infestação de <i>B. pomorum</i> em associação com microrganismos causadores de podridão de frutos; B e E) semente mumificada; C) orifícios deixados na semente devido a emergência de <i>B. pomorum</i> ; F) semente atacada.....	21
<b>Figura 7</b> - Observação dos frutos a serem coletados .....	25
<b>Figura 8</b> - Coleta dos frutos infestados. A) frutos recém coletados B) manutenção dos frutos cobertos com voil para permitir a coleta dos insetos .....	25
<b>Figura 9</b> - Frutos mantidos em gaiolas no laboratório.....	26
<b>Figura 10</b> - Observação do comportamento dos insetos. A) machos e fêmeas separados por gaiola; B) macho e fêmea juntos dentro do tubo.....	27
<b>Figura 11</b> - Extração por solvente de tórax e abdome. A) parte dos insetos no hexano; B) materiais utilizados para a extração.....	28
<b>Figura 12</b> - Coleta dos Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) dos insetos e de graviola.....	29
<b>Figura 13</b> - Antena de machos adultos de <i>B. pomorum</i> fixada no eletrodo.....	31
<b>Figura 14</b> - Cromatograma de ions totais dos extratos de cuticulares de inseto adulto macho e fêmea de <i>B. pomorum</i> .....	34
<b>Figura 15</b> - Cromatograma do extrato de <i>Headspace</i> dinâmico de fêmeas de <i>B. pomorum</i> e resposta eletroantegráfica das antenas de machos de <i>B. pomorum</i> .....	35
<b>Figura 16</b> - Análise do GC-MS: A) extrato de aeração de fêmea e B) injeção dos produtos 2,6,10,14-tetrametilexadecano e Fitol.....	38

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Insetos-Praga de anonáceas.....	17
<b>Tabela 2</b> - Índice de Kovats para os compostos presentes no extrato de cuticulares de indivíduos fêmea e macho da broca-da-semente de anonáceas <i>B. pomorum</i> .....	34
<b>Tabela 3</b> - Compostos presentes nos extratos de aeração de fêmeas de <i>B. pomorum</i> .....	36

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**CG- EAG** – Cromatografia gasosa acoplada à eletroantenografia;

**CG-DIC**- Cromatografia gasosa acoplada a um detector por ionização de chama;

**CG-EM** – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas;

**COVs** - Compostos Orgânicos Voláteis;

**EAG**- Eletroantenografia;

**LPqRN**- Laboratório de pesquisa em recursos naturais;

**MIP**- Manejo integrado de pragas;

**PVC** - Policloreto de vinila;

**UFAL** – Universidade Federal de Alagoas.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
2.1 Geral.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
2.2 Específicos .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
3.1 Importância econômica da graviola .....	14
3.2 Insetos-praga na cultura de graviola .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.3.1 Características morfológicas .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.3.2 Injúrias e danos econômicos .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.3.4 Estudos comportamentais de <i>Bephratelloides pomorum</i> .....	18
3.4 Ecologia Química no controle de pragas .....	19
3.4.1 Comunicação Química entre Insetos.....	19
3.4.2 Feromônio no controle de pragas .....	20
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
4.1 Coleta e avaliação do comportamento dos insetos em condições de laboratório .....	22
4.2 Extração e Isolamento dos componentes cuticulares dos insetos .....	23
4.2.1 Extração por superfície do corpo dos insetos.....	23
4.2.2 Extração por solvente: Tórax/abdome.....	23
4.2.3 Extração por maceração: Tórax/abdome.....	24
4.2.4 Aeração.....	24
4.3 Análise dos Compostos orgânicos voláteis por cromatógrafo a gás com detector em ionização em chama (CG/DIC).....	25
4.5 Eletroantenografia.....	27
4.6 Análise dos compostos orgânicos voláteis por cromatografia a gás com detector eletroantegráfico (CG-EAG).....	27
4.7 Análises dos compostos orgânicos voláteis por cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM). .....	28
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
5.1 Comportamento de corte <i>B. pomorum</i> .....	30
5.2 Extratos de corpo inteiro de <i>B. pomorum</i> .....	30
5.3 Extratos de <i>Headspace</i> dinâmico de fêmeas de <i>B. pomorum</i> .....	32
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>37</b>

<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>38</b>
--------------------------	-----------

## 1 INTRODUÇÃO

A gravioleira, *Annona muricata* L., é uma anonácea tropical, com origem na América Central e norte da América do Sul, sendo a Venezuela o maior produtor dessa fruta. É uma dicotiledônea de hábito de crescimento ereto, flores hermafroditas, o fruto, a graviola, possui baga composta e casca com espículas moles quando maduro. Esta espécie é amplamente cultivada nas regiões norte, nordeste, centro-oeste e sudeste brasileiro destacando-se a Bahia, Ceará, Pernambuco, Alagoas e Minas Gerais (ZACARONI et al., 2014).

Devido ao crescimento do cultivo de graviola, problemas com pragas que infestam diferentes estruturas da planta, podem ocasionar grandes danos a cultura (FILHO et al, 2002).

Dentre as pragas mais importantes na cultura, destaca-se *Bephratelloides pomorum* (Fabricius, 1808) (Hymenoptera: Eurytomyidae), devido aos danos que pode provocar, através das larvas que depreciam as sementes, causam queda dos frutos jovens e o desenvolvimento de microrganismos causadores de podridão nos frutos em virtude dos orifícios deixados pela emergência dos insetos adultos (BRAGA SOBRINHO et al., 1998).

A fêmea de *B. pomorum* efetua a postura sobre a epiderme do fruto e após a eclosão, a larva penetra abrindo uma galeria em direção à semente, onde fica alojada até completar o seu desenvolvimento, aproximadamente 30 a 45 dias (BRAGA SOBRINHO et al., 1998). Por serem canibais, desenvolve-se apenas uma larva por semente, passando a fase de pupa no seu interior. O adulto emerge cerca de 9 a 21 dias depois, fazendo um orifício na semente e percorrendo o caminho de saída até a casca do fruto, onde faz um orifício circular de 2mm para sua saída (JUNQUEIRA et al., 1996). Os adultos têm longevidade de aproximadamente sete dias, e cada fêmea pode depositar até 200 ovos. O ciclo biológico do inseto pode variar de 45 a 113 dias (PEREIRA et al., 1997).

Os frutos atacados apresentam um halo verde-escuro em volta do espinho, o que corresponde a uma semente infectada. Ao sair do fruto, a vespa adulta faz um trajeto que danifica a polpa do fruto, deixando-o impróprio para o consumo, acarretando a depreciação do valor comercial do fruto (FAZOLIN; LEDO, 1997).

Uma alternativa que vem contribuindo para o monitoramento e controle de insetos praga é o estudo comportamental, através do conhecimento que podem levar ao isolamento e identificação dos semioquímicos envolvidos na interação inseto versus inseto e inseto versus planta. Utilizados no Manejo Integrado de Pragas (MIP) como estratégia de controle, os feromônios são importantes ferramentas para detectar a ocorrência e determinar os níveis populacionais dos insetos em campo, como também para o controle dessas populações através



de técnicas de coleta massal, atrai e mata, confusão sexual e push-pull (MORANDI FILHO et al., 2007).

Para *B. pomorum*, que vem causando grandes complicações a graviola, por serem multivoltinos e endofíticos, torna o seu controle mais difícil (PEREIRA et al., 2003) e pelo fato de não se ter nenhum feromônio identificado para essa praga, reforça o interesse de buscar estratégias eficientes que venham a monitorar e controlar essa praga em campo. Krokos et al. (2001), citam a presença de alcadienos e alcenos como componentes do feromônio sexual da vespa da semente da amêndoa, *Prunus amygdalus* (L.) Batsch (Rosales: Rosaceae), *Eurytoma amygdali* Enderlein (Hymenoptera: Eurytomidae). Na ordem Hymenoptera há poucos trabalhos relatando a ocorrência de feromônios, exceto para as formigas e abelhas.

Estudos conduzidos por Moura & Leite (1994) apontaram que as fêmeas virgens de *B. pomorum* desempenham forte atratividade sobre machos durante o acasalamento, sendo o tórax à parte do corpo de maior atratividade. Leal et al., (1997) confirmaram em bioensaios de campo e por meio de eletroantenograma, que as fêmeas de *B. pomorum* possuem um feromônio sexual de longa distância mediando estes acasalamentos. E em um estudo do feromônio de *B. pomorum*, apenas em fase experimental, 4 fêmeas virgens conseguiram atrair mais de 400 exemplares de machos em um experimento realizado na Bahia.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi determinar substâncias envolvidas na atratividade entre os espécimes de *B. pomorum*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura da graviola e suas principais pragas

Diversos mercados vêm aderindo o comércio de frutas tropicais, tendo como as mais aceitas a graviola, que vêm sendo cultivada nas regiões norte, nordeste, centro-oeste e sudeste do Brasil, destacando-se a Bahia, Ceará, Pernambuco, Alagoas e Minas Gerais (ZACARONI et al., 2014).

A crescente demanda por graviola está atribuída às qualidades organolépticas que seus frutos possuem, o que possibilita seu consumo “in natura” e a sua utilização pela agroindústria (VIÉGAS; FRAZÃO, 2004). Sua polpa apresenta grande valor como matéria-prima para a produção de doces, geleias, gelados comestíveis, néctares e afins. Produzida em época de safra, pode ser mantida refrigerada ou congelada (BUENO et al., 2002). Estando entre as mais vendidas no Nordeste, representando 12% do comércio, ficando atrás apenas das polpas de acerola, goiaba, maracujá e caju (LEMOS, 2014).

Muito bem adaptada no Brasil, a graviola é tida como uma das frutas mais importantes do grupo das anonáceas, no comércio dessa região (SACRAMENTO et al., 2003). A importância socioeconômica do cultivo de anonáceas, especialmente da graviola no Brasil, tem aumentado nos últimos anos pela demanda de frutas tropicais, além da possibilidade de uso na indústria farmacêutica e de cosméticos. Esse interesse pelo cultivo de anonáceas se deve ao alto preço alcançado no mercado, bem como pela sua inserção no mercado europeu e americano (BRAGA SOBRINHO, 2010). Com grande potencial terapêutico, a fruta possui propriedades diuréticas, adstringentes, anti-inflamatório, antirreumático, antiespasmódica, antitussígena, anticancerígena e é fonte de vitaminas. Possui alto poder antioxidante, apresentando-se como fonte de vitaminas do complexo B, importantes para o metabolismo normal do organismo e para a saúde (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014)

A produção dessas frutíferas tem sofrido várias limitações devido a fatores como escassez de informação técnicas e manejo geral no campo, sendo o principal obstáculo a existência de um complexo de pragas que impede a exploração das anonáceas. Dentre as principais pragas destacam-se *Cerconota anonella*, broca-do-fruto, (Sepp., 1830) (Lepidoptera: Oecophoridae) e *Bephratelloides pomorum*, broca-da-semente, (Fab., 1808) (Hymenoptera: Eurytomidae), consideradas pragas-chave do gênero *Annona* (BRAGA SOBRINHO, 2010).

Segundo Bleicher e Melo, (2002) também podem ser citadas como pragas essas espécies relacionadas na (Tabela 1).

**Tabela 1:** Insetos-Praga de anonáceas.

ORDEM	FAMÍLIA	ESPÉCIE	NOME VULGAR
COLEOPTERA	<b>Bostrichidae</b>	<i>Apate</i> sp.	Broca-do-ramo
	<b>Cerambycidae</b>	<i>Oncideres dejeani</i> (Thomson)	Serra-pau
	<b>Curculionidae</b>	<i>Cratosomus bombina</i> (Fabricius)	Broca-do-tronco
		<i>Helipus catagraphus</i> (Gemar)	Broca-do-coleto
		<i>Priomerus brevirostris</i> (Hustache)	Minador das folhas
	HEMIPTERA (Subordem/Homoptera)	<b>Aphididae</b>	<i>Aphis spiraecola</i> (Pach.)
<b>Cicadellidae</b>		<i>Empoasca</i> sp.	Cigarrinha-verde
<b>Coccidae</b>		<i>Ceroplastes floridensis</i> (Comstock)	Cochonilha-parda
		<i>Saissetia coffea</i> (Walker)	Cochonilha-de-cera
<b>Diaspididae</b>		<i>Pinnaspis aspidistrae</i> (Signoret)	Cochonilha escama-farinha
<b>Membracidae</b>		<i>Enchenopa</i> sp. <i>Membracis foliata</i> (Richter)	Soldadinho Soldadinho
HYMENOPTERA	<b>Meliponidae</b>	<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius)	Irapuá
LEPIDOPTERA	<b>Noctuidae</b>	<i>Gonodonta</i> sp.	Lagarta pintada
	<b>Sphingidae</b>	<i>Cocytius antaeus</i> (Drury)	Lagarta das folhas

Fonte: BLEICHER e MELO, (2002).

## 2.2 Broca da semente da graviola - *Bephratelloides pomorum* (Fabricius, 1808)

A broca da semente da graviola é uma pequena vespa do gênero *Bephratelloides* spp. (Hymenoptera: Eurytomidae). Noyes (2003) destaca diferentes espécies: *Bephratelloides ablusus* (Grissell & Foster, 1996), que ocorre no México, *B. maculicolis* (Cameron, 1913) ou *B. pomorum* (Fabricius, 1804), ocorrendo na Bolívia, Brasil (Alagoas, Amazonas, Ceará, Brasília, Minas Gerais, São Paulo), Costa Rica, Colômbia, Equador, Guiana Francesa,

Honduras, Panamá, Peru, Suriname, Trinidad & Tobago e Venezuela. *Bephratelloides limai* (Bondar, 1928) no Brasil – Amazonas e Bahia; *B. cubensis* (Ashmead, 1894), na América Central, Colômbia e Antilhas; *B. paraguayensis* (Crawford, 1911) no Paraguai e *Bephratelloides petiolatus* (Grissell & Schauff, 1990) no Panamá.

A espécie *B. pomorum*, conhecido também por outras denominações como vespinha-do-fruto; vespa-do-fruto da graviola; perfurador-dos-frutos ou broca-da semente, é uma praga de grande importância em pomares de anonáceas no Brasil (JUNQUEIRA et al., 1996; SILVA, 2013).

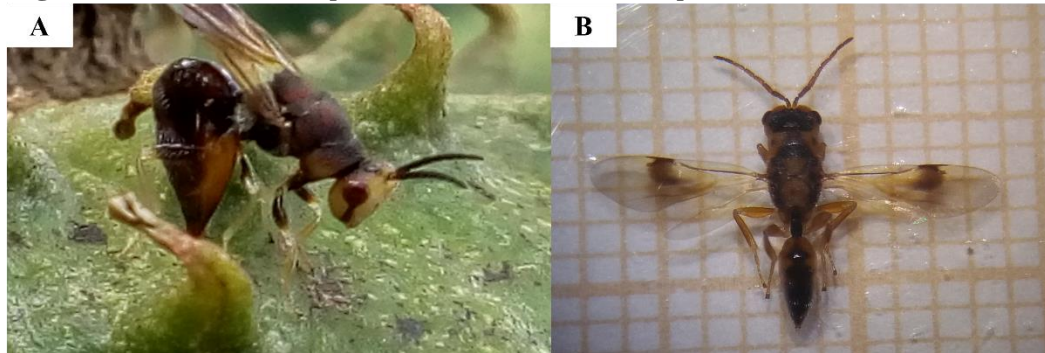
Segundo estudos realizados por González (2013) a broca das sementes de anonáceas *B. pomorum* geralmente oviposita em frutos de 30-35 dias. O ovo, de 1 a 20 dias após oviposição, é de formato elíptico, com um pedúnculo 5 a 8 vezes maior que o seu comprimento, os quais são depositados dentro do endosperma da semente em desenvolvimento. O ovipositor é inserido indiscriminadamente na semente, sendo observado cicatrizes e ovos ancorados em diferentes regiões da semente. Podem ser encontrados vários ovos em uma mesma semente.

Durante o desenvolvimento larval, González (2013) observou a ocorrência de quatro estádios larvais. Todos os estádios apresentam 15 segmentos, incluindo a cápsula cefálica bem definida com mandíbulas quitinizadas. O primeiro estádio larval tem duração mais longa. O crescimento larval do segundo ao terceiro estádio é bastante acelerado. Nos últimos estádios larvais, os recursos da semente são rapidamente consumidos.

Após a postura das fêmeas o primeiro estádio larval foi observado entre 25° e 35° dia sendo observadas sementes com mais de uma larva. O segundo estádio larval foi observado entre o 43° e 47° dia, o terceiro estádio larval entre o 48° e 50° e o quarto estádio larval foi encontrado entre o 54° e 60° dia após a postura. O consumo da semente continua e a cavidade onde se encontra a larva se expande, até ocupar aproximadamente 80% do volume da semente. A larva atinge seu tamanho máximo e começa a formação da pupa (GONZÁLEZ, 2013).

Morfologicamente, as larvas apresentam-se ápodas, com coloração branca, sendo canibais. A pupa é branco-cremosa do tipo exarada. O adulto é uma vespa que mede entre 0,7 mm e 1 cm de comprimento, dependendo do sexo, pois a fêmea é maior. A fêmea dessa espécie possui coloração marrom-escura, com pequenas manchas amarelas pelo corpo; o abdome é do tipo pedunculado com a extremidade pontiagudo; a antena é geniculada, com nove antenômeros. O macho apresenta coloração amarelo escuro; abdome pedunculado, apresentando a extremidade apical truncada, antena geniculada com oito antenômeros. Ambos os sexos possuem asas amareladas, transparentes e sua asa anterior apresenta uma mancha escura no centro (BLEICHER; MELO, 2002; OLIVEIRA et al., 2001) (Figura 4).

**Figura 4.** A) fêmea de *B.pomorum*; B) macho de *B. pomorum*.



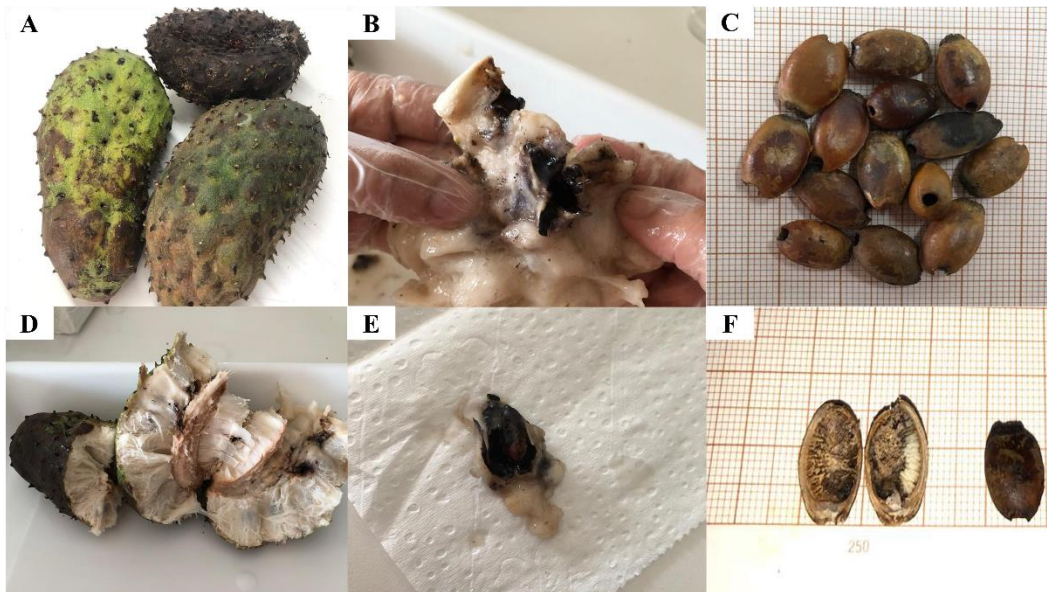
**Fonte:** Autora, (2019).

O ciclo vital desta praga desde o ovo até o adulto varia entre 45 e 113 dias, dependendo do estágio fisiológico da semente (PEREIRA et al., 1997). Ao emergir, o adulto constrói uma galeria até a superfície do fruto, deixando um orifício no fruto (PEREIRA, 1996).

A injúria causada pela broca-da-semente se caracteriza pelo aparecimento de um ou mais orifícios na casca do fruto, de aproximadamente dois milímetros de diâmetro. O maior dano consiste na queda dos frutos jovens, quando perfurados causado pelos orifícios que servem de porta de entrada para microrganismos patogênicos que causam podridão (BRAGA SOBRINHO et al., 1998).

Os frutos, quando atacados, tornam-se impróprios para o consumo, uma vez que a polpa localizada próxima às sementes fica com aspecto empedrado. A injúria característica do ataque desta broca é a presença de orifícios localizados na base dos acúleos e distribuídos por toda região do fruto (CALOBA & SILVA, 1995).

**Figura 6.** Injúrias provocadas pelo ataque de *B. pomorum*. A e D) infestação de *B. pomorum* em associação com microrganismos causadores de podridão de frutos; B e E) semente mumificada; C) orifícios deixados na semente devido a emergência de *B. pomorum*; F) semente atacada.



**Fonte:** Autora, (2021).

A broca-da-semente pode ser apontada como uma das pragas mais significativas para essa fruta, devido à severidade dos danos (FAZOLIN; LEDO, 1997). O valor comercial do fruto *in natura* é significativamente prejudicado, devido sua casca estar perfurada (JUNQUEIRA et al., 1996). As sementes são inteiramente destruídas pelas larvas e os frutos danificados interna e externamente, as perdas na produção de *Annona* spp. devido a ação dessa praga podem variar entre 70 e 100% (REYES, 1967; ZENNER, 1967).

### 3.3.4 Estudos comportamentais do *Bephratelloides pomorum*

Observações do comportamento de acasalamento do *B. pomorum*, realizado por Nascimento et al., (1998) em semi-campo e condições de laboratório, mostrou que ao emergir, e atingir a superfície do fruto, a vespa já está pronta para o acasalamento. Geralmente os machos emergem primeiro aguardando a emergência das fêmeas. O reconhecimento de uma fêmea ocorre a curta distância e os machos atraídos exibem um comportamento de corte peculiar que pode ser dividido em três etapas, antenação, saltos laterais e vibrações das asas.

Em um estudo comportamental de corte e cópula de *B. pomorum* realizado por Pereira et al., (1998), foi observado que o macho segura a fêmea pelo tórax usando o primeiro par de pernas. A posição final do macho sobre a fêmea, com as cabeças de ambos voltadas na mesma direção, caracterizava a montaria. Durante a "montaria", o macho expôs o edeago, tocou a fêmea com as antenas, posicionou-se lateralmente, curvou a extremidade do abdômen e vibrando as asas e antenas em movimentos rítmicos sincronizados, realizava a cópula.

Pereira et al., (2003), enfatizam que o comportamento de postura das fêmeas, inicia-se a partir do momento que esta começa a percorrer o fruto, tocando-o repetidamente com movimento das antenas, em busca de um local ideal. Ao encontrá-lo, a fêmea para e curva seu abdome perpendicularmente à superfície do fruto, rompendo a casca do fruto com o primeiro par de valvas, facilitando a penetração do ovipositor. O abdome, aos poucos, volta à posição paralela à superfície do fruto à medida que a fêmea abaixa o corpo para introduzir o ovipositor. Este comportamento permanece até que o abdome fique totalmente apoiado no fruto facilitando a liberação do ovo na semente. Em seguida, a fêmea levanta o corpo, retira o ovipositor e o acomoda numa fenda localizada ao longo do abdome.

### **3.4 Ecologia Química no controle de pragas**

#### **3.4.1 Comunicação Química entre Insetos**

Interações entre plantas e insetos devem ser compreendidas sob um ponto de vista coevolutivo (EHRlich; RAVEN, 1964; BLANDE, 2017). Semioquímicos envolvidos nessas interações constituem um foco central de estudos ecológicos e evolutivos em constante expansão (BLANDE, 2017).

A comunicação é parte integrante do comportamento animal, que é definida como um processo que envolve a transmissão de sinais entre organismos. Em algumas situações, confere vantagens apenas para o organismo emissor e seu grupo; em outras, apenas para os organismos receptores ou para ambos (NASCIMENTO et al., 2001).

Os insetos utilizam vários mecanismos para exercerem suas relações ecológicas, tanto no comportamento com o ambiente e outros organismos, como na comunicação por meio de compostos químicos, considerada a mais importante. A comunicação química ocorre através de semioquímicos, apresentando relevância na alimentação, como a detecção de presas e seleção de plantas, na defesa com a agressividade, percepção de perigo, na organização das atividades sociais, no acasalamento e na escolha do local de postura, essenciais para a sobrevivência e garantia da perpetuação das suas espécies (ZARBIN et al., 2009; WYATT, 2014; LIMA; BLANDE, 2017).

Os semioquímicos são compostos que conduzem informação entre dois indivíduos despertando no receptor uma resposta fisiológica e/ou de comportamento e podem ser classificados como feromônios e aleloquímicos (VET; DICKE, 1992). Os feromônios têm ação intraespecífica podendo ser favoráveis ou não a ambos os indivíduos envolvidos, já os

aleloquímicos geram respostas interespecíficas conferindo vantagem seletiva do organismo envolvido (PRICE, 1997; VET; DICKE, 1992).

A utilização de semioquímicos como compostos não tóxicos, característicos de espécies que não prejudicam insetos benéficos, compõe a base para estratégias de manejo eficientes e sustentáveis. Os feromônios e outros semioquímicos são aplicados para manejo de pragas em milhões de hectares no mundo todo (WITZGALL, 2010). É evidente que o entendimento das interações inseto-planta na perspectiva da comunicação química precisa ser continuamente estudado, pois é sabido que a prospecção de substâncias químicas associada a estudos biológicos das espécies envolvidas, pode gerar novos produtos para uso no manejo integrado de pragas (BORGES et al., 2015).

### 3.4.2 Feromônio no controle de pragas

Feromônio é definido como uma substância química volátil secretada por um indivíduo provocando uma mudança no comportamento de outros indivíduos (WOODWARD, 2009). Ele pode agir na atração de indivíduos do sexo oposto para acasalamento, sendo denominados de feromônios sexuais; na agregação de indivíduos de ambos os sexos em determinado local, geralmente com o objetivo de indicar presença de alimento, através do feromônio de agregação; na formação de trilha, comportamento comum em formigas, através de feromônios de trilha; no alarme, transmitindo uma mensagem de perigo, entre outros (ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009; NAVARRO et al., 2002).

O estudo dos semioquímicos com perspectivas ao manejo de pragas, tem sido o foco de estudos da ecologia química como disciplina científica, desde a identificação do primeiro feromônio sexual de um inseto, o composto bombicol (*E,Z*)10,12-hexadecadien-1-ol) da mariposa da seda (*Bombyx mori*) (BUTENANDT et al., 1959; TEWARI et al., 2014).

De acordo com Tiboni (2007), “os feromônios sexuais e de agregação têm sido os mais estudados até o presente momento, uma vez que apresentam maiores perspectivas de emprego no controle de insetos-praga, diminuindo assim, as subseqüentes infecções larvais”. Registros da literatura confirmam que, especialmente feromônios sexuais, têm sido investigados intensivamente por pesquisadores da área de controle de pragas por mais de duas décadas. Os resultados apontam bons caminhos para o seu emprego e vários programas que os utilizam têm sido implementados com sucesso (WITZGALL et al., 2010; BENTO et al., 2016).

A utilização dos feromônios em programas de manejo de pragas é crescente e atende ao modelo recomendado para a agricultura do futuro (WITZGALL et al., 2010; BENTO et al.,



2016). O uso desses compostos na agricultura para o monitoramento e controle de insetos-pragas, tornou-se uma ferramenta de controle por serem espécie-específicos e atóxicos, atuando apenas sobre as espécies-alvo, sendo importantes técnicas dentro do MIP (MOREIRA et al., 2005).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta e avaliação do comportamento dos insetos em condições de laboratório

#### *Coleta dos insetos*

Os insetos foram coletados de frutos de graviola infestados em pomares comerciais nos municípios de Limoeiro de Anadia (Latitude: -9.73797, Longitude: -36.5031 9° 44' 17" Sul, 36° 30' 11" Oeste), Arapiraca (Latitude: -9.75164, Longitude: -36.6604 9° 45' 6" Sul, 36° 39' 37" Oeste) e Maragogi (Latitude: -9.01271, Longitude: -35.2213 9° 0' 46" Sul, 35° 13' 17" Oeste) estado de Alagoas (Figura 7).

Os frutos foram encaminhados para o Laboratório de Pesquisas em Recursos Naturais (LPqRN) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) sendo mantidos durante o transporte acondicionados em baldes, substituindo a tampa de plástico por tecido *voil* para permitir a circulação de ar (Figura 8).

No laboratório, os frutos foram transferidos para gaiolas de PVC, circundada com tela, (dimensões de 50cm x 50cm x 50cm) (Figura 9), até a emergência dos insetos, os quais eram separados por sexo e mantidos separadamente em gaiolas menores confeccionadas com tela antiafídica (dimensões de 30cm x 30cm x 30cm), sendo alimentados com solução de melão a 10%, para a montagem dos experimentos.

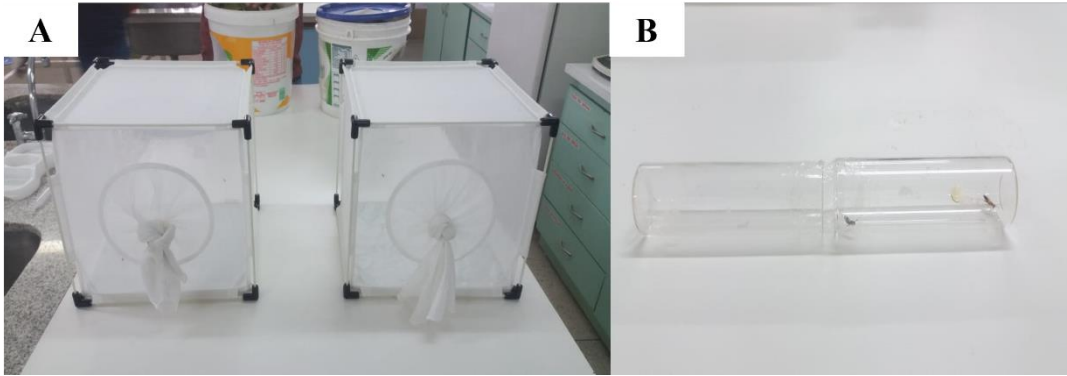
Posteriormente, realizava-se a observação do comportamento dos insetos.

#### *Comportamento dos insetos*

As observações do comportamento dos insetos para conhecimento do horário de atividade sexual e a determinação do sexo responsável pela liberação do feromônio foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN)–UFAL.

Para essa avaliação, foram liberados em gaiolas confeccionadas com tela antiafídica (dimensões de 30cm x 30cm x 30cm), 10 indivíduos de cada sexo, com 24 e 48 horas de idade, durante o horário de atividade sexual entre 09:00h e 14:00h, anotando-se todos os comportamentos realizados pelos insetos (Figura 10).

**Figura 10** - Observação do comportamento dos insetos. A) machos e fêmeas separados por gaiola; B) macho e fêmea juntos dentro do tubo.



**Fonte:** Autora, (2021).

## **Extração e Isolamento dos componentes cuticulares dos insetos**

### **Extração da superfície do corpo dos insetos**

Os procedimentos para obtenção dos compostos da superfície do corpo dos insetos foram desenvolvidos no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturas (LPQRN) - UFAL. Para a realização do procedimento de extração, o número de insetos variou de acordo com a disponibilidade deles, foram utilizados 500µl de solvente hexano grau HPLC (Merck, Alemanha).

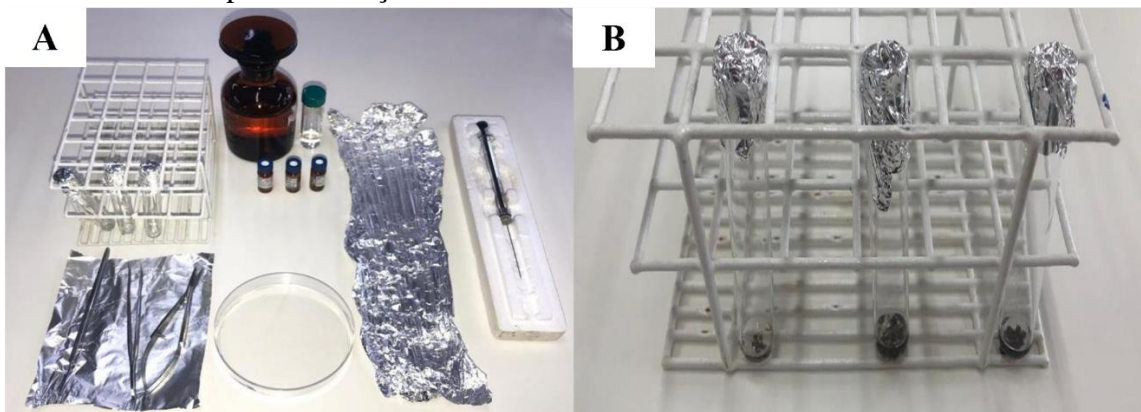
À medida que os insetos, machos e fêmeas, iam emergindo, com 24 e 48h era feito a extração do corpo utilizando-se 500µl de solvente hexano grau HPLC (Merck, Alemanha). Os insetos foram inseridos em tubos de ensaios de fundo chato, separadamente, mantidos em freezer de 1 a 2 minutos para serem sacrificados, e em seguida, foram acrescentados 500µL de solvente (hexano) nos tubos por 2 min. Após esse período, a solução foi filtrada em uma coluna de lã de vidro, preparada em uma pipeta de Pasteur de vidro. Os extratos de 300µL filtrados, foram transferidos para (vials) de 2 mL de volume e armazenados a -20 °C até o momento de utilização nos experimentos. A metodologia aplicada para essa pesquisa foi adaptada de Krokos; Konstantopoulou; Mazomenos (2001), sendo um procedimento adotado em todos os estudos no laboratório.

### **Extração por solvente: Tórax/abdome**

A extração foi realizada durante o horário de atividade sexual dos insetos, entre 09:00 e 14:00 horas, utilizando-se 10 fêmeas e 10 machos de 24 e 48 horas de idade que foram mantidos em freezer de 1 a 2 minutos para sacrificá-los. Os insetos adultos foram seccionados na cabeça, tórax e abdome. 10 tórax e dez abdome excisadas de machos e de fêmeas foram adicionados

separadamente em tubos de ensaio de 5mL, em seguida, foram inseridos 200 $\mu$ L de solvente (hexano) nos tubos por 2 min. (Figura 5) para produzir um extrato bruto de cada parte do inseto. Uma coluna de lã de vidro, preparada em uma pipeta de Pasteur de vidro, foi usada para filtrar esses extratos. Os filtrados com um volume de aproximadamente 150 $\mu$ L foram transferidos para (vials) e armazenados a -20 ° C para posterior utilização nos experimentos (Figura 11).

**Figura 11** - Extração por solvente de tórax e abdome. A) parte dos insetos no hexano; B) materiais utilizados para a extração.



Fonte: Autora, (2021).

### Extração por maceração: Tórax/abdome

A extração foi realizada durante o horário de atividade sexual dos insetos, com 20 indivíduos de cada sexo de 24 e 48 horas de idade por extrato. Os insetos adultos foram adicionados separadamente em tubos de ensaio de 5mL, mantidos em freezer de 1 a 2 minutos para sacrificá-los, em seguida, realizou-se a separação do corpo do inseto em cabeça, tórax e abdome. As partes do tórax e do abdome excisados de machos e de fêmeas foram adicionados separadamente em tubos de ensaio de 5mL e macerados com o auxílio de um bastão de vidro e extraídos com 500 $\mu$ L de solvente (hexano grau HPLC) nos tubos por 2 min. para produzir um extrato bruto. Em uma coluna de lã de vidro, preparada em uma pipeta de Pasteur de vidro, estes extratos foram então, filtrados, transferidos para (vial) contendo volume de aproximadamente 300 $\mu$ L e armazenados a -20 ° C até a utilização nos experimentos.

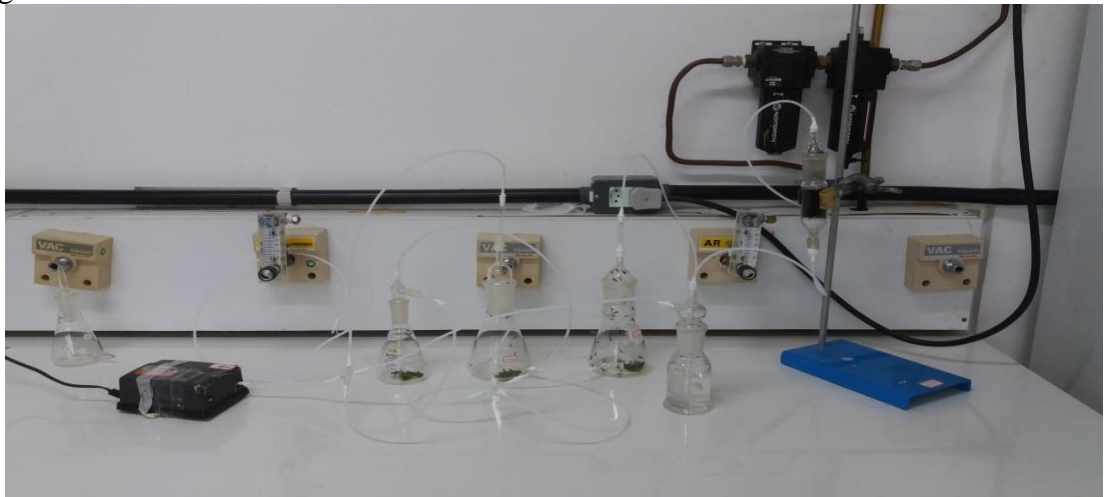
### Aeração

#### *Coleta dos compostos voláteis dos insetos adultos por “head space” dinâmico*

Na coleta dos compostos voláteis (COVs) por “*head space*” dinâmico ou simplesmente aeração, grupos entre 10 e 100 insetos adultos virgens e copulados foram acondicionados separadamente em câmaras de aeração de vidro com capacidade para 125mL. No sistema fechado o ar, previamente filtrado com carvão ativado foi passado através do sistema pelo uso de um compressor com fluxo de 300 mL/min, para o arraste das substâncias voláteis emitidas pelos insetos.

Para a coleta dos COVs foi utilizado um “trap” constituído de 50mg do adsorvente Porapak Q (Etilvinilbenzeno-divinilbenzeno) mesh 50/80 (Supelco Inc., Bellefonte, PA 16823 Estados Unidos) em um tubo de vidro de 03 mm de diâmetro. Esse “trap” foi colocado na saída do sistema conectado a bomba de vácuo com arraste de 200 mL/min. A limpeza e ativação do “trap” de Porapak foi realizada previamente ao uso e para isso utilizou 1mL de metanol (solvente grau HPLC) e 1mL de hexano (solvente grau HPLC) e aquecido à 120°C, por duas horas com passagem de ar limpo. As aerações foram realizadas continuamente durante o período das 09:00 às 17:00 horas. Ao término das aerações, a dessorção dos compostos foi realizada filtrando 500 µL de hexano bidestilado pelos “traps” contendo os voláteis. Os extratos obtidos foram armazenados em freezer a -20°C até a utilização nos experimentos. (Figura 12).

**Figura 12** - Coleta dos Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) dos insetos e de graviola.



Fonte: Autora, (2021).

**Análise dos Compostos orgânicos voláteis por cromatógrafo a gás com detector em ionização em chama (CG/DIC).**

Os extratos de aeração da broca da semente de graviola, *B. pomorum* foram analisados por cromatografia gasosa acoplada ao detector por ionização em chamas (CG-DIC) (Shimadzu, Kyoto, Japão), coluna NST 05 (30 m, 0,25 mm di.; Restek®, Bellefonte, PA, USA), para a análise da composição química dos extratos obtidos. O método utilizado para a análise dos extratos foi: temperatura do injetor a 250 °C, a coluna foi mantida a 50 °C por 5 min, seguindo-se aquecimento por 10 °C por minuto até atingir 280 °C, sendo mantida a 280°C por 15 min. Utilizando-se como gás de arraste o nitrogênio e injeção de 1 µL da amostra para análise. O modo de injeção usado foi “splitless”. Os cromatogramas foram analisados com o cálculo de KI.

Os extratos cuticulares de *B. pomorum* foram analisados por cromatografia gasosa acoplada ao detector por ionização em chamas (CG-DIC) (Shimadzu, Kyoto, Japão), com a seguinte programação: temperatura do injetor 200°C, coluna NST 05 (30 m, 0,25 mm di.; Restek®,) iniciada a 130 °C seguindo-se aquecimento 20 °C por minuto até atingir 150 °C e 18 °C por minuto até atingir 280°C, sendo mantida a 280°C por 25 min. Uma alíquota de 1 µL dos extratos de corpo inteiro de machos e fêmeas foi injetada, o nitrogênio foi o gás de arraste com fluxo de 0.83 mL/min. O modo de injeção usado foi “splitless” Os cromatogramas obtidos foram analisadoa e comparados para detectar compostos químicos específicos de cada sexo com o cálculo de KI.

### **Bioensaio comportamental em olfatômetro Y**

Os estudos comportamentais de *B. pomorum* foram realizados usando os extratos coletados através dos insetos adultos. Os bioensaios de olfatometria foram realizados utilizando um olfatômetro em Y para investigar a resposta comportamental dos insetos adultos, sendo operado com um fluxo de ar contínuo de 0,4 L/min, previamente umidificado e filtrado com carvão ativado.

A fonte de odor utilizada foi uma alíquota de 10 µL do extrato de aeração de fêmeas, impregnada a um pedaço de papel de filtro de (1,5 × 2,0) inserido dentro da extremidade de um dos braços do olfatômetro, e no braço oposto foi adicionado o papel filtro impregnado com 10 µL de hexano (controle). Um macho de *B. pomorum* adulto foi introduzido no braço central do olfatômetro. e seu comportamento foi observado durante 5 minutos. A escolha foi registrada quando o inseto adulto ultrapassou a marcação correspondente a 75% do comprimento do braço escolhido. A decisão de "não escolha" foi registrada, quando o inseto não caminhava contra o fluxo de ar e/ou não atingia a porção considerada durante os 5 minutos observados. A fonte de

odor foi substituída a cada indivíduo testado. O olfatômetro foi modificado a cada 5 repetições no experimento, para evitar o viés direcional e lavados em água corrente, etanol e água destilada, a cada 10 repetições, sendo posteriormente secado em estufa de esterilização a 150°C. Os experimentos foram realizados no período entre 09:00 e 14:00 horas, para cada experimento foram testados 30 machos e cada inseto testado foi considerado como uma repetição. Dessa forma, realizou-se um número de 30 repetições para cada tratamento.

Para análise dos dados das respostas de machos para os tratamentos em olfatômetro, os dados foram transformados em porcentagem e foi usado o teste Qui-quadrado através do Software SAS. Os insetos que não escolheram nenhum dos braços foram excluídos da análise estatística.

### **Eletroantenografia**

Os extratos de aeração de fêmeas foram analisados contra as antenas de insetos machos adultos pela técnica de eletroantenografia. Os insetos machos foram anestesiados por um minuto em temperatura de (-20°C), e utilizando-se uma tesoura entomológica, a cabeça do inseto foi seccionada na base e, com o auxílio de uma pinça metálica, foi fixada em um contra eletrodo e o ápice do flagelo de uma das antenas foi inserido no eletrodo de trabalho. Um gel condutor de eletricidade foi utilizado para fixar a base da cabeça no contra eletrodo e para cobrir o flagelo da antena no eletrodo de trabalho.

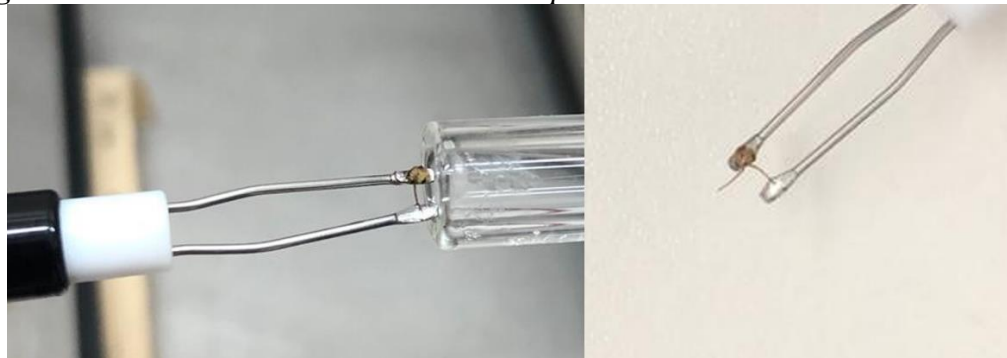
A resposta das antenas de machos de *B pomorum* para os extratos obtidos, foi avaliada por um sistema gerador de pulsos (Stimulus Controller CS 55, Syntech) programado para gerar um puff com duração de 0,3s. Para este experimento foi utilizado como fonte de odor os extratos de aerações de fêmeas e hexano grau HPLC. Para cada repetição uma alíquota de 10 µL de cada tratamento foi adicionada sobre um pedaço de papel de filtro de 2,0 cm<sup>2</sup>, inserido em uma pipeta de Pasteur de vidro e, posteriormente conectada ao sistema gerador de pulsos. Cada antena testada recebeu estímulos de hexano e extratos por três vezes e ao término de cada triplicata, trocava-se a antena. Um total de 9 antenas foram testadas para cada tratamento. Os dados foram submetidos ao teste de hipóteses, teste t de Student ao nível de 5% de probabilidade. Usando o software estatístico SAS.

### **Análise dos compostos orgânicos voláteis por cromatografia a gás com detector eletroantegráfico (CG-EAG)**

Os extratos de aeração da broca da semente de graviola, *B. pomorum* foram analisados por cromatografia gasosa a acoplada a um detector Eletroaneténográfico (CG-EAG) (Shimadzu QP2010, Shimadzu, Kyoto, Japão) coluna RTX-5 (30 m, 0,25 mm d.i.; Restek®), com a finalidade de identificar compostos eletrofisiologicamente ativos nos extratos de *B. pomorum*. O método utilizado para a análise dos extratos consistiu na programação da temperatura do injetor a 250 °C, a coluna foi mantida a 50 °C, seguindo-se aquecimento por 10 °C por minuto até atingir 250 °C, seguindo-se aquecimento por 10 °C por minuto até atingir 280°C, sendo mantida a 280°C por 15 min. O nitrogênio foi utilizado como gás de arraste com o fluxo de 1,10 mL/min. O volume de injeção foi de 1µL de amostra no modo “splitless”.

No procedimento de preparação das antenas de *B. pomorum*, os machos adultos foram anestesiados por um minuto em temperatura de (-20°C) e, utilizando-se uma tesoura entomológica a cabeça do inseto foi seccionada na base e, com o auxílio de uma pinça metálica, foi fixada em um contra eletrodo e o ápice do flagelo de uma das antenas foi inserido no eletrodo de trabalho. Um gel condutor de eletricidade foi utilizado para fixar a base da cabeça no contra eletrodo e para cobrir o flagelo da antena no eletrodo de trabalho (Figura 13).

**Figura 13** - Antena de machos adultos de *B. pomorum* fixada no eletrodo.



**Fonte:** Autora, (2020).

### **Análises dos compostos orgânicos voláteis por cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM).**

Os espectros de massas dos extratos de *B. pomorum* foram obtidos através da análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). Os extratos foram injetados no CG-EM modelo 2010 PLUS, (Shimadzu, Kyoto, Japão), em coluna Nist-01 (100% Dimetilpolisiloxano) com (30m, d. 0,25mm). O método utilizado para a análise dos extratos constituiu na programação da temperatura do injetor a 200 °C, no modo “splitless”, a coluna foi



mantida a 50 °C por 5 min, 10 °C por minuto até atingir 280 °C, sendo mantida por 15 min. Uma alíquota de 1 µL das amostras de aeração de fêmeas foi injetada, tendo o hélio como gás de arraste, com um fluxo de 1.30 mL/min. A identificação dos compostos se deu por análise dos espectros, comparação com a biblioteca (NIST 08/ NIST 11/ NIST 27 e NIST147) e com padrões por coinjeção quando possível.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### **Comportamento de corte *Bephratelloides pomorum***

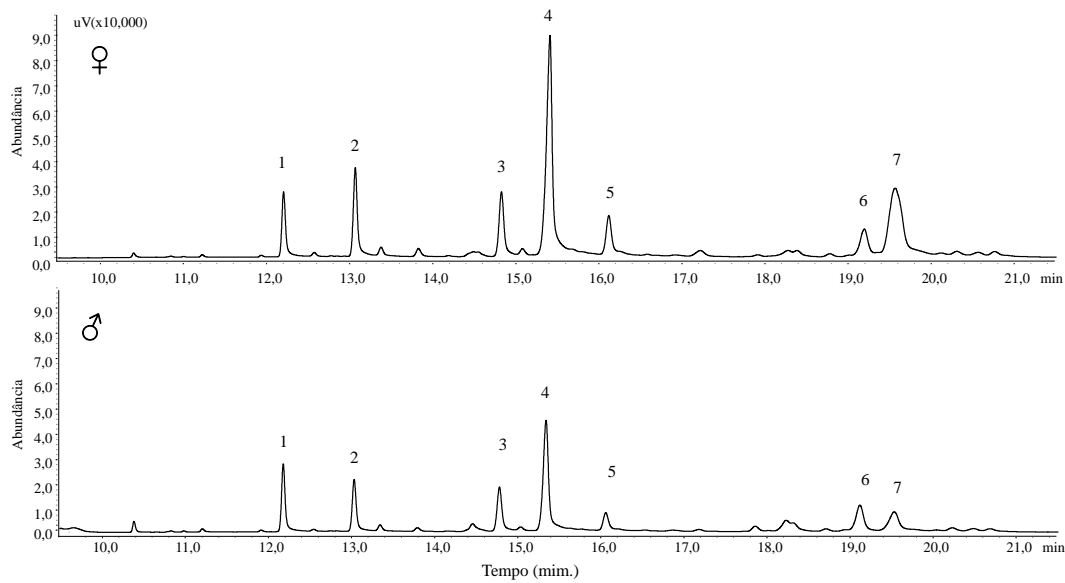
Em estudos comportamentais de machos e fêmeas de *B. pomorum* em laboratório, foi possível observar que a corte entre os espécimes é realizada pelo macho, que realiza inicialmente antenações, até a percepção das fêmeas, logo após, realiza movimentos laterais, movimentando-se rapidamente de um lado para outro ao mesmo momento que vibra as asas. Na maioria dos casos, os machos realizaram esses movimentos mais de uma vez, para conseguir realizar a cópula, que após ser aceito no cortejo, prende-se ao dorso da fêmea e efetua a cópula. Além disso, verificou-se que geralmente os machos emergem primeiro que as fêmeas, e que ao emergirem, os espécimes já estão preparados para a cópula.

Esses resultados corroboram com resultados obtidos por Nascimento et al. (1998) que ao estudar o comportamento de acasalamento de *B. pomorum* em semi-campo e laboratório verificaram que ao emergir e atingir a superfície do fruto, a vespa já está pronta para o acasalamento e que geralmente os machos emergem primeiro aguardando a emergência das fêmeas. Enfatizaram ainda que o reconhecimento de uma fêmea ocorre a curta distância e que os machos atraídos exibem um comportamento de corte peculiar que pode ser dividido em três etapas, antenação, saltos laterais e vibrações das asas. Esses resultados evidenciam que a fêmea de *B. pomorum* libera o feromônio responsável pela interação e a cópula entre os espécimes.

### **Extratos de corpo inteiro de *Bephratelloides pomorum***

A análise dos extratos cuticulares de fêmeas e machos de *B. pomorum*, possibilitou a verificação da presença de compostos da classe dos hidrocarbonetos. Como apresentado na Figura 14, os cromatogramas oriundos do extrato dos indivíduos fêmeas e dos machos são similares.

**Figura 14** - Cromatograma de íons totais dos extratos de cuticulares de inseto adulto macho e fêmea de *B. pomorum*



A primeira análise dos compostos de corpo inteiro dos adultos de *B. pomorum* mostra a presença de hidrocarbonetos lineares, os extratos apresentaram os compostos, Pentacosano, heptacosano, octacosano e nonacosano (Tabela 2).

**Tabela 2.** Índice de Kovats para os compostos presentes no extrato de cuticulares de indivíduos fêmea e macho da broca-da-semente de anonáceas *B. pomorum*

<u>Compostos</u>	Fêmeas	IK <sup>a</sup>	Machos	IK <sup>a</sup>	IK <sup>b</sup>
Pentacosano	+	2501	+	2501	2500
Heptacosano	+	2701	+	2701	2700
Octacosano	+	2801	+	2801	2800
Nonacosano	+	2901	+	2901	2900

IK<sup>a</sup>-Índice de Kovats calculado; IK<sup>b</sup>- Índice de Kovats observado no pherobase.

Nascimento et al. (1998), realizando a análise por espectrometria de massas dos extratos de corpo inteiro de fêmeas virgens de *B. pomorum*, identificaram 12 compostos cuticulares em sua totalidade. Esses resultados apresentam similaridade com os resultados do presente estudo, pois foram verificados em nossas análises a presença de três desses compostos, o pentacosano, heptacosano e nonacosano.

Além disso, Soares (2015) estudando a variação inter e intraespecífica da composição química cuticular de 5 espécies de vespas sociais da família Polistinae, ordem Hymenoptera identificaram diversos compostos, e detectaram que dentre os compostos identificados, 10 deles ocorreram em todas as espécies de vespas, e em similaridade com nossos resultados os

compostos pentacosano, heptacosano, octacosano e nonacosano, foram observados nos extratos das micro-vespas da espécie *B. pomorum* (Hymenoptera: Euritomyidae).

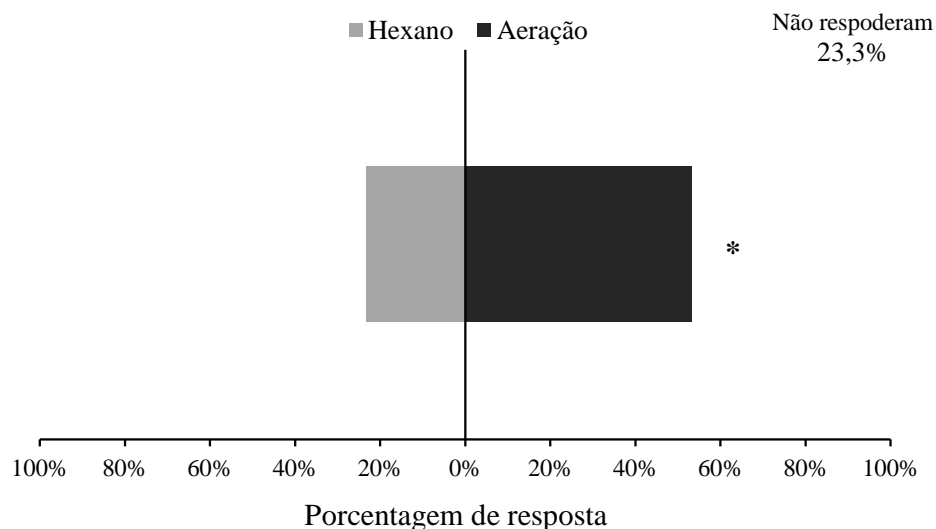
Os hidrocarbonetos que são compostos simples, formados essencialmente dos elementos hidrogênio e carbono ganharam maior atenção nas últimas décadas (BLOMQUIST; BAGNÈRES, 2010). Estes compostos são constituintes da camada lipídica que recobre a cutícula dos insetos e são essenciais para a sobrevivência deles, portanto têm como função primária evitar a dessecação desses indivíduos (LOCKEY, 1988), além de criar uma barreira contra microrganismos (PROVOST et al., 2008).

Estes compostos atuam como sinais químicos para a comunicação entre os insetos, sobretudo, os sociais, possibilitando o reconhecimento de companheiros de ninho, do seu sexo e casta (HOWARD, 1993; SINGER et al., 1998; VANDER MEER; MOREL, 1998).

#### Extratos de “*Head space*” dinâmico de fêmeas de *Bephratheloides pomorum*

A resposta de machos de *B. pomorum* para o extrato de aeração de fêmeas indica comportamento de atração, pois observou-se diferença significativa ( $P= 0,000673$ ) entre o número de insetos que escolheram o tratamento com o extrato de aeração (53,4%) e o controle (23,3%) (Figura 14).

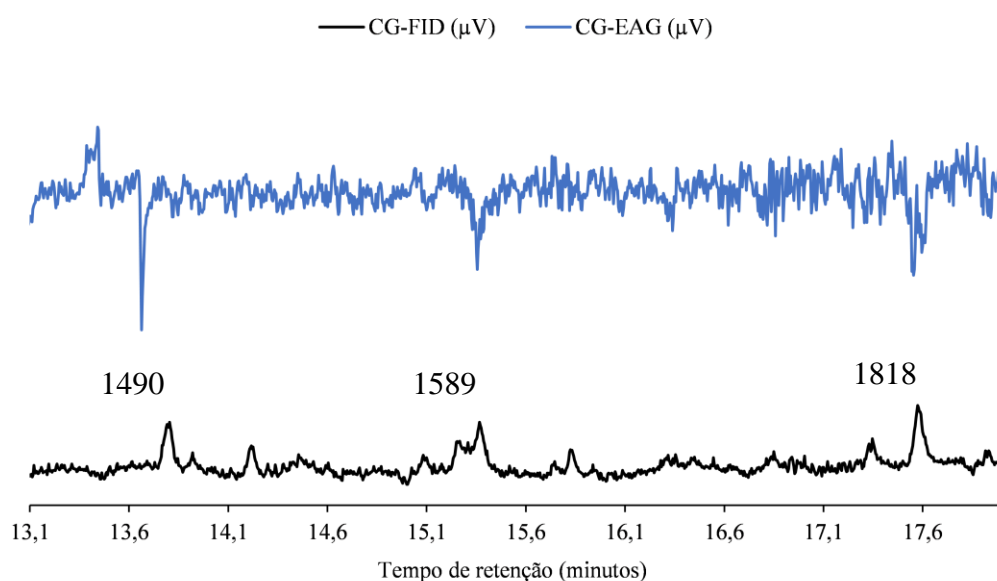
**Figura 14.** Resposta comportamental de machos ( $n=30$ ) de *B. pomorum* para extrato de aeração de fêmea em olfatômetro de dupla escolha. (\*) indica diferença significativa entre os tratamentos pelo teste Qui-quadrado ( $GL=1$ ;  $\chi^2=11,56$ ;  $P= 0,000673$ ).



### Eletroantenografia

O extrato obtido por “*head space*” dinâmico de fêmeas do *B. pomorum* frente as antenas de machos de *B. pomorum* em cromatografia gasosa e detector eletroantenográfico indicou a resposta de atividade para três picos, como mostrado na figura abaixo.

**Figura 15** – Cromatograma do extrato de “*head space*” dinâmico de fêmeas de *B. pomorum* e resposta eletroantenográfica das antenas de machos de *B. pomorum*.



N<sup>a</sup>: Número de repetições = 7; N<sup>b</sup>: Número de resposta para cada pico; IK (1490) = N<sup>b</sup>: 3 ; IK (1589) = 4; IK (1818) = N<sup>b</sup>: 6

Os Índices de Kovats para cada composto, calculados nas análises de GC-MS, e que estão representados na Figura 14, como 2,4-*terc*-butilfenol (1490), 1-hexadeceno (1589) e 2,6,10,14-tetrametilhexadecano (1818).

Através das análises de CG-EAG dos extratos foi possível observar que as respostas antenográficas dos machos se refletiu em 6 repetições para o composto 2,6,10,14-tetrametilhexadecano presente no extrato de “*head space*” dinâmico de fêmeas da mesma espécie.

A análise do cromatograma dos extratos obtidos por *headspace* dinâmico de fêmeas de *B. pomorum* permitiu observar diferentes compostos distribuídos em 5 classes químicas distintas como; álcoois, aldeídos, ésteres, fenóis e hidrocarbonetos (Tabela 3), sendo verificado

dentre as 5 classes a presença de 12 compostos. Essa verificação foi baseada na análise por GC-MS, 2 desses compostos foram confirmados por comparação com padrões.

**Tabela 3** – Compostos presentes nos extratos de aeração de fêmeas de *B. pomorum*

Classe química	Compostos	IK <sup>a</sup>	IK <sup>b</sup>
Álcool	<b>Fitol</b>	<b>1999</b>	<b>1696</b>
	2 - Ethil hexanol	1015	1013
Aldeído	Octanal	984	982
	Decanal	1186	1189
	Nonanal	1084	1084
Éster	<u>2 hexenoato de metila</u>	942	947
Fenol	<u>2,4-terc-butilfenol</u>	1490	-
	<u>Ocimeno</u>	1007	1043
<b>Hidrocarbonetos</b>	<u>1-hexadeceno</u>	1589	1586
	<b>2,6,10,14-tetrametilhexadecano</b>	<b>1818</b>	<b>1812</b>
	3,7-dimetildecano	1062	1133
	Dodecano	1201	1200

**IK<sup>a</sup>**: Índice de Kovats calculado; **IK<sup>b</sup>**: Índice de Kovats pesquisado no pherobase; - Ik não encontrado; **Sublinhados** (compostos verificados através da análise por GC-MS); em **negrito** (compostos confirmados através de padrões).

O fitol, um dos representantes da classe dos álcoois, foi verificado na análise dos cromatogramas dos extratos de *B. pomorum*. Esse composto também foi encontrado em análises cromatográficas de diferentes extratos brutos de *Annona squamosa* e *Annona muricata*, por Deewatthanawong et al. (2019) Como *B. pomorum*, é um inseto praga das anonáceas e convive constantemente nesses cultivos, a identificação deste composto nos extratos pode ter ocorrido devido a este fato.

Além disso, este composto é um componente da molécula da clorofila, presente em folhas verdes de várias plantas medicinais (COSTA et al., 2012). Sendo vastamente encontrado

em óleos essenciais de plantas aromáticas, como *Cleome serrata* e *Lantana radula* e possui várias atividades terapêuticas (DAINES et al., 2003; SILVA et al., 2013).

Através da análise dos extratos também foi possível observar o composto 2 hexenoato de metila, que pertence a classe química dos ésteres. Oliveira et al. (2003) em um estudo dos compostos orgânicos voláteis de *Annona muricata*, também identificaram o composto 2 hexenoato de metila como um dos 5 compostos mais importantes e que contribuem efetivamente para o aroma da fruta. A identificação deste composto no extrato pode estar relacionada ao contato de *B. pomorum* com os frutos de *A. muricata*, já que este inseto é uma praga endofítica das sementes das anonáceas e está bastante presente nos cultivos de gravioleiras.

O composto 2,4-terc-butilfenol representante da classe dos fenóis, verificado na análise, é um fenol lipofílico relatado em pelo menos 169 espécies de organismos (ZHAO et al., 2020). Negri et al. (2019), analisando os extratos da própolis de *Scaptotrigona aff. postica* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) identificaram 2,4-terc-butilfenol como um dos compostos presentes nos extratos. Em outros estudos, Huang et al., (2014) e Pasupuleti et al., (2017) relatam que a composição química da própolis varia de acordo com a flora visitada pelas abelhas, a região, e o momento da coleta. O 2,4-terc-butilfenol também foi relatado por Ngaini et al., (2021), como constituinte do mel de Abelha sem ferrão de Bornéu, *Heterotrigona itama* (Hymenoptera). Como foi observado na literatura, este composto foi relatado em produtos de duas espécies de abelhas sem ferrão da ordem Hymenoptera, sendo relatado nas nossas análises como constituinte dos COVs de *Headspace* dinâmico da micro-vespas, *B. pomorum* (Hymenoptera: Eurytomyidae).

Alguns compostos pertencentes da classe dos hidrocarbonetos foram observados como o ocimeno, 1-hexadeceno e 2,6,10,14-tetrametil hexadecano.

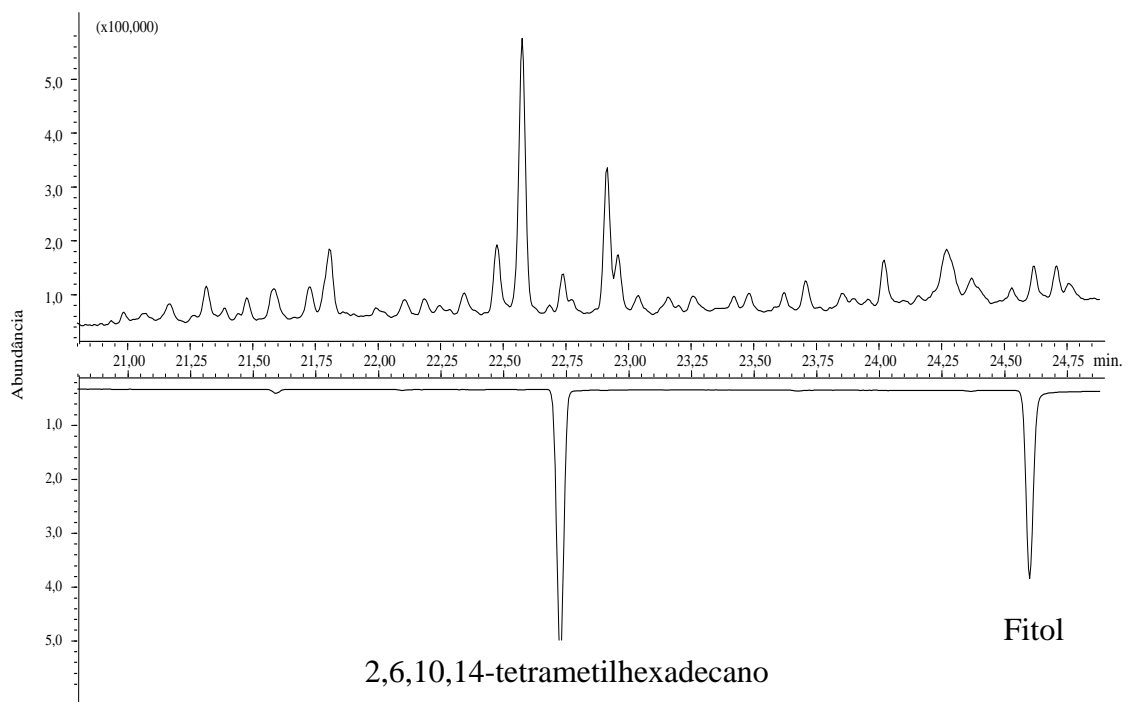
O composto 1-hexadeceno é um hidrocarboneto comumente observado nos insetos e na ordem Hymenoptera esse composto foi relatado como componente da secreção da glândula mandibular de abelhas da espécie *Oxytrigona mediorufa* (Cockerell, 1913) (Hymenoptera: Apidae) (CRUZ-LÓPEZ et al., 2007), como um componente do feromônio de alarme dessa espécie. Está presente na glândula de Dufour de formigas da espécie *Leptothorax gredleri* (HEINZE et al., 1998).

O 2,6,10,14-tetrametilexadecano identificado nas nossas análises foi relatado por Nikbakhtzadeh et al. (2009) como constituinte químico da secreção da glândula abdominal de formigas da espécie *Pachycondyla sennaarensis* (Formicidae: Ponerinae), por Mastelić et al. (2006) nos voláteis das flores de *Prunus mahaleb* L. e foi descrito no óleo essencial de partes

aéreas de *Ficaria kochii*, (TAVAKOLI et al., 2012) e nos frutos de *Pyrus ussuriensis* (QIN et al., 2012).

A confirmação dos compostos identificados como 2,6,10,14-tetrametilexadecano e fitol, foi realizada através de comparação com padrões sintéticos, sendo analisados nas mesmas condições dos extratos (Figura 16).

**Figura 16** – Análise do GC-MS: A) extrato de aeração de fêmea e B) injeção dos produtos 2,6,10,14-tetrametilexadecano e Fitol.





## 5 CONCLUSÕES

As análises cromatográficas dos extratos de “*head space*” dinâmico de fêmeas, indicam a presença de 12 compostos, Fitol, 2 - Ethil hexanol, Octanal, Decanal, Nonanal, 2 hexenoato de metila, 2,4 terc-butilfenol, Ocimeno, 1-hexadeceno, 2,6,10,14-tetrametilhexadecano, 3,7-dimethyldecano e Dodecano. Os compostos, Fitol e 2,6,10,14-tetrametilexadecano foram confirmados pelo uso de Padrões.

Os estudos eletroantegráficos mostraram que os machos de *B. pomorum* responderam aos compostos 2,4-terc-butilfenol, 1-hexadeceno e 2,6,10,14-tetrametilhexadecano presentes nos extratos de “*head space*” dinâmico de fêmeas, apresentando respostas positivas apenas para o composto 2,6,10,14-tetrametilexadecano.

## REFERÊNCIAS

- BAGNERES, A. G, BLOMQUIST, G. J. Site of synthesis, mechanism of transport and selective deposition of hydrocarbons p.75-99. In Blomquist GJ, Bagneres AG (eds). *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry and chemical ecology*. Cambridge: **Cambridge U. P.** 506p. 2010.
- BATISTA, M. M. F. et al. Efeito da omissão de macronutrientes no crescimento, nos sintomas de deficiências nutricionais e na composição mineral em gravioleiras (*Annona muricata*). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 25, n. 2, 2003.
- BENTO, J. M. S. et al. How much is a pheromone worth. **F1000 Res**, 5:1763.2016.
- BLANDE, J. D. Chapter Eleven-Plant Communication with Herbivores. **Advances in Botanical Research**, v. 82, p. 281-304, 2017.
- BLEICHER, E.; MELO, Q. M. S. Pragas. In: CARDOSO, J. E. Graviola: Fitossanidade. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, (**Frutas do Brasil, 20**), p. 22-39,2002.
- BORGES, M. et al. Semioquímicos uma ferramenta sustentável para o controle de insetos na agricultura da região Amazônica – Um estudo de caso para a broca do cupuaçuzeiro *Conotrachelus humeropictus* (Coleoptera: Curculionidae). In: Souza et al., 2017. Bioecologia e estratégias de controle da broca-do-cupuaçu *Conotrachelus humeropictus* (Coleoptera: Curculionidae). Manaus, AM. Embrapa, 2017.
- BORGES, M.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; LAUMANN, R. A. Ecologia química aplicada a agropecuária. In: 61ª Reunião Anual da Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical, 2015, Manaus. **Livro de resumo da 61ª Reunião Anual da Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical**, 2015. v. 1. p. 51-54.
- BRAGA SOBRINHO, R. B. et al. Pragas da gravioleira. In: BRAGA SOBRINHO, R.; CARDOSO, J. E.; FREIRE, F. C. O. (Ed.). **Pragas de Fruteiras Tropicais de Importância Agroindustrial**. Brasília, DF: EMBRAPA, 1998. p. 131-141.
- BRAGA SOBRINHO, R.. Potencial de exploração de anonáceas no Nordeste do Brasil. In: Semana Internacional da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria, 17ª, 2010, Fortaleza. **Frutal 2010**. Fortaleza: Embrapa 2010.
- BUENO, S.M. et al. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62, n.2, p.121-126, 2002.
- BUTENANDT, A., BECKMANN, R., STAMM, D., HECKER, E., Uber den sexual-lockstoff des seidenspinners *Bombyx mori* - Reindarstellung und konstitution. Zeitschrift Fur Naturforschung Part B-Chemie Biochemie Biophysik Biologie Und Verwandten Gebiete, v. 14, p.283-284, 1959.
- CALOBA, J.; SILVA, N. M. Insetos associados a graviola *Annona muricata* L. e biriba, *Rollinia mucosa* (Jacq.) Bail no Estado do Amazonas. **An. Soc. Entomol. Brasil**. 24 (1): 179-182, 1995.

CORRÊA, A. G.; SANT'ANA, J. Fundamentos da comunicação química de insetos In: FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. Produtos naturais no controle de insetos. São Carlos: **EdUSCAR**. Série de textos da escola de verão em química, vol. III. 2001.

COSTA, J. P. et al. Avaliação da toxicidade aguda e das alterações histopatológicas em camundongos tratados com fitol. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 33, n. 3, 2012.

CRUZ-LÓPEZ, L. et al. Electroantennogram and behavioral responses of workers of the stingless bee *Oxytrigona mediorufa* to mandibular gland volatiles. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 123, n. 1, p. 43–47, 2007.

DAINES, A. et al. The synthesis of naturally occurring Vitamin K and Vitamin K analogues. **Current Organic Chemistry**, v. 7, p. 1625 – 1634, 2003.

DEEWATTHANAWONG, R. et al. GC-MS analysis and biopesticide properties of different crude extracts of *Annona squamosa* and *Annona muricata*. **International Journal of Agricultural Technology**, v. 15, n. 6, p. 859–868, 2019.

EHRlich, P. R. E RAVEN, P. H. **Butterflies and Plants: A Study in Coevolution**. Reviewed work (s): Source: *Evolution*. 18(4): 586-608, 1964.

FAZOLIN, M.; LEDO, A. da S. Épocas de ocorrência e medidas de controle dos insetos associados aos frutos da gravioleira, em Rio Branco, Acre. Rio Branco: EMBRAPA-CPAF-Acre. (**Circular Técnica, 13**), p 20, 1997.

FILHO, A, B, G. et al. **Comunicado técnico**: Pragas da gravioleira (*Annonamuricata* L.) no Amapá. 1. Ed. Amapá: EMBRAPA, 2002.

GALLO, O.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENORAMIM, J.O.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. *Entomologia Agrícola*. Piracicaba: **FEALQ**, 920p, 2002.

GONZÁLEZ, S. J. **Estratégias de uso de sementes como recurso alimentar em Chalcidoidea (Hymenoptera)**. tese, p. 97, 2013.

HEINZE, J. et al. Colony specificity of Dufour gland secretions in a functionally monogynous ant. **Chemoecology**, v. 8, n. 4, p. 169–174, 1998.

HOWARD, R.W. Cuticular hydrocarbon and chemical communication. In D.W. Stanley-Samuelson & D.R. Nelson (Eds.), **Insect lipids**: chemistry, biochemistry and biology (pp. 179-226). Lincoln: University of Nebraska Press. 1993.

HUANG, S., ZHANG, C.-P., WANG, K., LI, GQ, & HU, FL. Avanços recentes na composição química da própolis. **Molecules** , 19 (12), 19610-19632. 2014.

JUNQUEIRA, N.T.V.; CUNHA, M.M. da; OLIVEIRA, MAS.; PINTO, A.C. de Q. Graviola para exportação: aspectos fitossanitários. Brasília: **MAISOR**. FRUPEX/ Embrapa-SPL 67p,1996.

JUNQUEIRA, N.T.V.; JUNQUEIRA, K.P. Principais doenças de Anonáceas no Brasil: descrição e controle. **Revista Brasileira de Fruticultura** (Impresso), v. 36, p. 55-64, 2014.

KROKOS, F. D.; KONSTANTOPOULOU, M. A.; MAZOMENOS, B. E. Alkadienes and alkenes, sex pheromone components of the almond seed wasp *Eurytoma amygdali*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, n. 11, p. 2169–2181, 2001.

LOCKEY, K. H. Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. **Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry and**, v. 89, n. 4, p. 595–645, 1988.

LE MOS, E.EP. A produção de Anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol. 36, no. Spe1, p.77-85, 2014.

MASTELIĆ, J.; JERKOVIĆ, I.; MESIĆ, M. Volatile constituents from flowers, leaves, bark and wood of *Prunus mahaleb* L. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 21, n. 2, p. 306–313, 2006.

MOGHADAMTOUSI, S. Z.; FADAEINASAB, M.; NILKZAD, S.; MOHAN, G.; ALI, H.M.; KADIR, H. A. *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins, and biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n.7, p.15625–15658, 2015.

MORANDI FILHO W.J. et al. Efeito de *Bacillus thuringiensis* e inseticidas químicos no controle de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick, 1909) (Lepidoptera: Tortricidae) em Videira. **Arquivos Instituto Biologia**, 74; p. 129-134, 2007.

MOREIRA, M. A. B.; ZARBIN, P. H. G.; CORACINI, M. D. A. Feromônios associados aos coleópteros-praga de produtos armazenados. **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 472-477, 2005.

MOREL, L., VANDER MEER, R.K. & LAVINE, B.K. Ontogeny of nestmate recognition cues in the red carpenter ant (*Camponotus oridanus*). **Behav. Ecol. Sociobiol.**, 22: 175–183. 1988.

NASCIMENTO, R. R. et al. Evidence of an attractant from virgin females of *Bephratelloides pomorum* (Hymenoptera: Eurytomidae): possible role of cuticular compounds. **Pesticide Science**, v. 54, n. 3, p. 311–313, 1998.

NASCIMENTO, R. R.; SANT'ANA, A. E. G. Feromônios de insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas. 2. ed. Ribeirão Preto: **Holos**, p. 65-71, 2001.

NAVARRO, D. M. A. F. et al. Aspectos práticos relacionados ao uso do rincoforol, o feromônio de agregação da broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* L. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) no controle de pragas do coqueiro. Análise de sua eficiência em campo. **Química Nova**, v.25, n.1, p. 32-36, 2002.

NEGRI, G. et al. Cardanols detected in non-polar propolis. p. 16, 2019.

NGAINI, Z. et al. High therapeutic properties of honey from the borneo stingless bee, heterotrigona itama. **International Journal of Current Research and Review**, v. 13, n. 4 Special Issue, p. 100–107, 2021.

NIKBAKHTZADEH, M. R.; AKBARZADEH, K.; TIRGARI, S. Bioecology and chemical diversity of abdominal glands in the Iranian Samsun ant *Pachycondyla sennaarensis* (Formicidae: Ponerinae). **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 15, n. 3, p. 509–526, 2009.

NOYES, J. Chalcidoidea: unknown mini-wasps. **World Wide Web electronic publication**. 2003.

OLIVEIRA, M. A. S. et al. Insetos praga e seu controle. In: OLIVEIRA, M. A. S. Graviola: produção: aspectos técnicos. Brasília, DF: EMBRAPA - SPI, **Frutas do Brasil**, v.15, p. 34-38, 2001.

OLIVEIRA, P. A.; ALVES, G. L.; FRANCO, M. R. B. Aroma – Graviola – Compostos voláteis. **xi congresso interno de iniciação científica da unicamp**, p. 441, 2003.

PASUPULETI, VR, SAMMUGAM, L., RAMESH, N., & GAN, SH. Mel, própolis e geleia real: uma revisão abrangente dos suas ações biológicas e benefícios para a saúde. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2017.

PEREIRA, M.J.B. **Biologia de *Bephratelloides pomorum* (Fab.) (Hymenoptera: Eurytomidae), broca-da-semente de graviola**. Viçosa: 1996. 71p. Dissertação (Mestrado) - Univ. Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

PEREIRA, M.J.B. Ciclo biológico delbarrenador de semillas de guanábana (Hymenoptera: Eurytomidae). **Agronomía Tropical**, v.47, n.4, p.507-519,1997.

PEREIRA, M.J.B. et al. Oviposição da broca-da-semente de graviola *Bephratelloides Pomorum* (fabricius, 1908) (Hymenoptera: Eurytomidae). **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.2, p.221-224, abr./jun., 2003.

PINTO, A. C. Q.; SILVA, E. M. Graviola para exportação, aspectos técnicos da produção. p. 41, 1996.

PRICE, P. W. et al. Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 11: 41-65, 1980.

PROVOST, E. et al. Hydrocarbons and insects' social physiology. **Social Insects: Structure, Function, and Behavior**, n. January, p. 143–198, 2011.

QIN, G. et al. Evaluation of the volatile profile of 33 *Pyrus ussuriensis* cultivars by HS-SPME with GC-MS. **Food chemistry**, v. 134, n. 4, p. 2367-82, 15 out. 2012.

SACRAMENTO, C. K. et al. Caracterização física e química de frutos de três tipos de gravioleira (*Annona muricata* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n.2. 2003.

SÃO-JOSÉ, A. R. et al. Atualidades e perspectivas das Anonáceas no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.36, edição especial, p.86-93, 2014.

SÃO-JOSÉ, A.R. et al. Cultivo da graviola. In: SEMANA INTERNACIONAL DE FRUTICULTURA E AGROINDÚSTRIA, 7, Fortaleza. **Cursos**. Fortaleza: **Sindifruta, Instituto Frutal**. 35p,2000.

SILVA, L. S. **Controle de *Cerconota anonella* (sepp., 1830) (Lep.: Oecophoridae) e de *Bephratelloides pomorum* (Fab., 1808) (Hym.: Eurytomidae) em frutos de pinha (*Annona squamosa* L.) (Annonaceae)** 2013. 86f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, área de concentração Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas, AL, 2013.

SILVA, R. O. et al. Phytol, a diterpene alcohol, inhibits the inflammatory response by reducing cytokine production and oxidative stress. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 28, p. 455 – 464, 2013.

SILVA, S. E. L.; GARCIA, T. B. A cultura da gravioleira (*Annona Muricata* L.). Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental (Embrapa), 19p. ,1999.

SINGER TL, ESPELIE KE, GAMBOA GJ. Nest and nestmate discrimination in independent-founding wasp, p.104-125. In Vander Meer RK et al. (eds.). Pheromone communication in social insects, Westview, Boulder. 1998.

SOARES, E. R. P. **Variação inter e intraespecífica da composição química cuticular de vespas eussociais**. Dissertação, p. 64, 2015.

TAVAKOLI, R, et al. Essential-oil and fatty-acid composition, and antioxidant activity of extracts of *Ficaria Kochii*. **Chemistry E biodiversity**, v. 9, n. 12, p. 2732-41, dez. 2012.

TEWARI, S.; LESKEY, T.; NIELSEN, A.; RODRIGUEZ-SAONA, J.; PIÑEROAND, C. Integrated Pest Management. **Elsevier Inc**. San Diego. USA. Chap. 9 Use of pheromones in insect pest management, with special attention to weevil pheromones, pages 141–168, 2014.

TIBONI, Aline. **Utilização de Vidros Porosos como Armazenadores e Liberadores de Feromônios de Insetos visando Controle de Pragas no Brasil**. 2007. 106p. Dissertação (Pós-Graduação) – Departamento de Química – Universidade Federal do Paraná, Paraná, Curitiba, 2007.

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

VIÉGAS, I. de J. M.; FRAZÃO, D. A. C. Graviola: Nutrição, calagem e adubação. Belém: Embrapa. (**Circular técnica, 36**), 2004.

WITZGALL, P.; KIRSCH, P.; CORK, A. Sex Pheromone sand Their Impacton Pest Management. **Journal of Chemical Ecology**, 36, 80-100, 2010.

WOODWARD, D.R. Queen bee rearing. In: Queen bee: biology, rearing and breeding. 2nd ed., Balclutha: D.R. Woodward. p.29-90, 2009.

WYATT, T. D. Introduction to chemical signaling in vertebrates and invertebrates. In: Mucignat-Caretta, C. (Ed.), **Neurobiology of Chemical Communication**, Frontiers in Neuroscience Series. CRC Press/Taylor and Francis, pp. 1–22, 2014.

ZACARONI, A. B., JUNQUEIRA, N. T. V.; SUSSEL, A. A. A. B.; FREITAS, I. S., BRAGA, M. F., JUNQUEIRA, K. P. Desempenho agrônômico de gravioleira (*Annona muricata* L.) sobre diferentes espécies de porta-enxertos. **Cadernos de Agroecologia**, v.9, n. 3, 2014.

ZARBIN, P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 722-731, 2009.

ZHAO, F. et al. Natural sources and bioactivities of 2,4-di-tert-butylphenol and its analogs. **Toxins**, v. 12, n. 1, p. 1–26, 2020.